



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

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE COMPLEJOS BASE DE SCHIFF QUE
CONTIENEN AMOXICILINA Y SALICILALDEHÍDO
(Modalidad: Tesis de Grado)

DANIELA ANDREÍNA MARPA MUJICA

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

CUMANÁ, 2011

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE COMPLEJOS BASE DE SCHIFF
QUE CONTIENEN AMOXICILINA Y SALICILALDEHÍDO

APROBADO POR:


Ph.D. Juan R. Anacoña
Asesor


Prof. Erasto Bastardo
Jurado Principal


Profa. Elvia Michelli
Jurado Principal

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
LISTA DE TABLAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
RESUMEN.....	vi
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	14
Síntesis del ligando base de Schiff [(H ₂ amoxi-sal)(H ₂ O) ₈] que contiene amoxicilina y salicilaldehído	14
Síntesis de los complejos metálicos con la base de Schiff.....	15
Análisis elemental	16
Análisis térmico	16
Medidas de susceptibilidad magnética.....	17
Medidas de conductividad molar	17
Espectroscopía infrarroja	17
Espectroscopía UV-Visible.....	17
Actividad antimicrobiana	18
Prueba de sensibilidad por difusión en agar.....	18
Prueba de sensibilidad por difusión en agar a diferentes concentraciones	19
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
Análisis elemental	21
Medidas de susceptibilidad magnética.....	21

Momentos magnéticos	22
Espectroscopia ultravioleta-visible (UV-visible).....	24
Espectroscopia infrarroja (IR).....	29
Medidas de conductividad molar	35
Análisis térmico	366
Actividad biológica	377
CONCLUSIONES	48
BIBLIOGRAFÍA	50
HOJA DE METADATOS	54

DEDICATORIA

A

Mi Dios, quien con su infinito amor me guió siempre por el mejor camino y me envió personas maravillosas, que han estado durante toda mi vida apoyándome y haciendo posible la realización de mis metas.

Mis padres Raúl Marpa y Yusmelis Mujica, por el amor, constancia, enseñanzas y sacrificios sin los cuales no sería ni la sombra de la persona que hoy soy. Gracias por ser mi ángeles protectores, y por ayudarme incondicionalmente a cumplir mis metas en esta vida.

Mis hermanos Madeleine y Carlos, por estar día a día apoyándome y por ser mis tesoros más preciados.

Mi prima Gabriela Quiñónez, mi tía Zuleima Marpa, y mi abuela Lilia por el amor y el apoyo.

Mis compañeros de estudio Yaricruz Pineda, Virginia Barrios, Eduardo Higuerey, Rafael González y Ray Guevara por la amistad incondicional y por estar siempre dispuestos a brindar ayuda.

AGRADECIMIENTOS

A

El Dr. Juan Roberto Anacona, quien en carácter de asesor hizo posible la realización de mi trabajo de grado, con su sabiduría y perseverancia.

Mis profesores Alina Bravo, Erasto Bastardo y licenciados del laboratorio de bacteriología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”: José Antonio Barreto, Verónica Peinado, Maylín Mundaray y Diorelys González por la colaboración prestada.

A mis compañeros del laboratorio 306 del Departamento de Química, Javier Santaella, Kysbel Mago, José Amenta, Victor Rangel, Gregory Calvo, César Ramos, Juan Rodríguez, gracias por compartir sus conocimientos y ayudar en la realización de mi trabajo de grado.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Análisis elemental de los complejos metálicos sintetizados con la base de Schiff.....	21
Tabla 2. Medidas de susceptibilidad magnética de los complejos metálicos de la base de Schiff.....	22
Tabla 3. Momentos magnéticos de los complejos metálicos de la base de Schiff.....	24
Tabla 4. Resumen de los espectros UV-visible de la amoxicilina, la base de Schiff y los complejos metálicos.....	25
Tabla 5. Principales bandas IR de la amoxicilina y sus complejos (cm^{-1}).....	30
Tabla 6. Conductividad molar de los complejos metálicos con la base de Schiff...	355
Tabla 7. Análisis térmico de los complejos metálicos con la base de Schiff.....	366
Tabla 8. Halos de inhibición en mm producidos por la amoxicilina y los complejos sintetizados ante las especies bacterianas ensayadas.....	377
Tabla 9. Halos de inhibición en mm de la amoxicilina, la base de Schiff y los complejos utilizando discos a diferentes concentraciones.....	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructuras básicas de los antibióticos β -lactámicos.	3
Figura 2. Estructura de las penicilinas más conocidas.....	5
Figura 3. Distribución de especies de amoxicilina a diferentes pH.	6
Figura 4. Diferentes equilibrios de la amoxicilina en solución.....	7
Figura 5. Esquema sugerido para la formación del ligando base de Schiff [(H ₂ amoxi-sal)(H ₂ O) ₈].	15
Figura 6. Esquema sugerido de formación de los complejos base de Schiff [M= Ni ²⁺ , Zn ²⁺ , Cu ²⁺ y Ag ²⁺]......	16
Figura 7. Espectro UV-visible de la amoxicilina.	25
Figura 8. Espectro UV-visible del salicilaldehído.	26
Figura 9. Espectro UV-visible de la base de Schiff.....	26
Figura 10. Espectro UV-visible del complejo [Ni(amoxi-sal)(H ₂ O) ₃].	27
Figura 11. Espectro UV-visible del complejo [Cu(amoxi-sal)(H ₂ O) ₁₀].	27
Figura 12. Espectro UV-visible del complejo [Zn(amoxi-sal)(H ₂ O) ₁₀]......	28
Figura 13. Espectro UV-visible del complejo [Ag ¹ (amoxi-sal)(H ₂ O)]......	28
Figura 14. Espectro UV-visible del complejo [Ag ² (amoxi-sal)(H ₂ O) ₆].	29
Figura 15. Espectro IR de la amoxicilina.....	31
Figura 16. Espectro IR de la base de Schiff.....	32
Figura 17. Espectro IR del complejo [Ni(amoxi-sal)(H ₂ O) ₃].	322
Figura 18. Espectro IR del complejo [Cu(amoxi-sal)(H ₂ O) ₁₀].	333
Figura 19. Espectro IR del complejo [Zn(amoxi-sal)(H ₂ O) ₁₀].	333
Figura 20. Espectro IR del complejo [Ag ¹ (amoxi-sal)(H ₂ O)].	344
Figura 21. Espectro IR del complejo [Ag ² (amoxi-sal)(H ₂ O) ₆]......	344
Figura 22. Estructura sugerida para los complejos metálicos con la base de Schiff [M= Ni ²⁺ , Zn ²⁺ , Ag ²⁺].	366
Figura 23. Halos de inhibición de la amoxicilina, la base de Schiff y [Ni(amoxi-sal)(H ₂ O) ₃] frente a la cepa <i>E. coli</i> (ATCC 25922).	388

Figura 24. Halos de inhibición de la amoxicilina, la base de Schiff, $[\text{Ni}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_3]$, $[\text{Ag}^1(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})]$ y $[\text{Ag}^2(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_6]$ frente a la cepa <i>S. aureus</i> (ATCC 25923).	399
Figura 25. Halos de inhibición de la amoxicilina ante la cepa <i>S. epidermidis</i> (ATCC 14990) a diferentes concentraciones.	41
Figura 26. Halos de inhibición de la amoxicilina frente a la cepa <i>S. aureus</i> (ATCC 25923) a diferentes concentraciones.	41
Figura 27. Halos de inhibición de la amoxicilina frente a la cepa <i>E. coli</i> (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.	42
Figura 28. Halos de inhibición de la base de Schiff frente a la cepa <i>S. epidermidis</i> (ATCC 14990) a diferentes concentraciones.	42
Figura 29. Halos de inhibición de la base de Schiff frente a la cepa <i>S. aureus</i> (ATCC 25923) a diferentes concentraciones.	43
Figura 30. Halos de inhibición de la base de Schiff frente a la cepa <i>E. coli</i> (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.	443
Figura 31. Halos de inhibición de $[\text{Ni}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_3]$ frente a la cepa <i>S. epidermidis</i> (ATCC 14990) a diferentes concentraciones.	44
Figura 32. Halos de inhibición de $[\text{Ni}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_3]$ frente a la cepa <i>E. coli</i> (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.	44
Figura 33. Halos de inhibición de $[\text{Ag}^1(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})]$ frente a la cepa <i>S. epidermidis</i> a diferentes concentraciones.....	45
Figura 34. Halos de inhición de $[\text{Ag}^1(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})]$ frente a la cepa <i>E. coli</i> (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.	45
Figura 35. Halos de inhibición de $[\text{Ag}^2(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_6]$ frente a la cepa <i>S. aureus</i> (ATCC 25923) a diferentes concentraciones.	46
Figura 36. Halos de inhición de $[\text{Ag}^2(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_6]$ frente a la cepa <i>E. coli</i> (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.	46

RESUMEN

Se sintetizó la base de Schiff [(H₂amoxi-sal)(H₂O)₈] mediante la reacción entre la amoxicilina comercial y el salicilaldehído. La base se hizo reaccionar con metales de la primera serie de transición para obtener los complejos [Ni(amoxi-sal)(H₂O)₃], [Cu(amoxi-sal)(H₂O)₁₀], [Zn(amoxi-sal)(H₂O)₁₀], [Ag¹(amoxi-sal)(H₂O)] y [Ag²(amoxi-sal)(H₂O)₆]. La caracterización de los complejos se realizó utilizando técnicas de espectroscopia infrarroja, espectroscopia UV-visible, medidas de conductividad, susceptibilidad magnética, análisis elemental y análisis térmico. La actividad antibacteriana de los compuestos sintetizados fue ensayada frente a las cepas certificadas *E. coli* (ATCC 25922), *E. faecalis* (ATCC 29212), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *S. aureus* (ATCC 25923) y *S. epidermidis*. (ATCC 14990), utilizando las técnicas de difusión en agar y sensibilidad por difusión en agar a diferentes concentraciones. La base de Schiff y los complejos metálicos fueron más efectivos que el antibiótico comercial en algunas de las cepas empleadas. La base de Schiff superó la acción del antibiótico comercial para las cepas *S. aureus* y *E. coli*, mientras que el complejo [Ni(amoxi-sal)(H₂O)₃] tuvo mayor eficacia en *E. faecalis* (ATCC 29212), *S. aureus* (ATCC 25923) y *E. coli* (ATCC 25922). Los complejos [Ag¹(amoxi-sal)(H₂O)] y [Ag²(amoxi-sal)(H₂O)₆] presentaron actividad frente a la cepa *P. aeruginosa* (ATCC 27853), a pesar de ser resistente natural a éste antibiótico.

Palabra y/o Frases Claves: Amoxicilina, Salicilaldehído, Base de Schiff, Dimetilsulfóxido

INTRODUCCIÓN

La era moderna de la quimioterapia comenzó con los trabajos del médico alemán Paul Ehrlich quién en 1904, observó que el colorante tripán rojo resultaba activo contra el parásito del género *Trypanosoma*, que causa la tripanosomiasis humana africana, y que podía ser empleado como terapéutico. Posteriormente, encontró tras sus investigaciones que el compuesto número 606, la arsenamina, resultaba activo contra la espiroqueta que causaba la sífilis (Prescott *et al.*, 2004). Ehrlich formuló los principios de toxicidad selectiva e identificó las relaciones químicas específicas entre microorganismos patógenos y fármacos, el desarrollo de la resistencia a los fármacos y la utilidad de la terapéutica combinada (Joklik *et al.*, 1995).

En 1877, Pasteur había advertido que los microorganismos del aire inhibían el crecimiento del bacilo del carbunco, enfermedad infecciosa causada por esporas de la bacteria *Bacillus anthracis*. En 1928, se produjo la observación de un nuevo fenómeno de antagonismo bacteriano. Mientras estudiaba una variante de estafilococos, Alexander Fleming observó que un moho que contaminaba uno de sus cultivos producía lisis de las bacterias que estaban junto a él. El moho en cuestión pertenecía al género *Penicillium*, razón por la cual Fleming dió el nombre de penicilina a la sustancia descubierta (Jawetz *et al.*, 1992; Koneman *et al.*, 2004).

Años más tarde, la observación de Fleming fue determinante para que un grupo de científicos conocidos como el grupo de Oxford, integrado por Florey, Chain y Heatley, entre otros, aislara el primer antibiótico conocido, la penicilina (Gilman *et al.*, 1991). Cuando se inyectó penicilina purificada a ratones infectados por estreptococos y estafilococos, prácticamente todos sobrevivieron. Los ensayos clínicos en seres humanos también se vieron coronados por el éxito. Fleming, Florey

y Chain recibieron el premio Nobel en 1945 por el descubrimiento y la producción de penicilina, estimulando la búsqueda de otros antibióticos (Prescott *et al.*, 2004).

Los antibióticos son sustancias químicas naturales, o semisintéticas, producidas por varias especies de microorganismos (bacterias, hongos, actinomicetos) que suprimen el crecimiento de otros microorganismos, pudiendo producir su destrucción eventual. Los antibióticos presentan diferencias pronunciadas en sus propiedades físicas, químicas y farmacológicas, espectros antibacterianos y mecanismos de acción (Gilman *et al.*, 1991).

Los agentes antimicrobianos con frecuencia se describen como “bacteriostáticos” o “bactericidas”. El término bacteriostático alude a un fármaco que en forma temporal inhibe la proliferación de un microorganismo. El efecto se revierte cuando el agente se suspende; el microorganismo reanuda su proliferación y la infección o enfermedad puede recurrir; por su parte, el término bactericida se refiere a un fármaco que se adhiere a su receptor y causa la muerte del microorganismo (Jawetz *et al.*, 1992).

La clasificación más común de los antibióticos se basa en sus mecanismos de acción, propuestos del modo siguiente: a) los que activan la síntesis de enzimas que interrumpen la formación de las paredes de la célula bacteriana para producir la pérdida de viabilidad y, con frecuencia, la lisis celular. b) los que actúan en forma directa sobre la membrana de la célula del microorganismo, afectando la permeabilidad y llevando a la filtración de los compuestos intracelulares. c) los que afectan la función de los ribosomas para causar una inhibición irreversible de la síntesis proteica. d) los que se unen a las subunidades ribosomales 30S y alteran la síntesis de proteínas, lo cual lleva eventualmente a la lisis; los que afectan el metabolismo de los ácidos nucleicos, de los antimetabolitos y, de análogos de los ácidos nucleicos (Atlas,1990; Gilman *et al.*,1991).

Los antibióticos también se pueden clasificar dependiendo de su estructura química en: betalactámicos, quinolonas, aminoglucósidos, sulfamidas y macrólidos. Los antibióticos más utilizados, los betalactámicos se subdividen en dos grandes grupos, a saber, las penicilinas y las cefalosporinas (Katsumy, 1991).

Las penicilinas constituyen uno de los más importantes grupos de antibióticos. Aunque se han producido muchos otros agentes antimicrobianos desde que se dispuso de la primera penicilina, estos antibióticos todavía son importantes y ampliamente utilizados. Todas las penicilinas comparten la estructura básica del ácido 6-aminopenicilánico (figura 1). Hay un anillo de tiazolidina enlazado a un anillo β -lactámico que lleva un grupo amino secundario (R-NH-). Se pueden agregar diferentes radicales ácidos al grupo amino y ser separados de éste por amidasas bacterianas (Jawetz *et al.*, 1992).

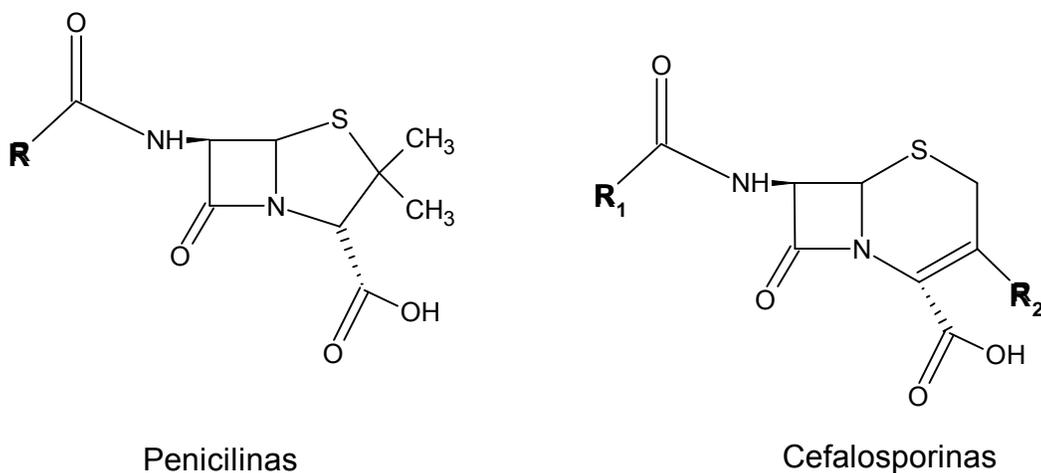


Figura 1. Estructuras básicas de los antibióticos β -lactámicos.

La integridad estructural del núcleo del ácido 6-aminopenicilánico es esencial para la actividad biológica de las penicilinas. La transformación metabólica o alteración química de esta región de la molécula produce la pérdida de toda actividad bacteriana de las penicilinas. La cadena lateral determina muchas de las

características antibacterianas y farmacológicas de un tipo particular de penicilina (Prescott *et al.*, 2004).

No se conoce por completo el mecanismo de acción de las penicilinas. Sus estructuras se parecen a la D-alanil-D-alanina terminal que se encuentra en la cadena lateral peptídica de la subunidad del peptidoglicano. Se ha propuesto que la penicilina inhibe la enzima responsable de la reacción de transpeptidación por su similitud estructural, que bloquearía la síntesis de un peptidoglicano completo con todos sus enlaces transversales, lo que llevaría a la lisis osmótica de la célula bacteriana. El mecanismo es congruente con la observación de que las penicilinas solamente actúan sobre bacterias en crecimiento que están sintetizando nuevo peptidoglicano (Prescott *et al.*, 2004).

La etapa inicial de la acción de la penicilina es la unión del fármaco a los receptores celulares. Estos receptores son las proteínas fijadoras de penicilinas (PBPs), alguna de las cuales son enzimas implicadas en las reacciones de transpeptidación. Pueden existir de 3 a 6 (a veces más) PBPs. Una vez unida la molécula de penicilina a los receptores, se inhibe la síntesis de peptidoglicanos conforme se bloquea la transpeptidación. Esto es, activan las enzimas autolíticas en la pared celular y causan la lisis de la célula (Jawetz *et al.*, 1992).

Las penicilinas clínicamente importantes se agrupan principalmente de la siguiente manera: 1) Las de mayor actividad contra microorganismos Gram positivos, espiroquetas y algunos otros, pero susceptibles a hidrólisis por β -lactamasas y lábiles a los ácidos, por ejemplo la bencilpenicilina (penicilina G). 2) Las de resistencia relativa a β -lactamasas, pero menor actividad contra microorganismos Gram positivos e inactivas contra Gram negativos, tal como la nafcilina. 3) Las de actividad relativamente grande contra microorganismos Gram positivos y Gram negativos pero destruidas por β -lactamasas, entre las que tenemos la ampicilina y piperacilina. 4) Las

de estabilidad relativa al ácido gástrico y adecuadas para administrar por vía oral, como son: la fenoximetilpenicilina (penicilina V), cloxacilina y amoxicilina (Jawetz *et al.*, 1992).

El ácido clavulánico, la penicilina G, penicilina V, ampicilina y la amoxicilina, son algunos de los antibióticos β -lactámicos que pertenecen al grupo de las penicilinas. Son muy activos contra bacterias Gram positivas, pero su actividad contra algunas bacterias Gram negativas como la *Klebsiella sp.* y *Pseudomona aeruginosa* no es suficiente (Basolo y Johnson, 1964; Joklik *et al.*, 1995). Sin embargo, la inclusión de diferentes grupos químicos en la cadena lateral ha dado compuestos de elevada actividad terapéutica y en otros casos de baja toxicidad (figura 2) (Huheey *et al.*, 1997).

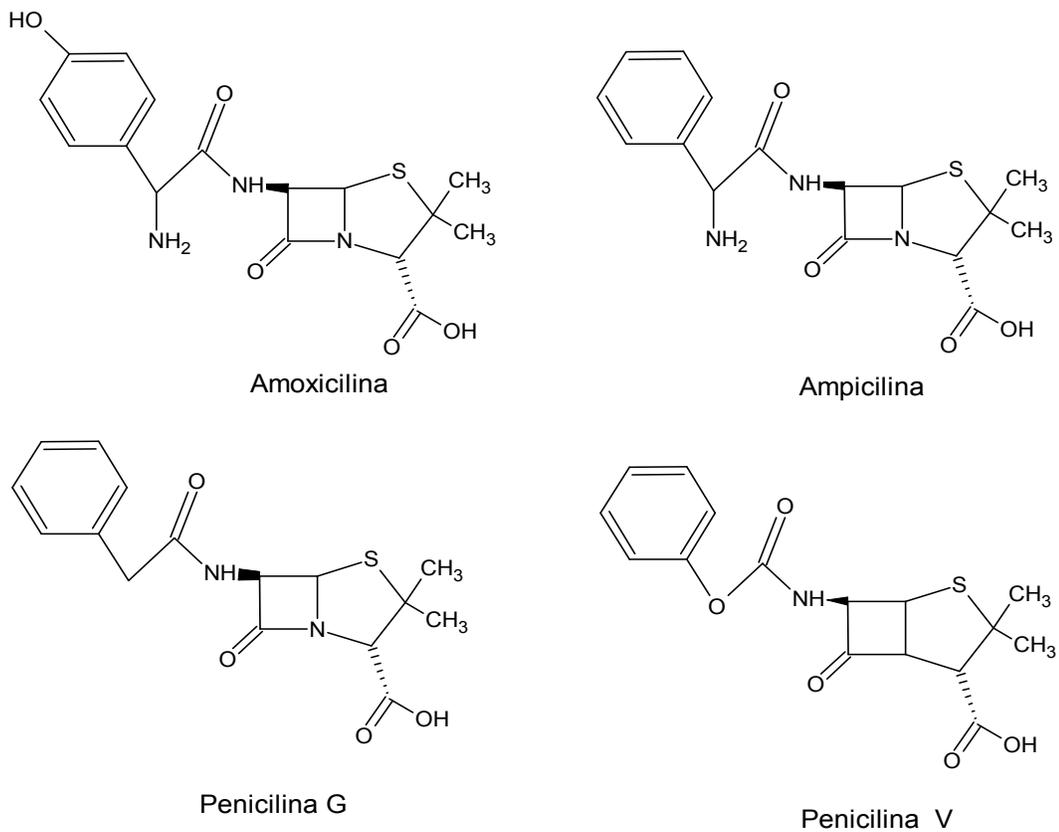


Figura 2. Estructura de las penicilinas más conocidas.

Las aminopenicilinas que poseen un grupo amino libre, tienen una actividad antibacteriana semejante, entre las que destacan la ampicilina, la amoxicilina y sus congéneres. Su espectro de acción es muy grande, pero son sensibles a las β -lactamasas. Se administran en casos de infecciones respiratorias de las vías altas por estreptococos (sobre todo, *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus pneumoniae*) y por cepas de *Haemofilus influenzae*, infecciones urinarias por ciertas enterobacterias (como *Escherichia coli* y diversas infecciones generadas por *Streptococcus faecalis*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. y *Listeria monocytogenes*) (Gilman *et al.*, 1991).

La amoxicilina es una aminopenicilina semisintética, penicilinasasensible, que se caracteriza por presentar un anillo β -lactámico unido a un anillo sulfonado de cinco miembros (tiazolidina). El agente es estable en ambiente ácido y está preparado para su uso oral. Se absorbe en forma más rápida y completa en el tracto gastrointestinal que la ampicilina, siendo ésta la mayor diferencia entre ambas (Gilman *et al.*, 1991). En la a figura 3 se observa la distribución de las distintas formas de amoxicilina a diferentes pH, mientras que la figura 4 muestra los diferentes equilibrios que presenta la amoxicilina en solución.

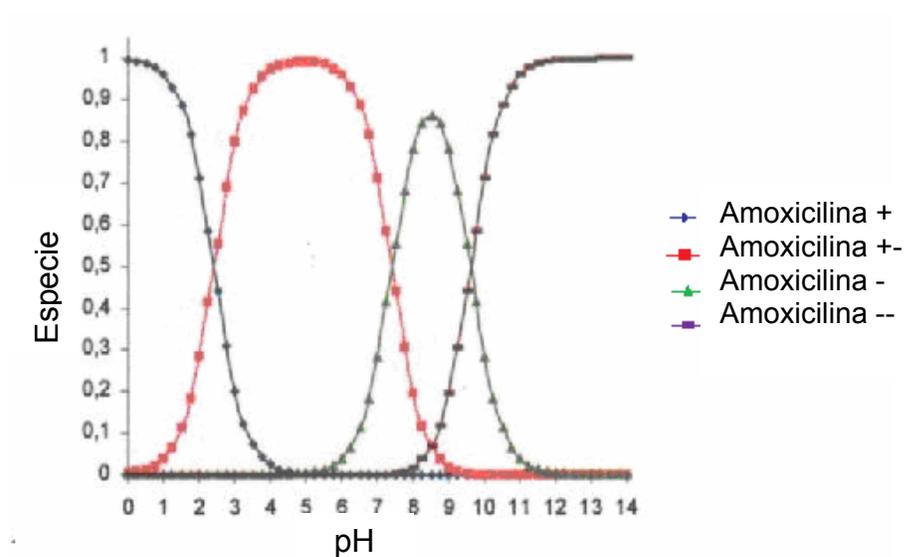


Figura 3. Distribución de especies de amoxicilina a diferentes pH.

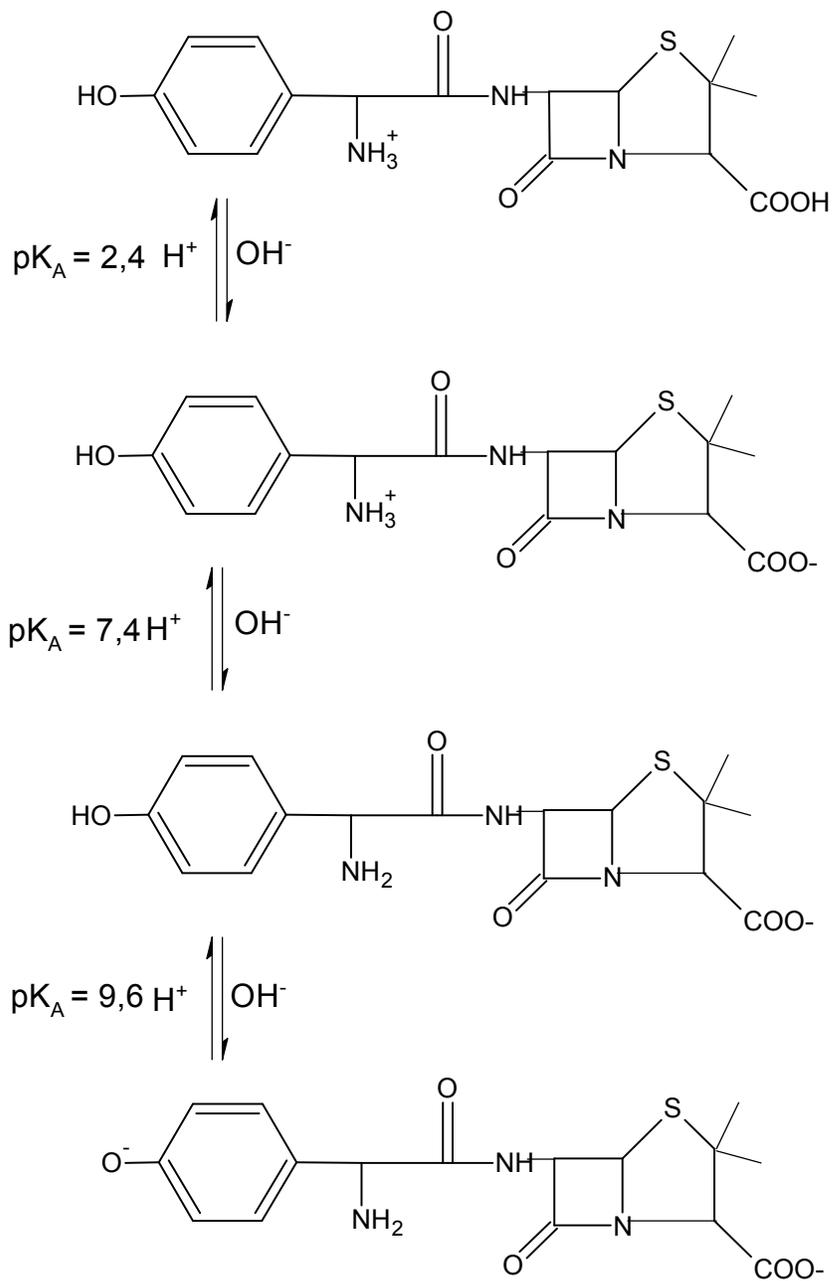


Figura 4. Diferentes equilibrios de la amoxicilina en solución.

Las β -lactamasas plasmídicas de Gram negativos producen un alto nivel de resistencia y están muy extendidas sobre todo entre las enterobacterias, algunas son de amplio espectro y confieren resistencia en la práctica a la totalidad de los antibióticos β -lactámicos. Desde que se puso de manifiesto la importancia de las β -lactamasas, se buscaron inhibidores de estas enzimas incluyéndose en este término diferentes compuestos químicos, entre los que destacan ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam, sin embargo ya se han detectado una nueva clase de β -lactamasas que confiere resistencia a estos inhibidores (Gómez et al., 1992).

Como estrategia para potenciar la resistencia a las β -lactamasas, la amoxicilina se administra acompañada de ácido clavulánico, ésta sustancia es inhibidor potente de éstas enzimas bacterianas y puede proteger a la amoxicilina de ser inactivada por las mismas pero posee actividad antibacteriana muy débil, y es por esto que se presentan acompañadas (Jawetz et al., 1992). La amoxicilina es indicada para el tratamiento de un gran número de infecciones, incluyendo las del tracto respiratorio, digestivo, genitourinario, sistema nervioso, así como en estomatología y durante la erradicación de *Helicobacter pylori* en casos de úlcera péptica (Gilman et al., 1991).

La amoxicilina inhibe la enzima transpeptidasa al enlazarse a su sitio activo, inhibiendo así la formación de uniones cruzadas entre los componentes del mucopéptido en la formación de la pared celular (Collinson y Fenton, 1996).

Con la aparición de los antimicrobianos, hace más de 60 años, cambió el curso de la historia de las enfermedades infecciosas; sin embargo, a pesar de los éxitos alcanzados por las medidas sanitarias preventivas y por el uso de éstos fármacos, siempre hubo preocupación, debido a que la introducción de un nuevo antimicrobiano iba seguida de resistencia bacteriana al mismo (Martin et al., 2002).

Desde un punto de vista práctico una bacteria es sensible a un antibiótico, cuando el antibiótico es eficaz frente a ella y se puede esperar la curación de la infección. Clásicamente y en clínica se considera que una cepa bacteriana es resistente a un antibiótico, cuando necesita para inhibirse, concentraciones de fármacos superiores a la concentración que el antibiótico puede alcanzar en el sitio de la infección (Pumarola et al., 1992). Para conseguir destruir o inhibir a los microorganismos, los antibióticos deben atravesar la barrera superficial de la bacteria y después fijarse sobre alguna de las estructuras o mecanismos bioquímicos que le son necesarios para multiplicarse o para sobrevivir (García et al., 1997).

Las bacterias, por su elevada capacidad de adaptación, pueden desarrollar mecanismos de resistencia frente a los antibióticos. Existe una resistencia natural o intrínseca en las bacterias como lo es la falta de pared en el *Mycoplasma* en relación con los β -lactámicos, así como también se encuentra la resistencia adquirida, debida a la modificación de la carga genética de la bacteria y puede aparecer por mutación cromosómica o por mecanismos de transferencia genética. Sin embargo, la resistencia más importante es la transmisible, estando mediada por plásmidos, transposones o integrones, que pueden pasar de una bacteria a otra (García y García, 1997; Martínez, 1997). El fenómeno de resistencia a los agentes antimicrobianos ha determinado que las compañías farmacéuticas concentren fuertemente su investigación biotecnológica en el desarrollo de nuevos fármacos (Soza et al., 1999).

Debido al mal uso de los diferentes grupos de antibióticos se han desarrollado bacterias resistentes a éstos, pudiendo deberse principalmente a cuatro causas: una de ellas es la modificación del antibiótico para inactivarlo, ya sea en forma química (por acetilación, fosforilación y/o adenilación) o por hidrólisis (β -lactamasas); también existe la modificación del sitio de acción del antibiótico, mediante mutaciones espontáneas en los genes que codifican para éstos ARN (ácido ribonucleico) polimerasa, mutaciones en el ARN ribosomal 23S). Las bacterias también se hacen

resistentes a los antibióticos debido al cambio en la permeabilidad de la bacteria debido a modificaciones de las proteínas de la membrana externa (porinas) y también por expulsión del antibiótico mediante la sobreproducción de bombas de eflujo, lo cual impide el acceso del antibiótico al sitio de acción de la bacteria (Daza, 1998; Silva, 2006).

Una misma bacteria puede desarrollar varios mecanismos de resistencia frente a uno o varios antibióticos y del mismo modo un antibiótico puede ser inactivado por distintos mecanismos de resistencia según las especies bacterianas, lo cual complica sobremanera el estudio de la resistencia de las bacterias a los distintos antimicrobianos. Un ejemplo reciente, es el descubrimiento de una nueva bacteria resistente a los antibióticos β -lactámicos en India, Pakistán e Inglaterra. Los investigadores han descubierto un nuevo gen llamado metallo-betalactamasa de Nueva Delhi, (NDM-1), en pacientes de Asia y el Reino Unido, que hace a las bacterias resistentes a la mayoría de los antibióticos β -lactámicos, incluida la clase más fuerte, llamada carbapenémicos, no habiendo nuevos fármacos para combatirlo. Con el auge de los viajes internacionales, en general, los científicos temen que esta nueva superbacteria se extienda pronto por todo el mundo (Kumarasamy et al., 2010). La referencia señala que el uso excesivo y erróneo de los antibióticos ha ayudado a incrementar las infecciones por superbacterias resistentes a los medicamentos, como es el caso de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina.

Uno de los mecanismos catalíticos en bioquímica y que más prevalece es el proceso que involucra iones metálicos unidos a enzimas, cuyos metales son cruciales para la vida en cantidades pequeñas. Un tercio de todas las enzimas conocidas requieren uno o más iones metálicos para funcionar correctamente (Stryer, 1992).

Los iones metálicos pueden estar estrechamente enlazados a la enzima (como un cofactor) o estar dentro o fuera del sitio de enlace con el sustrato. Las enzimas que

enlazan el metal fuertemente, son llamadas metaloenzimas, y los iones metálicos generalmente, los de de transición son: manganeso (II) (Mn^{2+}), cobre (II) (Cu^{2+}), hierro (II) (Fe^{2+}), hierro (III) (Fe^{3+}) o zinc (II) (Zn^{2+}). En este caso, el ión metálico usualmente participa en la reacción, orientando espacialmente la especie reaccionante, en reacciones de oxidación-reducción, o bien, brindando las cargas eléctricas necesarias a los productos intermedios (Budagumpi et al., 2009).

Existe un cierto número de antibióticos que requieren iones metálicos para funcionar adecuadamente, tal es el caso de la bleomicina, estreptonigrina y bacitracina. La coordinación de los iones metálicos en estos antibióticos juega un importante rol en mantener la estructura adecuada o el funcionamiento de ellos. La remoción de los iones metálicos desde estos complejos puede causar cambios en su estructura y además en su actividad (Stryer, 1992).

El enlace de los iones metálicos a las moléculas de antibióticos puede dar origen a cambios químicos y bioquímicos, sin afectar significativamente la estructura del antibiótico, tal es el caso de las tetraciclinas, antraciclinas y quinolonas (Zayed y Abdullah, 2005). Similar al caso de las metaloproteínas, los antibióticos unidos a metales pueden ser denominados metaloantibióticos. Ellos pueden unirse con diferentes clases de biomoléculas tales como ácido desoxirribonucleico (ADN), ARN, proteínas receptoras y lípidos modificando su bioactividad única y específica (Petri, 2003).

Además de los antibióticos de origen microbiano, varios derivados y complejos metálicos de ligandos sintéticos también muestran actividad antibacteriana, antifúngica y antineoplásica que amplían el término de metaloantibióticos (Petri, 2003). Los antibióticos pueden interactuar con una variedad de biomoléculas produciendo una inhibición de procesos bioquímicos o biofísicos asociados con la misma (Joklik et al., 1995).

Los iones metálicos que se encuentran fácilmente disponibles, pueden ser enlazados por los fármacos de la misma manera 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 farmacológicas y toxicológicas de un fármaco (Anacona, 2001). Los antibióticos β -lactámicos del grupo penicilina poseen varios átomos donadores potenciales pero debido a consideraciones estéricas, pueden proveer un máximo de dos o tres de ellos al mismo tiempo para coordinar al centro metálico (Anacona, 2001; Anacona y Estacio, 2006).

Las moléculas con grupos iminos $C=N$ llamadas bases de Schiff, son generalmente ligandos bi-dentados o tri-dentados capaces de formar complejos muy estables con metales de transición. Éstas moléculas junto con los complejos bases de Schiff, desempeñan un papel esencial en muchos procesos biológicos como reacciones de transaminación, descarboxilación, condensación, β -eliminación y racemización, siendo éstas sólo algunas de las reacciones conocidas que involucran un intermediario tipo base de Schiff (Kukhari et al., 1992). Ellas se forman por condensación entre una amina primaria y un grupo carbonilo activo, son llamadas así en honor a Hugo Schiff, quien fue el primero en reportar este tipo de complejo en el año 1864.

La reacción de formación de la base de Schiff es reversible, procediendo a través de la formación de una carbolamina intermediaria (Collinson y Fenton, 1996). Las bases de Schiff han jugado un papel muy importante en el desarrollo de la química de coordinación, en la formación de complejos sumamente estables con un gran número de metales de transición.

En el área de química bioinorgánica, el interés de las bases de Schiff se ha centrado en el rol que estos complejos pueden desempeñar como modelos de síntesis

de cefalosporinas aminadas y de enzimas que poseen sitios activos para iones metálicos (Anacona y Rodríguez, 2004, Anacona y Rodríguez, 2005; Anacona y Patiño, 2009).

El presente estudio engloba la síntesis de complejos metálicos con un ligando base de Schiff que contiene amoxicilina y salicilaldehído, para evaluar su actividad antibacteriana sobre bacterias patógenas. Constituye un aporte para que en un futuro sea posible, si no eliminar, al menos controlar de forma aún más efectiva las diferentes infecciones causadas por ciertos microorganismos.

METODOLOGÍA

Para la síntesis y obtención de la base de Schiff [(H₂amoxi-sal)(H₂O)₈] se utilizó el antibiótico de uso comercial, amoxicilina trihidratada, la cual fue lavada con una mezcla de solventes de diferentes polaridades (agua-dietiléter) con el fin de eliminar los excipientes presentes. Paralelamente, se disolvió en etanol el salicilaldehído. En la síntesis se utilizaron sales metálicas en forma de acetatos hidratados: acetato de níquel (II) tetrahidratado (Ni(CH₃COO)₂·4H₂O), acetato de zinc (II) dihidratado (Zn(CH₃COO)₂·2H₂O), acetato de cobre (II) monohidratado (Cu(CH₃COO)₂·H₂O) o nitrato de plata (AgNO₃), los cuales fueron disueltos en agua. Para lograr la síntesis de los complejos del ligando base de Schiff que contienen amoxicilina y salicilaldehído, se optimizaron las condiciones de temperatura, pH, concentración y tiempo de reacción con la finalidad de lograr un mejor rendimiento.

Los pasos requeridos para la obtención de los compuestos de coordinación se muestran a continuación.

Síntesis del ligando base de Schiff [(H₂amoxi-sal)(H₂O)₈] que contiene amoxicilina y salicilaldehído

Para la síntesis del ligando, se añadió 1 mmol de amoxicilina en un beaker de 50 ml con 10 ml de agua, se ajustó el pH aproximadamente a 8, con una solución acuosa de hidróxido de sodio (NaOH) 5 mol.l⁻¹ y se le adicionó 1 mmol de salicilaldehído, dejándose reaccionar por un tiempo aproximado de 30 min. Posteriormente la reacción fue sometida a una temperatura de 60°C por 15 min y luego se dejó secar a temperatura ambiente para obtener un precipitado amarillo que fue filtrado y lavado varias veces con etanol, con la finalidad de extraer las impurezas presentes. La figura 5 muestra la reacción (Anacona y Osorio, 2008).

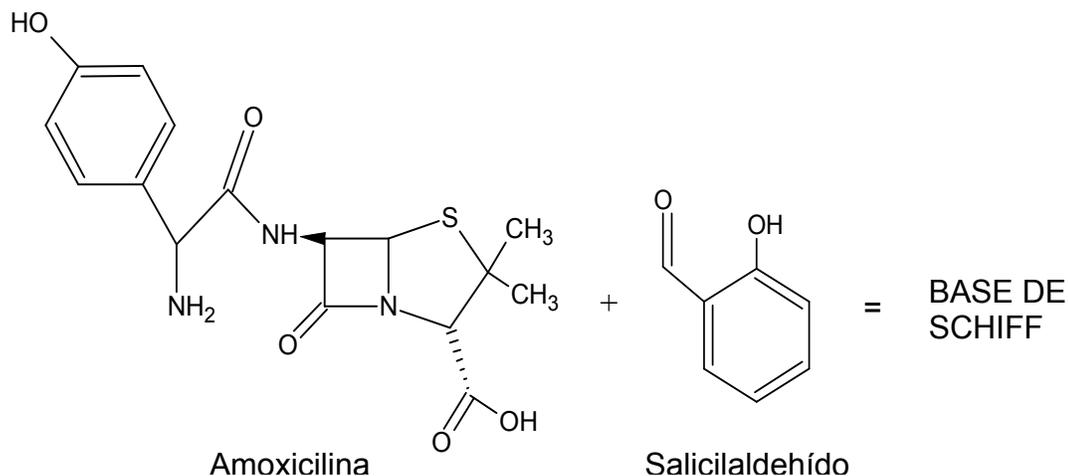


Figura 5. Esquema sugerido para la formación del ligando base de Schiff [(H₂amoxi-sal)(H₂O)₈].

Síntesis de los complejos metálicos con la base de Schiff

Se pesó 1 mmol de la base de Schiff previamente preparada, y se colocó en un beaker de 50 ml con 10 ml de agua. A esta solución se le agregó 1 mmol (Ni(CH₃COO)₂·4H₂O), (Zn(CH₃COO)₂·2H₂O), (Cu(CH₃COO)₂·H₂O) o nitrato de plata (AgNO₃), disueltos en agua.

La solución preparada se mantuvo en agitación durante un tiempo hasta la aparición de los precipitados de color específicos para cada complejo (Ión Cu (II) (Cu²⁺) verde, ión Ni (II) (Ni²⁺) amarillo, ión Zn (II) (Zn²⁺) blanco e ión Ag (II) (Ag²⁺) amarillo). Los precipitados fueron filtrados y lavados sucesivamente con etanol.

Finalmente, se secaron al vacío, con la excepción del compuesto 2 obtenido del AgNO₃, el cual se dejó secar al aire. Posteriormente fueron guardados en frascos pequeños estériles y rotulados a temperatura ambiente. La figura 6 muestra la reacción de formación de los complejos base de Schiff (Anacona y Osorio, 2008).

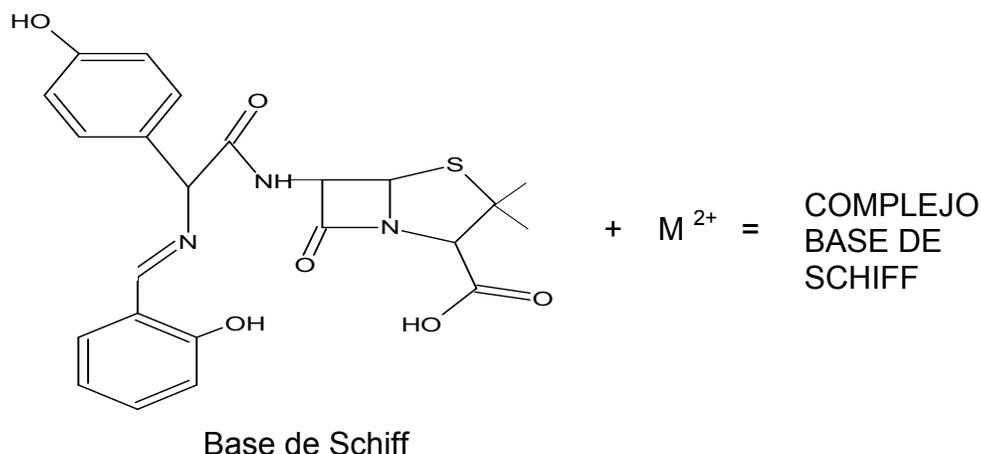


Figura 6. Esquema sugerido de formación de los complejos base de Schiff [M= Ni²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺ y Ag²⁺].

Análisis elemental

Se realizó el análisis de los compuestos sintetizados para determinar los porcentajes de carbono (C), nitrógeno (N), hidrógeno (H) y azufre (S), utilizando un analizador elemental marca LECO, modelo CHNS 932 (Skoog *et al.*, 2001). Estos análisis se llevaron a cabo en el Laboratorio de Química de Coordinación 306, del Departamento de Química de la Universidad de Oriente

Análisis térmico

Para apreciar el contenido de metal se pesaron muestras sólidas de los compuestos preparadas y fueron calcinadas alrededor de 1 100°C, por una hora en presencia de oxígeno atmosférico en un horno marca Thelco, modelo 17. (Skoog *et al.*, 2001).

Medidas de susceptibilidad magnética

Se realizaron medidas de susceptibilidad magnética a temperatura ambiente de

los compuestos mediante el empleo de una balanza de susceptibilidad magnética marca Johnson Matthey, para calcular el momento magnético de los compuestos formados. La balanza se calibró utilizando muestras pulverizadas de susceptibilidad conocida de sulfato de cobre (CuSO_4). A partir de las medidas reportadas en el equipo se calculó el momento magnético de los complejos sintetizados para determinar el número de electrones desapareados presentes en el compuesto (Skoog *et al.*, 2001).

Medidas de conductividad molar

Fueron realizadas en soluciones de $1 \times 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ utilizando dimetilsulfóxido (DMSO) como solvente y las mediciones se realizaron en un conductímetro (Russell, 1965), marca Orion 5 Star perteneciente al Departamento de Oceanografía del Instituto Oceanográfico de la Universidad de Oriente.

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 (KBr) en un espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo Spectrum 2000 con transformador de Fourier (Colthup *et al.*, 1990), perteneciente al Laboratorio de Química de Coordinación 306, del Departamento de Química de la Universidad de Oriente

Espectroscopia UV-Visible

Se prepararon soluciones de cada uno de los complejos sintetizados a una concentración de $1 \times 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$, y se midieron las absorbancias en un

espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo Lambda 11 (Mechan *et al.*, 1981), en el Departamento de Química de la Universidad de Oriente, laboratorio 331

Actividad antimicrobiana

Conocidas las características de los compuestos sintetizados, se evaluó la acción antibacteriana de dichos complejos a través de técnicas de sensibilidad por difusión y sensibilidad por dilución en discos (Lynch *et al.*, 1980; Koneman *et al.*, 2004) en cepas bacterianas nombradas a continuación: *E. coli* (25922), *P. aeruginosa* (27353), *S. aureus* (25923), *E. faecalis* (29212) y *S. epidermidis* (14990), certificadas por la Colección Americana de Especies y Tipos (ATCC).

Prueba de sensibilidad por difusión en agar

A partir de los cultivos de 24 horas de crecimiento de cada cepa bacteriana, se preparó un inóculo en 5 ml de solución salina fisiológica (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 toda la superficie del medio en tres direcciones perpendiculares.

Cada placa fue colocada en una estufa a 37°C, durante 10 minutos, para que la superficie del agar se secase antes de proceder a colocar los discos. Se seleccionó un número específico de placas y se incubaron a 37°C por un lapso de 24 horas, descartando de esta manera cualquier posible contaminante en los medios empleados.

Se prepararon taxos que contenían 400 µg de compuesto por disco. Para obtener esta cantidad se preparó una solución de 40 mg/ml (= 40 µg/µl) de cada uno de los compuestos sintetizados y de la amoxicilina, para lo cual se pesó 20 mg de los sólidos y se disolvieron en 0,5 ml de DMSO. Se impregnaron discos de papel Whatman N° 3 de 5 mm de diámetro, estériles, con 10 µl de las soluciones y se colocaron sobre la superficie del agar de cada uno de los cultivos de las diferentes cepas con la ayuda de una pinza estéril. Las placas fueron incubadas 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 los halos de inhibición alrededor del disco. La lectura de los halos de inhibición se realizó utilizando una regla graduada y los valores fueron expresados en milímetros. Con estos resultados se pudo establecer una comparación entre la capacidad bactericida de la amoxicilina comercial y la capacidad bactericida de los complejos metálicos preparados frente a las mismas cepas bacterianas (Lynch *et al.*, 1980; Koneman *et al.*, 2004).

Prueba de sensibilidad por difusión en agar a diferentes concentraciones

A partir de los cultivos puros de 24 horas de crecimiento, se tomó un inóculo y se suspendió en SSF estéril hasta alcanzar la turbidez correspondiente a un patrón Mc Farland 0,5. Cada una de las cepas fue sembrada sobre agar Mueller Hinton, en placa de Petri, utilizando un hisopo estéril impregnado de la suspensión respectiva.

Los discos de papel Whatman N° 3 de 5 mm de diámetro fueron impregnados con 10 µl de soluciones de amoxicilina y de cada uno de los compuestos sintetizados de concentración 40, 20, 10, 5 y 2,5 mg/ml para así poder obtener las cantidades de 400, 200, 100, 50 y 25 µg/disco, respectivamente.

Para la obtención de estas concentraciones se preparó una solución madre de 40

mg/ml de amoxicilina y de cada uno de los compuestos sintetizados, para ello se pesaron 20 mg de los sólidos y se disolvieron en 0,5 ml de DMSO. A partir de la solución madre se tomaron 250 μ l, que se mezclaron con 250 μ l de DMSO para tener una solución 2 de concentración 20 mg/ml. A partir de esta solución 2 fueron tomados 250 μ l los cuales fueron mezclados con 250 μ l de DMSO para tener una solución 3 de concentración 10 mg/ml y así sucesivamente. Los discos fueron impregnados con 10 μ l de las soluciones preparadas y con la ayuda de una pinza estéril y un mechero fueron colocados sobre la superficie de las placas con agar Mueller Hinton. Posteriormente se incubaron las placas por un lapso de 24 horas en la estufa a 37°C. La presencia de la actividad bacteriana de la amoxicilina y de los compuestos preparados fue detectada por la aparición de halos de inhibición alrededor del disco. La lectura de los diámetros se realizó empleando una regla graduada reportándose los valores en milímetros. Los complejos por ser insolubles en solventes orgánicos e inorgánicos comunes, fueron disueltos en DMSO (Lynch *et al.*, 1980; Koneman *et al.*, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis elemental

El análisis elemental del ligando base de Schiff y los complejos sintetizados que se muestran en la tabla 1, describe una relación aceptable entre los valores experimentales y los valores calculados (entre paréntesis) para cada uno de los compuestos. Los resultados estequiométricos muestran que en la base de Schiff la relación de la amoxicilina con el salicilaldehído es 1:1. Lo mismo sucede en la formación de los diferentes complejos en donde la proporción estequiométrica metal–ligando es 1:1.

Tabla 1. Análisis elemental de los complejos metálicos sintetizados con la base de Schiff.

Complejos	% C	% H	% N	% S	% M
[(H ₂ amoxi-sal)(H ₂ O) ₈]	(45,01) 45,20	(6,41) 6,38	(6,85) 7,15	(5,21) 4,89	-
[Ni(amoxi-sal)(H ₂ O) ₃]	(50,75) 50,24	(4,26) 4,14	(7,72) 7,43	(5,88) 6,02	(10,12) 10,36
[Cu(amoxi-sal)(H ₂ O) ₁₀]	(38,83) 38,55	(5,81) 5,44	(5,91) 6,13	(4,50) 4,72	(8,94) 9,15
[Zn(amoxi-sal)(H ₂ O) ₁₀]	(38,73) 38,52	(5,80) 5,64	(5,89) 5,72	(4,49) 4,28	(9,18) 7,40
[Ag ¹ (amoxi-sal)(H ₂ O)]	(46,54) 46,87	(3,91) 4,14	(7,08) 7,27	(5,39) 5,72	(18,19) 18,10
[Ag ² (amoxi-sal)(H ₂ O) ₆]	(40,41) 40,12	(4,87) 4,58	(6,15) 5,83	(4,68) 4,94	(15,80) 15,08

%C: porcentaje de Carbono; %H: porcentaje de Hidrógeno; %N: porcentaje de Nitrógeno; %S: porcentaje de Azufre; %M: porcentaje del Metal; [Ag¹(amoxi-sal)(H₂O)]: complejo 1 de plata; [Ag²(amoxi-sal)(H₂O)₆]: complejo 2 de plata.

Medidas de susceptibilidad magnética

En la tabla 2 se muestran los valores de susceptibilidad magnética del capilar con la muestra (R), la susceptibilidad magnética del capilar sin la muestra (R₀), la longitud del capilar (l), la susceptibilidad específica medida por gramos (X_g), la susceptibilidad molar calculada (X_m), tomando en cuenta las correcciones diamagnéticas del ligando utilizando las constantes de Pascal, y la diferencia entre el peso del capilar vacío con el capilar con muestra (Δm) (Russell, 1965).

$$X = \frac{C \cdot l (R - R_0)}{\Delta m \times 10^9}$$

Tabla 2. Medidas de susceptibilidad magnética de los complejos metálicos de la base de Schiff.

Complejos	(mg)	XR ₀	XR	l(cm)	X _g	X _m
[Ni(amoxi-sal)(H ₂ O) ₃]	59,8	-58	347	1,4	9,48x10 ⁻⁶	5 231,3x10 ⁻⁶
[Cu(amoxi-sal)(H ₂ O) ₁₀]	68,2	-57	77	1,4	2,75x10 ⁻⁶	1 531,4x10 ⁻⁶
[Zn(amoxi-sal)(H ₂ O) ₁₀]	65,0	-57	-55	1,4	0,04x10 ⁻⁶	22,1x10 ⁻⁶
[Ag ¹ (amoxi-sal)(H ₂ O)]	90,0	-57	520	1,2	7,72x10 ⁻⁶	4 362,2x10 ⁻⁶
[Ag ² (amoxi-sal)(H ₂ O) ₆]	91,0	-58	181	1,2	3,20x10 ⁻⁶	2 002,9x10 ⁻⁶

mg: peso de la muestra; XR₀: susceptibilidad magnética del tubo vacío; XR: susceptibilidad magnética del tubo con muestra; L: longitud de lamuestra en el tubo (cm); [Ag¹(amoxi-sal)(H₂O)]: complejo 1 de plata; [Ag²(amoxi-sal)(H₂O)₆]: complejo 2 de plata.

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

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

Donde:

X_M^{Corr} : susceptibilidad molar corregida utilizando las constantes de Pascal.

T: temperatura (K).

2,84: constante, para una sustancia constituida por centros paramagnéticos que no influyen recíprocamente (como en los compuestos de coordinación en que los ligandos aíslan los iones del metal entre sí), la susceptibilidad magnética sigue la ley de Curie, la cual establece:

$$X_M = C/T,$$

Donde

C: es la constante de Curie.

Si la susceptibilidad magnética (X_M) de un compuesto obedece a esta ley, el momento magnético (en magnetones de Bohr) puede ser calculado a partir de la siguiente expresión:

$$\mu_{\text{ef}} = (3K \cdot X_M \cdot T/N \cdot \beta^2)^{1/2} = 2,84 (X_M \cdot T)^{1/2}$$

Donde:

K es la constante de Boltzmann.

β : es el magnetón de Bohr

NA: es el número de Avogadro.

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

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

Donde:

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

El momento magnético efectivo (μ_{ef}) es una medida de interés para la caracterización de los complejos preparados. Conociendo este valor, se puede determinar el estado de oxidación del metal, el número de electrones desapareados y su posible estereoquímica (Angelici, 1979). En el presente caso, la correspondencia entre los valores medidos con los valores observados en compuestos octaédricos, sugiere que los complejos sintetizados poseen esta geometría en torno al metal.

Tabla 3. Momentos magnéticos de los complejos metálicos de la base de Schiff.

Complejos	μ_{ef} medidos	μ_{ef} teóricos	Electrones desapareados	μ_{ef} observados
[Ni(amoxi-sal)(H ₂ O) ₃]	3,7	2,8	2	2,9-3,9
[Cu(amoxi-sal)(H ₂ O) ₁₀]	2,1	1,7	1	1,9-2,1
[Zn(amoxi-sal)(H ₂ O) ₁₀]	0,9	0,0	0	0,0-0,0
[Ag ¹ (amoxi-sal)(H ₂ O)]	3,1	1,7	1	1,9-2,1
[Ag ² (amoxi-sal)(H ₂ O) ₆]	2,1	1,7	1	1,9-2,1

[Ag¹(amoxi-sal)(H₂O)]: complejo 1 de plata; [Ag²(amoxi-sal)(H₂O)₆]: complejo 2 de plata.

Espectroscopia ultravioleta-visible (UV-visible)

La espectroscopia UV-visible se utiliza, de manera general, en la determinación cuantitativa de los componentes de soluciones de iones de metales de transición y compuestos orgánicos altamente conjugados. El espectro de los complejos de metales de transición depende de la transición de electrones desapareados desde un estado fundamental hasta un estado excitado (Mechan *et al.*, 1981).

En la tabla 4 se resumen las transiciones de los espectros UV-visible de la amoxicilina y los complejos metálicos, disueltos en DMSO. Los espectros fueron tomados utilizando DMSO como solvente, ya que los compuestos sintetizados resultaron ser insolubles en otros solventes orgánicos. Las fuertes bandas d-d en los complejos sugieren la presencia de estructuras octaédricas. Los espectros UV-visible de la amoxicilina, salicilaldehído, base de Schiff y los complejos metálicos se aprecian desde la figura 7 a la 14.

Tabla 4. Resumen de los espectros UV-visible de la amoxicilina, la base de Schiff y los complejos metálicos.

Complejos	Transiciones electrónicas (nm)	
	En el ligando	En el metal
Amoxicilina	280-303	-
$[(H_2\text{amoxi-sal})(H_2O)_8]$	252	-
$[Ni(\text{amoxi-sal})(H_2O)_3]$	236-328-348	476
$[Cu(\text{amoxi-sal})(H_2O)_{10}]$	325-364-425	504
$[Zn(\text{amoxi-sal})(H_2O)_{10}]$	317-364-413	-
$[Ag^1(\text{amoxi-sal})(H_2O)]$	332-358-420	472-560
$[Ag^2(\text{amoxi-sal})(H_2O)_6]$	320-364-438	446

$[Ag^1(\text{amoxi-sal})(H_2O)]$: complejo 1 de plata; $[Ag^2(\text{amoxi-sal})(H_2O)_6]$: complejo 2 de plata.

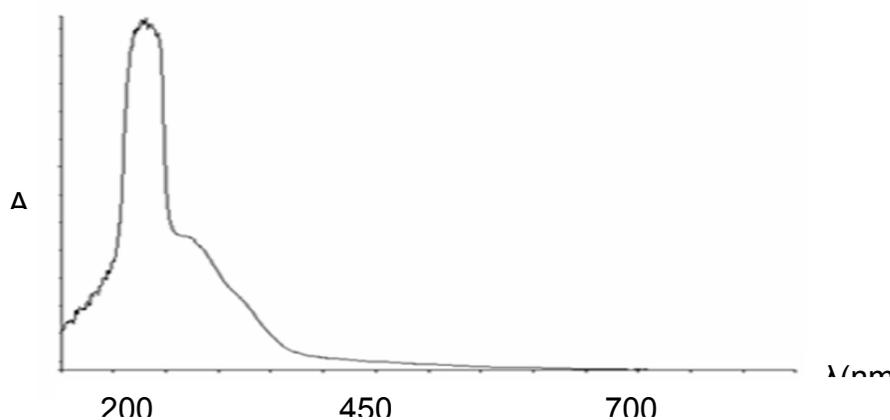


Figura 7. Espectro UV-visible de la amoxicilina.

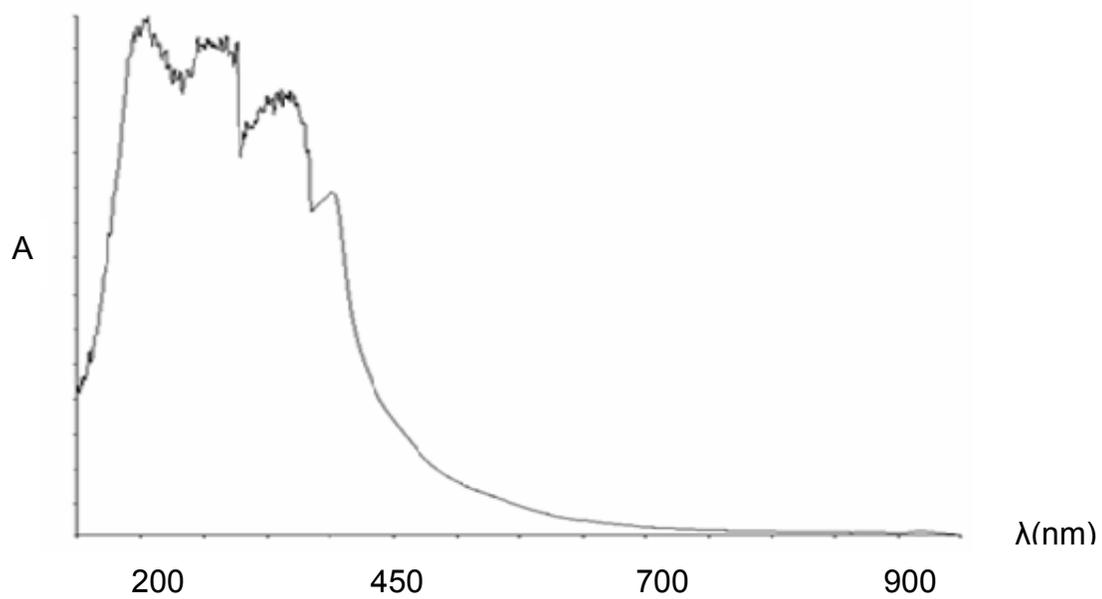


Figura 8. Espectro UV-visible del salicilaldehído.

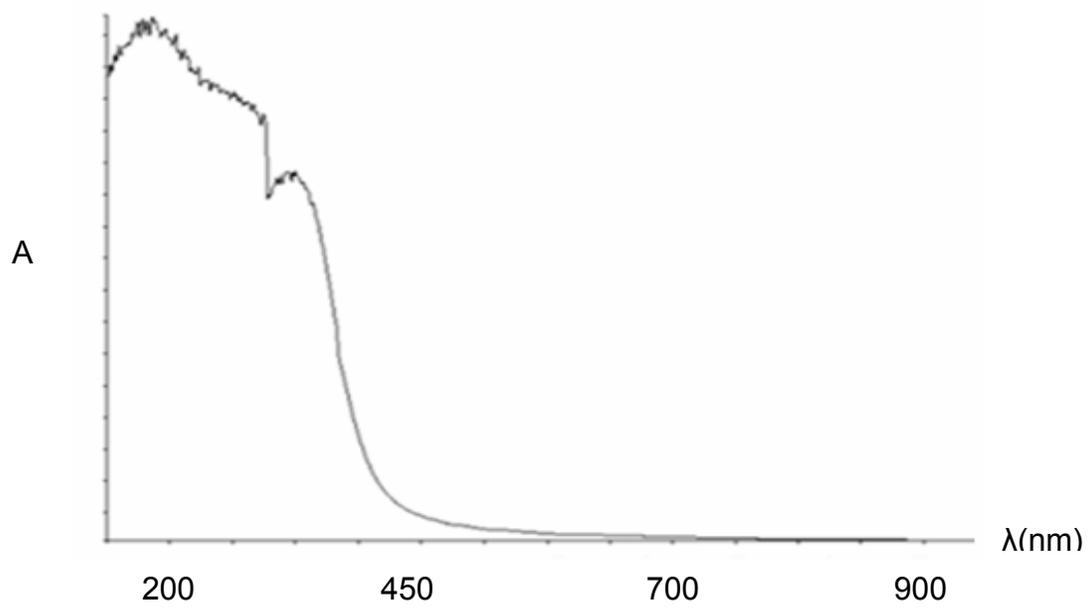


Figura 9. Espectro UV-visible de la base de Schiff

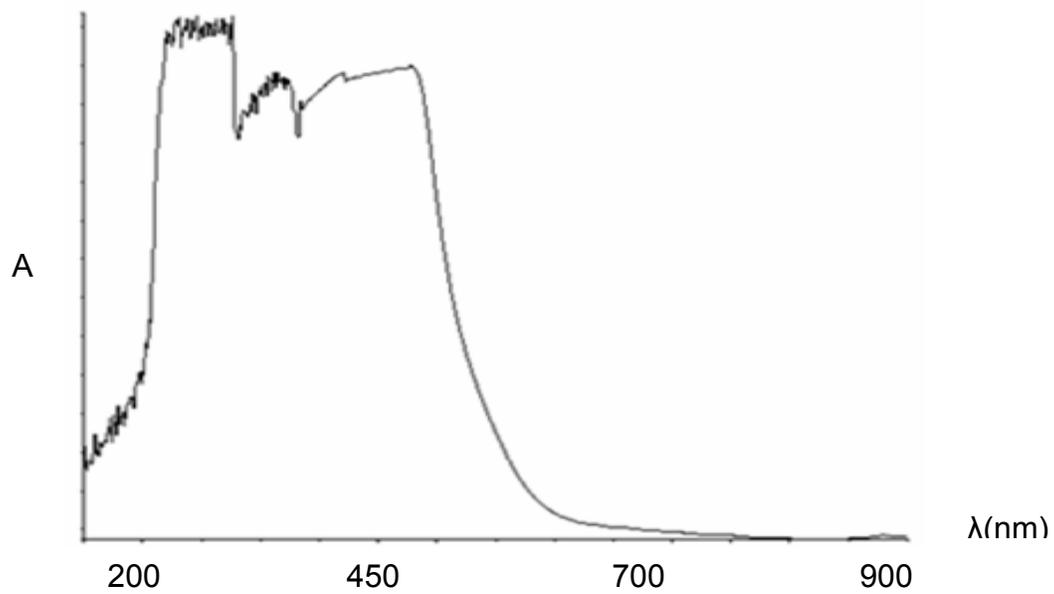


Figura 10. Espectro UV-visible del complejo $[\text{Ni}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_3]$.

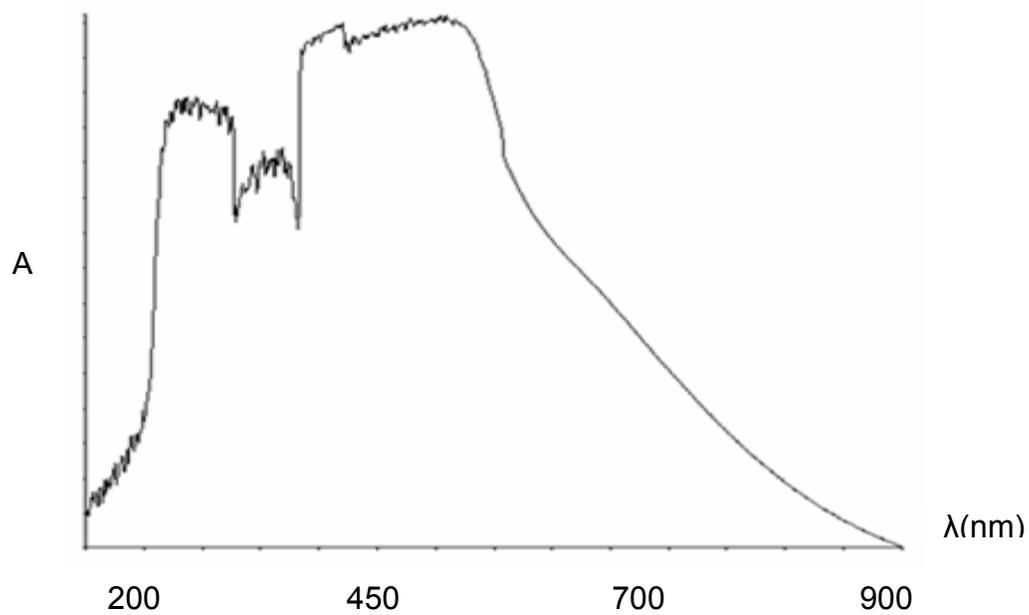


Figura 11. Espectro UV-visible del complejo $[\text{Cu}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_{10}]$.

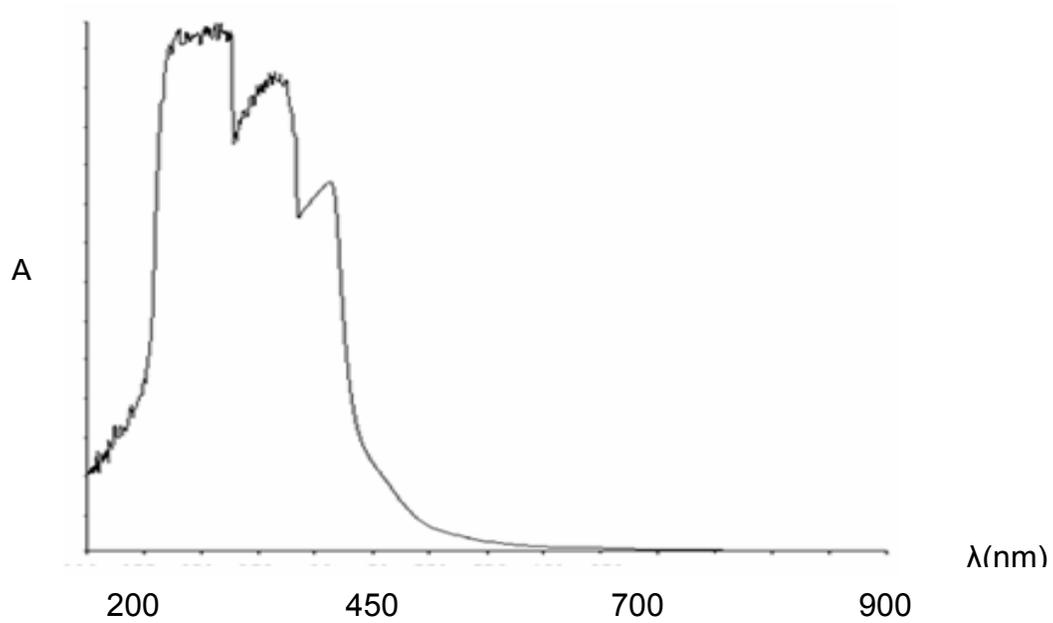


Figura12. Espectro UV-visible del complejo $[Zn(amoxi-sal)(H_2O)_{10}]$.

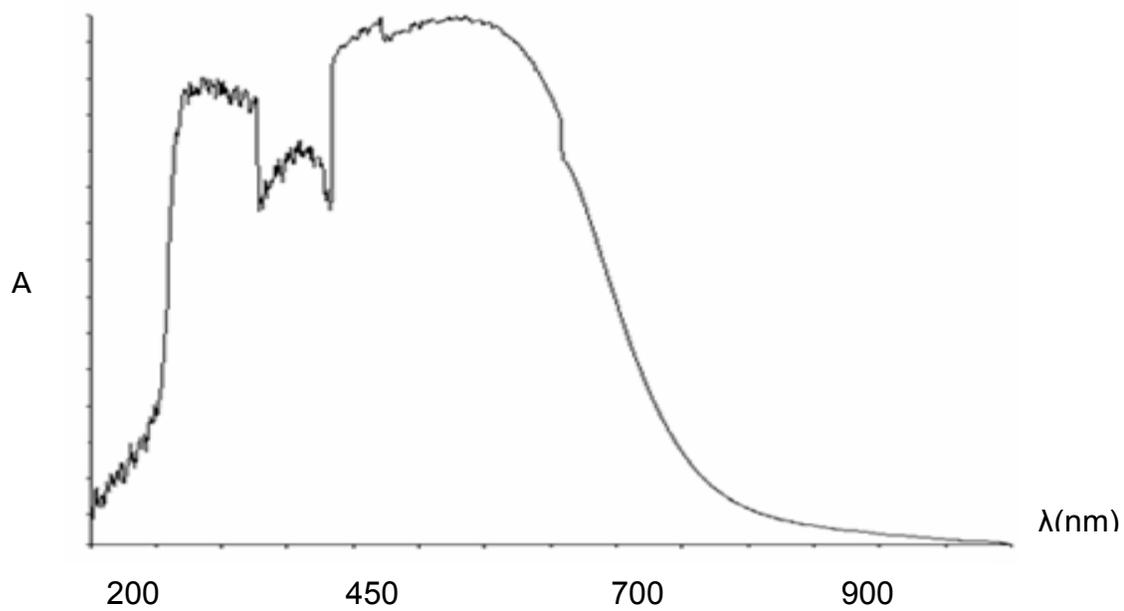


Figura 13. Espectro UV-visible del complejo $[Ag^1(amoxi-sal)(H_2O)]$.

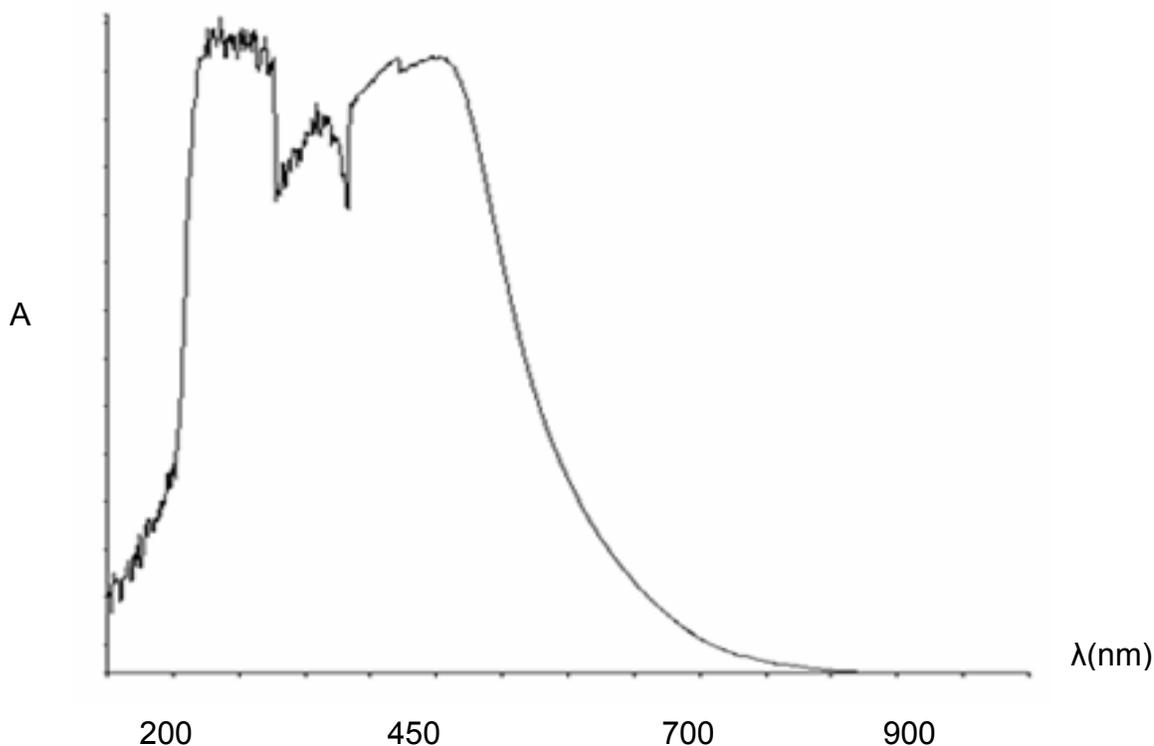


Figura 14. Espectro UV-visible del complejo $[Ag^2(amoxi-sal)(H_2O)_6]$.

Espectroscopia infrarroja (IR)

La espectroscopia infrarroja (IR) tiene su aplicación más inmediata en la detección de las moléculas presentes en un material. Cada molécula presenta un espectro IR característico, debido a que todas (excepto las especies diatómicas homonucleares) tienen algunas vibraciones que, al activarse, provocan la absorción a una determinada longitud de onda en la zona del espectro electromagnético correspondiente al infrarrojo (Silverstein *et al.*, 1981).

De esta forma, analizando cuales son las longitudes de onda que absorbe una sustancia en esta zona, se puede obtener información acerca de los grupos funcionales que componen dicha sustancia. Los valores de las bandas IR del antibiótico

amoxicilina, la base de Schiff y los complejos sintetizados se encuentran resumidas en la tabla 5. Los espectros relacionados se muestran desde la figura 15 a la figura 21.

Tabla 5. Principales bandas IR de la amoxicilina y sus complejos (cm^{-1}).

Complejos	$\nu(\text{C}=\text{O})$	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\nu(\text{COO})$	$\nu(\text{COO})$	$\Delta\nu(\text{COO})$
	amida	imino	asimétrico	simétrico	
$[(\text{H}_2\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_8]$	1670	1630	-	-	-
$[\text{Ni}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_3]$	1640	1600	1580	1380	200
$[\text{Cu}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_{10}]$	1660	1620	1600	1370	230
$[\text{Zn}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_{10}]$	1660	1620	1580	1380	200
$[\text{Ag}^1(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})]$	1650	1600	1580	1360	220
$[\text{Ag}^2(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_6]$	1640	1600	1550	1350	200

ν : frecuencia; $\Delta\nu$: diferencia de frecuencia, $[\text{Ag}^1(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})]$: complejo 1 de plata; $[\text{Ag}^2(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_6]$: complejo 2 de plata.

El espectro IR de la amoxicilina, que se muestra en la figura 15 presenta bandas de absorción a $1\ 780\ \text{cm}^{-1}$ correspondientes a la vibración stretching $\text{C}=\text{O}$ del anillo lactámico. De igual manera, se evidencia una banda de absorción que se encuentra a los $1\ 680\ \text{cm}^{-1}$ correspondiente al stretching $\text{C}=\text{O}$ del grupo amida del antibiótico.

La banda perteneciente al grupo lactámico de la amoxicilina que se presenta a los $1\ 780\ \text{cm}^{-1}$, desaparece en el espectro del ligando base de Schiff debido a la formación de puentes de hidrógeno, como se puede observar en la figura 16 y en los compuestos de coordinación, lo que sugiere que coordina a los metales. En el espectro infrarrojo de la base de Schiff se aprecia una banda de absorción próxima a $1\ 630\ \text{cm}^{-1}$ atribuidas a la tensión stretching $\text{C}=\text{N}-\text{R}$ del grupo imínico, evidenciando

de esta manera la formación de este grupo a partir del grupo lactámico del antibiótico de marca comercial empleado para la síntesis (amoxicilina).

En general, la base de Schiff, y los complejos metálicos presentan bandas semejantes en los espectros infrarrojos con algunas diferencias en la intensidad, junto con un ligero desplazamiento hacia la zona de menor energía al producirse la coordinación del ligando al metal. Esto se debe a que las frecuencia vibracionales activas en el infrarrojo del ligando varían cuando coordina al metal.

Las bandas correspondientes al stretching asimétrico y al stretching simétrico del grupo carboxilato COO de la molécula de acetato coordinada al metal que se observan desde la figura 17 a la figura 21, muestran desplazamientos en los compuestos de coordinación. La diferencia entre los números de onda de ambos stretching es de alrededor 200 cm^{-1} , lo que sugiere (Nakamoto, 1986), una coordinación del grupo carboxilato al metal a través de un solo átomo de oxígeno.

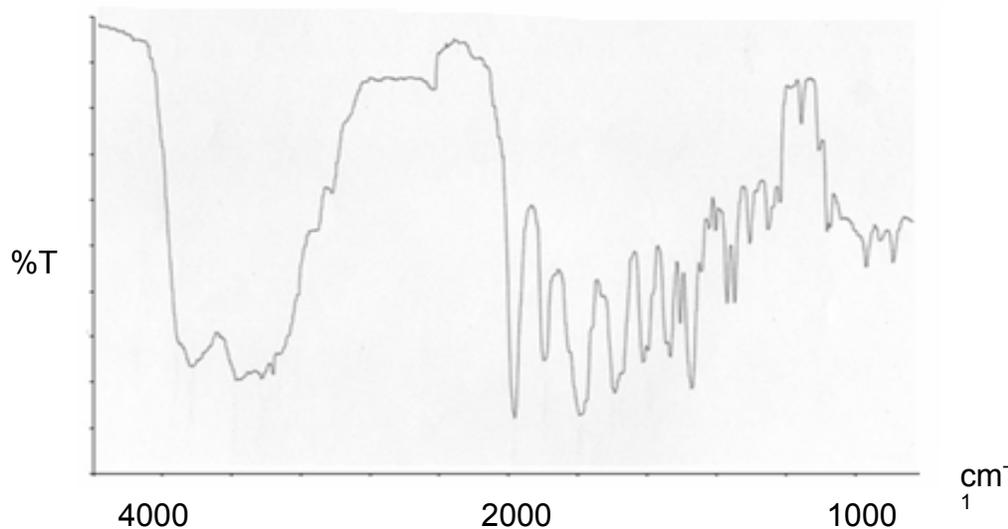


Figura 15. Espectro IR de la amoxicilina.

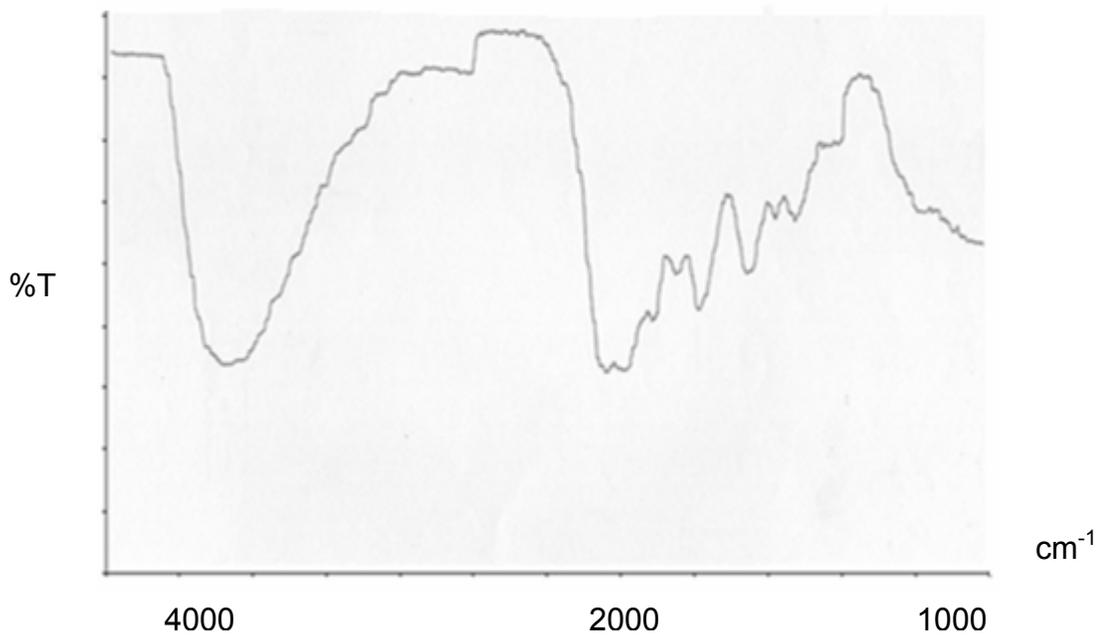


Figura 16. Espectro IR de la base de Schiff.

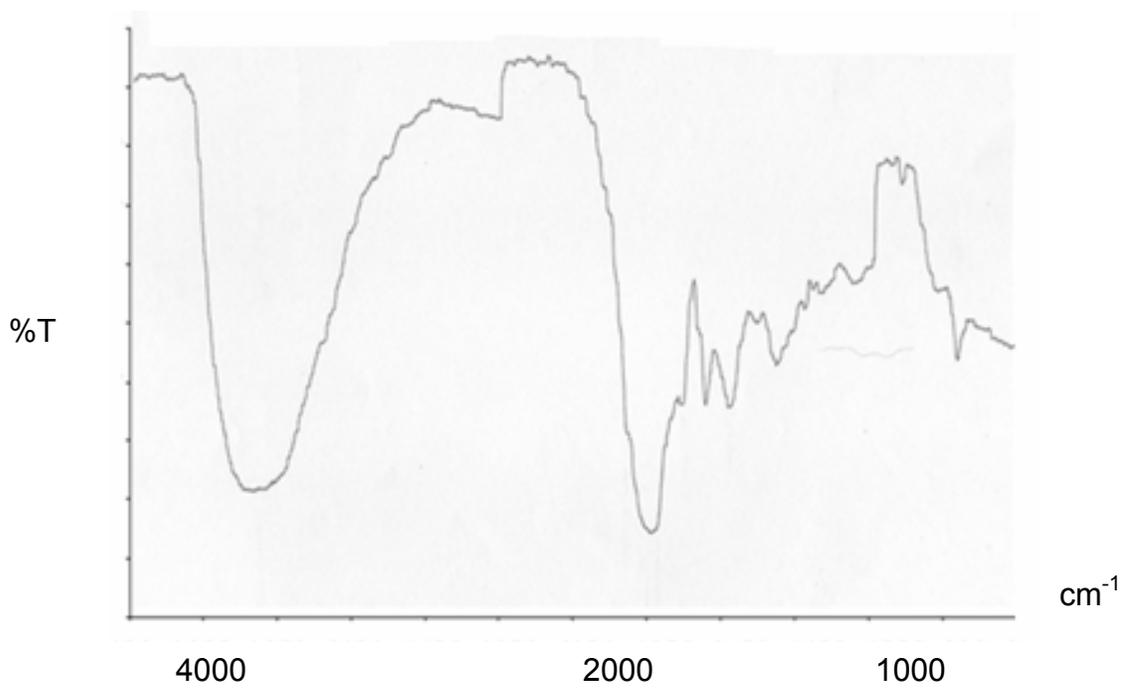


Figura 17. Espectro IR del complejo $[\text{Ni}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_3]$.

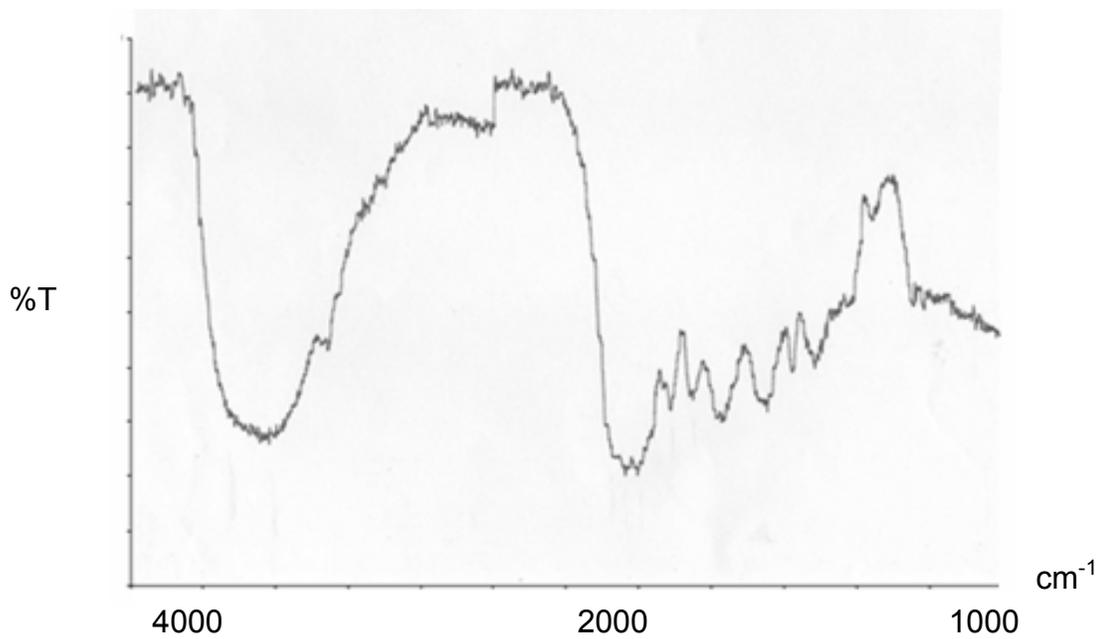


Figura 18. Espectro IR del complejo $[\text{Cu}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_{10}]$.

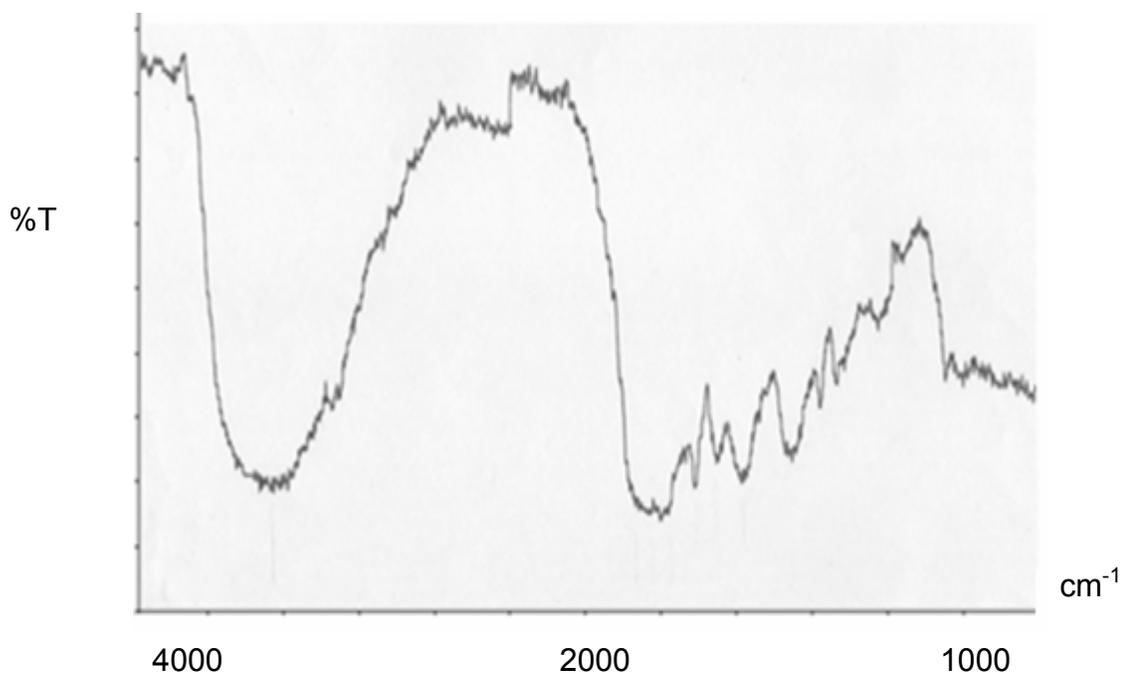


Figura 19. Espectro IR del complejo $[\text{Zn}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_{10}]$.

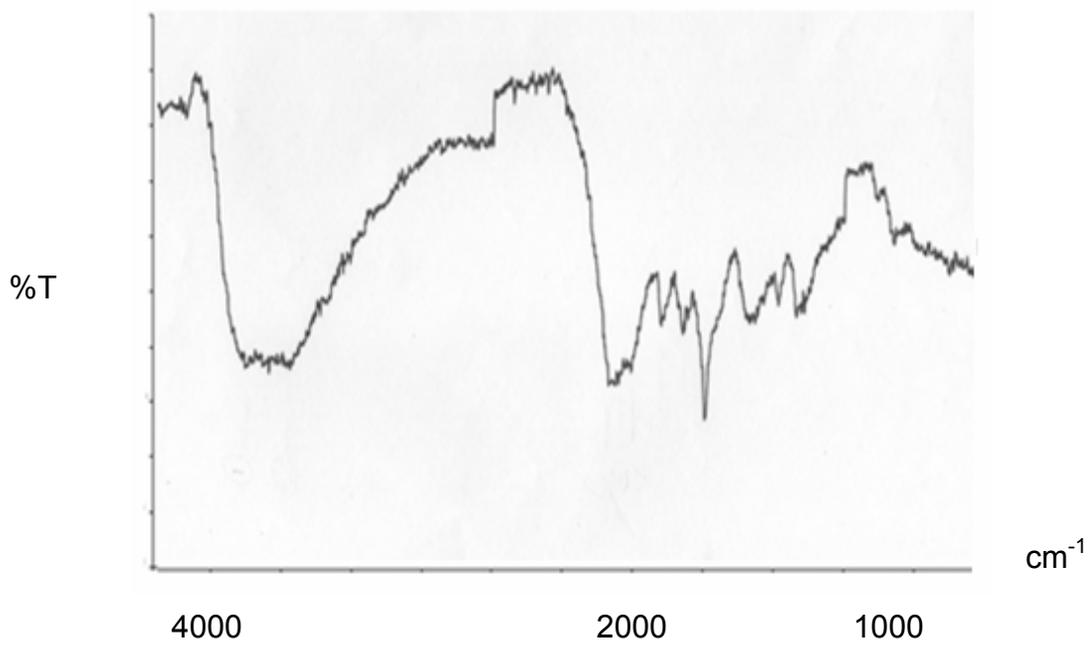


Figura 20. Espectro IR del complejo $[Ag^I(\text{amoxi-sal})(H_2O)]$.

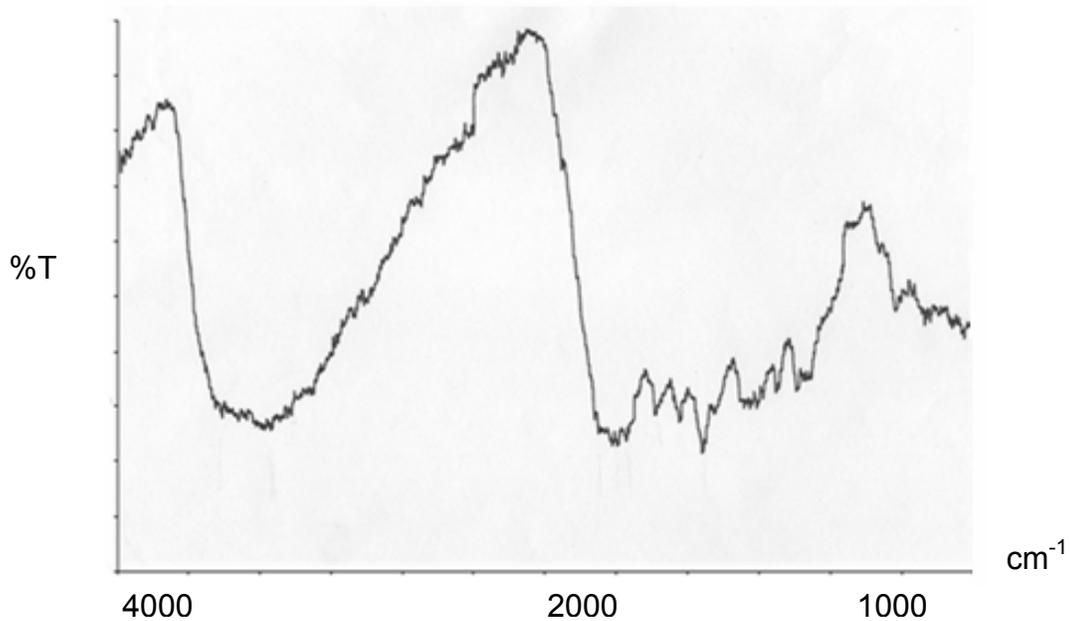


Figura 21. Espectro IR del complejo $[Ag^{II}(\text{amoxi-sal})(H_2O)_6]$

Medidas de conductividad molar

En la tabla 6, se muestran los valores de conductividad molar medidos para los complejos metálicos utilizando como solvente DMSO. Los valores de conductividad molar reflejan que el compuesto de Cu^{2+} sintetizado conduce la corriente eléctrica cuando está disuelto en DMSO, es decir se comporta como electrolito conductor 1:1. Las medidas observadas concuerdan con los valores sugeridos por Geary para electrolitos 1:1 en dimetilsulfóxido (Geary, 1971). Esto revela que dichos complejos poseen en su estructura química iones dissociables, en éste caso un ión acetato (Ac) que puede ser desplazado desde la esfera de coordinación, por el solvente utilizado. La presencia de iones dissociables sugiere que la base de Schiff se comporta como ligando monoaniónico, sin embargo, la presencia de impurezas no debería ser descartada. Los complejos de Ni^{2+} , Zn^{2+} y Ag^{2+} (complejo 1 de plata $[\text{Ag}^1(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})]$ y complejo 2 de plata $[\text{Ag}^2(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_6]$ son no conductores considerando los bajos valores de conductividad. La ausencia de iones dissociables en éstos complejos sugiere que la base de Schiff se comporta como un ligando dianiónico.

Tabla 6. Conductividad molar de los complejos metálicos con la base de Schiff

Complejo	Λ ($\text{S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$)	T($^{\circ}\text{C}$)	Tipo de electrolito
$[(\text{H}_2\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_8]$	23,60	28,1	Conductor
$[\text{Ni}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_3]$	4,47	28,1	No conductor
$[\text{Cu}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_{10}]$	21,84	28,0	Conductor leve
$[\text{Zn}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_{10}]$	7,12	28,5	No conductor
$[\text{Ag}^1(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})]$	19,47	27,3	No conductor
$[\text{Ag}^2(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_6]$	15,05	28,5	No conductor

Λ m: conductividad molar, T: temperatura, S: siemens (ohm^{-1}); $[\text{Ag}^1(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})]$: complejo 1 de plata; $[\text{Ag}^2(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_6]$: complejo 2 de plata.

Análisis térmico

Existe una buena correspondencia entre los valores medidos y los esperados del contenido metálico en los complejos, considerando la formación de óxidos metálicos del tipo óxidos metálicos (MO) que confirman la relación 1:1 metal/base Schiff. En la tabla 7 se muestran los resultados de análisis térmico realizado a una temperatura de 1 100°C.

Tabla 7. Análisis térmico de los complejos metálicos con la base de Schiff.

Complejos	Masa inicial (mg)	Masa final (mg)	%metal medido	%metal teórico
[Ni(amoxi-sal)(H ₂ O) ₃]	16,9	2,2	10,12	10,36
[Cu(amoxi-sal)(H ₂ O) ₁₀]	16,4	1,9	8,94	9,15
[Zn(amoxi-sal)(H ₂ O) ₁₀]	15,2	1,4	9,18	7,40
[Ag ¹ (amoxi-sal)(H ₂ O)]	14,9	3,1	18,19	18,10
[Ag ² (amoxi-sal)(H ₂ O) ₆]	14,3	2,4	15,80	15,08

[Ag¹(amoxi-sal)(H₂O)]: complejo 1 de plata; [Ag²(amoxi-sal)(H₂O)₆]: complejo 2 de plata.

En la figura 22 se puede visualizar una estructura generalizada de la estructura propuesta para la formación de los complejos metálicos base de Schiff, donde se puede observar la inclusión del metal (M).

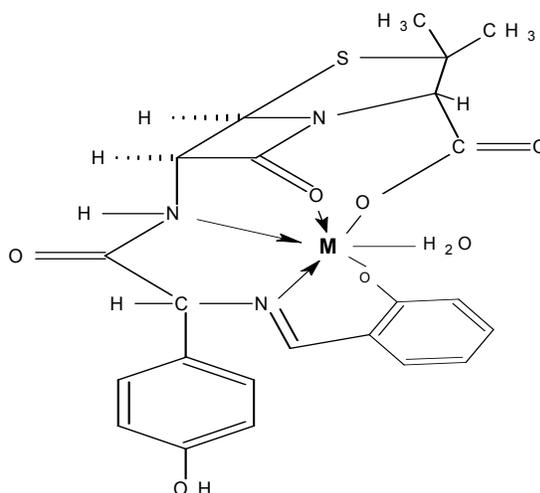


Figura 22. Estructura sugerida para los complejos metálicos con la base de Schiff [M= Ni²⁺, Zn²⁺, Ag²⁺].

Actividad biológica

El protocolo experimental para determinar la actividad antibacteriana, siguió la técnica en la cual se ensayaron diferentes concentraciones de extractos (o productos puros aislados previamente) sobre distintas bacterias y se observó la presencia o ausencia de halos de inhibición (Bauer et al., 1966).

Los resultados obtenidos de los ensayos realizados para determinar la posible actividad biológica de la amoxicilina comercial y de los compuestos sintetizados, según el método de difusión en disco, permite afirmar que algunos de los complejos sintetizados poseen acción antibacteriana sobre determinadas cepas ensayadas.

Tabla 8. Halos de inhibición en mm producidos por la amoxicilina y los complejos sintetizados ante las especies bacterianas ensayadas.

Complejos (400µg/disco)	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Amoxicilina	30	16	12	16	-
[(H ₂ amoxi-sal)(H ₂ O) ₈]	22	16	14	17	-
[Ni(amoxi-sal)(H ₂ O) ₃]	27	17	15	20	-
[Cu(amoxi-sal)(H ₂ O) ₁₀]	-	-	-	-	-
[Zn(amoxi-sal)(H ₂ O) ₁₀]	10	-	-	-	-
[Ag ¹ (amoxi-sal)(H ₂ O)]	17	10	9	10	16
[Ag ² (amoxi-sal)(H ₂ O) ₆]	17	14	12	13	15

[Ag¹(amoxi-sal)(H₂O)]: complejo 1 de plata; [Ag²(amoxi-sal)(H₂O)₆]: complejo 2 de plata.

La amoxicilina presentó actividad frente a cuatro de las cinco cepas ensayadas,

las cuales fueron *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *S. aureus* y *E. coli* (Tabla 8) teniendo una actividad máxima sobre la cepa *S. epidermidis*, con un halo inhibición de 30 mm y observándose una resistencia marcada de la cepa *P. aeruginosa*. Al evaluar la base de Schiff, la cual no contiene metales enlazados, se pudo observar que la mayor actividad antibacteriana obtenida en las cepas ensayadas fue en *S. aureus* y *E. coli* (figura 24) con halos de inhibición de 14 mm y 17 mm respectivamente, sobrepasando la actividad presentada por el antibiótico comercial por 2 mm para *S. aureus* y 1 mm *E. coli*.

Sin embargo, la base Schiff no presentó mayor actividad antibacteriana que la amoxicilina comercial en *E. faecalis*, donde los halos fueron de 16 mm, al igual que en la cepa *S. epidermidis* donde el halo formado fue de 22 mm, en ambas cepas inferior a la amoxicilina comercial.

El complejo $[\text{Ni}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_3]$ mostró una mayor actividad antibacteriana si es comparado con el antibiótico comercial en la cepas *E. faecalis*, *E. coli* (figura 23) y *S. aureus* (figura 24) y mostrando halos de inhibición de 17, 20 y 15 mm respectivamente, mayores que los halos presentados por el antibiótico comercial donde la inhibición fue de 16 mm para la cepa *E. faecalis*, 16 mm para *E. coli* y 12 mm para *S. aureus*.



Figura 23. Halos de inhibición de la amoxicilina, la base de Schiff y $[\text{Ni}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_3]$ frente a la cepa *E. coli* (ATCC 25922).



Figura 24. Halos de inhibición de la amoxicilina, la base de Schiff, $[\text{Ni}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_3]$, $[\text{Ag}^1(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})]$ y $[\text{Ag}^2(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_6]$ frente a la cepa *S. aureus* (ATCC 25923).

El complejo $[\text{Cu}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_{10}]$, no presentó actividad alguna frente a las cepas ensayadas, mientras que el complejo $[\text{Zn}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_{10}]$ presentó una mínima actividad frente a la cepa *S. epidermidis* de 10 mm, por lo tanto éstos dos complejos no obtuvieron resultados satisfactorios.

El complejo $[\text{Ag}^1(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})]$, no presentó mayor eficacia que el antibiótico comercial en cuatro de las cinco cepas ensayadas, mostrando halos inferiores al antibiótico; cabe destacar que para la cepa *P. aeruginosa*, produjo un halo de inhibición de 16 mm, lo cual evidencia una mayor actividad con respecto a la amoxicilina, cuya actividad es nula en ésta cepa. El complejo $[\text{Ag}^2(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_6]$ evidenció una buena actividad frente a la cepa *P. aeruginosa*, con un halo de inhibición de 15 mm; cabe destacar que ésta cepa presenta una resistencia natural frente a la amoxicilina, debido a su propiedad para producir enzimas que degradan al anillo β -lactámico, inactivando de ésta manera su mecanismo de acción, y por ello éstos resultados son satisfactorios.

En la tabla 9 se exponen los resultados obtenidos para la prueba de sensibilidad por difusión en agar a diferentes concentraciones.

Tabla 9. Halos de inhibición en mm de la amoxicilina, la base de Schiff y los complejos utilizando discos a diferentes concentraciones.

Complejos	Conc. µg/disco	<i>S.</i> <i>epidermidis</i>	<i>E.</i> <i>faecalis</i>	<i>S.</i> <i>aureus</i>	<i>E.</i> <i>coli</i>	<i>P.</i> <i>aeruginosa</i>
Amoxicilina	400	30	16	13	19	-
	200	27	12	12	18	-
	100	26	11	11	17	-
	50	25	10	10	16	-
	25	24	9	9	15	-
[(H ₂ amoxi-sal)(H ₂ O) ₈]	400	23	16	16	20	-
	200	22	14	15	17	-
	100	18	12	13	14	-
	50	15	-	11	-	-
	25	-	-	6	-	-
[Ni(amoxi-sal)(H ₂ O) ₃]	400	27	17	15	16	-
	200	25	14	12	14	-
	100	20	-	11	-	-
	50	15	-	10	-	-
	25	14	-	2	-	-
[Cu(amoxi-sal)(H ₂ O) ₁₀]	400	-	-	-	-	-
	200	-	-	-	-	-
	100	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-
[Zn(amoxi-sal)(H ₂ O) ₁₀]	400	10	-	-	-	-
	200	9	-	-	-	-
	100	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-
[Ag ¹ (amoxi-sal)(H ₂ O)]	400	17	10	9	13	16
	200	13	-	7	10	14
	100	11	-	-	-	10
	50	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-
[Ag ² (amoxi-sal)(H ₂ O) ₆]	400	20	14	12	13	16
	200	13	-	10	11	15
	100	11	-	6	7	12
	50	9	-	-	-	11
	25	-	-	-	-	-

[Ag¹(amoxi-sal)(H₂O)]: complejo 1 de plata; [Ag²(amoxi-sal)(H₂O)₆]: complejo 2 de plata; conc: concentración.

El antibiótico comercial presentó una buena actividad antibacteriana en las cepas *S. epidermidis* (figura 25), *S. aureus* (figura 26), *E. faecalis* y *E. coli* (figura 27), mostrando su mínima acción antibacteriana hasta 25 µg/disco, exceptuando a la cepa *P. aeruginosa*, la cual mostró resistencia en todas las concentraciones ensayadas.



Figura 25. Halos de inhibición de la amoxicilina ante la cepa *S. epidermidis* (ATCC 14990) a diferentes concentraciones.



Figura 26. Halos de inhibición de la amoxicilina frente a la cepa *S. aureus* (ATCC 25923) a diferentes concentraciones.



Figura 27. Halos de inhibición de la amoxicilina frente a la cepa *E. coli* (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.

La base de Schiff, presentó una buena actividad antibacteriana hasta 50 $\mu\text{g}/\text{disco}$ en las cepas *S. epidermidis* (figura 28) y *S. aureus* (figura 29). Cabe destacar que la cepa *E. coli* (figura 30) y *E. faecalis* presentaron su acción inhibitoria hasta 100 $\mu\text{g}/\text{disco}$. La cepa *P. aeruginosa* resultó ser resistente, al igual que en el antibiótico comercial.



Figura 28. Halos de inhibición de la base de Schiff frente a la cepa *S. epidermidis* (ATCC 14990) a diferentes concentraciones.



Figura 29. Halos de inhibición de la base de Schiff frente a la cepa *S. aureus* (ATCC 25923) a diferentes concentraciones.



Figura 30. Halos de inhibición de la base de Schiff frente a la cepa *E. coli* (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.

El complejo $[\text{Ni}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_3]$ evidenció una excelente acción inhibitoria ante las cepas *S. aureus* y *S. epidermidis* (figura 31) siendo su mínimo efecto bactericida a 25 $\mu\text{g}/\text{disco}$, la mínima empleada para ésta prueba, siendo menos efectiva en las cepas *E. faecalis* y *E. coli* (figura 32) donde tuvo su mínima acción a la concentración de 200 $\mu\text{g}/\text{disco}$. Cabe destacar que al igual que en el antibiótico comercial y la base, el complejo $[\text{Ni}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_3]$ mostró resistencia ante todas las concentraciones empleadas en la prueba frente a la cepa *P. aeruginosa*.



Figura 31. Halos de inhibición de $[\text{Ni}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_3]$ frente a la cepa *S. epidermidis* (ATCC 14990) a diferentes concentraciones.



Figura 32. Halos de inhibición de $[\text{Ni}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_3]$ frente a la cepa *E. coli* (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.

Los complejos $[\text{Cu}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_{10}]$ y $[\text{Zn}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_{10}]$, no mostraron resultados satisfactorios, debido a que en el complejo $[\text{Cu}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_{10}]$ no hubo sensibilidad alguna frente a ninguna de las cepas ensayadas al igual que en el $[\text{Zn}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_{10}]$, con excepción de la cepa *S. epidermidis*, donde mostró su efecto bactericida hasta 200 $\mu\text{g}/\text{disco}$.

Evaluando el complejo $[Ag^1(\text{amoxi-sal})(H_2O)]$ presentó su acción mínima a 100 $\mu\text{g}/\text{disco}$ para *S. epidermidis* (figura 33), 400 $\mu\text{g}/\text{disco}$ para *E. faecalis* y 200 $\mu\text{g}/\text{disco}$ para *S. aureus* y *E. coli* (figura 34), a pesar de que en dichas cepas no superó o igualó al antibiótico comercial, este complejo mostró excelentes resultados frente a la cepa *P. aeruginosa* surtiendo su efecto hasta 100 $\mu\text{g}/\text{disco}$.



Figura 33. Halos de inhibición de $[Ag^1(\text{amoxi-sal})(H_2O)]$ frente a la cepa *S. epidermidis* a diferentes concentraciones.



Figura 34. Halos de inhibición de $[Ag^1(\text{amoxi-sal})(H_2O)]$ frente a la cepa *E. coli* (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.

En cuanto al complejo $[Ag^2(\text{amoxi-sal})(H_2O)_6]$, se observó su acción hasta la concentración de 50 $\mu\text{g}/\text{disco}$ para la cepa *S. epidermidis*; 400 $\mu\text{g}/\text{disco}$ en la cepa *E.*

faecalis y de 100 µg/disco para las cepas *S. aureus* (figura 35) y *E. coli* (figura 36). Cabe destacar que este complejo resultó tener una mejor efectividad que el complejo $[Ag^1(\text{amoxi-sal})(H_2O)]$ frente a la cepa *P. aeruginosa* donde obtuvo su mínimo efecto a 50 µg/disco. Con respecto a los resultados obtenidos los complejos $[Ag^1(\text{amoxi-sal})(H_2O)]$ y $[Ag^2(\text{amoxi-sal})(H_2O)_6]$ revelan resultados satisfactorios, ya que muestran actividad antibacteriana y son estables frente al ataque de las β-lactamasas, cualidad que no muestra el antibiótico comercial.



Figura 35. Halos de inhibición de $[Ag^2(\text{amoxi-sal})(H_2O)_6]$ frente a la cepa *S. aureus* (ATCC 25923) a diferentes concentraciones.



Figura 36. Halos de inhibición de $[Ag^2(\text{amoxi-sal})(H_2O)_6]$ frente a la cepa *E. coli* (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.

Es importante señalar que el mecanismo de resistencia de las bacterias a los compuestos ensayados puede atribuirse al cambio en la masa molecular y la forma de la estructura, que contribuyen a la poca difusión del compuesto a través de la membrana bacteriana por transporte activo (Pelczar *et al.*, 1996). Otro factor que pudo disminuir la eficacia de la actividad antimicrobiana de los compuestos sintetizados, fue el hecho de que todos éstos fueron insolubles en solventes orgánicos e inorgánicos, por lo que se hizo necesario su disolución en DMSO, lo cual pudo no haber podido permitir la difusión en concentraciones y proporciones adecuadas de los complejos sobre la superficie del agar.

CONCLUSIONES

Se ha sintetizado una base Schiff mediante la reacción entre la amoxicilina y el salicilaldehído.

La base Schiff reaccionó con los metales Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} y Ag^{2+} para formar los complejos respectivos.

Los complejos metálicos de la base Schiff poseen la siguiente composición $[\text{Ni}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_3]$, $[\text{Cu}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_{10}]$, $[\text{Zn}(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_{10}]$, $[\text{Ag}_1(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})]$ y $[\text{Ag}_2(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_6]$.

En base a su comportamiento espectroscópico y fisicoquímico se puede sugerir que la base Schiff actúa como un ligando pentadentado monoaniónico y los complejos poseen estructuras octaédricas.

Se midió la actividad antibacteriana de la base Schiff y de los complejos metálicos frente a cepas certificadas utilizando las técnicas de difusión y dilución en discos.

El complejo base Schiff sobrepasa la actividad antimicrobiana de la amoxicilina comercial en las cepas *S. aureus* y *E. coli*.

El complejo $[\text{Ni}(\text{amoxi-sal})(\text{Ac})]$ presenta mayor actividad en *E. faecalis*, *S. aureus* y *E. coli* que el antibiótico comercial.

Los complejos $[\text{Ag}_1(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})]$ y $[\text{Ag}_2(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_6]$, superaron la actividad del antibiótico comercial frente a *P. aeruginosa*.

Los complejos [Ag1(amoxi- sal)(H₂O)] y [Ag2(amoxi-sal)(H₂O)₆], poseen una buena actividad bactericida frente a la cepa *P. aeruginosa*, tomando en cuenta que esta cepa presenta una resistencia natural frente a la amoxicilina.

BIBLIOGRAFÍA

Anaconda, J. 2001. Synthesis and antibacterial activity of metal complexes of beta-lactamic antibiotics. *J. Coord. Chem.*, 54: 355-365.

Anaconda, J. y Estacio, J. 2006. Synthesis and antibacterial activity of cefixime metal complexes. *Trans. Met. Chem.*, 31: 227-231

Anaconda, J. y Rodríguez, I. 2004. Synthesis and antibacterial activity of cephalexin metal complexes. *J. Coord. Chem.*, 57: 1263-1269.

Anaconda, J. y Rodríguez, A. 2005. Synthesis and antibacterial activity of ceftriaxone metal complexes. *Trans. Met. Chem.*, 30: 897-901.

Anaconda, J. y Osorio, I. 2008. Synthesis and antibacterial activity of cooper (II) complexes with sulphathiazole and cephalosporin ligands. *Trans. Met. Chem.*, 33: 517-521.

Anaconda, J. y Patiño, C. 2009. Synthesis and antibacterial activity of ceftazidime metal complexes. *J. Coord. Chem.*, 62: 613-621.

Angelici, J. 1979. Técnicas y síntesis en química inorgánica. Segunda edición. Editorial Reverte, S.A. Barcelona, España.

Atlas, R. 1990. Microbiología, fundamentos y aplicaciones. Editorial Continental. México DF.

Basolo, F. y Johnson, R. 1964. Coordination chemistry: The chemistry of metal complexes. WA. Benjamin. New York.

Bauer, A.; Kirby, W.; Sherris, J. y Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, 75: 993-996.

Budagumpi, S.; Shetti, U.; Kulkarni, N.; Revankar, V. 2009. Ligational behavior of a bidentate coumarin derivative towards Co^{2+} , Ni^{2+} , and Cu^{2+} : Synthesis, characterization, electrochemistry, and antimicrobial studies. *J. Coord. Chem.*, 62: 3961-3968.

Collinson, S. y Fenton, E. 1996. Metal complexes of bibracchial Schiff base macrocycles. *Coord. Chem. Rev.*, 148: 19-40.

Colthup, N.; Dalg, L. y Wiberle, S. 1990. Introduction to infrared and Raman Spectros Copy. Tercera edición. Academic press. San Diego.

Daza, R. 1998. Información terapéutica del sistema nacional de salud. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria, 22: 58-59.

García, J. y García, E. 1997. Eficacia in vivo. Resistencias bacterianas y antibioterapia, Madrid-Barcelona: editorial Doyma, S.A.

García, J.; Navarro, D. y Gimeno, C. 1997. Mecanismo de acción de los antibióticos. Tratamiento antimicrobiano. Madrid.

Geary, J. 1971. The use conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds. Coord. Chem. Rev., 7: 81.

Gilman, A.; Rall, T.; Nies, A. y Taylor, P. 1991. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Octava edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina.

Gómez R.; Gil, J, Castillo, J. y Rubio, M. 1992. Betalactamasas: su importancia para el clínico. Impacto de los inhibidores de beta-lactamasas en la susceptibilidad antibiótica de los patógenos más frecuentes. Madrid: Editorial Smith Kline&French.

Huheey, J.; Keiter, E. y Keiter, R. 1997. Química inorgánica. Editorial Oxford. México.

Jawetz, E.; Melnick, J. y Adelbery, E. 1992. Microbiología médica. Catorceava edición. Editorial El Manual Moderno. México.

Joklik, W.; Willett, H.; Amos, B. y Wilferf, C. 1995. Microbiología médica. Veinteava edición. Editorial Panamericana. Argentina.

Katsumy, B. 1991. Farmacología básica clínica. Cuarta edición. Editorial El Manual Moderno. México.

Koneman, E.; Allen, S.; Janda, W.; Schreckenberger, P. y Winn, W. 2004. Diagnóstico microbiológico. Quinta edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina.

Kukhari, I.; Arif, M.; Akbar, J. y Khan, A. 1992. Preparation, characterization and biological evaluation of schiff base transition metal complexes with cephradine. J. Biol. Sci., 8(4): 614-617.

Kumarasamy, K.; Toleran, M.; Walsh, T.; Karthikeyan, K.; Kumarasamy, MPhil.; Toleman, M.; Walsh, T.; Bagaria, J.; Butt, F.; Balakrishnan, R.; Chaudhary, U.; Doumith, M.; Giske, C.; Irfan, S.; Krishnan, P.; Kumar, A.; Maharjan, S.; Mushtaq, S.; Noorie, T.; Paterson, D.; Pearson, A.; Perry, C.; Pike, R.; Rao, B.; Ray, U. 2010. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological and epidemiological study. *The LANCET Infectious Diseases* 10: 597-602.

Lynch, M.; Rápale, S.; Mello, L.; Spare, P. Imwood, M. 1980. *Métodos de laboratorio 2. Segunda edición. Nueva Editorial Interamericana. México.*

Martin, N.; Carmona, O. y Guzmán, M. 2002. Efecto de inhibidores de β -lactamasas sobre la evolución de la resistencia a β -lactámicos en bacilos Gram negativos. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 22(1): 37-43.

Martínez, P. 1997. Integrones: nueva causa de resistencia a antibióticos. *Revista española de Quimioterapia*. 10: 191-194.

Mechan, E.; Elving, P. y Kolthoff, I. 1981. *Treatise on analytical chemistry. Segunda edición. New York: Editorial Interscience Encyclopedia.*

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

Petri Jr., W. 2003. Antimicrobianos: penicilinas, cefalosporinas y otros antibióticos. En: *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Goodman, A.; Hardman, J. y Limbird, L. (eds). McGraw-Hill Interamericana. México D.F.

Pelczar, M.; Reid, R. y Chan, E. 1996. *Microbiología . Cuarta edición. Libros. Editorial Mc Graw-Hill, México.*

Prescott, L.; Harley, J. y Klein, D. 2004. *Microbiología. Quinta edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. España.*

Pumarola, A.; Rodríguez, A.; García, R. y Piedrota, A. 1992. *Microbiología y parasitología médica. Segunda edición. Ediciones Científicas y Técnicas. España.*

Russell, S. 1965. *Physical methods in inorganic chemistry. Reinhold Publishing Corporation. New York.*

Silverstein, A.; Robert, M.; Clayton, G. y Morrill Terence. 1981. *Identificación espectrométrica de compuestos orgánicos. 2ª edición. Editorial Diana. México.*

Skoog, Douglas, A.; Holler, James F.; Nieman, Timothy, A. 2001. Principios de análisis instrumental. Quinta edición. Editorial McGraw-Hill. Madrid.

Silva, J. 2006. Resistencia a antibióticos. Rev. Lat. de Microbiol., 48(2): 105-112.

Soza, A; Riquelme, F.; Álvarez M.; Duarte, I.; Glasinovic J. y Arrese, M. 1999. Hepatotoxicidad por amoxicilina /ácido clavulánico: caso clínico Rev. méd., 127(12):1487-1491.

Stryer, L. 1992. Biochemistry. Tercera edición. W. H Freeman. New York.

Zayed, M. y Abdullah, S. 2005. Structure investigation of amoxicillin using mass spectrometry, thermal analysis and M-O calculation. Spectrochim. 61: 2231-2238.

HOJA DE METADATOS

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

Título	ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE COMPLEJOS BASE DE SCHIFF QUE CONTIENEN AMOXICILINA Y SALICILALDEHÍDO
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
	CVLAC	e-mail
Marpa M., Daniela A.		chachix_@510hotmail.com
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Amoxicilina, Salicilaldehído, Base de Schiff, Dimetilsulfóxido

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

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

Se sintetizó la base de Schiff [(H₂amoxi-sal)(H₂O)₈] mediante la reacción entre la amoxicilina comercial y el salicilaldehído. La base se hizo reaccionar con metales de la primera serie de transición para obtener los complejos [Ni(amoxi-sal)(H₂O)₃], [Cu(amoxi-sal)(H₂O)₁₀], [Zn(amoxi-sal)(H₂O)₁₀], [Ag₁(amoxi-sal)(H₂O)] y [Ag₂(amoxi-sal)(H₂O)₆]. La caracterización de los complejos se realizó utilizando técnicas de espectroscopia infrarroja, espectroscopia UV-visible, medidas de conductividad, susceptibilidad magnética, análisis elemental y análisis térmico. La actividad antibacteriana de los compuestos sintetizados fue ensayada frente a las cepas certificadas E. coli (ATCC 25922), E. faecalis (ATCC 29212), P. aeruginosa (ATCC 27853), S. aureus (ATCC 25923) y S. epidermidis. (ATCC 14990), utilizando las técnicas de difusión en agar y sensibilidad por difusión en agar a diferentes concentraciones. La base de Schiff y los complejos metálicos fueron más efectivos que el antibiótico comercial en algunas de las cepas empleadas. La base de Schiff superó la acción del antibiótico comercial para las cepas S. aureus y E. coli, mientras que el complejo [Ni(amoxi-sal)(H₂O)₃] tuvo mayor eficacia en E. faecalis (ATCC 29212), S. aureus (ATCC 25923) y E. coli (ATCC 25922). Los complejos [Ag₁(amoxi-sal)(H₂O)] y [Ag₂(amoxi-sal)(H₂O)₆] presentaron actividad frente a la cepa P. aeruginosa (ATCC 27853), a pesar de ser resistente natural a éste antibiótico.

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

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Anacona, Juan	ROL	CA <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	13.631.187
	e-mail	juanacona@hotmail.com
	e-mail	
Bastardo, Erasto	ROL	CA <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	10 460 754
	e-mail	ebastard@hotmail.com
	e-mail	
Michelli, Elvia	ROL	CA <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	8 644 673
	e-mail	elviamichelli@yahoo.com
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2011	06	10

Lenguaje: Spa

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

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Daniela_marpa.doc	Aplication/Word

Alcance:

Espacial : Internacional

Temporal: Temporal

Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciado en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo:

Licenciatura

Área de Estudio:

Bioanálisis

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

Universidad de Oriente

Derechos:

Yo Daniela Marpa como autora intelectual de esta tesis le doy el derecho a la Universidad de Oriente para divulgar esta tesis siempre y cuando resguardando la patente de industria y comercio si se diera el caso


AUTOR


TUTOR


JURADO 1


JURADO 2

POR LA SUBCOMISION DE TESIS:



