



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

SÍNTESIS Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE COMPUESTOS DE
COBRE(II) QUE CONTIENEN SULFATIAZOL Y CEFALOSPORINAS
(Modalidad: Investigación)

Ivor Enrique Osorio Morales

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

CUMANÁ, 2008

SÍNTESIS Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE COMPUESTOS DE COBRE(II)
QUE CONTIENEN SULFATIAZOL Y CEFALOSPORINAS

APROBADO POR:

Dr. Juan R. Anacona
Asesor

Jurado Principal

Jurado Principal

DEDICATORIA

A Dios, Jesucristo, Buda y Krishna por ser mis fuentes de inspiración para el crecimiento espiritual.

A mis padres por haberme dado la vida y por ser guías fundamentales en el desarrollo de mi persona.

A la memoria de mis abuelos Cruz, Emilia y Enrique Osorio.

A la memoria de mi tía Carmen Nuñez.

A mis hermanos que siempre han estado a mi lado a pesar de las adversidades.

AGRADECIMIENTO

Al. Dr. Juan Roberto Anacona, cuyos conocimientos y condición de asesor hizo posible la elaboración de mi Tesis de Grado.

Al personal del Laboratorio de Bacteriología del Hospital Dr. Julio Rodríguez, coordinado por la Lic. Ana Margarita Serrano.

A los profesores: Erasto Bastardo y Ramón Hurtado.

A mis compañeros de trabajo del Laboratorio 306 del Departamento de Química: Javier Santaella, José Mora, Candy y Luis Beltrán por brindarme su ayuda y su amistad.

A mi novia Maried López quien me ayudó siempre en la elaboración de mi Tesis de Grado.

A todos mis compañeros de clases.

Gracias...

ÍNDICE

	Pág.
LISTA DE TABLAS.....	VI
LISTA DE FIGURAS.....	VII
RESUMEN.....	VIII
INTRODUCCIÓN.....	1
METODOLOGÍA.....	10
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	15
CONCLUSIONES.....	30
BIBLIOGRAFÍA.....	31
ANEXOS.....	34

LISTA DE TABLAS

	Pág.
1. Análisis elemental de los compuestos de cobre(II) sintetizados.....	15
2. Medidas de susceptibilidad magnética de los compuestos sintetizados...	16
3. Momentos magnéticos de los compuestos de cobre(II).....	17
4. Conductividad molar de los compuestos de cobre(II).....	18
5. Principales bandas de infrarrojo de la cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima, y los compuestos de cobre(II).....	29
6. Resumen de los espectros UV-visible de la cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima y los compuestos de cobre(II).....	22
7. Diámetros de inhibición producidos por la cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima y los compuestos de cobre(II) sintetizados, sobre las especies bacterianas certificadas.....	24
8. Concentración mínima inhibitoria de los compuestos sintetizados.....	27

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
1. Ácido 6- aminopenicilánico.....	4
2. Núcleo de las cefalosporinas.....	4
3. Estructura de algunas cefalosporinas.....	6
4. Fórmula estructural del sulfatiazol (Hstz).....	7
5. Estructura sugerida para el compuesto [Cu(cefazol)(stz)(H ₂ O)]·2H ₂ O.....	20
6. Estructura sugerida para el compuesto [Cu(cefalot)(stz)(H ₂ O) ₂]·8H ₂ O.....	20
7. Estructura sugerida para el compuesto [Cu(cefotax)(stz)(H ₂ O) ₂]·H ₂ O.....	21
8. Estructura sugerida para el compuesto [Cu(ceftria)(Hstz)]·7H ₂ O.....	21
9. Estructura sugerida para el compuesto [Cu(cefepima)(stz)(H ₂ O)Cl]·4H ₂ O	22
10. Halos de inhibición de la cefepima [Cu(cefepima)(stz)(H ₂ O)Cl]·4H ₂ O, frente a la cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 11775.....	26
11. Halos de inhibición de la cefepima y [Cu(cefepima)(stz)(H ₂ O)Cl]·4H ₂ O, frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.....	26
12. Halos de inhibición de la cefepima y [Cu(cefepima)(stz)(H ₂ O)Cl]·4H ₂ O, frente a la cepa de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27

RESUMEN

Se sintetizaron nuevos complejos de cobre(II) haciendo reaccionar separadamente el $\text{CuCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y sulfatiazol con las cefalosporinas cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona y cefepima para obtener los siguientes complejos mixtos: $[\text{Cu}(\text{cefazol})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})]$, $[\text{Cu}(\text{cefalot})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2]$, $[\text{Cu}(\text{cefotax})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2]$, $[\text{Cu}(\text{ceftria})(\text{Hstz})]$ y $[\text{Cu}(\text{cefepima})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$. Para la caracterización de los complejos se utilizaron técnicas espectroscópicas de infrarrojo, ultravioleta-visible, resonancia paramagnética de spin y técnicas de análisis elemental, susceptibilidad magnética y conductividad molar. Los espectros indicaron que la mayoría de las cefalosporinas actúan, probablemente, como ligandos monoaniónicos multidentados, a excepción de la ceftriaxona la cual es dianiónica. La actividad antibacteriana de los complejos sintetizados fue ensayada frente a las cepas de *Escherichia coli* ATCC 11775, *Salmonella enteritidis* CDC 64, *Pseudomonas aeruginosa* (de adquisición hospitalaria), *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357 y *Bacillus subtilis* ATCC 6051, utilizando la técnica de difusión en disco y concentración mínima inhibitoria siendo, el complejo de cobre(II) con cefepima y sulfatiazol el que presentó mejor actividad antibacteriana frente a las cepas de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

INTRODUCCIÓN

En la ciencia médica han habido grandes avances, uno de los más resaltantes fue desarrollado por el investigador Paul Ehrlich en la primera década del siglo XX; con sus experimentos descubrió las arsfenaminas, estableció los principios de toxicidad selectiva y reconoció las relaciones químicas específicas entre los parásitos y los agentes antimicrobianos (1).

Años más tarde, se anuncia el descubrimiento de un hongo que formaba un anillo verde en los cultivos de *Staphylococcus aureus* y que destruía esta bacteria alrededor de él; este hongo fue cultivado y se encontró que el caldo de cultivo diluido detenía el desarrollo de bacterias patógenas. Este hongo resultó ser una especie de *Penicillium*, su descubridor lo designó con el nombre de penicilina. Se comprobó que en soluciones diluidas, la penicilina era eficaz contra infecciones causadas por estafilococos, estreptococos, y bacilos de la gangrena, que su toxicidad era muy baja y que podía llegar a aplicarse en dosis superiores a la necesaria. En 1949 se disponía de penicilinas para uso clínico, en cantidades prácticamente ilimitadas, en especial de penicilina G (2).

Waksman, en 1947, definió los antibióticos como sustancias antimicrobianas producidas por microorganismos o productos análogos originados en seres vegetales o animales. En la práctica actual, el término designa aquellas sustancias de origen microbiano utilizados en el tratamiento de procesos infecciosos (1).

Algunos antibióticos que anteriormente eran sintetizados en forma biológica, son elaborados por síntesis química, como el cloranfenicol, o por semisíntesis, como ciertos tipos de penicilina; quizás el término genérico de quimioterapéutico sea el más adecuado para designar a todos los compuestos antimicrobianos (1,3). Los microorganismos que producen los diferentes antibióticos tienen una amplia distribución en la naturaleza, donde juegan un papel importante en la regulación de las poblaciones microbiológicas del suelo, el agua, las aguas servidas y el estiércol (4).

Los antimicrobianos de uso sistémico deben reunir los siguientes criterios para su mejor efectividad, ser más bactericidas que bacteriostáticos, mantenerse activos en presencia de plasma y líquidos corporales, ser efectivos frente a un amplio espectro de microorganismos, los microorganismos susceptibles no se deben volver resistentes genética o fenotípicamente, ser hidro y liposolubles, no deben ser tóxicos y los efectos colaterales adversos tienen que ser mínimos para el huésped (5).

Los antibióticos se pueden clasificar dependiendo de su estructura química en: betalactámicos, quinolonas, aminoglucósidos, sulfamidas y macrólidos. Según su mecanismo de acción sobre las estructuras celulares, se clasifican en inhibidores de la síntesis de la pared celular, inhibidores de las funciones de la membrana celular, e inhibidores de la síntesis proteica y de la síntesis de ácidos nucleicos (6,7).

Para que un antibiótico ejerza su acción, es necesario que llegue al foco infeccioso, penetre en las bacterias (por difusión o transporte activo) y alcance intracelularmente la concentración necesaria. De acuerdo con su efecto sobre las bacterias, el antibiótico puede ser bacteriostático, si inhibe la multiplicación de forma reversible, o bactericida, si tiene efecto letal (7).

La mayor parte de los antibióticos inhibe la síntesis de diferentes compuestos celulares. Algunos de los fármacos más empleados inhiben la síntesis de peptidoglicano, el principal componente de la pared celular; este consta de cadenas de polisacáridos lineales que están entrecruzados con péptidos cortos. El enorme peptidoglicano en forma de bolsa proporciona soporte mecánico y evita que la bacteria estalle, debido a su elevada presión osmótica interna. Entre estos fármacos se encuentran los betalactámicos que comparten una estructura química similar y se caracterizan por tener en su estructura el anillo betalactámico, el cual está compuesto por 3 átomos de carbono y 1 átomo de nitrógeno. En esta categoría se incluyen penicilinas, clavanas (ácido clavulánico), cefalosporinas, monobactamas y carbapenemas (7).

Para explicar la acción de los betalactámicos en términos de su estructura química debe tenerse en cuenta la similitud de la orientación espacial de los átomos principales y grupos polares de la penicilina con una determinada orientación del grupo final D-alanil-D-alanina de la cadena lateral pentapeptídica precursora de mureína. Cuando las dos estructuras son comparadas, se puede apreciar que el enlace peptídico entre las unidades de alanina se corresponden con la posición del anillo betalactámico de la penicilina (8).

Las bacterias pueden destruir los antibióticos betalactámicos mediante mecanismos enzimáticos, tal es el caso de las betalactamasas, las cuales son capaces de inactivar algunos antibióticos y pueden estar presentes en cantidades considerables (8).

La resistencia bioquímica a los antibióticos betalactámicos se pueden atribuir a cuatro mecanismos diferentes representados por escasa penetración del fármaco en la bacteria, degradación del agente por las betalactamasas, aparición de betalactamasas especiales en el curso del tratamiento de ciertos bacilos Gram negativos y falla en la activación de las enzimas autolíticas de la pared celular (8).

Las betalactamasas se encuentran tanto en los microorganismos Gram positivos como en los Gram negativos y son las responsables de que muchas cepas sean altamente resistentes, entre ellas, los estafilococos penicilino resistente recuperados de pacientes. Muchas bacterias Gram positivas liberan grandes cantidades de betalactamasas, mientras que los organismos Gram negativos producen menor cantidad. La localización de esta enzima en el espacio periplásmico puede hacerla más efectiva en la destrucción de las cefalosporinas cuando ellas intentan llegar hasta la membrana interna. Las cefalosporinas tienen susceptibilidad variable a las betalactamasas (7).

Todas las penicilinas derivan del ácido 6-aminopenicilánico, este contiene un anillo betalactámico esencial para su actividad antibacteriana (figura 1). Las subclases tienen sustituyentes químicos adicionales que les confieren diferencias en actividad antimicrobiana, biodisponibilidad y susceptibilidad a la hidrólisis ácida y enzimática (8,9).

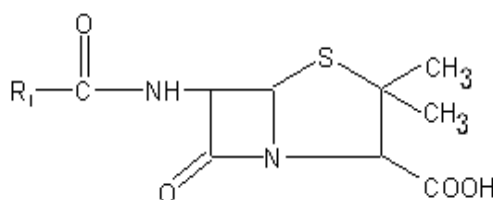


Figura 1. Ácido 6-aminopenicilánico

Las cefalosporinas se aislaron por primera vez a partir del hongo *Cephalosporium acremonium* (10), éstas difieren del núcleo básico de las penicilinas por contener un anillo sulfurado de seis elementos. Son activas contra bacterias Gram positivas y Gram negativas. Desde el punto de vista químico, su núcleo es el ácido 7-aminocefalosporámico (7-ACA) (figura 2), el cual guarda una semejanza estrecha con el ácido 6-aminopenicilánico (6-APA). El ácido 7-ACA ha sido modificado estructuralmente con diferentes sustituyentes en los extremos de las cadenas R1 y R2 para crear la familia de las cefalosporinas (11-13).

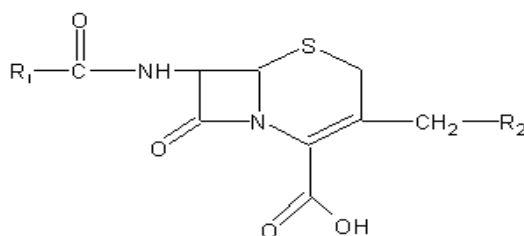


Figura 2. Núcleo de las cefalosporinas

Las cefalosporinas tienen masas moleculares de 400 a 450 uma, son solubles en agua y relativamente estables frente a los cambios de pH y temperatura. El mecanismo de acción de las cefalosporinas es similar al de las penicilinas, se unen a proteínas específicas que sirven como receptores de medicamentos en las bacterias, inhiben la síntesis de la pared celular por bloqueo de la transpeptidación del peptidoglicano y activan las enzimas autolíticas en la pared celular que causa lesiones, la cual conduce a la lisis bacteriana (14).

Todas las penicilinas y cefalosporinas son inhibidores selectivos de la síntesis de la pared celular bacteriana, la cual mantiene la forma de los microorganismos y acoraza a la célula bacteriana. La lesión de la pared celular o la inhibición de su formación puede llevar a la lisis de la célula (15).

Las cefalosporinas naturales tienen actividad antibacteriana escasa, pero la adhesión de varios grupos R colaterales ha dado como resultado la creación de una extensa familia de medicamentos con propiedades farmacológicas, espectro y actividad antibacteriana variables (Figura 3) (15). Las cefalosporinas se subdividen en agentes de primera, segunda, tercera y cuarta generación; la terminología de generación se aplica más al concepto de espectro que a su cronología original o al contexto de su salida al mercado (14).

Las cefalosporinas de primera generación son muy activas contra cocos Gram positivos, excepto enterococos y estafilococos productores de β -lactamasa, y muestran actividad moderada contra algunos bacilos Gram negativos; excepto *Pseudomonas* sp., *Serratia* sp. y *Acinetobacter* sp., entre otros. Dentro de este grupo están la cefalotina, cefradina, cefadroxilo y cefapirina (13-15).

Los miembros de las cefalosporinas de segunda generación son cefaclor, cefamandol, cefamicinas y cefuroxina. Su espectro antimicrobiano tiene un rango más amplio frente a bacterias Gram negativas, las cuales abarcan a *H. influenzae*, *Proteus* sp., *Enterobacter* sp., *Citrobacter* sp., pero son menos activas contra *Streptococcus* sp. y *Staphylococcus* sp. (13-15).

Las cefalosporinas de tercera generación tienen un espectro de actividad más amplio hacia los Gram negativos, mientras que su acción sobre los Gram positivos es menor que las de la primera generación. Como aspecto importante está su mayor resistencia a las β -lactamasas. Poseen una buena distribución en los tejidos, con una buena difusión hacia los tejidos del Sistema Nervioso. Este grupo incluye cefoperazona, cefotaxima, ceftriaxona (13-15).

Las cefalosporinas de cuarta generación, como el cefpirome y cefepima, presentan un espectro más amplio de actividad, en comparación con las de tercera generación, y una mayor estabilidad a la hidrólisis por betalactamasas. Son particularmente útiles en procesos infecciosos originados por bacilos Gram negativos aerobios, resistentes a las cefalosporinas de tercera generación (13-15).

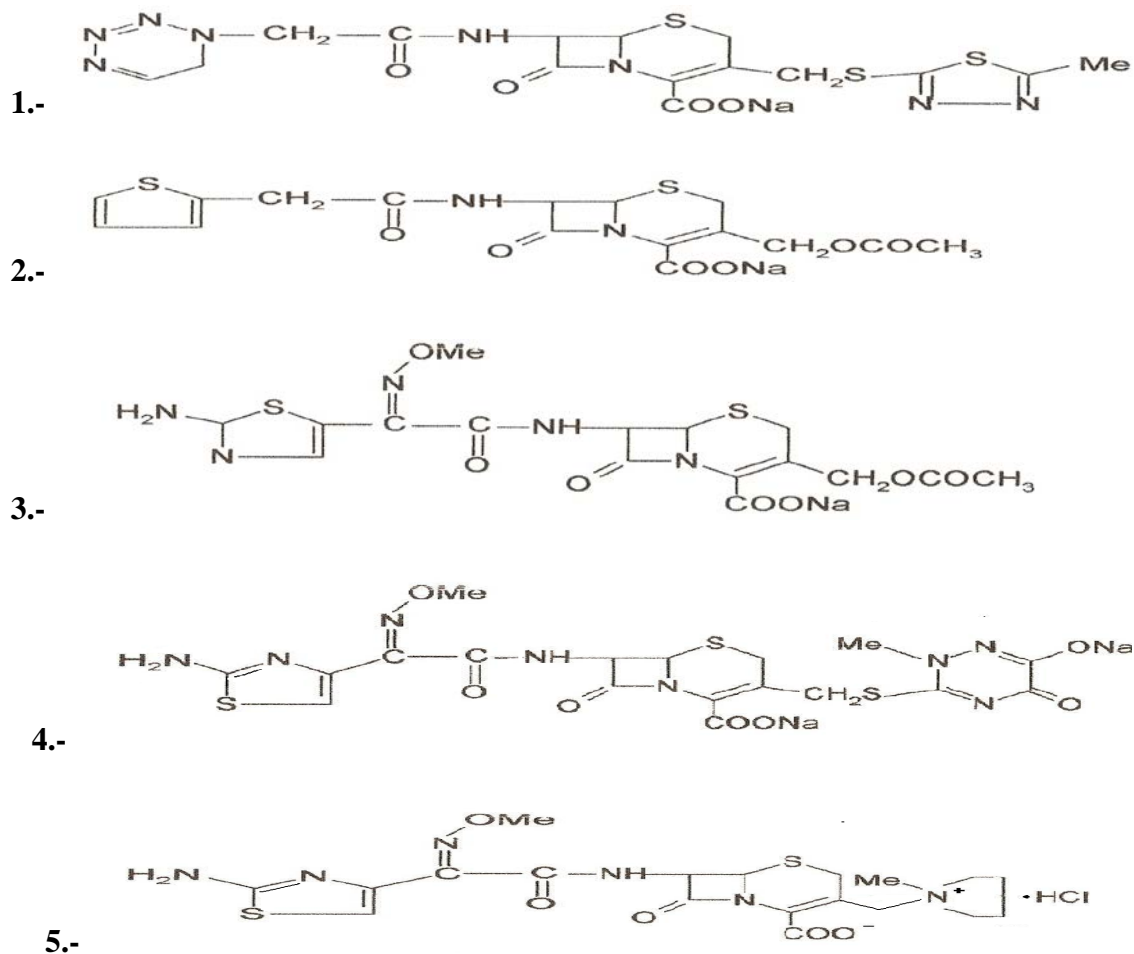


Figura 3. Estructura de las cefalosporinas estudiadas: 1. Cefazolina, 2. Cefalotina, 3. Cefotaxima, 4. Ceftriaxona, 5. Cefepima.

Actualmente, se están produciendo, en forma constante, nuevas cefalosporinas que integran el grupo de la cuarta generación, con las cuales se ha logrado minimizar la resistencia bacteriana y los efectos adversos al hospedero. Su amplio espectro antimicrobiano contra microorganismos Gram positivos y Gram negativos es ventajoso en el tratamiento de una variedad de infecciones, desde las moderadas hasta las

potencialmente fatales. También son potencialmente ventajosas en el tratamiento empírico de infecciones nosocomiales graves, dentro de esta categoría se incluye la cefepima. Al igual que las penicilinas, las cefalosporinas causan reacciones adversas, que incluyen irritación tisular en el sitio de la inyección y en la mucosa gastrointestinal cuando se ingieren (13-15).

Los derivados de las sulfamidas han sido por mucho tiempo de valor considerable en la quimioterapia por sus actividades antibacterianas. El mecanismo de acción de las sulfanilamidas está basada en el antagonismo competitivo del ácido p-aminobenzoico (PABA) y la sulfanilamida (16). La suma de la actividad antibacteriana de las sulfamidas y la actividad antimicrobiana de los metales de transición han sido investigadas, con miras a establecer la relación e importancia de las interacciones droga-metal. El sulfatiazol (Hstz) (figura 4), clínicamente, es uno de los derivados de la sulfonamida más utilizados en la cura de infecciones bacterianas en los seres humanos (17,18).

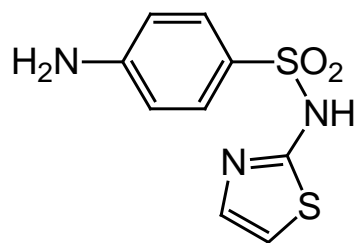


Figura 4. Fórmula estructural del sulfatiazol (Hstz).

El interés en los derivados del metal-sulfamida fue estimulado por la introducción exitosa de la sulfadiazina de plata para el tratamiento de los casos de quemaduras. Estos compuestos tienen un carácter iónico, el cual es establecido por el medio en el que se realiza la acción. Como resultado, estas drogas funcionan como aniones o donadores de electrones. La formación de complejos entre los iones metálicos y la droga ha sido analizada y estudiada con detenimiento; no obstante, las únicas estructuras cristalinas de complejos de sulfatiazol han sido reportadas por Casanova (16,17).

Se ha notado con gran preocupación que las bacterias con el tiempo se vuelven resistentes a los antibióticos. Este hecho ha conducido a que se inicien numerosas investigaciones para la elaboración de nuevos derivados betalactámicos, tomando como referencia modificaciones semisintéticas de la molécula original. Con el objeto de comprender las interacciones de antimicrobianos con iones metálicos, se ha evaluado la capacidad de diferentes quimioterapéuticos para unirse a iones metálicos, y en algunos casos, se ha logrado superar la actividad bactericida del compuesto original (8,18 - 27).

En estudios recientes, se hizo reaccionar la cefazolina con diversas sales que contenían iones metálicos para formar complejos. La actividad bactericida de los complejos formados fue ensayada frente a cepas de *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *P. mirabilis*, *S. enteritidis*, utilizando los métodos de difusión en agar y concentración mínima inhibitoria. Los complejos de Cu^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} y Ag^{2+} presentaron mayor actividad que la cefazolina frente a las cepas mencionadas (18).

En otros estudios sobre la estructura y actividad de complejos metálicos con antibióticos, la penicilina y la ampicilina se pusieron a reaccionar, separadamente, con diversos iones metálicos como Hg^{2+} , Fe^{3+} , Ru^{2+} , Ni^{2+} y Cd^{2+} , para formar complejos metálicos a los cuales se les evaluó su actividad antimicrobiana frente a cepas de *P. aeruginosa*, *B. cereus*, *E. coli* y *S. aureus*, encontrándose que los complejos de Fe^{3+} y Hg^{2+} mostraron actividad antimicrobiana mayor que las penicilinas comerciales (19,20).

La ciprofloxacina es una quinolona que ha sido también objeto de este tipo de estudio. Se le ha hecho reaccionar con diversos iones metálicos para formar complejos, que fueron caracterizados con técnicas espectroscópicas y fisicoquímicas. Las pruebas de actividad antimicrobiana aplicada con diversas cepas certificadas dio como resultado que ninguno de los complejos sintetizados presentó actividad bactericida frente a *E. coli*, pero los compuestos de Mn^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} presentaron mejor actividad que el antibiótico de uso comercial, frente a las cepas de *P. aeruginosa* y *S. typhimurium* (21). En otros estudios se hizo reaccionar la cefixima con iones metálicos como Mn^{2+} , Fe^{3+} , Hg^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} y Zn^{2+} , determinando que el antimicrobiano actúa como un

ligando tridentado monoaniónico. En este estudio los complejos de Mn^{2+} , Fe^{3+} , Ni^{2+} y Cd^{2+} resultaron tener menor acción antimicrobiana sobre cepas de *S. aureus*, *E. coli*, *S. enteritidis*, *E. faecalis* y *K. pneumoniae* en comparación con el antibiótico comercial. El complejo de Co^{2+} , logró ser el más potente, pero con igual actividad que la cefixima frente a la cepa de *E. coli* (22).

Debido a la creciente resistencia de las bacterias a los antibióticos, es de suma importancia la búsqueda de nuevos compuestos bactericidas, por lo que se desea estudiar la síntesis de nuevos complejos de cobre(II) que contengan cefalosporinas y sulfatiazol, a fin de conocer su estructura y estudiar la actividad antibacteriana para establecer posibles relaciones entre sus estructuras y las actividades bactericidas frente a cepas Gram positivas y Gram negativas.

METODOLOGÍA

En la síntesis y obtención de los compuestos de cobre(II), se emplearon cefalosporinas y sulfatiazol de uso comercial. Para obtenerlos, se utilizó el $\text{CuCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ disponible en el Laboratorio 306 del Departamento de Química de la Universidad de Oriente.

Síntesis de compuestos de cobre(II).

Se prepararon compuestos de Cu(II), utilizando sulfatiazol, con cefalosporinas comerciales tales como: cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima, ceftazidima, cefradina y cefadroxilo. Para cada caso se pesó 1 mmol de $\text{CuCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y se disolvió en 5 ml de agua destilada, 1 mmol de sulfatiazol en 10 ml de metanol y 1 mmol del antimicrobiano en 5 ml de agua destilada. Estas soluciones se mezclaron con agitación en un vaso de precipitado de 50 ml por un tiempo de 20 minutos, tiempo necesario para observar la aparición de un precipitado de color marrón claro para cada antimicrobiano. Los precipitados fueron filtrados y lavados sucesivamente con agua, metanol y éter etílico. Finalmente se secaron al vacío y se depositaron en frascos pequeños estériles a temperatura ambiente.

Caracterización de los compuestos

1- Análisis elemental

Se realizó el análisis de los compuestos sintetizados para determinar los porcentajes de carbono, nitrógeno, azufre e hidrógeno y para ello se pesaron por duplicado los complejos pulverizados en crisoles de estaño, con una diferencia del crisol vacío y con complejo entre 150 - 220. Luego se compararon los porcentajes experimentales con los calculados para determinar la presencia del antibiótico y el sulfatiazol. Se utilizó un analizador elemental marca LECO, modelo CHNS 932. Estos análisis se llevaron a cabo en el Laboratorio de Química de Coordinación 306 del Departamento de Química de la Universidad de Oriente.

2- Medidas de susceptibilidad magnética

Se realizaron medidas de susceptibilidad magnéticas a temperatura ambiente, con el empleo de una balanza de susceptibilidad, marca Johnson Matthey, en el Laboratorio de Química de Coordinación 306, del Departamento de Química de la Universidad de Oriente. Para calcular el momento magnético de los compuestos formados, se utilizó la ley de Curie, la cual establece que: $\mu_{\text{eff}} = 2,84 (X_M \cdot T)^{1/2}$, donde X_M es la susceptibilidad molar del complejo y T es la temperatura en grados Kelvin.

3- Medidas de conductividad molar

Se prepararon soluciones de cada uno de los complejos a una concentración 1×10^{-3} mol/l, utilizando dimetilsulfóxido (DMSO), como solvente. Para medir la conductividad eléctrica de los complejos se usó un conductímetro, marca Corning, modelo 441 en el Laboratorio de Fisicoquímica 408 de la Universidad de Oriente.

4- Espectroscopía infrarroja

Se prepararon pastillas en una proporción de 400 mg de KBr por 15 mg del complejo. Se utilizó un espectrofotómetro, marca Perkin Elmer, Modelo Spectrum 2000 con transformada de Fourier, perteneciente al Laboratorio de Química de Coordinación 306, del Departamento de Química de la Universidad de Oriente. También se utilizó un espectrofotómetro, marca Perkin Elmer, Modelo Paragon 1000 PC.

5- Espectroscopía Ultravioleta-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, marca Perkin Elmer, modelo Lambda 11, en el Departamento de Química de la Universidad de Oriente, Laboratorio 331.

6- 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. Realizadas en el Departamento de Química de la

Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile.

Ensayo microbiológico

Conocidas las características de los compuestos sintetizados se tomaron los más apropiados, aquellos cuyos análisis químicos indicaron la presencia de la cefalosporina, el sulfatiazol y el cobre, se evaluó la eficacia antibacteriana sobre bacterias Gram positivas y Gram negativas certificadas por la Colección Americana de Especies y Tipos ATCC (del inglés: American Type Culture Collection); estas cepas fueron: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357, *Escherichia coli* ATCC 11775, *Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Salmonella enteritidis* CDC 64, obtenidas del Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos (CVCM) y *Pseudomonas aeruginosa* donada por el Laboratorio de Bacteriología del Hospital Dr. Julio Rodríguez.

Preparación de las soluciones

Se prepararon soluciones madres de cada uno de los complejos obtenidos, de los antimicrobianos comerciales y del cobre(II), a una concentración de 40 µg/µl. Para esto se pesó 20 mg de cada complejo y se disolvieron en 0,5 ml de (DMSO), en el caso de los antimicrobianos comerciales, los 20 mg fueron disueltos en 0,5 ml de agua destilada y los 20 mg de $\text{CuCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ se disolvieron en 0,5 ml de agua destilada.

Para la realización de la concentración mínima inhibitoria se prepararon diluciones a partir de las soluciones madre de cada complejo tomando 250 µl y se mezcló con 250 µl de DMSO para obtener una solución 2 de concentración 20 µg/µl. Se tomaron 250 µl de la solución 2 y se mezclaron con 250 µl de DMSO para obtener una solución 3 de concentración 10 µg/µl, así sucesivamente hasta llegar a una solución 5 de concentración 2,5 µg/µl.

Preparación de los discos

Se prepararon discos con papel de filtro Whatman N° 3 estériles de 5 mm de diámetro.

Con una pipeta automática se impregnó cada disco con 10 μ l de las soluciones madre para que cada uno tenga una concentración de 400 μ g/disco.

Para la concentración mínima inhibitoria se impregnaron los discos con 10 μ l de las diluciones preparadas para tener discos con concentraciones de 200, 100, 50 y 25 μ g/disco, respectivamente.

Método de difusión en disco

A partir de un cultivo de 24 horas de crecimiento de cada cepa bacteriana, se inoculó un tubo con 4,5 ml de solución salina fisiológica estéril, hasta alcanzar una turbidez óptica comparable a la solución patrón McFarland 0,5. Luego, se impregnó un hisopo estéril y se rotó varias veces ejerciendo una ligera presión sobre las paredes del tubo para eliminar el exceso de líquido. Se sembró sobre la superficie seca del agar Müller Hinton (E. Merck, Poros Todt, Alemania) contenido en una placa de Petri, pasando el hisopo tres veces en direcciones perpendiculares por sobre toda la superficie del agar. Cada placa fue colocada a 37°C por 10 minutos, para que la superficie del agar seicara antes de colocar los discos. Se colocaron los discos con ayuda de una pinza estéril sobre la superficie del agar, ejerciendo una ligera presión para permitir un contacto uniforme. Las placas se llevaron a una estufa para incubar a 37°C por 24 horas.

Este proceso se realizó para cada una de las cepas en estudio, utilizando los discos de 400 μ g/disco de los compuestos sintetizados de cobre(II), los discos de los antimicrobianos comerciales de concentración 400 μ g/disco, y los discos de 400 μ g/disco de $\text{CuCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Para la concentración mínima inhibitoria se usaron los discos de concentraciones 200, 100, 50 y 25 μ g/disco de cada compuesto y de cada antimicrobiano comercial, respectivamente (28,29).

La presencia de actividad antibacteriana de los compuestos se detectó por la aparición de halos de inhibición alrededor del disco; la lectura se realizó tomando en cuenta la concentración del disco hasta la cual hubo inhibición (CMI).

Comparación de la actividad antimicrobiana de los compuestos de cobre(II) frente a los antimicrobianos originales

La presencia de actividad antibacteriana de los compuestos y las cefalosporinas se detectó por la aparición de los halos de inhibición alrededor del disco; la lectura de los diámetros de los halos se realizó utilizando una regla graduada y los valores se expresaron en milímetros. Se hicieron comparaciones entre los antibiogramas de los compuestos obtenidos y los antimicrobianos comerciales. Para el análisis de los datos obtenidos, se utilizaron gráficas, fotos y cuadros comparativos (28).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis elemental

En la tabla 1, se muestran los análisis elementales de los complejos sintetizados, éstos poseen buena correspondencia entre los valores experimentales (entre paréntesis) y los valores calculados para cada uno de los compuestos. Los resultados demuestran que los iones metálicos del cobre(II) forman complejos con una relación estequiométrica 1:1:1 con el antimicrobiano y el sulfatiazol (stz) en su forma deprotonada, la única excepción fue el complejo ceftriaxona donde el sulfatiazol (Hstz) aparece en su forma neutra.

Estudios realizados por Anacona y Álvarez (18), donde se sintetizaron complejos metálicos con la cefazolina, corroboran los resultados obtenidos, donde el ligando presenta dicha relación estequiométrica con el metal utilizado y su comportamiento es semejante (18).

Tabla 1. Análisis elemental de los compuestos de cobre(II) sintetizados.

Compuestos	% C	% N	% S
[Cu(cefazol)(stz)(H ₂ O)]·2H ₂ O	34,8 (35,0)	19,9 (19,5)	19,8 (20,3)
[Cu(cefalot)(stz)(H ₂ O) ₂]·8H ₂ O	39,8 (40,1)	9,7 (9,4)	16,8 (17,1)
[Cu(cefotax)(stz)(H ₂ O) ₂]·H ₂ O	39,1 (38,9)	14,8 (14,5)	16,2 (16,6)
[Cu(ceftria)(Hstz)]·7H ₂ O	37,0 (37,2)	18,1 (17,7)	18,7 (18,4)
[Cu(cefepima)(stz)(H ₂ O)Cl]·4H ₂ O	40,5 (40,3)	15,3 (15,1)	15,1 (15,4)

% C = porcentaje de carbono, % N = porcentaje de nitrógeno, % S = porcentaje de azufre, (valor experimental).

Medidas de susceptibilidad magnética

En la tabla 2 se aprecian los valores de susceptibilidad magnética (R) medidas por unidad de volumen y la susceptibilidad específica medida por gramos (Xg).

Tabla 2. Medidas de susceptibilidad magnética de los compuestos sintetizados.

Compuestos	Masa de la muestra (mg)	Ro	R	L (cm)	Xg
[Cu(cefazol)(stz)(H ₂ O)]·2H ₂ O	53,6	-30	1270	1,6	7,70 x10 ⁻⁶
[Cu(cefalot)(stz)(H ₂ O) ₂]·8H ₂ O	34,2	-30	152	1,6	1,78x10 ⁻⁶
[Cu(cefotax)(stz)(H ₂ O) ₂]·H ₂ O	26,1	-30	315	1,6	4,41x10 ⁻⁶
[Cu(ceftria)(Hstz)]·7H ₂ O	53,4	-30	70	1,7	6,64x10 ⁻⁷
[Cu(cefepima)(stz)(H ₂ O)Cl]·4H ₂ O	48,9	-30	100	1,6	8,87x10 ⁻⁷

Ro: susceptibilidad magnética del tubo vacío, R: susceptibilidad magnética del tubo con muestra, L: longitud de la muestra en el tubo, Xg: susceptibilidad específica por gramos.

El ión Cu²⁺ presenta, en su último orbital electrónico, un electrón desapareado, el cual hacen darle a R (medida de susceptibilidad magnética) un valor característico (8, 18-27).

Las medidas de susceptibilidad permiten calcular los momentos magnéticos.

Momentos magnéticos

En la tabla 3 se muestran los momentos magnéticos calculados a partir de las medidas de susceptibilidad magnéticas.

Tabla 3. Momentos magnéticos (MB) de los compuestos de cobre(II).

Compuestos	Momentos magnéticos calculados	Momentos magnéticos teóricos
[Cu(cefazol)(stz)(H ₂ O)]·2H ₂ O	2,07	1,73
[Cu(cefalot)(stz)(H ₂ O) ₂]·8H ₂ O	1,76	1,73
[Cu(cefotax)(stz)(H ₂ O) ₂]·H ₂ O	2,08	1,73
[Cu(ceftria)(Hstz)]·7H ₂ O	1,45	1,73
[Cu(cefepima)(stz)(H ₂ O)Cl]·4H ₂ O	1,32	1,73

El momento magnético efectivo (μ_{eff}) es una medida de considerable interés para la caracterización de los compuestos preparados. Conociendo este valor, se puede saber el estado de oxidación del metal, el cual va a depender del número de electrones desapareados que presenta el metal, además de su posible geometría estructural (8,18-27). Los valores experimentales observados en los compuestos sintetizados están por encima o por debajo del valor teórico del momento magnético sugiriendo una estructura octaédrica para todos los complejos (17).

En los complejos preparados, el Cu²⁺ es un ión d^9 con un electrón desapareado. Los momentos magnéticos medidos para cefazolina, cefalotina y cefotaxima se corresponden con el momento magnético esperado para el ión Cu²⁺, los cuales sugieren una estructura octaédrica para estos complejos. Los valores medidos para la ceftriaxona y cefepima aparecen por debajo del valor esperado para sistemas con un electrón desapareado. Estos valores indican una fuerte energía de intercambio antiferromagnético entre metales adyacentes que probablemente existen en estructuras poliméricas.

Medidas de conductividad molar

Para la ejecución de estas medidas se prepararon soluciones de los compuestos de cobre(II) a concentraciones de 10⁻³ mol/l, empleando como solvente dimetilsulfóxido

(18,27). La tabla 4 muestra los valores de conductividad eléctrica para los distintos complejos sintetizados.

Tabla 4. Conductividad molar de los compuestos de cobre(II).

Compuestos	$\Delta(\text{S.cm}^2/\text{mol})^{-1}$	Tipo de electrolito
[Cu(cefazol)(stz)(H ₂ O)]·2H ₂ O	18,43	No conductor
[Cu(cefalot)(stz)(H ₂ O) ₂]·8H ₂ O	19,05	No conductor
[Cu(cefotax)(stz)(H ₂ O) ₂]·H ₂ O	17,05	No conductor
[Cu(ceftria)(Hstz)]·7H ₂ O	14,97	No conductor
[Cu(cefepima)(stz)(H ₂ O)Cl]·4H ₂ O	11,86	No conductor

Siguiendo los criterios de Geary (30), los valores de conductividad molar muestran que los compuestos sintetizados no conducen la corriente eléctrica cuando están en solución de DMSO, por lo que se comportan como no electrolitos. Esto indica que dichos compuestos no tienen iones disociables en su estructura que puedan ser desplazados por el solvente; si los hay, deben estar formando parte de la esfera de coordinación del metal.

Espectroscopia infrarroja

En la tabla 5, se resumen las principales bandas IR de las cefalosporinas (cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona y cefepima), y de los compuestos sintetizados. Los espectros se muestran en las figuras 1 al 10 (anexos).

Los espectros infrarrojos de los antimicrobianos comerciales utilizados presentan bandas de absorción en un rango 1730 – 1780 cm⁻¹, correspondientes a la vibración stretching

C=O del anillo lactámico y bandas entre $1640 - 1650 \text{ cm}^{-1}$ que corresponde al stretching C=O del grupo amida. También, presenta bandas a $1585 - 1620 \text{ cm}^{-1}$,

Tabla 5. Principales bandas de IR de la cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima y los compuestos de cobre(II).

Compuestos	$\nu(\text{C=O})$ lactámico	$\nu(\text{C=O})$ amida	$\nu(\text{COO})$ asimétrico	$\nu(\text{COO})$ simétrico	$\Delta\nu$
Cefazolina	1765	1650	1585	1380	205
[Cu(cefazol)(stz)(H ₂ O)]·2H ₂ O	1750	1680	1580	1380	200
Cefalotina	1730	1650	1620	1400	220
[Cu(cefalot)(stz)(H ₂ O) ₂]·8H ₂ O	1740	1640	1615	1410	205
Cefotaxima	1780	1640	1590	1375	215
[Cu(cefotax)(stz)(H ₂ O) ₂]·H ₂ O	1780	680	1560	1350	210
Ceftriaxona	1744	1647	1610	1398	212
[Cu(ceftria)(Hstz)]·7H ₂ O	1770	1660	1550	1350	200
Cefepima	1750	1650	1610	1390	220
[Cu(cefepima)(stz)(H ₂ O)Cl]·4H ₂ O	1730	1650	1600	1400	200

ν : stretching

correspondiente al stretching asimétrico del grupo carboxilato y otras a $1375 - 1400 \text{ cm}^{-1}$ que corresponden al stretching simétrico del grupo carboxilato.

Los compuestos de cobre(II) presentan bandas de absorción muy cercanas a las de los antimicrobianos de origen comercial, con algunas diferencias en la intensidad, además de algunos ligeros desplazamientos de la posición de las bandas, en relación con las bandas del ligando. Esto se debe a que las frecuencias vibracionales del ligando varían cuando coordinan al metal, presentando pequeñas diferencias entre los números de onda del ligando libre, con respecto a los compuestos de cobre(II). Los espectros obtenidos de

los compuestos de cobre(II) con cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima con sulfatiazol, señalan que la separación ($\nu(\text{COO})_{\text{asimétrico}} - \nu(\text{COO})_{\text{simétrico}}$) del grupo COO es mayor de 200 cm^{-1} sugiriendo enlace monodentado de este grupo en todos los compuestos betalactámicos (figuras 5 a 9).

Para el compuesto $[\text{Cu}(\text{cefazol})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, se sugiere una estructura octaédrica en donde la cefazolina se comportaría como un ligando tetradentado monoaniónico. El Hstz participa posiblemente como un ligando monodentado monoaniónico (stz).

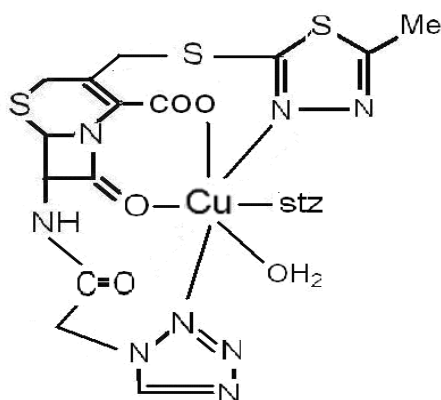


Figura 5. Estructura sugerida para el compuesto $[\text{Cu}(\text{cefazol})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Para el compuesto $[\text{Cu}(\text{cefalot})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, se sugiere una estructura octaédrica en donde la cefalotina se comportaría como un ligando tridentado monoaniónico. El Hstz participa posiblemente como un ligando monodentado monoaniónico.

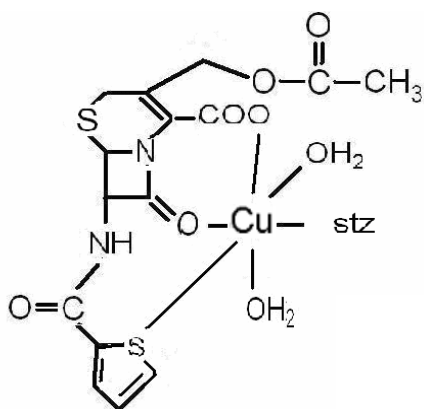


Figura 6. Estructura sugerida para el compuesto $[\text{Cu}(\text{cefalot})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$.
 Para el compuesto $[\text{Cu}(\text{cefotax})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$, se sugiere una estructura octaédrica en donde la cefotaxima se comportaría como un ligando tridentado monoaniónico. El Hstz participa posiblemente como un ligando monodentado monoaniónico.

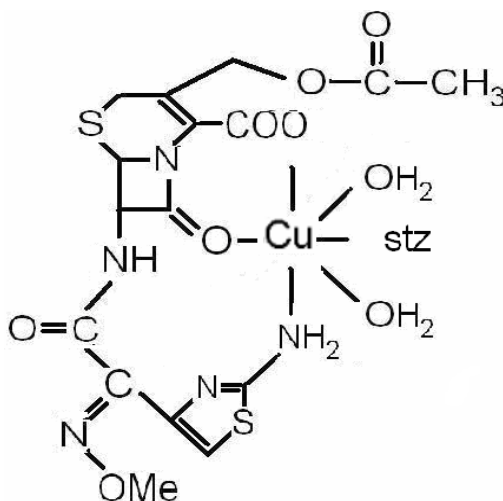


Figura 7. Estructura sugerida para el compuesto $[\text{Cu}(\text{cefotax})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$.

Para el compuesto $[\text{Cu}(\text{ceftria})(\text{Hstz})] \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, se sugiere una estructura octaédrica donde la ceftriaxona se comportaría como un ligando tetradentado dianiónico y el Hstz como un ligando monodentado neutro.

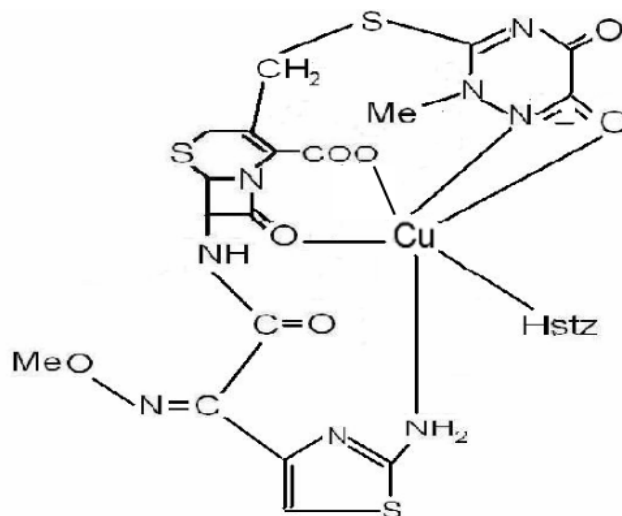


Figura 8. Estructura sugerida para el compuesto $[\text{Cu}(\text{ceftria})(\text{Hstz})]\cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Para el compuesto $[\text{Cu}(\text{cefepima})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, se sugiere una estructura octaédrica donde la cefepima se comportaría como un ligando tridentado zwitteriónico. El Hstz se asume que se comporta como un ligando monodentado monoaniónico. El ión cloruro se sitúa en la esfera de coordinación atendiendo a que el compuesto es no conductor.

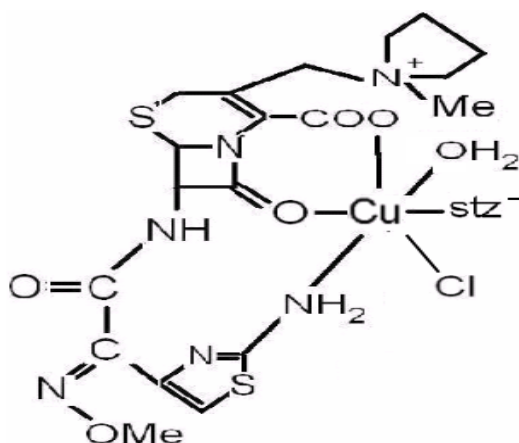


Figura 9. Estructura sugerida para el compuesto $[\text{Cu}(\text{cefepima})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$.

Espectroscopia ultravioleta – visible (UV - visible)

En la tabla 6 se resumen las transiciones de los espectros UV-visibles de la cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima, sulfatiazol y sus compuestos de cobre(II) sintetizados.

Tabla 6. Resumen de los espectros UV- visible de la cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima y los compuestos de cobre(II).

Compuestos	Transiciones electrónicas (nm)	
	En el ligando	<i>d-d</i>
Cefazolina	270-300-370	
$[\text{Cu}(\text{cefazol})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	280-310-360	770

Continuación. Tabla 6.

Compuestos	Transiciones electrónicas (nm)	
	En el ligando	<i>d-d</i>
Cefalotina	265-285-325	
[Cu(cefalot)(stz)(H ₂ O) ₂].8H ₂ O	270-300-330	770
Cefotaxima	260-310-360	
[Cu(cefotax)(stz)(H ₂ O) ₂].H ₂ O	280-330-370	770
Ceftriaxona	305-350-390	
[Cu(ceftria)(Hstz)].7H ₂ O	300-360-390	770
Cefepima	300-330-340	
[Cu(cefepima)(stz)(H ₂ O)Cl].4H ₂ O	310-340-380	770

En los anexos 11 al 20 se muestran los espectros electrónicos de los complejos de Cu²⁺, los cuales presentan una banda a 770 nm que probablemente son transiciones *d-d* debidas al metal.

Espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica (RPE)

La resonancia del spin electrónico o resonancia paramagnética electrónica (RPE) 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 spin del electrón desapareado y su momento magnético asociado. La condición resonante es $h\nu = g \mu_b B$. El valor del factor *g* se determinó desde el espectro considerando *B* (intensidad del campo magnético) y ν (frecuencia utilizada en el espectrómetro).

Los compuestos de cobre(II) al contener iones d^9 con un electrón desapareado, deberían mostrar señal en el espectro RPE. (anexo 21 y anexo 22). Los espectros muestran una curva isotrópica de absorción sin una clara estructura hiperfina debida a la posible interacción de los electrones desapareados con el átomo de cobre(II) de spin nuclear $I = 3/2$.

El complejo de cefotaxima presenta un ancho de banda aproximada de 1170 Gauss, con una componente paralela centrada a 3240 Gauss y una componente perpendicular centrada a 3414 Gauss.

El complejo de cefalotina posee un ancho de banda aproximada de de 1300 Gauss, con una componente paralela que muestra levemente parte de la estructura hiperfina con un amplitud de 140 Gauss. La componente paralela está centrada a 3285 Gauss mientras que la componente perpendicular está centrada en 3457 Gauss.

Actividad biológica

Según el método de difusión en disco, los resultados obtenidos en la actividad biológica de la cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima y los complejos formados permiten afirmar que poseen actividad antibacteriana sobre las diversas cepas. La tabla 7 muestra la actividad antibacteriana de las cefalosporinas nombradas, el sulfatiazol y sus compuestos de Cu^{2+} .

Tabla 7. Diámetros de inhibición (mm) producidos por la cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima y los compuestos de cobre(II) sintetizados, sobre las especies bacterianas.

Compuestos	Conc. $\mu\text{g}/\text{disc}$	<i>E. coli</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>B. subtilis</i>
Cefazolina	400	33	36	0	34	35	57

[Cu(cefazol)(stz)(H ₂ O)]·2H ₂ O	400	26	27	0	32	30	47
--	-----	----	----	---	----	----	----

Continuación. Tabla 7.

Compuestos	Conc. µg/disc	<i>E. coli</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>B. subtilis</i>
Cefalotina	400	19	29	0	27	33	40
[Cu(cefalot)(stz)(H ₂ O) ₂]·8H ₂ O	400	0	21	0	17	24	31
Cefotaxima	400	40	37	23	18	39	36
[Cu(cefotax)(stz)(H ₂ O) ₂]·H ₂ O	400	25	29	10	15	18	23
Ceftriaxona	400	35	38	35	25	40	43
[Cu(ceftria)(Hstz)]·7H ₂ O	400	30	31	16	11	26	28
Cefepima	400	7	25	0	0	25	30
[Cu(cefepima)(stz)(H ₂ O)Cl]·4H ₂ O	400	24	24	8	20	15	27

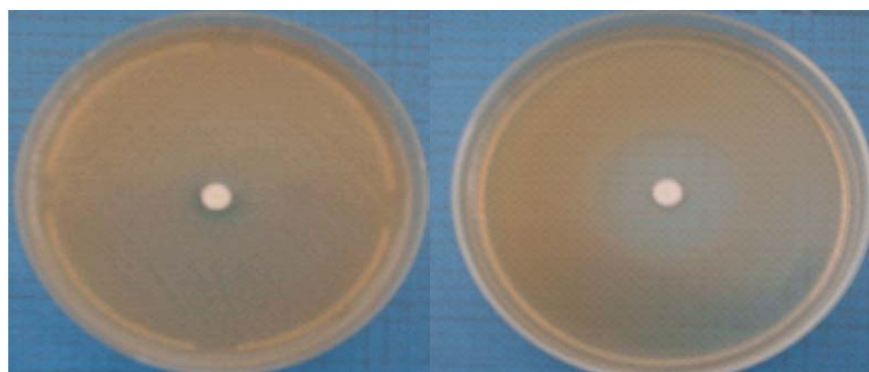
El complejo [Cu(cefazol)(stz)(H₂O)]·2H₂O presentó actividad antimicrobiana frente a las cepas de *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *B. subtilis*, pero no mayor a la actividad del antibiótico original. Este complejo no tuvo actividad frente a la cepa de *P. aeruginosa*, esto se debe a su resistencia natural o adquirida para las cefalosporinas de primera y segunda generación .

El complejo [Cu(cefalot)(stz)(H₂O)₂]·8H₂O presentó actividad frente a las cepas de *S. enteritidis*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *B. subtilis* y actividad nula frente a las cepas de *E. coli* y *P. aeruginosa*. La actividad de este complejo fue menor a la actividad del antibiótico original.

Las cepas de *E. coli*, *S. enteritidis*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis* y *P. aeruginosa* utilizadas no mostraron actividad antibacteriana frente a el $\text{CuCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, sugiriendo así que el metal actúa como un ligando.

Los complejos $[\text{Cu}(\text{cefotax})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ y $[\text{Cu}(\text{ceftria})(\text{Hstz})] \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ tuvieron una actividad antimicrobiana menor en comparación a los antibióticos originales.

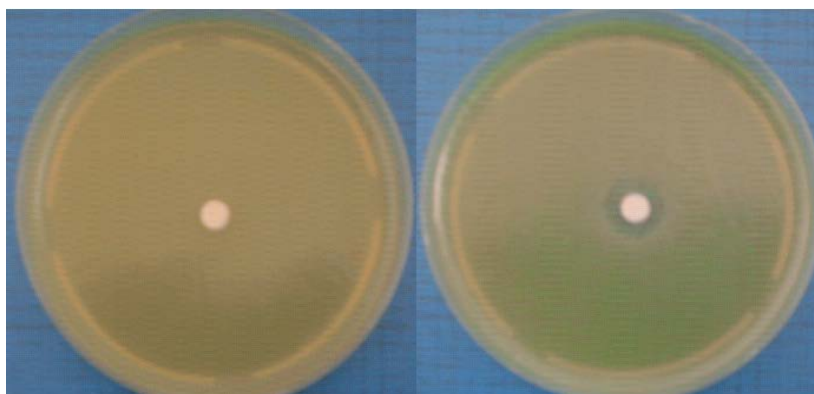
El complejo $[\text{Cu}(\text{cefepima})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ fue efectivo frente a las cepas de *S. enteritidis*, *K pneumoniae* y *B. subtilis*, pero de menor actividad frente al antibiótico original. Fue más efectivo que el antimicrobiano original frente a las cepas de *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus* alcanzando índices de sensibilidad mayor a un 100% con respecto al antimicrobiano original (figuras 10,11 y 12).



Cefepima

 $[\text{Cu}(\text{cefepima})(\text{stz})\text{Cl}] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

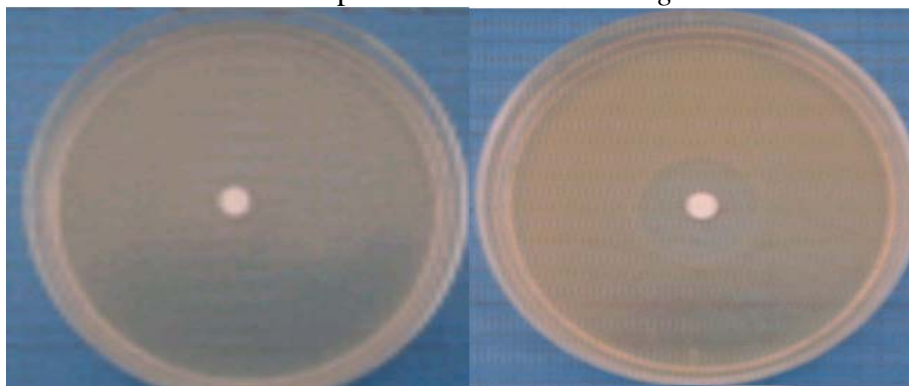
Figura 10. Halos de inhibición de la cefepima y $[\text{Cu}(\text{cefepima})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 11775.



Cefepima

[Cu(cefepima)(stz)Cl]·5H₂O

Figura 11. Halos de inhibición de la cefepima y [Cu(cefepima)(stz)(H₂O)Cl]·4H₂O frente a la cepa de *Pseudomonas aeruginosa*.



Cefepima

[Cu(cefepima)(stz)Cl]·5H₂O

Figura 12. Halos de inhibición de la cefepima y [Cu(cefepima)(stz)(H₂O)Cl]·4H₂O frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

Concentración mínima inhibitoria de los antimicrobianos comerciales y de los compuestos de cobre(II).

En la tabla 8, se muestran los resultados obtenidos para la prueba de sensibilidad a diferentes concentraciones.

Tabla 8. Concentración mínima inhibitoria (CMI) de los compuestos sintetizados.

Compuestos	Conc. µg/disco	<i>E. coli</i> 11775	<i>S. enteritidis</i> CDC 64	<i>P. aeruginosa.</i>	<i>S. aureus</i> 29213	<i>K. pneumoniae</i> 23357	<i>B. subtilis</i> 6051
Cefazolina	400	::	::	-	::	::	::
	200	::	::	-	::	::	::
	100	::	::	-	::	::	::
	50	::	::	-	::	::	::
	25	CMI	CMI	-	CMI	CMI	CMI
[Cu(cefazol)(stz)(H ₂ O)]·2H ₂ O	400	::	::	-	::	::	::
	200	::	::	-	::	::	::
	100	CMI	CMI	-	::	CMI	::
	50	-	-	-	CMI	-	CMI
	25	-	-	-	-	-	-
Cefalotina	400	::	::	-	::	::	::
	200	::	::	-	::	::	::
	100	::	::	-	::	::	::
	50	CMI	::	-	::	::	::
	25	-	CMI	-	CMI	CMI	CMI

Continuación. Tabla 8.

Compuestos	Conc. µg/disco	<i>E. coli</i> 11775	<i>S. enteritidis</i> CDC 64	<i>P. aeruginosa.</i>	<i>S. aureus</i> 29213	<i>K. pneumoniae</i> 23357	<i>B. subtilis</i> 6051
[Cu(cefalot)(stz)(H ₂ O) ₂]·8H ₂ O	400	-	::	-	::	::	::
	200	-	CMI	-	::	::	::
	100	-	-	-	CMI	::	::
	50	-	-	-	-	::	::
	25	-	-	-	-	CMI	CMI
Cefotaxima	400	::	::	CMI	::	::	::
	200	::	::	-	::	::	::
	100	::	::	-	CMI	::	::
	50	::	::	-	-	::	::
	25	CMI	CMI	-	-	CMI	CMI
[Cu(cefotax)(stz)(H ₂ O)]·H ₂ O	400	::	::	::	::	::	::
	200	::	CMI	::	CMI	::	::
	100	CMI	-	CMI	-	CMI	CMI
	50	-	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-	-
Ceftriaxona	400	::	::	::	::	::	::
	200	::	::	::	::	::	::
	100	CMI	::	::	::	::	::
	50	-	::	::	CMI	::	::
	25	-	CMI	CMI	-	CMI	CMI
[Cu(ceftria)(Hstz)]·7H ₂ O	400	::	::	::	::	::	::
	200	CMI	CMI	::	CMI	CMI	CMI
	100	-	-	CMI	CMI	CMI	CMI
	50	-	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-	-
Cefepima	400	::	::	-	-	::	::
	200	CMI	CMI	-	-	::	CMI
	100	-	-	-	-	CMI	-

	50	-	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-	-
[Cu(cefepima)(stz)(H ₂ O)Cl]·5H ₂ O	400	...	CMI	CMI
	200	...	-	-	CMI	CMI	CMI
	100	...	-	-	-	-	-
	50	...	-	-	-	-	-
	25	CMI	-	-	-	-	-

... : Hubo inhibición, - : Resistencia, CMI : Concentración mínima inhibitoria

El complejo [Cu(cefazol)(stz)(H₂O)]·2H₂O presentó una concentración mínima inhibitoria de ≤ 100 µg/disco frente a *E. coli*, *S. enteritidis* y *K. pneumoniae*; de ≤ 50 µg/disco frente a *S. aureus* y *B. subtilis* y actividad nula frente a *P. aeruginosa*.

El complejo [Cu(cefalot)(stz)(H₂O)₂]·8H₂O presentó una mínima concentración inhibitoria de ≤ 25 µg/disco frente a *K. pneumoniae* y *B. subtilis*; de ≤ 100 µg/disco frente a *S. aureus*; de ≤ 200 µg/disco frente a *S. enteritidis* y actividad nula frente a *E. coli* y *P. aeruginosa*.

El complejo [Cu(cefotax)(stz)(H₂O)₂]·H₂O presentó una concentración mínima inhibitoria de ≤ 100 µg/disco frente a *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* y *B. subtilis*, y de ≤ 100 µg/disco frente a *S. enteritidis* y *S. aureus*.

El complejo [Cu(ceftria)(Hstz)]·7H₂O presentó una concentración mínima inhibitoria de ≤ 200 µg/disco frente a *E. coli* y *S. enteritidis* y de ≤ 100 µg/disco frente a *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *B. subtilis*.

El complejo [Cu(cefepima)(stz)(H₂O)Cl]·4H₂O presentó una concentración mínima inhibitoria de ≤ 400 µg/disco frente a *S. enteritidis* *P. aeruginosa*; de ≤ 100 µg/disco frente a *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *B. subtilis*, y de ≤ 25 µg/disco frente a *E. coli*.

CONCLUSIONES

Se prepararon cinco nuevos compuestos de cobre(II) que contienen sulfatiazol y cefalosporinas (cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona o cefepima). Basados en sus comportamientos espectroscópicos y fisicoquímicos, se sugieren estructuras octaédricas para los complejos.

Para el compuesto $[\text{Cu}(\text{cefazol})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, se sugiere una estructura octaédrica en donde la cefazolina se comporta como un ligando tetradentado monoaniónico. El Hstz participa como un ligando monodentado monoaniónico (stz).

En el complejo $[\text{Cu}(\text{cefalot})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2]\cdot 8\text{H}_2\text{O}$ y $[\text{Cu}(\text{cefotax})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2]\cdot \text{H}_2\text{O}$, la cefalotina y la cefotaxima se comportan como ligandos tridentados monoaniónicos. El Hstz participa como un ligando monodentado monoaniónico.

En el complejo $[\text{Cu}(\text{ceftria})(\text{Hstz})]\cdot 7\text{H}_2\text{O}$, la ceftriaxona se comporta como un ligando tetradentado dianiónico y el Hstz como un ligando monodentado neutro.

En el complejo $[\text{Cu}(\text{cefepima})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]\cdot \text{H}_2\text{O}$, la cefepima se comporta como un ligando tridentado zwitteriónico. El Hstz se comporta como un ligando monodentado monoaniónico. El ión cloruro se sitúa en la esfera de coordinación atendiendo a que el compuesto es no conductor.

Todos los complejos mostraron una menor actividad antibacteriana con respecto a la cefalosporina original, siendo la única excepción el complejo $\text{Cu}(\text{cefepima})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$, el cual mostró una mejor actividad frente a *E. coli* y, especialmente, ante *P. aeruginosa* y *S. aureus*, donde la cefepima era inactiva.

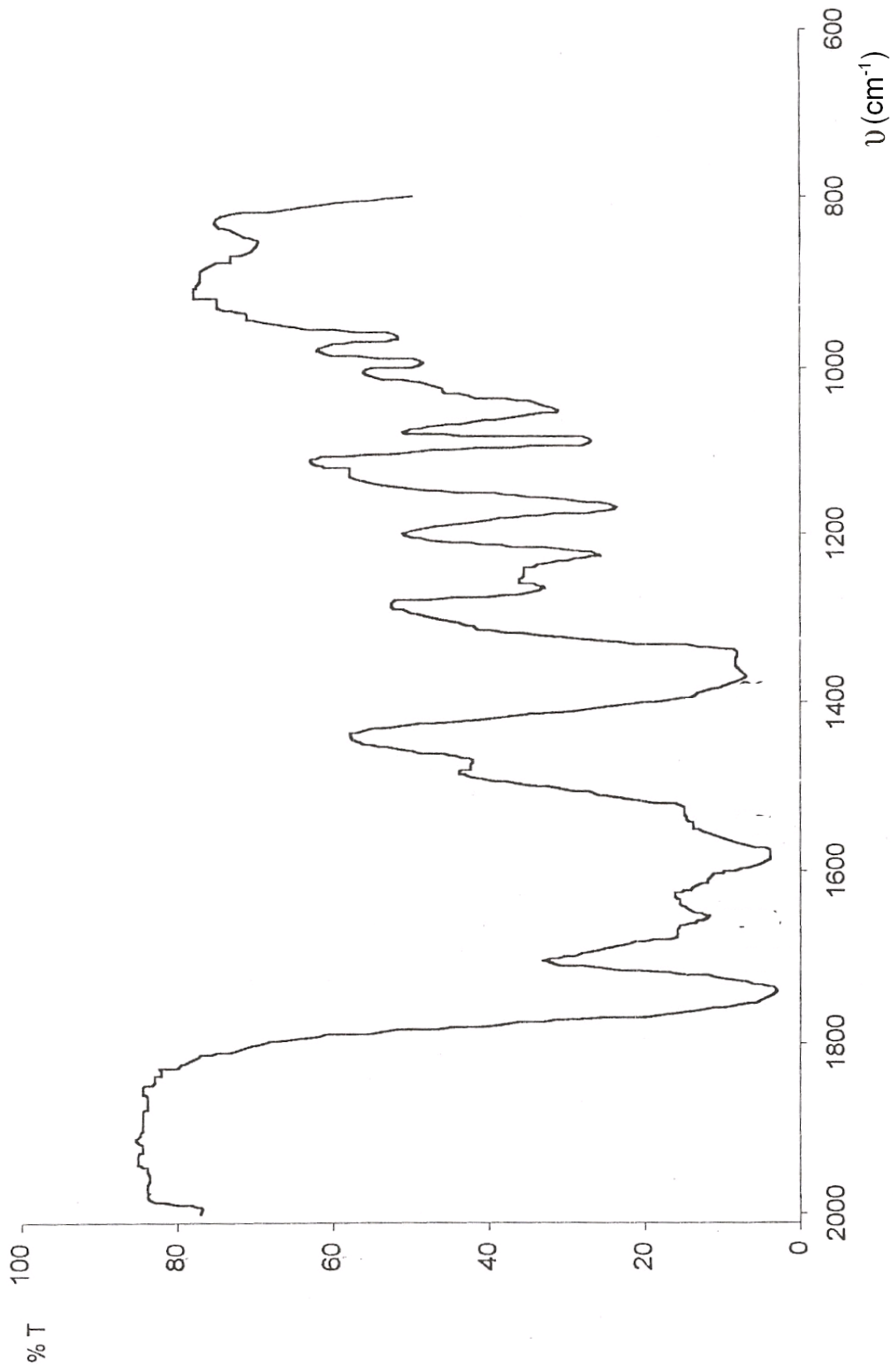
BIBLIOGRAFÍA

1. Joklik, W.; Willet, H.; Amos, B. y Wilfert, C. 1995. *Microbiología Zinsser*. Veinteava edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.
2. Goddman, A.; Rall, T.; Nies, A. y Taylor, P. 1991. *Las bases farmacológicas de la terapéutica. En: Agentes antimicrobianos, penicilinas, cefalosporinas y otros antibióticos betalactámicos*. Mandell, G. (ed.), Octava edición. Editorial Médica Panamericana, Argentina, pp. 1035-1054.
3. Pumarola, A.; Rodríguez, A.; García, R. y Piedrola G. 1991. *Microbiología y parasitología médica*. En: *Antimicrobianos*. García, R. (ed.). Editorial Médica Panamericana. México. Segunda edición. Ediciones Científicas y Técnicas, S. A. Masson. Madrid, pp. 1019.
4. Katzung, B. 2004. *Farmacología básica clínica*. Novena edición, Editorial El Manual Moderno, S. A. México.
5. Gómez, M.; Mariño, F.; Montes, T. y Marcano, C. 1997. *Microbiología médica de Divo*. Quinta edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Venezuela.
6. Davis, B. y Dulbecco, R. 1996. *Tratado de microbiología*. Cuarta edición. Salvat Editores. Barcelona.
7. Goddman, A.; Rall, T.; Nies, A. y Taylor, P. 1991. *Las bases farmacológicas de la terapéutica. En: Agentes antimicrobianos, penicilinas, cefalosporinas y otros antibióticos betalactámicos*. Mandell, G. (ed.), Octava edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina, pp 1035-1054.
8. Anacona, J. R. 2001. Synthesis and antibacterial activity of some metal complexes of betalactamic antibiotics. *J. Coord. Chem.*, 54: 223-232.
9. Jacoby, G. y Sutton, L. 1985. Betalactamasas y resistencia betalactámica de *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agens. Chemoterm*, 28: 703-705.
10. Jawest, E.; Melnick, J.; Adelberg, E.; Brooks, G.; Butel, J. y Ornston, L. 1992. *Microbiología médica*. Catorceava edición. Editorial el Manual Moderno, S. A. de C.V. México, D. F. pp. 900.
11. Katzung, B. 1991. *Farmacología básica clínica*. Cuarta edición, Editorial El Manual Moderno, S. A. México.
12. Conn, M. y Grebhart, G. 1991. *Principios de farmacología*. Primera edición. Editorial el Manual Moderno. México.

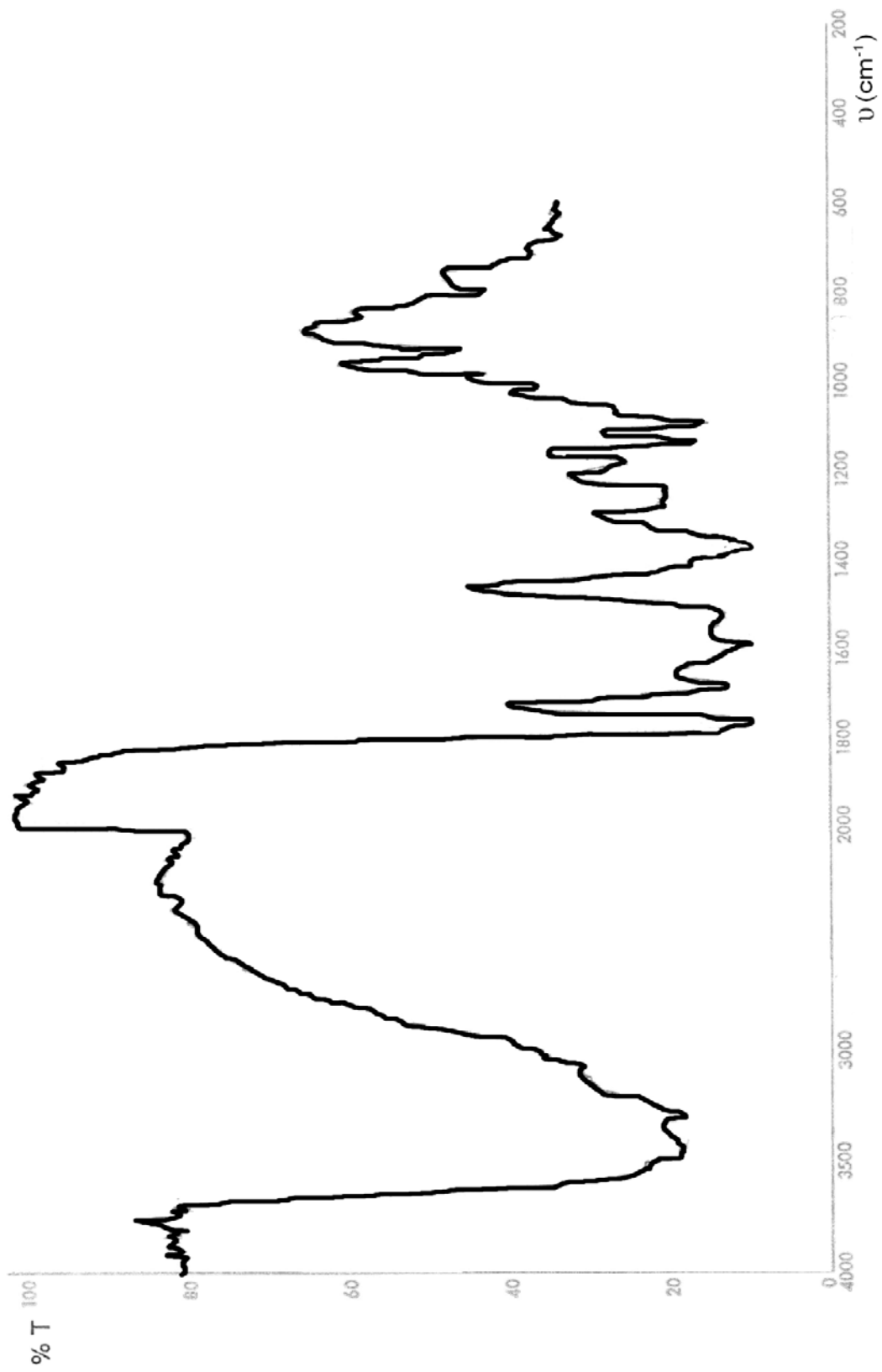
13. Neu, H. 1985. Relación de las propiedades estructurales de los antibióticos betalactámicos con la actividad antibacteriana. *Am. J.*, 79: 2-13.
14. Pelezar, M. y Roger, R. 1996. *Microbiología*. Cuarta edición. Editorial Mc Graw-Hill. México.
15. John, N. 1995. *Terapéutica antimicrobiana pediátrica*. Cuarta edición. Editorial Médica Argentina. Buenos Aires.
16. Casanova, J.; Alzuet, G.; Timoneda, G.; Borrás, J.; García-Granda, S. y Candado, I. 1994. Coordination behavior of sulfathiazole. Cristal structure of dichloro disulfathiazole ethanol Cu (II) complex. Superoxide dismutase activity. *J. Inorg. Biochem.*, 56: 65-76.
17. Casanova, J.; Alzuet, G.; Timoneda, G.; Borrás, J. y García, S. 1995. Coordination behavior of sulfathiazole. Cristal structure of [Cu(sulfathiazole)(py)₃Cl] Superoxide dismutase activity. *J. Inorg. Biochem.*, 60: 219-230.
18. Anacona, J. R. y Álvarez, P. 2002. Synthesis and antibacterial activity of metal complexes of cefazolin. *Trans. Metal Chem.*, 27: 586-860.
19. Anacona, J. R. y Bravo, A. 1998. Synthesis and characterization of metal complexes with ampicilin. *J. Coord. Chem.*, 44: 173-182.
20. Anacona, J. R. y Figueroa, R. 1999. Synthesis and characterization of metal complexes with penicillin. *J. Coord. Chem.*, 48: 181-189.
21. Anacona, J. R. y Toledo, C. 2001. Synthesis and characterization of metal complexes of ciprofloxacin. *J. Coord. Chem.*, 26: 228-231.
22. Anacona, J. R. y Estacio, J. 2005. Synthesis and antibacterial activity of cefixime metal complexes. *Tran. Metal Chem.*, 31: 227-231
23. Anacona, J. R. y Rodríguez, I. 2004. Synthesis and antibacterial activity of cephalexin metal complexes. *J. Coord. Chem.*, 57: 1263-1269.
24. Anacona, J. R. y Serrano, J. 2003. Synthesis and antibacterial activity of cephalotin metal complexes. *J. Coord. Chem.*, 56: 313-320.
25. Anacona, J. R. y Da Silva, G. 2005. Synthesis and antibacterial activity of cefotaxime metal complexes. *J. Chil. Chem. Soc.*, 50: 447-450.
26. Anacona, J. R. y Gil, C. 2005. Synthesis and antibacterial activity of ceftioxin metal complexes. *J. Coord. Chem.*, 30: 605-609.

27. Anacona, J. R. y Rodríguez, A. 2005. Synthesis and antibacterial activity of ceftriaxone metal complexes. *Trans. Metal Chem.*, 30: 897-901.
28. Lynch, M.; Raphael, S.; Mello, L.; Spare, P. y Inwood, M. 1980. *Métodos de laboratorio 2*. Segunda edición. Nueva Editorial Interamericana. México.
29. Bauer, A.; Kirby, W.; Sherris, J. y Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, 75: 993 – 996.
30. Geary, W. 1971. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds. *Coord. Chem. Rev.* 7: 81 - 122

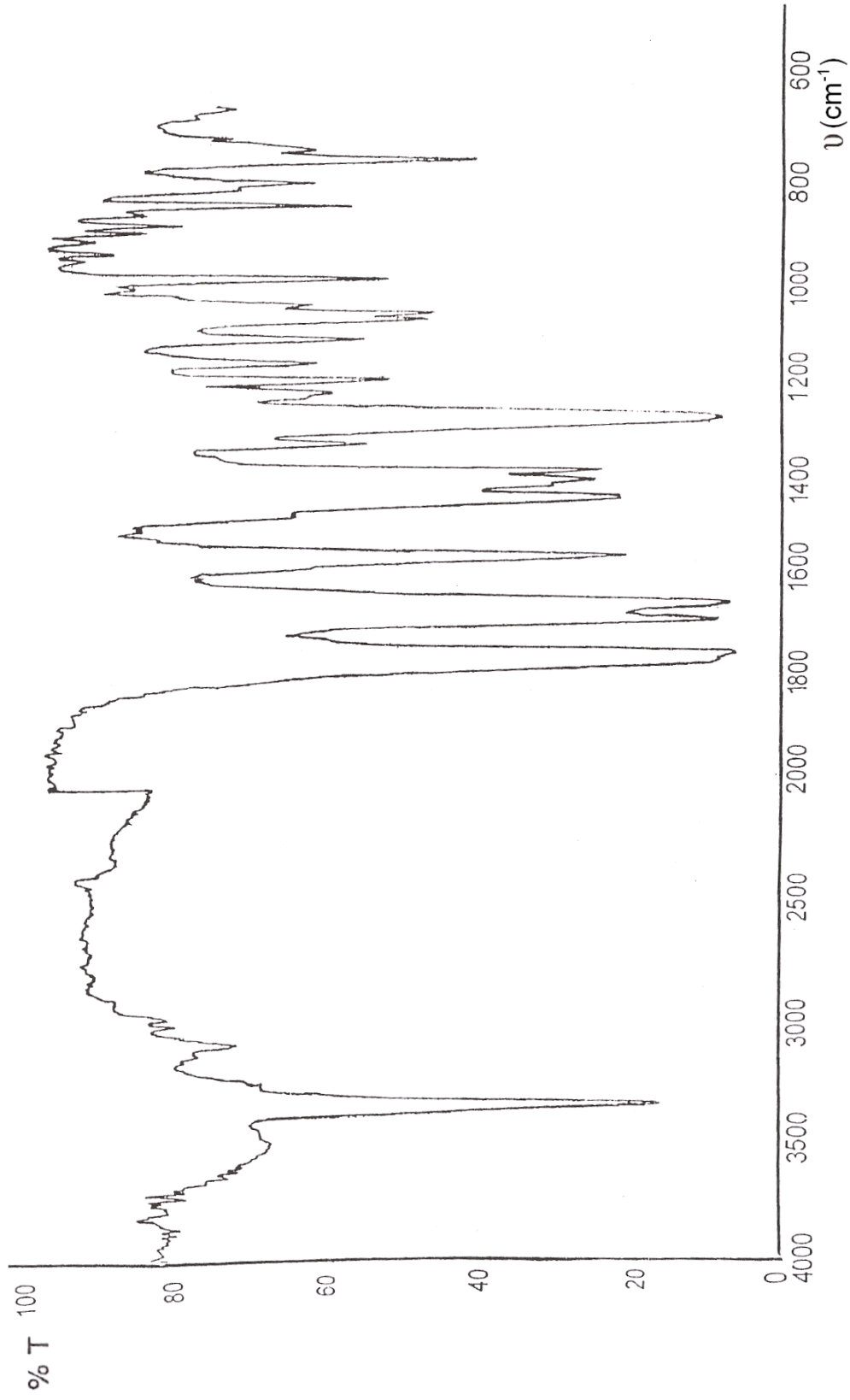
ANEXOS



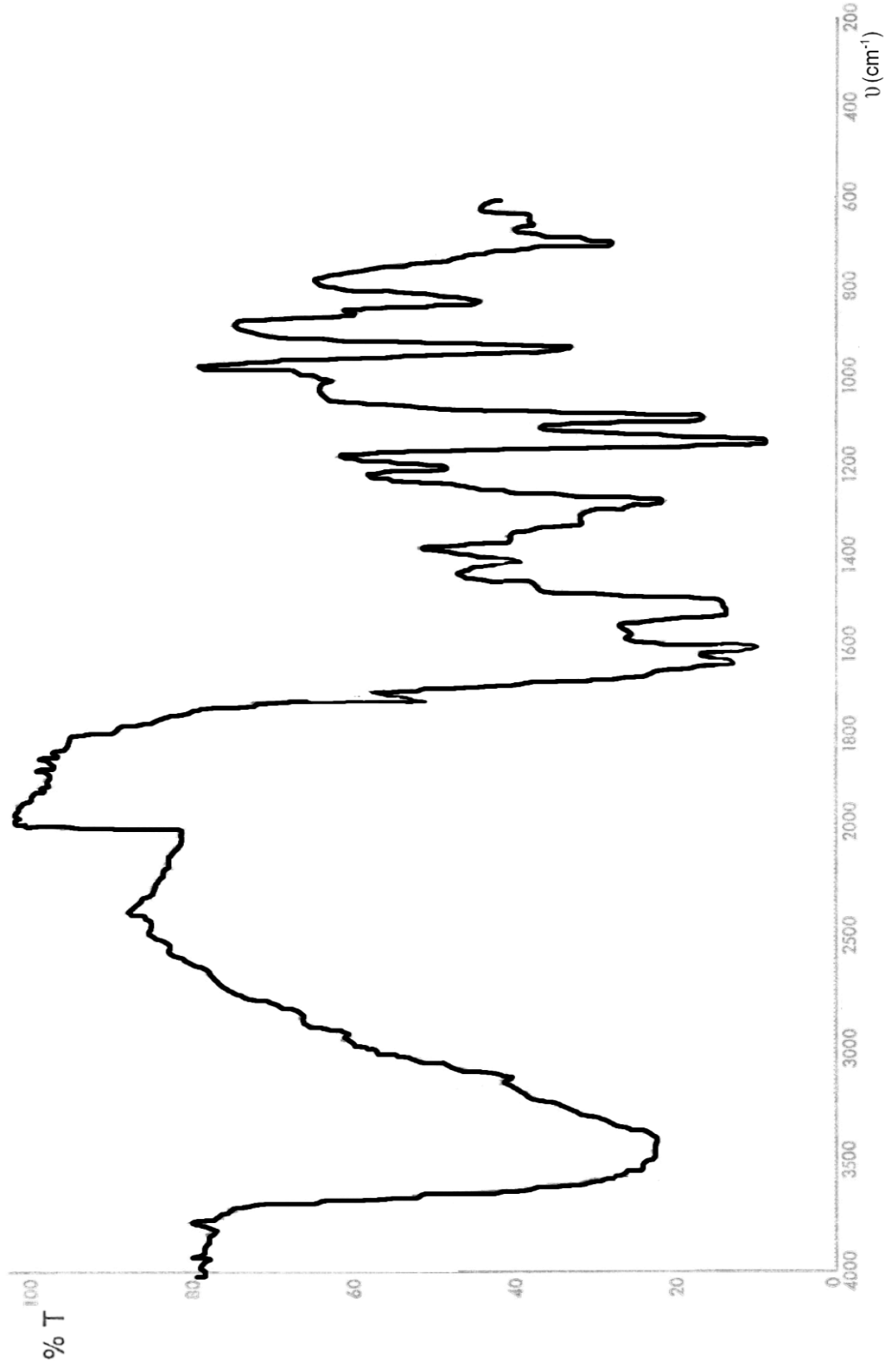
Anexo 1. Espectro infrarrojo de la cefazolina.



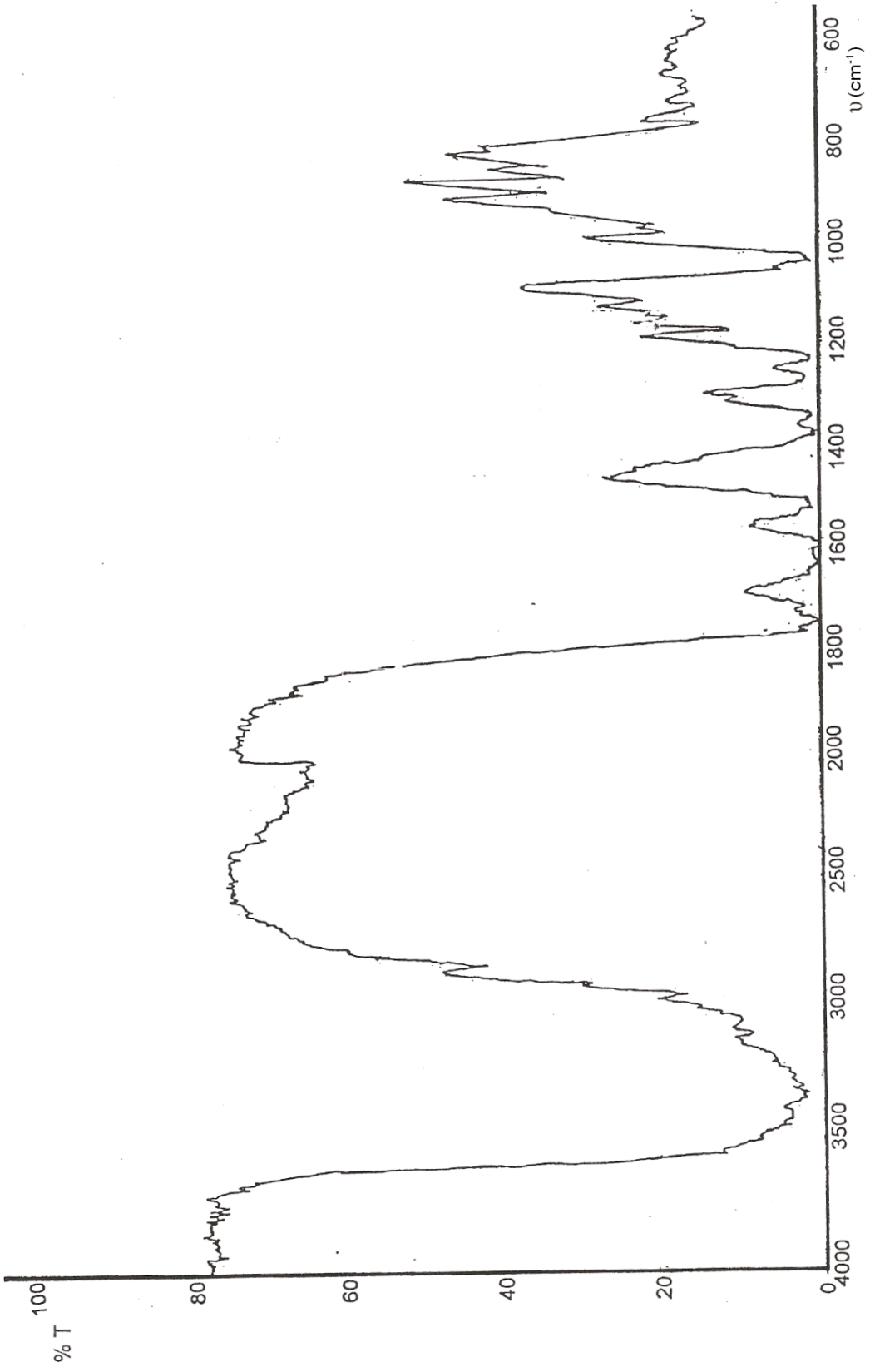
Anexo 2. Espectro infrarrojo del compuesto $[\text{Cu}(\text{cefazol})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.



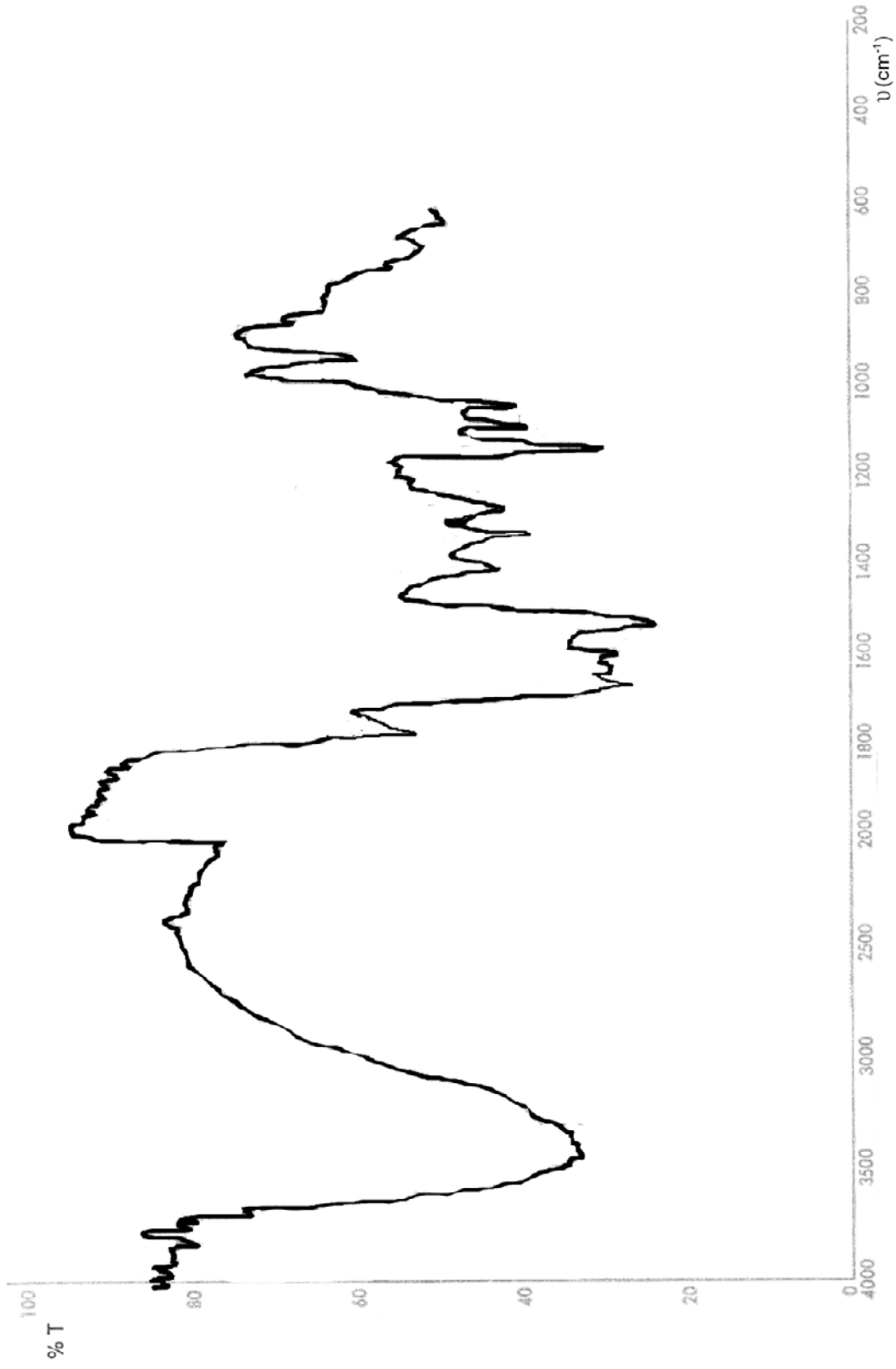
Anexo 3. Espectro infrarrojo de la cefalotina.



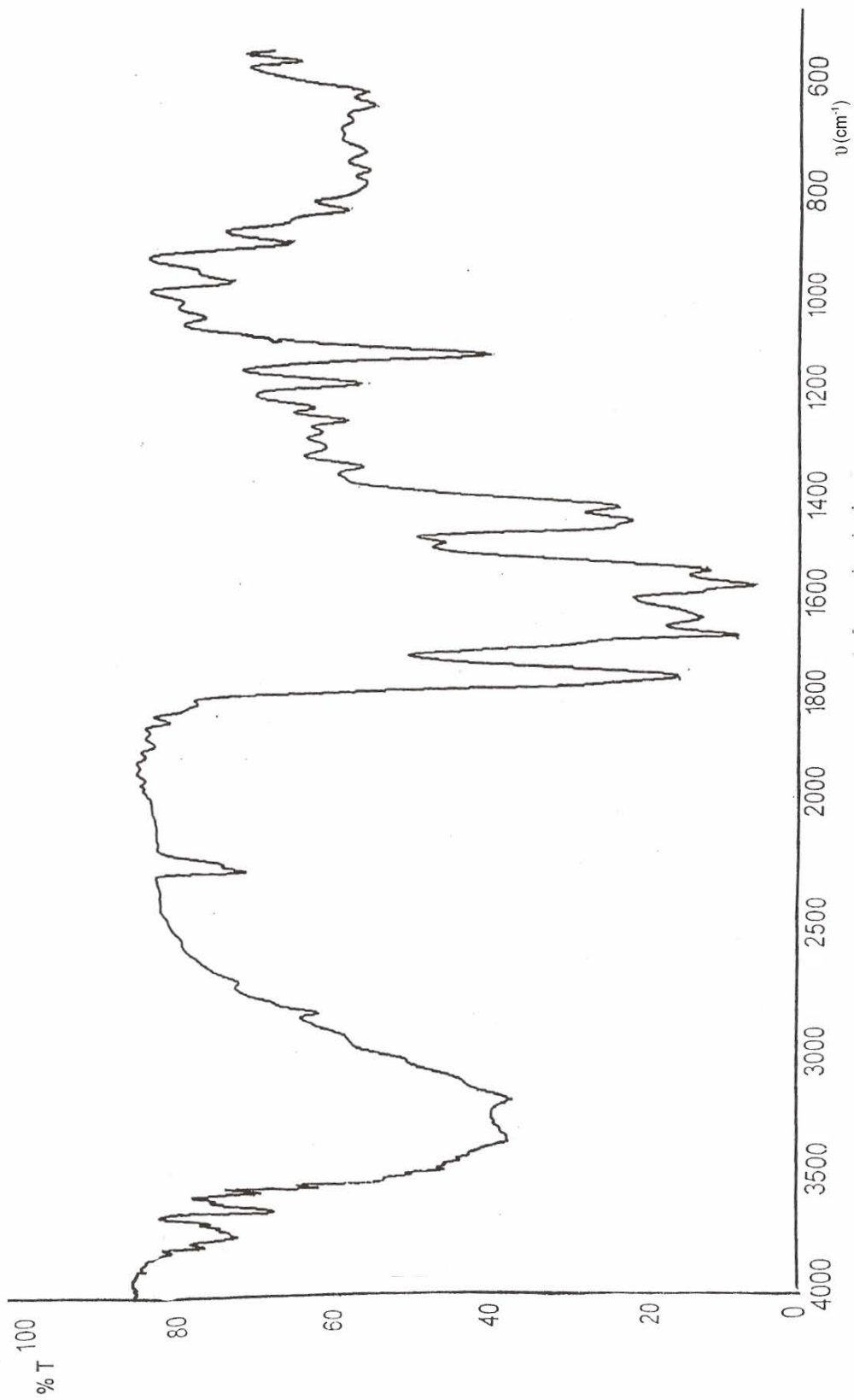
Anexo 4. Espectro infrarrojo del compuesto [Cu(cefalot(stz)(H₂O)₂)]·8H₂O.



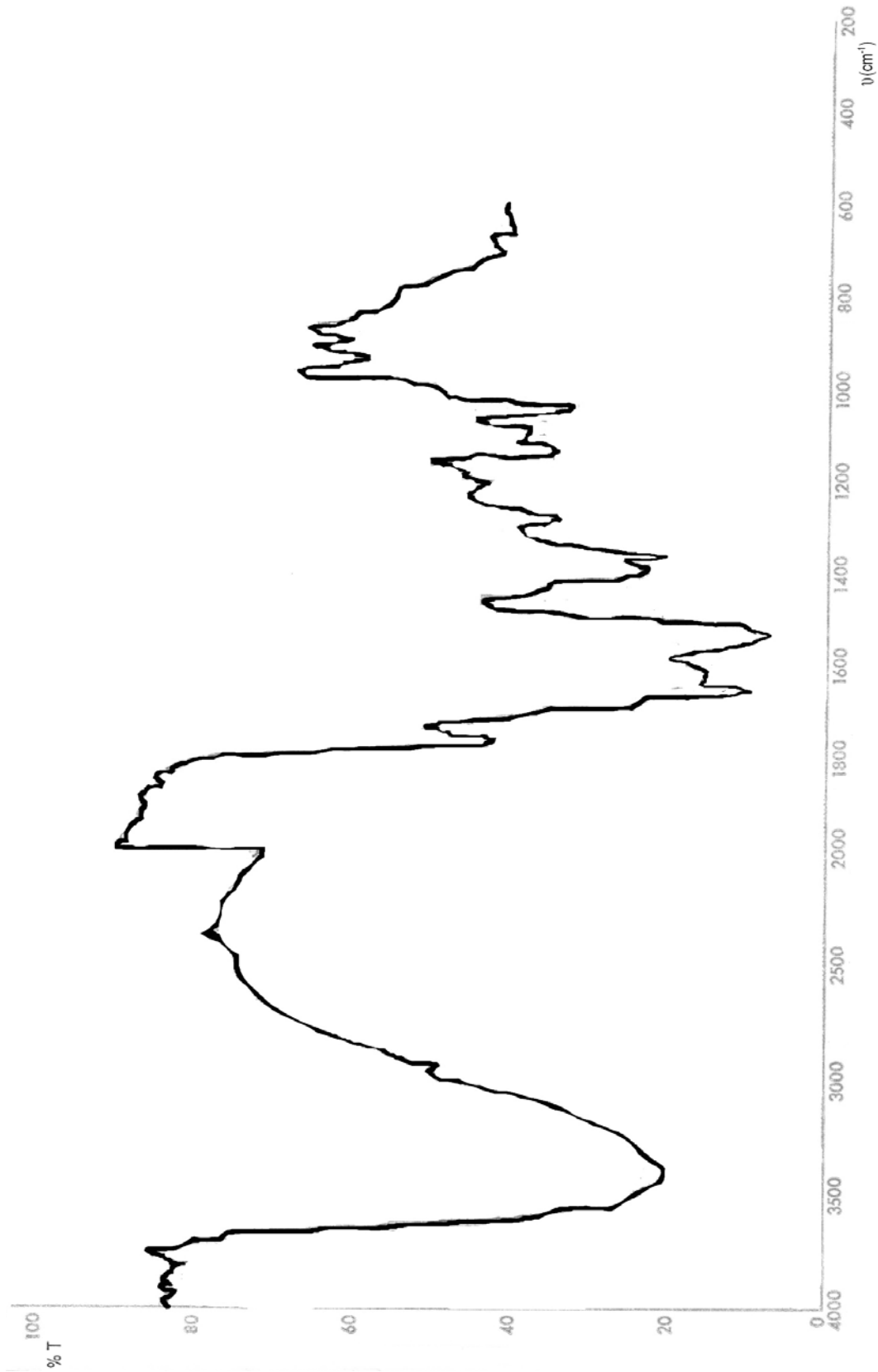
Anexo 5. Espectro infrarrojo de la cefotaxima.



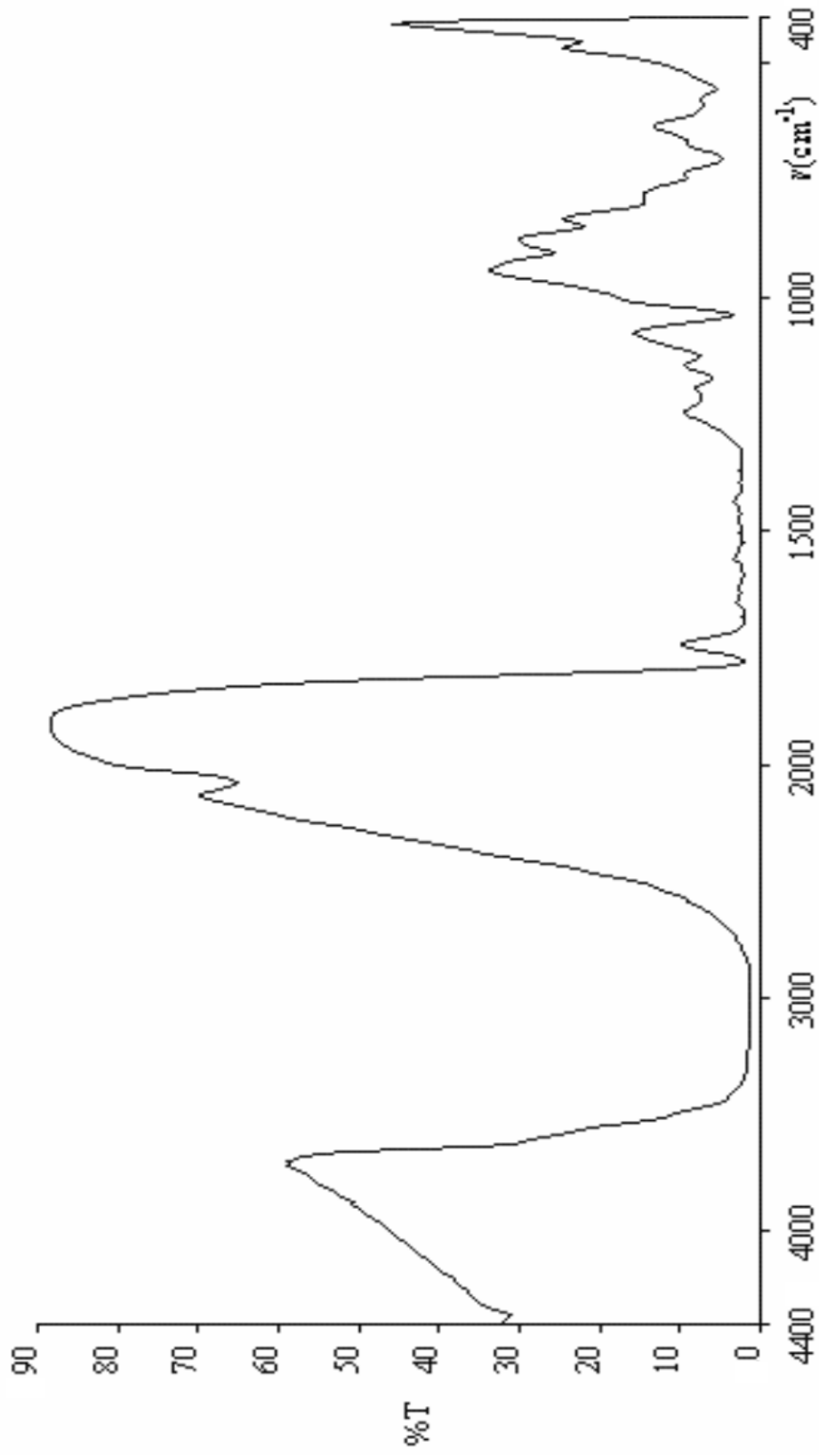
Anexo 6. Espectro infrarrojo del compuesto $[\text{Cu}(\text{cefotax})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$.



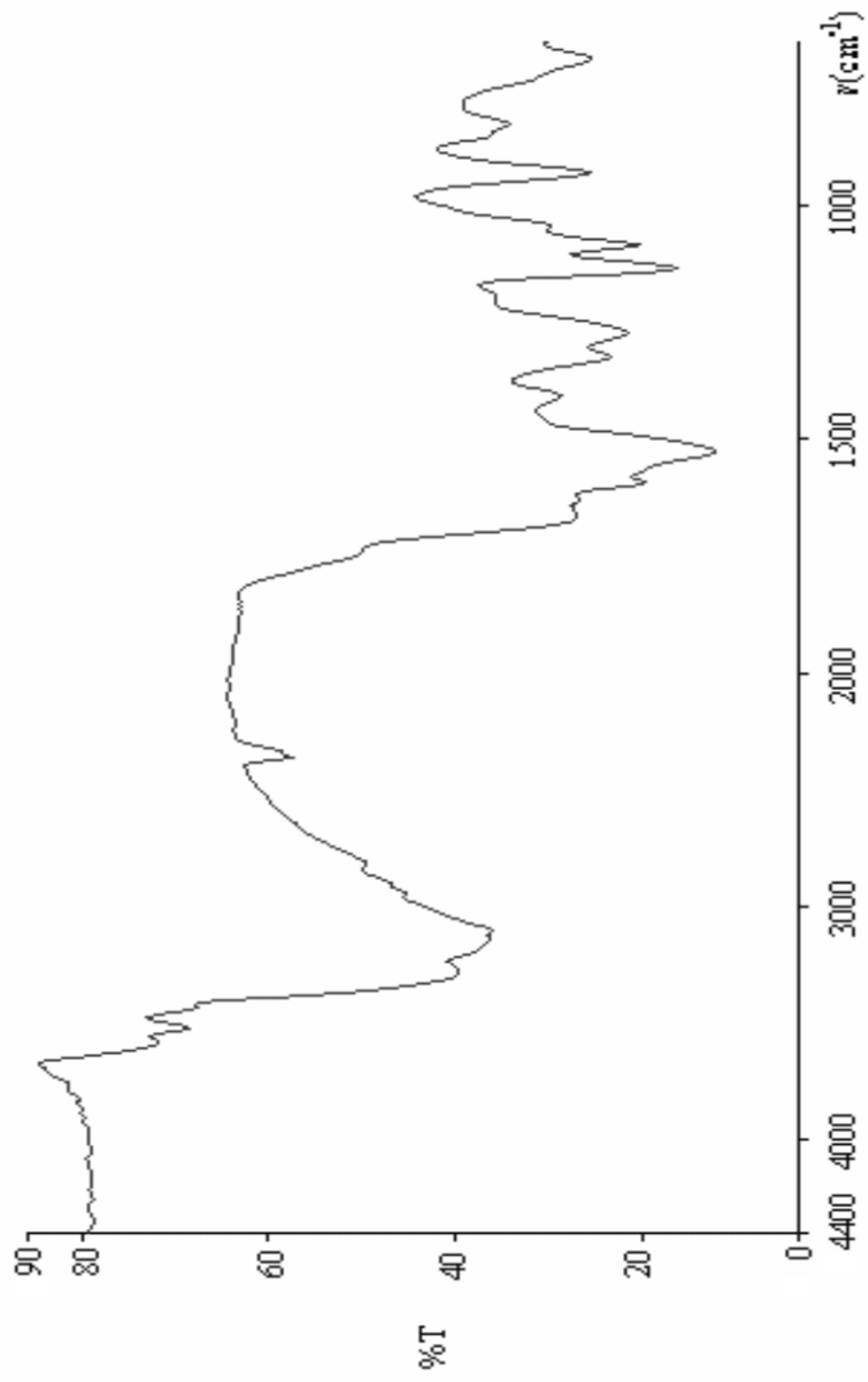
Anexo 7. Espectro infrarrojo de la ceftriaxona.



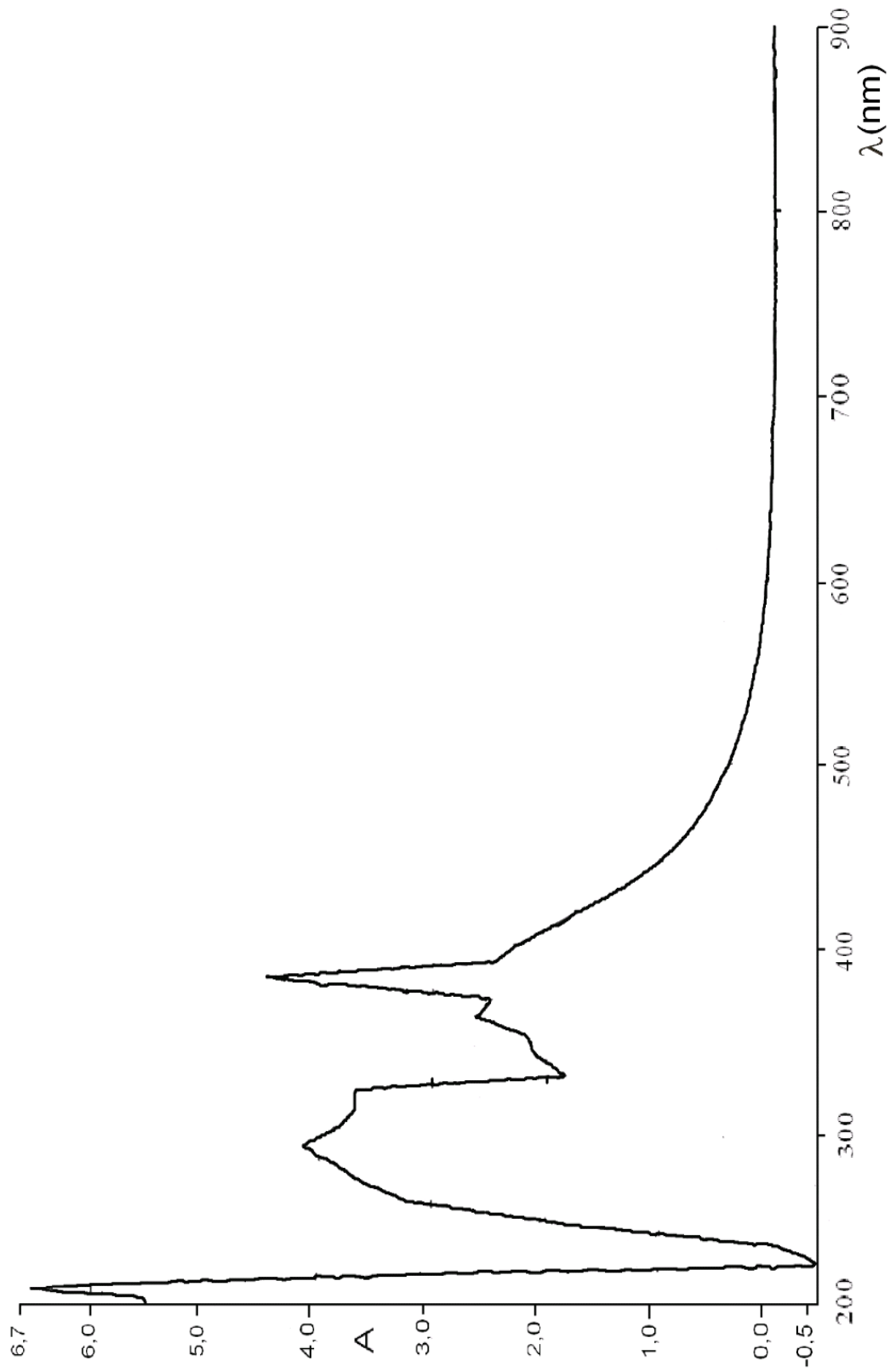
Anexo 8. Espectro infrarrojo del compuesto $[\text{Cu}(\text{ceftria})(\text{Hstz})] \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.



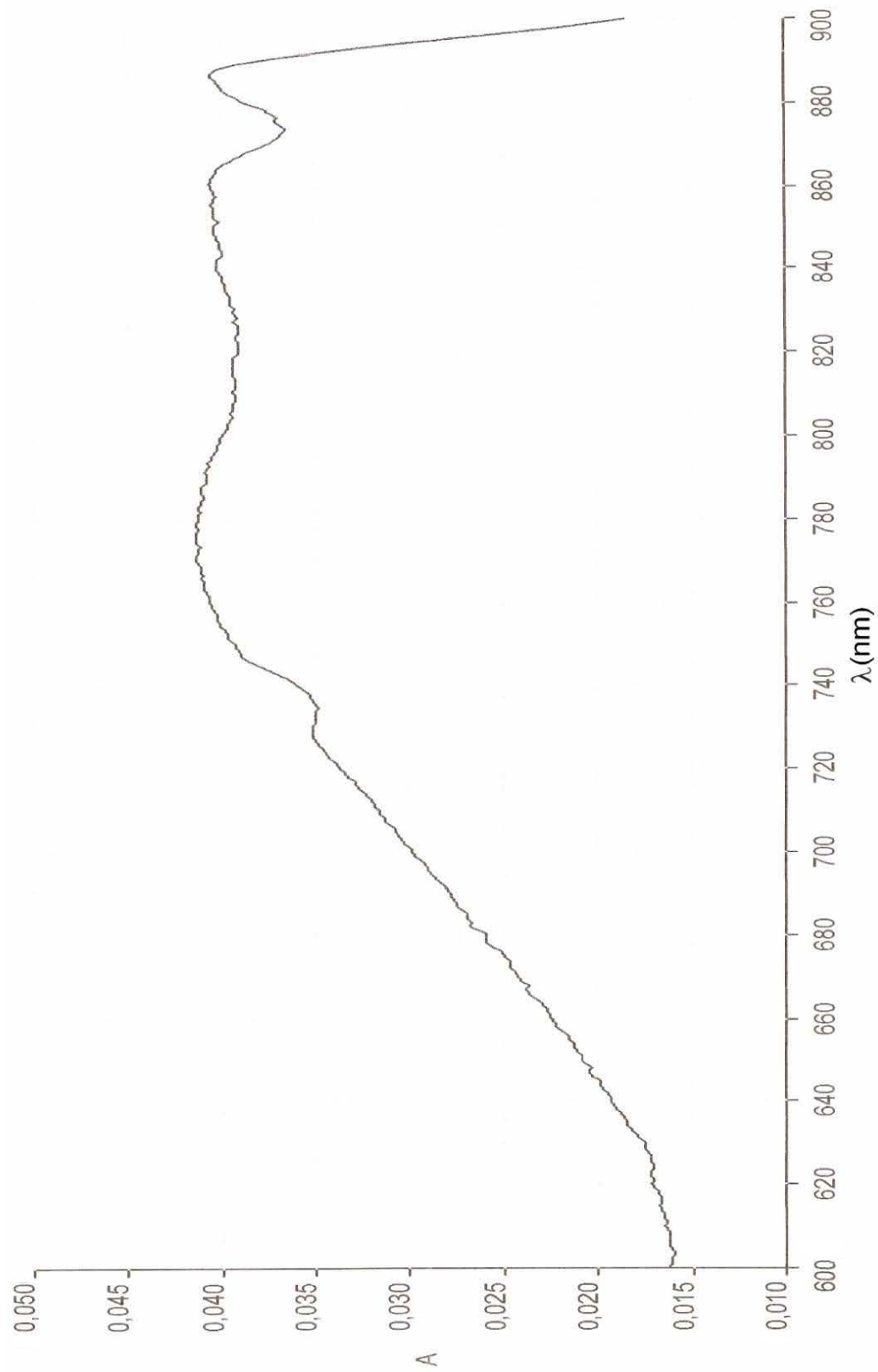
Anexo 9. Espectro infrarrojo de la cefepima.



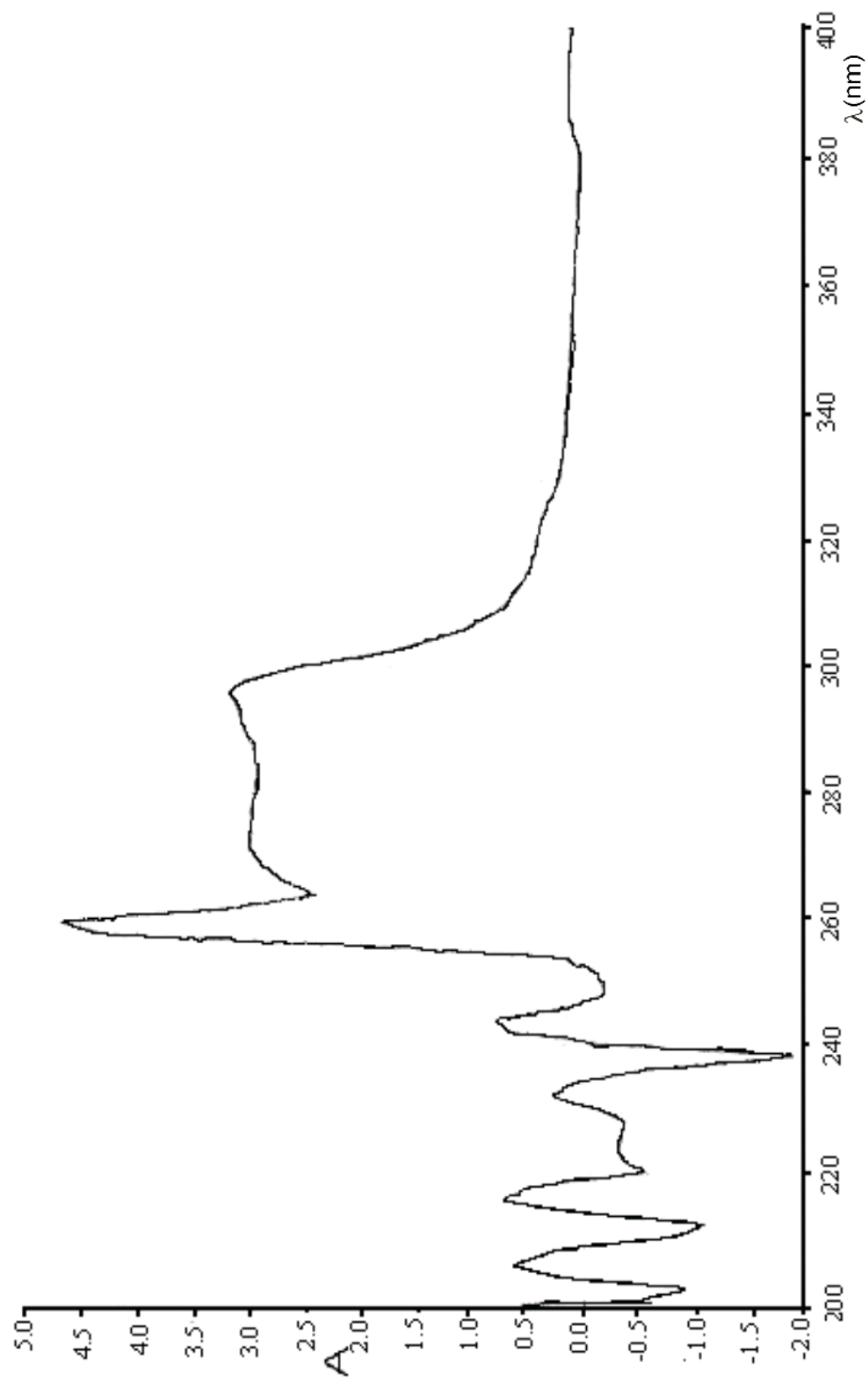
Anexo 10. Espectro infrarrojo del compuesto [Cu(cefepima)(stz)(H₂O)Cl]·4H₂O.



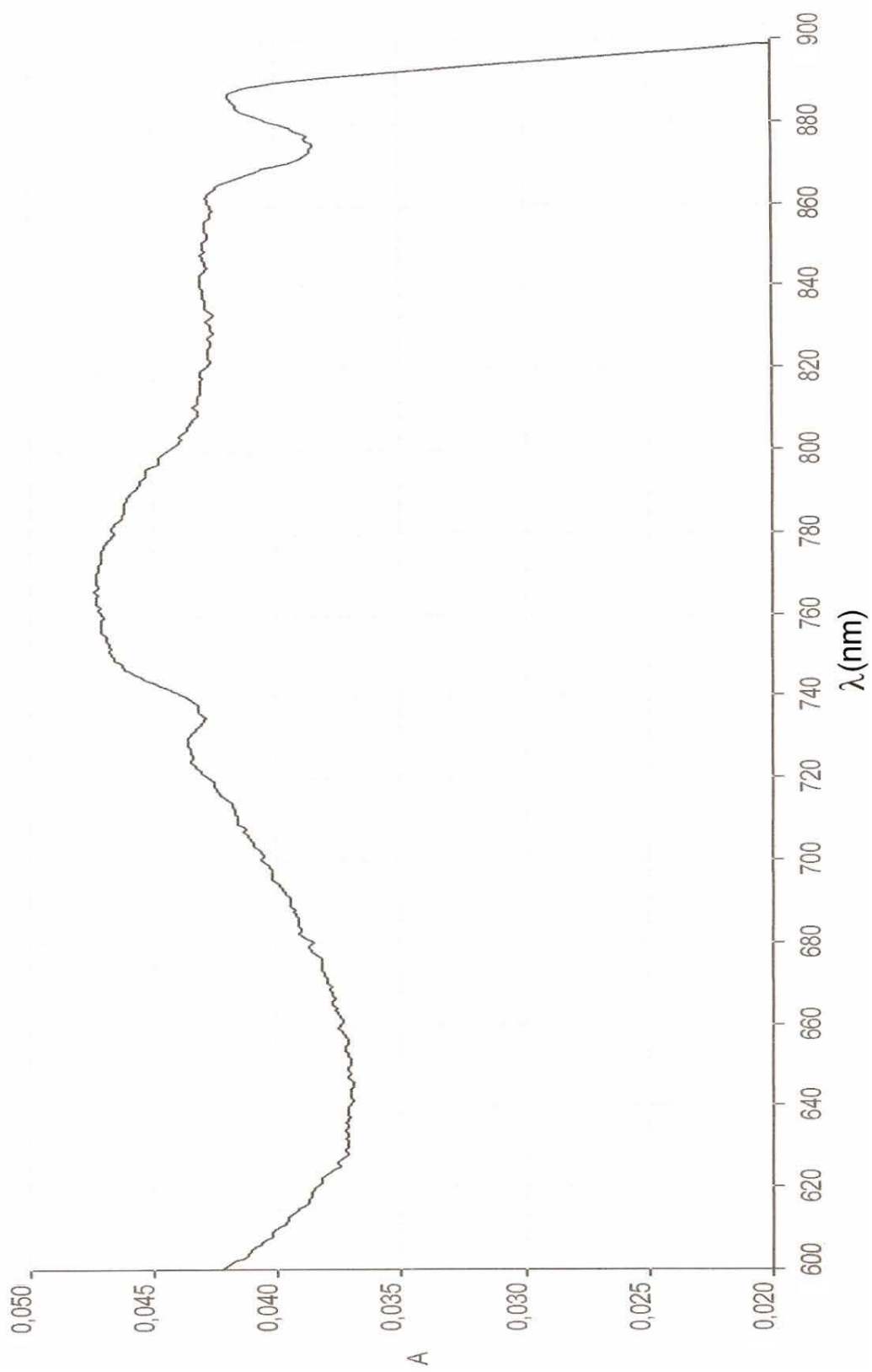
Anexo 11. Espectro electrónico de la cefazolina.



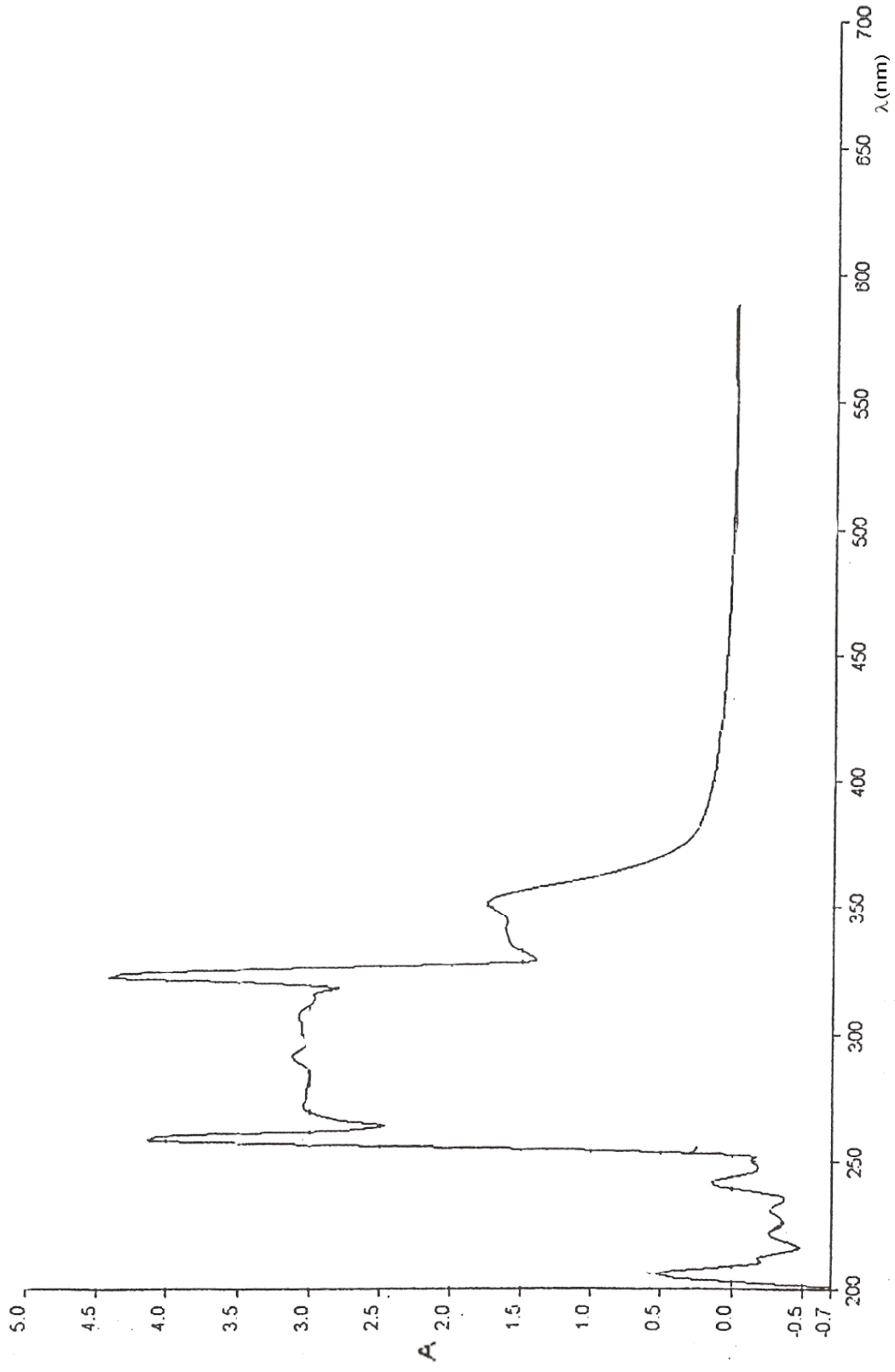
Anexo 12. Espectro electrónico del compuesto $[\text{Cu}(\text{cefazol})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.



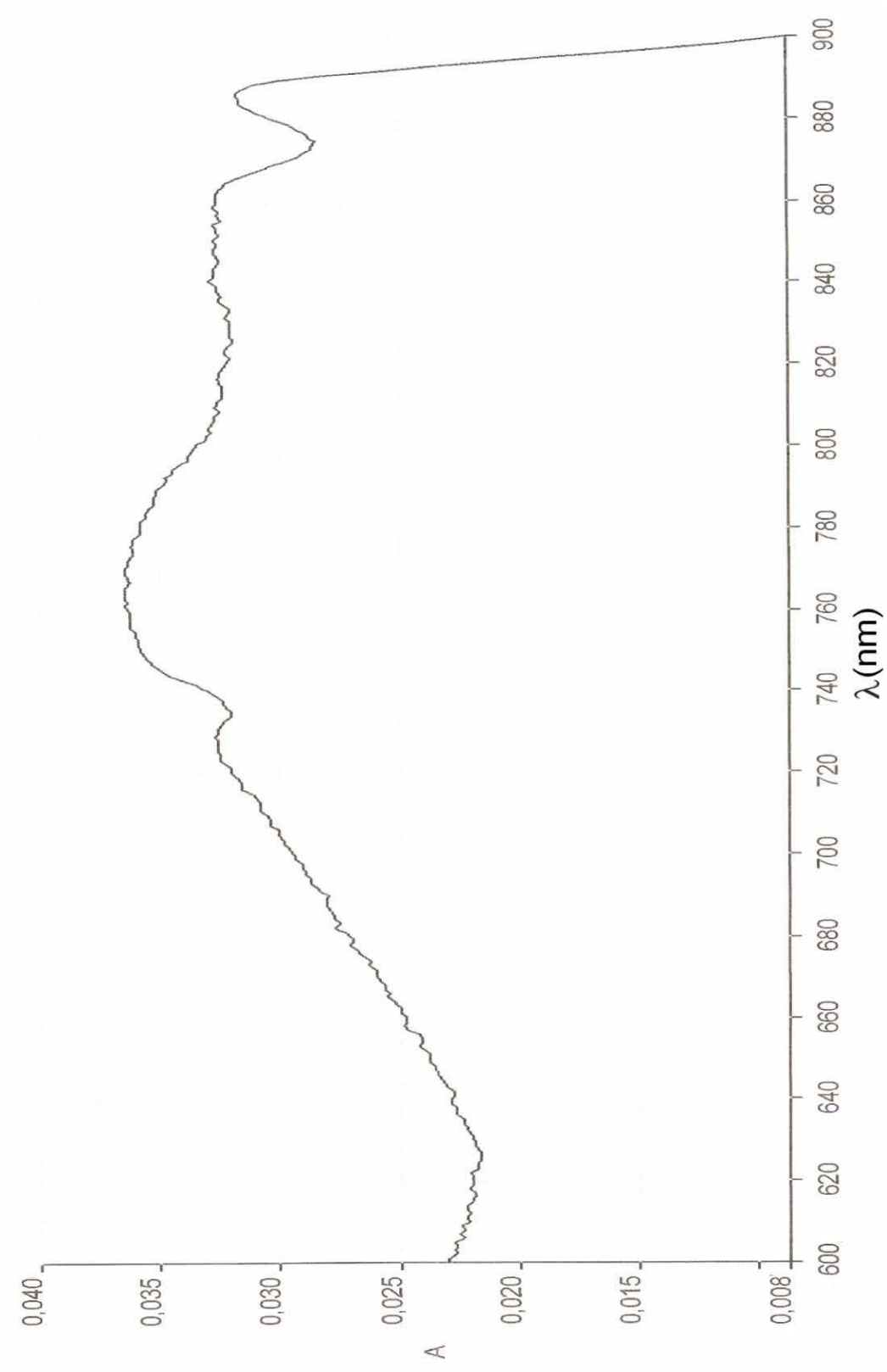
Anexo 13. Espectro electrónico de la cefalotina.



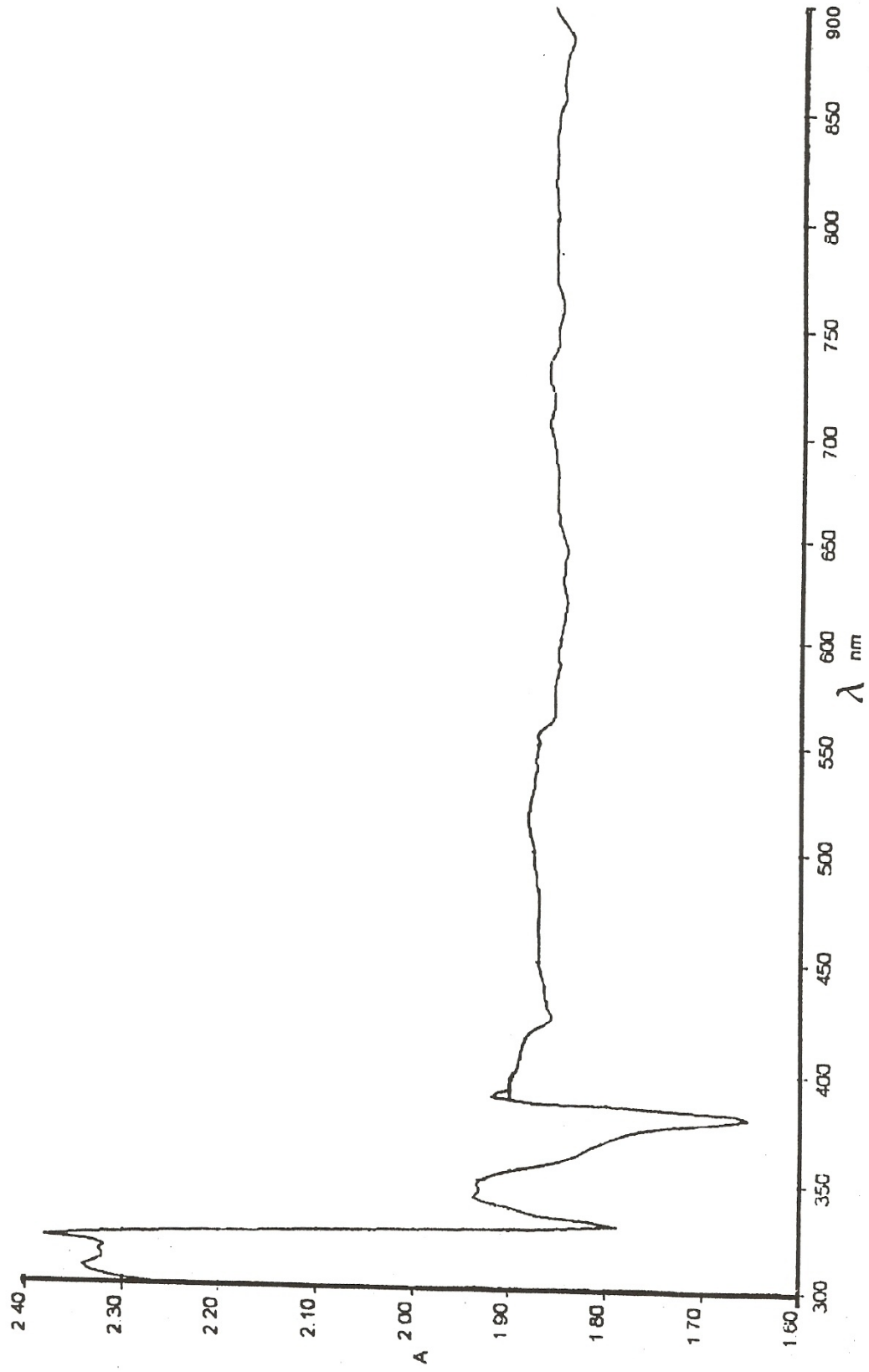
Anexo 14. Espectro electrónico del compuesto $[\text{Cu}(\text{cefalot}(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2)] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$.



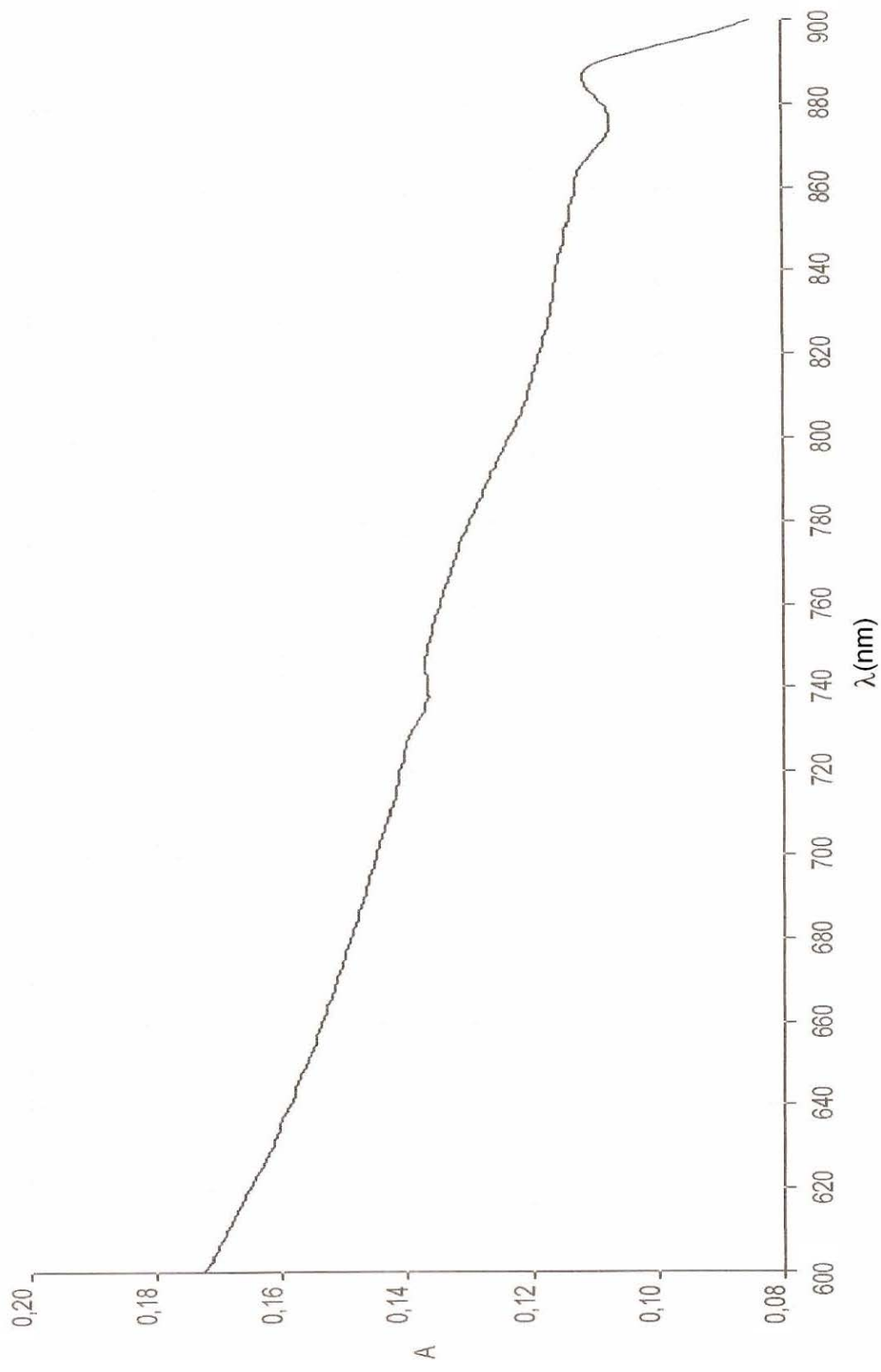
Anexo 15. Espectro electrónico de la cefotaxima.



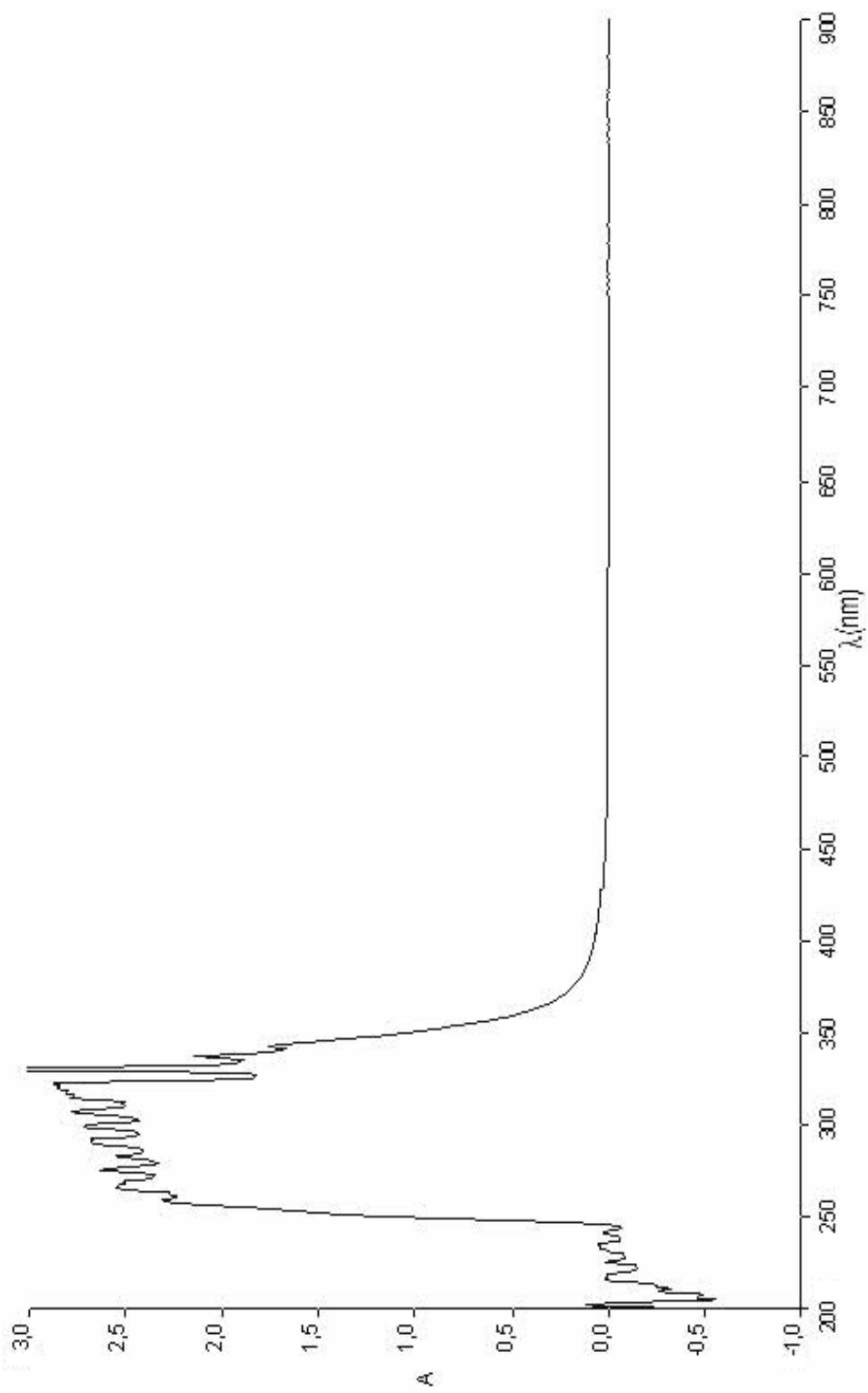
Anexo 16. Espectro electrónico del compuesto $[\text{Cu}(\text{cefotax})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$.



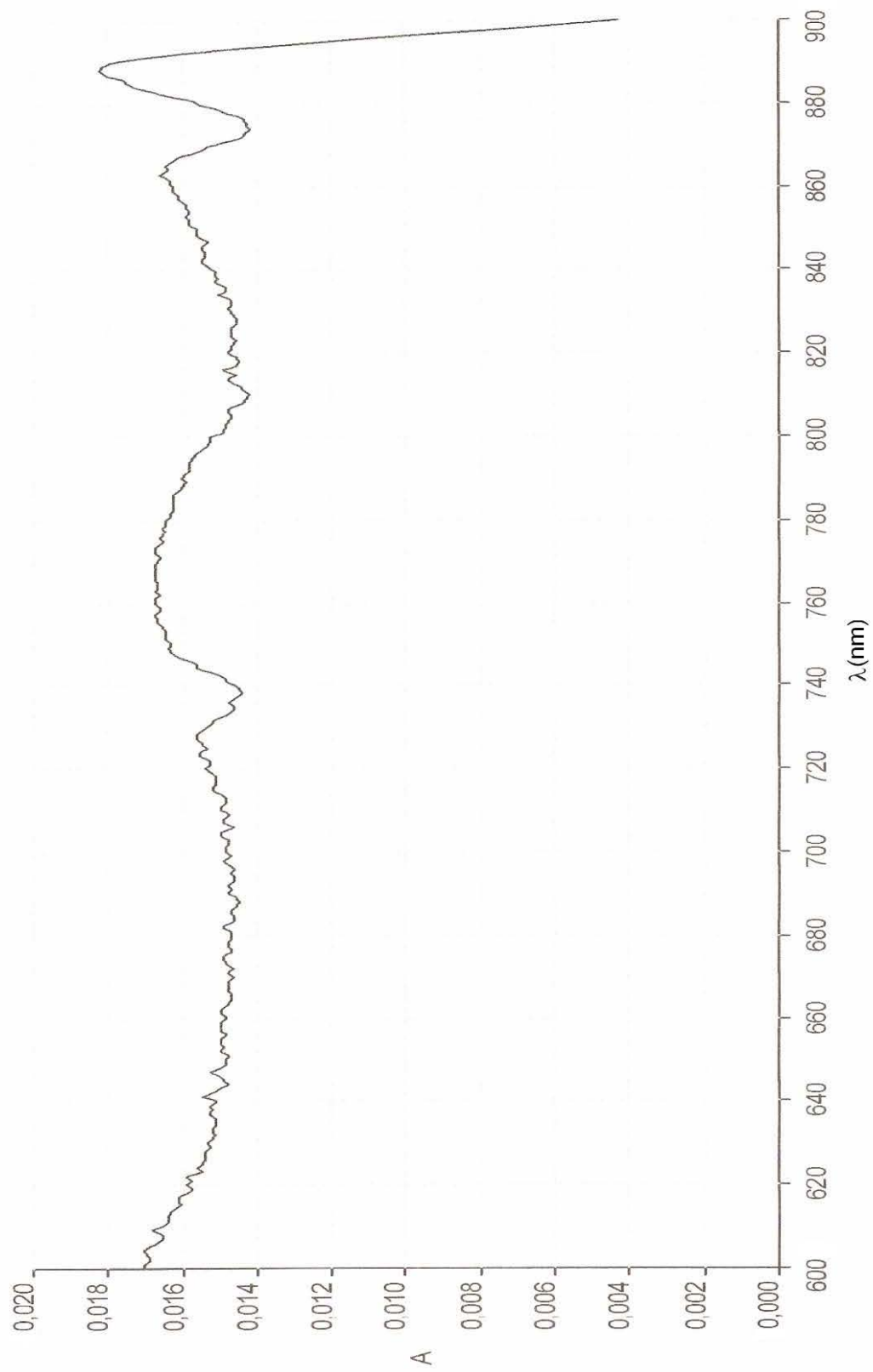
Anexo 17. Espectro electrónico de la ceftriaxona.



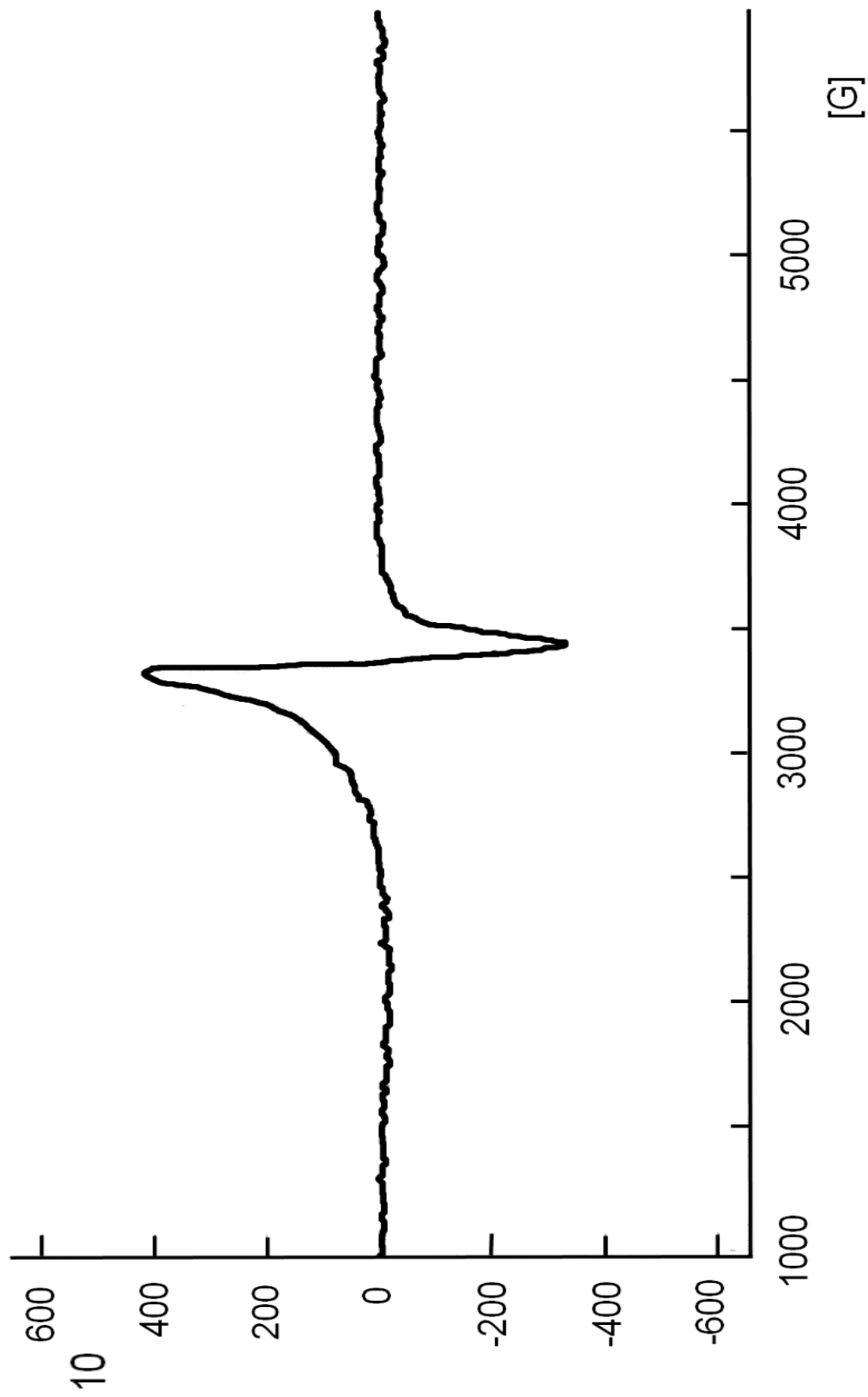
Anexo 18. Espectro electrónico del compuesto $[\text{Cu}(\text{ceftria})(\text{Hstz})] \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.



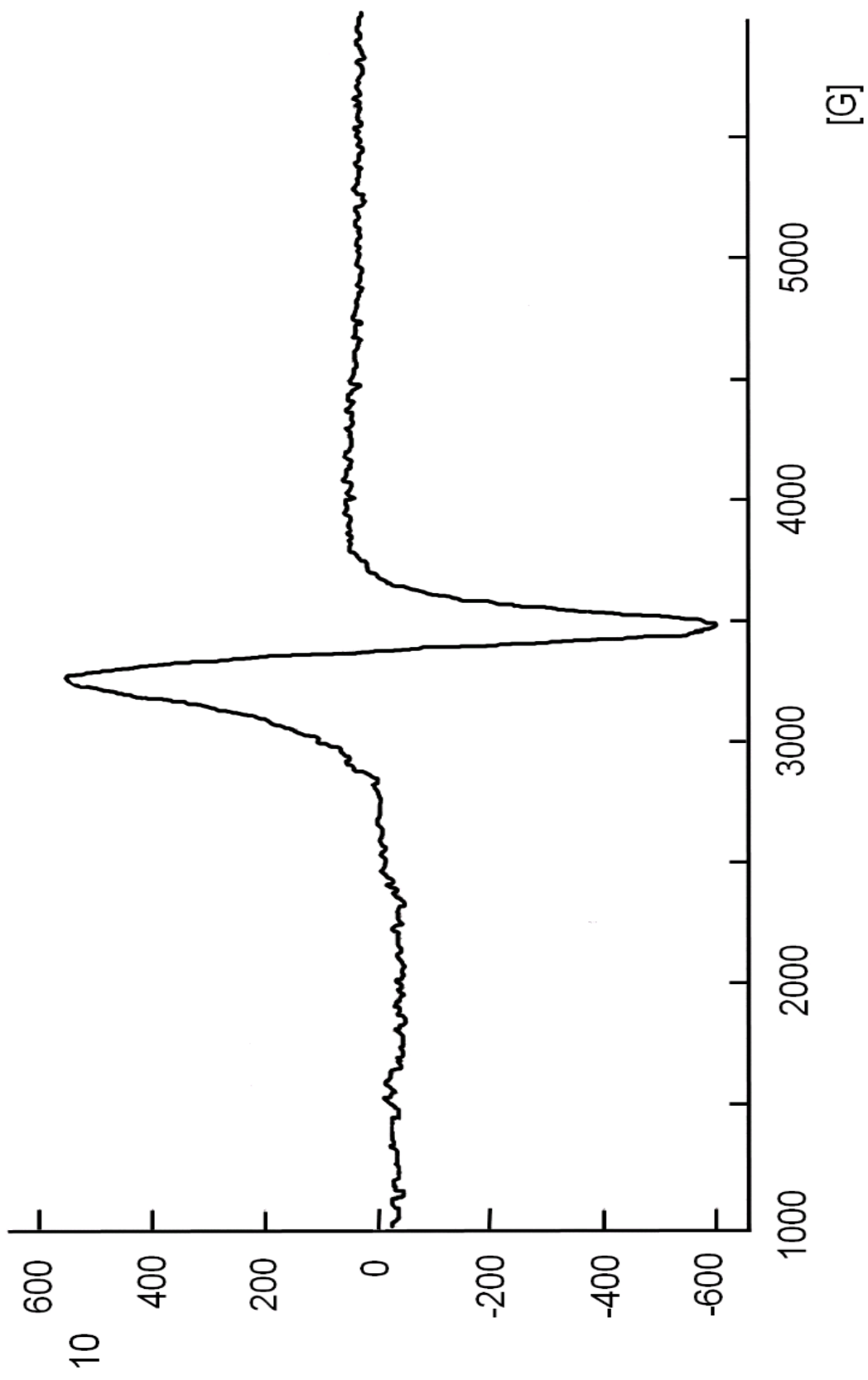
Anexo 19. Espectro electrónico de la cefépima.



Anexo 20. Espectro electrónico del compuesto $[\text{Cu}(\text{cefepima})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.



Anexo 21. Espectro RPE del compuesto $[\text{Cu}(\text{cefalot})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$.



Anexo 22. Espectro RPE del compuesto $[\text{Cu}(\text{cefotax})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2]_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

Hoja de Metadatos

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

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Química

Resumen (abstract):

Se sintetizaron nuevos complejos de cobre(II) haciendo reaccionar separadamente el

$\text{CuCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y sulfatiazol con las cefalosporinas cefazolina, cefalotina, cefotaxima,

ceftriaxona y cefepima para obtener los siguientes complejos mixtos:

$[\text{Cu}(\text{cefazol})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})]$, $[\text{Cu}(\text{cefalot})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2]$,

$[\text{Cu}(\text{cefotax})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2]$,

$[\text{Cu}(\text{ceftria})(\text{Hstz})]$ y $[\text{Cu}(\text{cefepima})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$. Para la caracterización de los Complejos

se utilizaron técnicas espectroscópicas de infrarrojo, ultravioleta-visible, resonancia

paramagnética de spin y técnicas de análisis elemental, susceptibilidad magnética y

conductividad molar. Los espectros indicaron que la mayoría de las cefalosporinas actúan,

probablemente, como ligandos monoaniónicos multidentados, a excepción de la ceftriaxona

la cual es dianiónica. La actividad antibacteriana de los complejos sintetizados fue ensayada

frente a las cepas de *Escherichia coli* ATCC 11775, *Salmonella enteritidis* CDC 64,

Pseudomonas aeruginosa (de adquisición hospitalaria), *Staphylococcus aureus* ATCC 29213,

Klebsiella pneumoniae ATCC 23357 y *Bacillus subtilis* ATCC 6051, utilizando la técnica de

difusión en disco y concentración mínima inhibitoria siendo, el complejo de cobre(II)

con cefepima y sulfatiazol el que presentó mejor actividad antibacteriana frente a las cepas de

de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

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

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail
Anacona, Juan R.	ROL CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input checked="" type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC
	e-mail juananacona@hotmail.com
	e-mail
Elsa Salazar	ROL CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC
	e-mail
	e-mail
Daniel Loroño	ROL CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC
	e-mail
	e-mail
Anais Maza	ROL CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC
	e-mail
	e-mail

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2008	05	16

Lenguaje: ESPAÑOL

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

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis-ivorE,osorioM.	Aplicación Word

Alcance:

Espacial : UNIVERSAL (Opcional)

Temporal: _____ (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciado

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciado en Bioanálisis

Área de Estudio:

Bioanálisis

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

Universidad de Oriente Núcleo de Sucre
