



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

SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE
COMPUESTOS METÁLICOS DE CEFTAZIDIMA
(Modalidad: Investigación)

CANDY MABEL PATIÑO MAGO

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

CUMANÁ, 2008

SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE
COMPUESTOS METÁLICOS DE CEFTAZIDIMA

APROBADO POR:

Dr. Juan R. Anacona
Asesor

INDICE

DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
LISTA DE TABLAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	10
Síntesis De Los Complejos Metálicos De Ceftazidima	10
Caracterización De La Estructura Química De Los Complejos.....	10
Análisis Elemental	11
Medidas De Susceptibilidad Magnética.....	11
Espectroscopía Infrarroja	11
Espectroscopía UV-Visible.....	11
Espectroscopía De Resonancia Paramagnética Electrónica (RPE).....	12
Actividad Antimicrobiana.....	12
Método De Difusión En Agar	12
Método De Concentración Mínima Inhibitoria.....	13
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
Análisis Elemental	15
Medidas De Susceptibilidad Magnética.....	16
Momentos Magnéticos	17
Espectroscopía Ultravioleta – Visible (UV- Visible).....	19
Espectroscopía Infrarroja	22
Estructura De Los Complejos	23
Espectroscopia De Resonancia Paramagnética Electrónica (EPR).....	32
Actividad Biológica	34
CONCLUSIONES	44

BIBLIOGRAFÍA 44

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi guía y protector.

A mis padres, Maigualida Mago y Orlando Patiño, quienes siempre me han ayudado, apoyado y protegido.

A mis hermanos; Orlandy, Daniela y Orlando quienes me han brindado todo su apoyo y para quienes espero que este logro sea un incentivo de fe y voluntad.

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Juan Roberto Anacona, guía y responsable de este proyecto, quien en calidad de asesor hizo posible el desarrollo de esta investigación, que ahora presento como mi trabajo de grado.

A la Dra. Elsa Salazar, Jefa del Laboratorio de Bacteriología Clínica del Departamento de Bioanálisis, por tan valiosa colaboración.

A los profesores: Ramón Hurtado y Edgar Zapata, quienes me brindaron ayuda desinteresada y sincera.

A mis compañeros de trabajo del Laboratorio 306 del Departamento de Química: Maried López, Javier Santaella, Ivor Osorio y Luis Beltran, quienes siempre estuvieron para ayudarme y ofrecerme una mano amiga.

Y por último, pero no menos importante, a mi novio Vicente Tur, quien me ayudo durante todo el desarrollo de este trabajo y siempre se mantuvo paciente.

A todos ellos gracias....

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Análisis elemental de los complejos metálicos obtenidos de la ceftazidima.	15
Tabla 2. Medidas de susceptibilidad magnética de los complejos metálicos de la ceftazidima.	16
Tabla 3. Momentos magnéticos (μ_{ef}) de los complejos metálicos de la ceftazidima.	18
Tabla 4. Resumen de los espectros UV-visible de la ceftazidima y algunos compuestos metálicos.....	20
Tabla 5. Principales bandas IR de la ceftazidima y sus complejos (cm^{-1}).	22
Tabla 6. Halos de inhibición en mm producidos por la ceftazidima y los complejos sintetizados ante las especies bacterianas ensayadas.	34
Tabla 7. Halos de inhibición en mm de la ceftazidima y complejos sintetizados utilizando discos a diferentes concentraciones.	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Anillo betalactámico.....	2
Figura 2. Núcleo de las cefalosporinas.	3
Figura 3. Estructura química de la ceftazidima.....	6
Figura 4. Espectro electrónico de la ceftazidima	21
Figura 5. Espectro electrónico del complejo [Ni(ceftaz)(H ₂ O)Cl].....	21
Figura 6: Espectro electrónico del complejo [Co (Ceftaz) (H ₂ O) Cl].....	22
Figura 7. Estructura sugerida para los compuestos metálicos de ceftazidima.	24
Figura 8. Espectro infrarrojo de la ceftazidima.....	25
Figura 9. Espectro infrarrojo del complejo [Mn(ceftaz)(H ₂ O)Cl].....	26
Figura 10. Espectro infrarrojo del complejo [Cu(ceftaz)(H ₂ O)Cl].....	27
Figura 11.Espectro infrarrojo del complejo [Fe(ceftaz)(H ₂ O)Cl].	28
Figura 12. Espectro infrarrojo del complejo [Co(ceftaz)(H ₂ O)Cl].....	29
Figura 13. Espectro infrarrojo del complejo [Ni(ceftaz)(H ₂ O)Cl].	30
Figura 14. Espectro infrarrojo del complejo [Cd(ceftaz)(H ₂ O)Cl].....	31
Figura 15. Espectro RPE del [Cu(ceftaz)(H ₂ O)Cl].....	33
Figura 16. Espectro RPE del [Mn(ceftaz)(H ₂ O)Cl].....	33
Figura 17. Halos de inhibición de la ceftazidima y del compuesto [Cd(ceftaz)(H ₂ O)Cl], frente a la cepa de <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853.....	35
Figura 18. Halos de inhibición de los compuestos [Ni(ceftaz)(H ₂ O)Cl] y [Mn(ceftaz)(H ₂ O)Cl] frente a la cepa de <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853.....	36
Figura 19. Halos de inhibición de los compuestos [Cu(ceftaz)(H ₂ O)Cl] y [Fe(ceftaz)(H ₂ O)Cl] frente a la cepa de <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853.	37
Figura 20. Halos de inhibición de la ceftazidima y del compuesto [Cd(ceftaz)(H ₂ O)Cl] frente a la cepa de <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 23357.....	37

Figura 21. Halos de inhibición de los compuestos $\text{Ni}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}$, $[\text{Mn}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$, $[\text{Cu}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ y $[\text{Fe}(\text{Ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ frente a la cepa de <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 23357.....	38
Figura 22. Halos de inhibición de la ceftazidima y del complejo $[\text{Cd}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$, [frente a la cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 11775.....	38
Figura 23. Halos de inhibición de los complejos $[\text{Ni}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$, y $[\text{Mn}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$, frente a la cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 11775.....	39
Figura 24. Halos de inhibición de la ceftazidima y del complejo $[\text{Cd}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$, frente a la cepa <i>Salmonella enteritidis</i> CDC 64.....	39
Figura 25. Halos de inhibición de los complejos $[\text{Ni}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$, y $[\text{Mn}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ frente a la cepa <i>Salmonella enteritidis</i> CDC 64.....	40
Figura 26. Halos de inhibición de la ceftazidima y del complejo $[\text{Cd}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$, frente a la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.....	40
Figura 27. Halos de inhibición de los compuestos $[\text{Cu}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ y $[\text{Fe}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.	41
Figura 28. Halos de inhibición de la ceftazidima y del complejo $[\text{Cd}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$, frente a la cepa <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6051.....	41

RESUMEN

Para formar los complejos metálicos de ceftazidima (Hceftaz), se hizo reaccionar la ceftazidima pentahidratada comercial con diversas sales que contenían iones metálicos como: Mn^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{3+} , Ag^{1+} , Co^{2+} y Hg^{2+} en proporción equimolar. La caracterización de los complejos se realizó utilizando las técnicas de espectroscopía infrarroja, espectroscopía UV-visible, susceptibilidad magnética, análisis elemental y resonancia paramagnética de spin, las cuales sugieren la formación de los compuestos de coordinación $[M(ceftaz)(H_2O)Cl]$ (donde $M = Mn^{2+}$, Cu^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , y Cd^{2+}) de estructura polimérica y geometría octaédrica en torno al metal. A estos complejos se les determinó la actividad antibacteriana por los métodos de difusión en agar y concentración mínima inhibitoria frente a las cepas certificadas por la ATCC, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis* y por la CDC en el caso de la *S. enteritidis*. La ceftazidima presenta mejor actividad antibacteriana que los compuestos sintetizados en todas las cepas ensayadas. La excepción fue el complejo de $[Cd(ceftaz)(H_2O)Cl]$ que resultó más efectivo que la ceftazidima comercial ante la cepa de *B. subtilis*.

INTRODUCCIÓN

Desde los inicios del siglo XX, hubo marcado interés por buscar sustancias dotadas de efectos selectivos sobre microorganismos sin que lesionaran los tejidos orgánicos, fue entonces cuando se descubrió que el *Penicillium* (hongo aéreo) inhibía el crecimiento de los estafilococos, por lo que se cultivó este hongo y se pudo aislar la sustancia inhibidora producida por dicho hongo. Finalmente, la industria farmacéutica logró producir la penicilina en suficiente cantidad para generalizar su empleo (1). De esta forma, se inicia la era de los antibióticos, los cuales representan los inicios de la quimioterapia controlada. Este siglo se caracterizó por el rápido progreso científico abriéndose las puertas al desarrollo de vacunas y antibióticos (2).

Los antibióticos son sustancias de bajo peso molecular, producidas como metabolitos secundarios por ciertos grupos de microorganismos o semisintéticamente, utilizadas en el tratamiento de las infecciones y que pueden tener efecto bacteriostático o bactericida frente a otros microorganismos (3).

La clasificación más común de los antibióticos está basada sobre los mecanismos de acción propuestos del modo siguiente: los que activan la síntesis de enzimas que interrumpen la formación de las paredes de la célula bacteriana para producir la pérdida de viabilidad y, con frecuencia, la lisis celular; los que actúan en forma directa sobre la membrana de la célula del microorganismo, afectando la permeabilidad y llevando a la filtración de los compuestos intracelulares; los que afectan la función de los ribosomas para causar una inhibición irreversible de la síntesis proteica; los que se unen a las subunidades ribosomales 30S y alteran la síntesis de proteínas, lo cual lleva eventualmente a la lisis; los que afectan el metabolismo de los ácidos nucleicos, de los antimetabolitos y, de análogos de los ácidos nucleicos. Es probable que surjan categorías adicionales a medida que se

diluciden mecanismos más complejos. Los antibióticos se pueden clasificar también en función de su estructura química, diferenciando así: betalactámicos, quinolonas, aminoglucósidos, tetraciclinas, macrólidos, sulfamidas u otras (5,6).

Las penicilinas constituyen uno de los más importantes grupos de antibióticos. Aunque se han producido muchos otros agentes antimicrobianos, desde que se dispuso de la primera penicilina, estos antibióticos todavía son importantes y ampliamente utilizados. Muchos de ellos 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 miembros de este grupo de antibióticos sean los fármacos de elección para un gran número de enfermedades infecciosas (4).

Todas las penicilinas derivan del ácido 6-aminopenicilánico y contienen un anillo betalactámico (figura 1) que es esencial para su actividad antibacteriana (7). Los betalactámicos se caracterizan por tener en su estructura el anillo betalactámico que está compuesto por tres átomos de carbono y un átomo de nitrógeno. En esta categoría se incluyen: penicilinas, clavanas (ácido clavulánico), cefalosporinas, monobactamas y carbapenemas (8).

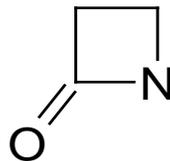


Figura 1. Anillo betalactámico.

Las cefalosporinas son agentes antibacterianos que poseen un anillo betalactámico fusionado con un anillo dihidrotiazínico, constituyendo el núcleo *cefem*

(figura 2), del cual derivan todas las cefalosporinas al poseer distintos grupos químicos en las posiciones R₁ y R₂ (9).

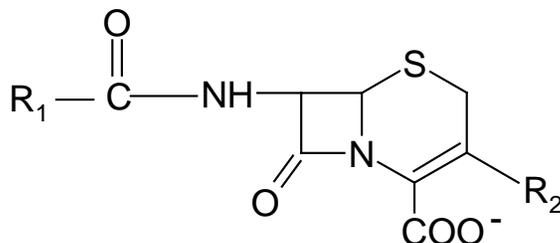


Figura 2. Núcleo de las cefalosporinas.

En términos microbiológicos, estos compuestos se caracterizan por su actividad bactericida dependiente del tiempo (su máximo efecto bactericida se logra cuando en una proporción importante del intervalo interdosis, la concentración plasmática del antibacteriano se encuentra sobre la concentración mínima inhibitoria), del inóculo bacteriano y de la fase de crecimiento bacteriano (10,11). Poseen amplio espectro de actividad que incluye bacterias Gram positivas, Gram negativas y anaerobios (9-12). Por otra parte, dada sus características, actividad bactericida, parámetros farmacocinéticos, penetración a diferentes parénquimas, baja toxicidad y sinergia con otros antibacterianos, las cefalosporinas son utilizadas como agentes de primera elección en el tratamiento de una serie de infecciones comunitarias y nosocomiales (12,13).

Las cefalosporinas, al igual que el resto de los antibióticos betalactámicos, ejercen su actividad antibacteriana inhibiendo la síntesis del peptidoglucano, principal constituyente de la pared celular, produciendo finalmente la lisis bacteriana (11). El mecanismo de acción deriva de la unión covalente del betalactámico al sitio activo de las enzimas denominadas proteínas de unión a la penicilina (PBP) del inglés *Penicillin binding proteins*. Esta reacción se explica porque los betalactámicos poseen

una estructura química similar a los últimos aminoácidos del pentapéptido (D-alanina-D-alanina) que une las moléculas de peptidoglucano; además este grupo de antimicrobianos produce una activación de autolisinas bacterianas que destruyen el peptidoglucano (9-14).

Existen diferentes formas de clasificar las cefalosporinas, pudiéndose encontrar estos compuestos agrupados de acuerdo a sus propiedades estructurales, microbiológicas y desarrollo histórico, siendo esta última, desde el punto de vista clínico, la clasificación más utilizada y la cual agrupa a las cefalosporinas en generaciones que van de la primera a la cuarta, de acuerdo al orden de aparición en el mercado (12).

Las cefalosporinas de primera generación presentan mejor actividad sobre cocos Gram positivos y su actividad sobre bacilos Gram negativos es limitada (12). Las cefalosporinas de primera generación son de administración oral y parenteral. Las orales son llamadas fenilglicinas o derivados hidroxifenilglicinas que incluyen la cefalexina, cefadroxilo y cefradina (15); entre las parenterales 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 *Enterococos*, *Staphylococcus* resistentes a la meticilina, *Staphylococcus epidermidis* y neumococos resistentes a penicilina), y algunos organismos Gram negativos adquiridos en la comunidad (*Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Moraxella catarrhalis*) (5).

Todas estas cefalosporinas 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 la cefalosporinas de segunda generación es su actividad sobre *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Neisseria meningitidis* y *Neisseria gonorrhoeae* (15). En este grupo se encuentran los siguientes antibióticos: cefamandol, cefuroxima, cefonicid, ceforanida, cefaclor, cefoxitina y cefotetan.

Las cefalosporinas de tercera generación constituyen uno de los grupos de antimicrobianos de mayor uso en la actualidad. Los compuestos de esta generación se caracterizan por presentar las siguientes características: - en C-7 del núcleo *Cefem*, la presencia de un anillo 2-aminotiazolil, como cadena lateral, - elevada actividad sobre miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria* spp., *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* (16,17). 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 de tercera generación es extremadamente activo contra la mayoría de las bacterias Gram negativas (excepto *Enterobacter* sp. y *Citrobacter* sp).

En otro contexto, las cefalosporinas de cuarta generación presentan un balance entre sus cargas positivas y negativas en los rangos de pH encontrados *in vivo* (18). Esta característica química estructural explica por qué estas cefalosporinas presentan una penetración a través de las porinas que le permite alcanzar altas concentraciones en el espacio periplásmico de bacilos Gram negativos (19). Las cefalosporinas de esta generación suelen resultar más eficaces *in vitro* frente a los bacilos Gram negativos y frente a los cocos Gram positivos, excepto *Staphylococcus aureus*) que los fármacos de primera y segunda generaciones.

Nuevas 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 huésped. 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 nosocomiales graves (20).

La ceftazidima, perteneciente al grupo de la tercera generación, es altamente eficaz contra casi todas las enterobacterias. En comparación con la concentración sérica alcanzable, la concentración inhibitoria medida *in vitro* es sumamente baja, situándose como promedio, entre 0,06 y 0,25 mg/l, por lo que son comparables con las de la cefotaxima y latamoxef. La ceftazidima carece de eficacia frente a Gram positivos. Asimismo, la escasa eficacia frente a anaerobios limita su utilidad en infecciones mixtas, especialmente a nivel abdominal (21).

La ceftazidima (figura 3), es resistente a la hidrólisis de las betalactamasas TEM-1, TEM-2 y SHV-1, las cuales son betalactamasas de amplio espectro mediadas por plásmidos, predominantes en los bacilos Gram negativos (21). Ésta tiene una vida media de eliminación sérica de 1,6 horas, como promedio. La eliminación se efectúa casi exclusivamente por vía renal, detectándose el 70–90% de la dosis en orina en las primeras 24 horas después de la administración (21).

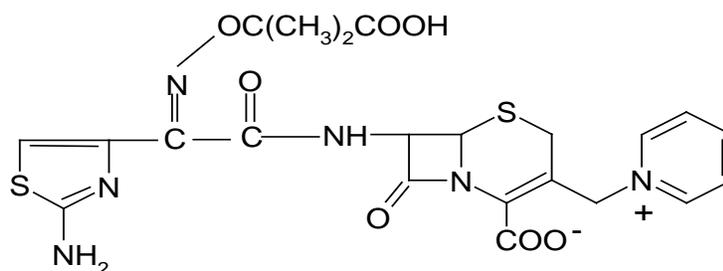


Figura 3. Estructura química de la ceftazidima.

El uso creciente de cefalosporinas se ha asociado en forma progresiva al aislamiento de bacterias resistentes, adquiriendo cada vez mayor importancia los bacilos Gram negativos multiresistentes productores de betalactamasas (22,23). La búsqueda de nuevos antibióticos se orienta actualmente al hallazgo de antimicrobianos sintetizados por microorganismos productores y a la obtención de preparados semi-sintéticos, introduciendo o modificando radicales químicos en moléculas conocidas. Esta última vía permite aumentar el espectro de acción y la actividad del compuesto, así como mejorar la farmacocinética y disminuir su toxicidad (22). A partir del hongo *Cephalosporium acremonium* se aislaron tres sustancias antimicrobianas, la primera llamada cefalosporina P, un esteroide con actividad contra bacterias Gram positivas; la segunda llamada cefalosporina N, con actividad contra Gram negativas, pero que más tarde se demostró que era una penicilina con una cadena lateral aminocarboxibutilo y por lo cual fue renombrada como penicilina N; y la tercera llamada cefalosporina C que es menos activa que la penicilina N contra *Salmonella typhi* y estafilococos, pero que no era destruida por las penicilinasas de los estafilococos y de *Bacillus cereus* y era resistente al ácido, por lo cual se transformó en la base de las cefalosporinas actuales (24). A partir de ella se obtiene el ácido 7-aminocefalosporánico (7-ACA), que ha sido modificado con diferentes cadenas laterales, dando lugar a cuatro generaciones bien diferenciadas. Las variaciones introducidas en C7 del 7-ACA modifican su actividad antibacteriana, la sustitución en la posición 3 del anillo dihidrotiazínico origina modificaciones de carácter farmacocinético, y la presencia del grupo metiltiotetrazol, en la posición 3 del anillo dihidrotiazolidínico, está relacionado con efectos adversos concretos: alteraciones de la coagulación e intolerancia al alcohol. Las moléculas con un grupo metoxi en posición 7 del 7-ACA constituyen el grupo de las cefamicinas. Se está ensayando producir cefalosporinas con efecto antibacteriano dual, las cuales resultan químicamente estables y han demostrado tener una gran actividad contra un amplio número de bacterias Gram positivas y Gram negativas. Estas cefalosporinas de acción dual se crean enlazando quinolonas (ejemplo: ciprofloxacina) a la posición 3' de la

cefalosporinas a través de un enlace éster, a una función carbonato o a una unión a través de un nitrógeno cuaternario (25,26).

Las bacterias sufren mutaciones para evitar ser destruidas por el antimicrobiano, el cual es capaz de penetrar su barrera superficial y fijarse sobre su receptor. Las bacterias son capaces de producir enzimas aptas para paralizar la acción de los antimicrobianos, también pueden cambiar la estructura de las porinas de sus paredes para impedir la entrada de ciertos antimicrobianos o modificar sus sistemas de transporte y, además, pueden alterar drásticamente sus núcleos para bloquear la acción del medicamento (27). En las bacterias, el mecanismo de resistencia más importante, desde el punto de vista clínico, es la producción de β -lactamasas, 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 (28). Estas enzimas rompen el anillo β -lactámico y anulan el efecto del antimicrobiano, ellas se encuentran tanto en microorganismos Gram positivos como en Gram negativos (28,29).

Actualmente la resistencia a ciertos antibióticos por parte de las bacterias y aprovechando los cambios en las propiedades farmacocinéticas de las cefalosporinas al sustituirles radicales; se han desarrollado investigaciones basadas en la búsqueda de compuestos con propiedades bactericidas, a partir de antibióticos betalactámicos unidos a iones metálicos (30-33). En estudios anteriores se ha podido alcanzar hasta un 60% más de efectividad para suprimir bacterias patógenas utilizando compuestos sintetizados a partir de cefalosporinas e iones metálicos (34-36).

Basados en estudios anteriores y estimulados por la creciente resistencia bacteriana a los antibióticos, se estudió, a través de este trabajo, la actividad

antibacteriana de compuestos sintetizados a base de ceftazidima y sales metálicas, caracterizando la estructura química de los compuestos y estableciendo comparaciones entre la actividad de la ceftazidima comercial y los complejos de ceftazidima frente a cepas bacterianas Gram positivas y Gram negativas.

METODOLOGÍA

Síntesis De Los Complejos Metálicos De Cefotaxidima

Para la síntesis de los complejos metálicos de cefotaxidima, se empleó cefotaxidima pentahidratada de laboratorios vitalis y sales metálicas: $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, ZnCl_2 , $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, HgCl_2 y AgNO_3 .

La reacción de la cefotaxidima con las sales se realizó a diferentes relaciones estequiométricas, temperatura, pH y tiempo adecuado y necesario, con lo cual se logró las condiciones más óptimas en la síntesis de los complejos.

Los compuestos se prepararon en proporción equimolar, para ello se procedió a pesar 0,5 mmol de cefotaxidima y 0,5 mmol de cada una de las sales, se disolvieron, por separado, en 5 ml de agua bidestilada y se añadieron en un balón aforado de 25 ml. Estas soluciones se mantuvieron en agitación constante por un tiempo de 24 h, tiempo suficiente para observar la aparición de los precipitados, de colores variables, de acuerdo a la sal metálica empleada. Los precipitados se filtraron y seguidamente se lavaron con agua, metanol y éter etílico. Finalmente, se secaron al vacío y se almacenaron en viales a temperatura ambiente.

Caracterización De La Estructura Química De Los Complejos

La estructura química de los complejos metálicos se determinó a través del empleo de técnicas de análisis fisicoquímicas y espectroscópicas entre las que cuentan:

Análisis Elemental

El porcentaje de carbono, azufre, hidrógeno y nitrógeno se determinó utilizando un analizador elemental marca LECO, modelo CHNS 932.

Medidas De Susceptibilidad Magnética

Se midió la susceptibilidad magnética de los compuestos mediante el empleo de una balanza de susceptibilidad magnética marca Johnson Mathey, las medidas se realizaron a temperatura ambiente con muestras pulverizadas de los complejos y, a partir de las medidas reportadas, se calculó el momento magnético de los complejos.

Espectroscopía Infrarroja

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

Espectroscopía UV-Visible

Se prepararon soluciones de cada uno de los complejos sintetizados a una concentración de 1×10^{-3} mol/l, y se midieron las absorbancias en un espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo Lambda 11, en el Departamento de Química de la Universidad de Oriente, Laboratorio 331.

Espectroscopía De Resonancia Paramagnética Electrónica (RPE)

Se tomaron espectros a los compuestos sintetizados en estado sólido a temperatura ambiente. El espectrómetro utilizado es de marca Bruker, modelo ESC 106, utilizando la banda X de frecuencia de 9,77 GHz.

Actividad Antimicrobiana

Una vez caracterizados los complejos metálicos de ceftazidima, se evaluó la acción antibacteriana de dichos complejos a través de técnicas de difusión en agar y concentración mínima inhibitoria (CMI) en cepas bacterianas nombradas a continuación: *E. coli* (11775), *K. pneumoniae* (23357), *P. aeruginosa* (27853), *S. aureus* (29213) y *B. subtilis* (6051) certificadas por la Colección Americana de Especies y Tipos (ATCC) y en *S. enteritidis* (64) certificada por el Centro de Enfermedades Infecciosas de Atlanta (CDC).

Método De 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 (SFS) 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 se colocó en una estufa a 37°C,

durante 10 minutos, para que la superficie del agar se secase antes de colocar los discos (30). Se seleccionó al azar del lote preparado de placas, 10 de ellas y se incubó a 37°C por un lapso de 24 horas, descartando así cualquier posible contaminante de los medios utilizados. Se prepararon taxos a una concentración de 400 µg/disco. Para obtener esta concentración se preparó una solución de 40 mg/ml de cada complejo y de la ceftazidima, para lo cual se pesó 20 mg de los sólidos y se disolvió en 0,5 ml de nujol. Se impregnaron discos de papel Whatman n° 3 de 5 mm de diámetro, estériles, con 10 µl de las suspensiones y se colocaron sobre la superficie del agar de cada cultivo de las diferentes cepas con la ayuda de una pinza estéril. Las placas se incubaron a 37°C, por 24 horas, en ambiente de aerobiosis, al transcurrir este periodo de tiempo, se evaluó la actividad antibacteriana con la aparición de halos de inhibición alrededor del disco.

La lectura de los halos de inhibición se realizó utilizando una regla graduada y los valores se expresaron en milímetros. Estos ensayos se efectuaron por triplicados y los resultados se reportaron como valores promedios, con los cuales se pudo establecer la comparación entre la capacidad bactericida de la ceftazidima comercial y la capacidad bactericida de sus complejos metálicos frente a los mismos microorganismos.

Método De Concentración Mínima Inhibitoria

A partir de los cultivo puros de 24 horas de crecimiento se tomó un inóculo y se suspendió en SSF estéril hasta alcanzar la turbidez correspondiente a un patrón Mac Farland 0,5. Cada cepa se sembró sobre agar Mueller Hinton, en placa de Petri, utilizando un hisopo estéril impregnado de la suspensión respectiva. Los disco de papel Whatman n° 3 de 5 mm de diámetro fueron impregnados con 10 µl de ceftazidima y de cada uno de los complejos sintetizados en suspensiones de concentración 40, 20, 10, 5, y 2,5 mg/ml para así obtener una proporción de 400, 200,

100, 50 y 25 $\mu\text{g}/\text{disco}$, respectivamente. Para obtener estas concentraciones se procedió de la siguiente manera, se preparó una solución madre de 40 mg/ml de ceftazidima y de cada de los complejos, para lo cual se pesó 20 mg de los sólidos y se disolvió en 0,5 ml de nujol. A partir de esta solución madre se tomaron 250 μl que se mezclaron con 250 μl de nujol para tener una solución 2 de concentración 20 mg/ml. A partir de esta solución se tomaron 250 μl que se mezclaron con 250 μl de nujol para tener una solución 3 de concentración 10 mg/ml, y así sucesivamente. Finalmente se colocaron discos impregnados de las soluciones preparadas con ayuda de una pinza estéril sobre la superficie del agar Mueller Hinton. Posteriormente se incubaron las placas por 24 horas en la estufa a 37°C (30). La presencia de actividad antibacteriana de la ceftazidima y de los compuestos se detectó por la aparición de halos de inhibición alrededor del disco. Estos ensayos se realizaron por triplicado y la lectura de los diámetros se realizó utilizando una regla graduada reportando los valores en milímetros. Todos los complejos resultaron ser insolubles en solventes orgánicos e inorgánicos, por lo que se hizo necesario desarrollar suspensiones de los complejos en nujol.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis Elemental

Los resultados del análisis elemental demostraron que los iones metálicos forman complejos con la ceftazidima deprotonada (ceftaz) en una relación estequiométrica 1:1. El análisis elemental de los complejos sintetizados se muestra en la tabla 1, en la cual se puede apreciar la buena correspondencia entre valores experimentales y calculados (entre paréntesis). Solo se lograron resultados satisfactorios para los iones Mn^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} y Cd^{2+} .

Tabla 1. Análisis elemental de los complejos metálicos obtenidos de la ceftazidima.

Complejos	C%	H%	N%	S%
[Mn(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	40,7 (40,3)	3,6 (3,8)	12,8 (12,8)	9,5 (9,8)
[Fe(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	40,5 (40,2)	3,4 (3,8)	12,9 (12,8)	9,4 (9,8)
[Co(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	39,8 (40,0)	3,6 (3,8)	12,3 (12,7)	9,6 (9,7)
[Ni(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	40,4 (40,1)	3,8 (3,8)	12,8 (12,7)	9,3 (9,7)
[Cu(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	39,6 (39,8)	3,4 (3,8)	12,3 (12,6)	9,9 (9,6)
[Cd(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	37,4 (37,0)	3,8 (3,5)	11,6 (11,8)	8,5 (9,0)

ceftaz: ceftazidima deprotonada; %: porcentajes

La buena correspondencia entre los valores calculados y los valores experimentales ratifican la confiabilidad en la composición de los complejos sintetizados. Los complejos resultaron ser insolubles en agua y solventes orgánicos comunes (etanol, acetona, metanol, DMF, acetonitrilo y DMSO).

Medidas De Susceptibilidad Magnética

En la tabla 2 se aprecian los valores de susceptibilidad magnética (X) medidas por unidad de volumen (R), la susceptibilidad específica medida por gramos (Xg) y la susceptibilidad molar (Xm) calculada, tomando en cuenta las correcciones diamagnéticas del ligando.

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

Complejos	(mg)	XRo	XR	L(cm)	Xg	Xm
[Mn(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	56,5	-30	600	1,5	34,89x10 ⁻⁶	5,51x10 ⁻³
[Fe(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	90,9	-30	400	1,6	15,79x10 ⁻⁶	2,89x10 ⁻³
[Co(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	65,7	-30	460	1,5	23,34x10 ⁻⁶	4,29x10 ⁻³
[Ni(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	54,2	-30	140	1,5	9,81x10 ⁻⁶	1,56x10 ⁻³
[Cu(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	43,4	-30	180	1,4	14,13x10 ⁻⁶	2,26x10 ⁻³
[Cd(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	48,0	-30	-40	1,6	695,3x10 ⁻⁹	-130,02x10 ⁻⁶

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

Momentos Magnéticos

La tabla 3 muestra los momentos magnéticos calculados a partir de medidas de susceptibilidad magnética. 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, y el número de electrones desapareados que presenta el metal.

El momento magnético efectivo experimental se calcula con la siguiente ecuación:

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

Donde:

2,84: constante

X_M^{Corr} : susceptibilidad molar corregida utilizando la constante de Pascal

T: temperatura (K)

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

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

Donde:

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

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

Complejos	μ_{ef} calculados	μ_{ef} teóricos	Electrones desapareados
[Mn(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	3,63	5,72	5
[Fe(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	2,63	4,65	4
[Co(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	4,12	3,87	3
[Ni(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	3,17	2,83	2
[Cu(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	2,22	1,73	1
[Cd(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	0	0	0

El Mn^{2+} en el complejo [Mn(ceftaz)(H₂O)Cl] debería tener un momento magnético de 5,72, el cual es compatible con los sistemas d^5 de alto espín con cinco electrones desapareados. El valor calculado (3,63) está próximo del valor sugerido para tres electrones desapareados, ello implica que el Mn^{2+} posee espín intermedio y es probable que refleje un equilibrio entre sistemas de alto espín (5 electrones desapareados) y sistemas de bajo espín (1 electrón desapareado).

El Fe^{2+} tiene un comportamiento similar al Mn^{2+} . El momento magnético medido es de 2,63 lo que corresponde a un sistema d^2 de espín bajo con dos electrones desapareados.

Dado que el valor experimental obtenido para el momento magnético de Co^{2+} es 4,12, mientras que, el valor teórico para un d^7 de spin alto es de 3,87, se sugiere que el Co^{2+} en el complejo $[\text{Co}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ se encuentra en presencia de un entorno octaédrico.

El valor experimental obtenido para el Ni^{2+} en el complejo $[\text{Ni}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$, es de 3,17, el cual esta cerca del valor esperado para un ión d^8 de spin alto con geometría octaédrica.

El momento magnético experimental para el Cu^{2+} en el complejo $[\text{Cu}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$, es de 2,22, mientras que el momento magnético teórico indicado para un ión d^9 es igual a 1,73, lo que sugiere la presencia de impurezas en el complejo y/o contribución del momento magnético orbital.

El ión Cd^{2+} , en el complejo $[\text{Cd}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$, es un ión que presenta todos sus orbitales llenos, sin electrones desapareados, razón por la cual no presenta momento magnético.

Espectroscopía Ultravioleta – Visible (UV- Visible)

En la tabla 4 se resumen las transiciones de los espectros UV- visible de la ceftazidima y algunos complejos metálicos representativos. Los espectros fueron tomados en suspensiones de nujol, ya que los compuestos son insolubles. Los picos debido a las transiciones d-d son extremadamente débiles.

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

Complejos	Transiciones electrónicas (nm)	
	en el ligando	en el metal
ceftazidima	255-270 300-310 370	-
[Co(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	255-270 300-310 370	480
[Ni(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	255 -270 300-310 370	560-580

El espectro de absorción UV-visible de la ceftazidima y de sus complejos, mostraron picos máximos en 255-270 nm, asignado a la transición $\pi \rightarrow \pi^*$, debido a los niveles de energía de los orbitales moleculares originados en el anillo betalactámico. La banda observada en la región 300-310 nm está relacionada con la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ del grupo tiazol de la ceftazidima. Otra banda se observó en la región que va de 360-380 nm, la cual se atribuye, de acuerdo a la literatura, a las transiciones $n \rightarrow \pi^*$ de los átomos de azufre presente en la ceftazidima (26).

Debido a la instauración de la ceftazidima, la intensa absorción en la región UV tiene una cola en la región del visible, lo que dificulta la observación de las transiciones de los metales, hecho por el cual el espectro de absorción para los complejos [Co(ceftaz)(H₂O)Cl] y [Ni(ceftaz)(H₂O)Cl] se hizo en la región del visible, observándose una absorción máxima para el compuesto de Co²⁺ a 480 nm, mientras el compuesto de Ni²⁺ mostró una banda de absorción en el rango 560-580 nm atribuible a la transición electrónica d-d. Los espectros UV-visible se pueden apreciar desde la figura 4 a la figura 6.

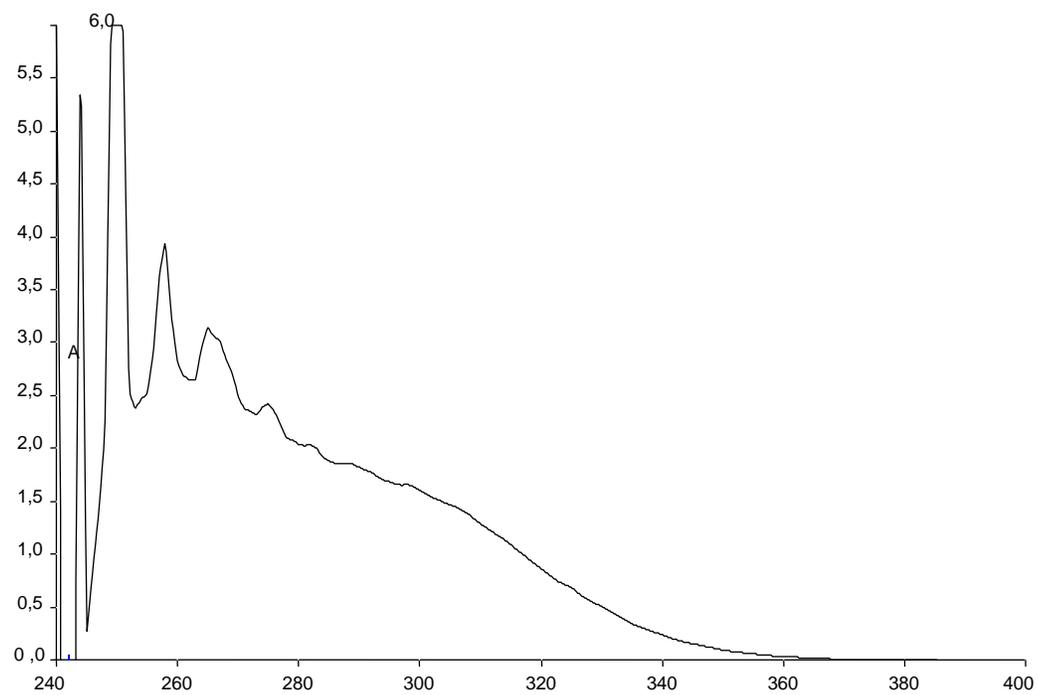


Figura 4. Espectro electrónico de la ceftazidima

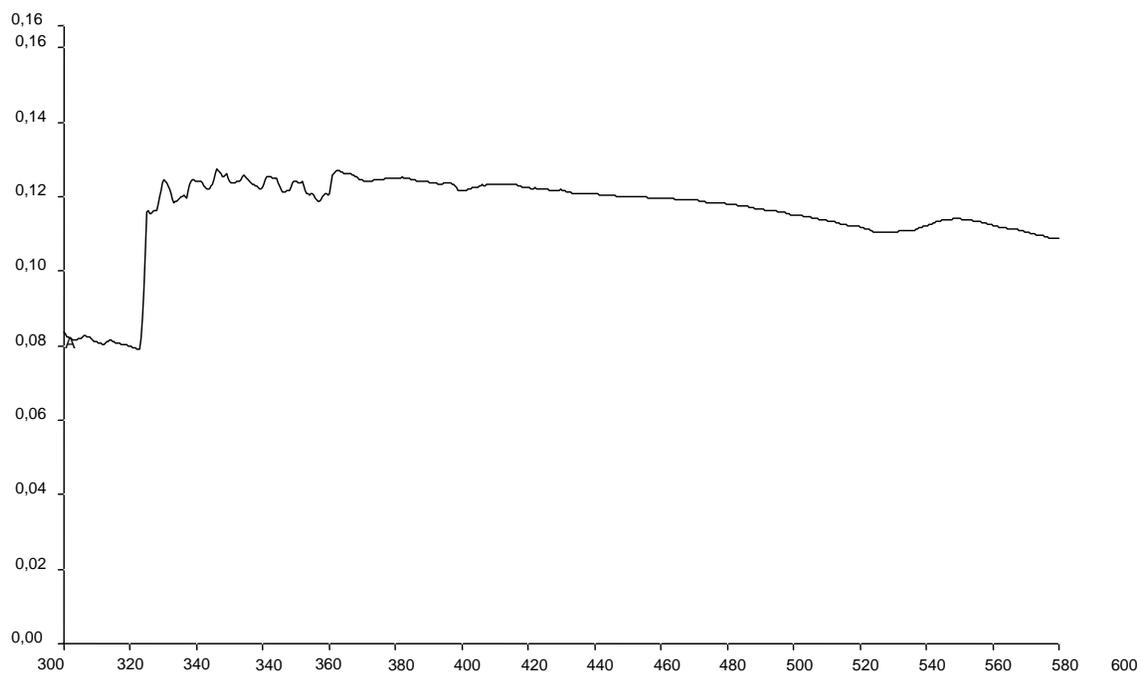
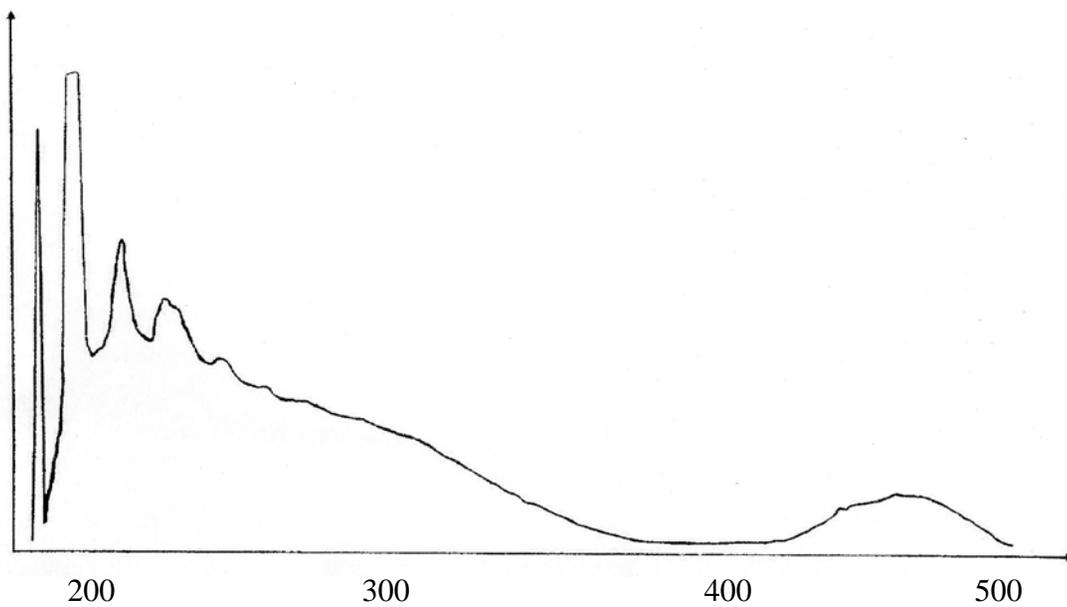


Figura 5. Espectro electrónico del complejo $[Ni(ceftaz)(H_2O)Cl]$.

Wavenumber (cm ⁻¹)	Intensity
3000	100
2900	100
2800	100
2700	100
2600	100
2500	100
2400	100
2300	100
2200	100
2100	100
2000	100
1900	100
1800	100
1700	100
1600	100
1500	100
1400	100
1300	100
1200	100
1100	100
1000	100
900	100
800	100
700	100
600	100
500	100

1. The spectrum shows a broad absorption band between 3000 and 3500 cm⁻¹, characteristic of O-H stretching in alcohols or carboxylic acids.
 2. The sharp peak at approximately 2900 cm⁻¹ is characteristic of C-H stretching in alkanes.
 3. The strong, sharp peak at approximately 1700 cm⁻¹ is characteristic of C=O stretching in carbonyl groups.
 4. The peak at approximately 1600 cm⁻¹ is characteristic of C=C stretching in alkenes.
 5. The peak at approximately 1500 cm⁻¹ is characteristic of C-N stretching in amines.
 6. The peak at approximately 1450 cm⁻¹ is characteristic of C-O stretching in alcohols or ethers.
 7. The peak at approximately 1300 cm⁻¹ is characteristic of C-O stretching in alcohols or ethers.
 8. The peak at approximately 1100 cm⁻¹ is characteristic of C-O stretching in alcohols or ethers.
 9. The peak at approximately 1000 cm⁻¹ is characteristic of C-O stretching in alcohols or ethers.
 10. The peak at approximately 900 cm⁻¹ is characteristic of C-H out-of-plane bending in alkenes.
 11. The peak at approximately 800 cm⁻¹ is characteristic of C-H out-of-plane bending in alkenes.
 12. The peak at approximately 700 cm⁻¹ is characteristic of C-H out-of-plane bending in alkenes.
 13. The peak at approximately 600 cm⁻¹ is characteristic of C-H out-of-plane bending in alkenes.
 14. The peak at approximately 500 cm⁻¹ is characteristic of C-H out-of-plane bending in alkenes.



Los espectros infrarrojos se muestran desde la figura 8 a la figura 14. El espectro infrarrojo de la ceftazidima (figura 8) presenta una banda a 1750 cm^{-1} , correspondiente a la vibración stretching C=O del anillo lactámico, una banda a 1630 cm^{-1} , correspondiente al stretching C=O del grupo amida. Además, presenta una banda a 1570 cm^{-1} , correspondiente al stretching asimétrico del grupo carboxilo (COO), y otra a 1370 cm^{-1} , perteneciente al stretching simétrico del grupo carboxilo (COO). Los complejos metálicos presentan bandas de absorción muy cercanas a la de la ceftazidima comercial, debido a las variaciones en las frecuencias vibracionales del ligando durante la coordinación del metal.

El grupo C=O lactámico aparece en la banda 1750 cm^{-1} en el espectro de la ceftazidima, en tanto que, para los complejos la banda se muestra alrededor de $1660\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$. La banda del carbonilo de la amida aparece a 1630 cm^{-1} , mientras que para los complejos esta banda se muestra en torno a $1610\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$, lo que sugiere más la coordinación del primer grupo con los iones metálicos que del segundo grupo.

La banda a 1570 cm^{-1} corresponde al estiramiento asimétrico del grupo carboxilo, se desplaza a mayores números de onda ($1580\text{-}1610\text{ cm}^{-1}$) después de la complejación con los iones metálicos, lo que indica que el grupo carboxilo está coordinando. Las bandas del grupo carboxilo simétrico también cambian como resultado de la coordinación. Las diferencias entre las frecuencias del grupo carboxilo asimétrico y simétrico resultaron ser igual o mayor a 200 cm^{-1} , lo que indica una unión monodentada para el grupo carboxilo.

Estructura De Los Complejos

La ceftazidima posee varios posibles átomos donantes, pero, debido a sus limitaciones estéricas, puede proporcionar un máximo de cuatro a cualquier centro metálico. El supuesto de que la coordinación de la ceftazidima se produce a través del

grupo carboxilo, el carbonilo del núcleo lactámico y la amina del grupo tiazol parece un probable modelo molecular. Es posible que los iones metálicos en el complejo $[M(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ sean hexacoordinados debido a que contienen un anión cloruro, originando, probablemente, una geometría octaédrica, donde M es igual a Mn^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} y Cd^{2+} (figura 7).

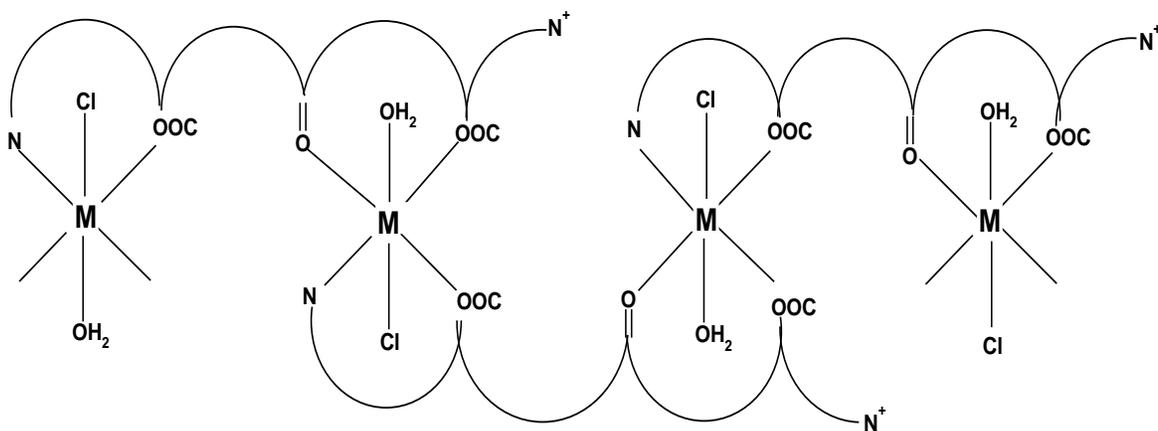
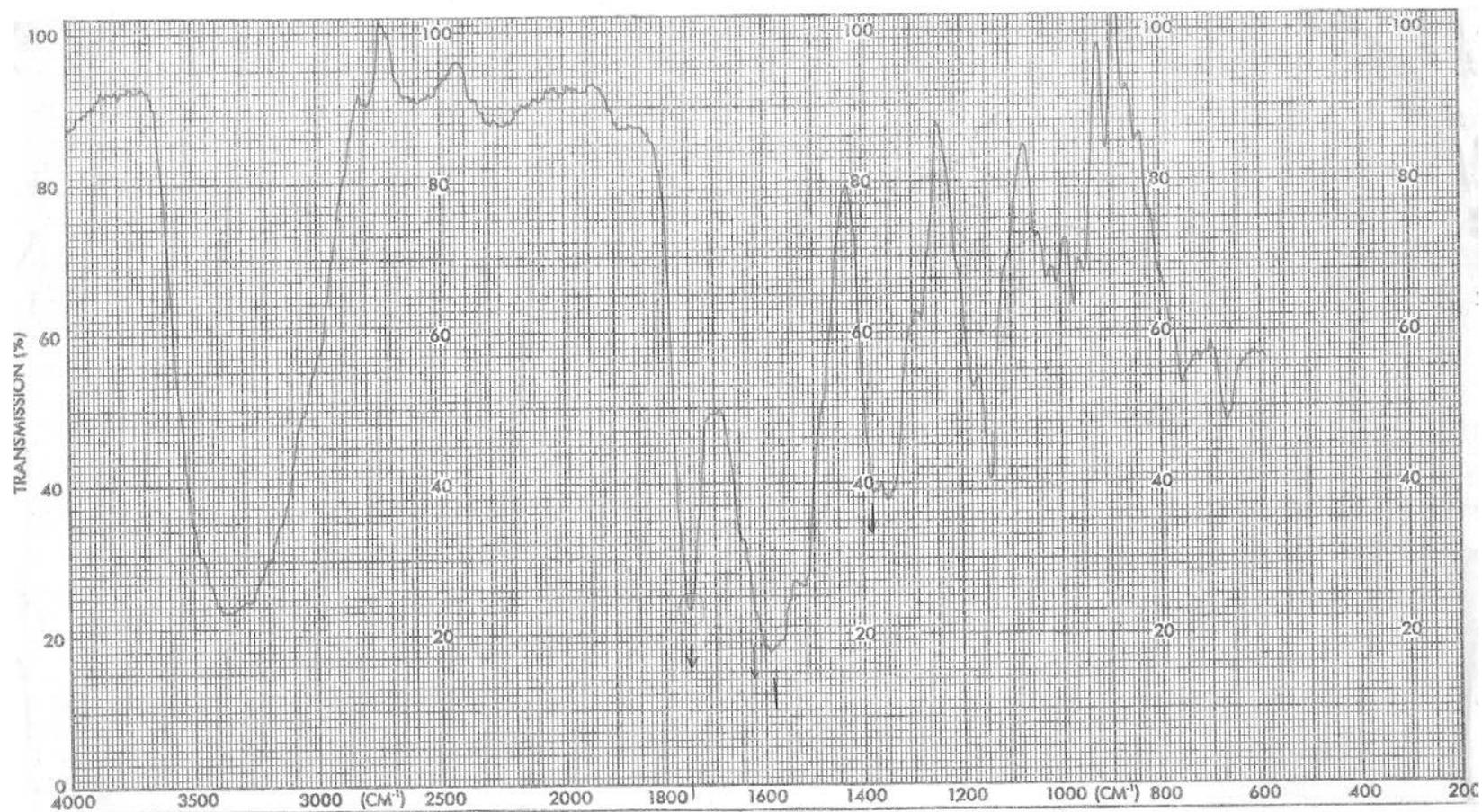


Figura 7. Estructura sugerida para los compuestos metálicos de ceftazidima.



ν (cm⁻¹)

Figura 8. Espectro infrarrojo de la ceftazidima

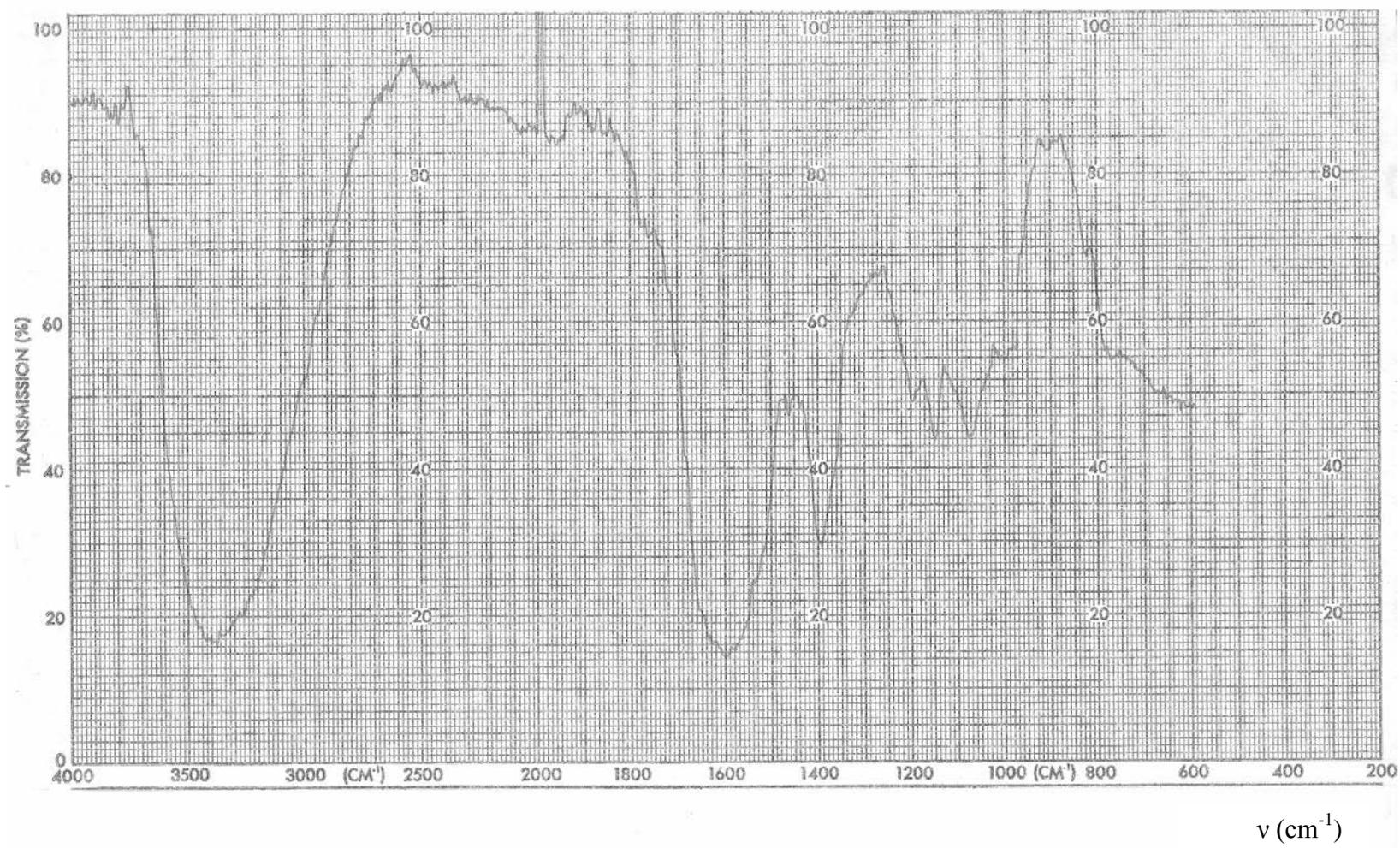


Figura 9. Espectro infrarrojo del complejo [Mn(ceftaz)(H₂O)Cl].

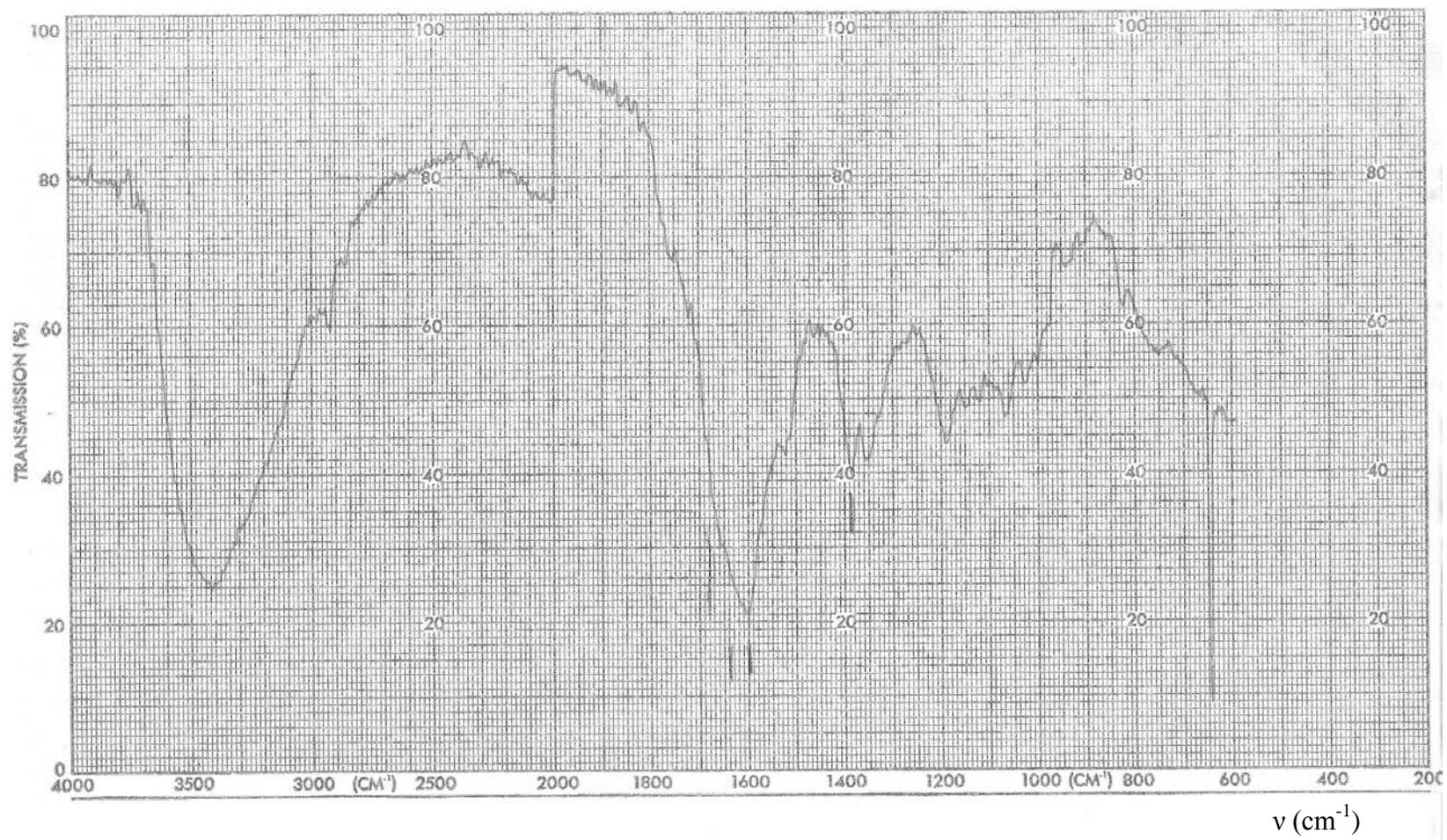


Figura 10. Espectro infrarrojo del complejo $[\text{Cu}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$

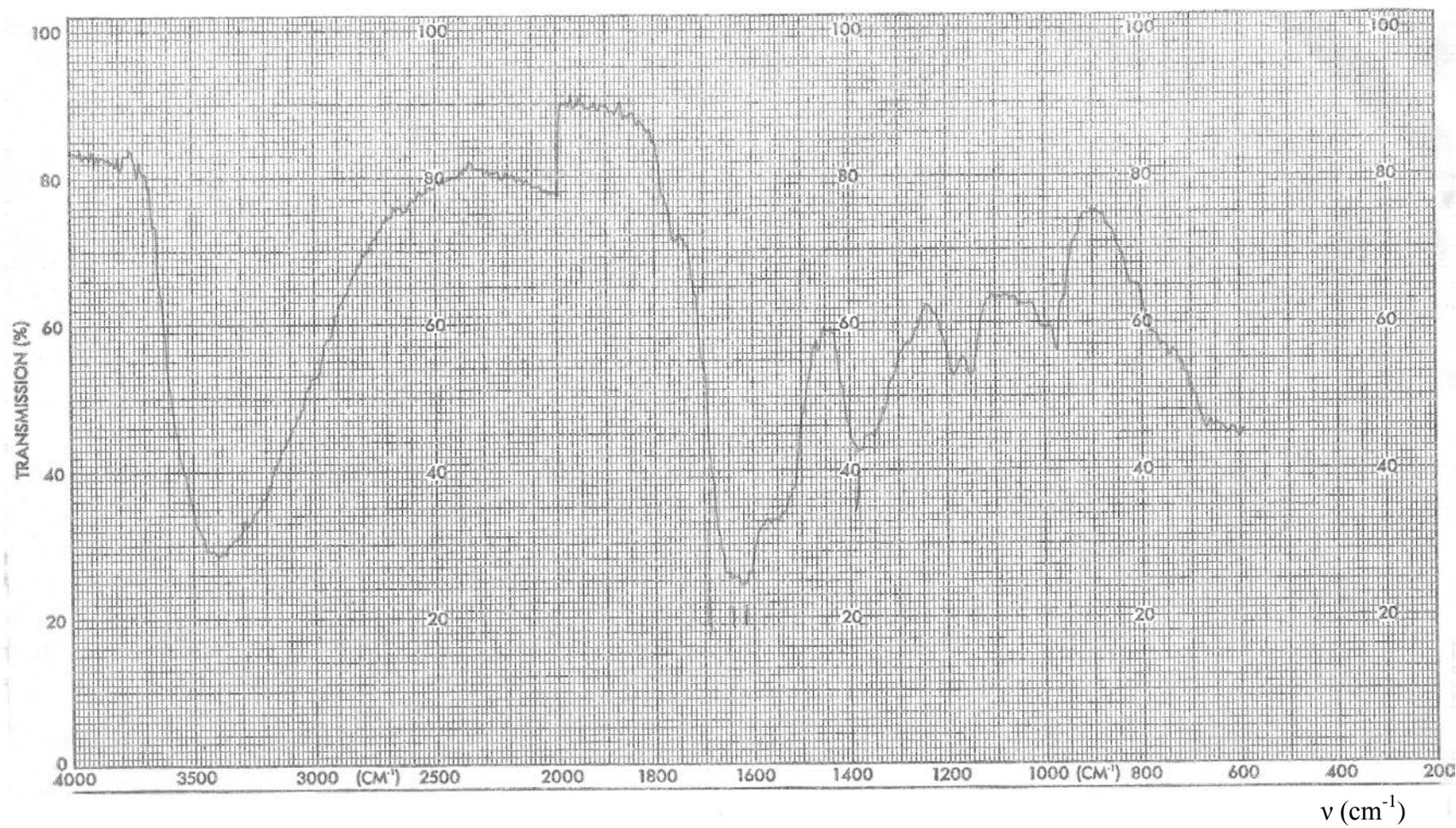


Figura 11. Espectro infrarrojo del complejo $[\text{Fe}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$.

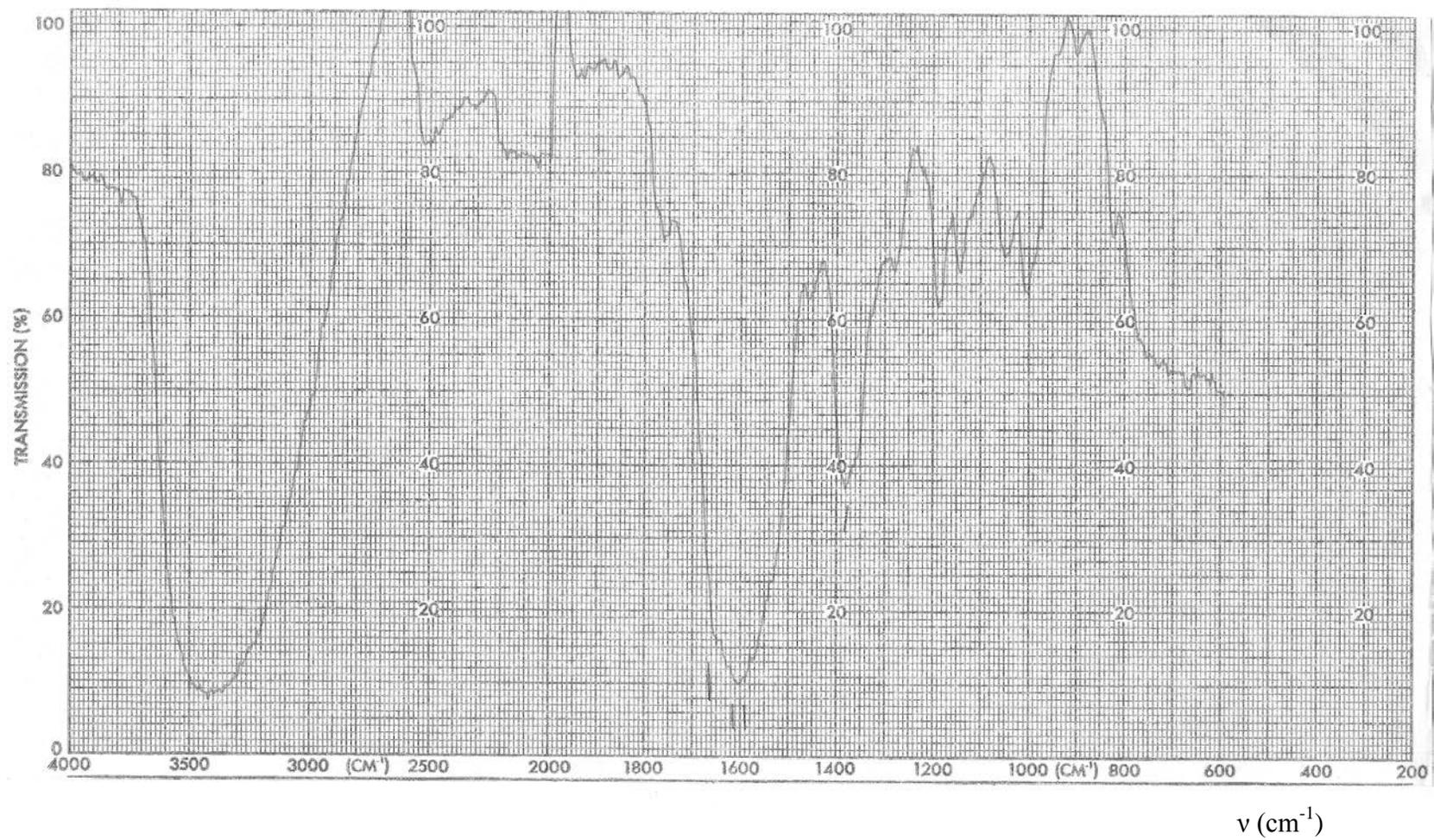


Figura 12. Espectro infrarrojo del complejo $[\text{Co}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$.

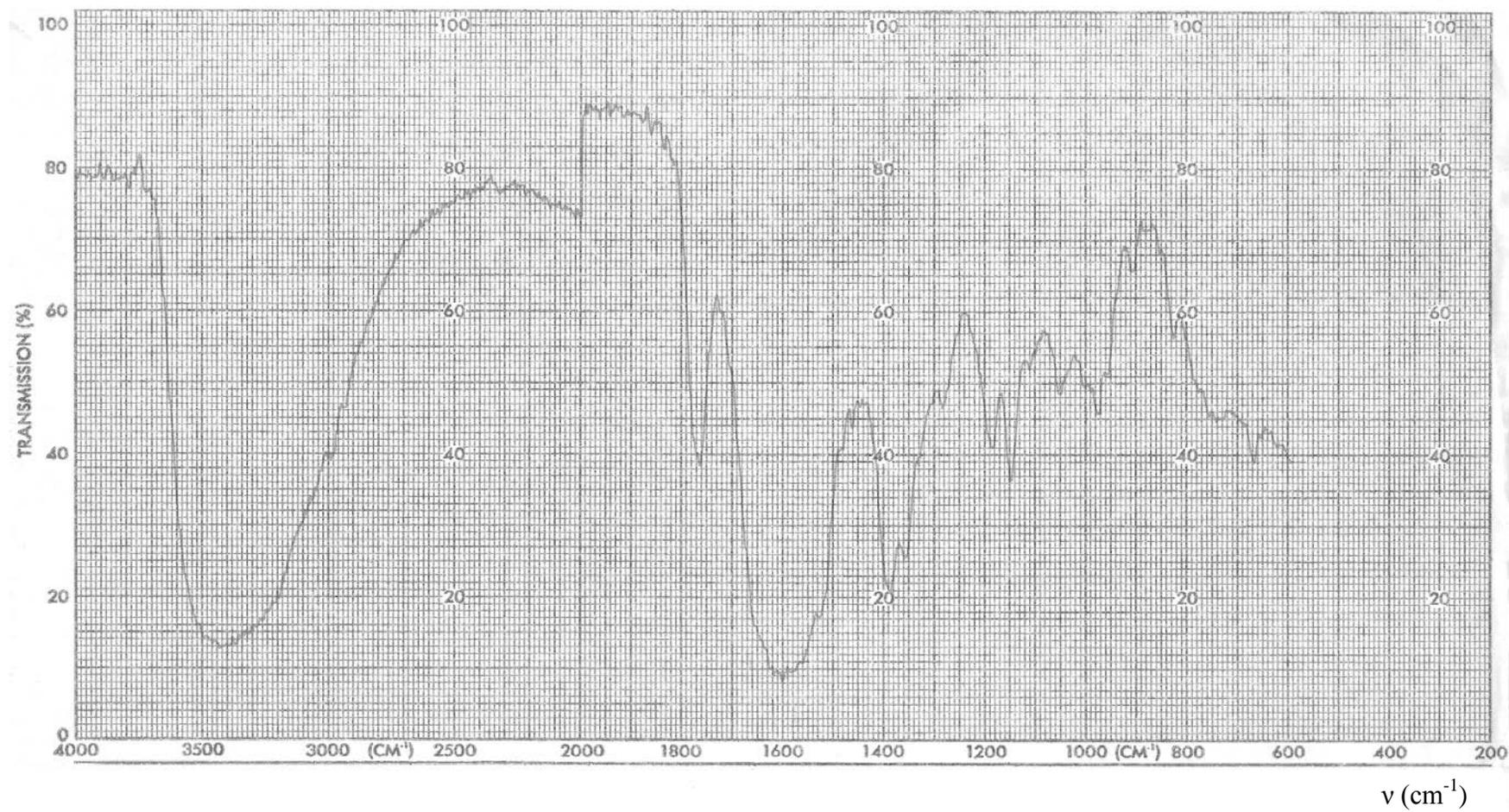


Figura 13. Espectro infrarrojo del complejo $[\text{Ni}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$.

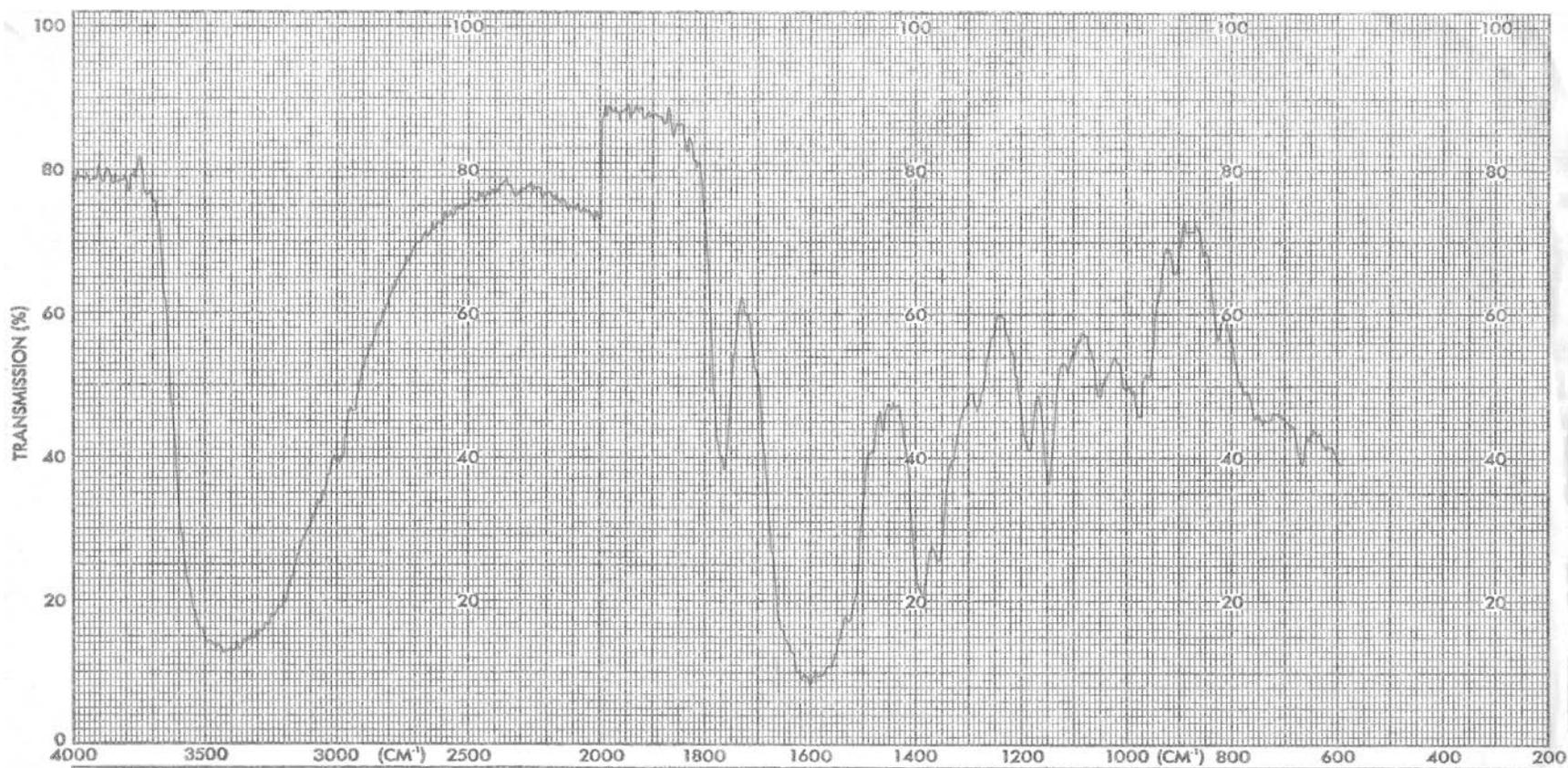


Figura 14. Espectro infrarrojo del complejo $[\text{Cd}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$.

ν (cm^{-1})

Espectroscopia De Resonancia Paramagnética Electrónica (EPR)

La resonancia del espín electrónico o resonancia paramagnética electrónica (EPR) es una técnica que se centra en el estudio de todas aquellas especies que presentan uno o más electrones desapareados. El origen de esta técnica reside en el espín del electrón desapareado y su momento magnético asociado que interactúan con un campo magnético aplicado. La condición resonante es $h\nu = g \mu_B B$ de donde: $g = h\nu / \mu_B B$, h : cte de Planck, μ_B : magneton de Bohr, ν : frecuencia utilizada.

El valor del factor g se determinó desde el espectro, considerando la intensidad del campo magnético B (en Gauss) y la frecuencia utilizada en el espectrómetro (ν en GHz). Los valores de g calculados para Cu^{2+} son los siguientes: $g_{\parallel} = 2,12$ y $g_{\perp} = 2,07$; mientras que en el espectro del complejo de Mn^{2+} se observa una sola banda ancha centrado en $G 3200$, sin estructura hiperfina, debido al espín nuclear ($I=5/2$).

Los espectros EPR se muestran en la figura 15 y en la figura 16. La forma característica de los espectros de EPR para los complejos $[\text{Cu}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ y $[\text{Mn}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ ratifican la presencia de los metales en los complejos.

Los espectros EPR observados para el $[\text{Cu}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ y el $[\text{Mn}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ no muestran señales provenientes de la presencia de radicales libres, los cuales pudieran formarse por oxidación parcial del antibiótico y estabilizados por el metal, como se ha observado en complejos de SN^{2+} con cefradina.

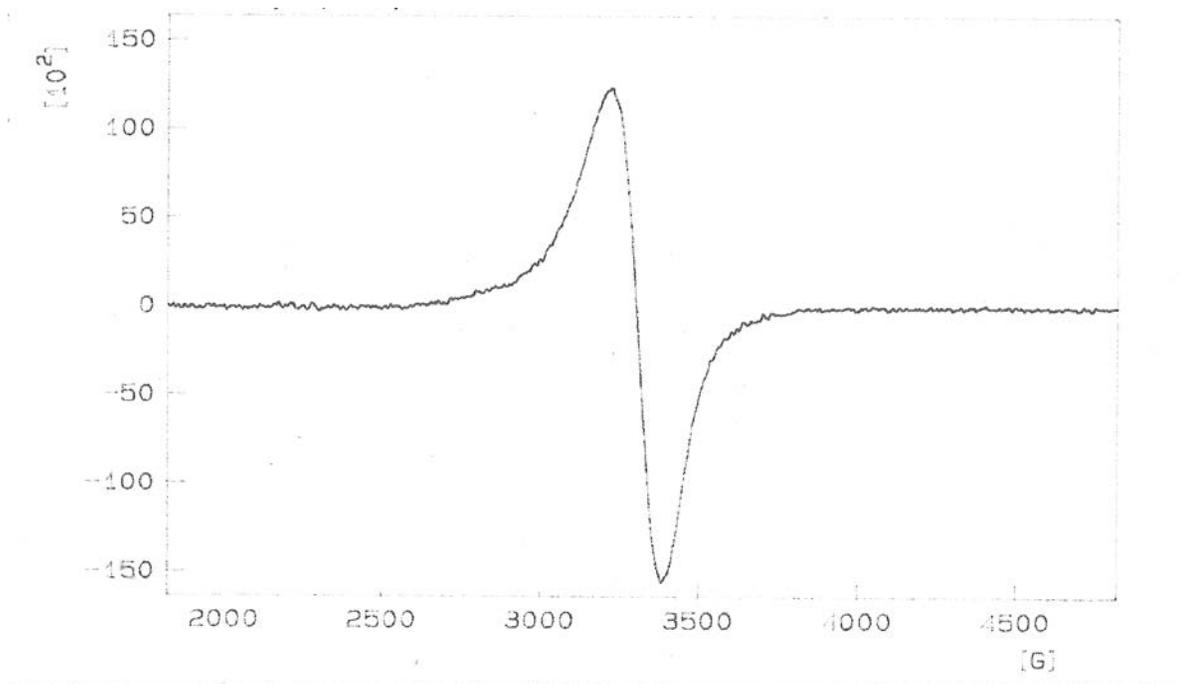


Figura 15. Espectro RPE del [Cu(ceftaz)(H₂O)Cl]

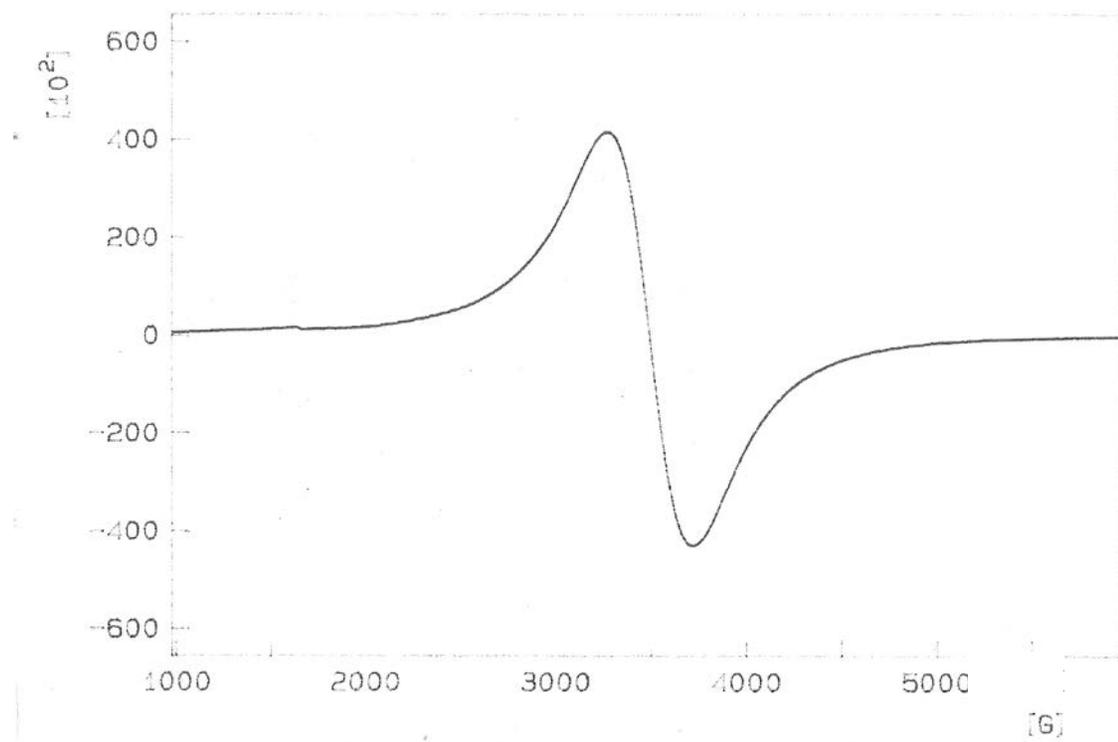


Figura 16. Espectro RPE del [Mn(ceftaz)(H₂O)Cl]

Actividad Biológica

La actividad antibacteriana presentada por ceftazidima y sus complejos metálicos, frente a distintas cepas bacterianas, utilizando el método de difusión en agar se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Halos de inhibición en mm producidos por la ceftazidima y los complejos sintetizados ante las especies bacterianas ensayadas.

Complejos	Conc. μg/disco	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. subtili</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. enteritidis</i>
Ceftazidima	400	23	40	23	35	35	37
[Mn(Ceftaz)(H ₂ O)Cl]	400	0	19	8	19	8	18
[Fe(Ceftaz)(H ₂ O)Cl]	400	0	22	6	18	11	18
[Co(Ceftaz)(H ₂ O)Cl]	400	6	28	6	23	19	23
[Ni(Ceftaz)(H ₂ O)Cl]	400	15	28	14	22	15	25
[Cu(Ceftaz)(H ₂ O)Cl]	400	15	28	15	24	16	25
[Cd(Ceftaz)(H ₂ O)Cl]	400	23	29	36	24	21	25

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

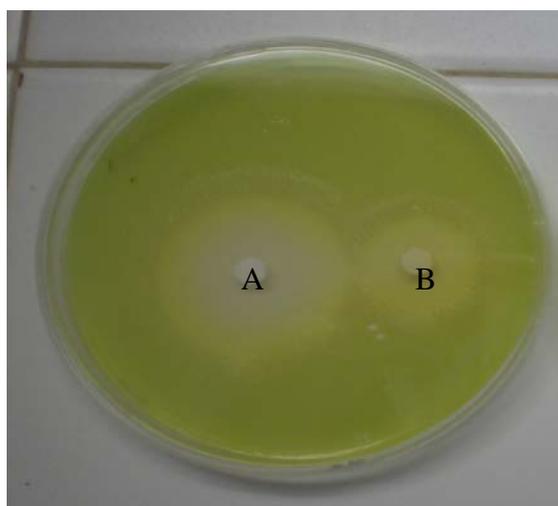
La ceftazidima presentó actividad contra las seis cepas bacterianas ensayadas, presentando una actividad máxima sobre *Escherichia coli*, con un halo de inhibición de 40 mm y una mínima actividad ante *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* con un halo de inhibición de 23 mm para ambas cepas. Al evaluar la actividad del complejo de [Cd(ceftaz)(H₂O)Cl] se observó que presentó mayor actividad antibacteriana sobre la cepa de *Bacillus subtilis* en comparación con la actividad de la ceftazidima

comercial, de igual forma, se pudo notar que este complejo presentó un halo de inhibición de 23 mm sobre la cepa de *Staphylococcus aureus*, siendo este diámetro similar al halo presentado por el taxo preparado con la ceftazidima comercial.

Para los demás complejos sintetizados la actividad antibacteriana fue menor, observándose que produjeron halos de inhibición menores que la ceftazidima libre. Además se pudo apreciar que los complejos de Ni^{2+} , Cu^{2+} y Cd^{2+} fueron los que presentaron mayor actividad antibacteriana en comparación con el resto de los complejos.

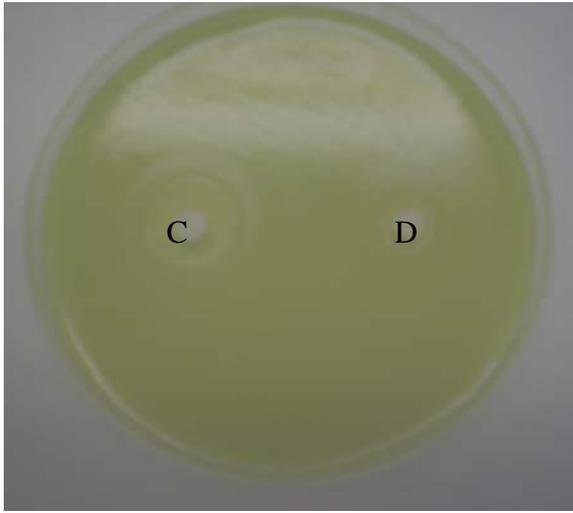
Estos resultados sugieren que la menor actividad antibacteriana presentada por los complejos podría ser atribuida a que las moléculas de los nuevos complejos son de un tamaño mayor que la del compuesto original, lo que disminuye la velocidad de difusión y altera el mecanismo de transporte activo (37). Otro factor que pudo disminuir la eficacia de la actividad de los complejos, fue el hecho de que todos los complejos resultaron ser insolubles en solventes orgánicos e inorgánicos, por lo que se hizo necesario desarrollar suspensiones de los complejos en nujol, lo cual pudo no permitir la difusión en concentraciones y proporciones adecuadas de los complejos sobre la superficie del agar.

Estudios separados se llevaron a cabo con las soluciones por sí solo de nujol y de las sales metálicas, los cuales no mostraron actividad antibacteriana ante las cepas ensayadas.



A: Ceftazidima
B: Compuesto $[\text{Cd}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$

Figura 17. Halos de inhibición de la ceftazidima y del compuesto $[\text{Cd}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$, frente a la cepa de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853.



C: Compuesto $[\text{Ni}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$

D: Compuesto $[\text{Mn}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$

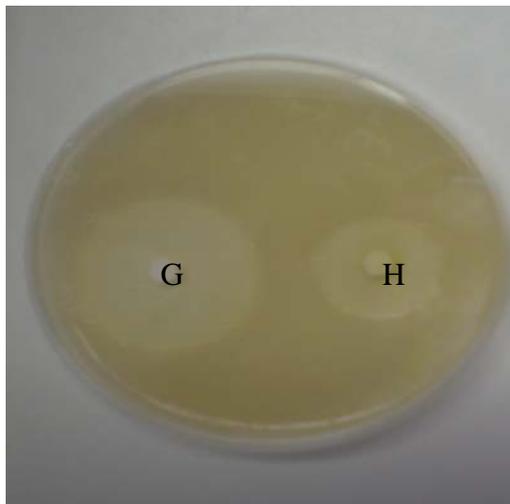
Figura 18. Halos de inhibición de los compuestos $[\text{Ni}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ y $[\text{Mn}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ frente a la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.



E: Compuesto $[\text{Cu}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$

F: Compuesto $[\text{Fe}(\text{eftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$

Figura 19. Halos de inhibición de los compuestos $[\text{Cu}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ y $[\text{Fe}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ frente a la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.



G: Ceftazidima

H: Compuesto $[\text{Cd}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$

Figura 20. Halos de inhibición de la ceftazidima y del compuesto $[\text{Cd}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ frente a la cepa de *Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357.



K L

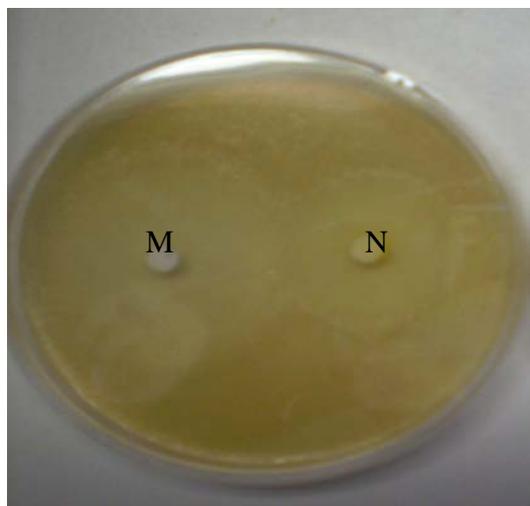
I: Compuesto
 [Ni(ceftaz)(H₂O)Cl]

J: Compuesto
 [Mn(ceftaz)(H₂O)Cl]

 : Compuesto
 [Cu(ceftaz)(H₂O)Cl]

L: Compuesto
 [Fe(ceftaz)(H₂O)Cl]

Figura 21. Halos de inhibición de los compuestos Ni(ceftaz)(H₂O)Cl, [Mn(ceftaz)(H₂O)Cl], [Cu(ceftaz)(H₂O)Cl] y [Fe(ceftaz)(H₂O)Cl] frente a la cepa de *Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357.



M: Cefotaxidima
 N: Compuesto [Cd(ceftaz)(H₂O)Cl]

Figura 22. Halos de inhibición de la cefotaxidima y del complejo [Cd(ceftaz)(H₂O)Cl], [frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 11775.



Ñ: Compuesto $[\text{Ni}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$

O: Compuesto $[\text{Mn}(\text{eftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$

Figura 23. Halos de inhibición de los complejos $[\text{Ni}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$, y $[\text{Mn}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$, frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 11775.



P: Cefazidima

Q: compuesto $[\text{Cd}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$

Figura 24. Halos de inhibición de la cefazidima y del complejo $[\text{Cd}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$, frente a la cepa *Salmonella enteritidis* CDC 64.

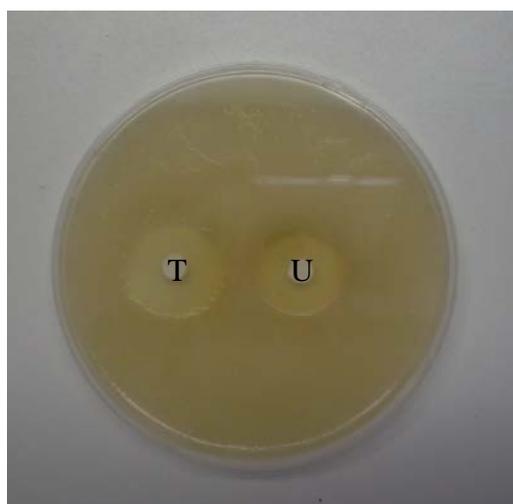


R S

R: Compuesto $[\text{Ni}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$

S: Compuesto $[\text{Mn}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$

Figura 25. Halos de inhibición de los complejos $[\text{Ni}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$, y $[\text{Mn}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ frente a la cepa *Salmonella enteritidis* CDC 64.



T: Ceftazidima

U: Compuesto $[\text{Cd}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$

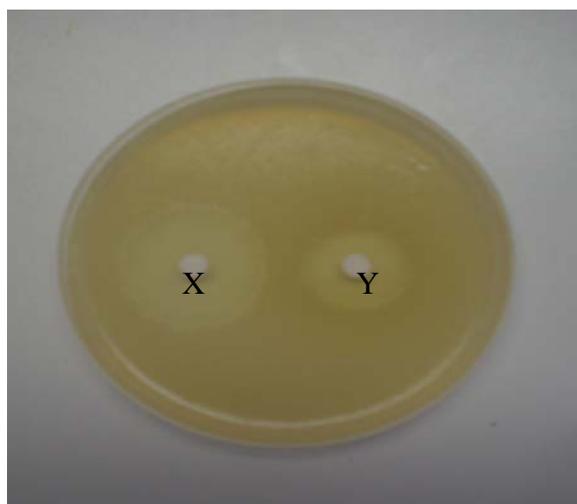
Figura 26. Halos de inhibición de la ceftazidima y del complejo $[\text{Cd}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$, frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.



V: Compuesto $[\text{Fe}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$

W: Compuesto $[\text{Cu}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$

Figura 27. Halos de inhibición de los compuestos $[\text{Cu}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ y $[\text{Fe}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.



X: Compuesto $[\text{Cd}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$

Y: Ceftazidima

Figura 28. Halos de inhibición de la ceftazidima y del complejo $[\text{Cd}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$, frente a la cepa *Bacillus subtilis* ATCC 6051.

Sensibilidad de la ceftazidima y sus complejos a diferentes concentraciones

En la tabla 7 se pueden apreciar los resultados obtenidos para la prueba de sensibilidad a diferentes concentraciones.

Inicialmente se observó que la ceftazidima comercial presentó actividad antibacteriana hasta los 25 µg/disco frente a las cepas de *Salmonella enteritidis*, *Pseudomona aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*, mientras que, frente a las cepas *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* mostró actividad antibacteriana hasta los 50 µg/disco.

Con respecto al complejo de Cd^{2+} se pudo apreciar que presentó actividad antibacteriana hasta los 25 µg/disco ante la cepa *Bacillus subtilis* mientras que la ceftazidima comercial fue efectiva solo hasta los 50 µg/disco, lo cual evidencia la mayor eficacia del complejo sobre este microorganismo.

La concentración mínima inhibitoria del resto de los complejos sobre las diferentes cepas fue igual y en su mayoría mayor a la presentada por la ceftazidima comercial, lo cual indica que en general no hubo un aumento de la actividad antibacteriana de la ceftazidima al estar unida al metal como se ha observado con otros antibióticos, como es el caso de la cefazolina unida a metales (31).

Tabla 7. Halos de inhibición en mm de la ceftazidima y complejos sintetizados utilizando discos a diferentes concentraciones.

Complejos	Conc. $\mu\text{g}/\text{disco}$	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. Pneumoniae</i>	<i>B. subtilis</i>
Ceftazidima	400	23	40	37	35	35	23
	200	13	23	28	29	30	19
	100	9	17	20	19	23	13
	50	CMI	CMI	11	14	13	CMI
	25	-	-	CMI	CMI	CMI	-
[Mn(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	400	-	19	18	8	19	CMI
	200	-	16	10	CMI	11	-
	100	-	11	CMI	-	CMI	-
	50	-	CMI	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-	-
[Fe(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	400	-	22	18	11	18	CMI
	200	-	17	14	9	14	-
	100	-	13	CMI	CMI	10	-
	50	-	CMI	-	-	CMI	-
	25	-	-	-	-	-	-
[Co(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	400	CMI	28	23	19	23	CMI
	200	-	20	17	15	13	-
	100	-	13	12	CMI	CMI	-
	50	-	CMI	CMI	-	-	-
	25	-	-	-	-	-	-
[Ni(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	400	15	28	25	15	22	14
	200	11	20	18	9	19	CMI
	100	CMI	13	11	CMI	14	-
	50	-	CMI	CMI	-	CMI	-
	25	-	-	-	-	-	-
[Cu(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	400	15	28	25	16	24	15
	200	10	21	19	11	19	13
	100	CMI	13	13	CMI	13	CMI
	50	-	CMI	CMI	-	CMI	-
	25	-	-	-	-	-	-
[Cd(ceftaz)(H ₂ O)Cl]	400	23	29	25	21	24	36
	200	15	21	20	17	20	30
	100	10	14	14	13	13	21
	50	CMI	CMI	CMI	CMI	CMI	14
	25	-	-	-	-	-	CMI

-: sin inhibición de crecimiento; CMI: concentración mínima inhibitoria

CONCLUSIONES

Los complejos metálicos de la ceftazidima libre poseen una composición $[M(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ ($M = \text{Mn}^{2+}, \text{Fe}^{2+}, \text{Co}^{2+}, \text{Ni}^{2+}, \text{Cu}^{2+}$ y Cd^{2+}), basado en sus comportamientos espectroscópicos y fisicoquímicos.

En los complejos metálicos la ceftazidima actúa como un ligando tetradentado monoaniónico, originando estructuras con geometría octaédrica en torno al metal.

La naturaleza de los complejos metálicos formados sugiere que son compuestos poliméricos, dado a que funden a más de 300°C y a la insolubilidad que presentan en solventes comunes.

La actividad antibacteriana de la ceftazidima, al estar unida al metal, en la mayoría de los casos, se encuentra reducida pero no eliminada, como sucede en los complejos de $[\text{Mn}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ y $[\text{Fe}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ frente a la cepa *E. coli*.

La actividad antibacteriana del complejo $[\text{Cd}(\text{ceftaz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ fue mayor ante la cepa de *B. subtilis* en comparación con la actividad de la ceftazidima libre.

De acuerdo a la concentración mínima inhibitoria el complejo de Cd^{2+} inhibe la especie *B. subtilis* a menores concentraciones, en comparación con la ceftazidima libre.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lynch, M.; Raphael, S.; Mellor, L.; Spare, P. y Inwood, M. 1980. *Métodos de laboratorio* 2. Segunda edición. Nueva Editorial Interamericana. México, D.F.

2. Novedades. "Resistencia a los Antibióticos". Diciembre 1998. <<http://www.Medsch.Educ/clinsci/ameg.htm>> (26/05/2005).
3. Davis, B.; Dulbeco, R.; Eisen, H. y Ginsberg, H. 1984. *Tratado de microbiología*. Tercera edición. Ediciones Salvat. España.
4. Goodman, A.; Rall, T.; Nies, A. y Taylor, P. 1991. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. En: *Agentes Antimicrobianos. Consideraciones Generales*. Sande, M. (ed). Octava edición. Editorial Médica Panamericana, Argentina.
5. Ianes, E. 1996. "Agentes Microbianos y Microorganismos". <[http:// www.edu.Micro.Usal. Es/mg2F96/tema 20.html](http://www.edu.Micro.Usal.Es/mg2F96/tema 20.html)> (09/08/2004).
6. Atlas, R. 1990. *Microbiología, fundamentos y aplicaciones*. Compañía Editorial Continental, S.A. México, D.F.
7. Katzung, B. y Trevor, A. 1991. *Farmacología*. Manual Moderno, S.A., México, D.F.
8. Sanders, C. 1992. Betalactamasas de bacterias Gram negativas: Nuevos desafíos para nuevas drogas. *Clin. Infect. Dis.*, 14: 1089-1099.
9. Neu, C. 1986. Beta-lactam antibiotics structural relationships affecting *in vitro* activity and pharmacological properties. *Rev. Infect.Dis.*, 8(3): 237-259.
10. Zemelman, R.; Norambuena, R.; Vergara, L. y Gacitua, R. 1987. los antibióticos B-lactámicos: agrupación según su estructura química y sus propiedades bacteriológicas. *Rev. Méd. Chile*, 115: 983-991.
11. Turnidge, D. 1998. The pharmacodynamics of B-lactams. *Clin. Infect. Dis.*, 27: 10-22.
12. 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.
13. Adu, A. y Armour, L. 1995. Drug utilization review (DUR) of the third generation cephalosporins. *Drugs*, 50: 423-439.
14. Tomasz, A. 1986. Penicillin-binding proteins and the antibacterial effectiveness of B-lactam antibiotics. *Rev. Infect. Dis.*, 8(3): 260-278.

15. Zemelman, R.; Bello, H.; Domínguez, M.; González, G.; Mella, S. y García, A. 1993. Activity of imipenem. Third-generation cephalosporins, aztreonam, and ciprofloxacin against multi-resistant Gram negative bacilli isolated from Chilean hospitals. *J. Antim. Chem.*, 32: 413-419.
16. López, F. y Garrido, J. 1989. Química y relación estructura-actividad de los antibióticos cefalosporínicos. *Rev. Col. Quím. Farm.*, 41: 5-14.
17. Klein, N. y Cunha, B. 1995. Cefalosporinas de la tercera generación. *Clin. Med. Nort. Am.*, 79: 693-707.
18. Barradell, L. Y Bryson, H. 1994. Cefepime. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs*, 47: 471-505.
19. Pitout, J.; Sanders, C. Y Sanders, W. 1997. Antimicrobial resistance with focus on B-lactam resistance in Gram negative bacilli. *Am. J. Med.*, 103: 51-59.
20. Summers, A. 1993. Antimicrobial agents and chemotherapy. *Mundo Científico*, 197(1): 51-52.
21. Rains, C.; Bryson, H. y Peters, D. 1995. Ceftazidime an update of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy. *Drugs*, 49: 577-617.
22. Jones, R. 1998. Important and emerging B-lactamase mediated resistances in hospital-based pathogens: the Amp. C enzymes. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 31: 461-466.
23. Davies, V. "Antibióticos y bacterias libran batalla del bien contra el mal". El Nacional, 5 de febrero de 2006. Pág. B/19.
24. Katzung, B. 2001. *Farmacología básica y clínica*. Manual Moderno, S.A., México, D.F.
25. Castellanos, A.; Rodríguez, N. y García, R. 1996. Antibióticos. *Bol. Hosp. Niños*, 32(3): 11-30.
26. Baldo, B. 1999. Penicillins and cephalosporins as allergens-structural aspects of recognition and cross-reactions. *Clin. Exp. Allergy*, 29(6): 744-749.
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. Bush, K. 1988. Betalactamase inhibitors from laboratory to clinic. *Rev. Clin. Microbiol*, 1: 109-123.
29. Reynolds, P. 1993. Resistance of the antibiotic target site. *Brit. Med. Bull.*, 40: 36-37.

30. Balant, L.; Dayer, P. y Auckenthaler, R. 1985. Clinical pharmacokinetics of the third generation cephalosporins. *Clin. Pharmack.*, 10: 101-143.
31. Anacona, J. y Álvarez, P. 2002. Synthesis and antibacterial activity of metal complexes of cefazolin. *Trans. Metal Chem.*, 27: 856-860.
32. Anacona, J. y Serrano, J. 2003. Synthesis and antibacterial activity of metal complexes of cephalothin. *J. Coord. Chem.*, 56: 313-320.
33. Anacona, J. y Rodríguez, I. 2004. Synthesis and antibacterial activity of cephalexin metal complexes. *J. Coord. Chem.*, 57: 1263-1269.
34. Anacona, J. y Gil, C. 2005. Synthesis and antibacterial activity of cefoxitin metal complexes. *Trans. Metal Chem.*, 30: 605-609.
35. Anacona, J. y Rodríguez, A. 2005. Synthesis and antibacterial activity of ceftriaxone metal complexes. *Trans. Metal Chem.*, 30: 897-901.
36. Anacona, J. y Estacio, J. 2006. Synthesis and antibacterial activity of cefixime metal complexes. *Trans. Metal Chem.*, 31: 227-231.
37. Pla, M. 1990. Mecanismos de acción de los agentes antimicrobianos. *Act. Infectol*, 1: 2-3.

Hoja de Metadatos

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

título	Síntesis, Caracterización y actividad biológica de compuestos metálicos de ceftazidima
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Patiño Mago Candy Mabel	CVLAC	15.935.478
	e-mail	Candy7114@hotmail.com
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Ceftazidima
Complejos metálicos
Resistencia bacteriana

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

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail
Juan Roberto Anacona	ROL CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC
	e-mail
	e-mail
Militza Guzmán	ROL CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC
	e-mail
	e-mail
Oscar Crescente	ROL CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC
	e-mail
	e-mail
	ROL CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC
	e-mail
	e-mail

Fecha de discusión y aprobación:

Año Mes Día

2008	10	16
------	----	----

Lenguaje: SPA

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

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis_PMCM.doc	Application/Word

Alcance:

Espacial : Universal (Opcional)

Temporal: Intemporal (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciado en Bioanálisis.

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciatura

Área de Estudio:

Bioanálisis

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

Universidad de Oriente Núcleo de Sucre

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

Derechos:

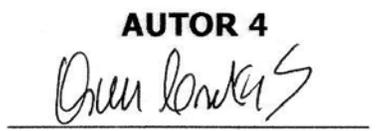
Los autores nos reservamos los derechos de propiedad intelectual así como todos los derechos que pudieran derivarse de patentes industriales o comerciales. Solo le damos el derecho de publicar el resumen de dicho trabajo.


AUTOR 1
Candy Patiño

AUTOR 2

AUTOR 3


TUTOR
Dr. Juan Anacona


JURADO 1
Oscar Crescente


JURADO 2
Militza Guzman

POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS:



