



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

SÍNTESIS Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DE COMPUESTOS
DE NÍQUEL(II) QUE CONTIENEN SULFATIAZOL Y CEFALOSPORINAS

(Modalidad: Investigación)

Maried López Mata

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

CUMANÁ, 2008

SÍNTESIS Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DE COMPUESTOS
DE NÍQUEL(II) QUE CONTIENEN SULFATIAZOL Y CEFALOSPORINAS

APROBADO POR:

Dr. Juan R. Anacona

Asesor

Jurado principal

Jurado principal

DEDICATORIA

A Dios, la Virgen del Valle y Arcángel Miguel mis ángeles guardianes; protectores y guías de mis pasos.

A mi mamá Maritza, orgullo de mi vida, quien con su gran amor y dedicación hizo posible mi meta y su gran sueño.

A mi papá Eduardo, quien con su aporte genético hizo que hoy esté con vida.

A mis hermanos, Eduardo José y Andrea quienes siempre me brindaron su ayuda.

A mis tías, Miriam, Mercedes, Marlenys y Noraima quienes siempre me han apoyado.

A mis primos y primas, Rafael Eduardo, Luis Alberto, Mauricio, Evelyn, Gabriela, Crisbel y Crismel que este logro sea un ejemplo en el futuro.

A mis abuelos, Aura, Narciso y Francisco ejemplo de vida y perseverancia.

A la memoria de mi abuela, Evelia quien me brindó todo su amor y confianza hasta el final y hoy en día me cuida desde donde esté.

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Juan R. Anacona, cuyos conocimientos y condición de asesor hizo posible la realización de mi trabajo 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, Ramón Hurtado, Edgar Zapata, TSU Simón Hinojosa por su valiosa colaboración.

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

A mis amigos y compañeros de estudios Angela Sofia Moreno, Tania López, Miriam Michelle, Osmarilys Sulbaran, Arianne Peña, Luís Millán, José Garcia y a todos aquellos que estuvieron junto a mí.

A mi novio, amigo y compañero Ivor Osorio, quien siempre estuvo en los momentos difíciles apoyándome y ayudándome.

Gracias...

ÍNDICE

	Pág.
LISTA DE TABLAS.....	VI
LISTA DE FIGURAS.....	VII
RESUMEN.....	VIII
INTRODUCCIÓN.....	1
METODOLOGÍA.....	10
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	15
CONCLUSIONES.....	46
BIBLIOGRAFÍA.....	47
ANEXOS	

LISTA DE TABLAS

	Pág.
1. Análisis elemental de los compuestos de níquel(II) sintetizados.....	15
2. Medidas de susceptibilidad magnética de los compuestos sintetizados.....	16
3. Momentos magnéticos (MB) de los compuestos de Ni ²⁺	17
4. Conductividad molar de los compuestos sintetizados.....	18
5. Principales bandas IR de la cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima y los compuestos de Ni ²⁺	19
6. Resumen de los espectros UV–visible de la cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima y de los compuestos de Ni ²⁺	24
7. Diámetros de inhibición (mm) producidos por la cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima y los compuestos de níquel(II) sintetizados.....	40
8. Concentración mínima inhibitoria de los antimicrobianos comerciales y sus compuestos sintetizados.....	44

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
1. Comparación del núcleo de las cefalosporinas y penicilinas.....	3
2. Estructura de las cefalosporinas estudiadas.....	5
3. Fórmula estructural del sulfatiazol (Hstz).....	7
4. Estructura sugerida para el compuesto [Ni(cefazol)(stz)(H ₂ O)].4H ₂ O.....	21
5. Estructura sugerida para el compuesto [Ni(cefalot)(stz)(H ₂ O) ₂].7H ₂ O.....	21
6. Estructura sugerida para el compuesto [Ni(cefotax)(stz)].4H ₂ O.....	22
7. Estructura sugerida para el compuesto [Ni(ceftria)(Hstz)].7H ₂ O.....	22
8. Estructura sugerida para el compuesto [Ni(cefepima)(stz)]Cl.6H ₂ O.....	23
9. Espectro electrónico (nm) de la cefazolina.....	25
10. Espectro electrónico (nm) del compuesto [Ni(cefazol)(stz)(H ₂ O)].4H ₂ O.....	26
11. Espectro electrónico (nm) de la cefalotina.....	27
12. Espectro electrónico (nm) del compuesto Ni(cefalot)(stz) (H ₂ O) ₂].7H ₂ O.....	28
13. Espectro electrónico (nm) de la cefotaxima.....	29
14. Espectro electrónico (nm) del compuesto [Ni(cefotax)(stz)].4H ₂ O.....	30
15. Espectro electrónico (nm) de la ceftriaxona.....	31
16. Espectro electrónico (nm) del compuesto [Ni(ceftria)(Hstz)].7H ₂ O.....	32
17. Espectro electrónico (nm) de la cefepima.....	33
18. Espectro electrónico (nm) del compuesto [Ni(cefepima)(stz)]Cl.6H ₂ O.....	34
19. Espectro RPE del [Ni(cefazol)(stz) (H ₂ O)].4H ₂ O.....	36
20. Espectro RPE del [Ni(cefalot)(stz) (H ₂ O) ₂].7H ₂ O.....	37
21. Espectro RPE del [Ni(ceftria)(Hstz)].7H ₂ O.....	38
22. Halos de inhibición de la cefepima y [Ni(cefepima)(stz)].6H ₂ O frente a la cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 11775... ..	41
23. Halos de inhibición de la cefepima y [Ni(cefepima)(stz)]Cl.6H ₂ O frente a la cepa de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	42
24. Halos de inhibición de la cefepima y [Ni(cefepima)(stz)]Cl.6H ₂ O frente a la cepa de <i>Salmonella enteritidis</i> CDC 64..... ..	42

RESUMEN

Se sintetizaron nuevos complejos ternarios de níquel(II) haciendo reaccionar separadamente NiCl_2 y sulfatiazol (Hstz) con diferentes cefalosporinas, tales como: cefazolina (Na-cefazol), cefalotina (Na-cefalot), cefotaxima (Na-cefotax), ceftriaxona (Na_2 -ceftria) y cefepima. Para la caracterización de los complejos se aplicaron técnicas espectroscópicas de infrarrojo, ultravioleta-visible, resonancia paramagnética electrónica y técnicas de análisis elemental, susceptibilidad magnética y conductividad molar. Los resultados obtenidos sugieren posibles estructuras en donde las cefalosporinas actúan como ligando tetradentado monoaniónico (cefazolina), pentadentado dianionico (ceftriaxona) y tridentado monoaniónico (cefalotina, cefotaxima y cefepima). La actividad antibacteriana de los complejos sintetizados fue ensayada frente a cepas certificadas (ATCC) de *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas aeruginosa* donada por el Laboratorio de Bacteriología del Hospital Dr. Julio Rodríguez, utilizando técnicas de difusión en disco y concentración mínima inhibitoria. Los compuestos de cefazolina y cefalotina no presentaron actividad antibacteriana frente a la cepa *Pseudomonas aeruginosa* debido a su resistencia natural o adquirida a este grupo de cefalosporinas. El complejo de níquel(II) con Hstz y cefepima resultó ser más efectivo que la cefepima comercial frente a las cepas utilizadas.

INTRODUCCIÓN

Desde principios del siglo XX, hubo interés por descubrir sustancias con efectos selectivos en contra los microorganismos, sin que se lesionaran los tejidos orgánicos (1). Uno de los avances más resaltantes en la ciencia médica fue desarrollado en 1905 por Paul Ehrlich, quien en sus experimentos descubrió las arsfenaminas y estableció los principios de toxicidad selectiva: las relaciones químicas específicas entre parásitos y los agentes antimicrobianos (2).

En 1877, Pasteur advirtió que los microorganismos del aire inhibían el crecimiento del bacilo del carbunco. En 1888, Bouchard notó la acción antagónica de *Pseudomonas aeruginosa* contra ese mismo bacilo. Fleming, en 1929, descubrió una sustancia de gran efecto antimicrobiano contra diversos microorganismos patógenos, a la que llamó *Penicillium* (3).

Durante los siguientes años, la investigación quimioterapéutica se basó fundamentalmente alrededor de los antimicrobianos, sustancias que se emplean en el tratamiento de muchas infecciones y pueden ser obtenidas a partir de bacterias, hongos y por síntesis química en los laboratorios (4). Algunos antimicrobianos que anteriormente sólo eran sintetizados en forma biológica, son elaborados por síntesis química como el cloranfenicol, o por semisíntesis, como ciertos tipos de penicilinas; quizás el término genérico de quimioterapéutico sea el más adecuado para designar todos los compuestos antimicrobianos (1).

Los antimicrobianos deben reunir las siguientes características para su mejor efectividad: a) deben ser más bactericidas que bacteriostáticos; b) deben mantenerse activos en presencia de plasma y líquidos corporales; c) deben ser efectivos frente a un amplio espectro de microorganismos; d) los microorganismos susceptibles no se deben volver resistentes genéticamente; e) no deben ser tóxicos y los efectos

colaterales adversos tienen que ser mínimos para el hospedero; f) deben ser hidrosolubles y liposolubles (3,4).

La mayor parte de los agentes antimicrobianos inhiben la síntesis de diferentes compuestos celulares. Algunos de los fármacos más empleados inhiben la síntesis del peptidoglicano, el principal componente de la pared celular, el cual consta de cadenas de polisacáridos lineales que están entrecruzados con péptidos cortos. El peptidoglicano en forma de bolsa, proporciona soporte mecánico y evita que la bacteria estalle debido a su elevada presión osmótica interna (5).

Entre los antimicrobianos empleados se encuentran el grupo de los betalactámicos, los cuales poseen una estructura química similar y se caracterizan por tener en su estructura el anillo betalactámico, constituido por 3 átomos de carbono y 1 átomo de nitrógeno. En esta categoría se incluyen: penicilinas, inhibidores β -lactamasas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenem (6).

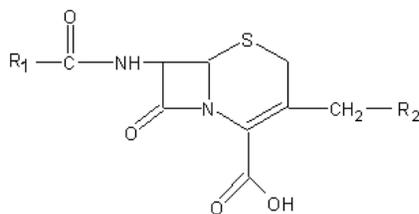
La resistencia de las bacterias a los agentes antimicrobianos, debido al mal uso de los mismos por automedicación, practicada por sectores de la población venezolana ha traído como consecuencia, el desarrollo de numerosas investigaciones dirigidas a la elaboración de nuevos derivados, tomando como base las modificaciones semisintéticas de la molécula original del antimicrobiano estudiado (7).

Las bacterias mutan para evitar ser eliminadas por el antimicrobiano, capaz de penetrar su barrera superficial y fijarse sobre su receptor “la bacterias van aprendiendo; por eso, cambian.” Según un informe del Ministerio de Sanidad y Consumo de España, titulado Resistencia bacteriana a antimicrobianos: las bacterias pueden crear tres mecanismos principales de resistencia: la inactivación de antimicrobianos por enzimas, las modificaciones bacterianas y modificaciones del sitio diana (8).

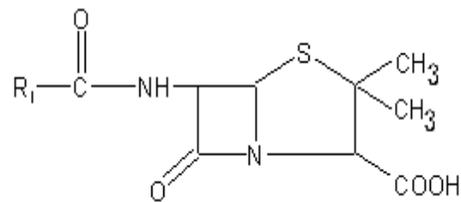
Las bacterias son capaces de producir enzimas aptas para impedir la acción de los antimicrobianos, también pueden cambiar las porinas de sus paredes para impedir la entrada de ciertos antimicrobianos o modificar sus sistemas de transporte y, además, pueden alterar drásticamente sus núcleos para dificultar la acción del medicamento (8).

El mecanismo de defensa más importante desde el punto de vista clínico es la producción de β -lactamasas por parte de las bacterias, estas son enzimas que se encuentran en los microorganismos, cumplen una función fisiológica en el metabolismo intermediario de la cubierta bacteriana, contribuyendo a través de la síntesis de peptidoglicano al mantenimiento de la integridad estructural y de la forma de la bacteria (9). Estas enzimas hidrolizan el anillo β -lactámico y anulan el efecto del antimicrobiano, ellas se encuentran tanto en microorganismos Gram positivos como en Gram negativos y son las responsables de que muchas cepas sean altamente resistentes (9, 10).

Las cefalosporinas son un grupo de antimicrobianos producidos por un hongo marino, *Cephalosporium acremonium*, que tiene gran semejanza con las especies de *Penicillium*, pero las cefalosporinas poseen el núcleo del ácido 7-aminocefalosporánico, en lugar del ácido 6-amino penicilánico de las penicilinas (figura 1) (11-13).



Ácido 7-aminocefalosporánico



Ácido 6-aminopenicilánico.

Figura 1. Comparación del núcleo de las cefalosporinas y penicilinas.

El ácido 7-aminocefalosporánico tiene escasa actividad antibacteriana, pero la adhesión de varios grupos colaterales (R_1 y R_2) ha dado como resultado la creación de una extensa familia de medicamentos con propiedades farmacológicas, espectro y actividad antibacteriana variables (3, 14).

La resistencia a las cefalosporinas puede atribuirse a varias causas: permeabilidad deficiente de la bacteria al medicamento, carencia de proteínas fijadoras de penicilinas para un agente específico y degradación del fármaco por β -lactamasas. No obstante, ciertas cefalosporinas tienden a ser resistentes a las β -lactamasas producidas por estafilococos y bacterias Gram negativas comunes que hidrolizan e inactivan a numerosas penicilinas (4, 15).

Las cefalosporinas pueden ser clasificadas por su estructura química o por sus espectros antibacterianos. Tradicionalmente se han dividido en grupos o generaciones dependiendo, en gran parte, de su espectro de actividad antimicrobiana. Se designan como agentes de primera, segunda, tercera y cuarta generación, de acuerdo al tiempo de su introducción en la terapéutica (figura 2) (16).

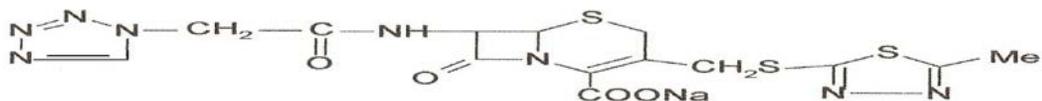
Las cefalosporinas de primera generación son muy activas contra cocos Gram positivos, excepto enterococos y estafilococos resistentes a la meticilina, y muestran actividad moderada contra algunos bacilos Gram negativos; excepto *Pseudomonas sp.*, *Serratia sp.* y *Acinetobacter sp.* Dentro de este grupo están la cefalotina, cefradina, cefadroxilo y cefapirina (11- 17).

Los miembros de las cefalosporinas de segunda generación son cefaclor, cefamandol, cefonicida y cefuroxina. Este grupo es activo contra algunos microorganismos sensibles a los agentes de la primera generación, pero atacan un número mayor de

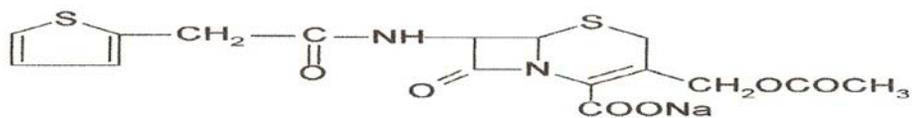
bacterias Gram negativas. Todas las cefalosporinas de segunda generación son menos activas contra bacterias Gram positivas que las de primera generación (14, 17).

Las cefalosporinas de tercera generación tienen escasa acción contra cocos Gram positivos, la ventaja principal de su uso es la acción sobre una extensa variedad de bacilos Gram negativos. Este grupo incluye cefoperazona, cefotaxima, ceftriaxona, entre otros. Las cefalosporinas de segunda generación fracasan contra *Pseudomonas aeruginosa*, pero la cefalexina y cefoperazona tienen éxito. El uso principal de estas cefalosporinas está basado en el tratamiento de bacteremias por Gram negativos de adquisición hospitalaria (14, 18, 19).

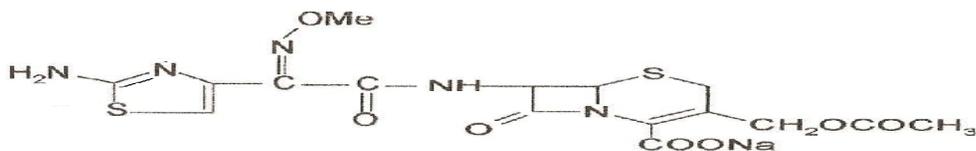
Las cefalosporinas de cuarta generación, como el cefpirome y cefepima, presentan un espectro más amplio de actividad, en comparación con las de tercera generación, y una mayor estabilidad a la hidrólisis por betalactamasas. Son particularmente útiles en procesos infecciosos originados por bacilos Gram negativos aerobios, resistentes a las cefalosporinas de tercera generación (14, 18, 19).



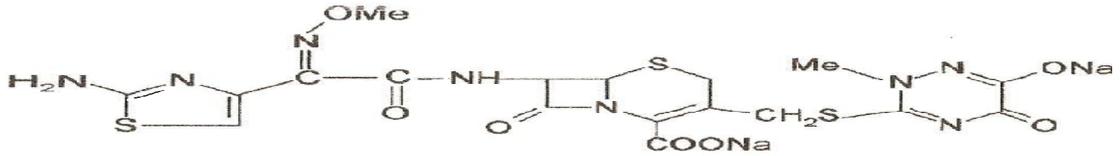
1.-



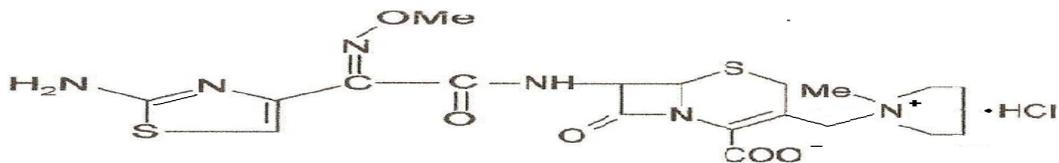
2.-



3.-



4.-



5.-

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

Las sulfamidas son antimicrobianos bacteriostáticos sintéticos con un amplio espectro de actividad contra la mayoría de los microorganismos Gram positivos y muchos Gram negativos. Sin embargo, muchas cepas de una determinada especie pueden ser resistentes. Las sulfamidas inhiben la multiplicación de las bacterias al actuar como inhibidores competitivos del ácido *p*-aminobenzoico en el metabolismo del ácido fólico. La sensibilidad de las bacterias es la misma frente a las diversas sulfamidas, y la resistencia a una sulfamida indica resistencia a todas ellas (20).

Las sulfamidas se utilizan en la infección del tracto urinario, la nocardiosis y la toxoplasmosis (junto con pirimetamina); también se emplean como sustitutos de la penicilina en la profilaxis contra cepas susceptibles de meningococos, la colitis ulcerosa (sulfasalazina), las quemaduras (sulfadiazina argéntica o mafenida) y el paludismo por *Plasmodium falciparum* resistente, en combinación con la trimetoprima. El sulfisoxazol y sulfametoxazol son fármacos importantes en el

tratamiento de la infección del tracto urinario. La sulfadiazina se utiliza rara vez debido al riesgo de cristaluria (20).

El sulfatiazol (4-amino-N-2-tiazolilbencenosulfonamida) (Hstz), fue uno de los derivados de la sulfanilamida más utilizado en la prevención y cura de infecciones bacterianas en los seres humanos (figura 3) (21). Químicamente se comportaría como un ligando neutro o monoaniónico y pudiera estar enlazado al metal o actuar como contra-ión.

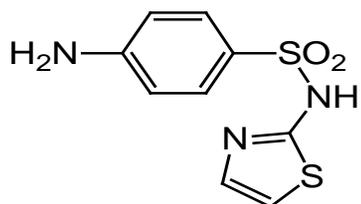


Figura 3. Fórmula estructural del sulfatiazol (Hstz).

Actualmente, existe interés en estudiar la actividad antibacteriana combinada de las sulfonamidas y la actividad antimicrobiana que presentan algunas cefalosporinas unidas a metales de transición, con la intención de establecer una posible relación y conocer más acerca de sus interacciones. El interés en los derivados de metal-sulfonamidas ha sido 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 reacción. Como resultado, estas drogas funcionan como aniones o donadores de electrones. La formación del complejo entre los iones metálicos y la droga ha sido analizado y estudiado con detenimiento, no obstante, las únicas estructuras cristalinas de complejos de sulfatiazol son reportados por Casanova *et al* (21).

En estudios realizados sobre la estructura y actividad de complejos metálicos con ligandos betalactámicos, la penicilina y la ampicilina se pusieron a reaccionar

separadamente con diversos iones metálicos tales como: Hg^{2+} , Fe^{3+} , Ru^{3+} , Ni^{2+} y Cd^{2+} , para formar complejos metálicos a los cuales se les evaluó su actividad antibacteriana frente a cepas de *P. aeruginosa*, *B. cereus*, *E. coli* y *S. aureus*, observándose que los complejos de Fe^{3+} y Hg^{2+} mostraron actividad antibacteriana mayor que la penicilina comercial (22, 23).

En estudios recientes se hicieron reaccionar tanto el ácido nalidíxico como el ácido clavulánico con diversas sales que contenían iones metálicos tales como: Ni^{2+} , Cu^{2+} y Fe^{3+} , para formar complejos metálicos que posteriormente fueron caracterizados utilizando técnicas espectroscópicas y fisicoquímicas. La actividad bactericida de los complejos sintetizados fue ensayada frente a las cepas de *E. coli*, *S. typhimorium*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. cereus*, *P. vulgaris* y *K. pneumoniae*, utilizando métodos de difusión en agar y concentración mínima inhibitoria (CMI). Todos los compuestos mostraron actividad bactericida, siendo el complejo del ácido nalidíxico con Fe^{3+} , el más activo contra todas las especies estudiadas (24).

En otros estudios se hizo reaccionar la ciprofloxacina con diversas sales metálicas de: Mn^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Hg^{2+} , Ag^+ , La^{3+} , Fe^{3+} y Pd^{2+} , para formar complejos metálicos, los cuales fueron caracterizados mediante técnicas espectroscópicas y fisicoquímicas. La actividad bacteriana de los complejos sintetizados fue ensayada

frente a las cepas de *E. coli*, *S. typhimorium*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *B. cereus*, utilizando los métodos de difusión en agar y CMI. Ninguno de los complejos sintetizados incluyendo el ligando presentó actividad bactericida frente a *E. coli*. Los compuestos de Mn^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} y Zn^{2+} son más activos que la ciprofloxacina, frente a las cepas de *P. aeruginosa* y *S. typhimurium* (25).

El presente estudio constituye una continuación de los que se vienen realizando en el Departamento de Química, en el área de la bioinorgánica. Resultados previos (22-35),

muestran, en algunos casos, un aumento de la actividad antibacteriana (40-60 %) al estar unido el agente antimicrobiano a iones metálicos de la primera serie de transición.

Los adelantos en bacteriología han aportado importantes resultados, y en apoyo a estos avances, se desea estudiar la síntesis y actividad antibacteriana *in vitro* de compuestos de níquel(II), que contengan sulfatiazol y cefalosporinas, a fin de conocer su estructura, estudiar la efectividad y acción sobre diferentes agentes bacterianos, de modo que se pueda, sino eliminar, al menos controlar en un futuro de forma aún más efectiva las diferentes infecciones causadas por ciertos microorganismos, tomando como referencia este estudio a realizar.

METODOLOGÍA

En la síntesis y obtención de los compuestos de níquel(II), se emplearon antimicrobianos de uso comercial. Para obtenerlos, se utilizó el $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ disponible en el Laboratorio de Química de Coordinación 306 del Departamento de Química de la Universidad de Oriente.

Síntesis de compuestos de níquel(II).

Se prepararon compuestos de Ni^{2+} , utilizando sulfatiazol y cefalosporinas comerciales tales como: cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima, ceftazidima, cefradina y cefadroxilo. Para ello se pesaron 1 mmol de $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 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 de 20 minutos, tiempo necesario para observar la aparición de un precipitado de color verde claro para cada antimicrobiano. Los precipitados se filtraron y se lavaron sucesivamente con agua, metanol y éter etílico. Finalmente, se secaron al vacío, luego se depositaron en frascos pequeños estériles a temperatura ambiente (32).

Caracterización de los complejos

1- Análisis elemental.

Se realizó el análisis de los compuestos sintetizados para determinar los porcentajes de C, N, S, H 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 mg. 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: $\mu_{\text{eff}} = 2,84 (X_M \cdot T)^{1/2}$.

3- Medidas de conductividad molar.

Se realizaron en soluciones de 1×10^{-3} mol/l utilizando dimetilsulfóxido (DMSO), como solvente y usando un conductímetro Corning modelo 441 en el Laboratorio de Físicoquímica 408 de la Universidad de Oriente.

4- Espectroscopía infrarroja.

Se prepararon pastillas en una proporción de 400 mg de KBr por 15 mg del compuesto. Se utilizó un espectrofotómetro 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 Perkin Elmer, Modelo Paragon 1000 PC el cual pertenecía al Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas.

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

6- Espectroscopia 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.

Actividad antimicrobiana.

Conocidas las características de los compuestos sintetizados se tomaron aquellos cuyos análisis químicos indicaron la presencia de la cefalosporina, el sulfatiazol y el níquel, se evaluó la eficacia antibacteriana sobre bacterias Gram positivas y Gram negativas certificadas por la Colección Americana de Especies y Tipos ATCC; 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.

Se emplearon técnicas de difusión en disco y concentración mínima inhibitoria (CMI) (31).

Preparación de las soluciones.

Se prepararon soluciones madres de cada uno de los compuestos de níquel(II) obtenidos, de los antimicrobianos originales y del $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ a una concentración de 40 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. Para esto se pesaron 20 mg de cada compuesto y se disolvieron en 0,5 ml de dimetilsulfóxido (DMSO), 20 mg de los antimicrobianos originales en 0,5 ml de agua destilada y 20 mg de $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en 0,5 ml de agua destilada.

Para la realización de la concentración mínima inhibitoria se prepararon diluciones a partir de las soluciones madres de cada compuesto, tomando 250 μl de cada una y diluyéndola con 250 μl de DMSO para obtener una solución 2 de concentración 20 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. Se tomaron 250 μl de la solución 2 con 250 μl de DMSO para obtener una solución 3 de concentración 10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, así sucesivamente hasta llegar a una solución 5 de concentración 2,5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$.

Método de difusión en disco.

A partir de un cultivo de 24 horas de crecimiento de cada cepa bacteriana, se llevó un inóculo a la solución salina fisiológica estéril 0,85%, hasta alcanzar una turbidez ópticamente comparable a un patrón 0,5 McFarland. Se procedió a impregnar un hisopo estéril en la suspensión y se rotó varias veces ejerciendo una ligera presión sobre las paredes internas del tubo para eliminar el exceso de líquido. Se sembró sobre la superficie seca del agar Müeller Hinton (E.Merck, Darms Tadt, Alemania) contenido en una placa de Petri, pasando el hisopo tres veces en direcciones perpendiculares sobre la superficie del agar. Cada placa se colocó a 37 °C por 10 minutos minutos para que la superficie del agar seicara antes de colocar los discos. 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.

Con las soluciones madres preparadas anteriormente de 40 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ se procedió a impregnar con 10 μl los discos de papel Whatman n° 3, estériles y de 5 mm de diámetro, utilizando una pipeta automática, para obtener una concentración de 400 $\mu\text{g}/\text{disco}$. Luego se colocaron con la ayuda de una pinza estéril sobre la superficie del agar, ejerciendo una ligera presión para permitir un contacto uniforme. Las placas se

colocaron en incubación en una estufa a 37 °C por 24 horas. Este proceso se realizó para cada cepa en estudio utilizando los compuestos sintetizados (37, 38).

La presencia de actividad antibacteriana de los compuestos, se detectó por la aparición de halos cuyos diámetros se midieron con una regla graduada. Los valores de lectura para los discos se expresaron en milímetros.

Determinación de la concentración mínima inhibitoria de los antimicrobianos comerciales y de los compuestos de níquel(II).

Siguiendo la técnica de difusión en disco antes descrita se procedió a realizarla utilizando disco de distintas concentraciones.

Estos discos se prepararon con las diluciones realizadas anteriormente y se procedió a impregnar con 10 µl los discos de papel Whatman nº 3, estériles y de 5 mm de diámetro, utilizando una pipeta automática para obtener las concentraciones de (400, 200, 100, 50, 25 µg/disco) respectivamente.

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). 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.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis elemental.

Los resultados del análisis elemental de los complejos sintetizados mostrados en la tabla 1, señalan una 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 sólo forman complejos con una relación estequiométrica 1:1:1 con los antimicrobianos (cefazolina, Na cefazol; cefalotina, Na cafalot; cefotaxima, Na cafotax; cefepima) y el sulfatiazol en su forma deprotonada (stz) anión sulfatiazolato, la única excepción fue el complejo ceftriaxona (Na₂ ceftria) donde el sulfatiazol (Hstz) aparece en su forma neutra.

Estudios realizados por Anacona y Álvarez, donde se desarrollaron 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 (26).

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

Compuestos	% C	% N	% S
[Ni(cefazol)(stz)(H ₂ O)]·4H ₂ O	31,24 (31,36)	17,38 (17,49)	17,60 (18,18)
[Ni(cefalot)(stz)(H ₂ O) ₂]·7H ₂ O	31,85 (33,55)	8,13 (7,83)	15,50 (14,32)
[Ni(cefotax)(stz)]·4H ₂ O	34,15 (34,76)	13,86 (12,98)	14,85 (14,83)
[Ni(ceftria)(Hstz)]·7H ₂ O	29,27 (31,21)	14,60 (14,84)	14,89 (15,41)
[Ni(cefepima)(stz)]Cl·6H ₂ O	34,19 (35,86)	13,99 (13,45)	13,12 (13,66)

% 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)	R _o	R	L (cm)	Xg
[Ni(cefazol)(stz)(H ₂ O)]·4H ₂ O	53,5	-30	130	1,5	9,35x10 ⁻⁷
[Ni(cefalot)(stz)(H ₂ O) ₂]·7H ₂ O	48,2	-30	270	1,5	19,47x10 ⁻⁷
[Ni(cefotax)(stz)]·4H ₂ O	41,1	-30	730	1,6	6,17x10 ⁻⁷
[Ni(ceftria)(Hstz)]·7H ₂ O	34,8	-30	90	1,6	11,51x10 ⁻⁷
[Ni(cefepima)(stz)]Cl·6H ₂ O	51,7	-30	940	1,6	6,26x10 ⁻⁷

R_o: 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 Ni²⁺ presenta en su último orbital electrónico dos electrones desapareados, los cuales hacen darle a R (medida de susceptibilidad magnética) un valor característico (27,39). 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 Ni²⁺.

Compuestos	Momentos magnéticos calculado	Momentos magnético teórico
[Ni(cefazol)(stz)(H ₂ O)]·4H ₂ O	1,40	2,83
[Ni(cefalot)(stz)(H ₂ O) ₂]·7H ₂ O	2,09	2,83
[Ni(cefotax)(stz)]·4H ₂ O	3,60	2,83
[Ni(ceftria)(Hstz)]·7H ₂ O	1,74	2,83
[Ni(cefepima)(stz)]Cl·6H ₂ O	3,82	2,83

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 (33,39) además de su posible geometría estructural. El ión Ni²⁺ es un ión d^8 paramagnético que tiene dos electrones desapareados. Los valores experimentales observados en los compuestos sintetizados están por encima o por debajo del valor teórico del momento magnético sugiriendo dos posibles estructuras: Una estructura tetraédrica para los valores mas altos del momento magnético (complejos de cefotaxima y cefepima) y una estructura octaédrica para los valores más bajos del momento magnético (complejos de cefazolina, cefalotina y ceftriaxona) (39).

Medidas de conductividad molar

La tabla 4 muestra los valores de conductividad eléctrica para los distintos complejos sintetizados.

Tabla 4. Conductividad molar de los compuestos sintetizados.

Compuestos	$\Delta(\text{S.cm}^2/\text{mol})^{-1}$	Tipo de electrolito
[Ni(cefazol)(stz)(H ₂ O)]·4H ₂ O	18,99	No conductor
[Ni(cefalot)(stz)(H ₂ O) ₂]·7H ₂ O	17,65	No conductor
[Ni(cefotax)(stz)]·4H ₂ O	15,27	No conductor
[Ni(ceftria)(Hstz)]·7H ₂ O	13,00	No conductor
[Ni(cefepima)(stz)]Cl·6H ₂ O	27,80	Conductor

Siguiendo los criterios de Geary (36), los valores de conductividad molar muestran que la mayoría de 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 dissociables en su estructura que puedan ser desplazados por el solvente; si los hay, deben estar formando parte de la esfera de coordinación del metal.

El compuesto de níquel(II) que contiene cefepima y sulfatiazol es el único que se comporta como electrolito 1:1 atendiendo al valor de la conductividad eléctrica descritos en las tablas propuestas por Geary para el DMSO. Este se encuentra en la solución en forma iónica (36).

Espectroscopia infrarroja

En la tabla 5, se resumen las principales bandas IR de las cefalosporinas y de los compuestos sintetizados. Los espectros infrarrojos se muestran desde el anexo 1 hasta el anexo 10.

Tabla 5. Principales bandas de IR de la cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima y los compuestos de Ni²⁺.

Compuestos	vCO Lactámico	vCO amida	vCOO asimétrico	vCOO Simétrico	$\Delta\nu$
Cefazolina	1755	1650	1585	1380	205
[Ni(cefazol)(stz)(H ₂ O)]·4H ₂ O	1739	1650	1581	1369	212
Cefalotina	1730	1650	1620	1400	220
[Ni(cefalot)(stz)(H ₂ O) ₂]·7H ₂ O	1719	1649	1579	1371	208
Cefotaxima	1770	1640	1590	1375	215
[Ni(cefotax)(stz)]·4H ₂ O	1752	1640	1589	1370	219
Ceftriaxona	1754	1647	1610	1398	212
[Ni(ceftria)(Hstz)]·7H ₂ O	1745	1651	1610	1385	225
Cefepima	1760	1648	1600	1390	210
[Ni(cefepima)(stz)]Cl·6H ₂ O	1750	1650	1590	1380	210

v: stretching

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 cm⁻¹ que corresponde al stretching C=O del grupo amida. También, presenta bandas a 1585-1620 cm⁻¹,

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

Los compuestos de níquel(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 níquel.

Los espectros IR de los compuestos de níquel(II) con cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona y cefepima con sulfatiazol, señalan que la separación (ν COO asimétrico - ν COO simétrico) del grupo COO es mayor a 200 cm^{-1} sugiriendo enlaces monodentados de este grupo en todos los compuestos betalactámicos. Atendiendo a estos resultados, se sugieren las siguientes estructuras para los compuestos sintetizados, considerando además, los resultados del análisis elemental, momentos magnéticos y de conductividades.

En la figura 4, se muestra el compuesto $[\text{Ni}(\text{cefazol})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, para el se sugiere una estructura octaédrica en donde la cefazolina se comportaría como un ligando tetradentado monoaniónico. El Hstz participa supuestamente como una molécula monoaniónica (21,40).

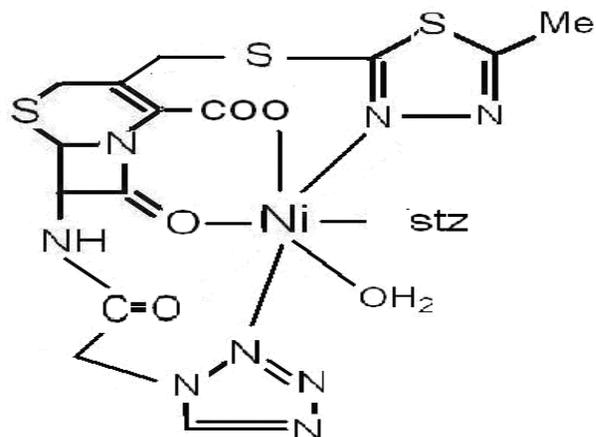


Figura 4. Estructura sugerida para el compuesto $[\text{Ni}(\text{cefazol})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$.

En la figura 5, se muestra el compuesto $[\text{Ni}(\text{cefalot})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2]\cdot 7\text{H}_2\text{O}$, para el se sugiere una estructura octaédrica en donde la cefalotina se comportaría como un ligando tridentado monoaniónico. El Hstz participa supuestamente como una molécula monoaniónica (21,40).

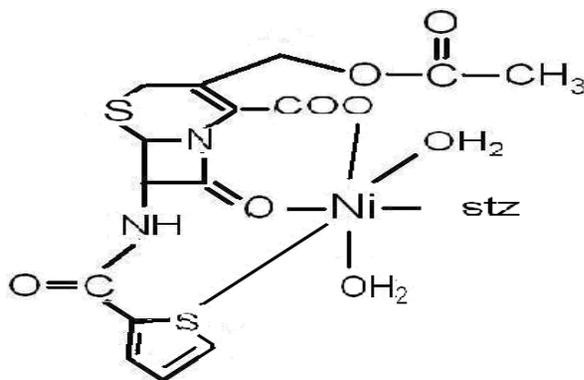


Figura 5. Estructura sugerida para el compuesto $[\text{Ni}(\text{cefalot})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2]\cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

En la figura 6, se muestra el compuesto $[\text{Ni}(\text{cefotax})(\text{stz})]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, para el se sugiere una estructura tetraédrica en donde la cefotaxima se comportaría como un ligando tridentado monoaniónico. El Hstz participa supuestamente como una molécula monoaniónica (21,40).

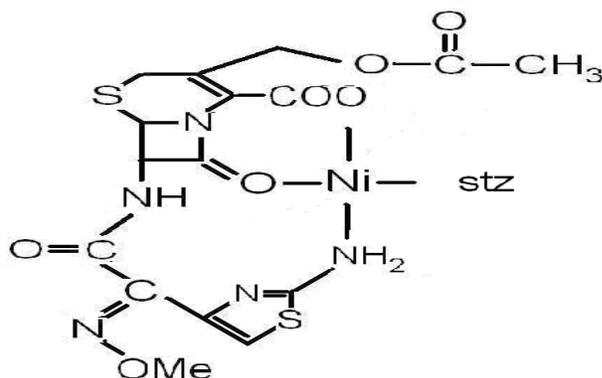


Figura 6. Estructura sugerida para el compuesto $[\text{Ni}(\text{cefotax})(\text{stz})]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$.

En la figura 7, se muestra el compuesto $[\text{Ni}(\text{ceftria})(\text{Hstz})]\cdot 7\text{H}_2\text{O}$, para el se sugiere una estructura octaédrica en donde la ceftriaxona se comportaría como un ligando pentadentado dianiónico. El Hstz se asume que se comporta como una molécula neutra (21,40).

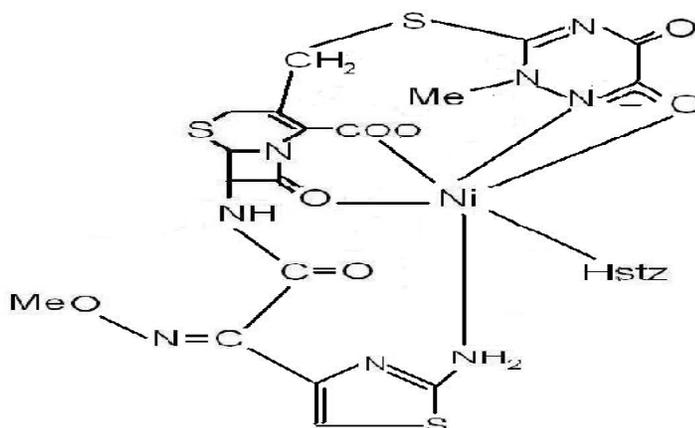


Figura 7. Estructura sugerida para el compuesto $[\text{Ni}(\text{ceftria})(\text{Hstz})]\cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

En la figura 8, se muestra el compuesto $[\text{Ni}(\text{cefepima})(\text{stz})]\text{Cl}\cdot 6\text{H}_2\text{O}$, para el se sugiere una estructura tetraédrica en donde la cefepima se comportaría como un ligando tridentado monoaniónico. El Hstz se asume que se comporta como una molécula monoaniónica. Fuera de la esfera de coordinación posee un ión cloruro que compensaría la carga positiva que posee el nitrógeno cuaternario sobre la cefepima (21,40).

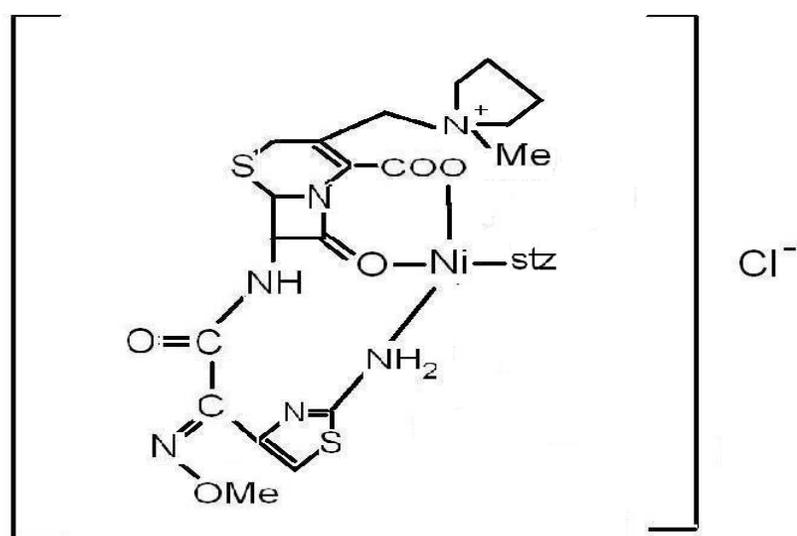


Figura 8. Estructura sugerida para el compuesto $[\text{Ni}(\text{cefepima})(\text{stz})]\text{Cl}\cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Espectroscopia ultravioleta - visible (UV-visible)

En la tabla 6 se resumen las transiciones de los espectros UV-visible de la cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima y sus compuestos de níquel(II) sintetizados. Sus espectros se muestran desde la figura 9 hasta la 18.

La presencia de las mismas bandas en todos los compuestos sugiere que poseen similar estructura. Atendiendo al número de transiciones observadas en el metal se sugiere unas estructuras octaédricas y tetraédricas.

Tabla 6. Resumen de los espectros UV-visible de la cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima y de los compuestos de Ni²⁺.

Compuestos	Transiciones electrónicas (nm)	
	En el ligando	<i>d-d</i>
Cefazolina	270-300-370	
[Ni(cefazol)(stz)(H ₂ O)]·4H ₂ O	270-300-367	760, >1000
Cefalotina	265-285-325	
[Ni(cefalot)(stz)(H ₂ O) ₂]·7H ₂ O	260-285-325	760, >1000
Cefotaxima	260-310-360	
[Ni(cefotax)(stz)]·4H ₂ O	258-310-360	760, >1000
Ceftriaxona	305-350-390	
[Ni(ceftria)(Hstz)]·7H ₂ O	305-345-390	760, >1000
Cefepima	300-330-340	
[Ni(cefepima)(stz)]Cl·6H ₂ O	300-330-350	760, >1000

El espectro electrónico de los compuestos de níquel(II), presentan dos bandas, las bandas a 760 nm y mayor que 1000 nm, estas son transiciones *d-d* del metal que presenta spin alto con dos electrones desapareados.

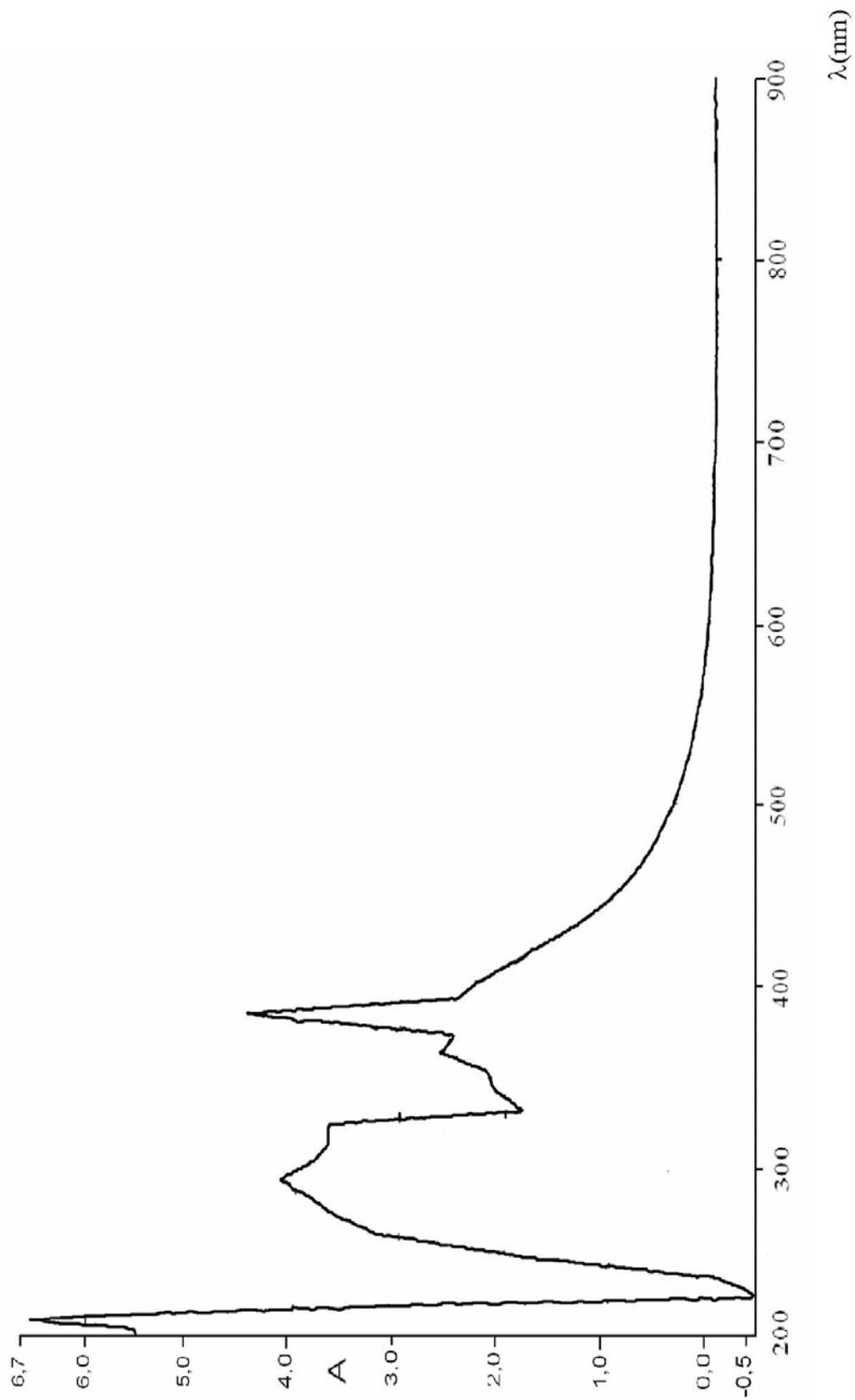


Figura 9. Espectro electrónico (nm) de la cefazolina.

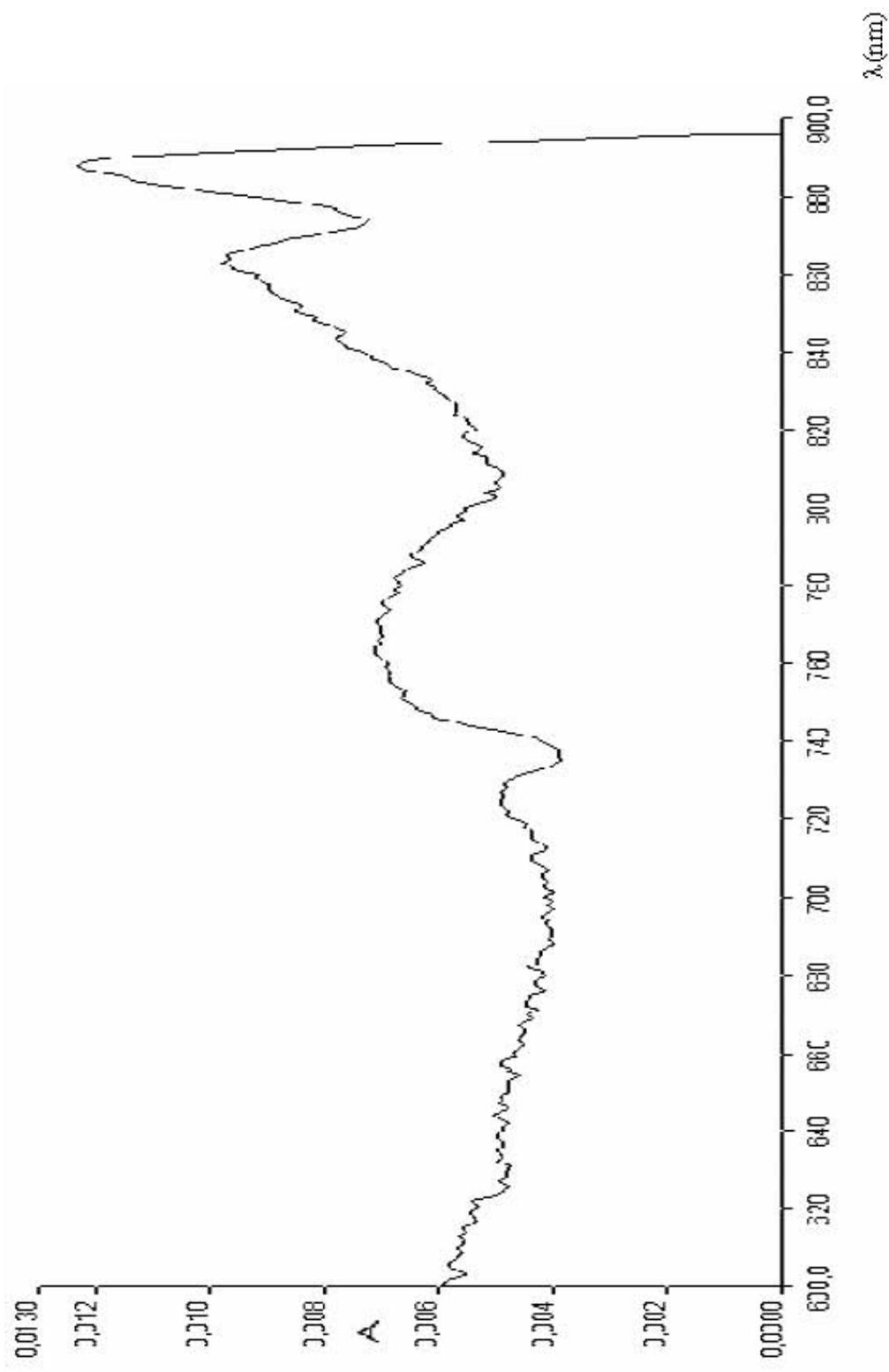


Figura 10. Espectro electrónico (nm) del compuesto de níquel(II) $[\text{Ni}(\text{cefazo})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.

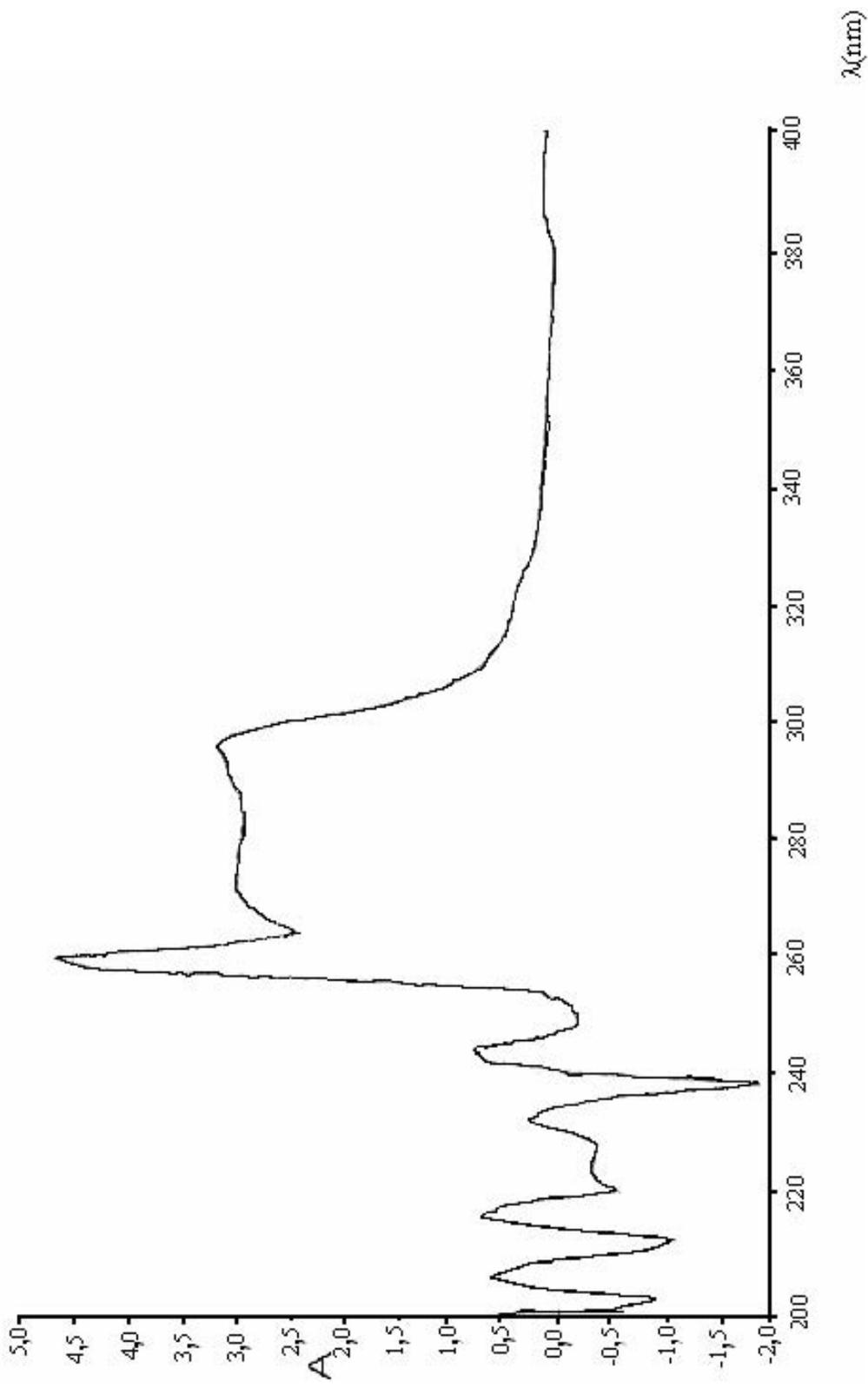


Figura 11. Espectro electrónico (nm) de la cefalotina.

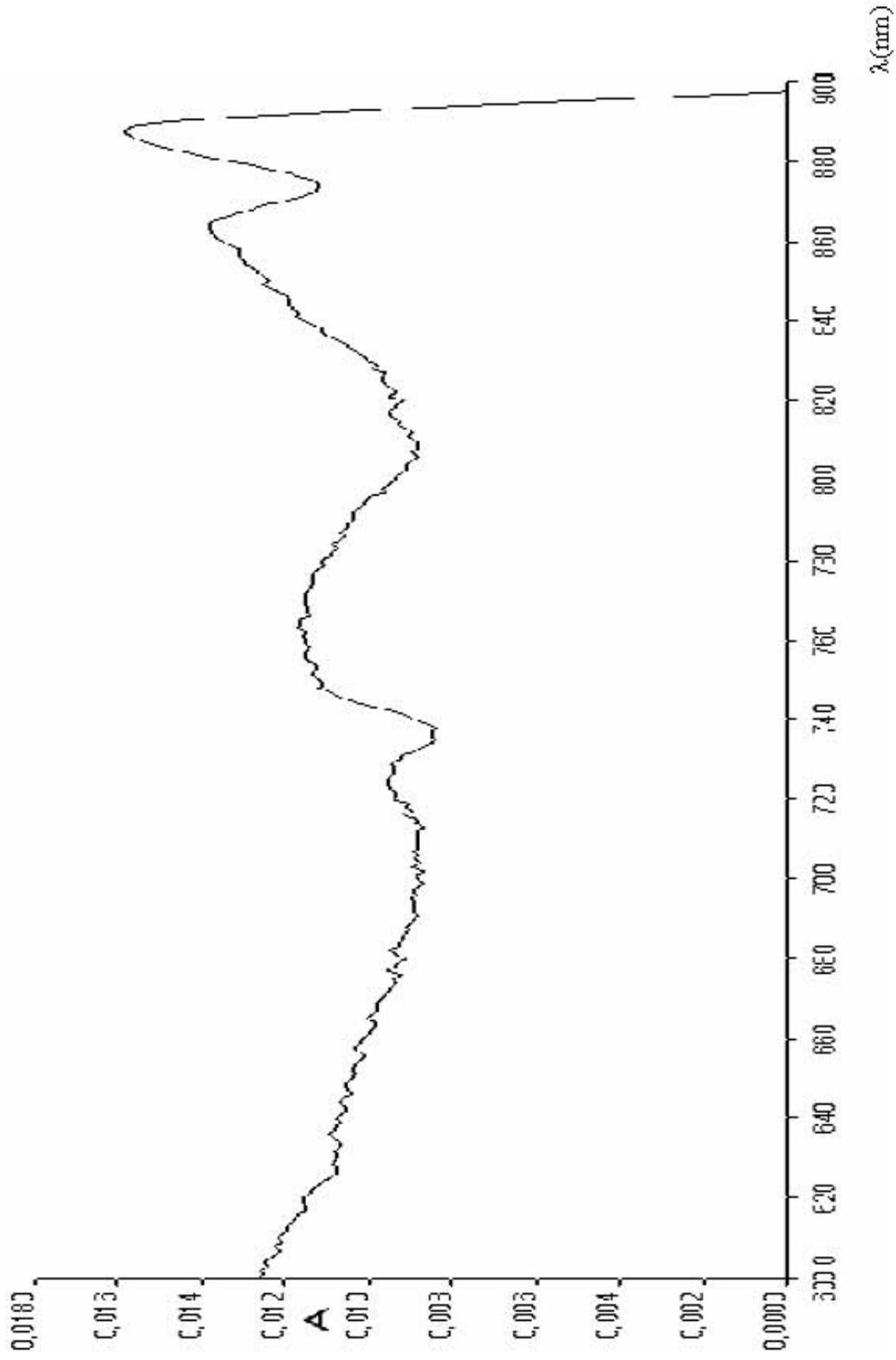


Figura 12. Espectro electrónico (nm) del compuesto de níquel (II) $[\text{Ni}(\text{cefalot}(\text{stz})(\text{H}_2\text{O}_2)] \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

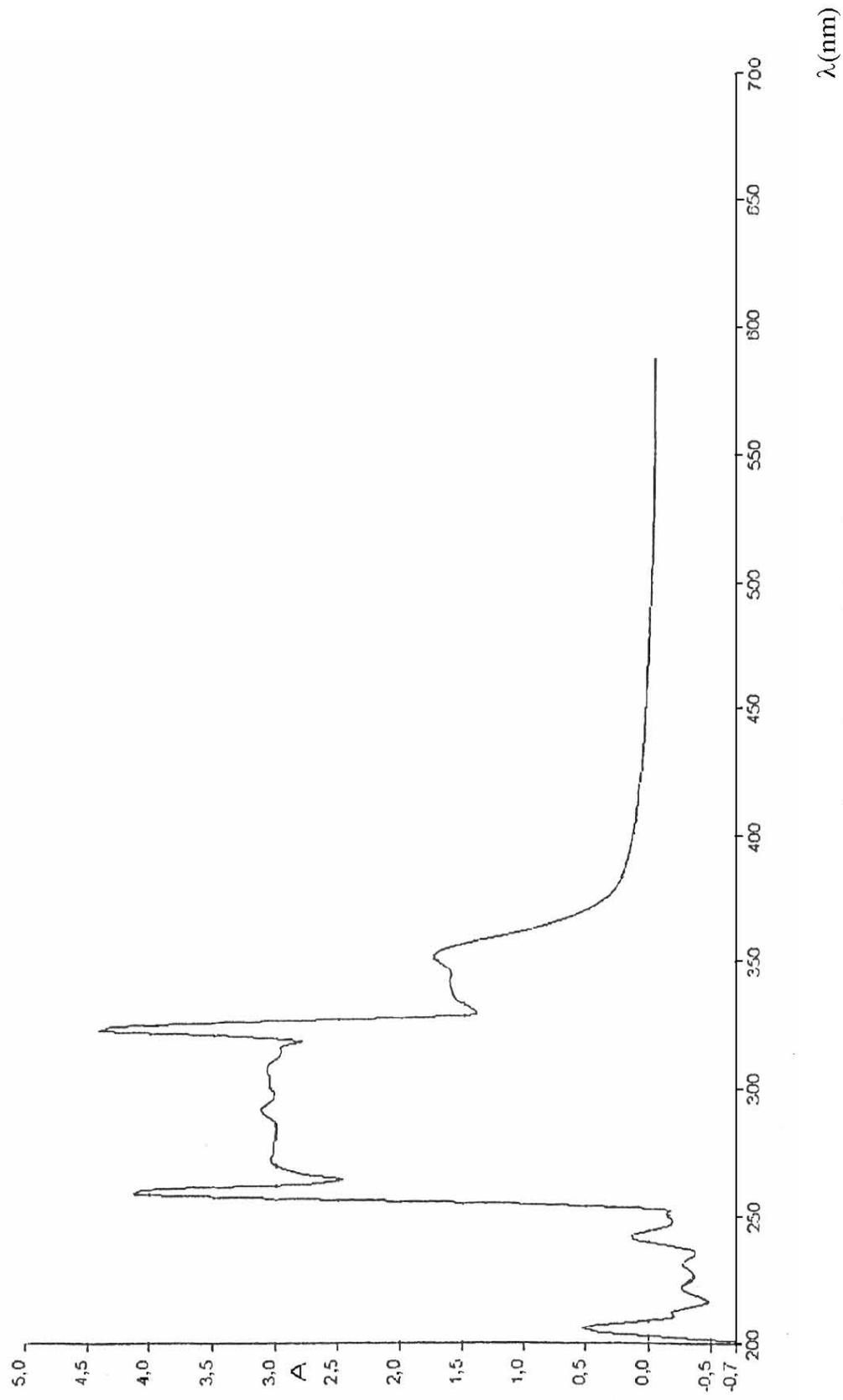


Figura 13. Espectro electrónico (nm) de la cefotaxima.

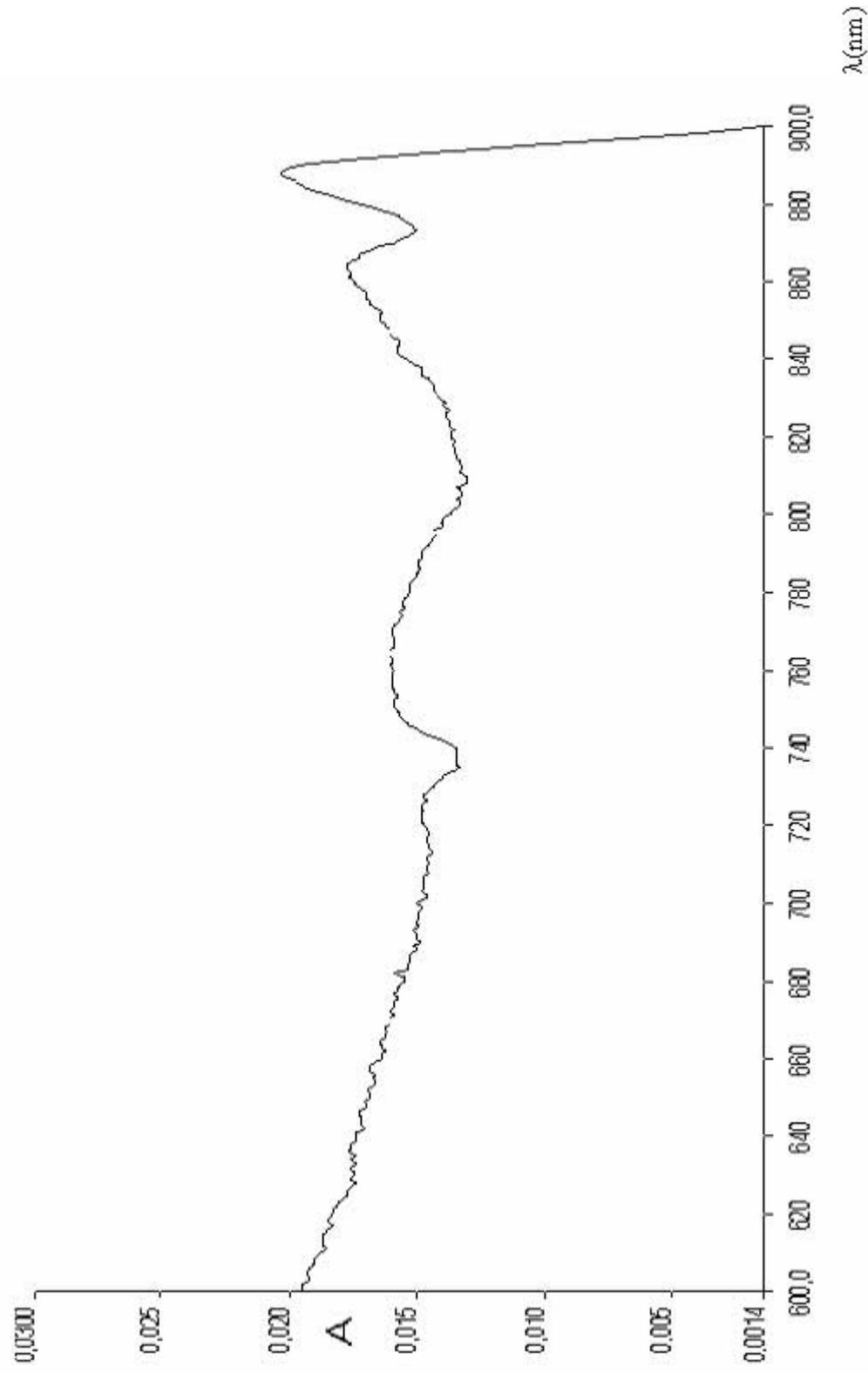


Figura 14. Espectro electrónico (nm) del compuesto de níquel(II) $[\text{Ni}(\text{cefotax})(\text{stz})] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.

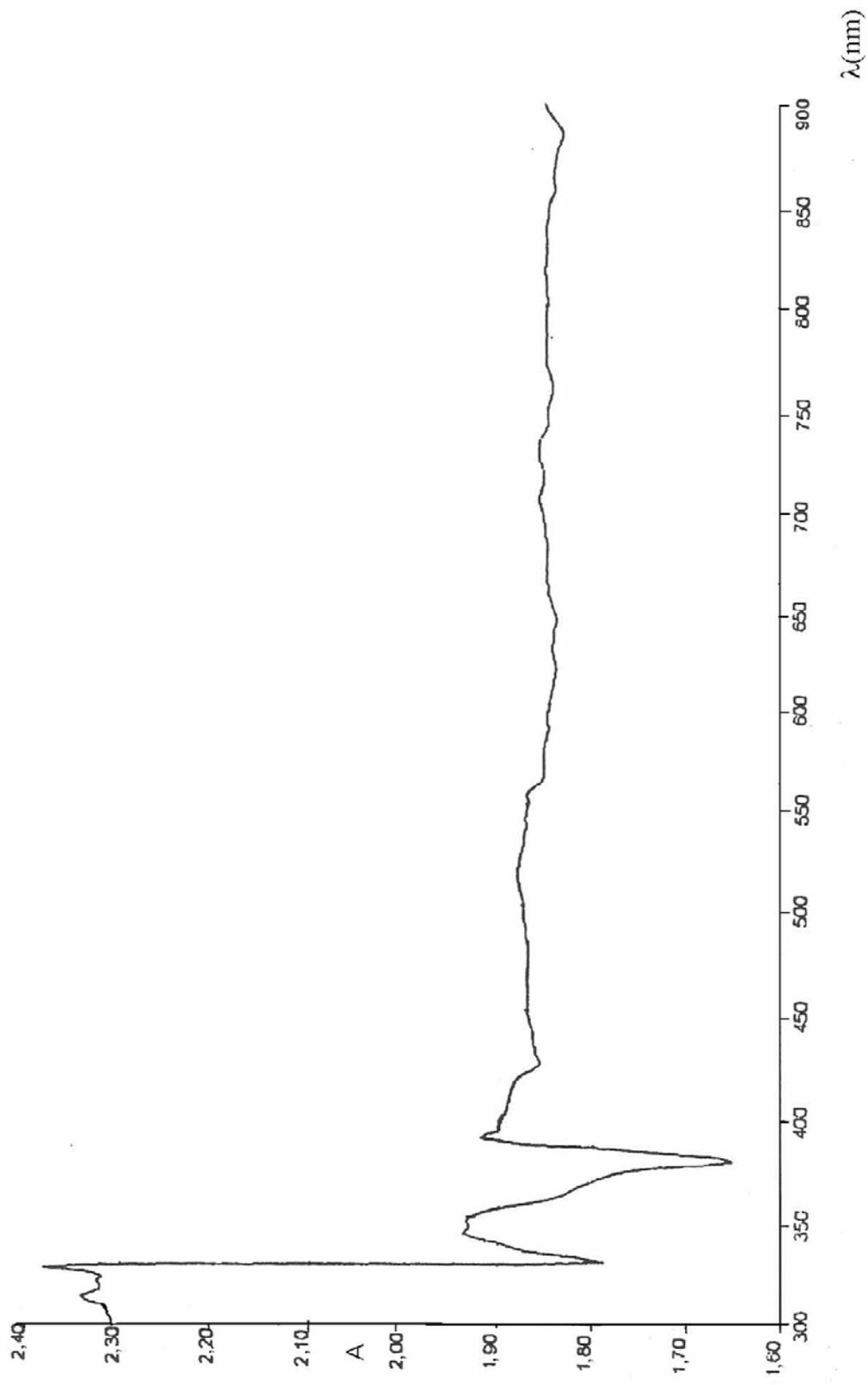


Figura 15. Espectro electrónico (nm) de la ceftriaxona.

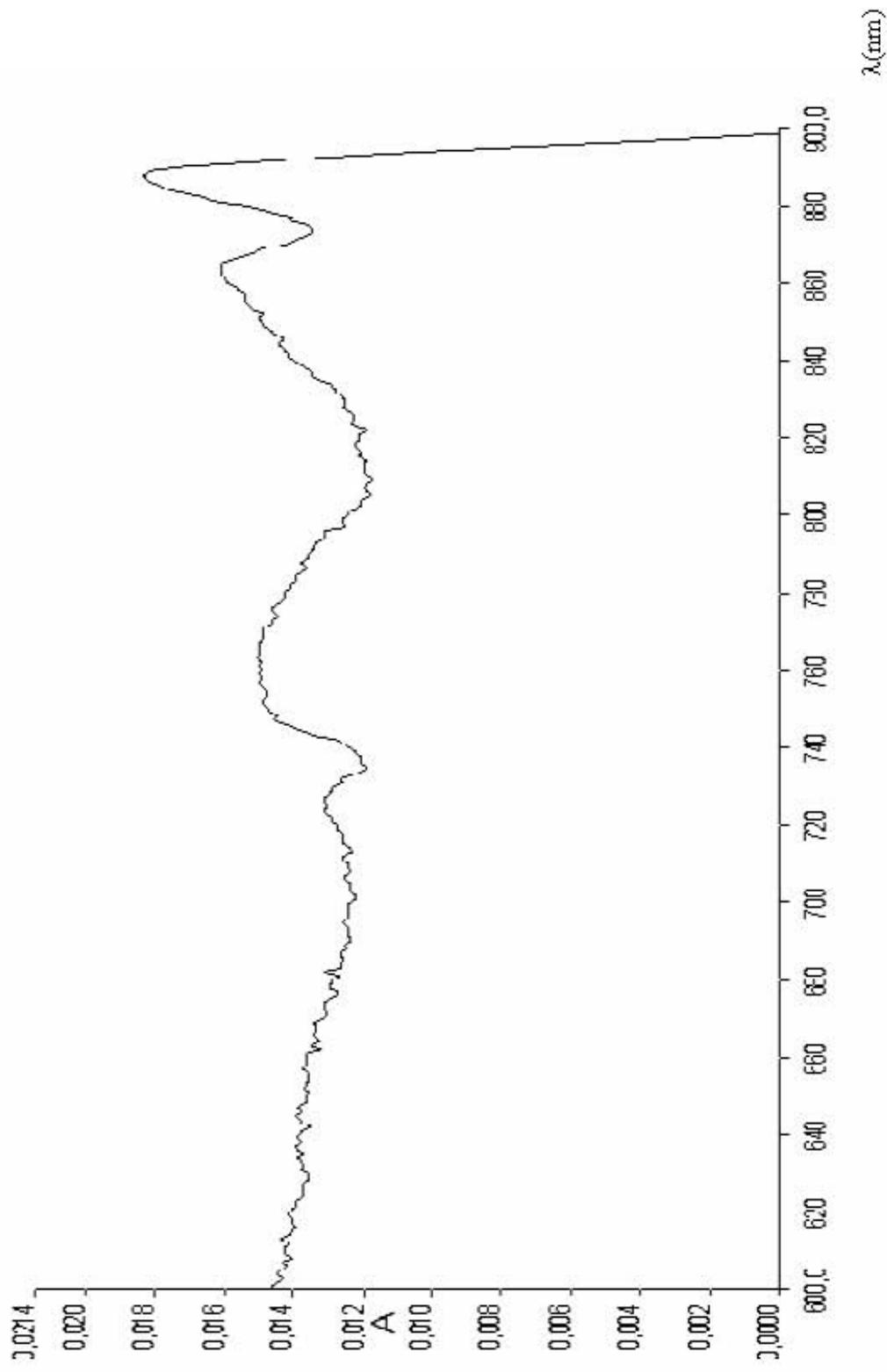


Figura 16. Espectro electrónico (nm) del compuesto de níquel(II) $[\text{Ni}(\text{ceftria})(\text{Hstz})] \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

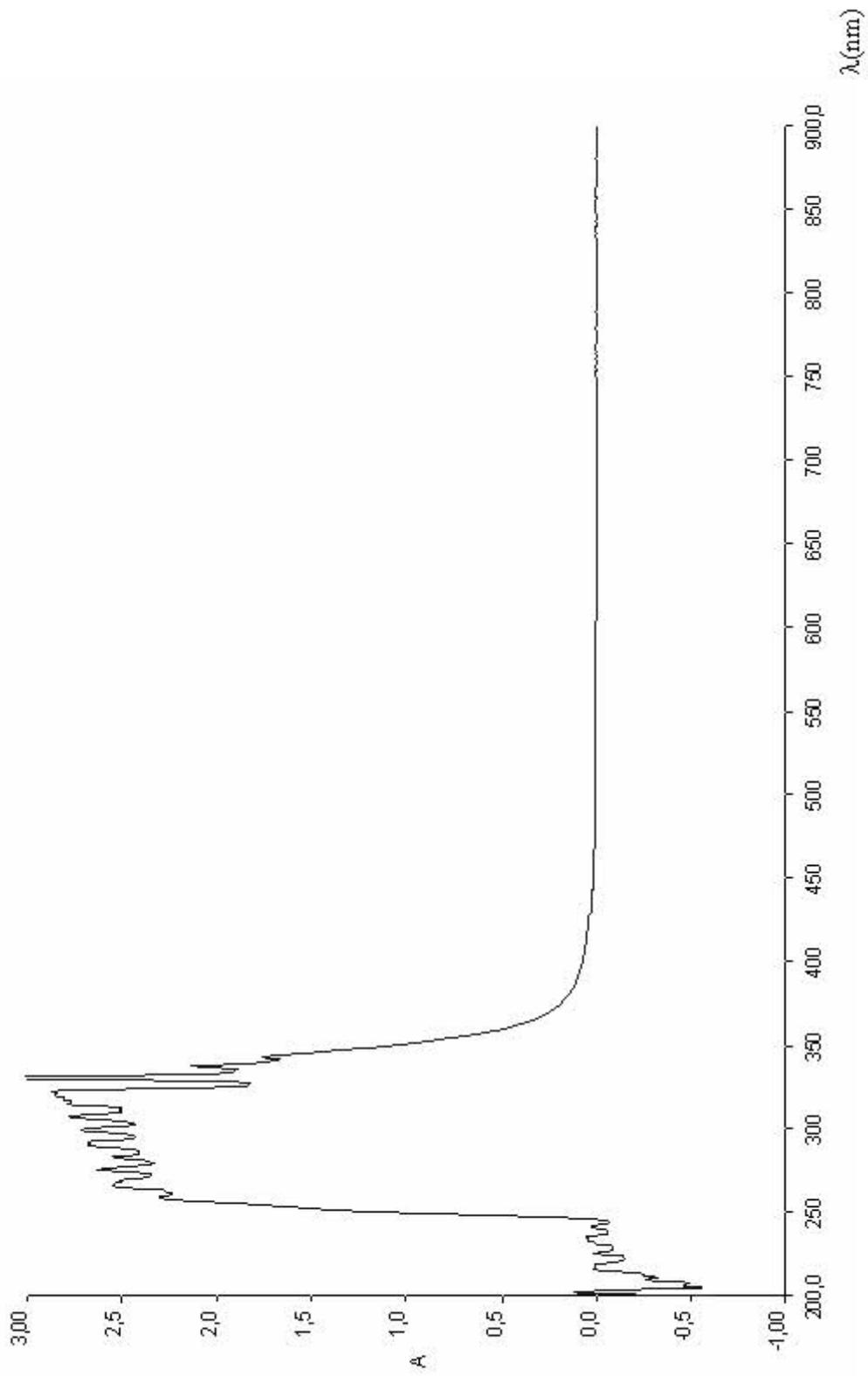


Figura 17. Espectro electrónico (nm) de la cefepima.

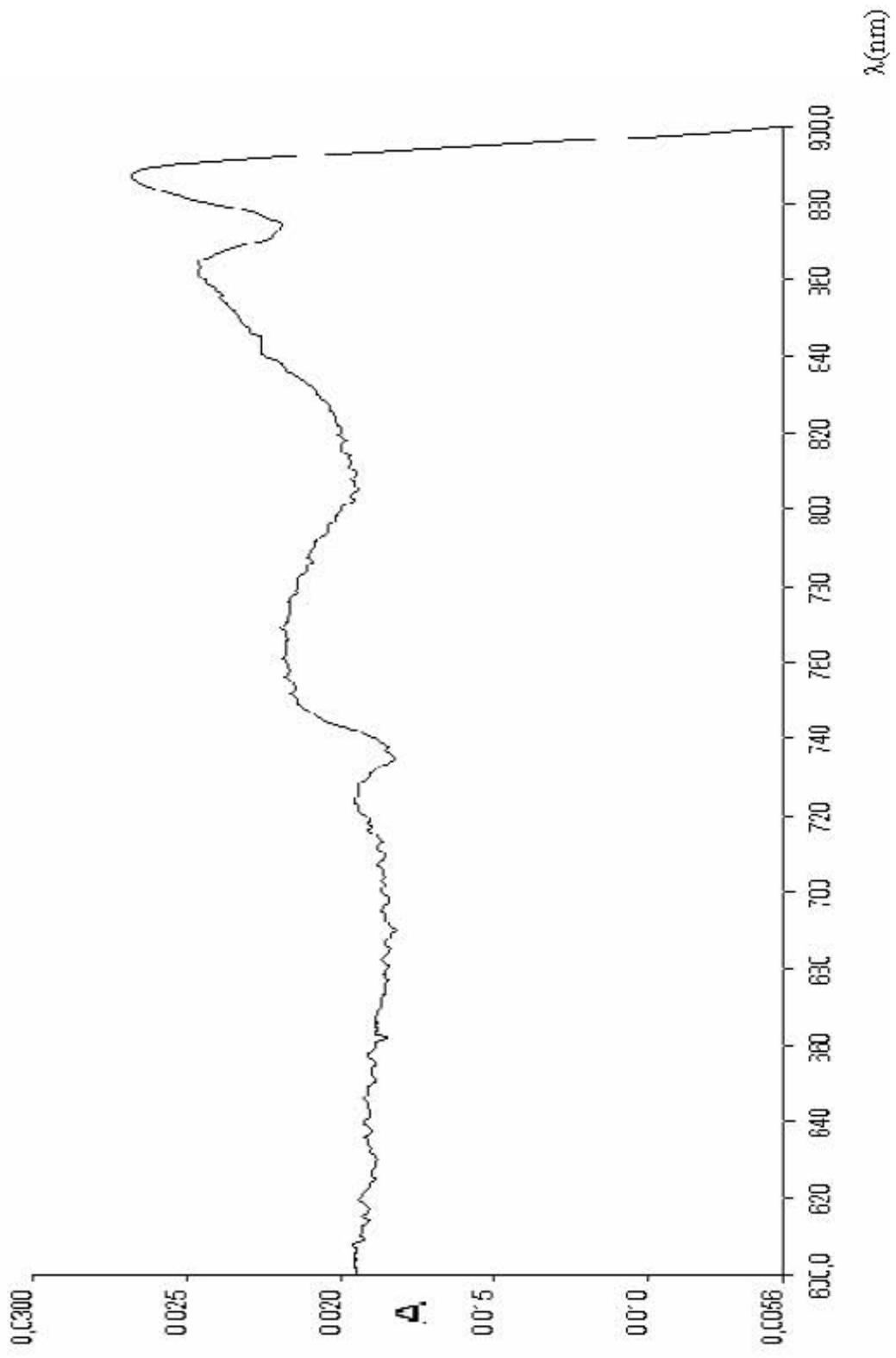


Figura 18. Espectro electrónico (nm) del compuesto de níquel(II) $[\text{Ni}(\text{cefepima})(\text{stz})]\text{Cl}\cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

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 la intensidad del campo magnético (B en Gauss) y la frecuencia utilizada en el espectrómetro (ν en GHz). Los compuestos de níquel(II) a pesar de contener iones níquel con configuración d^8 con dos electrones desapareados, no debería mostrar señales en el espectro RPE.

Sorprendentemente, los complejos de níquel(II) de los ligandos cefazolina, cefalotina y ceftriaxona muestran una señal ancha, de diferente intensidad, con dos valores de g a 3180 y 3430 Gauss lo que permite sugerir que poseen similar estructura. Los iones níquel(II) tienen un número par de electrones desapareados y el nivel más bajo de energía debería ser no degenerado y por lo tanto no producir señal de RPE. Sin embargo, debido a la posible distorsión de la geometría de los complejos, podrían tener un estado fundamental degenerado orbitalmente. Esta degeneración del estado fundamental podría ser eliminada en un campo magnético y permitir que se observe una señal de RPE (40).

Los espectros muestran una curva de absorción sin la estructura hiperfina debida a la posible interacción de los electrones desapareados con el spin nuclear ($I = 1/2$). Una señal débil a 2457 Gauss presente en todos los espectros es atribuida a la presencia de impurezas. La señal a más bajo campo alrededor de 1600 Gauss proviene del equipo. Los espectros de RPE se muestran en las (figuras 19-21).

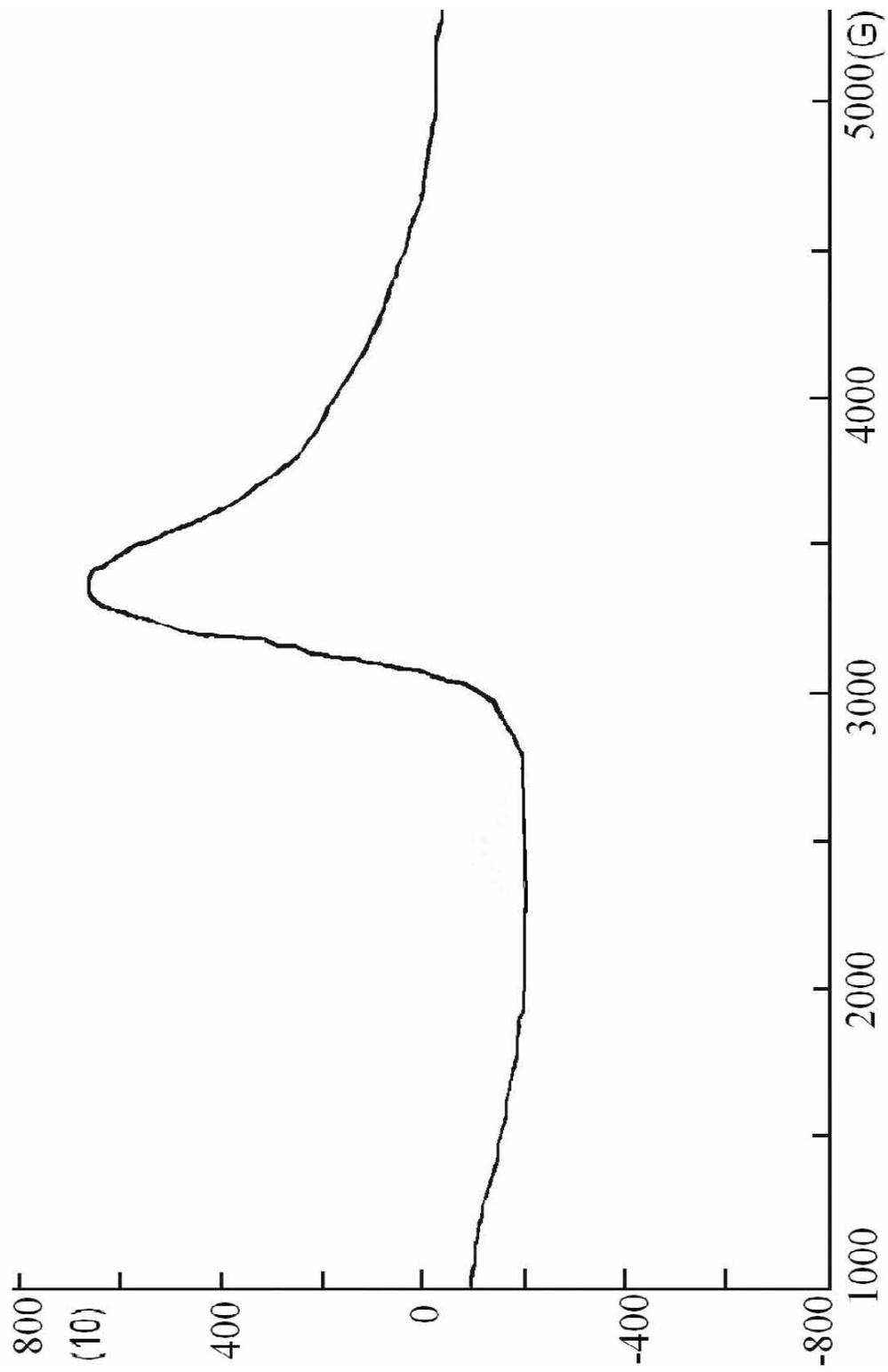


Figura 19. Espectro RPE del $[\text{Ni}(\text{cefazol})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.

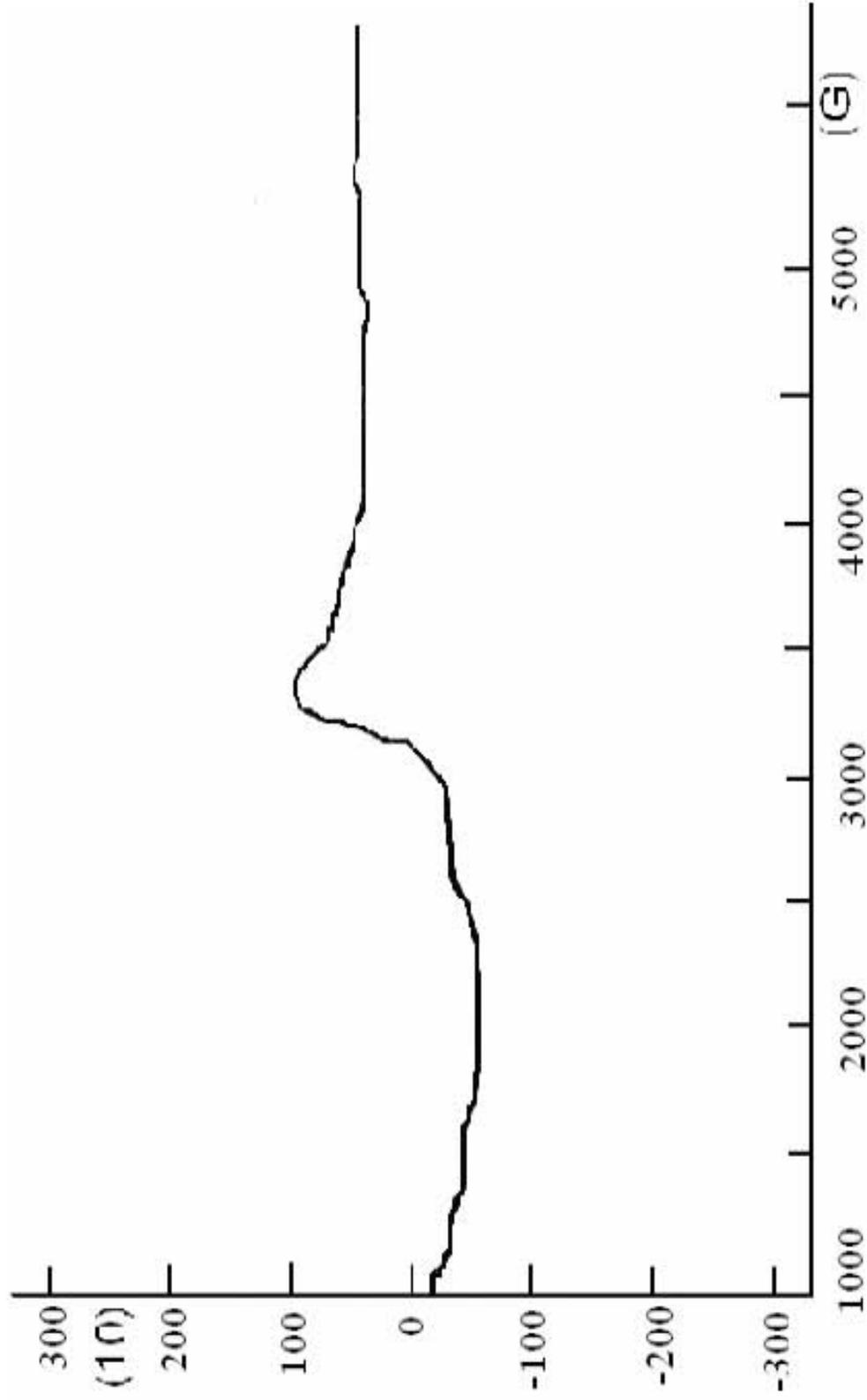


Figura 20. Espectro RPE del $[\text{Ni}(\text{cefalot})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

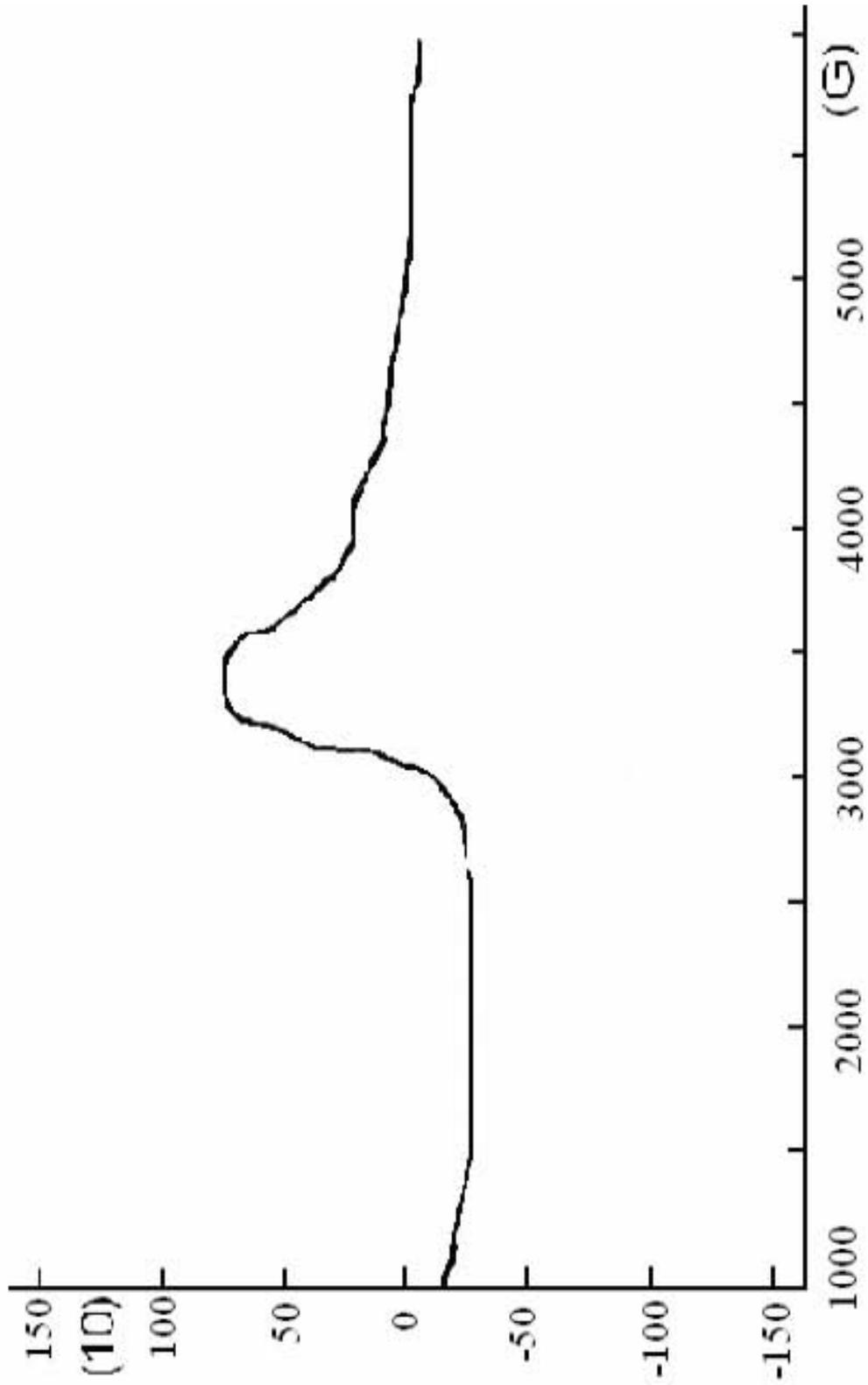


Figura 21. Espectro RPE del $[Ni(ceftria(stz))] \cdot 7H_2O$

Actividad biológica.

Los resultados obtenidos en la evaluación de la actividad biológica de la cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima y sus compuestos de Ni^{2+} permiten afirmar que los complejos poseen acción antibacteriana con relación a las diversas cepas. La tabla 7 muestra la actividad antibacteriana de las cefalosporinas nombradas y sus compuestos de Ni^{2+} . Los halos de inhibición de la cefepima y sus compuestos de níquel(II) sintetizados se muestran de la figura 22 a la 24.

Las cepas de *E. coli*, *S. enteritidis*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis*, *S. aureus* y *P. aeruginosa* utilizadas no mostraron actividad antibacteriana frente a $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, sugiriendo así que la actividad proviene de los ligandos.

El compuestos $[\text{Ni}(\text{cefazol})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y $[\text{Ni}(\text{cefalot})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ no mostraron actividad antibacteriana frente a *P. aeruginosa*, esto se debe a su resistencia natural o adquirida para las cefalosporinas de primera y segunda generación. Los compuestos $[\text{Ni}(\text{cefazol})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Ni}(\text{cefalot})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Ni}(\text{cefotax})(\text{stz})] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y $[\text{Ni}(\text{ceftria})(\text{Hstz})] \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ presentaron resultados efectivos frente las cepas de *E. coli*, *S. enteritidis*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis*, observándose sensibilidad en algunos casos, aunque con menor efectividad que el antimicrobiano comercial. *E. coli*, fue resistente para el complejo $[\text{Ni}(\text{cefalot})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

En cuanto a los compuestos el $[\text{Ni}(\text{cefepima})(\text{stz})]\text{Cl} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ fue más efectivo que el antimicrobiano comercial en todas las cepas utilizadas, alcanzando índices de sensibilidad hasta mayor al 100 % con respecto al antimicrobiano de origen comercial, como es el caso de la cepa de *E. coli*. En las cepas de *P. aeruginosa* y *S.*

aureus también se obtuvo una mayor sensibilidad con respecto al antimicrobiano comercial.

Es importante señalar que el mecanismo de resistencia de las bacterias a los nuevos compuestos pudiese atribuirse al cambio de la masa molar y la forma de su estructura, que contribuyen a la poca difusión del compuesto a través de la membrana bacteriana por transporte activo.

El aumento de la masa molar se debe a que además de la masa molar del antimicrobiano comercial se debería considerar la masa molar del sulfatiazol y el metal. Las contribuciones de C, N, H y S a la nueva masa molar fueron confirmada por el análisis elemental realizado para cada uno de compuestos sintetizados (13,16,17).

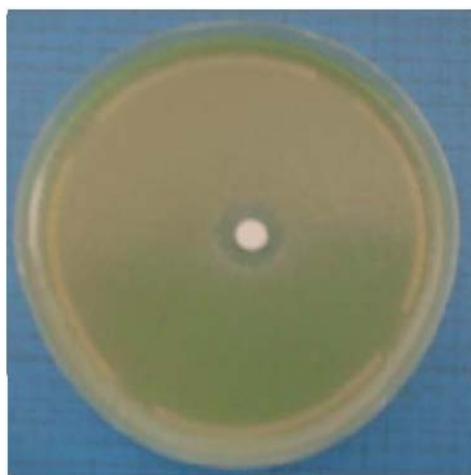
Tabla 7. Diámetros de inhibición (mm) producidos por la cefazolina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima y los compuestos de níquel(II) sintetizados.

Compuestos	Conc. µg/disco	<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
[Ni(cefazol)(stz)(H ₂ O)]·4H ₂ O	400	20	18	0	27	23	37
Cefalotina	400	19	29	0	27	33	60
[Ni(cefalot)(stz)(H ₂ O) ₂]·7H ₂ O	400	10	21	0	25	20	33
Cefotaxima	400	40	37	23	18	39	36

[Ni(cefotax)(stz)]·4H₂O 400 31 34 17 13 24 37

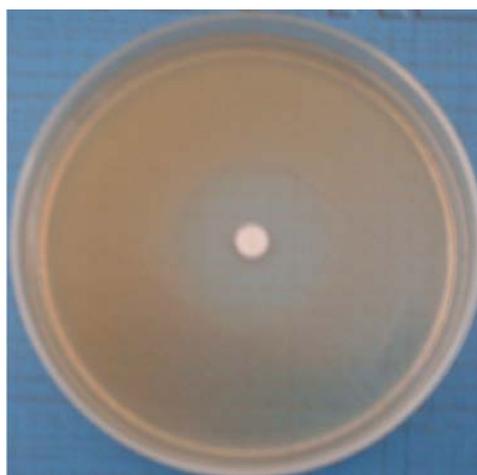
Continuación. Tabla 7.

Compuestos	Conc. µg/disco	<i>E. coli</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>B. subtilis</i>
[Ni(ceftria)(Hstz)]·7H ₂ O	400	33	32	22	15	28	35
Cefepima	400	18	25	0	0	25	30
[Ni(cefepima)(stz)]Cl·6H ₂ O	400	30	33	19	15	28	35



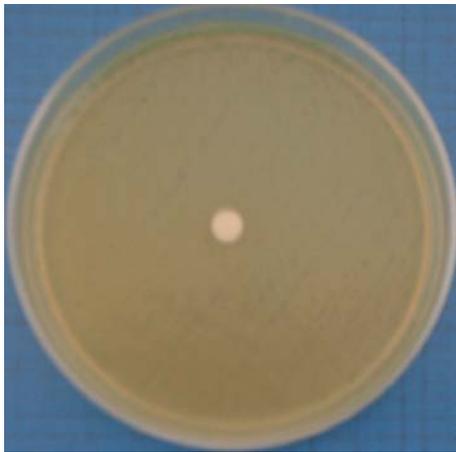
Cefepima.

[Ni(cefepima)(stz)]Cl·6H₂O.

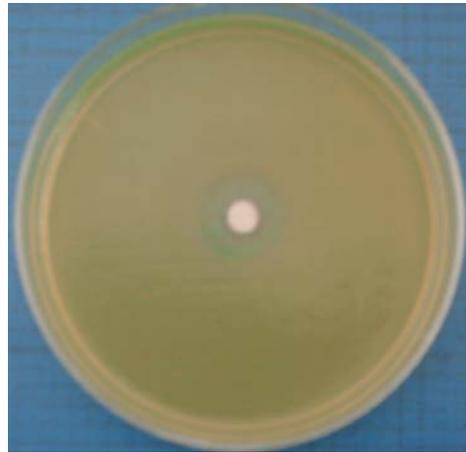


Compuesto

Figura 22. Halos de inhibición de la cefepima y del $[\text{Ni}(\text{cefepima})(\text{stz})]\text{Cl}\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 11775.



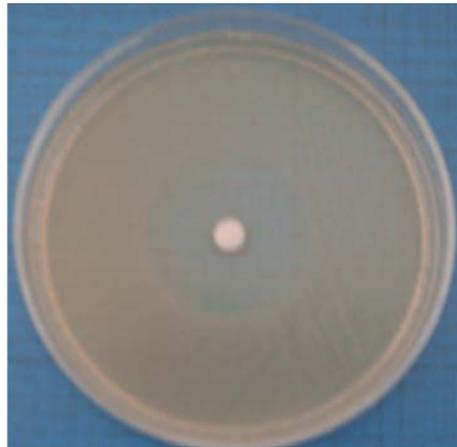
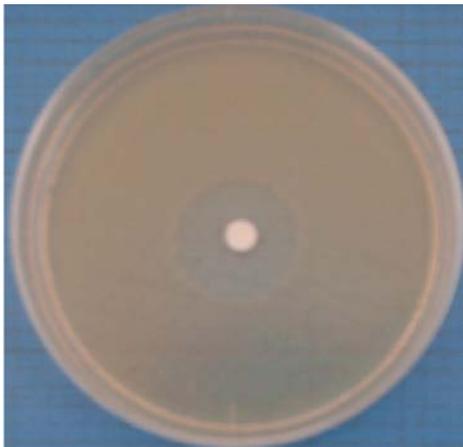
Cefepima.



Compuesto

$[\text{Ni}(\text{cefepima})(\text{stz})]\text{Cl}\cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Figura 23. Halos de inhibición de la cefepima y del $[\text{Ni}(\text{cefepima})(\text{stz})]\text{Cl}\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ frente a la cepa de *Pseudomonas aeruginosa*.



Cefepima.	Compuesto
[Ni(cefepima)(stz)]Cl·6H ₂ O.	

Figura 24. Halos de inhibición de la cefepima y del [Ni(cefepima)(stz)]Cl·6H₂O frente a la cepa de *Salmonella enteritidis* CDC 64.

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

En la tabla 8, se muestran los resultados obtenidos para la prueba de sensibilidad a diferentes concentraciones. Se puede decir que, la cefepima y la cefotaxima a una concentración de 400 µg/disco presentaron buena sensibilidad; la cefepima para la cepa de *Bacillus subtilis* y la cefotaxima para la cepa de *Pseudomonas aeruginosa*, mostrando resistencia a concentraciones menores.

La cepa de *Pseudomonas aeruginosa* presentó resistencia en todas las concentraciones utilizadas a la cefepima, cefalotina y la cefazolina; la cepa de *Staphylococcus aureus* fue resistente frente a la cefepima.

La cefalotina, cefazolina y cefotaxima se comportaron como un antimicrobiano muy efectivo debido a que se observó sensibilidad hasta la mínima concentración de inhibición utilizada (MCIU) (25 µg/disco) para las cepas de *E. coli*, *S. enteritidis*, *K. pneumoniae* y *B. subtilis*.

Los compuestos [Ni(cefotax)(stz)]·4H₂O, [Ni(ceftria)(Hstz)]·7H₂O y [Ni(cefepima)(stz)]Cl·6H₂O, mostraron una actividad antibacteriana similar debido a que se obtuvo sensibilidad a una concentración de 25 µg/disco frente a las cepas de *E. coli*, *S. enteritidis* y *B. subtilis*.

La cepa de *P. aeruginosa* presentó resistencia en todas las concentraciones utilizadas de los compuestos [Ni(cefazol)(stz)(H₂O)]·4H₂O y [Ni(cefalot)(stz)(H₂O)₂]·7 H₂O. La cepa de *B. subtilis*, mostró sensibilidad (25 µg/disco) para todos compuestos de níquel(II) sintetizados: [Ni(cefazol)(stz)(H₂O)]·4H₂O, [Ni(cefalot)(stz)(H₂O)₂]·7H₂O, [Ni(cefotax)(stz)]·4H₂O, [Ni(ceftria)(Hstz)]·7H₂O y [Ni(cefepima)(stz)]Cl·6H₂O.

Para los compuestos [Ni(cefalot)(stz)(H₂O)₂]·7H₂O y [Ni(cefepima)(stz)]Cl·6H₂O, la cepa de *K. pneumoniae* presentó sensibilidad a una concentración de 100 µg/disco.

Tabla 8. Concentración mínima inhibitoria (CMI) de los antimicrobianos comerciales y sus 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	...	MCI	-
	25	MCI	-	-	MCI	MCI	MCI
[Ni(cefazol)(stz)(H ₂ O)]·4H ₂ O	400	-
	200	MCI	MCI	-
	100	-	-	-
	50	-	-	-	MCI	MCI	...
	25	-	-	-	-	-	MCI
Cefalotina	400	-
	200	-
	100	-
	50	-
	25	MCI	MCI	-	MCI	MCI	MCI
[Ni(cefalot)(stz)(H ₂ O) ₂]·7H ₂ O	400	...	MCI	-
	200	MCI	-	-
	100	-	-	-	MCI	MCI	...
	50	-	-	-	-	-	...
	25	-	-	-	-	-	MCI
Cefotaxima	400	MCI
	200	-
	100	-	MCI

	50	-	-
	25	MCI	MCI	-	-	MCI	MCI
[Ni(cefotax)(stz)]·4H ₂ O	400
	200	MCI	...	MCI	...
	100	-	MCI	-	...
	50	-	-	-	...
	25	MCI	MCI	-	-	-	MCIU
Ceftriaxona	400
	200
	100	MCI
	50	-	MCI
	25	-	MCI	MCI	-	MCI	MCI

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
[Ni(ceftria)(Hstz)]·7H ₂ O	400
	200	MCI
	100	MCI	-
	50	-	-
	25	MCI	MCI	-	-	MCI	MCI
Cefepima	400	-	-	...	MCI
	200	MCI	MCI	-	-	MCI	-
	100	-	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-	-
[Ni(cefepima)(stz)]Cl·6H ₂ O	400
	200	MCI
	100	MCI	-	MCI	...
	50	-	-	-	...
	25	MCI	MCI	-	-	-	MCI

...: Hubo inhibición, - : Resistencia, MCI : Mínima concentración de inhibición

CONCLUSIONES

Se sintetizaron cinco nuevos compuestos de níquel(II) que contienen cefalosporinas y sulfatiazol. Basado en sus comportamientos espectroscópicos y fisicoquímicos se sugieren posibles estructuras para ellos, las cuales son: $[\text{Ni}(\text{cefazol})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y $[\text{Ni}(\text{cefalot})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2]\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ presentan posibles estructuras octaédricas en donde los antimicrobianos se comportan como ligandos tetradentado monoaniónico y tridentado monoaniónico respectivamente.

Los complejos de $[\text{Ni}(\text{cefotax})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y $[\text{Ni}(\text{cefepima})(\text{stz})]\text{Cl}\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ presentan posibles estructuras tetraédricas en donde el antimicrobiano se comporta como un ligando tridentado monoaniónico y el Hstz como un ligando monodentado monoaniónico.

El complejo de $[\text{Ni}(\text{ceftria})(\text{Hstz})]\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ presenta una estructura octaédrica en la cual la ceftriaxona participa como un ligando pentadentado dianiónico y el Hstz participa como un ligando monodentado neutro.

Los compuestos de níquel(II) que contienen cefazolina, cefalotina, cefotaxima y ceftriaxona presentaron sensibilidad frente a las cepas *E. coli*, *S. enteritidis*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis*; sin embargo esta sensibilidad fue menos efectiva que la del antimicrobiano comercial.

El compuesto $[\text{Ni}(\text{cefepima})(\text{stz})]\text{Cl}\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ resultó con mayor efectividad que el antimicrobiano original frente a las cepas de *E. coli*, *S. enteritidis*, *P. aeruginosa*, y *S. aureus* respectivamente.

Los compuestos $[\text{Ni}(\text{cefotax})(\text{stz})]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Ni}(\text{ceftria})(\text{Hstz})]\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y $[\text{Ni}(\text{cefepima})(\text{stz})]\text{Cl}\cdot 6\text{H}_2\text{O}$, a diferentes concentraciones en la prueba de sensibilidad, mostraron una actividad antibacteriana similar frente a las cepas de *E. coli*, *S. enteritidis* y *B. subtilis*.

BIBLIOGRAFÍA

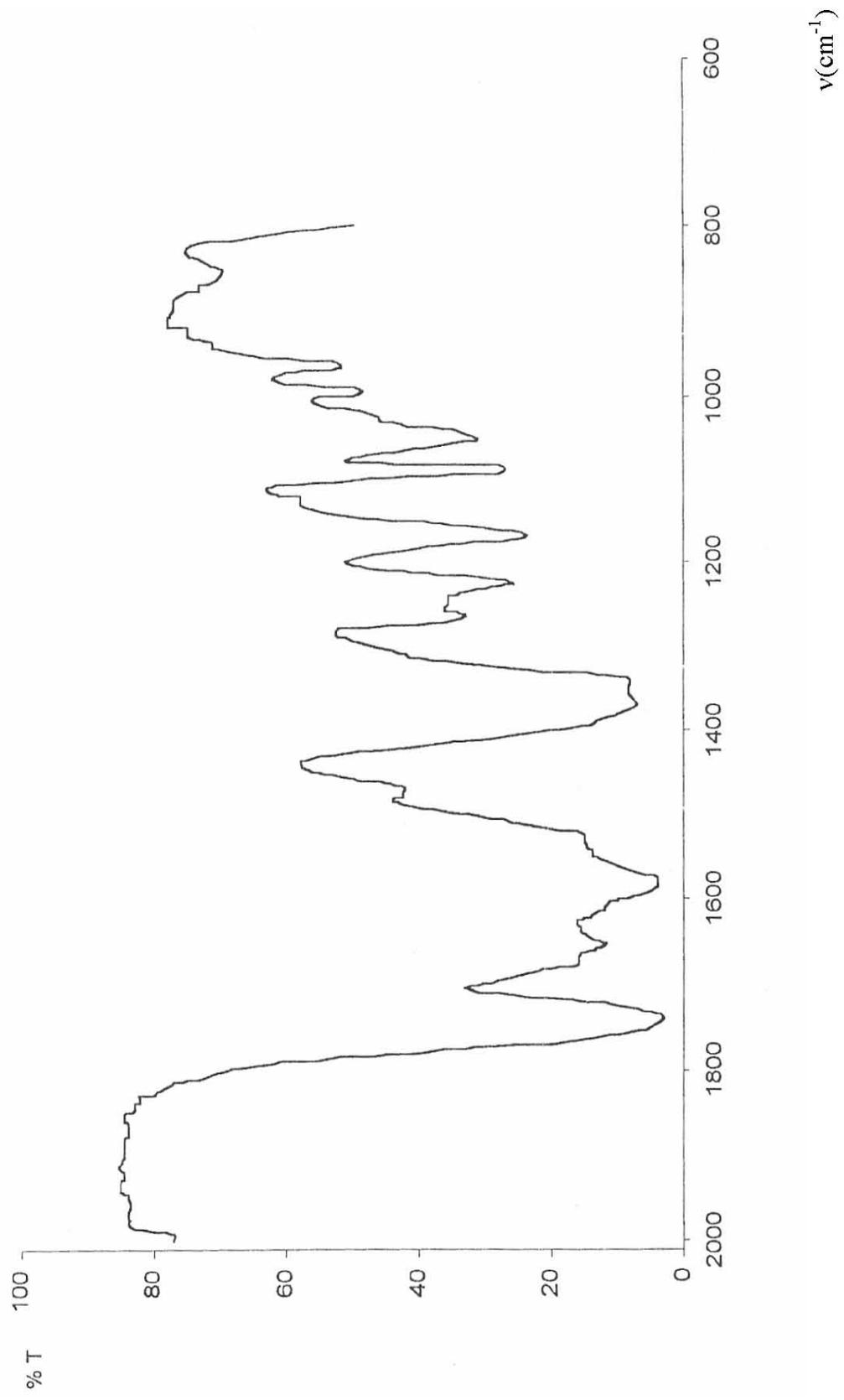
1. Gómez, M.; Mariño, F.; Montes, T. y Marcano, C. 1997. *Microbiología médica de Divo*. Quinta edición. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. Caracas.
2. Joklik, W.; Willett, H.; Amos, B. y Wilfert, C. 1995. *Microbiología Zinsser*. Vigésima edición. Editorial Panamericana. Buenos Aires.
3. Jawetz, E.; Melnick, J. y Adelberg, E. 1992. *Microbiología médica*. Decimacuarta edición. Editorial El Manual Moderno. México.
4. Pumarola, A.; Rodríguez, A.; García, R. y Piedrota, A. 1992. *Microbiología y Parasitología Médica*. Segunda edición. Ediciones Científicas y Técnicas. Madrid.
5. Atlas, R. 1990. *Microbiología fundamentos y aplicaciones*. Dr. Jorge Tay Zavala. Compañía Editorial Continental. México.
6. Pla, M. 1990. Mecanismo de acción de los agentes antimicrobianos. *Act. Infectol*, 1: 2- 4.
7. Davies, V. “Antibióticos y bacterias libran batalla del bien contra el mal”. El nacional. 5 de febrero de 2006. B/19.
8. Conde, C. “Microorganismos usan tres mecanismos para evitar la acción de los fármacos”. El nacional. 4 de octubre de 2007. Ciencia y ambiente/ 8.
9. Bush, K. 1988. Betalactamase inhibitors from laboratory to clinic. *Clin. Microbial. Rev.*, 1: 109-123.
10. Reynolds, P. 1993. Resistance of the antibiotic target site. *Brit. Med. Bull.*, 40: 36- 37.
11. Sanders, C. 1992. Betalactamasas de bacterias Gram negativas: Nuevos desafíos para nuevas drogas. *Clinical Infections Diseases.*, 14: 1089- 89.
12. Mandell, G.; Douglas, G. y Benmet, J. 1995. *Anti – infective therapy*. Frist edition. A Wiley and Sons Medical Publication. Virginia.
13. París, M.; Ramilo y Crackers, G. 1995. Antibiotical activity. *Antimicrob Ag. Chemother.*, 39: 2171 – 2173.

14. Conn. M. y Grebhart, G. 1991. *Principios de farmacología*. Primera edición. Editorial. El Manual Moderno, México.
15. Katzung, B. 1991. *Farmacología básica y clínica*. Cuarta edición. Editorial. El Manual Moderno, S.A. México.
16. Pelczar, M.; Reid, R. y Chan, E. 1996. *Microbiología*. Cuarta edición. Libros. Editorial Mc Graw – Hill, México.
17. Goodman, A., Rall, T.; Nies, A. y Taylor, P. 1991. Las bases farmacológicas de la terapéutica. En: *Agentes antimicrobianos, penicilina, cefalosporinas y otros antibióticos betalactámicos*. Octava edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. 1035-1054 pp.
18. Spilva, A., y Muktans, Y. 2006. *Guía de las especialidades farmacéuticas en Venezuela*. Vigésimacuarta edición. Ediciones Silva S. A. Caracas.
19. John, N. 1995. *Terapéutica antimicrobiana pediátrica*. Cuarta edición. Editorial Médica. Buenos Aires.
20. El Manual de Merck de diagnóstico y tratamiento. 1999. Decima edición. Editorial Harcourt. Madrid.
21. Casanova, J.; Alzuet, G.; Borrás, J.; Latorre, J.; Sanán, M. y García – Granda, S. 1995. Coordination behavior of sulfathiazole. Crystal structure of Cu (sulfathiazole py)₃Cl superoxide dismutase activity. *J. Inorg Broche.*, 60: 219-250.
22. Anacona, J. y Figueroa, E. 1999. Synthesis and characterization of metal complexes with penicillin. *J. Coord.Chem.*, 48: 181-189.
23. Anacona, J. y Bravo, A. 1998. Synthesis and characterization of metal complexes of ampicilina. *J. Coord. Chem.*, 44: 173-182.
24. Anacona, J., Mundaray, M. y Bastardo, E. 2000. Synthesis and antibacterial activity of metal complexes of clavulanic and nalidixic acids. *J. Coord. Chem.*, 53: 281-288.
25. Anacona, J. y Toledo, C. 2001. Synthesis and antibacterial activity of metal complexes of ciprofloxacin. *Trans. Metal. Chem.*, 26: 228-231.
26. Anacona, J. R. y Álvarez, P. 2002. Synthesis and antibacterial activity of metal Complexes of cefazolin. *Trans. Metal Chem.*, 27: 586-860.

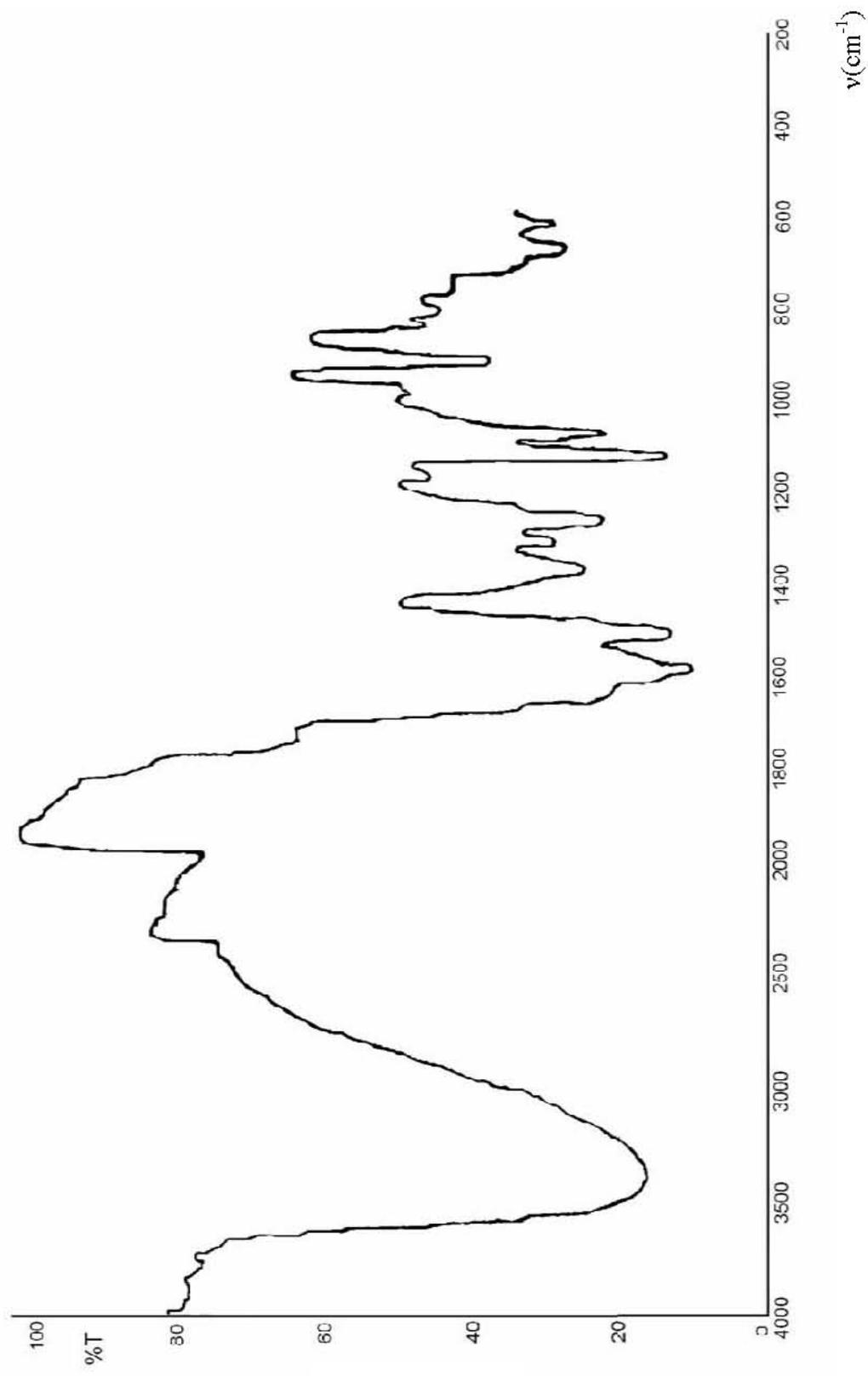
27. Anacona, J. R. y Rodríguez, I. 2004. Synthesis and antibacterial activity of cephalixin metal complexes. *J. Coord. Chem.*, 57: 1263-1269.
28. Anacona, J. R. y Serrano, J. 2003. Synthesis and antibacterial activity of cephalotin metal complexes. *J. Coord. Chem.*, 56: 313-320.
29. Anacona, J. R. y Da Silva, G. 2005. Synthesis and antibacterial activity of cefotaxime metal complexes. *J. Coord. Chem. Soc.*, 50: 447-450.
30. Anacona, J. R. y Gil, C. 2005. Synthesis and antibacterial activity of cefoxitin metal complexes. *J. Coord. Chem.*, 30: 605-609.
31. Anacona, J. R. y Rodríguez, A. 2005. Synthesis and antibacterial activity of ceftriaxone metal complexes. *Trans. Metal Chem.*, 30: 897-901.
32. Anacona, J. R. y Estacio, J. 2005. Synthesis and antibacterial activity of cefixime metal complexes. *Trans. Metal Chem.*, 31: 227-231.
33. Anacona, J. R. Bastardo, E. y Camus, J. 1999. Manganese(II) and Palladium (II) Complexes containing a new macrocyclic schiff base ligand. Antibacterial properties. *Trans. Metal Chem.*, 24: 478 – 480.
34. Kemperman, G.; De Gelder, R.; Dommerholt, F.; Raemakers, P.; Klunder, A. y Zwanenburg, B. 2000. Induced fit phenomena in clathrate structures of cephalosporins. *J. Chem. Soc., Trans. 2*: 1425-1429.
35. Kemperman, G.; De Gelder, R.; Dommerholt, F.; Raemakers, P.; Klunder, A. y Zwanenburg, B. 2001. A computational model to predict clathration of molecules with cephadrine. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*: 981-987.
36. Geary, W. 1971. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds. *Coord. Chem. Rev.* 7: 81 - 122.
37. Lynch, M.; Raphael, S.; Mello, L.; Spare, P. y Inwood, M. 1980. Métodos de laboratorio 2. Segunda edición. Nueva Editorial Interamericana. México.
38. Bauer, A.; Kirby, W.; Sherris, J. y Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *Am. J. Clin. Patrol.*, 75: 993 - 996.
39. Stryer, L. 1992. *Biochemistry*. Tercera edición. W. H freeman and Co.

40. Anacona, J. R y Ramos, N. 2000. Coordination behavior of sulfatiazole. Crystal structure of $[\text{Cu}(\text{en})_2(\text{H}_2\text{O})_2][\text{stz}]_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. *Trans. Metal Chem.*, 25: 70 - 77

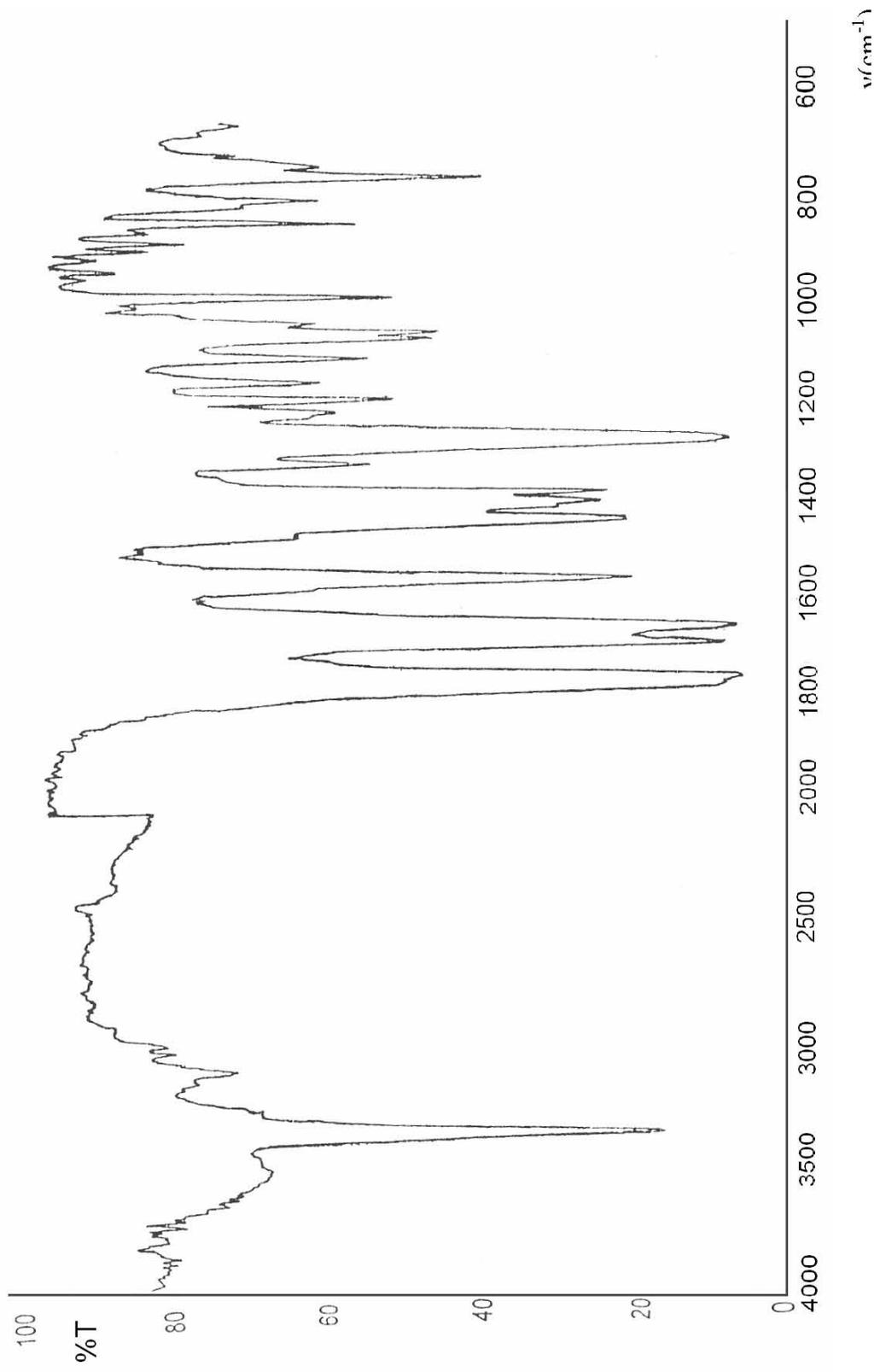
ANEXOS



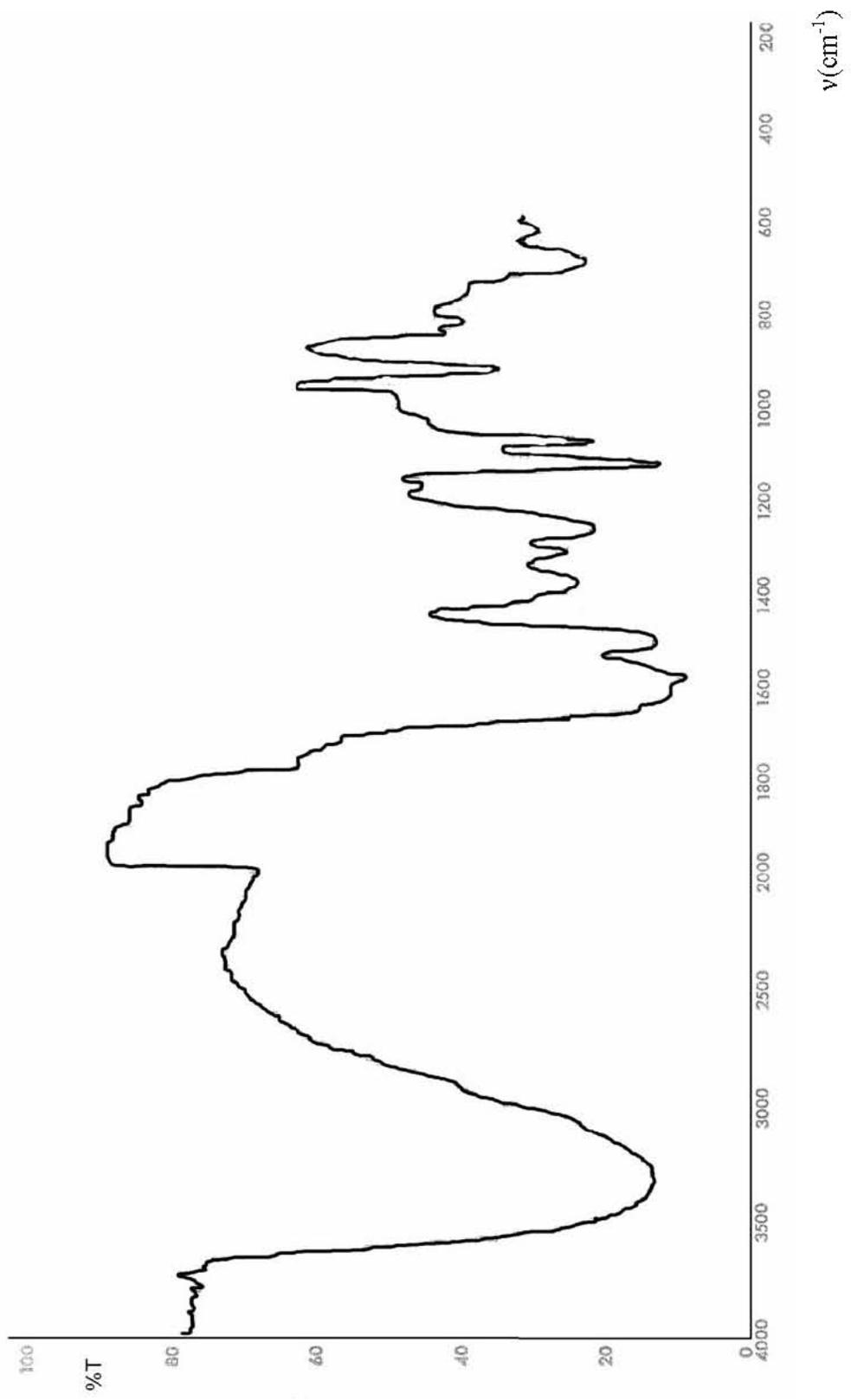
Anexo 1. Espectro infrarrojo de la cefazolina.



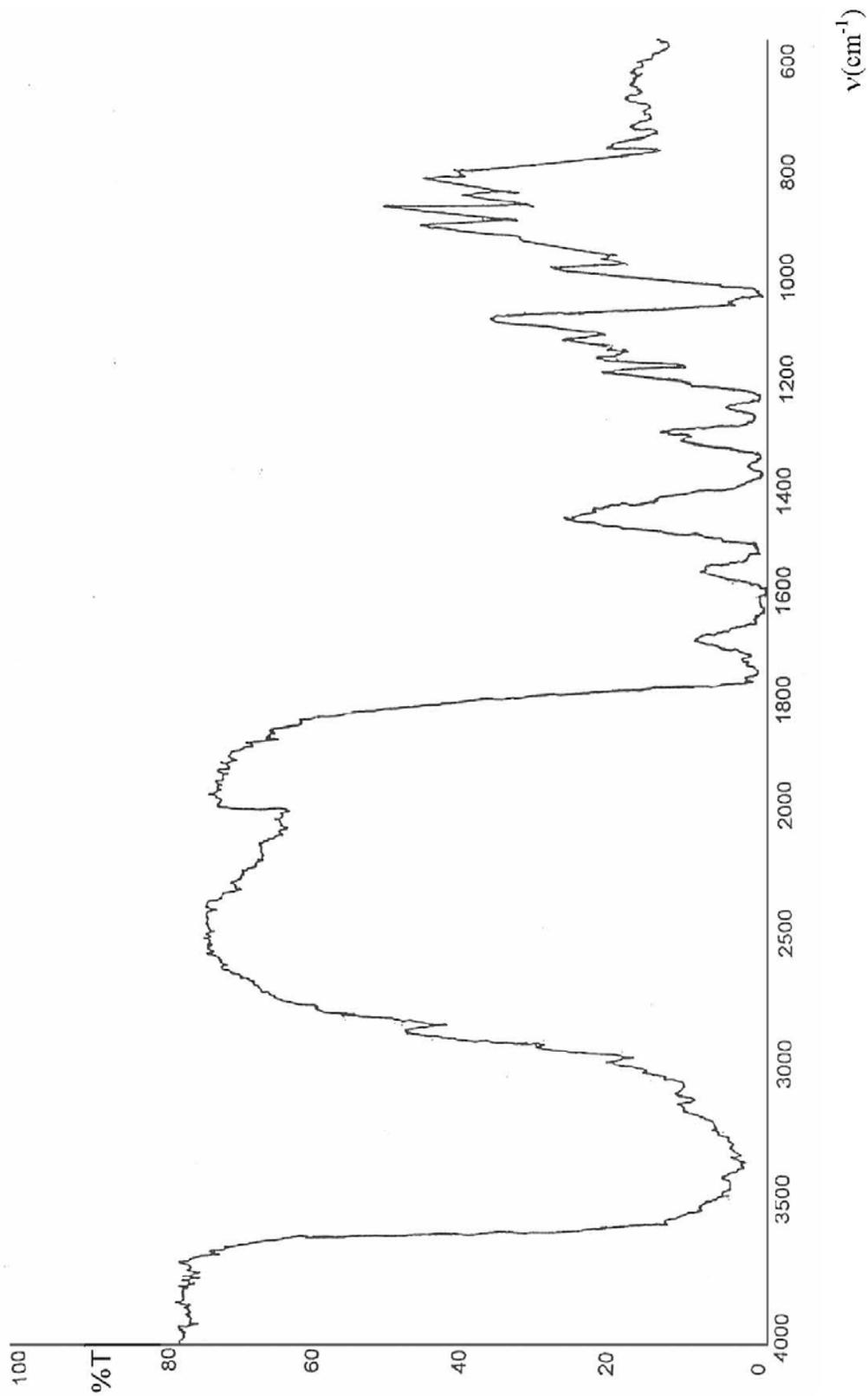
Anexo 2. Espectro infrarrojo del compuesto $[\text{Ni}(\text{cefazol})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.



Anexo 3. Espectro infrarrojo de la cefalotina.



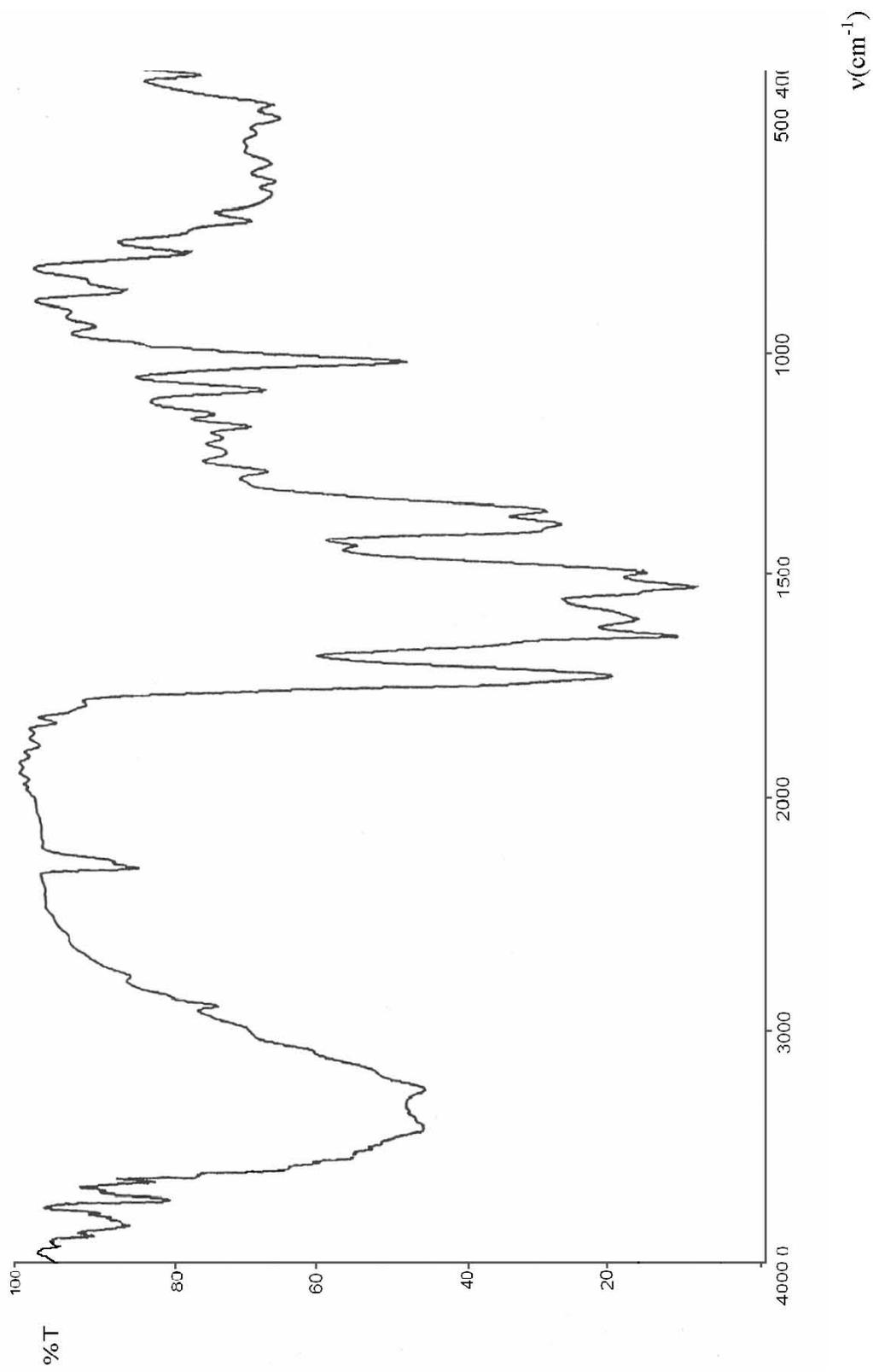
Anexo 4. Espectro infrarrojo del compuesto $[\text{Ni}(\text{cefalot})(\text{stz})(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.



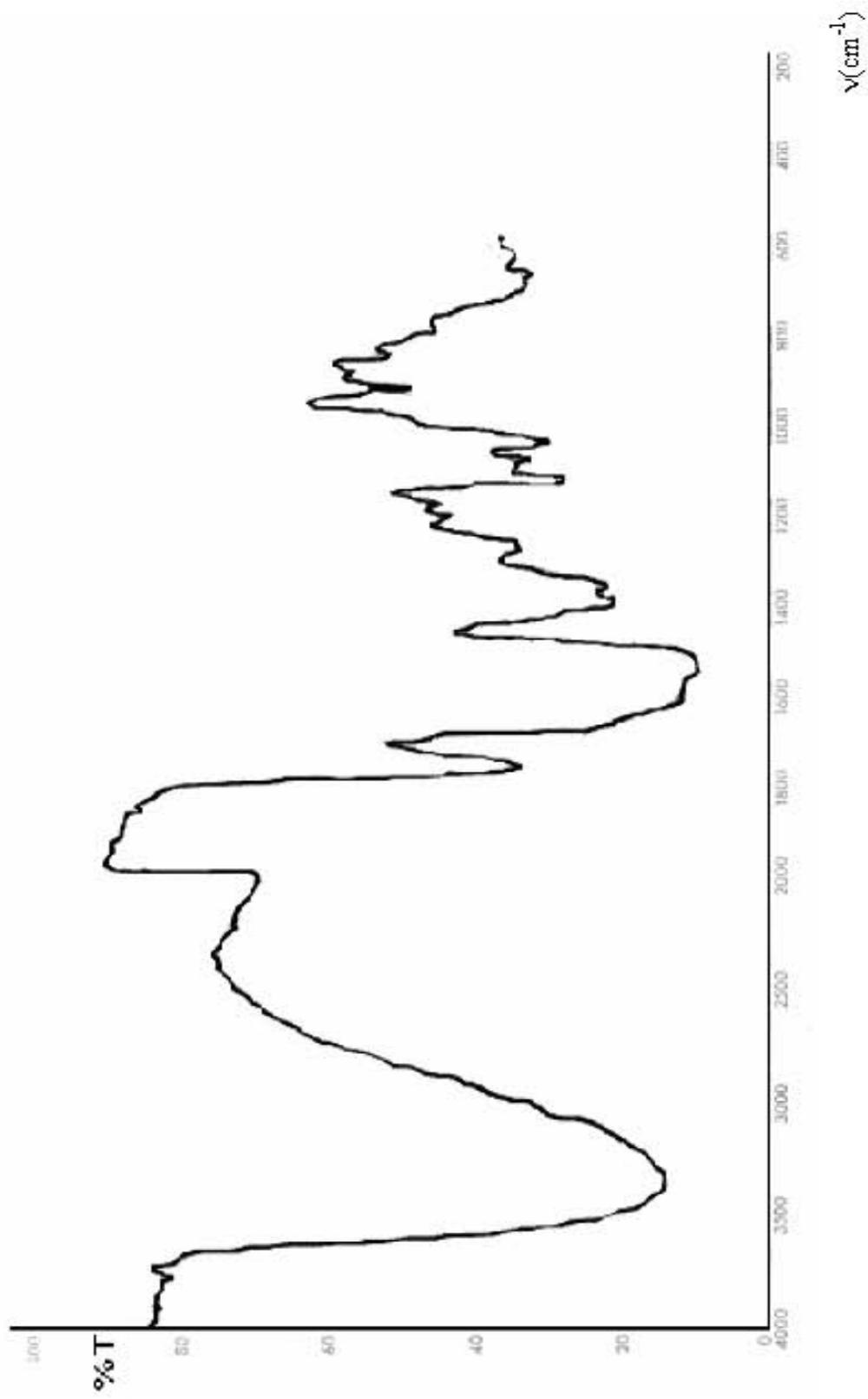
Anexo 5. Espectro infrarrojo de la cefotaxima.



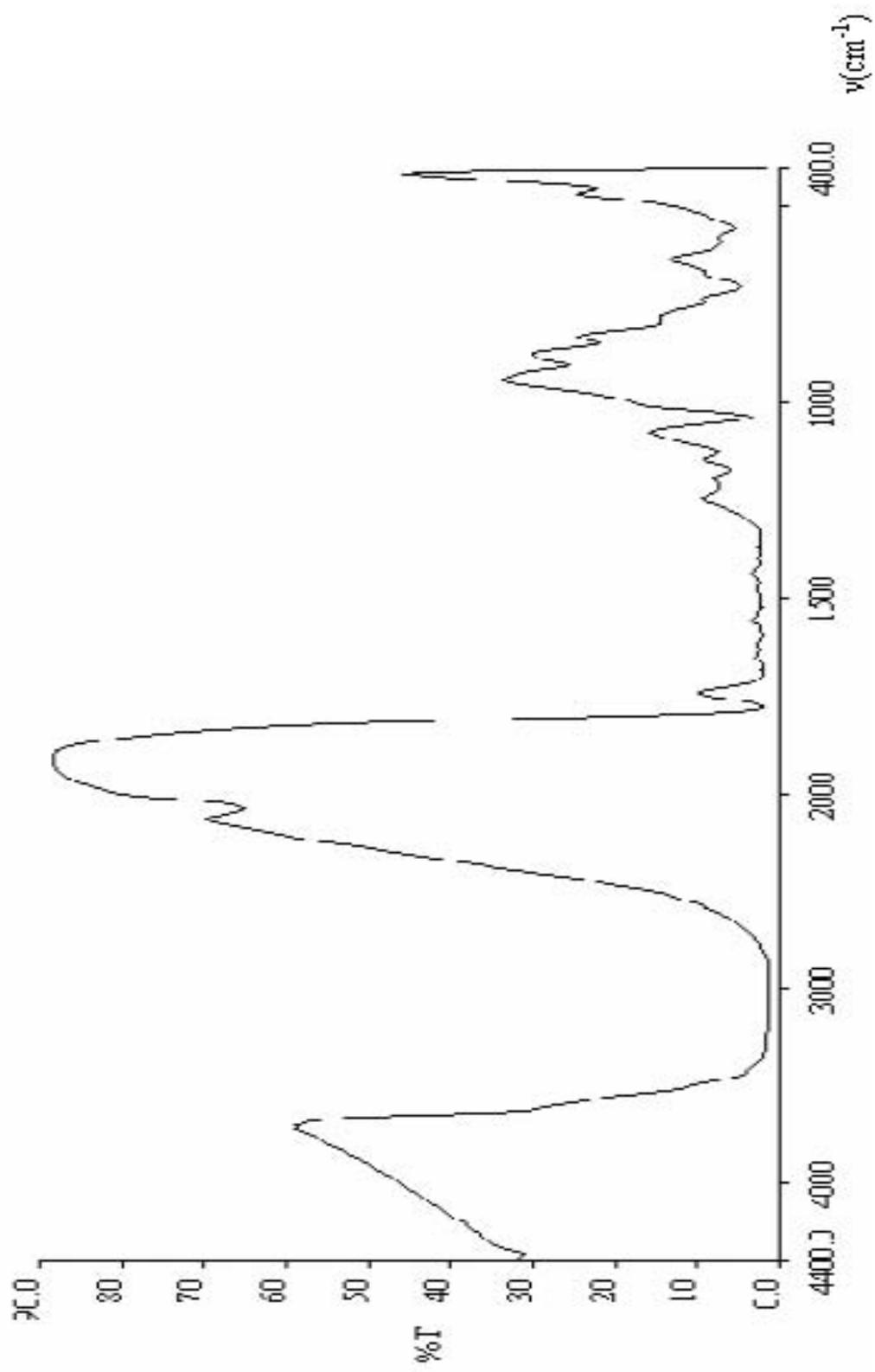
Anexo 6. Espectro infrarrojo del compuesto [Ni(cefotax)(stz)·4H₂O].



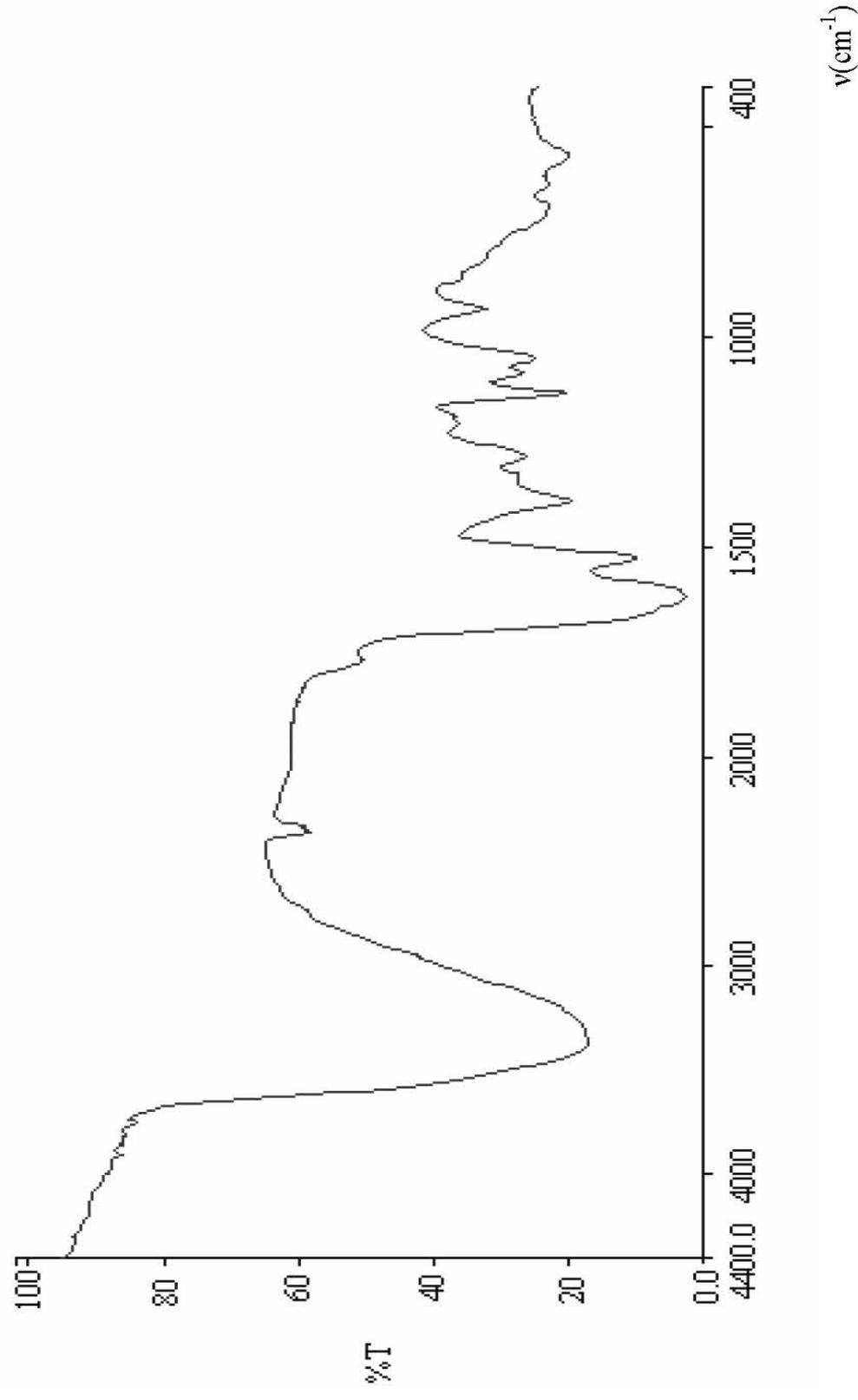
Anexo 7. Espectro infrarrojo de la ceftriaxona.



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



Anexo 9. Espectro infrarrojo de la cefepima.



Anexo 10. Espectro infrarrojo del compuesto [Ni(cefepima)(stz)]Cl·6H₂O.

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 ternarios de níquel(II) haciendo reaccionar separadamente NiCl_2 y sulfatiazol (Hstz) con diferentes cefalosporinas, tales como: cefazolina (Na-cefazol), cefalotina (Na-cefalot), cefotaxima (Na-cefotax), ceftriaxona (Na_2 -ceftria) y cefepima. Para la caracterización de los complejos se aplicaron técnicas espectroscópicas de infrarrojo resonancia paramagnética electrónica y técnicas de análisis elemental, susceptibilidad magnética y conductividad molar. Los resultados obtenidos sugieren posibles estructuras en donde las cefalosporinas actúan como ligando tetradentado monoaniónico (cefazolina), pentadentado dianionico (ceftriaxona) y tridentado monoaniónico (cefalotina, cefotaxima y cefepima). La actividad antibacteriana de los complejos sintetizados fue ensayada frente a cepas certificadas (ATCC) de *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas aeruginosa* donada por el Laboratorio de Bacteriología del Hospital Dr. Julio Rodríguez, utilizando técnicas de difusión en disco y concentración mínima inhibitoria. Los compuestos de cefazolina y cefalotina no presentaron actividad antibacteriana frente a la cepa *Pseudomonas aeruginosa* debido a su resistencia natural o adquirida a este grupo de cefalosporinas. El complejo de níquel(II) con Hstz y cefepima resultó ser más efectivo que la cefepima comercial frente a las cepas utilizadas.

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	
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	
Rita Tenía	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
Erasto Bastardo	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

