



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

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE COMPUESTOS METÁLICOS CON
UNA BASE DE SCHIFF QUE CONTIENEN CEFADROXILO Y
SALICILALDEHÍDO
(Modalidad: Tesis de Grado)

VIRGINIA VICTORIA BARRIOS MILLÁN

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

CUMANÁ, 2011

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE COMPUESTOS METÁLICOS CON
UNA BASE DE SCHIFF QUE CONTIENEN CEFADROXILO Y
SALICILALDEHÍDO

APROBADO POR:

Ph. D. Juan Roberto Anacona
Asesor

Jurado principal

Jurado principal

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
LISTA DE TABLAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
RESUMEN.....	vi
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	8
Síntesis de la base de Schiff y de los complejos metálicos.....	8
Síntesis de la base de Schiff (saliciliden-cefadroxilo, Hsal-cefa).....	8
Síntesis de los compuestos metálicos.....	9
Caracterización de la base Schiff y de los complejos metálicos.....	9
Análisis elemental.....	10
Análisis térmico	10
Medidas de susceptibilidad magnética.....	10
Espectroscopía infrarroja	10
Espectroscopía UV-Visible.....	10
Medidas de conductividad molar	11
Actividad antimicrobiana	11
Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar con discos	11
Preparación de los taxos para la prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar con discos	12

Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar a diferentes concentraciones de los compuestos sintetizados.....	12
Preparación de los taxos para la prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar a diferentes concentraciones de los compuestos sintetizados	13
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
Análisis elemental.....	14
Medidas de susceptibilidad magnética.....	15
Momentos magnéticos	16
Medidas de conductividad molar	18
Espectroscopía infrarroja	18
Espectroscopía ultravioleta – visible (UV- visible)	27
Actividad antimicrobiana.....	31
CONCLUSIONES	42
BIBLIOGRAFÍA	43
HOJA DE METADATOS	46

DEDICATORIA

A

Dios y a la Santísima Virgen del Valle, por darme luz y sabiduría en este largo camino.

Mi abuelo Santiago, quien me guía desde el cielo y estoy segura que en estos momentos está orgulloso de mi.

Mi madre, por su dedicación, comprensión, por su ejemplo de constancia, amor y sacrificio, por soportar el tiempo lejos de ella y ayudarme para que llegara este momento.

Mi padre y a Silvana Montevocchi por su infinito cariño, respaldo y confianza, por apoyarme en todo momento durante mi carrera.

Mis hermanos Gabriela Barrios y Pedro José Barrios, para quienes espero este logro sea un incentivo de fe y voluntad.

Mi hermana y amiga Yaricruz Pineda, por compartir conmigo muchos momentos, tanto alegres como tristes, por tener siempre tendida su mano amiga y darme su amistad desde el día que me conoció y con la que se, podré contar siempre.

Mis amigos Eduardo Higuerey, Fernando Ortiz, Daniela Marpa, Eudys Campos, Sonsiret Malavé, Tulio Corrales, Rafael González, Meyling Mansilla y a mi novio Luis Marco, además de sus respectivos padres, quienes se convirtieron en mi familia adoptiva y me hicieron sentir como en casa cuando lo necesite.

AGRADECIMIENTOS

A

Mi Profesor asesor, Ph D. Juan Roberto Anacona, por su colaboración, paciencia y apoyo, y sobre todo, por esa gran amistad que me brindó y me brinda, por escucharme y aconsejarme siempre.

La Profesora Alina Bravo por su ayuda, por ser una persona con la que puedo contar, por el cariño y los ánimos que me da.

El Profesor Erasto Bastardo, por la colaboración prestada durante el tiempo de elaboración de la tesis.

Los Licenciados del laboratorio de bacteriología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Maylim Mundaray, José Antonio Barreto y Verónica Peinado por la inmensa colaboración prestada.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Análisis elemental de los complejos metálicos sintetizados.....	14
Tabla 2. Medidas de susceptibilidad magnética de los complejos metálicos.	15
Tabla 3. Momentos magnéticos (μ_{ef}) de los complejos metálicos.	16
Tabla 4. Conductividad molar de los complejos metálicos sintetizados.....	18
Tabla 5. Principales bandas IR del cefadroxilo, base Schiff y complejos (cm^{-1}).....	27
Tabla 6. Transiciones electrónicas en los espectros UV- visibles del cefadroxilo y los complejos metálicos (nm).	27
Tabla 7. Tamaño de los halos de inhibición (mm) producidos por las cepas bacterianas frente al cefadroxilo y los compuestos sintetizados en la prueba de susceptibilidad antimicrobiana en agar por difusión con disco.	32
Tabla 8: Tamaño de los halos de inhibición (mm) de las cepas bacterianas frente al cefadroxilo, la base de Schiff y los complejos sintetizados.	36

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura del cefadroxilo.....	5
Figura 2. Formación de la base de Schiff	9
Figura 3. Formación de complejos metálicos	9
Figura 4. Espectro infrarrojo del cefadroxilo.....	20
Figura 5. Espectro infrarrojo de la base de Schiff.....	21
Figura 6. Espectro infrarrojo del complejo [Mn(sal-cefa)Ac].	23
Figura 7. Espectro infrarrojo del complejo [Co(sal-cefa)Ac].	24
Figura 8. Espectro infrarrojo del complejo [Ni(sal-cefa)Ac].	25
Figura 9. Espectro infrarrojo del complejo [Ag(sal-cefa)NO ₃].	26
Figura 10. Espectro infrarrojo del complejo [Zn(sal-cefa)Ac].	26
Figura 11. Espectro electrónico de la base de Schiff.....	28
Figura 12. Espectro electrónico del complejo [Co(sal-cefa)Ac].	29
Figura 14. Espectro electrónico del complejo [Ag (sal-cefa)NO ₃].	31
Figura 15. Tamaño de los halos de inhibición (mm) de la cepa <i>S. aureus</i> frente al Cefadroxilo, la base de Schiff y los compuestos [Ni(sal-cefa)Ac] y [Co(sal-cefa)Ac].	33
Figura 16. Tamaño de los halos de inhibición (mm) de la cepa <i>S. aureus</i> frente a los compuestos [Ag(sal-cefa)NO ₃], [Zn(sal-cefa)Ac] y [Mn(sal-cefa)Ac].	33
Figura 17. Tamaño de los halos de inhibición (mm) de la cepa <i>E. coli</i> frente al Cefadroxilo, la base de Schiff y los compuestos [Ni(sal-cefa)Ac] y [Co(sal-cefa)Ac].	34
Figura 18. Tamaño de los halos de inhibición (mm) de la cepa <i>E. coli</i> frente a los compuestos [Ag(sal-cefa)NO ₃], [Zn(sal-cefa)Ac] y [Mn(sal-cefa)Ac].	34
Figura 19. Tamaño de los halos de inhibición (mm) de la cepa <i>S. aureus</i> frente al cefadroxilo a diferentes concentraciones.	37
Figura 20. Tamaño de los halos de inhibición (mm) la cepa <i>E. coli</i> frente al	

cefadroxilo a diferentes concentraciones.	37
Figura 21. Tamaño de los halos de inhibición (mm) de la la cepa <i>S. aureus</i> frente a la base de Schiff a diferentes concentraciones.....	38
Figura 22. Tamaño de los halos de inhibición (mm) la cepa <i>S. aureus</i> frente al compuesto [Mn(sal-cefa)Ac] a diferentes concentraciones.	39
Figura 23. Tamaño de los halos de inhibición (mm) de la cepa <i>E. coli</i> frente al compuesto [Co(sal-cefa)Ac] a diferentes concentraciones.	39
Figura 24. Tamaño de los halos de inhibición (mm) de la cepa <i>S. aureus</i> frente al compuesto [Ag(sal-cefa)NO ₃] a diferentes concentraciones.....	40
Figura 25. Tamaño de los halos de inhibición (mm) de la cepa <i>K. pneumoniae</i> frente al compuesto [Ag(sal-cefa)NO ₃] a diferentes concentraciones.	40
Figura 26. Tamaño de los halos de inhibición (mm) de la cepa <i>P. aeruginosa</i> del compuesto [Ag(sal-cefa)NO ₃] a diferentes concentraciones.	41

RESUMEN

Se comparó la actividad antibacteriana de complejos base Schiff que contienen cefadroxilo y salicilaldehído con respecto a la actividad del cefadroxilo comercial. Para ello se sintetizó la base de Schiff (saliciliden-cefadroxilo, Hsal-cefa) al hacer reaccionar, en relación molar 1:1, el cefadroxilo comercial con salicilaldehído. Esta base de Schiff fue utilizada para formar complejos metálicos con diversas sales que contenían iones de transición, tales como: Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Ag^{2+} y Zn^{2+} en proporción molar 1:1 metal:base Schiff. La caracterización de los compuestos se realizó utilizando técnicas espectroscópicas (infrarrojo y ultravioleta visible), análisis elemental, susceptibilidad magnética y conductividad molar, que sugieren la formación de los compuestos de coordinación $[M(\text{sal-cefa})Ac].nH_2O$ (donde $M = Mn^{2+}$, Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , $Ac = \text{acetato}$) y $[Ag(\text{sal-cefa})NO_3]$. La actividad antibacteriana de los complejos sintetizados fue ensayada frente a cepas certificadas por la Colección Americana de Cultivos Tipos (ATCC) de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* utilizando pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar con discos y pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar a diferentes concentraciones de los compuestos sintetizados y se observó que todos los complejos presentaron resultados efectivos frente a las cepas *S. epidermidis* y *S. aureus*, donde los halos de inhibición fueron de mayor tamaño que los generados por el cefadroxilo comercial. En el caso de *E. coli*, la actividad de los complejos fue similar a la del cefadroxilo, y para *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* el único compuesto que presentó actividad antimicrobiana fue el $[Ag(\text{sal-cefa})NO_3]$. Se demostró que la actividad antibacteriana de la base de Schiff al estar unida al metal fue mayor que la del cefadroxilo libre comercial frente a las cepas de *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Palabra y/o Frases Claves:

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas han causado la muerte de millones de seres humanos a lo largo de la historia de la humanidad. Con el descubrimiento de los antibióticos, esta realidad comenzó a ser modificada y, en los años ochenta, podía hablarse de una victoria prácticamente total frente a las infecciones por microorganismos. El origen de la palabra antibiótico es griego: *anti* significa contra, y *bios*, vida, y se definen como sustancias naturales o semisintéticas que, a concentraciones bajas, inhiben el crecimiento o provocan la muerte de las bacterias. Científicamente, a todos ellos se les conoce como antibióticos, aunque en realidad lo son únicamente las sustancias producidas de forma natural por algunos microorganismos (1).

Existen muchos antibióticos que han sido desarrollados a niveles en que son valiosos para el tratamiento de enfermedades infecciosas, aún cuando ellos presentan diferencias en sus propiedades físicas, químicas, farmacológicas, espectros antibacterianos y mecanismos de acción (1).

Es un poco difícil definir cuando comienza la historia de los antibióticos. Sin embargo, se puede citar que el uso más antiguo se le atribuye a los chinos, hace más de 2 500 años, quienes acostumbraban a aplicar una cuajada mohosa de soya sobre ciertas infecciones debido a sus beneficios terapéuticos. Muchas culturas antiguas, incluyendo las egipcias y griegas, usaban hongos y ciertas plantas para el tratamiento de infecciones, debido a la producción de sustancias antibióticas (2). Durante los primeros años del siglo XX se hallaron varias sustancias antimicrobianas en cultivos bacterianos y algunas hasta fueron probadas en clínica, pero descartadas porque demostraron poseer una toxicidad elevada. La era moderna de la quimioterapia comenzó con los trabajos del médico alemán Paul Ehrlich, quien pensó que un producto químico con toxicidad

selectiva que matara patógenos, pero no las células humanas podría ser eficaz para tratar las enfermedades infecciosas (1,2).

En 1904, Ehrlich observó que el colorante rojo tripano resultaba activo contra el *Trypanosoma*, que causa la tripanosomiasis africana, también conocida como enfermedad del sueño y que podía ser empleado como terapéutico. Posteriormente, Ehrlich y un joven investigador japonés llamado Sahachiro Hata estudiaron diversos derivados del arsénico y encontraron que el compuesto número 606, la arsenamina resultaba activo contra la espiroqueta de la sífilis. Los experimentos de Ehrlich le permitieron identificar relaciones químicas específicas entre microorganismos patógenos y fármacos, además de dar a conocer nuevos conceptos de desarrollo de la resistencia a fármacos y la terapéutica combinada pero su logro más nombrado fue formular los principios de la toxicidad selectiva, principal característica de un antibiótico. El antibiótico debe cumplir una misión que no siempre es sencilla, ya que tiene que aniquilar a un organismo vivo (bacteria u hongo patógeno) que se aloja dentro de otro organismo vivo (organismo hospedero, en este caso, el ser humano), pero sin dañarlo. La mayoría de los antibióticos están dirigidos a estructuras moleculares presentes en bacterias, pero no en las células humanas (3).

La historia del descubrimiento y desarrollo de la penicilina, el primer antibiótico empleado en terapéutica, es compleja y fascinante. En 1928, Alexander Fleming observó el crecimiento de un hongo contaminante en una placa que había sido dejada abierta al aire por descuido, en las cercanías del hongo las colonias de *Staphylococcus aureus* estaban sufriendo un proceso de lisis. Fleming concluyó, correctamente, que el hongo, luego identificado como una cepa de *Penicillium notatum*, producía una sustancia difusible capaz de matar a los estafilococos. El antibiótico desconocido de Fleming, después se denominó penicilina (4).

Diez años más tarde, un grupo de científicos guiados por Florey y Chain,

reemprendieron el estudio. Los ensayos clínicos efectuados con el material parcialmente purificado fueron exitosos. Por aquella época, en plena guerra en Europa, el compuesto fue llevado a Estados Unidos donde fue desarrollado y producido a gran escala. Una vez finalizada la II Guerra Mundial, las compañías farmacéuticas entraron en la producción de penicilina de forma competitiva y comenzaron a buscar otros antibióticos. Fleming había mostrado la dirección correcta. El descubrimiento de los antimicrobianos y el desarrollo de fármacos más potentes han transformado la medicina moderna y aliviado mucho el sufrimiento humano (1).

El mecanismo de acción de la mayor parte de los antimicrobianos aún no se comprende en su totalidad; sin embargo, pueden clasificarse según produzcan un efecto de inhibición de la síntesis de la pared celular bacteriana, inhibición de la síntesis de proteínas, inhibición del metabolismo bacteriano, inhibición de la actividad o síntesis del ácido nucleico o alteraciones en la permeabilidad de la membrana celular. Con cualquiera de estas acciones o con una combinación de ellas, el microorganismo es incapaz de sobrevivir (5).

Los antibióticos se pueden clasificar, dependiendo de su estructura química, en: betalactámicos, quinolonas, aminoglucósidos, sulfamidas y macrólidos. Los betalactámicos se subdividen en dos grandes grupos que son: las penicilinas y las cefalosporinas. Las penicilinas y cefalosporinas comparten las siguientes características: composición química, mecanismo de acción, efectos farmacológicos y clínicos, y propiedades inmunológicas. Estos medicamentos se conocen como betalactámicos o inhibidores de la síntesis de la pared celular bacteriana (6,7).

Las cefalosporinas son una familia de antibióticos que se aislaron, originalmente, en 1948, a partir del hongo *Cephalosporium* y su estructura betalactámica es muy similar a las penicilinas. Las cefalosporinas presentan analogía

estructural con las penicilinas y por lo tanto, también inhiben la reacción de transpeptidación durante la síntesis de peptidoglicano, principal constituyente de la pared celular. Son fármacos de amplio espectro que a menudo se administran a pacientes alérgicos a la penicilina. Las cefalosporinas tienen masas moleculares de 400 a 450. Son solubles en agua y relativamente estables a los cambios de pH y temperatura, y varían en la resistencia a las betalactamasas. Estos agentes son muy activos contra cocos grampositivos, incluyendo neumococos, estreptococos hemolíticos grupo A y *Staphylococcus aureus* (8).

De acuerdo a las modificaciones estructurales que presentan las cefalosporinas, en comparación con la cefalosporina primitiva, se ha establecido una clasificación basada en generaciones. Se distinguen así cuatro generaciones: las cefalosporinas de primera generación son más eficaces contra patógenos grampositivos, en esta clasificación se encuentra el cefadroxilo, la cefradina, la cefalexina. Las cefalosporinas de segunda generación actúan mejor contra gramnegativos como la cefuroxima-acetil, el cefaclor y el cefprozil. Las cefalosporinas de tercera generación resultan especialmente eficaces contra los patógenos gramnegativos, se puede mencionar entre ellas al cefetamel, la ceficima, el ceftibutén. Las de cuarta generación son utilizadas contra bacilos gramnegativos aerobios como la cefepima y la cefpiroma. Una particularidad determinada por la estructura química de las cefalosporinas de cuarta generación es la de ser una molécula sin carga iónica neta, lo que les permite pasar la membrana exterior de las bacterias gramnegativas hasta 15 veces más rápido que las cefalosporinas de tercera generación con carga iónica negativa. Es necesario añadir, que las cefalosporinas mientras más nueva es su generación, la molécula es más estable a la acción de las betalactamasas, por lo que las cefalosporinas de primera generación son más sensibles a la hidrólisis por las enzimas mencionadas (9).

El cefadroxilo tiene actividad sobre la mayoría de las bacterias grampositivas y

algunos gramnegativos. Es principalmente bactericida; sin embargo, puede ser bacteriostático. Su actividad depende del microorganismo, la penetración en los tejidos, la dosis y la rapidez de multiplicación del microorganismo. El cefadroxilo se absorbe a nivel intestinal en grado variable y puede emplearse para el tratamiento de las infecciones de los aparatos urinario y respiratorio. Este fármaco no penetra al sistema nervioso central y no es un fármaco de primera línea en la terapia contra infecciones. Su estructura se aprecia en la figura 1 (10).

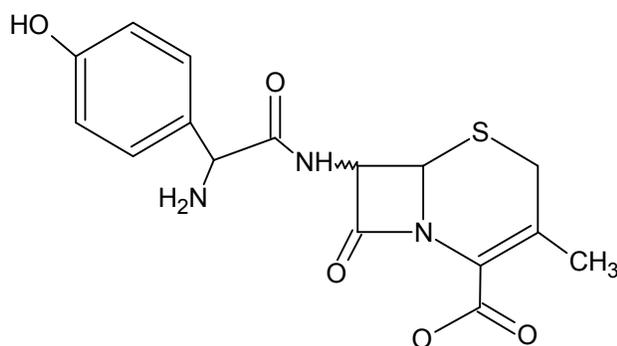


Figura 1. Estructura del cefadroxilo

La interacción entre iones metálicos y antimicrobianos constituye un atractivo campo de estudio. Los iones metálicos pueden ser enlazados al igual como lo hacen las proteínas, enzimas, ácidos nucleicos y otros bioligandos para formar complejos. La formación de un complejo metálico es una manera simple de modificar las propiedades de un antimicrobiano (11). Los antibióticos betalactámicos reaccionan con los iones metálicos y la interacción es por formación de compuestos de coordinación, es decir, por formación de complejos. En general, muchas drogas modifican sus propiedades toxicológicas y farmacológicas cuando están en forma de complejos metálicos. Así, por ejemplo, la adriamicina es un antibiótico de la familia de las antraciclinas que se usa habitualmente en el tratamiento de diversas variedades de cáncer, su mecanismo de acción es complejo y aún no está plenamente esclarecido, aunque se piensa que actúa mediante intercalación en el ADN (ácido desoxirribonucleico), cuando reacciona con ión platino (II) forma un complejo que es

más activo contra ciertos tumores que el fármaco libre, mientras que el complejo de paladio (II), con el mismo fármaco, reduce la actividad antitumoral (11). Otro ejemplo lo constituye el aumento de la resistencia a la cloroquina, droga utilizada para combatir la malaria; existe la necesidad de crear nuevos y efectivos agentes antiparasitarios. Para este propósito, han sido preparados y estudiados complejos de oro y rutenio con cloroquina y clotrimazol y se ha reportado, que algunos de ellos podrían ser muy útiles para vencer la resistencia a la cloroquina (12,13,14).

De manera similar, los efectos terapéuticos de los complejos de oxovanadio de tiourea (15) y de los complejos de titanio y vanadio con polioxotungstanatos substituidos fueron estudiados, recientemente, como antivirales. Los resultados mostraron que estos complejos tienen potente propiedades anti-HIV (virus de inmunodeficiencia adquirida) en células T infectadas (16).

Estudios relacionados, con resultados positivos, han sido observados en complejos metálicos que contienen antibióticos de la familia de las cefalosporinas. Los complejos metálicos de cefalexina, cefazolina, cefepima, entre otros, han mostrado mayor actividad antibacteriana contra algunas cepas, que los mismos antibióticos libres (17-22).

Los complejos metálicos de cefadroxilo han sido poco estudiados. Curiosamente, los dos únicos estudios realizados no consideraron la actividad antibacteriana de los complejos. En el primero de ellos (23), fueron determinadas las constantes de protonación del cefadroxilo y las constantes de formación de los complejos binarios $[M(\text{cefadroxilo})]$ donde M = ión cobre (II) (Cu^{2+}), ión níquel (II) (Ni^{2+}), ión cobalto (II) (Co^{2+}), ión manganeso (II) Mn^{2+} , ión mercurio (II) (Hg^{2+}), ión cadmio (II) (Cd^{2+}), ión calcio (II) (Ca^{2+}) e ión magnesio (II) (Mg^{2+}) con cefadroxilo. La formación de complejos ternarios de $[\text{Cu}(\text{cefadroxilo})(\text{aminoácido})]$ o $[\text{Cu}(\text{cefadroxilo})(\text{DNA})]$, también fue investigada.

Los complejos fueron caracterizados en estado sólido por análisis elemental, espectros infrarrojos y electrónicos, conductividad y medidas de magnetismo. En el segundo estudio, más reciente (24), se analizó la descomposición de los complejos de cefadroxilo $[M(\text{cefadroxilo})]_n \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($M = \text{Cu}^{2+}, \text{Ni}^{2+}, \text{Co}^{2+}, \text{Zn}^{2+}$ y Cd^{2+}) con la temperatura. El análisis térmico fue realizado con un equipo termogravimétrico y se pudo apreciar la formación de óxido de níquel (II) (NiO), óxido de cobre (II) (CuO), óxido de zinc (II) (ZnO) y óxido de cadmio (II) (CdO) como productos finales de los complejos de cefadroxilo. Se observaron también productos de descomposición gaseosa: ácido cianhídrico (HCN), dióxido de carbono (CO_2), amoníaco (NH_3), monóxido de carbono (CO), dióxido de azufre (SO_2), ácido isociánico (HNCO), hidrocarburos y compuestos con grupos carbonilos provenientes de la descomposición del anillo lactámico.

En vista de estos resultados, se realizó el estudio de cefalosporinas modificadas, mediante la formación de bases de Schiff, en este caso de cefadroxilo. La formación de iminas o bases de Schiff ($\text{R}_1\text{R}_2\text{C}=\text{N}-\text{R}$) es uno de los mecanismos utilizados por las enzimas para catalizar reacciones entre moléculas orgánicas.

La reacción entre el cefadroxilo con salicilaldehído para formar la base Schiff saliciliden-cefadroxilo ($\text{cefa-NH}_2 + \text{salicil-C}=\text{O} \rightarrow \text{salicil-C}=\text{N-cefa} + \text{H}_2\text{O}$), se realizó con diferentes iones metálicos y así se conoció su posible estructura y se estudió por primera vez, la capacidad bactericida de un derivado del cefadroxilo frente a algunos agentes patógenos. El presente estudio constituye una continuación de la línea de investigación que se está realizando en el Departamento de Química, Universidad de Oriente con cefalosporinas y sus derivados.

METODOLOGÍA

Síntesis de la base de Schiff y de los complejos metálicos

Para la síntesis de la base de Schiff y de los cinco complejos metálicos se empleó una cefalosporina de primera generación, como lo es el cefadroxilo comercial, además de salicilaldehído y distintas sales metálicas: acetato de níquel (II) tetrahidratado ($\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), acetato de cobalto (II) tetrahidratado ($\text{Co}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), acetato de zinc (II) monohidratado ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), acetato de manganeso (II) monohidratado ($\text{Mn}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) y nitrato de plata (AgNO_3). La reacción de la base de Schiff con las sales se realizó a diferentes relaciones estequiométricas, temperatura, pH y tiempos de reacción, para conseguir las condiciones óptimas en la síntesis de los complejos (21,22).

Síntesis de la base de Schiff (saliciliden-cefadroxilo, Hsal-cefa)

Se pesó 1 mmol de cefadroxilo comercial, fue lavado con agua destilada y éter, filtrado y puesto a secar a temperatura ambiente. Una vez seco, se disolvió en etanol y se mezcló con 1 mmol de salicilaldehído. La reacción se mantuvo en agitación hasta obtener un precipitado amarillo de la base de Schiff (figura 2), la cual fue lavada con agua y metanol, posteriormente secada al vacío (21, 22).

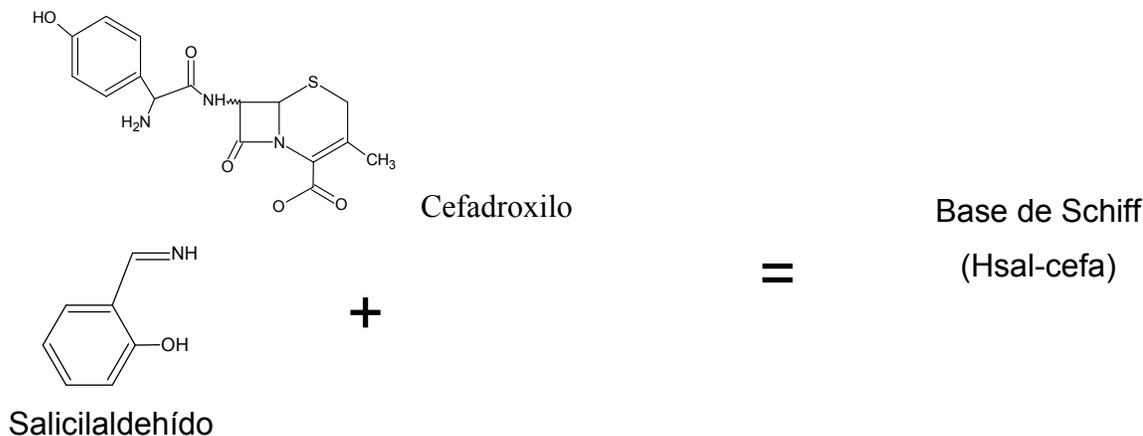


Figura 2. Formación de la base de Schiff

Síntesis de los compuestos metálicos

Se prepararon compuestos de cobalto, plata, níquel, zinc y manganeso, utilizando la base de Schiff que contiene salicilaldehído y cefadroxilo comercial para sintetizar los complejos metálicos (figura 3). Para ello, se pesó 1 mmol de cada una de las sales: acetato de níquel (II) tetrahidratado ($\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), acetato de cobalto (II) tetrahidratado ($\text{Co}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), acetato de zinc (II) monohidratado ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), acetato de manganeso (II) monohidratado ($\text{Mn}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) y nitrato de plata (AgNO_3) y se disolvió en 5 ml de agua destilada. Cada una de las soluciones se mezcló, por separado, con 1 mmol de base de Schiff, con agitación en un vaso de precipitado de 50 ml, por un tiempo de 20 minutos, necesarios para observar la aparición de un precipitado. Los precipitados se filtraron y se lavaron, sucesivamente, con agua, metanol y éter etílico para eliminar impurezas presentes. Finalmente, se secaron a temperatura ambiente y se depositaron en viales estériles (23, 24).

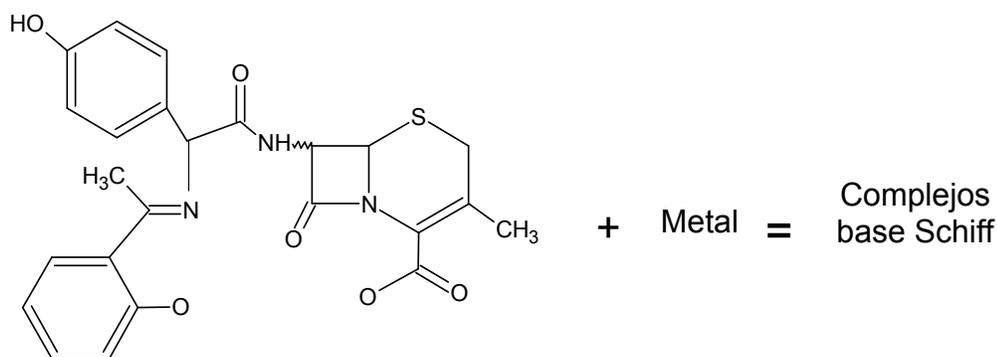


Figura 3. Formación de complejos metálicos

Caracterización de la base Schiff y de los complejos metálicos

Se caracterizaron las estructuras químicas de los diferentes compuestos sintetizados empleando técnicas específicas, entre las que cuentan:

Análisis elemental

A partir de los compuestos sintetizados se midió el porcentaje de carbono (C), azufre (S), hidrógeno (H) y nitrógeno (N), se determinó utilizando un analizador elemental marca LECO, modelo CHNS 932 (25).

Análisis térmico

Para apreciar el contenido de metal se pesaron muestras sólidas de los compuestos preparados y calcinados alrededor de 1 100°C, en presencia de oxígeno atmosférico, en un horno marca Thelco modelo 17. La variación del peso de las muestras permite expresar los resultados en función de los óxidos del tipo MO formados (25).

Medidas de susceptibilidad magnética

Se midió la susceptibilidad magnética de los compuestos mediante el empleo de una balanza de susceptibilidad magnética marca Johnson Matthey. Las medidas se realizaron a temperatura ambiente con muestras pulverizadas de los complejos y, a partir de las medidas reportadas, se calculó el momento magnético de los metales (25).

Espectroscopía infrarroja

Se evaluó la presencia de grupos funcionales y se determinaron los sitios de unión del antibiótico al metal, empleando la técnica de espectroscopía infrarroja, la cual se realizó en pastillas de bromuro de potasio, en un espectrofotómetro Perkin Elmer, Modelo Spectrum 2000, con transformada de Fourier (26).

Espectroscopía UV-Visible

Se prepararon soluciones de cada uno de los complejos sintetizados en dimetilsulfóxido (DMSO) a una concentración de 1×10^{-3} mol/l y se midieron las absorbancias en un espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo Lambda 11, en el

Laboratorio 331 del Departamento de Química de la UDO (27).

Medidas de conductividad molar

Se prepararon soluciones de 1×10^{-3} mol/l del cefadroxilo, la base de Schiff y de cada uno de los metales, utilizando DMSO como solvente y usando un conductímetro Corning modelo 441 en el Laboratorio de Fisicoquímica 408 de la UDO, donde se realizaron las medidas de conductancia eléctrica (27).

Actividad antimicrobiana

Una vez caracterizados los complejos metálicos, se evaluó la acción antibacteriana de dichos complejos a través de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar con discos y pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar a diferentes concentraciones de los compuestos sintetizados, empleando las siguientes cepas bacterianas pertenecientes a la Colección Americana de Cultivos Tipos (ATCC): *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27353, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.

Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar con discos

La prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar con discos se realizó por el método descrito por Bauer y col. (28), para ello, se emplearon cultivos jóvenes de 24 horas de crecimiento de cada cepa bacteriana, a partir de los cuales se preparó un inóculo en 5 ml de solución salina fisiológica (SSF) estéril, hasta que se alcanzó la turbidez correspondiente al patrón Mc Farland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ microorganismos viables por ml). Posteriormente, se procedió a impregnar un hisopo estéril en cada suspensión y se rotó varias veces, ejerciendo una ligera presión sobre las paredes internas del tubo, eliminando el exceso de líquido. Se sembró sobre la superficie del agar Mueller Hinton, contenido en una placa de Petri, pasando el hisopo sobre la superficie del medio en tres direcciones perpendiculares. Cada placa

se colocó en una incubadora a 37°C, durante 10 minutos, para que la superficie del agar se secase antes de colocar los discos. Una vez secas, se colocaron los discos sobre la superficie del agar de cada cultivo de las diferentes cepas, con la ayuda de una pinza estéril (28).

Las placas se incubaron a 37°C, por 24 horas, en ambiente de aerobiosis, al transcurrir este período de tiempo, se evaluó la actividad antibacteriana con la aparición de halos de inhibición alrededor del disco. La lectura de los halos de inhibición se realizó utilizando una regla graduada y los valores se expresaron en milímetros. Estos ensayos se efectuaron por triplicado y los resultados se reportaron como valores promedios, con los cuales se pudo establecer la comparación entre la capacidad bactericida del cefadroxilo comercial, de la base Schiff y la de los complejos metálicos frente a los mismos microorganismos (28).

Preparación de los taxos para la prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar con discos

Se prepararon taxos en discos de papel Whatman N°3 de 5 mm de diámetro que contenían 400 µg de cada complejo por disco. Para obtener esta cantidad se preparó una solución de 40 µg/µl de cada complejo, de la base Schiff y del cefadroxilo, para lo cual se pesaron 20 µg de los sólidos y se disolvieron en 500 µl de DMSO. Se impregnaron con 10 µl de las suspensiones.

Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar a diferentes concentraciones de los compuestos sintetizados

La prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar a diferentes concentraciones se realizó por el método descrito por Bauer y col. (28), para ello, se emplearon cultivos jóvenes de 24 horas de crecimiento de cada cepa bacteriana, a partir de los cuales se preparó un inóculo en 5 ml de solución salina fisiológica (SSF) estéril, hasta que se alcanzó la turbidez correspondiente al patrón Mc Farland 0,5

($1,5 \times 10^8$ microorganismos viables por ml). Posteriormente, se procedió a impregnar un hisopo estéril en cada suspensión y se rotó varias veces, ejerciendo una ligera presión sobre las paredes internas del tubo, eliminando el exceso de líquido. Se sembró sobre la superficie del agar Mueller Hinton, contenido en una placa de Petri, pasando el hisopo sobre la superficie del medio en tres direcciones perpendiculares. Cada placa se colocó en una incubadora a 37°C , durante 10 minutos, para que la superficie del agar se secase antes de colocar los discos. Una vez secas, se colocaron los discos sobre la superficie del agar de cada cultivo de las diferentes cepas, con la ayuda de una pinza estéril (28).

La presencia de actividad antibacteriana del cefadroxilo y de los compuestos se detectó por la aparición de halos de inhibición alrededor del disco. Estos ensayos se realizaron por triplicado y la lectura de los diámetros se realizó utilizando una regla graduada reportando los valores en milímetros (28).

Preparación de los taxos para la prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar a diferentes concentraciones de los compuestos sintetizados

Los discos de papel Whatman N°3 de 5 mm de diámetro fueron impregnados con 10 μl de cefadroxilo y de cada uno de los complejos sintetizados en suspensiones de concentración 40, 20, 10, 5 y 2,5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ para así obtener las cantidades depositadas de 400, 200, 100, 50 y 25 $\mu\text{g}/\text{disco}$, respectivamente. Para obtener estas cantidades por disco se procedió de la siguiente manera, se preparó una solución madre de 40 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de cefadroxilo y de cada uno de los complejos, para lo cual se pesaron 20 μg de los sólidos y se disolvieron en 500 μl de DMSO. A partir de esta solución madre, se tomaron 250 μl que se mezclaron con 250 μl de DMSO para obtener una solución 2, de concentración 20 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. De esta solución, se tomaron 250 μl que se mezclaron con 250 μl de DMSO para obtener la solución 3, de concentración 10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, y así sucesivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis elemental

Los resultados del análisis elemental de los complejos sintetizados (tabla 1) muestran que el cefadroxilo y el salicilaldehído reaccionaron en relación molar 1:1 y que los iones metálicos formaron complejos con la base de Schiff en una relación estequiométrica molar 1:1. La buena correspondencia entre los valores calculados (entre paréntesis) y los valores experimentales permiten sugerir la presencia de iones acetatos en los complejos metálicos de manganeso, cobalto, níquel y zinc y la presencia del ión nitrato en el complejo de plata.

Tabla 1. Análisis elemental de los complejos metálicos sintetizados.

Compuestos	%C	%H	%N	%Metal
Base de Schiff	50,75 (50,93)	4,38 (4,75)	7,48 (7,13)	---
[Mn(sal-cefa)Ac]	48,66 (48,31)	4,28 (4,54)	7,35 (6,76)	11,32 (9,48)
[Co(sal-cefa)Ac]	49,15 (49,58)	4,28 (4,63)	7,06 (6,94)	11,70 (9,75)
[Ni(sal-cefa)Ac]	49,27 (49,58)	4,35 (4,63)	6,80 (6,94)	12,05 (9,75)
[Ag(sal-cefa)NO ₃]	38,68 (38,58)	3,40 (3,63)	5,13 (5,42)	26,80 (27,42)
[Zn(sal-cefa)Ac]	47,28 (47,82)	4,20 (4,49)	6,54 (6,69)	10,20 (10,41)

%C: porcentaje de Carbono; %H: porcentaje de Hidrógeno; %N: porcentaje de Nitrógeno; %M: porcentaje del Metal, Ac:acetato.

Medidas de susceptibilidad magnética

En la tabla 2 se aprecian, para cada uno de los complejos sintetizados, los valores de susceptibilidad magnética del capilar con la muestra, la susceptibilidad magnética del capilar sin la muestra, la longitud del capilar, la susceptibilidad magnética molar, la susceptibilidad magnética molar corregida y la diferencia entre el peso del capilar vacío con el capilar con muestra. Las medidas de susceptibilidad magnética permiten calcular los momentos magnéticos.

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

Complejos	R ₀	R	L (cm)	Δm (g)	X _M	X _M ^{Corr}
[Mn(sal-cefa)Ac]	-58	739	1,7	0,0129	63 123x10 ⁻⁶	63 441x10 ⁻⁶
[Co(sal-cefa)Ac]	-57	287	1,5	0,0561	5 564x10 ⁻⁶	5 882x10 ⁻⁶
[Ni(sal-cefa)Ac]	-61	397	1,8	0,0563	8 859x10 ⁻⁶	9 176x10 ⁻⁶
[Ag(sal-cefa)NO ₃]	-57	96	1,5	0,0314	4 748x10 ⁻⁶	5 066x10 ⁻⁶
[Zn(sal-cefa)Ac]	-56	-49	1,6	0,0261	262x10 ⁻⁶	579x10 ⁻⁶

R₀: susceptibilidad magnética del capilar sin la muestra, R: susceptibilidad magnética del capilar con la muestra, L: longitud del capilar, Δm: diferencia entre el peso del capilar vacío y el peso del capilar con muestra, X_M: susceptibilidad magnética molar, X_M^{Corr}: susceptibilidad magnética molar corregida.

Experimentalmente, la susceptibilidad molar X_M se obtuvo resolviendo la ecuación siguiente:

$$X_M = \frac{CL(R - R_0)}{10^3 m}$$

C = constante de calibración de la balanza

L = altura de la muestra en el tubo (cm)

R = susceptibilidad de la muestra

R₀ = susceptibilidad del tubo vacío

m = masa de la muestra

Como en una molécula, todos los átomos tienen una susceptibilidad diamagnética X_D , cualquier cálculo de la susceptibilidad magnética molar de un compuesto paramagnético contiene contribuciones paramagnéticas y diamagnéticas, fue por lo tanto necesario, corregir las medidas de susceptibilidad magnética molar utilizando las constantes diamagnéticas de Pascal (29,30). La susceptibilidad magnética molar corregida, X_M^{Corr} , es necesaria para calcular los momentos magnéticos.

Momentos magnéticos

Los momentos magnéticos fueron calculados a partir de las medidas de susceptibilidad magnética y se muestran en la tabla 3. El momento magnético calculado (μ_{ef}) es una medida de considerable interés para la caracterización de los complejos preparados. Conociendo este valor, se puede saber, según sea el caso, el estado de oxidación del metal, el número de electrones desapareados que presenta el metal y posible geometría molecular (31).

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

Complejos	μ_{ef} calculados	μ_{ef} teóricos	Electrones desapareados	μ_{ef} observados OH
[Mn(sal-cefa)Ac]	6,34	5,91	5	5,9 – 6,1
[Co(sal-cefa)Ac]	3,76	3,87	3	4,3 – 5,2
[Ni(sal-cefa)Ac]	4,69	2,83	2	2,9 – 3,9
[Ag(sal-cefa)NO ₃]	3,49	1,73	1	1,8 – 2,2
[Zn(sal-cefa)Ac]	0,0	0,0	0	0,0

μ_{ef} : Momentos magnéticos.

Para una sustancia constituida por centros paramagnéticos, que no se influyen recíprocamente (como en los compuestos de coordinación en que los ligandos aíslan los iones del metal entre sí), la susceptibilidad magnética molar corregida sigue la ley

de Curie y el momento magnético efectivo, μ_{ef} (en magnetones de Bohr), puede ser calculado a partir de la siguiente expresión:

$$\mu_{ef} = (3k X_M^{Corr} T \beta^2 / N)^{1/2}$$

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

Donde:

Constante $2,84 = (3k \beta^2 / N)^{1/2}$ donde, k es la constante de Boltzmann, β es el magnetón de Bohr, N es el número de Avogadro, T es la temperatura absoluta y X_M^{Corr} es la susceptibilidad magnética molar corregida.

En la tabla 3 también se aprecian los valores calculados del momento magnético teórico, considerando solo la contribución de espín:

$\mu_{ef} \text{ (teórico)} = \sqrt{n(n+2)}$, donde n , es el número de electrones desapareados que posee el ión metálico. Se asume que no hay contribución del momento magnético orbital (31).

La buena correspondencia entre los momentos magnéticos calculados y los momentos magnéticos teóricos reflejan que los complejos que contienen Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Ag^{2+} y Zn^{2+} presentan 5, 3, 2, 1 y 0 electrón(es) desapareado(s), respectivamente. Para los complejos que contienen Mn^{2+} , Co^{2+} y Ni^{2+} , sólo la configuración de espín alto es posible, actuando entonces el ligando con un campo ligando débil. El momento magnético observado en el complejo de plata sugiere la formación del ion Ag^{2+} , a través de algún proceso de oxidación. El complejo de Zn^{2+} no presenta momento magnético, puesto que no presenta electrones desapareados. Los momentos magnéticos calculados se corresponden con los rangos de los momentos magnéticos observados en campos de simetría octaédrica, lo que sugiere la presencia de esta estructura en los complejos sintetizados (31).

Medidas de conductividad molar

Los valores de conductividad molar reflejan que los compuestos sintetizados conducen la corriente eléctrica cuando están en solución y se comportan como electrolitos 1:1, atendiendo a los valores de la conductividad eléctrica descritos en las tablas propuestas por Geary (31), utilizando el DMSO como solvente. La existencia de iones dissociables en solución confirma la presencia de iones acetato en la estructura de los complejos que contienen Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} y Zn^{2+} , y la presencia del ión nitrato en la estructura del complejo que contiene Ag^{2+} . Ambos iones son desplazados por el solvente desde la esfera de coordinación (31).

En la tabla 4 se muestran los valores de conductividad eléctrica en solución de DMSO para los distintos complejos sintetizados.

Tabla 4. Conductividad molar de los complejos metálicos sintetizados.

Compuestos	$\Lambda_m(S.cm^2/mol)^{-1}$	Tipo de electrolito
Base de Schiff	51,5	Conductor
[Mn(sal-cefa)Ac]	46,1	Conductor
[Co(sal-cefa)Ac]	46,5	Conductor
[Ni(sal-cefa)Ac]	44,8	Conductor
[Ag(sal-cefa)NO ₃]	66,2	Conductor
[Zn(sal-cefa)Ac]	44,4	Conductor

Λ_m : conductividad molar; S: Siemens (ohm^{-1}).

Espectroscopía infrarroja

La espectroscopía infrarroja (IR) tiene su aplicación más inmediata en la detección de los grupos químicos característicos presentes en las moléculas. Cada molécula presenta un espectro IR característico, debido a que todas las moléculas (excepto las especies diatómicas homonucleares) tienen modos vibracionales que, al activarse, provocan la absorción de una determinada longitud de onda en la zona del

espectro electromagnético correspondiente al IR. De esta forma, las frecuencias vibracionales de un grupo C=O u O-H son muy diferentes a las de un grupo C=N, COO o CH₂-S-CH₂. Así, analizando cuales son las longitudes de onda que absorbe una sustancia en el IR, se puede obtener información acerca de los grupos funcionales que componen dicha sustancia (31).

En la figura 4 se presenta el espectro IR del cefadroxilo libre. Se observan dos zonas características, una de 3 000 a 3 500 cm⁻¹ y otra de 1 400 a 1 800 cm⁻¹ donde se encuentran las vibraciones de los grupos O-H, N-H y la de los grupos carbonilo (C=O) y carboxilato (COO⁻) respectivamente. Así, se tiene una banda de absorción a una frecuencia de 1 760 cm⁻¹, correspondiente a la vibración stretching del grupo carbonilo C=O lactámico, una banda a 1 690 cm⁻¹ atribuible al grupo C=O presente en el grupo amida. La banda del grupo C=O lactámico que aparece a 1 760 cm⁻¹ en el espectro del cefadroxilo, también aparece, desplazada, en los espectros del ligando base de Schiff y en los espectros IR de los complejos metálicos. Se evidencia, además, una serie de bandas que se observan en el IR del cefadroxilo entre 3 000 y 3 400 cm⁻¹, debida a los stretching de los grupos N-H y NH₂ y que no están presentes en la base de Schiff ni en los complejos metálicos. Siempre se aprecia una banda a 3 450 cm⁻¹ atribuible al stretching O-H proveniente del grupo hidroxilo presente en el cefadroxilo.

En la figura 5 se muestra el espectro IR del ligando base de Schiff sintetizado, donde se observa la desaparición de las bandas atribuidas al grupo NH₂ y la aparición de una banda de absorción a la frecuencia de 3 200 cm⁻¹, correspondiente a la vibración stretching del grupo NH. Además, presenta una banda a una frecuencia de 1 780 cm⁻¹, correspondiente al stretching del grupo C=O lactámico, una banda a 1 690 cm⁻¹ perteneciente al grupo C=O amida, y la banda característica a 1 630 cm⁻¹ debida al enlace C=N imino de la base de Schiff.

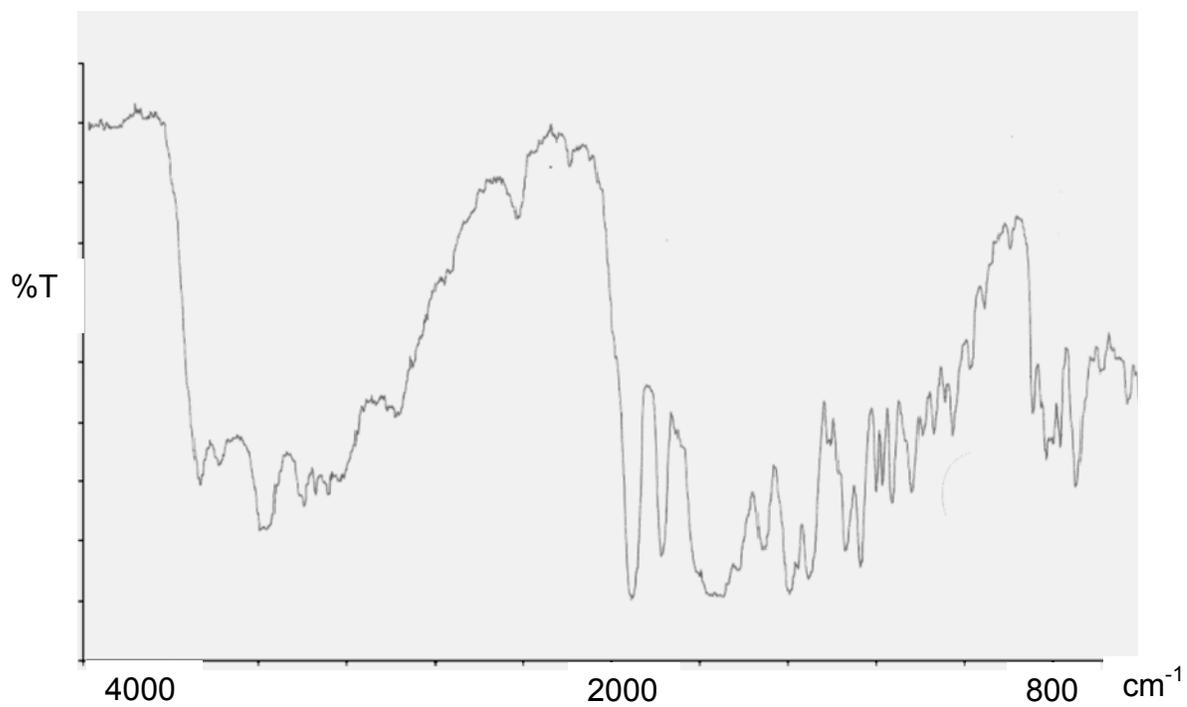


Figura 4. Espectro infrarrojo del cefadroxilo.

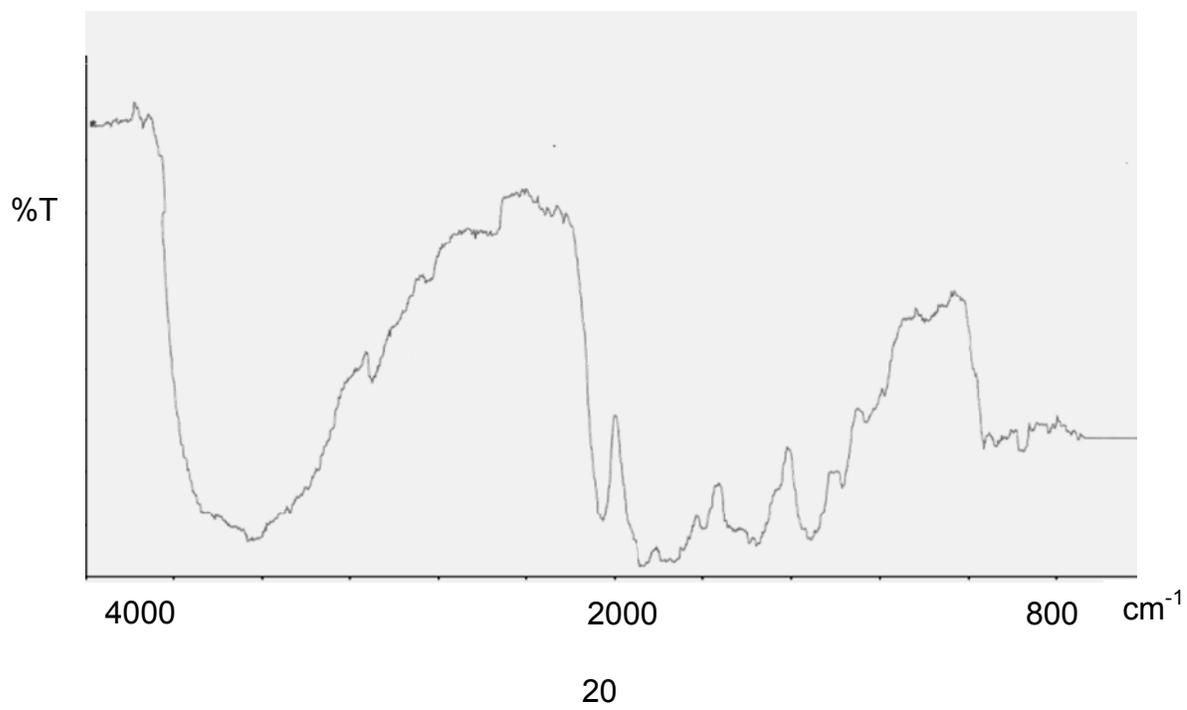


Figura 5. Espectro infrarrojo de la base de Schiff.

Los espectros de los complejos metálicos presentan una gran cantidad de bandas de absorción similares a las del ligando base de Schiff, debido a los diferentes modos vibracionales activos en el infrarrojo y de los diversos grupos funcionales presentes en el ligando; además, se observan levemente desplazadas hacia la zona de bajas frecuencias. La coordinación del ligando al metal, hace que disminuya la constante de fuerza del enlace C=N y, por lo tanto, se produce el corrimiento esperado para la vibración $\nu(\text{C}=\text{N})$, al pasar del ligando libre al complejo.

Un resumen de las principales bandas observadas en el IR del antibiótico cefadroxilo, la base de Schiff y sus complejos se pueden preciar en la tabla 5. Los espectros IR de los ligandos y sus complejos se muestran desde la figura 6 hasta la figura 10. Los valores de la tabla indicados permiten sugerir enlaces monodentados del grupo COO^- en todos los complejos, ya que los espectros de los complejos metálicos señalan que la separación $\Delta\nu$ (νCOO^- asimétrico – νCOO^- simétrico) del grupo COO^- es mayor de 200 cm^{-1} (26). La base de Schiff se comporta como un ligando monoaniónico pentadentado.

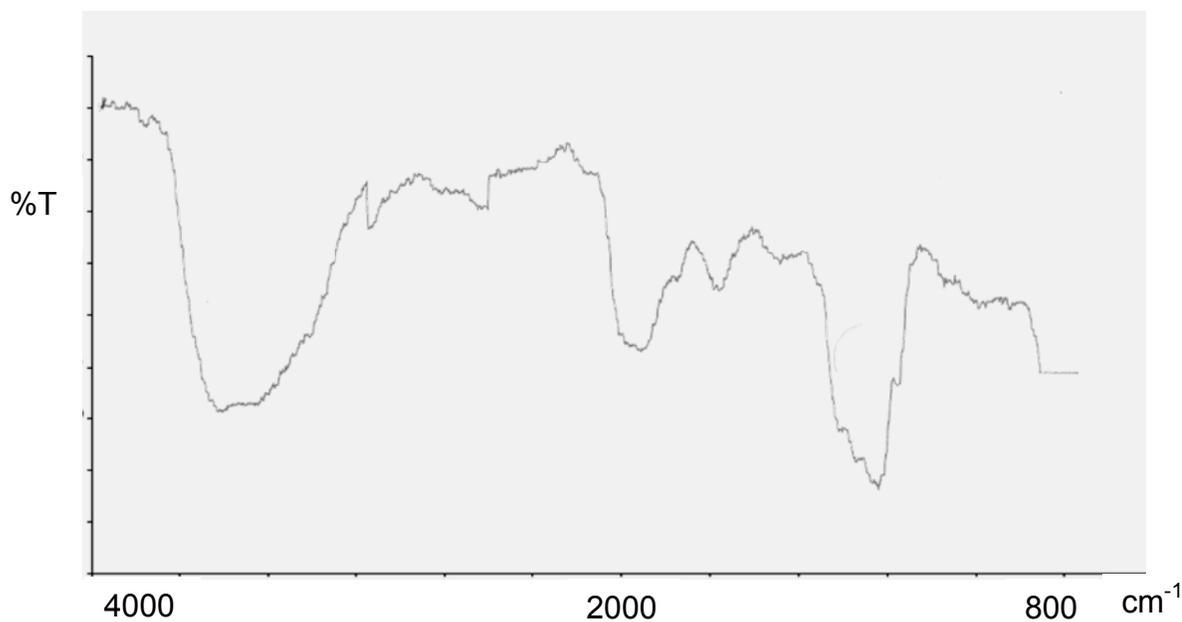


Figura 6. Espectro infrarrojo del complejo [Mn(sal-cefa)Ac].

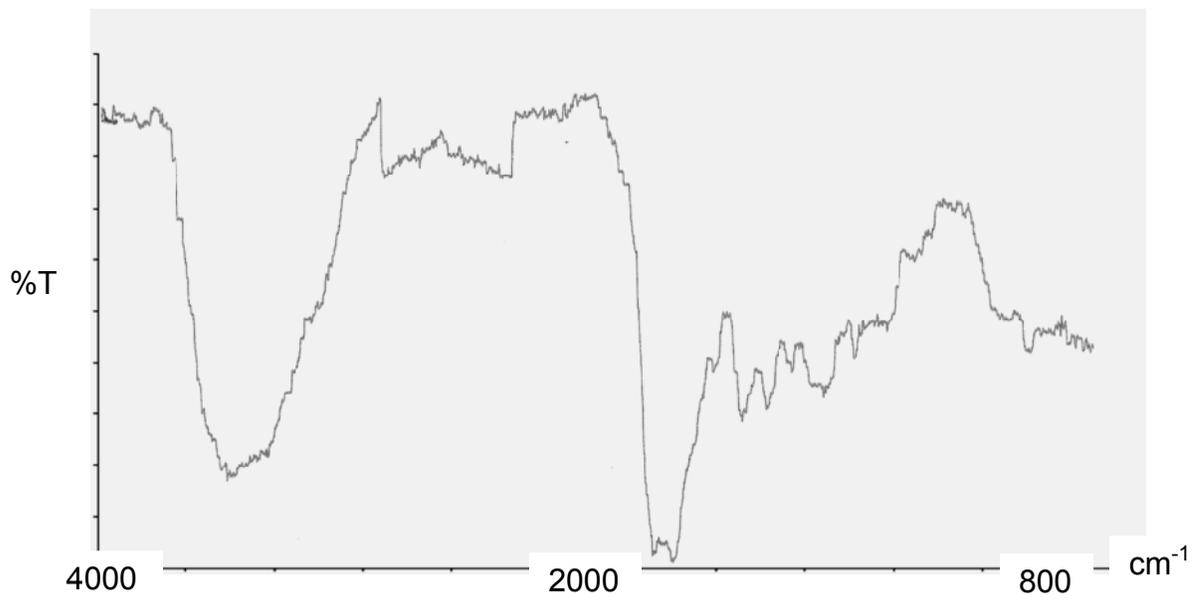


Figura 7. Espectro infrarrojo del complejo [Co(sal-cefa)Ac].

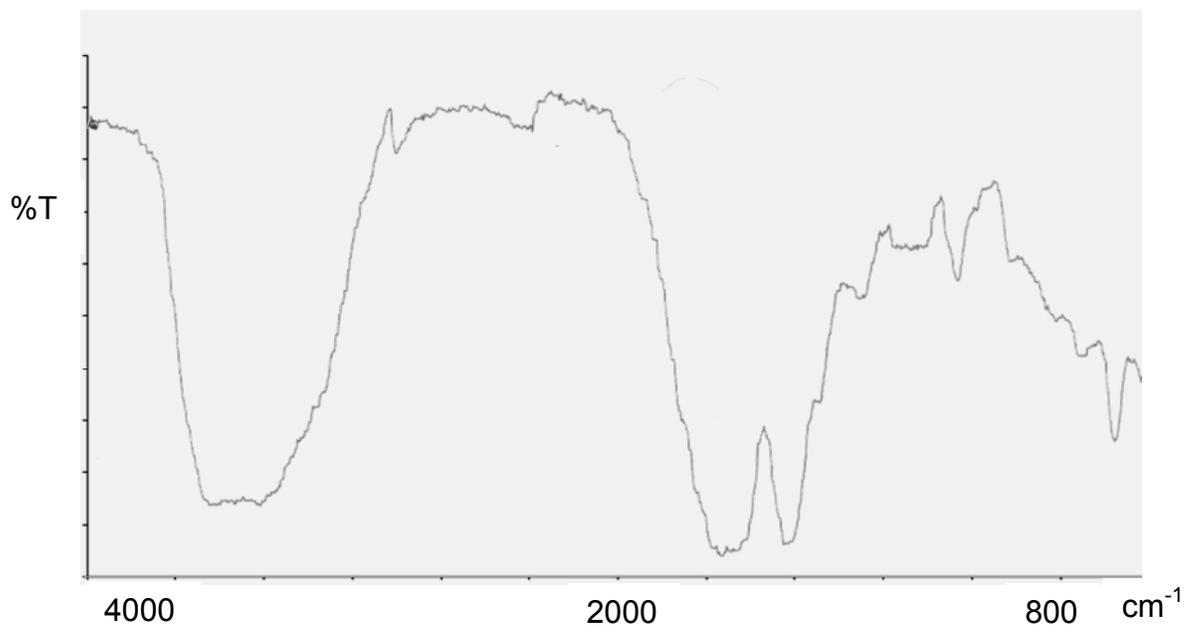


Figura 8. Espectro infrarrojo del complejo [Ni(sal-cefa)Ac].

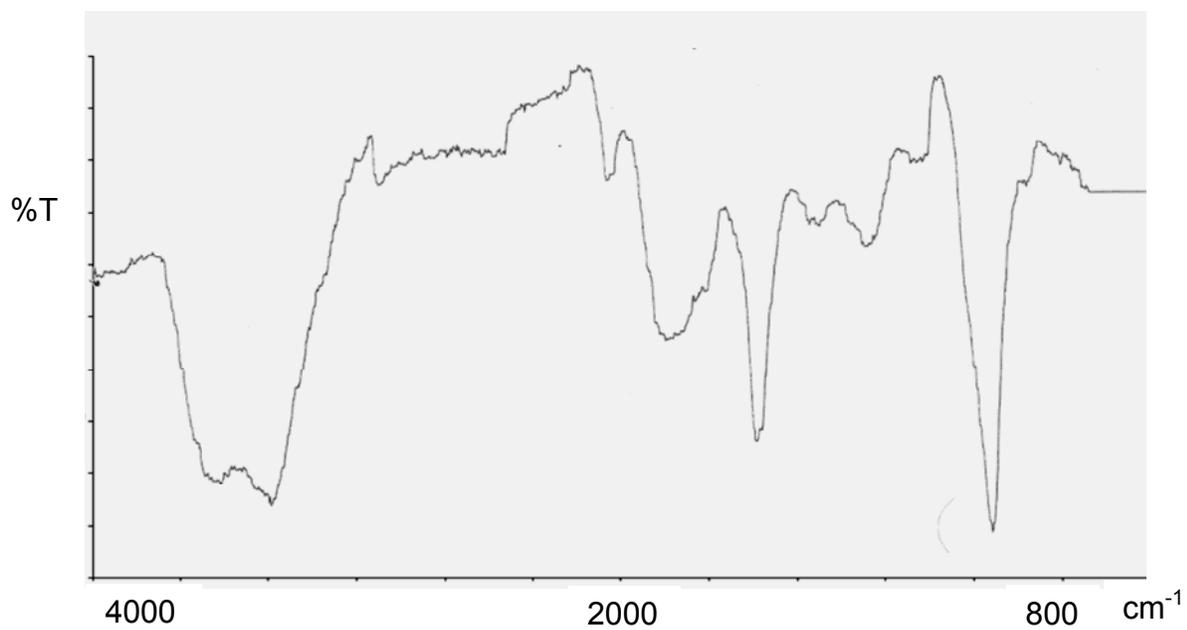


Figura 9. Espectro infrarrojo del complejo [Ag(sal-cefa)NO₃].

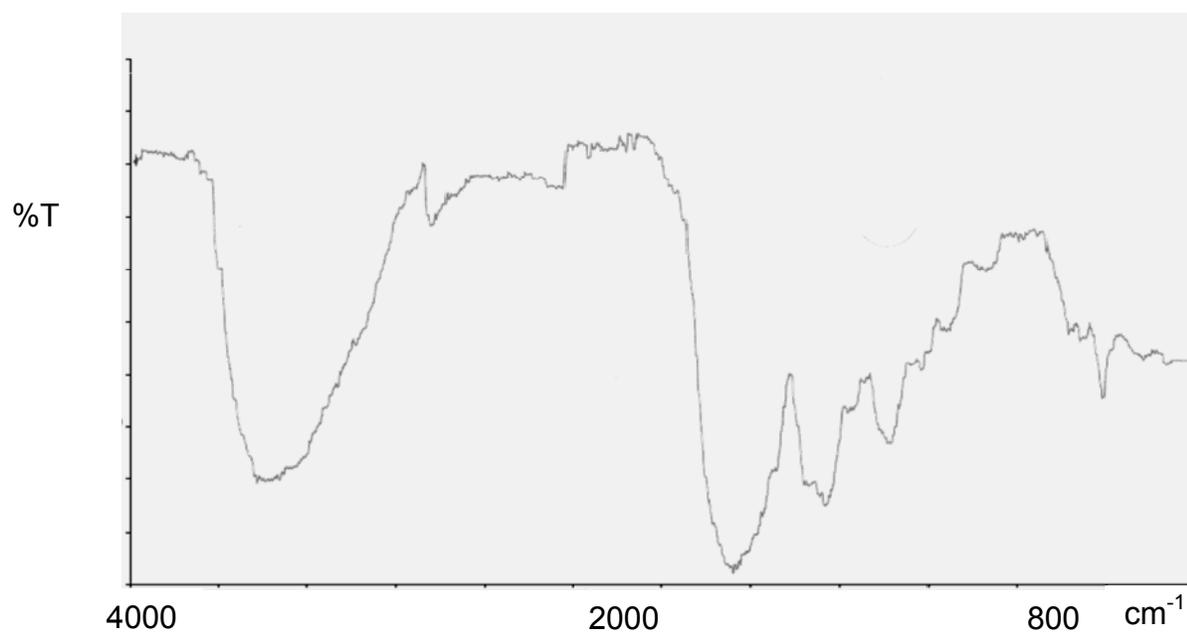


Figura 10. Espectro infrarrojo del complejo [Zn(sal-cefa)Ac].

Tabla 5. Principales bandas IR del cefadroxilo, base Schiff y complejos (cm^{-1}).

Complejos	$\nu(\text{C}=\text{O})$	$\nu(\text{C}=\text{O})$	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\nu(\text{COO}^-)$	$\nu(\text{COO}^-)$
	lactámico	amida	imino	asimétrico	simétrico
Cefadroxilo	1 760	1 690	-	-	-
Base de Schiff	1 780	1 690	1 630	-	-
[Mn(sal-cefa)Ac]	1 740	1 680	1 640	1 600	1 410
[Co(sal-cefa)Ac]	1 750	1 680	1 640	1 590	1 370
[Ni(sal-cefa)Ac]	1 750	1 680	1 640	1 580	1 350
[Ag(sal-cefa)Ac]	1 740	1 650	1 620	1 590	1 360
[Zn(sal-cefa)Ac]	1 750	1 680	1 620	1 600	1 400

ν (cm^{-1}): frecuencia.

Espectroscopía ultravioleta – visible (UV- visible)

En la tabla 6 se resumen las transiciones de los espectros UV-visible del cefadroxilo y los complejos de los metales de transición. Los espectros fueron tomados en suspensiones de DMSO y se pueden observar desde la figura 11 a la 14.

Tabla 6. Transiciones electrónicas en los espectros UV- visibles del cefadroxilo y los complejos metálicos (nm).

Complejos	Transiciones electrónicas	Transiciones electrónicas
	debidas al ligando	debidas al metal
Base de Schiff	300 - 360 – 425	---
[Mn(sal-cefa)Ac]	250 - 300 – 350	---
[Co(sal-cefa)Ac]	300 - 350 - 425	460
[Ni(sal-cefa)Ac]	325 - 375 – 425	680 – 760
[Ag(sal-cefa)NO ₃]	325 - 375 - 400	425
[Zn(sal-cefa)Ac]	250 - 300 - 350	---

Los espectros UV- visibles muestran que las bandas debidas a la base de Schiff mantienen su presencia en los espectros de los complejos metálicos. Ello permite inferir que la base de Schiff mantiene su estructura y no se modifica ni deteriora al coordinar al ión metálico. Las transiciones electrónicas debidas al ión metálico, en general, son muy débiles y difíciles de apreciar, sugiriendo la formación de estructuras octaédricas. Las estructuras octaédricas se caracterizan por tener coeficientes de absorción molar (ϵ) menores de $100 \text{ l cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$.

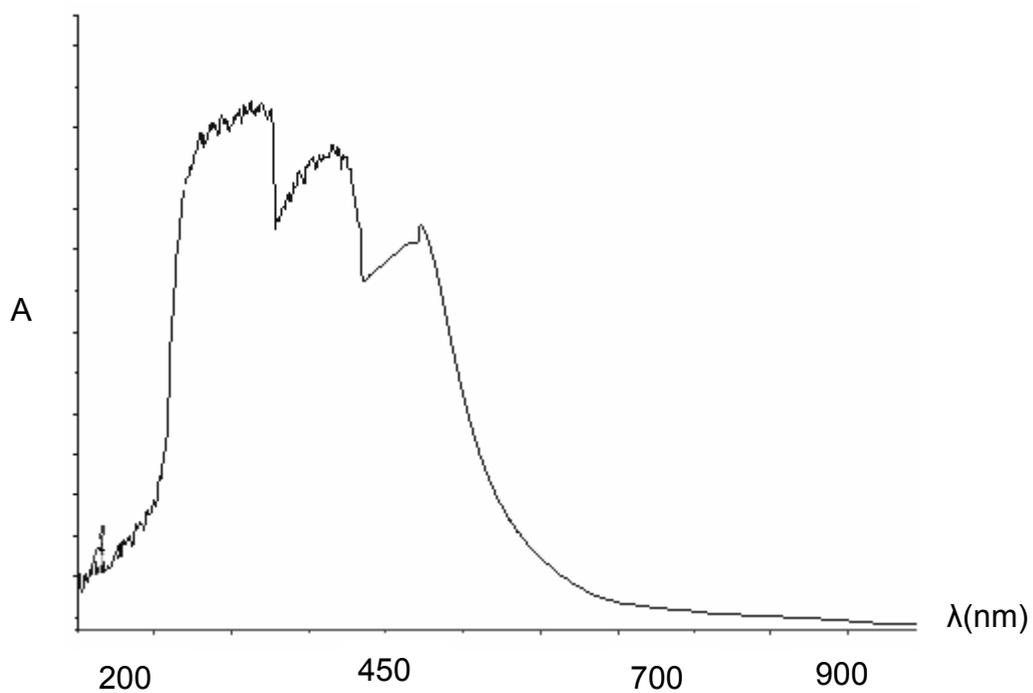


Figura 11. Espectro electrónico de la base de Schiff

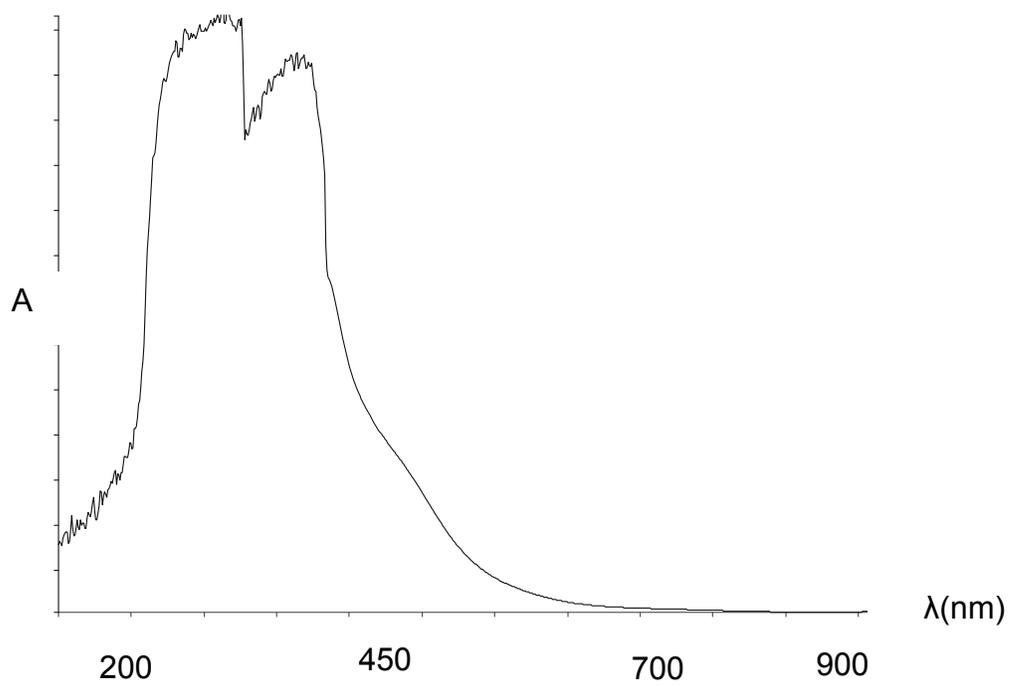


Figura 12. Espectro electrónico del complejo [Co(sal-cefa)Ac].

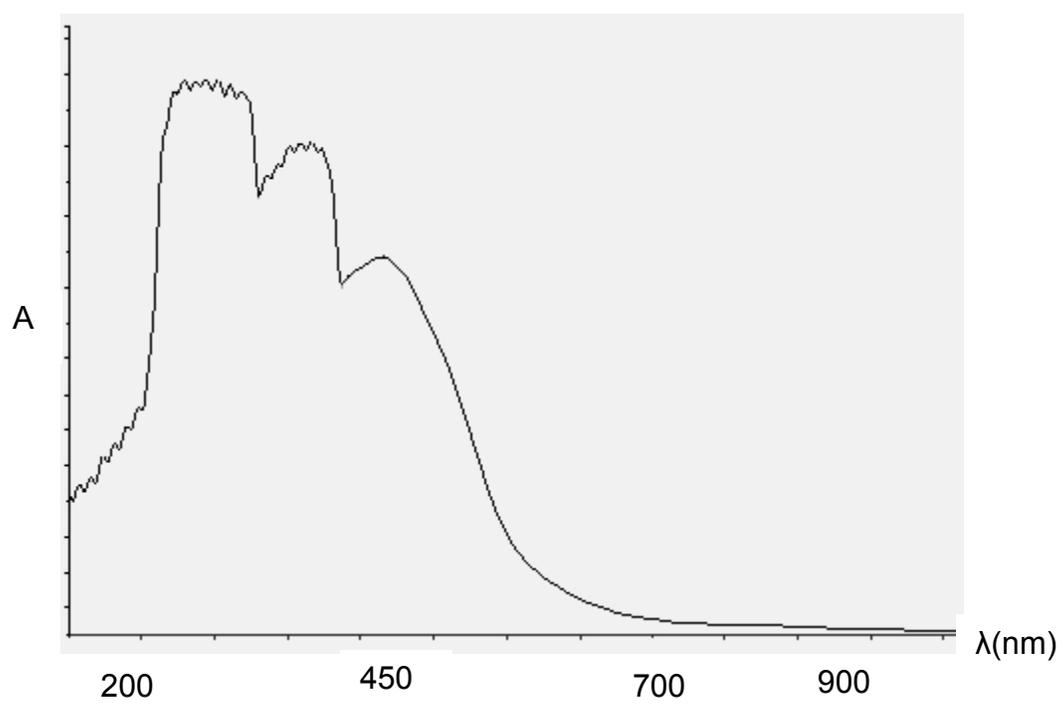


Figura 13. Espectro electrónico del complejo [Ni(sal-cefa)Ac].

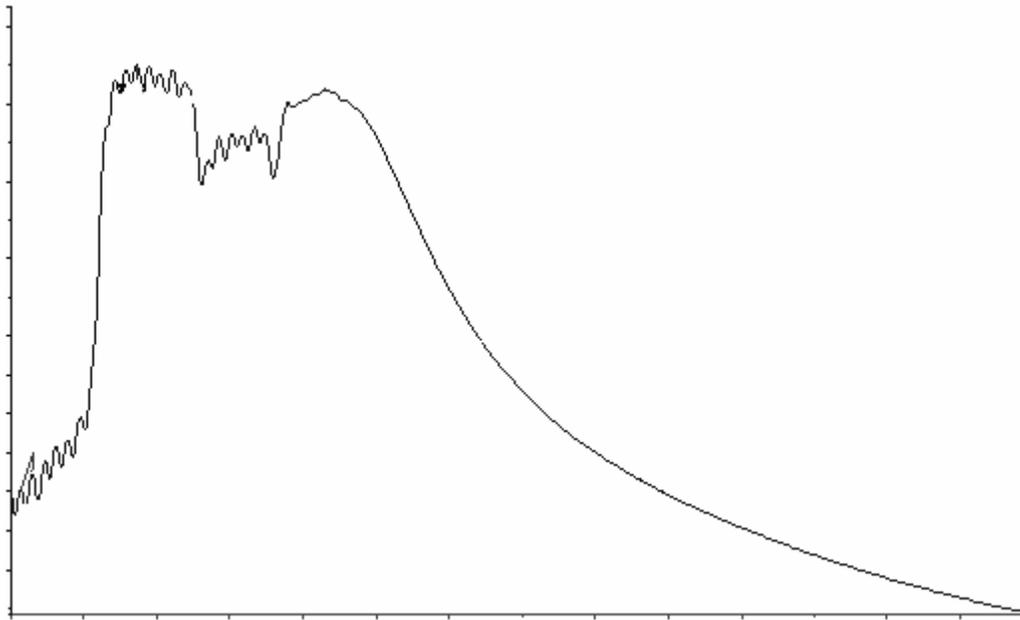


Figura 14. Espectro electrónico del complejo [Ag (sal-cefa)NO₃]

Actividad antimicrobiana

A La actividad antibacteriana presentada por el cefadroxilo, la base de Schiff y sus complejos metálicos, frente a distintas cepas bacterianas, utilizando el método de fusión con disco, se muestra en la tabla 7.

El cefadroxilo comercial presentó actividad contra tres de las cinco cepas bacterianas ensayadas, mostrando una actividad máxima sobre *S. epidermidis*, con un halo de inhibición de 30 mm y no presentó actividad ante *K. pneumoniae* ni *P. aeruginosa*.

Si se observa la actividad de los complejos metálicos, se puede observar que todos los complejos presentaron resultados efectivos frente a las cepas *S. epidermidis* y *S. aureus*, donde los halos fueron más grandes que los generados por el

cefadroxilo comercial. La base de Schiff presentó un halo de 24 mm frente a la cepa

Tabla 7. Tamaño de los halos de inhibición (mm) producidos por las cepas bacterianas frente al cefadroxilo y los compuestos sintetizados en la prueba de susceptibilidad antimicrobiana en agar por difusión con disco.

Compuestos	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Cefadroxilo	30	20	17	0	0
Base de Schiff	32	24	18	0	0
[Mn(sal-cefa)Ac]	30	20	17	9	0
[Co(sal-cefa)Ac]	20	20	15	9	0
[Ni(sal-cefa)Ac]	19	7	0	0	0
[Ag(sal-cefa)NO ₃]	33	25	18	12	10
[Zn(sal-cefa)Ac]	25	15	0	0	0

Concentración 400 µg/disco.

S. aureus, 4 mm más que el cefadroxilo comercial. Por su parte, el complejo [Co(sal-cefa)Ac] evidenció un halo de 20 mm, el mismo tamaño del halo que manifestó el cefadroxilo comercial. El complejo [Ni(sal-cefa)Ac] fue el que exhibió menor actividad, con un halo de apenas 7 mm frente a la misma cepa (figura 15).



Figura 15. Tamaño de los halos de inhibición (mm) de la cepa *S. aureus* frente al Cefadroxilo, la base de Schiff y los compuestos [Ni(sal-cefa)Ac] y [Co(sal-cefa)Ac].

El complejo [Ag(sal-cefa)NO₃] presentó el halo de mayor tamaño, siendo de 33 mm en el caso de *S. epidermidis* y 25 mm en el caso de *S. aureus*, ésto se debe a que son antibióticos que inhiben la síntesis de la pared celular y en el caso de estas cepas, que son cocos gram positivos, su pared es mucho más sensible a las cefalosporinas (32, 33). El complejo [Mn(sal-cefa)Ac] también presentó el mismo tamaño del halo que evidenció el cefadroxilo comercial. En el caso del complejo [Zn(sal-cefa)Ac], tuvo una menor actividad frente a la cepa *S. aureus* con un halo de 15 mm (figura 16).

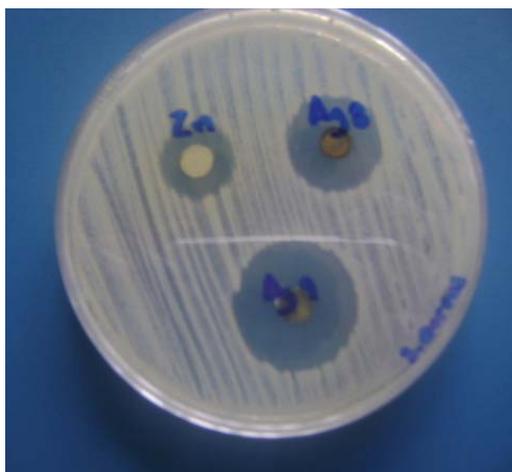


Figura 16. Tamaño de los halos de inhibición (mm) de la cepa *S. aureus* frente a los compuestos [Ag(sal-cefa)NO₃], [Zn(sal-cefa)Ac] y [Mn(sal-cefa)Ac].

Los complejos también mostraron actividad antibacteriana sobre la cepa *E. coli*, a excepción del complejo [Ni(sal-cefa)Ac] donde no se formó un halo. El complejo [Co(sal-cefa)Ac] demostró baja actividad frente a esta cepa, con un halo de 15 mm, si se compara con el cefadroxilo comercial y la base de Schiff, con halos de 17 y 18 mm (figura 17).

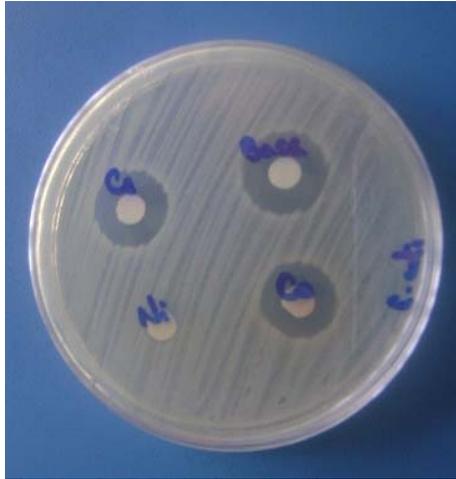


Figura 17. Tamaño de los halos de inhibición (mm) de la cepa *E. coli* frente al Cefadroxilo, la base de Schiff y los compuestos $[\text{Ni}(\text{sal-cefa})\text{Ac}]$ y $[\text{Co}(\text{sal-cefa})\text{Ac}]$.

Los complejos $[\text{Ag}(\text{sal-cefa})\text{NO}_3]$ y $[\text{Mn}(\text{sal-cefa})\text{Ac}]$ fueron los que mostraron mayor actividad antibacteriana frente a esta cepa, en comparación con el resto de los complejos, halos similares a los demostrados por el cefadroxilo comercial y la base de Schiff. El complejo $[\text{Zn}(\text{sal-cefa})\text{Ac}]$ no presentó actividad (figura 18).

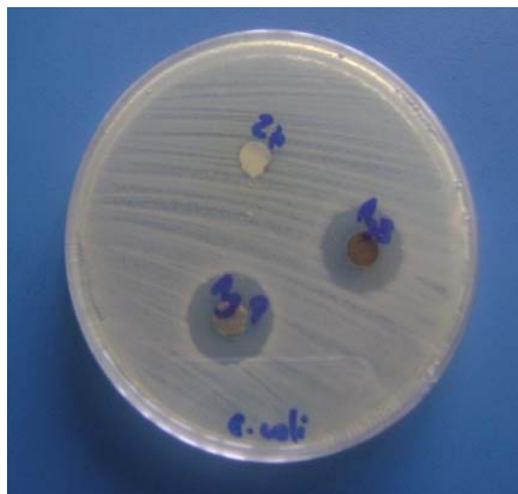


Figura 18. Tamaño de los halos de inhibición (mm) de la cepa *E. coli* frente a los compuestos $[\text{Ag}(\text{sal-cefa})\text{NO}_3]$, $[\text{Zn}(\text{sal-cefa})\text{Ac}]$ y $[\text{Mn}(\text{sal-cefa})\text{Ac}]$.

Frente a las cepas de *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa*, ni el cefadroxilo comercial ni los compuestos sintetizados mostraron actividad antibacteriana, ésto se debe a su resistencia natural para las cefalosporinas de primera y segunda generación debido a la propiedad de degradar el anillo betaláctamico característico de estos antibióticos y así inactivar su mecanismo de acción. Aún así, el complejo [Ag(sal-cefa)NO₃] mostró halos de pequeño tamaño, entre 12 y 10 mm, respectivamente, lo que demuestra que los compuestos sintetizados presentan mayor actividad que el cefadroxilo comercial. Los resultados obtenidos en la evaluación de la actividad antimicrobiana por difusión con discos de la base de Schiff y de los complejos metálicos sintetizados, permiten afirmar que los complejos poseen acción antibacteriana sobre la mayoría de las cepas estudiadas.

Los puntos de corte utilizados para definir la sensibilidad o la resistencia de las diferentes especies bacterianas a cada antimicrobiano han sido recomendados por el Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI), los que sugieren utilizar los mismos criterios de interpretación para el antibiótico cefalotina para predecir los resultados de antimicrobianos orales como el cefadroxilo y la cefalexina (34). Los puntos de corte recomendados para la difusión en discos de la cefalotina son: susceptible, S \geq 18 mm, intermedio, I 15-17 mm y resistente, R \leq 14 mm. Considerando los valores de la Tabla 7, se podría establecer que en general, *S. epidermidis* y *S. aureus* son susceptibles, *E. coli* intermedia y *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* resistentes frente a la base de Schiff y los complejos metálicos.

En la tabla 8 se pueden apreciar los resultados obtenidos para la prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar a diferentes concentraciones de los compuestos sintetizados, y las figuras relacionadas se muestran desde la 19 a la 26. Se observa que el cefadroxilo comercial presentó actividad antibacteriana hasta los 25 μ g/ disco frente a la cepa *S. epidermidis* y hasta los 100 μ g/ disco frente a las cepas *S. aureus* (figura 19) y *E. coli* (figura 20), mientras que no presentó actividad

frente a *K. pneumoniae* ni *P. aeruginosa*.

Tabla 8: Tamaño de los halos de inhibición (mm) de las cepas bacterianas frente al cefadroxilo, la base de Schiff y los complejos sintetizados.

Compuestos	Conc ($\mu\text{g}/\text{disco}$)	<i>S.</i> <i>epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>K.</i> <i>pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Cefadroxilo	400	30	20	17	-	-
	200	29	11	14	-	-
	100	26	8	10	-	-
	50	20	-	-	-	-
	25	17	-	-	-	-
Base de Schiff	400	32	24	18	-	-
	200	29	9	-	-	-
	100	27	8	-	-	-
	50	24	8	-	-	-
	25	20	-	-	-	-
Complejo Mn^{2+}	400	30	20	17	9	-
	200	28	19	14	-	-
	100	22	17	12	-	-
	50	18	12	10	-	-
	25	16	-	-	-	-
Complejo Co^{2+}	400	20	20	15	9	-
	200	17	11	11	-	-
	100	12	9	9	-	-
	50	-	7	-	-	-
	25	-	-	-	-	-
Complejo Ni^{2+}	400	19	7	-	-	-
	200	9	-	-	-	-
	100	7	-	-	-	-
	50	7	-	-	-	-
	25	7	-	-	-	-
Complejo Ag^+	400	33	25	18	12	10
	200	28	23	18	10	9
	100	25	20	16	9	8
	50	20	16	12	7	7
	25	16	11	8	7	7

Complejo Zn ²⁺	400	25	15	-	-	-
	200	18	9	-	-	-
	100	15	8	-	-	-
	50	12	8	-	-	-
	25	9	-	-	-	-

La base de Schiff mostró actividad antibacteriana contra *S. epidermidis* hasta concentraciones de 25 µg/ disco y en el caso de *S. aureus* (figura 21) hasta concentraciones de 50 µg/ disco, pero no tuvo actividad frente a las otras cepas estudiadas.



Figura 19. Tamaño de los halos de inhibición (mm) de la cepa *S. aureus* frente al cefadroxilo a diferentes concentraciones.

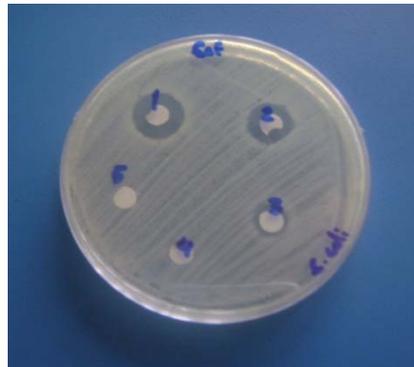


Figura 20. Tamaño de los halos de inhibición (mm) la cepa *E. coli* frente al cefadroxilo a diferentes concentraciones.



Figura 21. Tamaño de los halos de inhibición (mm) de la la cepa *S. aureus* frente a la base de Schiff a diferentes concentraciones.

Los complejos [Mn(sal-cefa)Ac] (figura 22), [Co(sal-cefa)Ac] (figura 23) y [Ag(sal-cefa)Ac] (figura 24) presentaron mayor actividad frente a las cepas *S. epidermidis*, *S. aureus* y *E. coli*, alcanzando concentraciones hasta los 25 µg/ disco.

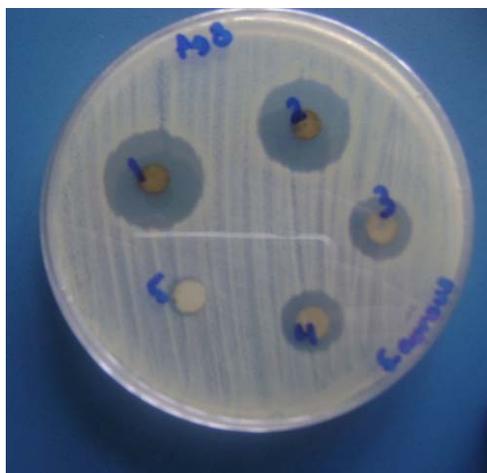


Figura 22. Tamaño de los halos de inhibición (mm) la cepa *S. aureus* frente al compuesto [Mn(sal-cefa)Ac] a diferentes concentraciones.



Figura 23. Tamaño de los halos de inhibición (mm) de la cepa *E. coli* frente al compuesto [Co(sal-cefa)Ac] a diferentes concentraciones.

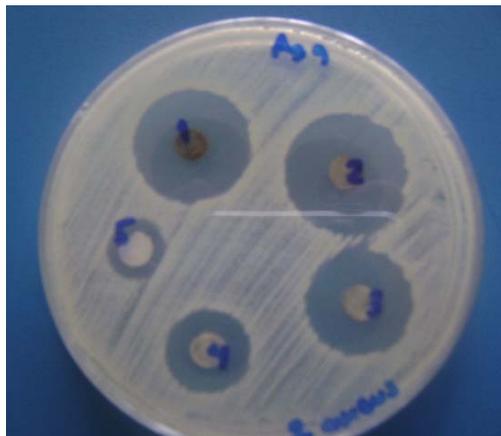


Figura 24. Tamaño de los halos de inhibición (mm) de la cepa *S. aureus* frente al compuesto [Ag(sal-cefa)NO₃] a diferentes concentraciones.

El complejo [Ni(sal-cefa)Ac] fue el que presentó menor actividad antibacteriana; en el caso de *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* no se observaron halos de inhibición, a diferencia del complejo [Ag(sal-cefa)NO₃], que presentó halos de inhibición hasta concentraciones de 25 µg/disco frente a todas las cepas, incluyendo *K. pneumoniae* (figura 25) y *P. aeruginosa* (figura 26), ante las cuales el cefadroxilo comercial fue resistente, lo que evidencia la mayor eficacia del complejo sintetizado.

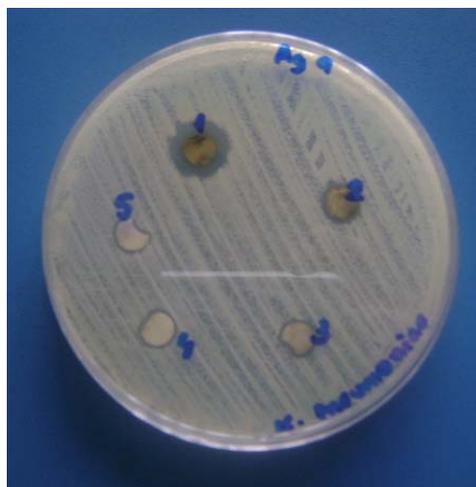


Figura 25. Tamaño de los halos de inhibición (mm) de la cepa *K. pneumoniae* frente al compuesto [Ag(sal-cefa)NO₃] a diferentes concentraciones.

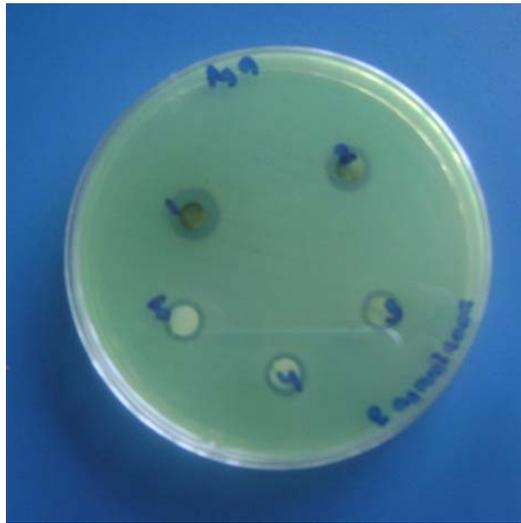


Figura 26. Tamaño de los halos de inhibición (mm) de la cepa *P. aeruginosa* del compuesto $[\text{Ag}(\text{sal-cefa})\text{NO}_3]$ a diferentes concentraciones.

Lo anterior permite decir que de los complejos sintetizados el $[\text{Ag}(\text{sal-cefa})\text{NO}_3]$ fue el que presentó mayor actividad antibacteriana frente a las bacterias utilizadas.

CONCLUSIONES

Se sintetizó una base de Schiff mediante la reacción entre cefadroxilo comercial y salicilaldehído. La base de Schiff formó complejos metálicos iónicos con algunos elementos de la primera serie de transición como Mn^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Ag^{2+} .

Los complejos metálicos de la base de Schiff poseen una composición $[M(\text{sal-cefa})Ac].nH_2O$ donde $M= Mn^{2+}$, Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , $Ac=$ acetato y $[Ag(\text{sal-cefa})NO_3]$ basado en sus comportamientos espectroscópicos y fisicoquímicos.

Las técnicas de caracterización confirman que los complejos sintetizados son de alto espín y probable estructura octaédrica.

La actividad antibacteriana del cefadroxilo y la base Schiff unido al metal, es mayor que la actividad del cefadroxilo libre comercial en cepas de *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

El complejo $[Ag(\text{sal-cefa})NO_3]$ presentó mayor actividad antibacteriana frente a todas las bacterias utilizadas, incluso *P. aeruginosa*, que posee resistencia natural.

BIBLIOGRAFÍA

1. Prescott, L.; Harley, J. y Klein, D. 2004. *Microbiología*. Quinta edición. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. España.
2. Gómez, M.; Mariño, F.; Montes, T. y Marcano, C. 1997. *Microbiología médica de Divo*. Quinta edición. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. España.
3. Joklik, W. y Wilferf, C. 1995. *Microbiología médica*. Vigésima edición. Editorial Panamericana. Argentina.
4. Pumarola, A.; Rodríguez, A.; García, R. y Piedrota, A. 1992. *Microbiología y Parasitología médica*. Segunda edición. Ediciones Científicas y Técnicas. España.
5. Jawetz, E.; Melnick, J. y Adelbery, E. 1992. *Microbiología médica*. Décimo cuarta edición. Editorial El Manual Moderno. México.
6. Jensen, M. y Wright, D. 1987. *Introducción a la microbiología médica*. Primera edición. Prentice-Hall Hispanoamericana. México.
7. Koneman, E.; Allen, S.; Janda, W.; Schreckenberger, P. y Winn, W. 2004. *Diagnóstico microbiológico*. Quinta edición. Editorial médica Panamericana. Argentina.
8. Guzmán, M. "Resistencia bacteriana en infecciones respiratorias". El Nacional, 10 de mayo 2002. Pág. 9.
9. Conn, M. y Grebhart, C. 1991. *Principios de farmacología*. Primera edición. Editorial El Manual Moderno. México.
10. Gilmat, A.; Rall, T.; Nies, A. y Taylor, P. 1991. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Octava edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina.
11. Anacona, J. y Osorio I. 2008. Synthesis and antibacterial activity of copper (II) complexes with sulphathiazole and cephalosporin ligands. *Trans. Metal Chem.*, 28: 630-635.
12. Navarro, M.; Pérez, H. y Sánchez, R. 1997. Toward a novel metal based chemotherapy against tropical diseases. 3. Synthesis and antimalarial activity in vitro and in vivo of the new gold-chloroquine complex $[\text{Au}(\text{PPh}_3)(\text{CQ})]\text{PF}_6$. *J. Med. Chem.*, 40: 1937-1939.

13. Navarro, M.; Cisneros, F.; Lehmann, T.; Sanchez, R.; Atencio, R.; Silva, P.; Lira, R. y Urbina, J. 2001. Toward a novel metal based chemotherapy against tropical diseases. Synthesis and characterization of new copper(II) and gold(I) clotrimazole and ketoconazole complexes and evaluation of their activity against *Trypanosoma cruzi*. *Inorg. Chem.*, 40: 6879 -6884.
14. Sánchez, R.; Lazardí, K.; Rincón, L. y Urbina J. 1993. Toward a novel metal based chemotherapy against tropical diseases. 1. Enhancement of the efficacy of clotrimazole against *Trypanosoma cruzi* by complexation to ruthenium in $\text{RuCl}_2(\text{clotrimazole})_2$. *J. Med. Chem.*, 36: 22041- 2043.
15. Cruz, O.; Dong, Y. y Uckun, F. 2003. Potent dual anti-HIV and spermicidal activities of novel oxovanadium(V) complexes with thiourea nonnucleoside inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase. *Biochem. Biophys Res.*, 302: 253 -264.
16. Shigeta, S.; Mori, S.; Kodama, E.; Kodama, J.; Takahachi, K. y Yamase, T. 2003. Broad spectrum anti-RNA virus activities of titanium and vanadium substituted polyoxotungstates. *Antiviral. Res.*, 58: 265- 271.
17. Anacona, J. y Gil, C. 2005. Synthesis and antibacterial activity of cefoxitin metal complexes. *Trans. Metal Chem.*, 30: 605-609.
18. Anacona, J. y Rodríguez, I. 2004. Synthesis and antibacterial activity of cephalixin metal complexes. *J. Coord. Chem.*, 57: 1263-1269.
19. Anacona, J. y Álvarez, P. 2002. Synthesis and antibacterial activity of metal complexes of cefazolin. *Trans. Metal Chem.*, 27: 856-860.
20. Anacona, J. y Serrano, J. 2003. Synthesis and antibacterial activity of metal complexes of cephalothin. *J. Coord. Chem.*, 56: 313-320.
21. Anacona, J. y Rodríguez, A. 2005. Synthesis and antibacterial activity of ceftriaxone metal complexes. *Trans. Metal Chem.*, 30: 897-901.
22. Anacona, J. y Estacio, J. 2006. Synthesis and antibacterial activity of cefixime metal complexes. *Trans. Metal Chem.*, 31: 227-231.
23. Shoukry, W.; Hosny, A.; Razik y R. Mohamed. 1997. Coordination properties of cefadroxil antibiotic synthesis and equilibrium studies of the binary and ternary complexes involving amino acids and DNA units. *Talanta*, 44: 2109-2119.
24. Lyszczek, M. 2004. Termal investigations of cefadroxil complexes with transition

- metals coupled TG-DSC and TG-FTIR techniques. *J. Ther. Anal. Calor.*, 78: 473-486.
25. Skoog, D.; Holler, J. y Nieman, T. 2001. *Principios de análisis instrumental*. Quinta edición. Editorial Mc Graw Hill. Madrid.
 26. Colthup, D. y Wiberle, S. 1990. *Introduction to infrared and Raman Spectros copy*. Tercera edición. Academic Press. San Diego.
 27. Mechan, E.; Elving, P. y Kolthoff, I. 1981. *Treatise on analytical chemistry*. Segunda edición. New York.
 28. Bauer, A.; Kirby, W.; Sherris, J. y Turck, M. 1966. *Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method*. *American Journal Clinic Pathologic*, 75: 993-996.
 29. Russell, D. 1965. *Physical methods in inorganic chemistry*. Primera edición. London.
 30. Angelici, J. 1979. *Técnicas y síntesis en química inorgánica*. Segunda edición. Editorial Reverté, S.A. Barcelona, España.
 31. Geary, W. 1971. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds. *Coord. Chem. Rev.*, 7: 81-122.
 32. Romero, R. 2007. *Microbiología y parasitología humana*. Tercera edición. Editorial Médica Panamericana. México.
 33. Rodríguez, J. y Prado, D. 2005. *Microbiología: lo esencial y lo práctico*. Primera edición. Organización Panamericana de la Salud. Guatemala.
 34. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twentieth informational supplement CLSI M100-S20 Wayne (PA) USA 2010.

HOJA DE METADATOS

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

Título	Actividad antibacteriana de compuestos metálicos con una base de Schiff que contienen cefadroxilo y salicilaldehído.
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Barrios, Virginia	CVLAC	17655987
	e-mail	virgi0202_2@hotmail.com
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Cefadroxilo, salicilaldehido, complejos metálicos, pruebas de
susceptibilidad antimicrobiana.

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

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

Se comparó la actividad antibacteriana de complejos base Schiff que contienen cefadroxilo y salicilaldehído con respecto a la actividad del cefadroxilo comercial. Para ello se sintetizó la base de Schiff (saliciliden-cefadroxilo, Hsal-cefa) al hacer reaccionar, en relación molar 1:1, el cefadroxilo comercial con salicilaldehído. Esta base de Schiff fue utilizada para formar complejos metálicos con diversas sales que contenían iones de transición, tales como: Mn²⁺, Co²⁺, Ni²⁺, Ag²⁺ y Zn²⁺ en proporción molar 1:1 metal:base Schiff. La caracterización de los compuestos se realizó utilizando técnicas espectroscópicas (infrarrojo y ultravioleta visible), análisis elemental, susceptibilidad magnética y conductividad molar, que sugieren la formación de los compuestos de coordinación [M(sal-cefa)Ac].nH₂O (donde M= Mn²⁺, Zn²⁺, Ni²⁺, Co²⁺, Ac = acetato) y [Ag(sal-cefa)NO₃]. La actividad antibacteriana de los complejos sintetizados fue ensayada frente a cepas certificadas por la Colección Americana de Cultivos Tipos (ATCC) de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* utilizando pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar con discos y pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar a diferentes concentraciones de los compuestos sintetizados y se observó que todos los complejos presentaron resultados efectivos frente a las cepas *S. epidermidis* y *S. aureus*, donde los halos de inhibición fueron de mayor tamaño que los generados por el cefadroxilo comercial. En el caso de *E. coli*, la actividad de los complejos fue similar a la del cefadroxilo, y para *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* el único compuesto que presentó actividad antimicrobiana fue el [Ag(sal-cefa)NO₃]. Se demostró que la actividad antibacteriana de la base de Schiff al estar unida al metal fue mayor que la del cefadroxilo libre comercial frente a las cepas de *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

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

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail				
ANACONA, JUAN ROBERTO	ROL	CA <input type="checkbox"/>	AS <input checked="" type="checkbox"/>	TU <input type="checkbox"/>	JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	13.631.187			
	e-mail	juananacona@hotmail.com			
	ROL	CA <input type="checkbox"/>	AS <input type="checkbox"/>	TU <input type="checkbox"/>	JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC				
	e-mail				
	ROL	CA <input type="checkbox"/>	AS <input type="checkbox"/>	TU <input type="checkbox"/>	JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC				
	e-mail				

Fecha de discusión y aprobación:

Año Mes Día

11	06	15
----	----	----

Lenguaje: Spa

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

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis – barriosv.doc	Aplication/Word

Alcance:

Espacial : Internacional

Temporal: Temporal

Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciado en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciado

Área de Estudio:

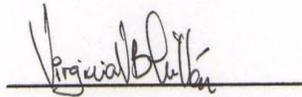
Bioanálisis

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

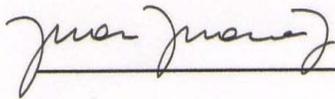
UNIVERSIDAD DE ORIENTE

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

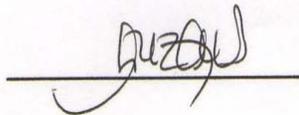
Derechos:



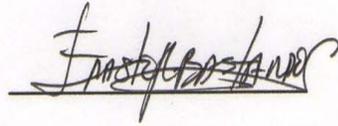
AUTOR



TUTOR



JURADO 1



JURADO 2

POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS

