



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

SÍNTESIS DE COMPLEJOS METÁLICOS CON UN LIGANDO BASE DE
SCHIFF, QUE CONTIENE PENICILINA V Y 1,2 FENILENDIAMINA PARA LA
DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA
(Modalidad: Tesis de Grado)

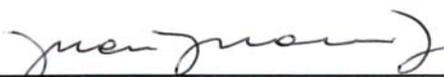
KAREN VICTORIA RUIZ FIGUERA

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

CUMANÁ, 2011

SÍNTESIS DE COMPLEJOS METÁLICOS CON UN LIGANDO BASE DE
SCHIFF, QUE CONTIENE PENICILINA V Y 1,2 FENILENDIAMINA PARA LA
DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

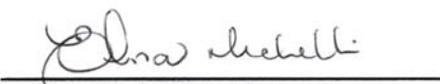
APROBADO POR:



Ph.D. Juan Roberto Anacona
Asesor



Prof. Liangel Brito
Jurado



Prof. Elvia Michelli
Jurado

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
LISTA DE TABLAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
RESUMEN.....	vi
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	12
Preparación del ligando base Schiff que contiene penicilina V y 1,2 fenilendiamina.	12
Síntesis de los complejos metálicos con la base de Schiff.....	13
Caracterización de la estructura química de los complejos metálicos sintetizados:	15
Análisis elemental	15
Análisis térmico	15
Medidas de susceptibilidad magnética.....	15
Medidas de conductividad molar	16
Espectroscopía Ultravioleta-visible	16
Espectroscopía infrarroja	16
Medidas de susceptibilidad antimicrobiana	16
Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar.....	17
Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por dilución en discos.....	18
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20

Análisis Elemental	20
Análisis térmico	21
Medidas de susceptibilidad magnética.....	21
Momentos magnéticos	22
Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-visible).....	24
Espectroscopía infrarroja	29
Medidas de conductividad molar	36
Fórmula estructural	36
Actividad biológica.....	37
CONCLUSIONES	48
HOJA DE METADATOS	53

DEDICATORIA

A

Dios mi creador y salvador, por colocar en mi camino las personas indicadas en el momento indicado.

Mi madre, Lourdes María Figuera, guía, luz y más grande representación de lealtad, confianza, entrega y amor infinito.

Mis hermanas Keyla Ruiz y Keysi Ruiz.

AGRADECIMIENTOS

A

El Dr. Juan Roberto Anacona, quien más que un asesor significará siempre ejemplo de entrega, dedicación, enseñanza y constancia.

La profesora Alina Bravo, y a los profesores del Departamento de Bioanálisis, que en calidad de instructores formaron parte de las bases para construir mi futuro.

El laboratorio general del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” de la ciudad de Cumaná, en especial al grupo que labora en el área de bacteriología clínica.

El laboratorio de tesis 306 del Departamento de Química de la Universidad de Oriente, donde mencionar un nombre sería egoísta, por ello agradezco a todas las generaciones de tesisistas que durante mi estadía conocí, y de los cuales recibí, parte de su tiempo y conocimientos.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Análisis elemental de los complejos metálicos.....	20
Tabla 2. Análisis térmico de los complejos metálicos.	21
Tabla 3. Medidas de susceptibilidad magnética de los complejos metálicos.	22
Tabla 4. Momentos magnéticos específicos (μ_{eff}) de los complejos metálicos.	24
Tabla 5. Transiciones electrónicas UV-visible de los complejos metálicos.	25
Tabla 6. Principales bandas IR de la penicilina V y de los complejos metálicos en cm^{-1}	29
Tabla 7. Conductividad molar de los complejos metálicos.....	36
Tabla 8. Halos de inhibición en mm producidos por la penicilina V y los complejos sintetizados, frente al grupo de bacterias ensayadas.	38
Tabla 9. Halos de inhibición en mm producidos por la penicilina V y los complejos sintetizados empleando discos a diferentes concentraciones.....	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura básica de las penicilinas.	3
Figura 2. Fórmulas estructurales de las penicilinas más conocidas.	5
Figura 3. Fórmulas estructurales sugeridas para los complejos de penicilina.	10
Figura 4. Fórmula estructural de los complejos de amoxicilina que contienen la base de Schiff amoxicilina – salicilaldeido.	10
Figura 5. Mecanismo de formación de una base de Schiff.	11
Figura 6. Esquema sugerido para la formación del ligando base Schiff.	13
Figura 7. Esquema sugerido para la formación de los complejos base de Schiff (M = metal).	14
Figura 8. Espectro UV – visible de $[\text{Co}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$	25
Figura 9. Espectro UV – visible de $[\text{Ni}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$	26
Figura 10. Espectro UV – visible de $[\text{Zn}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$	26
Figura 11. Espectro UV – visible de $[\text{Fe}(\text{Schiff})\text{SO}_4(\text{H}_2\text{O})_8]$	27
Figura 12. Espectro UV – visible de $[\text{Cu}_2(\text{Schiff})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})_5]$	27
Figura 13. Espectro UV – visible de $[\text{Cu}_3(\text{Schiff})(\text{Cl})_2(\text{H}_2\text{O})_3]$	28
Figura 14. Espectro UV – visible de $[\text{Sn}_3(\text{Schiff})(\text{OH})_5]$	28
Figura 15. Espectro IR de la penicilina V.	31
Figura 16. Espectro IR del complejo de $[\text{Co}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$	32
Figura 17. Espectro IR del complejo de $[\text{Ni}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$	32
Figura 18. Espectro IR del complejo de $[\text{Zn}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$	32
Figura 19. Espectro IR del complejo de $[\text{Fe}(\text{Schiff})\text{SO}_4(\text{H}_2\text{O})_8]$	33
Figura 20. Espectro IR del complejo de $[\text{Cu}_2(\text{Schiff})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})_5]$	33
Figura 21. Espectro IR del complejo de $[\text{Cu}_3(\text{Schiff})(\text{Cl})_2(\text{H}_2\text{O})_3]$	34
Figura 22. Espectro IR del complejo de $[\text{Sn}_3(\text{Schiff})(\text{OH})_5]$	35

Figura 23. Fórmula estructural sugerida para los complejos sintetizados M = Co(II), Ni(II), Zn(II), X= acetato; Fe(III), X= sulfato.	37
Figura 24. Halos de inhibicion de la penicilina V, complejos de [Fe(Schiff)SO ₄ (H ₂ O) ₈], [Ni(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂] y [Co(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂] frente a <i>S. aureus</i> para 400 µg/disco	40
Figura 25. Halos de inhibición de la penicilina V, complejo de [Fe(Schiff)SO ₄ (H ₂ O) ₈], [Ni(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂] ante la cepa de <i>E. faecalis</i> a una concentración de 400 µg/disco.....	40
Figura 26. Halo de inhibición del complejo de [Zn(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂] ante la cepa de <i>S. aureus</i> a una concentración de 400 µg/disco.	41
Figura 27. Halos de inhibición de la penicilina V para la cepa de <i>S. aureus</i> a diferentes concentraciones.	41
Figura 28. Halos de inhibición para la penicilina V ante la cepa de <i>E. faecalis</i> a diferentes concentraciones.	43
Figura 29. Halos de inhibición para el complejo de [Co(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂] ante la cepa de <i>S. aureus</i> , hasta una concentración de 50 µg/disco.....	43
Figura 30. Halos de inhibición para el complejo de [Ni(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂] frente a la cepa de <i>S. aureus</i>	44
Figura 31. Halos de inhibición de complejo de [Fe(Schiff)SO ₄ (H ₂ O) ₈] para la cepa de <i>S. aureus</i> a diferentes concentraciones.	44
Figura 32. Halos de inhibición del complejo de [Cu ₂ (Schiff)Cl(H ₂ O) ₅] para la cepa de <i>S. aureus</i> a concentraciones de 400, 600 y 800 µg/disco.....	45
Figura 33. Halos de inhibición del complejo de [Zn(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂] a concentraciones de 400, 600 y 800 µg/disco, frente a la cepa de <i>S. aureus</i>	45

RESUMEN

Se sintetizó una base de Schiff monoprotónada mediante la reacción entre la penicilina V (fenoximetilpenicilina) comercial y la 1,2 fenilendiamina. La base se hizo reaccionar con metales de la primera serie de transición para la obtención de los complejos mononucleares $[\text{Co}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$, $[\text{Ni}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$, $[\text{Zn}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$, $[\text{Fe}(\text{Schiff})\text{SO}_4(\text{H}_2\text{O})_8]$ y los complejos polinucleares $[\text{Cu}_2(\text{Schiff})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})_5]$, $[\text{Cu}_3(\text{Schiff})(\text{Cl})_2(\text{H}_2\text{O})_3]$ y $[\text{Sn}_3(\text{Schiff})(\text{OH})_5]$. La caracterización de los complejos sintetizados se realizó utilizando técnicas de espectroscopia infrarroja, espectroscopia Ultravioleta-visible, conductividad molar, susceptibilidad magnética, análisis térmico y elemental. Las pruebas de susceptibilidad antibacteriana de cada complejo se realizaron en cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Streptococcus viridans* (cepa salvaje), *Enterococcus* sp. (cepa salvaje) y *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SARM) (cepa salvaje), utilizando las técnicas de difusión en agar y dilución en disco a diferentes concentraciones. La actividad de los complejos resultó efectiva para algunas de las bacterias estudiadas, como es el caso del complejo de $[\text{Fe}(\text{Schiff})\text{SO}_4(\text{H}_2\text{O})_8]$ contra las cepas de *Streptococcus viridans* y *Enterococcus* sp.; de igual manera, los complejos de $[\text{Ni}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$, $[\text{Fe}(\text{Schiff})\text{SO}_4(\text{H}_2\text{O})_8]$ y $[\text{Cu}_2(\text{Schiff})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})_5]$ contra la cepa de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente, a pesar de ser esta, resistente al antibiótico comercial. Los complejos $[\text{Cu}_3(\text{Schiff})(\text{Cl})_2(\text{H}_2\text{O})_3]$ y $[\text{Sn}_3(\text{Schiff})(\text{OH})_5]$ no mostraron actividad antibacteriana alguna contra las cepas ensayadas.

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. La historia de los antibióticos comienza con la utilización de compuestos orgánicos para el tratamiento de enfermedades infecciosas. El hombre utilizaba indistintamente extractos de plantas en el tratamiento tópico de ciertas infecciones, pero desconocía la base científica del beneficio de tal proceder. En el siglo XIX, el prestigioso científico francés Louis Pasteur descubrió que algunas bacterias saprófitas podían destruir gérmenes del ántrax. Justo al finalizar el siglo, en 1900, el bacteriólogo alemán Rudolf Von Emmerich aisló una sustancia que podía destruir los gérmenes del cólera y la difteria en un tubo de ensayo, pero fue incapaz de hacerlo en el tratamiento de las enfermedades (Jawetz et al., 1992).

Paul Erlich, físico y químico alemán, ensayó en los primeros años del siglo XX la síntesis de unos compuestos capaces de atacar de manera selectiva a los microorganismos infecciosos sin lesionar a los tejidos del huésped; es así como formula los principios de toxicidad selectiva y es el pionero en reconocer las relaciones químicas específicas entre microorganismos y los antimicrobianos, el desarrollo de la resistencia a los medicamentos y la función de la terapéutica combinada (Jawetz et al., 1992; Prescott et al., 2004). Sus experiencias permitieron la preparación del salvarsán, en 1909, único tratamiento selectivo contra la sífilis hasta la popularización de la penicilina. Otro avance de gran relevancia llega años más tarde, de la mano de Alexander Fleming, durante un estudio sobre las mutaciones de determinadas colonias de *Staphylococcus*, comprobó que uno de los cultivos había sido accidentalmente contaminado por un microorganismo procedente del aire

exterior. El descubrimiento de un hongo posteriormente identificado como *Penicillium notatum* no solo abrió una nueva era para la medicina, sino que también estimuló la búsqueda de otros antibióticos (Goodman et al., 1996; Koneman et al., 2004).

En 1942, Waksman propone el término antibiótico para definir aquellas sustancias químicas producidas por microorganismos que, a bajas concentraciones, inhiben el desarrollo o destruyen la vida de otros microorganismos. Había comenzado la era antibiótica, que tendría su eclosión a partir del descubrimiento de la configuración molecular de la penicilina, punto de partida para el desarrollo de numerosos antibióticos semisintéticos (Davis et al., 1984).

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 de ella y conduciendo 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; y e) los que afectan el metabolismo de los ácidos nucleicos, de los antimetabolitos y, de análogos de los ácidos nucleicos (Neu, 1983; Goodman et al., 1991; Lansing et al., 2004).

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 son el grupo de antibióticos más amplio, importante y usado. Se caracterizan por

tener buena distribución en el organismo, baja toxicidad y ser muy eficaces. Aunque se han producido muchos otros agentes antimicrobianos desde que se dispuso de la primera penicilina, estos antibióticos todavía son ampliamente utilizados y nuevos derivados del núcleo básico de la penicilina se están produciendo cada año (Goodman et al., 1991).

Químicamente, todas las penicilinas derivan de la estructura básica del ácido 6-aminopenicilánico, el cual está constituido por un anillo de tiazolidina enlazado a un anillo betalactámico, que a su vez, lleva un grupo amino secundario en la cadena lateral (figura 1), la cual determina muchas de las características antibacterianas y farmacológicas de un tipo particular de penicilina (Prescott et al., 2004). La integridad estructural del núcleo básico, el ácido 6-aminopenicilánico, es indispensable para la actividad biológica de las penicilinas. Si el anillo betalactámico es hidrolizado enzimáticamente por la betalactamasa bacteriana, el producto resultante, el ácido penicilánico, carece de actividad antibacteriana.

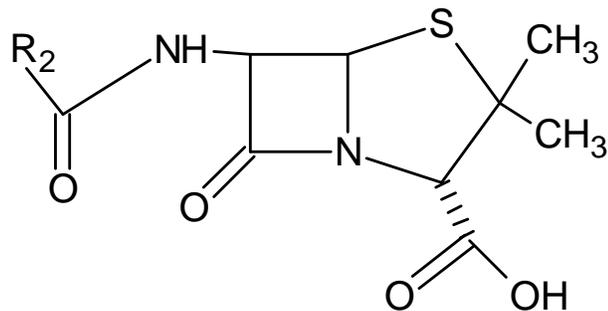


Figura 1. Estructura básica de las penicilinas.

Aunque el conocimiento del mecanismo de acción de la penicilina es incompleto, se cree que actúa en el último paso en la biosíntesis del péptidoglicano, constituyente de la pared celular. La conformación estructural de la penicilina es muy similar a la de la D-alanil D-alanina que se encuentra en la cadena lateral peptídica de la subunidad del péptidoglicano. Es probable que la transpeptidasa sea acetilada por

la penicilina; es decir, parece formarse la peniciloil-enzima, con rompimiento del enlace $-C(=O)-N$ del anillo betalactámico, lo que bloquearía la síntesis de un péptidoglicano completo con todos sus enlaces transversales y lo llevaría a la lisis osmótica (Waxman *et al.*, 1980).

Aunque es de importancia la inhibición de la transpeptidasa ya descrita, existen blancos adicionales y relacionados para la acción de las penicilinas, a los cuales se les asigna el nombre colectivo de proteínas de unión a las penicilinas (PBP) que actúan como: carboxipeptidasa, transpeptidasa y endopeptidasas, implicadas en la fase final de la formación de la pared celular. Las PBP también tienen la función de reorganizar la pared durante el crecimiento y la división celular (Spratt, 1975). Una vez unida la molécula de penicilina a estos receptores, se produce la activación de autolisinas bacterianas causando la lisis de la célula (Brock, 1973, 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 betalactamasas y lábiles a los ácidos, por ejemplo la bencilpenicilina (penicilina G). 2) Las de resistencia relativa a betalactamasas, 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 betalactamasas, entre las que tenemos la ampilina 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). Otros constituyentes del grupo de las penicilinas como la carbenicilina y mezlicilina que extienden su espectro de acción para incluir especies de *Pseudomonas*, *Enterobacter* y *Klebsiella* entre otros microorganismos Gram negativos (Gilman *et al.*, 1991).

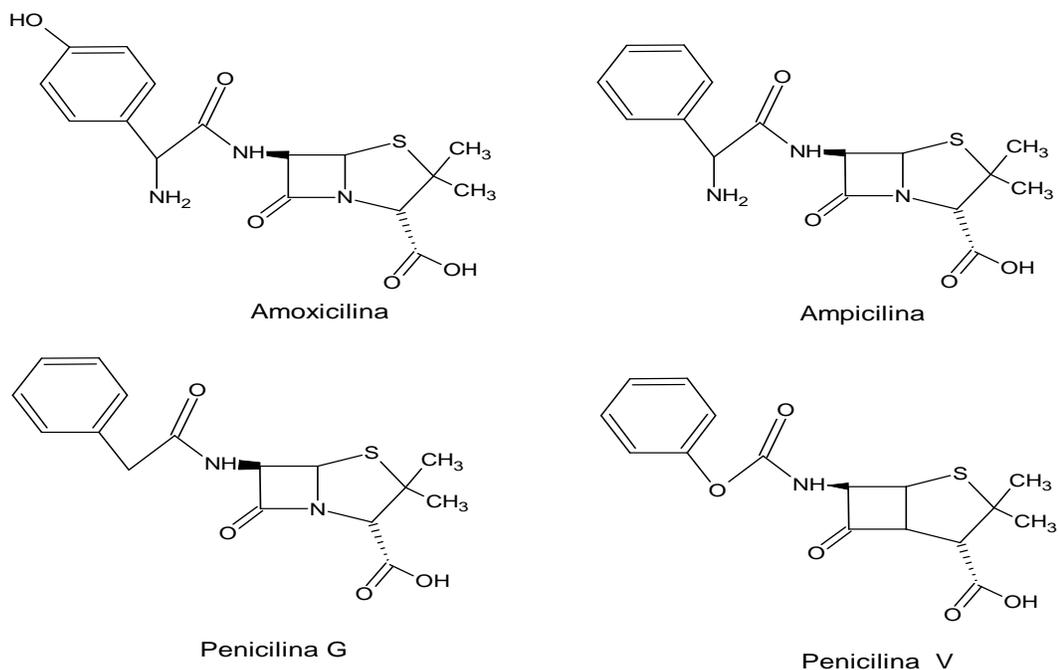


Figura 2. Fórmulas estructurales de las penicilinas más conocidas.

Se entiende por resistencia bacteriana a la poca o nula sensibilidad de una bacteria a un antimicrobiano. Médicamente y de una forma práctica, también se considera que hay resistencia cuando una bacteria no es inhibida por las concentraciones de antibiótico que se alcanza en el lugar donde la bacteria está produciendo una infección (Gilman *et al.*, 1991). Existen bacterias con resistencia natural, que aparece de forma preestablecida al carecer de la diana adecuada (micoplasmas y betalactámicos) y que no plantea problemas clínicos. La más importante y trascendente es la resistencia adquirida, aquella que aparece en bacterias que previamente eran sensibles (Koneman *et al.*, 2004).

La multirresistencia de los “nuevos patógenos”, la resistencia a meticilina y vancomicina de *S. aureus*, *S. epidermidis* y otros estafilococos coagulasa negativos, a glucopéptidos en enterococos y a las penicilinas en *S. pneumoniae*, constituyen el principal problema terapéutico en microorganismos Gram positivos. La presencia de

infecciones en pacientes comprometidos está asociada con elevadas tasas de mortalidad (Waxman *et al.*, 1980).

Los frentes de actuación ante este fenómeno son múltiples y a diferentes niveles. Los “nuevos” antimicrobianos de familias conocidas son análogos estructurales de los antimicrobianos existentes, en general, de mayor espectro o más adaptados a las necesidades de la etiología imperante y que soslayan los mecanismos de resistencia habituales. El método clásico de obtención, y que mejores resultados ha dado hasta la fecha, es la modificación química de la estructura básica y la definición de las relaciones estructura-función. En los últimos veinte años, se han sintetizado moléculas análogas a las de los antimicrobianos existentes con capacidad de actuar sobre las dianas modificadas por la aparición de resistencias o que muestran una mayor afinidad por ellas (Moellering, 1995).

Son diversos los mecanismos de resistencia que han desarrollado las bacterias frente a las penicilinas, algunos de estos están relacionados con la modificación de las PBP, sobre las cuales actúan estos antibióticos. Este tipo de resistencia la encontramos fundamentalmente en bacterias Gram positivas en diferentes maneras: adquisición de una proteína de baja afinidad al antibiótico, recombinación de una PBP sensible con una resistente o mutaciones puntuales que disminuyen la afinidad de la PBP por el antibiótico betalactámico. (Georgopapadacou, 1993).

Otra manifestación de la resistencia a las penicilinas lo constituye la escasa cantidad del antibiótico que pueda acceder al sitio de acción. Puede producirse por una disminución en la entrada del antibiótico al interior de la bacteria por problema de permeabilidad, como es el caso de las bacterias Gram negativas, ya que presentan una estructura compleja con una membrana externa que funciona como una barrera impenetrable, resultando difícil la llegada de los antibióticos a sus sitios de unión (Kobayashi *et al.*, 1982).

La resistencia por modificación, alteración o inactivación del antibiótico también constituye una medida de resistencia aplicada por la bacteria y está representada básicamente por la producción de las betalactamasas, las cuales son enzimas que hidrolizan el anillo betalactámico de los antibióticos, de esta manera destruyen el sitio activo del antibiótico betalactámico e impiden su actividad (Livermore, 1996). Las betalactamasas se caracterizan por su capacidad de inhibir determinados subgrupos de betalactámicos; es por esto; que algunas subclasificaciones las denominan, penicilinasas, cefalosporinasas o carbapenemasas, dependiendo de la familia de betalactámicos que tenga mayor susceptibilidad a ser atacadas por la enzima (Ambler, 1980; Bush *et al.*, 1995, Ragnar, 1995).

Las betalactamasas 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 betalactámicos. Desde que se puso de manifiesto la importancia de las betalactamasas, se buscaron inhibidores de estas enzimas incluyéndose en este término diferentes compuestos químicos, entre los que destacan ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam; sin embargo, se han detectado otras clase de betalactamasas que confieren resistencia a estos inhibidores (Gómez *et al.*, 1992).

En los inicios del tratamiento con antibióticos, la elección de uno de ellos era relativamente sencilla, los microorganismos patógenos estaban totalmente definidos y delimitados, la etiología de la infección era “clara”, el número de antimicrobianos era restringido y las resistencias adquiridas eran “raras”. Sin embargo, de un tiempo a esta parte, la situación se ha hecho muy diferente debido a la aparición de un gran número de infecciones oportunistas y al descubrimiento de nuevos patógenos emergentes con resistencias intrínsecas a muchos antimicrobianos. Esta situación ha producido un incremento en las tasas de resistencia de los “patógenos clásicos”, hasta el punto de encontrarnos sin recursos en el tratamiento de algunos cuadros

infecciosos (*Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina, vancomicina y otros antimicrobianos, *Enterococcus* sp. multirresistentes, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* sp. y *Mycobacterium tuberculosis*) (Moellering, 1995).

El aumento del perfil de resistencia era previsible, ya que los microorganismos poseen una gran plasticidad genética (mutación, intercambio genético), que condiciona una enorme capacidad de adaptación y lleva a la evolución y a la diversificación. Esta cualidad se manifiesta no sólo en la aparición de cambios en la sensibilidad a los antimicrobianos; sino también, en la capacidad de infectar a nuevos huéspedes y en la aparición de modificaciones en la patogenicidad, hechos que complican más la situación. En el futuro, los antimicrobianos actuales podrían estar obsoletos y ser insuficientes para hacer frente a esta nueva situación (Chopra *et al.*, 1997).

La interacción entre iones metálicos y fármacos constituye un atractivo campo de estudio; los iones metálicos pueden ser enlazados por los fármacos, al igual que las proteínas, enzimas y otros bioligandos para formar complejos metálicos; la formación de los mismos, es una manera simple de modificar las propiedades de un fármaco (Kunin, 1993). La efectividad de las penicilinas podría mejorarse, aprovechando los cambios observados en su propiedades farmacocinéticas, al sustituir diferentes grupos químicos en el anillo betalactámico. Este cambio de efectividad también se ha observado en antibióticos betalactámicos al enlazar iones metálicos, formando complejos metálicos (Bravo y Anacona, 1998; Anacona, 2001). En algunos estudios se ha podido observar el aumento, hasta un 60%, de la efectividad bactericida utilizando compuestos sintetizados que contienen betalactámicos unidos a metales (Anacona y Álvarez, 2002; Anacona y Osorio, 2008).

Entre las primeras publicaciones, relacionadas con este tema (complejos de penicilinas), se puede citar el estudio realizado utilizando la ampicilina unida a

metales de transición. En este trabajo los complejos fueron caracterizados por técnicas de análisis y métodos espectroscópicos, proponiendo estructuras dinucleares basadas en iones metálicos hexacoordinados octaédricamente (Bravo y Anacona, 1998). En otra investigación, se hizo reaccionar la penicilina G con diversos iones metálicos tales como: níquel(II), cadmio(II), mercurio(II), y hierro(III), para formar complejos metálicos, a los cuales se les evaluó su actividad antibacteriana frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Los complejos de hierro(III) y mercurio(II) mostraron mejor actividad antibacteriana que la penicilina G libre (Anacona y Figueroa, 1999). Las técnicas espectroscópicas sugirieron que la penicilina G actúa como un ligando tridentado monoaniónico, que forma complejos que presentan estructura octaédrica distorsionada (figura 3).

Posteriormente, se hizo reaccionar una base de Schiff, sintetizada con amoxicilina y salicilaldehído, con los iones metálicos níquel(II), cobre(II), zinc(II) y plata(II) (Marpa, 2011). Los complejos mostraron un comportamiento espectroscópico y fisicoquímico que sugieren la presencia de estructuras octaédricas, donde la base actúa como un ligando pentadentado dianiónico (figura 4). Los complejos sobrepasaron la actividad de la amoxicilina comercial frente a cepas *S. aureus* y *E. coli*.

Las bases de Schiff son compuestos que contienen en su estructura un grupo azometino o imino ($-R-C=N-$) y se forman por la condensación entre una amina primaria y un grupo carbonilo activo, mediante una reacción reversible. Detalles del mecanismo se pueden observar en la figura 5. En el presente caso, la amina primaria la proporciona la 1,2-feniléndiamina y el grupo carbonilo la penicilina V. La reacción de formación de la base de Schiff es reversible, procediendo a través de la formación de una carbolamina intermediaria (Pass y Sutcliffe, 1979).

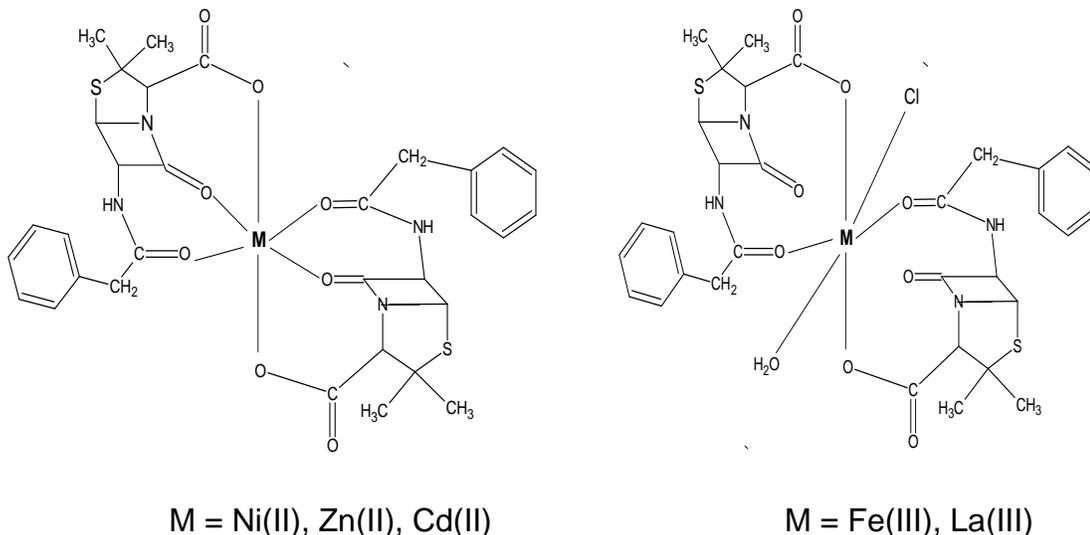


Figura 3. Fórmulas estructurales sugeridas para los complejos de penicilina.

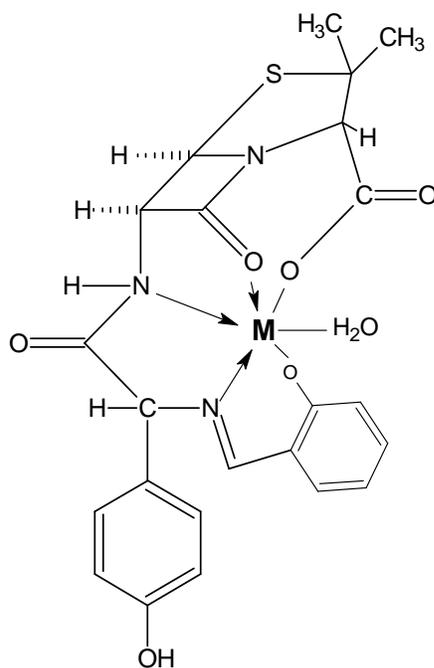


Figura 4. Fórmula estructural de los complejos de amoxicilina que contienen la base de Schiff amoxicilina – salicilaldeido.

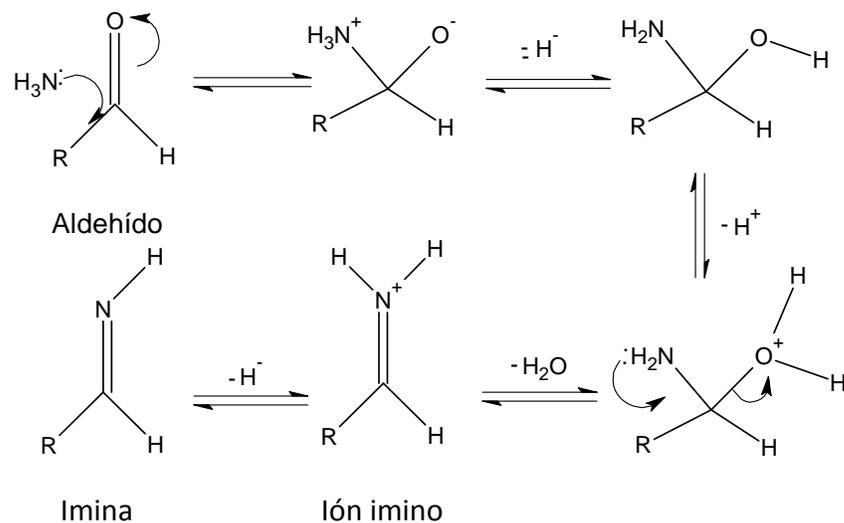


Figura 5. Mecanismo de formación de una base de Schiff.

Las bases de Schiff, han jugado un papel importante en el desarrollo de la química de coordinación y en la formación de complejos sumamente estables que pueden utilizarse como modelos sintéticos de enzimas que poseen sitios activos para iones metálicos (Pass y Sutcliffe, 1979).

Por lo antes expuesto, continuando con los intentos de avanzar en el conocimiento de la interacción de los metales con las penicilinas, la presente investigación evaluó la actividad bactericida de complejos metálicos que contienen una base de Schiff, formada por penicilina V (fenoximetilpenicilina) y 1,2 fenilendiamina, frente a un grupo de bacterias indicadoras.

METODOLOGÍA

Para la síntesis y obtención de la base de Schiff fue utilizado un antibiótico del grupo de las penicilinas, la fenoximetilpenicilina, comúnmente llamada penicilina V, unida a la 1,2 fenilendiamina. Para la formación de los complejos se utilizaron sales metálicas: acetato de níquel (II) tetrahidratado ($\text{Ni}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), acetato de zinc(II) dihidratado ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), cloruro de cobre(I) (CuCl), acetato de cobalto(II) tetrahidratado ($\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), sulfato de hierro(III) ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$) y cloruro de estaño (SnCl_2). Con la finalidad de optimizar las condiciones para la síntesis de la base y de los complejos, fueron controlados los factores que determinan la reacción tales como pH, temperatura, relación molar metal-ligando y tiempo de reacción.

Preparación del ligando base Schiff que contiene penicilina V y 1,2 fenilendiamina.

Para la formación de la base de Schiff, inicialmente se pulverizó una tableta de penicilina V comercial, de donde se pesó la cantidad de 350 mg correspondiente a un 1 mmol del antibiótico, disuelto posteriormente en 10 ml de hidróxido de sodio de concentración 0,05 mol l⁻¹. La solución se colocó en agitación por un lapso de 60 minutos con la finalidad de lograr disolver la mayor cantidad del antibiótico, eliminando los excipientes tras un proceso de filtrado. Una vez obtenida la solución de penicilina V, se reguló el pH entre 6 y 7 con una solución de ácido clorhídrico 0,5 mol l⁻¹. Paralelo a este procedimiento se pesaron 104 mg, equivalentes a 1 mmol, de 1,2 fenilendiamina, y se disolvieron en 10 ml de etanol. Una vez preparadas estas soluciones fueron mezcladas y dejadas reaccionando con agitación hasta la aparición del color amarillo característico del ligando base de Schiff (Anacona y Figueroa, 1999).

Solo se trabajó con base de Schiff en solución, ya que el producto resultante de la mezcla de penicilina V y 1,2 fenilendiamina, una vez que se dejó secar a temperatura ambiente o al vacío, se presenta como un producto pastoso que capta humedad una vez secado. En busca de mejorar las condiciones de la muestra, se lavó con cantidades de 3 – 5 ml de etanol, seguido de sesiones de calentamiento suave. En vista de que la muestra no mostraba apariencia de polvo se optó por utilizar la base de Schiff en forma líquida haciendo distribuciones del volumen total de la muestra, en volúmenes equivalentes a 1 mmol manteniendo así la relación estequiométrica 1:1. En la figura 6 se puede apreciar el esquema sugerido para la formación del ligando base de Schiff.

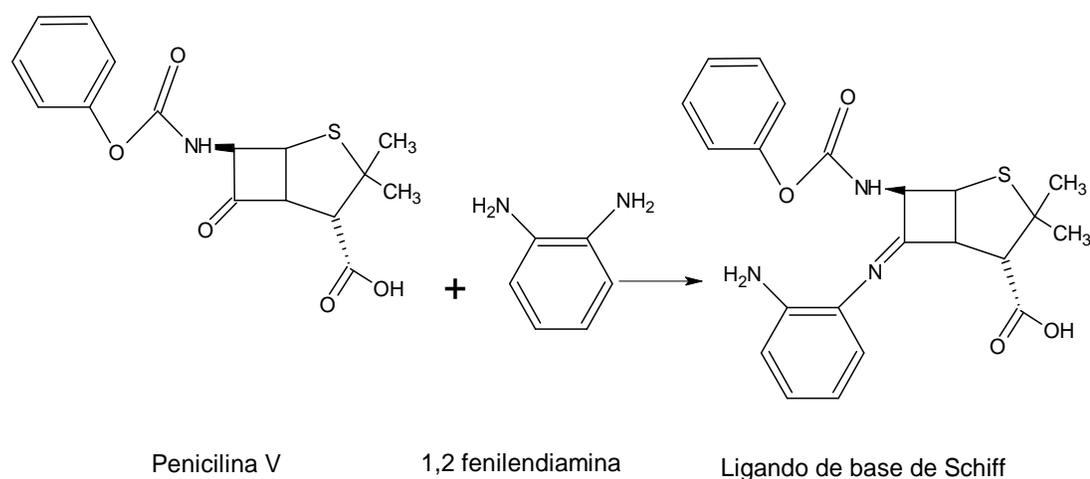


Figura 6. Esquema sugerido para la formación del ligando base Schiff.

Síntesis de los complejos metálicos con la base de Schiff

Una vez formada la base Schiff monoprotonada, producto de la reacción entre la penicilina V y la 1,2 fenilendiamina, la solución resultante se mezcló con 1 mmol de cada una de las sales metálicas empleadas ($\text{Ni}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$,

$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, CuCl , $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ y SnCl_2 disueltos en 15 ml de agua destilada.

Las soluciones obtenidas dieron como resultados una serie de precipitados coloreados, característicos para cada una de las sales, siendo la mayoría de ellos de aparición inmediata. En el caso de aquellas reacciones donde los precipitados no se dieron de forma instantánea, como fue el caso de los complejos de cobre y estaño, las soluciones fueron concentradas con ayuda de una bomba al vacío, para reducir el solvente, hasta la aparición de los precipitados.

Finalmente cada precipitado fue filtrado, lavado con abundante agua, con la finalidad de eliminar los excesos de las diferentes sales y secados al vacío. Posteriormente se almacenaron en viales secos y estériles, previamente rotulados (Anacona y Figueroa, 1999). La figura 7 muestra la reacción de formación de los complejos sintetizados.

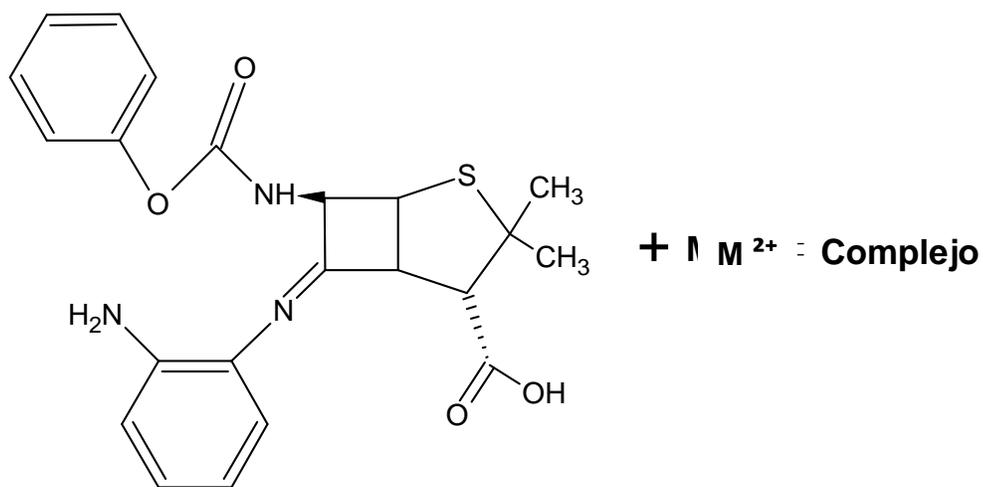


Figura 7. Esquema sugerido para la formación de los complejos base de Schiff (M = metal).

Caracterización de la estructura química de los complejos metálicos sintetizados:

Empleando técnicas específicas se caracterizaron las posibles estructuras de los diferentes complejos metálicos:

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 Instituto Tecnológico Venezolano de Petróleo, Compañía Anónima (INTEVEP, C.A).

Análisis térmico

Se pesaron muestras sólidas de los compuestos preparados y fueron calcinados alrededor de 1 100°C, por una hora en presencia de oxígeno atmosférico en un horno marca Thelco, modelo 17 (Skoog *et al.*, 2001). Se asume la formación de óxidos de tipo MO, para conocer el contenido del metal.

Medidas de susceptibilidad magnética

Para la obtención de los momentos magnéticos específicos se empleó una balanza de susceptibilidad magnética marca Johnson Matthey, modelo 436, perteneciente al Laboratorio 306 del Departamento de Química de la Universidad de Oriente. A partir de las medidas reportadas en el equipo se calculó el momento magnético de los complejos sintetizados (Drago, 1965, Skoog *et al.*, 2001).

Medidas de conductividad molar

Para las mediciones de conductividad molar se prepararon soluciones de cada uno de los complejos a una concentración de $1 \times 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ utilizando metanol como solvente. Para su lectura se utilizó un conductímetro marca Orion 5 Star perteneciente al Departamento de Oceanografía del Instituto Oceanográfico de la Universidad de Oriente (Russell, 1965; Geary, 1971).

Espectroscopía Ultravioleta-visible

Esta técnica mide por adsorción, a que frecuencia se producen las transiciones electrónicas entre niveles de energía de la molécula. Se midió la absorbancia de las soluciones de los complejos preparados, de concentración $1 \times 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$, utilizando metanol como solvente. Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo Lambda 11 que se encuentra en el Laboratorio 331 del Departamento de Química de la Universidad de Oriente (Mechan *et al.*, 1981).

Espectroscopía infrarroja

Se evaluó la presencia de grupos funcionales y se determinaron los posibles 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 transformada de Fourier (Nakamoto, 1986).

Medidas de susceptibilidad antimicrobiana

Una vez realizados los análisis que permitieron caracterizar cada complejo formado, se evaluó la actividad bactericida de ellos a través de métodos de

susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar y susceptibilidad antimicrobiana por dilución en discos (Bauer *et al.*, 1966) sobre la serie de bacterias seleccionadas, pudiéndose mencionar las siguientes cepas certificadas por la Colección Americana de Especies y Tipos (ATCC): *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 2942, y las cepas no certificadas de *S. viridans* (cepa salvaje) y *S. aureus* meticilino resistente (cepa salvaje) y *Enterococcus* sp.

Prueba de susceptibilidad antimicrobiana 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 alcanzar la turbidez correspondiente al patrón de Mc Farland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ microorganismos viables por ml).

Posteriormente se procedió a impregnar un hisopo estéril en cada suspensión rotando 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 secar antes de colocar los discos.

Se prepararon taxos que contenían 400 µg de compuesto por disco. Para obtener esta concentración se prepararon soluciones de 40 µg/µl de cada complejo, así como de la penicilina V comercial, para lo cual se pesaron 20 mg de cada sólido y se disolvieron en 0,5 ml de dimetilsulfoxido (DMSO). Se utilizaron 10 µl de cada solución para impregnar discos de papel Whatman n°3 de 5 mm de diámetro, estériles y con ayuda de una pinza estéril, se colocaron de manera uniforme y con distancia no menor de 25 mm entre disco y disco en la superficie del agar de cada cultivo de las diferentes cepas empleadas (Bauer *et al.*, 1966).

Finalmente 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. (Lynch *et al.*, 1980; Koneman *et al.*, 2004). Los puntos de corte recomendados para la difusión en discos de la penicilina son: sensible, $S \geq 15$ mm y resistente, $R \leq 14$ mm, para las diferentes cepas de *Enterococcus* incluida las cepas de *E. faecalis*; sensible, $S \geq 29$ mm y resistente, $R \leq 24$ mm para las cepas de *Staphylococcus*, (CLSI, 2011). Para las cepas de SARM y *S. viridans* este manual no establece puntos de corte.

Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por dilución en discos

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 alcanzar la turbidez correspondiente al patrón de Mc Farland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ microorganismos viables por ml) (Bauer *et al.*, 1966).

Posteriormente se impregnaron discos de papel Whatman N° 3 de 5 mm de diámetro con 10 μ l de penicilina V y de cada uno de los complejos sintetizados de soluciones de concentración 40, 20, 10, 5, y 2,5 μ g/ μ l, para así tener depositada una cantidad equivalente a 400, 200, 100, 50, y 25 μ g por disco, respectivamente. Para la obtención de estas concentraciones se procedió de la siguiente manera: se preparó una solución madre de 40 μ g/ μ l de penicilina V y cada uno de los complejos, para lo cual se pesaron 20 mg de cada sólido y se disolvieron en 0,5 ml de DMSO. A partir de esta solución madre se tomaron 250 μ l que se mezclaron con 250 μ l de DMSO para tener una solución 2 de concentración 20 μ g/ μ l. A partir de esta solución se tomaron 250 μ l que se mezclaron con 250 μ l de DMSO para obtener una solución 3 de concentración 10 μ g/ μ l, y así sucesivamente.

Finalmente 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. (Lynch *et al.*, 1980; Koneman *et al.*, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los complejos sintetizados con la base de Schiff preparada a partir de penicilina V y 1,2 fenilendiamina fueron caracterizados a temperatura ambiente y la composición de ellos fue deducida a partir del análisis de sus componentes. La fórmula molecular sugerida se aprecia en las distintas tablas y es la considerada en las distintas técnicas aplicadas.

Análisis Elemental

Los resultados obtenidos en el análisis elemental se observan en la tabla 1, los complejos sintetizados muestran una buena correspondencia entre los valores calculados (entre paréntesis) para las fórmulas moleculares propuestas y los valores experimentales para cada uno de los complejos sintetizados.

Tabla 1. Análisis elemental de los complejos metálicos.

Complejos	%C	%N	%H	%S
[Co(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂]	48,3	9,1	5,4	5,7
C ₂₄ H ₃₁ CoN ₄ O ₈ S	(48,5)	(9,4)	(5,3)	(5,4)
[Ni(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂]	49,0	9,7	5,6	5,0
C ₂₄ H ₃₁ NiN ₄ O ₈ S	(48,5)	(9,4)	(5,3)	(5,4)
[Zn(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂]	48,3	9,0	5,0	5,1
C ₂₄ H ₃₁ ZnN ₄ O ₈ S	(48,0)	(9,3)	(5,2)	(5,3)
[Fe(Schiff)SO ₄ (H ₂ O) ₈]	35,4	7,7	5,4	8,4
C ₂₂ H ₄₀ FeN ₄ O ₁₆ S ₂	(35,9)	(7,6)	(5,5)	(8,7)
[Cu ₂ (Schiff)Cl(H ₂ O) ₅]	37,9	7,8	5,3	5,1
C ₂₂ H ₃₄ ClCu ₂ N ₄ O ₉ S	(38,1)	(8,1)	(4,9)	(4,6)
[Cu ₃ (Schiff)(Cl) ₂ (H ₂ O) ₃]	34,8	7,3	3,8	3,9
C ₂₂ H ₃₀ Cl ₂ Cu ₃ N ₄ O ₇ S	(35,0)	(7,4)	(4,0)	(4,2)
[Sn ₃ (Schiff)(OH) ₅].	29,6	6,8	3,7	3,2
C ₂₂ H ₂₉ Sn ₃ N ₄ O ₉ S	(30,0)	(6,4)	(3,3)	(3,6)

%C: porcentaje de Carbono; %H: porcentaje de Hidrógeno; %N: porcentaje de Nitrógeno; %S: porcentaje de Azufre.

Análisis térmico

En la tabla 2 se muestran los resultados del análisis térmico realizado a una temperatura de 1 000 °C, los cuales revelan una buena correspondencia entre los valores medidos y los esperados del contenido metálico en los complejos, considerando la formación de óxidos metálicos del tipo MO que confirman la relación molar 1:1 metal/base Schiff, con excepción de los complejos de [Cu₂(Schiff)Cl(H₂O)₅], [Cu₃(Schiff)(Cl)₂(H₂O)₃] y [Sn₃(Schiff)(OH)₅] que muestran posibles relaciones estequiométricas 2:1 y 3:1 metal/base Schiff.

Tabla 2. Análisis térmico de los complejos metálicos.

Complejos	Masa inicial (mg)	Masa final (mg)	% metal medido	% metal calculado
[Co(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂]	26,4	4,1	11,0	10,1
[Ni(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂]	26,4	3,4	10,1	10,1
[Zn(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂]	26,6	3,5	10,6	11,1
[Fe(Schiff)SO ₄ (H ₂ O) ₈]	26,4	2,6	7,6	7,7
[Cu ₂ (Schiff)Cl(H ₂ O) ₅]	26,2	5,5	18,6	18,7
[Cu ₃ (Schiff)(Cl) ₂ (H ₂ O) ₃]	26,6	7,8	26,4	25,7
[Sn ₃ (Schiff)(OH) ₅].	26,5	14,4	41,4	40,8

% = porcentaje; mg: miligramos

Medidas de susceptibilidad magnética

El grado de magnetización de una muestra se mide a través de la susceptibilidad magnética expresada en gramos, Xg, utilizando la expresión siguiente:

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

En donde: C es la constante de la balanza = 1,1322, R es la susceptibilidad magnética del capilar con la muestra, R₀ es la susceptibilidad magnética del capilar sin la muestra, l es el largo de la muestra y Δm es la diferencia entre el peso del

capilar vacío y el peso del capilar con muestra. La susceptibilidad magnética molar es calculada a partir de Xg y la masa molecular ($X_M = Xg \times \text{Masa Molecular}$). La susceptibilidad molar X_M es corregida, X_M^{Corr} , tomando en cuenta las correcciones diamagnéticas del ligando utilizando las constantes de Pascal. Las medidas de X_M^{Corr} se muestran en la Tabla 3. Ellas permiten el cálculo de los momentos magnéticos.

Tabla 3. Medidas de susceptibilidad magnética de los complejos metálicos.

Compuestos	(mg)	Ro	R	L(cm)	Xg	X_M^{Corr}
[Co(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂]	31,0	-51	215	1,7	16,51 x10 ⁻⁶	9 596 x10 ⁻⁶
[Ni(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂]	71,4	-51	141	1,8	5,48 x10 ⁻⁶	3 184 x10 ⁻⁶
[Zn(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂]	102,2	-51	0	2,0	1,12 x10 ⁻⁶	664 x10 ⁻⁶
[Fe(Schiff)SO ₄ (H ₂ O) ₈]	31,0	-52	272	1,8	21,29 x10 ⁻⁶	15 396 x10 ⁻⁶
[Cu ₂ (Schiff)Cl(H ₂ O) ₅]	109,4	-51	23	2,0	1,53 x10 ⁻⁶	1 041 x10 ⁻⁶
[Cu ₃ (Schiff)(Cl) ₂ (H ₂ O) ₃]	104,2	-51	162	2,0	4,65 x10 ⁻⁶	3 448 x10 ⁻⁶
[Sn ₃ (Schiff)(OH) ₅].	104,6	-52	0	2,0	1,12 x10 ⁻⁶	975 x10 ⁻⁶

mg: peso de la muestra; Ro: susceptibilidad magnética del tubo vacío; R: susceptibilidad magnética del tubo con muestra; L: longitud de la muestra en el tubo (cm); Xg: susceptibilidad específica medida por gramos; X_M^{Corr} : susceptibilidad molar corregida.

Momentos magnéticos

Cualquier partícula cargada genera un momento angular orbital y un momento angular de espín, la suma de ambos da lugar al momento magnético específico. Para los elementos de la primera serie de transición el momento magnético orbital está anulado y vale cero por lo que el momento magnético específico viene dado solo por el momento magnético de espín. Las ecuaciones para el cálculo de los momentos magnéticos específicos se muestran a continuación.

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

$$\mu_{\text{eff}}(\text{exp}) = (3k \beta^2 / N) (X_M^{\text{Corr}} T)^{1/2} = 2,838 (X_M^{\text{Corr}} T)^{1/2}$$

Donde:

X_M^{Corr} : susceptibilidad molar corregida utilizando las constantes de Pascal, T: temperatura absoluta. k es la constante de Boltzmann, β es el magnetón de Bohr, N es el número de Avogadro. La constante 2,838, es 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 molar sigue la ley de Curie, la cual establece: $X_M^{\text{Corr}} = C/T$, donde C es la constante de Curie.

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

$$\mu_{\text{eff}}(\text{teórico}) = [n(n+2)]^{1/2}$$

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

Los momentos magnéticos específicos calculados a partir de las medidas de susceptibilidad magnética se muestran en la tabla 4. De acuerdo al momento magnético efectivo (μ_{eff}), se puede sugerir, según sea el caso, el estado de oxidación del metal y el número de electrones desapareados que presenta. Además, permite predecir la posible geometría de acuerdo al valor de μ_{eff} obtenido (Angelici, 1979). En este caso, la buena correspondencia entre los valores medidos con los valores observados en compuestos octaédricos, sugiere que los complejos mononucleares sintetizados poseen geometría octaédrica en torno al metal. En los complejos polinucleares no es posible correlacionar los valores μ_{eff} medidos con la estructura, que en el caso de los complejos de Zn(II) y Sn(II) sugieren la presencia de formación de radicales estabilizados por el metal.

Tabla 4. Momentos magnéticos específicos (μ_{eff}) de los complejos metálicos.

Compuestos	μ_{eff} medidos	μ_{eff} teórico	Electrones desapareados	μ_{eff} observado
[Co(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂]	4,87	3,89	3	4,3 – 5,2
[Ni(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂]	3,85	2,83	2	2,9 – 3,9
[Zn(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂]	1,51	0	1	0
[Fe(Schiff)SO ₄ (H ₂ O) ₈]	6,10	5,92	5	5,7 – 6,0
[Cu ₂ (Schiff)Cl(H ₂ O) ₅]	1,82	2,83	2	
[Cu ₃ (Schiff)(Cl) ₂ (H ₂ O) ₃]	3,10	3,89	3	
[Sn ₃ (Schiff)(OH) ₅].	1,73	0	1	0

μ_{eff} observado (Drago, 1965).

Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-visible)

La espectroscopía de Ultravioleta-visible, involucra la absorción de radiación ultravioleta-visible por una molécula, causando la promoción de un electrón de un estado fundamental a un estado excitado. La excitación corresponde a los electrones de enlace, por ello los picos de absorción pueden correlacionarse con los tipos de enlaces. Por este motivo la espectroscopia UV-visible es válida para identificar grupos funcionales en una molécula (Mechan et al., 1981).

En la tabla 5 se expresa de forma resumida las transiciones electrónicas de los espectros UV-visible de los diferentes complejos disuelto en metanol utilizando concentraciones de 1×10^{-3} mol. l⁻¹. La presencia de transiciones electrónicas similares debidas al ligando sugerirían la presencia de la base de Schiff en los complejos sintetizados. Las bandas d-d en los complejos atribuidas a los metales, son de menor intensidad que las bandas debidas al ligando y sugieren la presencia de estructuras octaédricas. Los espectros electrónicos de los complejos sintetizados con la base de Schiff se pueden apreciar desde la figura 8 a la 14.

Tabla 5. Transiciones electrónicas UV-visible de los complejos metálicos.

Complejos	Transiciones electrónicas (nm)	
	En el ligando	En el metal
[Co(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂]	325-368	472-750
[Ni(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂]	315-423	550-650
[Zn(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂]	316-430	--
[Fe(Schiff)SO ₄ (H ₂ O) ₈]	325-351	452
[Cu ₂ (Schiff)Cl(H ₂ O) ₅]	325-359	444, 625-750
[Cu ₃ (Schiff)(Cl) ₂ (H ₂ O) ₃]	326-360	450
[Sn ₃ (Schiff)(OH) ₅].	325-344	415

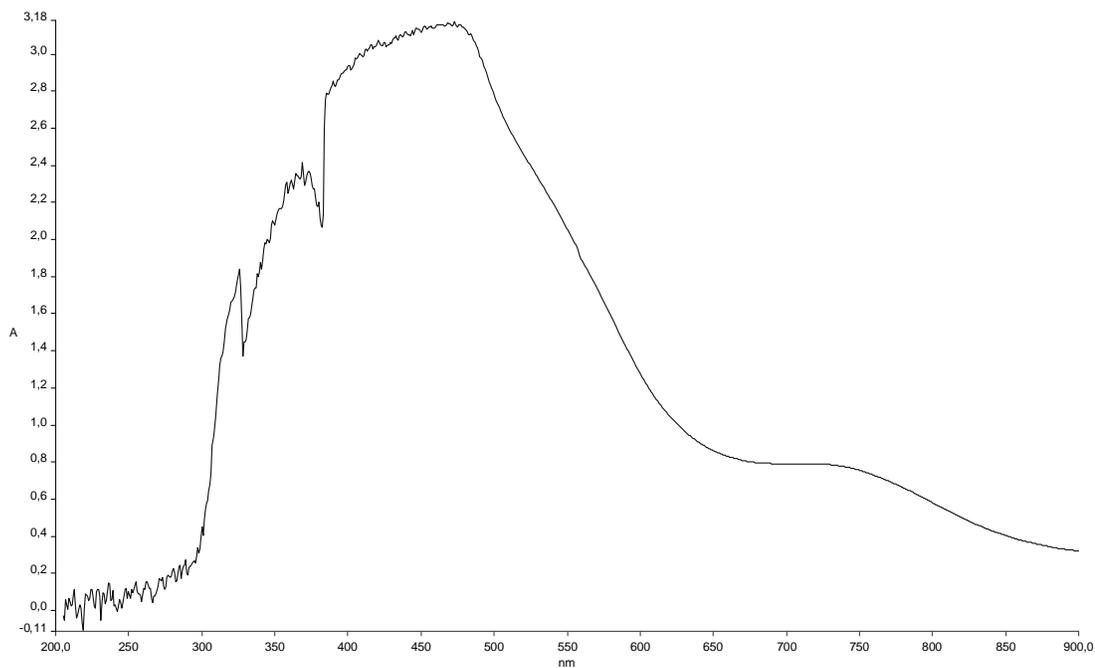


Figura 8. Espectro UV – visible de [Co(Schiff)Ac(H₂O)₂].

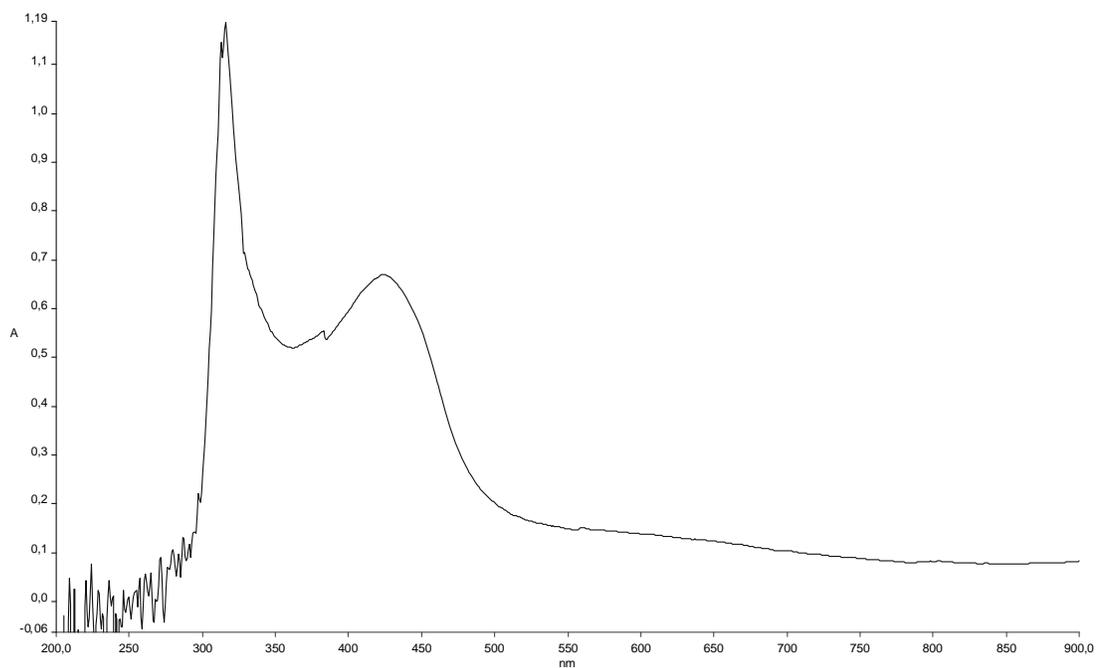


Figura 9. Espectro UV – visible de [Ni(Schiff)Ac(H₂O)₂].

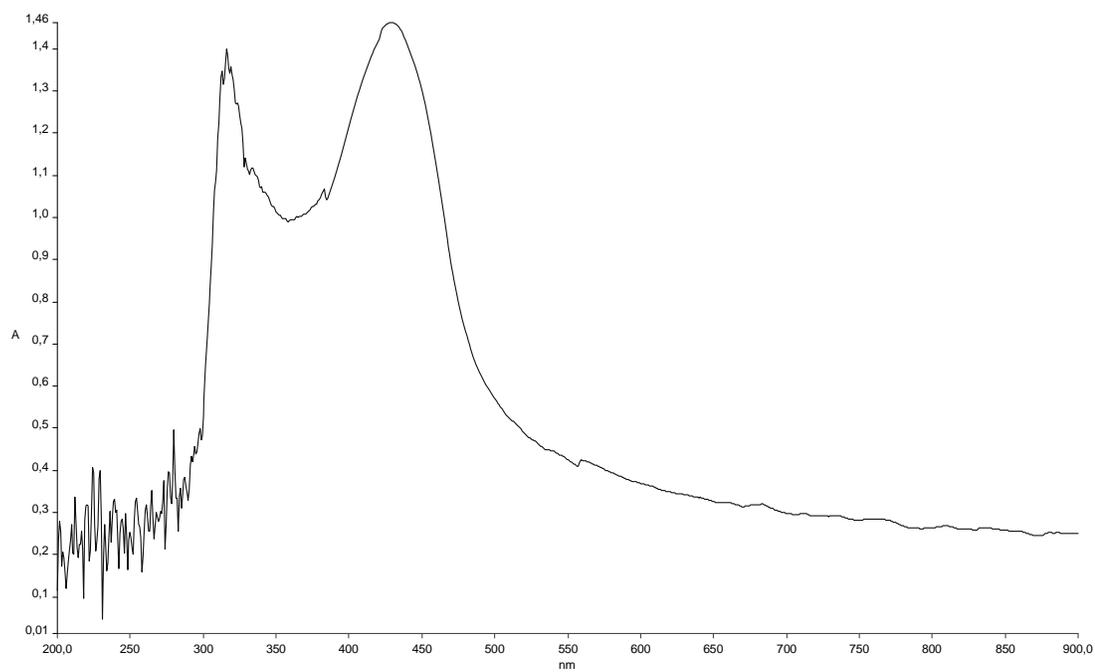


Figura 10. Espectro UV – visible de [Zn(Schiff)Ac(H₂O)₂].

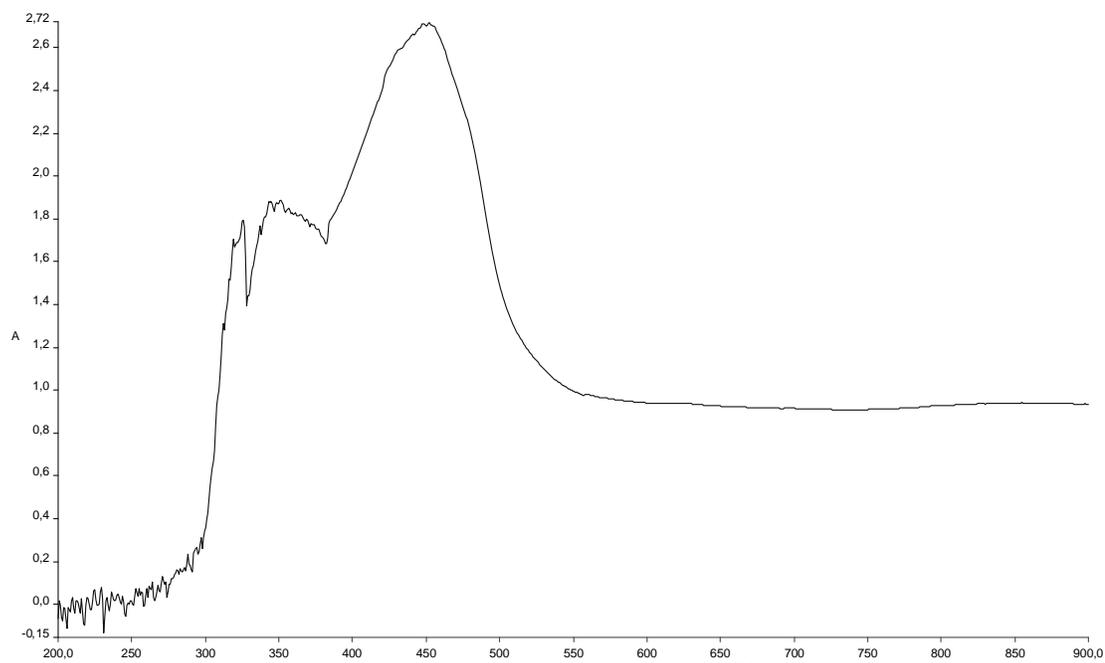


Figura 11. Espectro UV – visible de $[\text{Fe}(\text{Schiff})\text{SO}_4(\text{H}_2\text{O})_8]$.

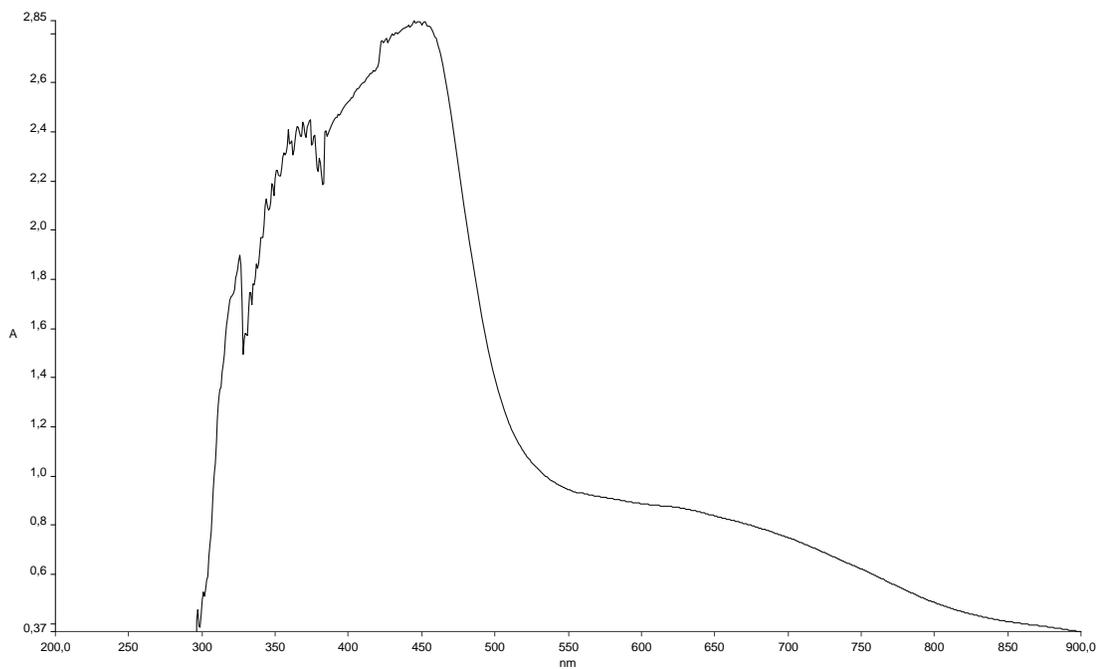


Figura 12. Espectro UV – visible de $[\text{Cu}_2(\text{Schiff})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})_5]$.

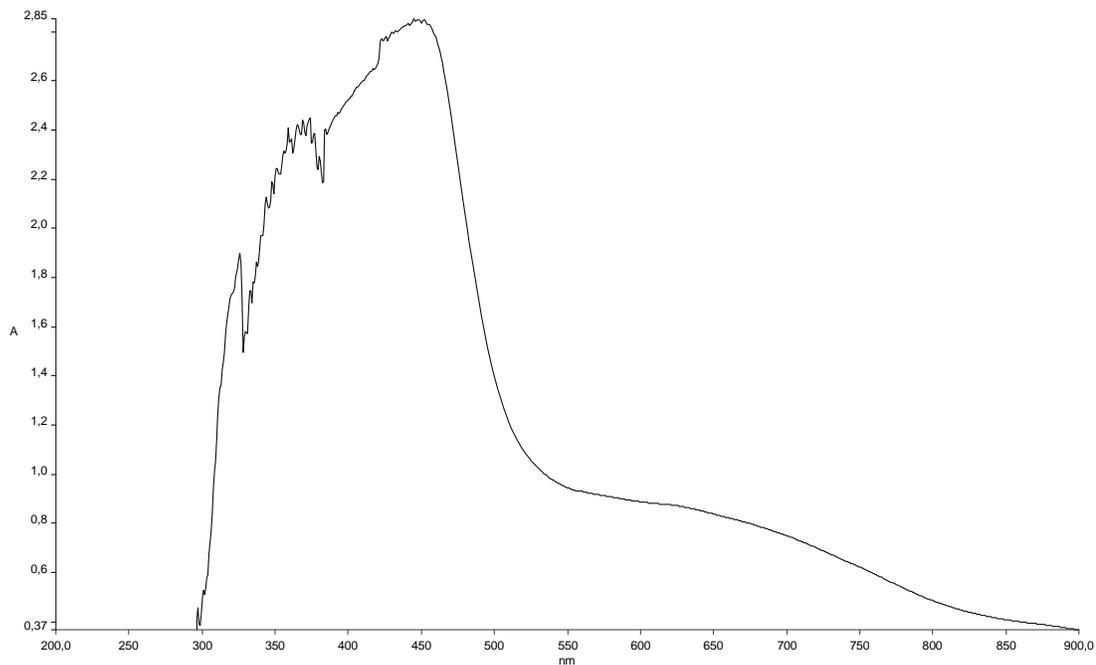


Figura 13. Espectro UV – visible de $[\text{Cu}_3(\text{Schiff})(\text{Cl})_2(\text{H}_2\text{O})_3]$.

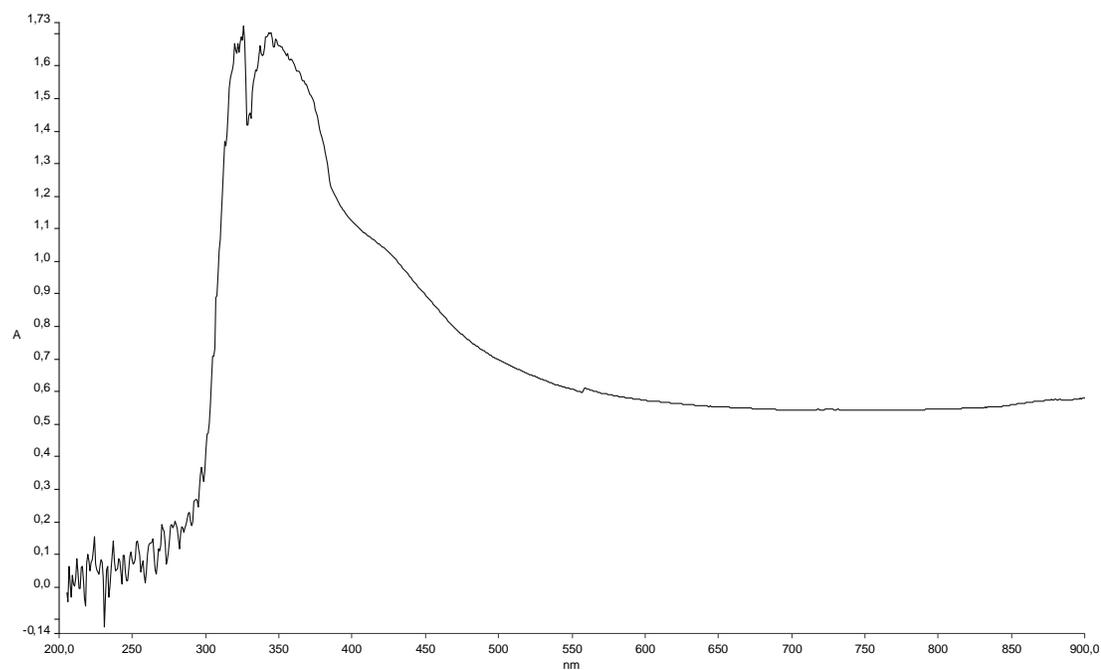


Figura 14. Espectro UV – visible de $[\text{Sn}_3(\text{Schiff})(\text{OH})_5]$.

Espectroscopia infrarroja

La espectroscopia infrarroja es una técnica que nos permite observar los modos vibracionales de los grupos funcionales presentes en una determinada molécula, tras la absorción de radiación infrarroja de una determinada longitud de onda permitiendo la caracterización de la misma (Silverstein et al., 1981).

Los principales valores observados correspondientes a la penicilina V y los complejos metálicos se detallan en la tabla 6. Los espectros relacionados se muestran desde la figura 15 a la figura 22.

El espectro IR de la penicilina V, que se muestra en la figura 15 presenta bandas de absorción a 1 780 cm^{-1} correspondientes a la vibración stretching del enlace C=O del anillo lactámico. De igual manera, se evidencia una banda de absorción que se encuentra a los 1 670 cm^{-1} correspondiente al stretching del enlace C=O del grupo amida del antibiótico.

Tabla 6. Principales bandas IR de la penicilina V y de los complejos metálicos en cm^{-1} .

Complejos	$\nu(\text{C=O})$ Lact.	$\nu(\text{C=O})$ Amida	$\nu(\text{C=N})$ Imino	$\nu(\text{COO})$ Asim.	$\nu(\text{COO})$ Sim.	$\Delta\nu$ (COO)
Penicilina V	1 780	1 670	--	--	--	--
[Co(Schiff)Ac(H ₂ O)]	--	1 670	1 640	1 600	1 400	200
[Ni(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂]	--	1 670	1 640	1 600	1 400	200
[Zn(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂]	--	1 670	1 650	1 600	1 400	200
[Fe(Schiff)SO ₄ (H ₂ O) ₈]	--	1 670	1 640	1 600	1 400	200
[Cu ₂ (Schiff)Cl(H ₂ O) ₅]	--	1 670	1 640	1 600	1 480	120
[Cu ₃ (Schiff)(Cl) ₂ (H ₂ O) ₃]	--	1 670	1 640	1 610	1 480	130
[Sn ₃ (Schiff)(OH) ₅]	--	--	--	1 600		1 450

--: sin banda aparentes dentro del espectro infrarrojo; ν = frecuencia; $\Delta\nu$ = diferencia de frecuencia; Lact. = Lactámico; Asim. = Asimétrico; Sim. = Simétrico.

La desaparición de la banda perteneciente al grupo lactámico de la penicilina V, en los complejos, sugiere que la formación del enlace imino C=N en la base Schiff se realiza a través de ese grupo carbonilo. En general 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 frecuencias vibracionales activas en el infrarrojo del ligando varían cuando coordina al metal.

Las bandas correspondientes al estiramiento asimétrico y simétrico del grupo carboxilato (COO)⁻, muestran desplazamientos en los compuestos de coordinación. La diferencia entre los números de onda de ambos estiramientos es de alrededor 200 cm⁻¹, lo que sugiere (Nakamoto, 1986), que la coordinación del grupo carboxilato presente en la base de Schiff al metal es monodentada, es decir, que el metal se encuentra enlazado a un solo átomo de oxígeno del grupo carboxilato. Los complejos de [Cu₂(Schiff)Cl(H₂O)₅] y [Cu₃(Schiff)(Cl)₂(H₂O)₃] presentan una diferencia menor de 200 cm⁻¹ lo que sugiere que la base Schiff presenta al grupo carboxilato coordinando en forma bidentada, es decir, los metales se encuentran unidos a los dos átomos de oxígeno del grupo.

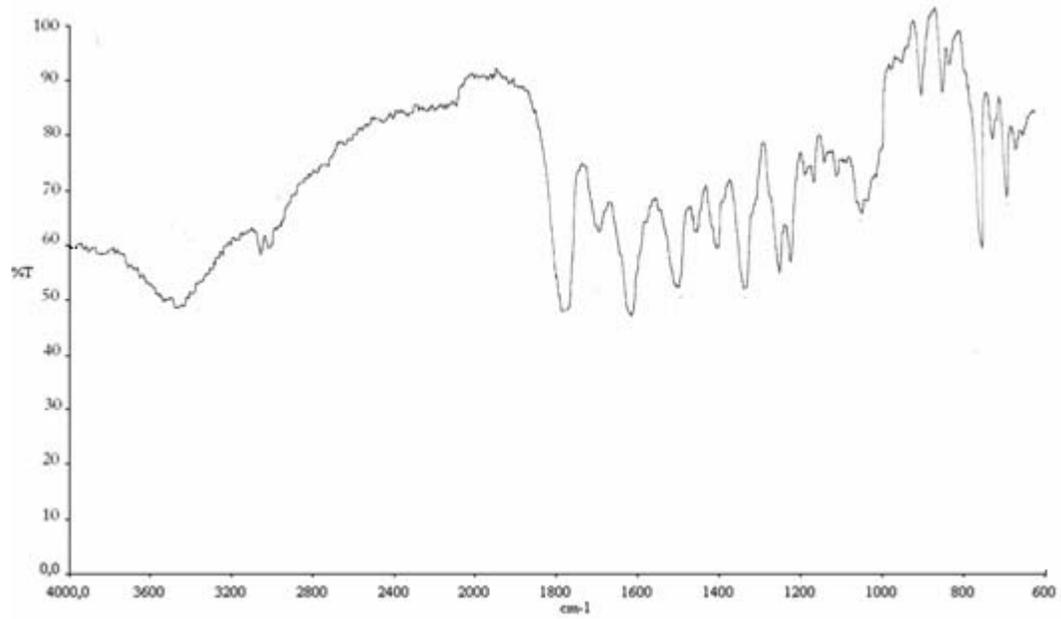


Figura 15. Espectro IR de la penicilina V.

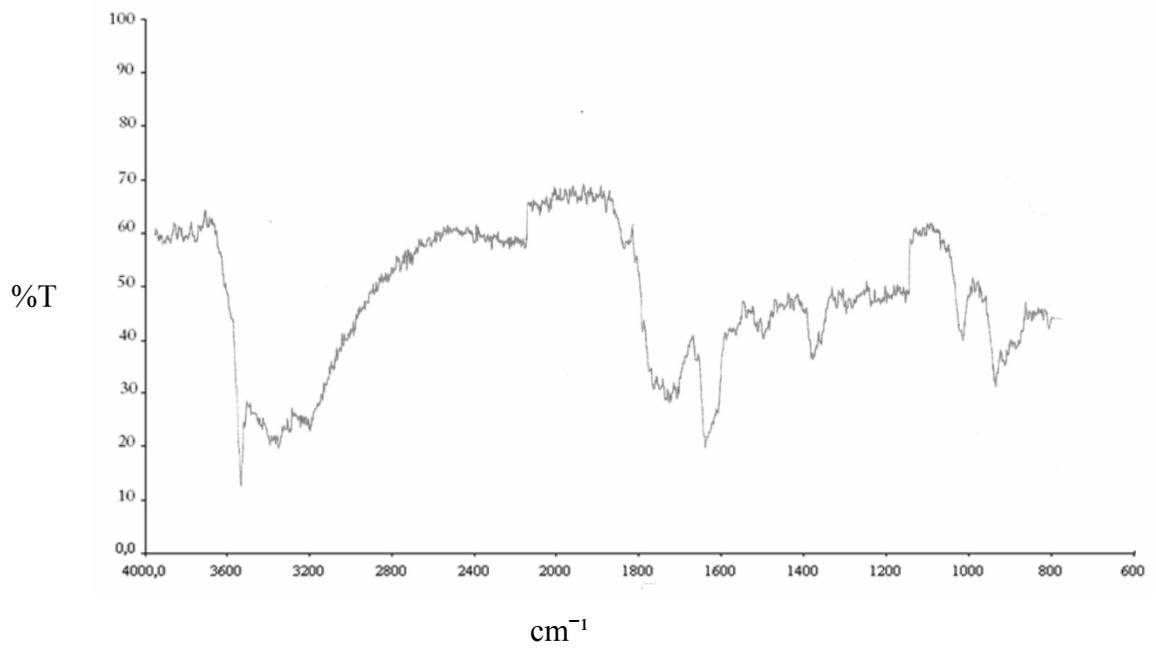


Figura 16. Espectro IR del complejo de $[\text{Co}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$.

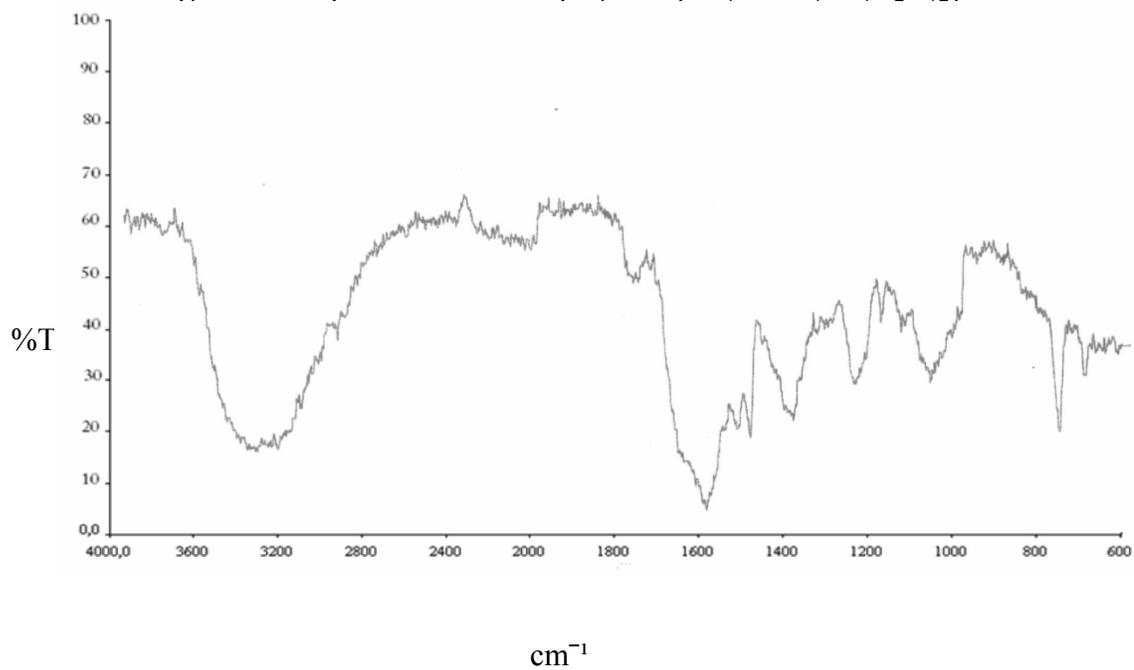


Figura 17. Espectro IR del complejo de $[\text{Ni}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$.

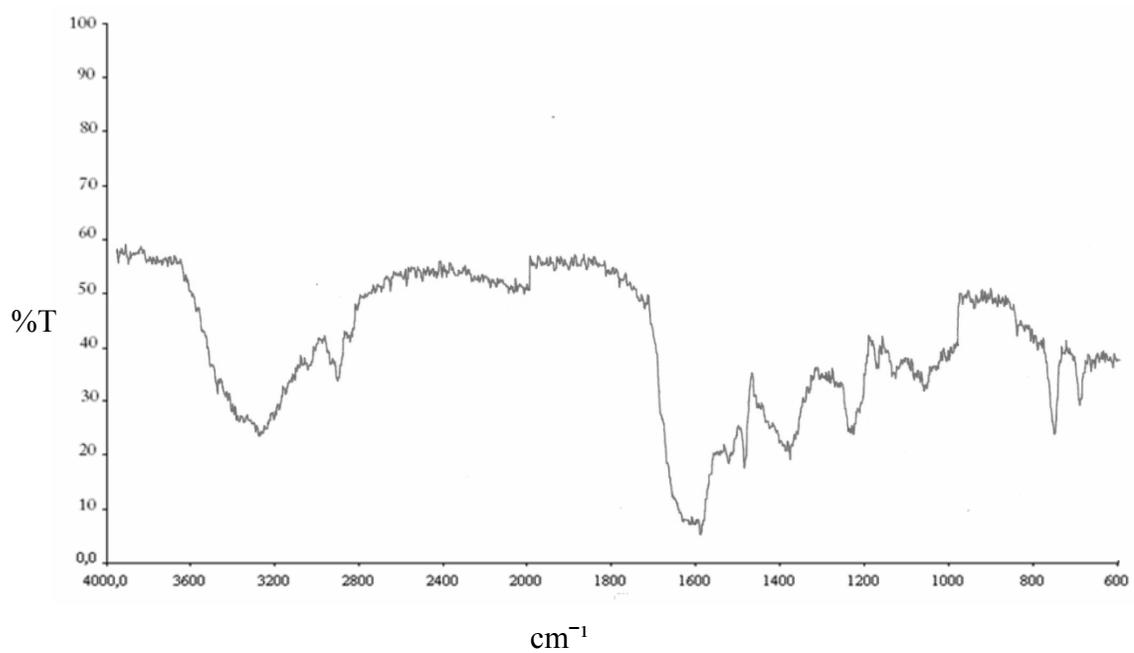


Figura 18. Espectro IR del complejo de $[\text{Zn}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$.

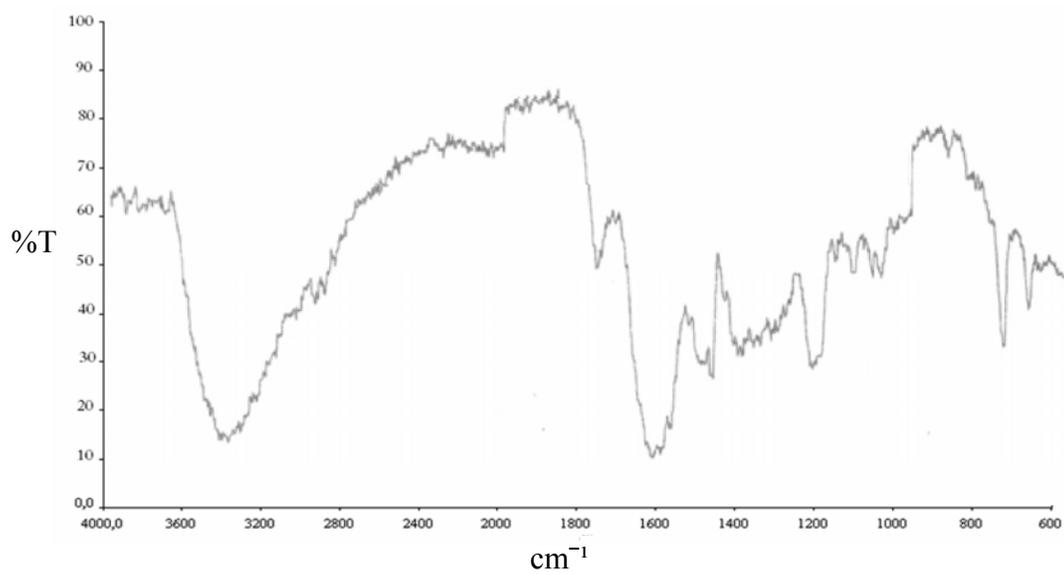


Figura 19. Espectro IR del complejo de $[\text{Fe}(\text{Schiff})\text{SO}_4(\text{H}_2\text{O})_8]$.

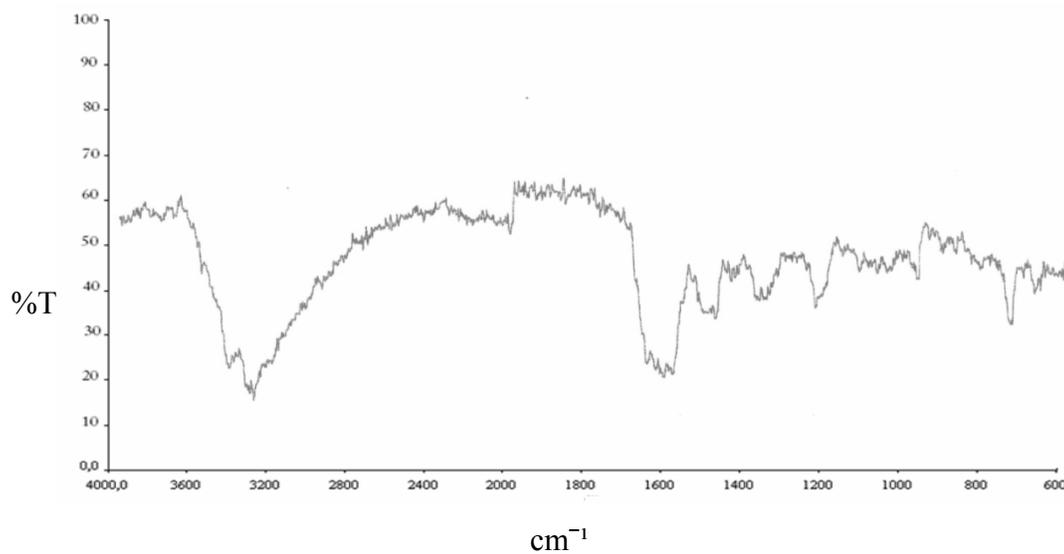


Figura 20. Espectro IR del complejo de $[\text{Cu}_2(\text{Schiff})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})_5]$.

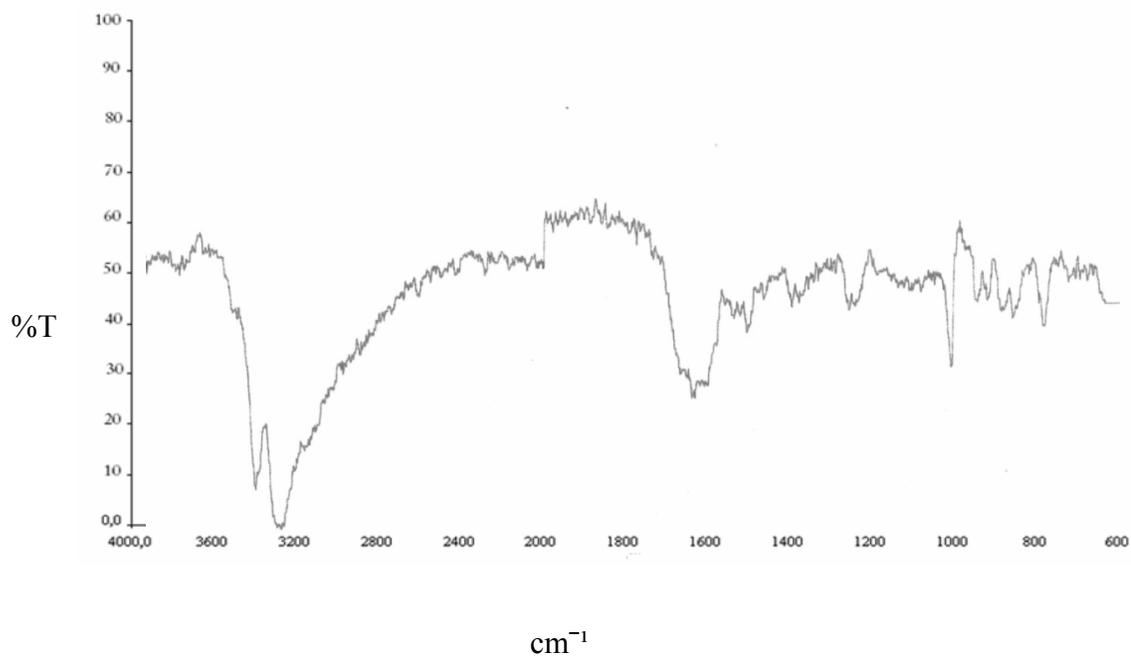


Figura 21. Espectro IR del complejo de $[\text{Cu}_3(\text{Schiff})(\text{Cl})_2(\text{H}_2\text{O})_3]$.

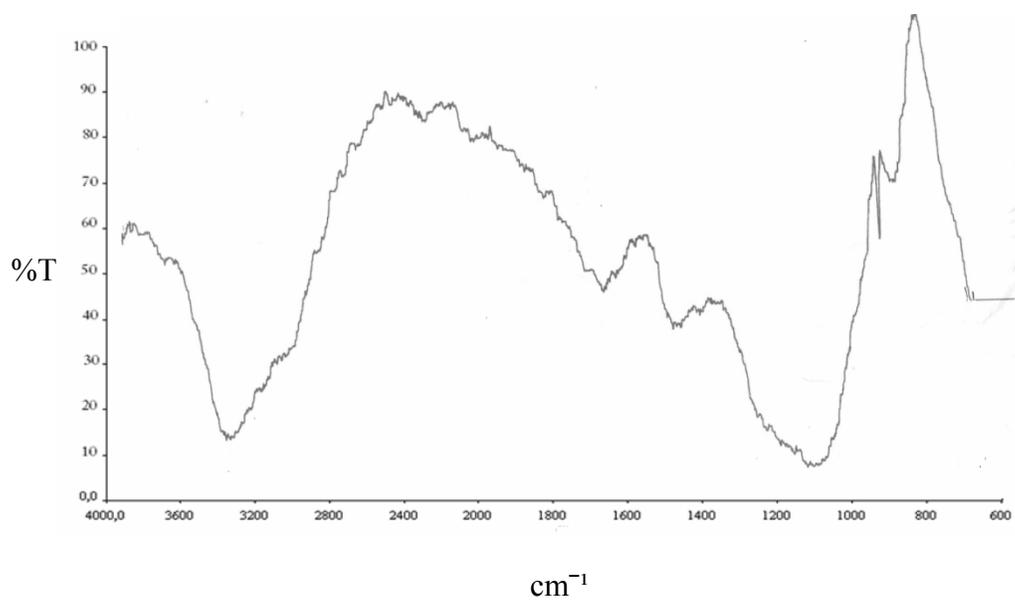


Figura 22. Espectro IR del complejo de $[\text{Sn}_3(\text{Schiff})(\text{OH})_5]$.

Medidas de conductividad molar

En la tabla 7, se muestran los valores de conductividad molar medidos para los complejos metálicos utilizando metanol como solvente. Los valores de conductividad molar reflejan que los complejos de $[\text{Co}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$ y $[\text{Sn}_3(\text{Schiff})(\text{OH})_5]$ sintetizados conducen la corriente eléctrica cuando están disueltos en metanol; es decir, se comportan como electrolitos 1:1 y 1:3 respectivamente. Esto revela que dichos complejos poseen en su esfera de coordinación iones disociables, en estos casos iones acetato o iones cloruro, que pueden ser desplazados desde la esfera de coordinación, por el solvente utilizado. Los complejos $[\text{Ni}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$, $[\text{Zn}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$, $[\text{Fe}(\text{Schiff})\text{SO}_4(\text{H}_2\text{O})_8]$, $[\text{Cu}_2(\text{Schiff})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})_5]$ y $[\text{Cu}_3(\text{Schiff})(\text{Cl})_2(\text{H}_2\text{O})_3]$ son no electrolitos considerando los bajos valores de conductividad eléctrica en solución, atendiendo a los valores sugeridos por Geary (Geary, 1971).

Tabla 7. Conductividad molar de los complejos metálicos.

Complejos	Λ (S.cm ² .mol ⁻¹)	T(°C)	Tipo de electrolito
$[\text{Co}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$	113,7	24,0	Conductor (1:1).
$[\text{Ni}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$	39,2	24,5	No conductor
$[\text{Zn}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$	30,7	23,0	No conductor
$[\text{Fe}(\text{Schiff})\text{SO}_4(\text{H}_2\text{O})_8]$	23,5	25,5	No conductor
$[\text{Cu}_2(\text{Schiff})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})_5]$	27,5	24,0	No conductor
$[\text{Cu}_3(\text{Schiff})(\text{Cl})_2(\text{H}_2\text{O})_3]$	30,1	25,0	No conductor
$[\text{Sn}_3(\text{Schiff})(\text{OH})_5]$.	178,9	22,9	Conductor (1:3).

Λ m: conductividad molar, T: temperatura, S: siemens (ohm⁻¹).

Fórmula estructural

La figura 23 detalla la posible fórmula estructural de los complejos metálicos mononucleares con la base de Schiff obtenida de la condensación de penicilina V y

1,2 fenilendiamina. La base de Schiff actúa como un ligando tridentado monoaniónico, coordinando el metal a través de los nitrógenos de la 1,2 fenilendiamina y un oxígeno proveniente del grupo carboxilato. El metal se encuentra hexacoordinado con posible simetría octaédrica. La carga positiva del metal se encuentra neutralizada por la carga negativa del grupo carboxilato de la base y la carga negativa proveniente del anión, X = acetato o sulfato, según sea el caso, coordinados directamente al ión central. La esfera de coordinación es completada con dos moléculas de agua. Los datos fueron insuficientes para sugerir estructura de los complejos polinucleares.

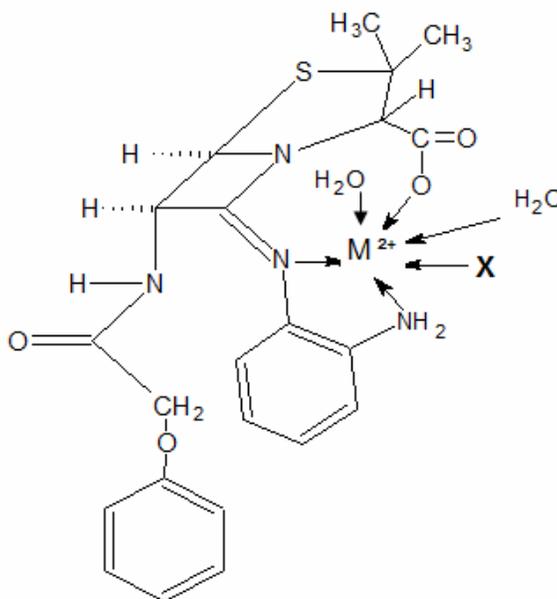


Figura 23. Fórmula estructural sugerida para los complejos sintetizados $M = \text{Co(II)}$, Ni(II) , Zn(II) , $X = \text{acetato}$; Fe(III) , $X = \text{sulfato}$.

Actividad biológica

Los resultados obtenidos de las pruebas realizadas para determinar la posible actividad biológica de la penicilina V y de los compuestos sintetizados, según el método de difusión en disco, permiten afirmar que de los siete complejos

sintetizados, sólo cinco, poseen acción antibacteriana sobre determinadas cepas de las bacterias utilizadas. Los resultados para este ensayo se muestran en la tabla 8. Los complejos $[\text{Cu}_3(\text{Schiff})(\text{Cl})_2(\text{H}_2\text{O})_3]$ y $[\text{Sn}_3(\text{Schiff})(\text{OH})_5]$ no presentan alguna actividad antibacteriana frente a las cepas ensayadas. La penicilina V mostró actividad frente a cuatro de las cinco bacterias utilizadas dentro de ellas *S. aureus*, *E. faecalis*, *S. viridans*, y *Enterococcus* sp. (tabla 8) presentando su mayor actividad ante la cepa de *S. aureus*, con un halo de inhibición de 45 mm (figura 24), observándose una resistencia marcada en la cepa de SARM.

Tabla 8. Halos de inhibición en mm producidos por la penicilina V y los complejos sintetizados, frente al grupo de bacterias ensayadas.

Complejos 400 µg/disco	SARM	<i>S.aureus</i>	<i>E.faecalis</i>	<i>S.viridans</i>	<i>Enterococcus</i> sp.
Penicilina V	--	45	36	19	36
$[\text{Co}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$	--	16	--	--	--
$[\text{Ni}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$	18	36	27	10	40
$[\text{Zn}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$	--	7	--	--	--
$[\text{Fe}(\text{Schiff})\text{SO}_4(\text{H}_2\text{O})_8]$	15	25	22	20	30
$[\text{Cu}_2(\text{Schiff})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})_5]$	15	7	--	--	36

-- sin actividad, SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

El complejo base Schiff de $[\text{Co}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$ no manifestó mayor actividad antibacteriana, resultó negativo en la mayoría de las bacterias evaluadas, con excepción de la cepa de *S. aureus* que mostró un halo de 16 mm, menor que el antibiotico comercial que presentó un halo de 45 mm para esta bacteria (figura 24).

El complejo de $[\text{Ni}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$ resultó activo para las cinco bacterias en estudio, notándose mayor actividad antibacteriana en las cepas de, *Enterococcus* sp. con un halo de 40 mm y SARM con halos de 18 mm, superando la actividad de la penicilina V que mostró halos de 36 mm para *Enterococcus* sp. y total resistencia para SARM.

El complejo de $[\text{Fe}(\text{Schiff})\text{SO}_4(\text{H}_2\text{O})_8]$, manifestó actividad antibacteriana frente a todas la cepas empleadas, resultando menor a la del antibiotico comercial en las cepas *S. aureus* con halos de 25 mm (figura 24), *E. faecalis* con halo de 22 mm (figura 25), *S. viridans*, y *Enterococcus* sp. con halos de 20 y 30 mm respectivamente, obteniéndose resultados satisfactorios en la cepa de SARM con un halo de 15 mm.



Figura 24. Halos de inhibición de la penicilina V, complejos de $[\text{Fe}(\text{Schiff})\text{SO}_4(\text{H}_2\text{O})_8]$, $[\text{Ni}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$ y $[\text{Co}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$ frente a *S. aureus* para 400 $\mu\text{g}/\text{disco}$.

La actividad del complejo base Schiff de $[\text{Cu}_2(\text{Schiff})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})_5]$ se manifestó activo ante la cepa de *Enterococcus* sp. notándose un halo con diámetro de 36 mm; de igual forma, se evidenció actividad en la cepa de SARM con halos de 15 mm, para la cepa de *S. aureus* la actividad fue menor, con halo de 7 mm.

El complejo $[\text{Sn}_3(\text{Schiff})(\text{OH})_5]$ no presentó actividad alguna frente a las cepas ensayadas, mientras que el complejo $[\text{Zn}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$ presentó una mínima actividad frente a la cepa *S. aureus* con halo de 7 mm (figura 26), por lo tanto estos complejos no mostraron resultados satisfactorios.



Figura 25. Halos de inhibición de la penicilina V, complejo de $[\text{Fe}(\text{Schiff})\text{SO}_4(\text{H}_2\text{O})_8]$, $[\text{Ni}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$ ante la cepa de *E. faecalis* a una concentración de 400 $\mu\text{g}/\text{disco}$.



Figura 26. Halo de inhibición del complejo de $[Zn(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$ ante la cepa de *S. aureus* a una concentración de 400 µg/disco.

En la tabla 9 se pueden observar 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 27 a la 33.

Para este ensayo la actividad antibacteriana de la penicilina V se mantuvo hasta una concentración de 25 µg/disco (figuras 27, 28), para la mayoría de la bacteria utilizadas, exceptuando la cepa de *S. viridans* que mostró una mínima concentración de 100 µg/disco con un halo de 10 mm, manteniendo una resistencia marcada para la cepa de SARM.



Figura 27. Halos de inhibición de la penicilina V para la cepa de *S. aureus* a diferentes concentraciones.

Tabla 9. Halos de inhibición en mm producidos por la penicilina V y los complejos sintetizados empleando discos a diferentes concentraciones.

Complejos	$\mu\text{g}/\text{disco}$	SARM	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. viridans</i>	<i>Enterococcus</i> sp.
Penicilina	400	--	45	36	19	35
	200	--	40	31	18	30
	100	--	38	30	12	29
	50	--	36	25	10	25
	25	--	35	23	--	22
[Co(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂]	400	--	15	--	--	--
	200	--	14	--	--	--
	100	--	14	--	--	--
	50	--	13	--	--	--
	25	--	--	--	--	--
[Ni(Schiff)Ac(H ₂ O) ₂]	400	18	37	27	10	40
	200	17	33	23	3	36
	100	13	28	--	--	32
	50	11	25	--	--	30
	25	--	20	--	--	30
[Fe(Schiff)SO ₄ (H ₂ O) ₈]	400	15	18	22	20	30
	200	15	14	22	15	28
	100	10	6	--	7	25
	50	8	--	--	3	18
	25	--	--	--	--	--
[Cu ₂ (Schiff)Cl(H ₂ O) ₅]	400	15	--	--	--	36
	200	13	--	--	--	23
	100	10	--	--	--	22
	50	--	--	--	--	13
	25	--	--	--	--	--

Conc.: Concentración, SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

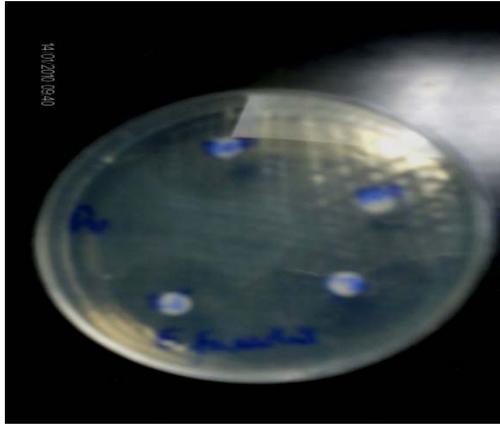


Figura 28. Halos de inhibición para la pencilina V ante la cepa de *E. faecalis* a diferentes concentraciones.

El complejo de $[\text{Co}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$ presentó actividad solo para la cepa de *S. aureus* mostrando su actividad hasta una concentración de 50 $\mu\text{g}/\text{disco}$ con un halo de 13 mm (figura 29).



Figura 29. Halos de inhibición para el complejo de $[\text{Co}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$ ante la cepa de *S. aureus*, hasta una concentración de 50 $\mu\text{g}/\text{disco}$.

El comportamiento del complejo de $[\text{Ni}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$ resultó satisfactorio en vista que mostró actividad antibacteriana para todas las cepas ensayadas, manteniendola hasta una concentración mínima de 25 $\mu\text{g}/\text{disco}$ para *S. aureus* con un halo de 20 mm (figura 30) y *Enterococcus* sp. con un halo de de 30 mm, para la cepas de *E. faecalis* y *S. viridans* la concentración alcanzada fue de 100 $\mu\text{g}/\text{disco}$ con halo de 23 y 3 mm respectivamente. La mayor efectividad de este complejo se manifestó

con cepa de SARM con una mínima concentración de 50 µg/disco representada con un halo de 11 mm.



Figura 30. Halos de inhibición para el complejo de $[\text{Ni}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$ frente a la cepa de *S. aureus*.

En el ensayo realizado para el complejo de $[\text{Fe}(\text{Schiff})\text{SO}_4(\text{H}_2\text{O})_8]$, los resultados obtenidos evidencian una buena actividad antibacteriana frente a todas las cepas utilizadas, mostrando diversidad en cuanto a las concentraciones mínimas alcanzadas. La cepa de *S. aureus* a una concentración mínima de 100 µg/disco mostró un halo de 6 mm (figura 31). Para la cepa de SARM la mínima concentración se manifestó a los 50 µg/disco con un halo de 8 mm, de la misma forma para cepa de *S. viridans*, con halo de 3 mm y *Enterococcus* sp. con halo 18 mm, en la cepa de *E. faecalis* el complejo de $[\text{Fe}(\text{Schiff})\text{SO}_4(\text{H}_2\text{O})_8]$ se mantuvo activo hasta la concentración de 100 µg/disco mostrando un halo de 22 mm.



Figura 31. Halos de inhibición de complejo de $[\text{Fe}(\text{Schiff})\text{SO}_4(\text{H}_2\text{O})_8]$ para la cepa de *S. aureus* a diferentes concentraciones.

El complejo de $[\text{Cu}_2(\text{Schiff})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})_5]$ reflejó actividad para la cepa de

Enterococcus sp. con un halo de 13 mm para una concentración de 50 µg/disco y 10 mm para una concentración mínima de 100 µg/disco en el caso de SARM.

Los complejos de $[\text{Cu}_2(\text{Schiff})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})_5]$ y $[\text{Zn}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$, en un primer ensayo mostraron una mínima actividad antibacteriana para la cepa de *S. aureus* con un halo de 7mm solo para la concentración de 400 µg/disco, este ensayo se complementó con una segunda prueba con la finalidad de evaluar el comportamiento de este complejo a mayores concentraciones, para ellos se incorporaron concentraciones de 600 y 800 µg/discos solo para estos dos complejos, de los cuales se obtuvieron para el caso de $[\text{Cu}_2(\text{Schiff})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})_5]$ halos de 15 mm para 600 µg/disco y halo de 20 mm para la concentración de 800 µg/ disco (figura 32), para el $[\text{Zn}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$ los halos fueron de 21 y 35 mm para las concentraciones de 600 y 800 µg/disco respectivamente (figura 33).



Figura 32. Halos de inhibición del complejo de $[\text{Cu}_2(\text{Schiff})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})_5]$ para la cepa de *S. aureus* a concentraciones de 400, 600 y 800 µg/disco.

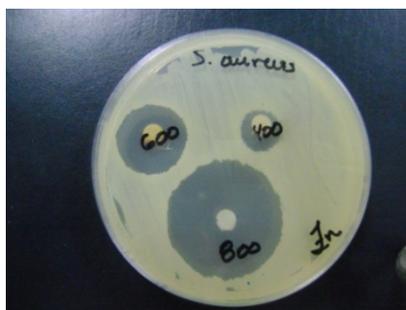


Figura 33. Halos de inhibición del complejo de $[\text{Zn}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$ a concentraciones de 400, 600 y 800 µg/disco, frente a la cepa de *S. aureus*.

A pesar que la penicilina V limita su espectro de acción a microorganismos Gram positivos sensibles, a través de presente ensayo quedó demostrado experimentalmente, que la sustitución de grupos químicos en el principio activo de la molécula de penicilina, mediante interacciones con iones metálicos mejora considerablemente la efectividad del antibiótico. Tomando en cuenta los resultados obtenidos en la evaluación de la actividad antimicrobiana por difusión en agar y dilución en disco de los complejos metálicos sintetizados, se afirma 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) y según los valores mostrados en la tabla número 9, se puede establecer que las cepas de *Enterococcus* sp. y *E. faecalis* se muestra sensible para los complejos de $[\text{Fe}(\text{Schiff})\text{SO}_4(\text{H}_2\text{O})_8]$, $[\text{Ni}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$, $[\text{Cu}_2(\text{Schiff})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})_5]$ y las concentraciones de penicilina V empleadas para este ensayo, estableciendo comparaciones representativas entre la penicilina V y los complejos inclusive a concentraciones menores a los 400 $\mu\text{g}/\text{discos}$, tal es el caso del complejo de $[\text{Ni}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$ que a una concentración de 25 $\mu\text{g}/\text{disco}$ donde la actividad de mismo se vio reflejada con un halo 30 mm de diámetro.

La cepa de *S. aureus* se mostró sensible para el complejos de $[\text{Ni}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$ y $[\text{Fe}(\text{Schiff})\text{SO}_4(\text{H}_2\text{O})_8]$, con halos mayores a 29 mm hasta concentraciones de 200 $\mu\text{g}/\text{disco}$, considerándolos satisfactorios en vista de que el complejo mantiene su efectividad aun cuando se le disminuye la concentración en los disco.

Para las cepas SARM y *E. viridans*, no se establece sensibilidad o resistencia ya que el CLSI no muestra puntos de corte para estas cepas bacterianas. susceptibles a meticilina, sin embargo, tomando en consideración los valores obtenidos de las

concentraciones de penicilina V empleadas para este ensayo se podría decir que la cepa de SARM se mostro sensible para los complejos de $[\text{Ni}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$, $[\text{Fe}(\text{Schiff})\text{SO}_4(\text{H}_2\text{O})_8]$ y $[\text{Cu}_2(\text{Schiff})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})_5]$, dado que la penicilina mostró resistencia marcada para esta cepa, mientras que cepa de *E. viridans*, muestra sensibilidad para $[\text{Ni}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$ hasta una concentración de 25 μg / disco y $[\text{Cu}_2(\text{Schiff})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})_5]$ a una concentración de 400 μg /discos.

CONCLUSIONES

Se sintetizaron complejos mono y polinucleares utilizando metales de la primera serie de transiciones y un ligando base de Schiff obtenido por condensación de penicilina V y 1,2 fenilendiamina. Los complejos mononucleares sintetizados presentan las siguientes fórmulas moleculares $[\text{Co}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$, $[\text{Ni}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$, $[\text{Zn}(\text{Schiff})\text{Ac}(\text{H}_2\text{O})_2]$ y $[\text{Fe}(\text{Schiff})\text{SO}_4(\text{H}_2\text{O})_8]$. Los complejos polinucleares son $[\text{Cu}_2(\text{Schiff})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})_5]$, $[\text{Cu}_3(\text{Schiff})(\text{Cl})_2(\text{H}_2\text{O})_3]$ y $[\text{Sn}_3(\text{Schiff})(\text{OH})_5]$.

De acuerdo a su caracterización espectroscópica y fisicoquímica se puede sugerir que el ligando base de Schiff se comporta como un ligando tridentado monoaniónico que forma complejos metálicos con una posible estructura octaédrica.

Las técnicas de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar y susceptibilidad antimicrobiana por dilución en disco a diferentes concentraciones, establecen que los complejos poseen actividad antibacteriana frente a la mayoría de las cepas bacterianas ensayadas.

La mayor eficacia de los complejos fue reflejada por los complejos de hierro y níquel frente a la cepa bacteriana de *S. aureus*. Los complejos de níquel, hierro y cobre mostraron actividad frente a la cepa de SARM, cromosómicamente resistente a meticilina y a los betalactámicos.

El ensayo para los complejos de zinc y cobre a concentraciones de 600 y 800 $\mu\text{g}/\text{disco}$ demostraron que se puede evaluar la actividad antibacteriana de los complejos a mayor concentración sin alterar su difusión en el medio de cultivo o la absorción en el disco.

BIBLIOGRAFÍA

Ambler, R. 1980. The structure of beta-lactamases Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Serie B. *Biol. Sci.*, 289: 321 - 331.

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

Anaconda, J. y Álvarez, P. 2002. Synthesis and antibacterial activity of metal complexes of cefazolin. *Trans. Metal Chem.*, 27: 856-860.

Anaconda, J. y Figueroa, E. 1999. Synthesis and characterization of metal complexes with penicillin. *J. Coord. Chem.*, 48: 181-189

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

Bauer, A.; Kirby, W.; Sherris, J. y Turk, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am. J. Clin. Pathd.*, 45: 493-896.

Bravo, A. y Anaconda, J. 1998. Synthesis and characterization of metal complexes with ampicillin. *J. Coord. Chem.*, 44: 173 – 182.

Brock, T. 1973. *Biología de los microorganismos*. Editorial Omega. Barcelona.

Bush, K.; Jacoby, G. y Medeiros, A. 1995. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 39: 1211-1233.

Chopra, I.; Hodgson, J.; Metcalf, B. y Poste, G. 1997. The search for antimicrobial agents effective against bacteria resistant to multiple antibiotics. *Antimicrob. Agents. Chem.*, 41: 497-503.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2011. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twentieth informational supplement CLSI M100-S21 Wayne (PA) USA.

Davis, B.; Dulbeco, R.; Eisen, H. y Ginsberg, H. 1984. *Tratado de microbiología*. Tercera edición. Ediciones Salvat. España.

Drago, R. 1965. *Physical Methods in Inorganic Chemistry*. Chapman and Hall. London.

Geary, W. 1971. The use conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds. *Coord. Chem. Rev.*, 7: 81-115.

Georgopapadacou, N. 1993. Penicillin – binding proteins and bacterial resistance to beta – lactams. *Antimicrob. Agents. Chem.*, 37: 2045- 2053.

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.

Goodman, A.; Rall, T.; Nies, A. y Taylor, P. 1991. Las bases farmacológicas de la terapéutica. En: *Agentes antimicrobianos, penicilina, cefalosporinas y otros antibióticos betalactámicos*. Octava edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina. Págs. 1050-1062

Goodman, A.; Rall, T.; Nies, A. y Taylor, P. 1996. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Novena edición. Editorial Panamericana. Argentina.

Jawetz, E.; Melnick, J. y Adelberg, E. 1992. *Microbiología médica*. Decimacuarta edición. Editorial El Manual Moderno. México.

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

Kobayashi, Y.; Takahashi, T.; y Nakae, T. 1982. Diffusion of beta-lactam antibiotics through liposome membranes containing purified porins. *Antimicrob. Agents Chem.*, 22:775-780.

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

Kunin, C. 1993. Resistance to antimicrobial drugs a worldwide calamity. *Ann. Intern. Med.*, 118: 557-561.

Lansing, P.; Harley, J. y Donald, K. 2004. *Microbiología*. Quinta edición. Editorial McGraw Hill Interamericana. España.

Livermore, D. 1996. *Beta-lactams : mode of action and mechanisms of bacterial resistance*. A Lorian, V. (ed). Antibiotics in Laboratory Medicine. Cuarta edición . Baltimore : Williams and Wilkins. 505-578.

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

Marpa, D. 2011. Actividad antibacteriana de complejos base de Schiff que contienen amoxicilina- salicilaldehído. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Mechan, E.; Elving, P. y Kolthoff, I. 1981. En: *Treatise on Analytical Chemistry*. Segunda edición, capítulo 3. New York.

Moellering, R. 1995. Past, Present and future of antimicrobial agents. *Am. J. Med.*, 99 (Supl 6A): 11S-18S.

Nakamoto, K. 1986. *Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds*. Cuarta edición. Wiley. Estados Unidos.

Neu, C. 1983. Structure-activity relations of new B-lactam compounds and *in vitro* activity against common bacteria. *Rev. Infect. Dis.*, 5(2): 319-331.

Pass, G. y Sutcliffe, H. 1979. *Practical inorganic chemistry*. Segunda edición. Chapman and Hall. London.

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

Ragnar, N. 1995. *Carbapenems, efficacy and safety profiles, focus on meropenem*. Scandinavian University Press. Sweden

Russell, S. 1965. *Physical Methods in Inorganic Chemistry*. Reinhold publishing corporation New York.

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

Skoog, D.; Holler, J.; Nieman, T. 2001. *Principios de Análisis Instrumental*. Quinta edición. Editorial McGraw Hill. Madrid.

Spratt, B. 1975. Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation and shape of *Escherichia coli*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2999-3003.

Waxman, D.; Yocum, R.; y Strominger, J. 1980. Penicillins and cephalosporins are active site-directed acylating agents: evidence in support of the substrate analogue hypothesis. *Philos. Trans. Soc. Lond.*, 289, 257-271.

HOJA DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

Título	SÍNTESIS DE COMPLEJOS METÁLICOS CON UN LIGANDO BASE DE SCHIFF, QUE CONTIENE PENICILINA V Y 1,2 FENILENDIAMINA PARA LA DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Ruiz F., Karen V.	CVLAC	
	e-mail	Kar_ruiz115@hotmail.com
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Penicilina V
Resistencia bacteriana

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

Se sintetizó una base de Schiff monoprotonada mediante la reacción entre la penicilina V (fenoximetilpenicilina) comercial y la 1,2 fenilendiamina. La base se hizo reaccionar con metales de la primera serie de transición para la obtención de los complejos mononucleares [Co(Schiff)Ac(H₂O)₂], [Ni(Schiff)Ac(H₂O)₂], [Zn(Schiff)Ac(H₂O)₂], [Fe(Schiff)SO₄(H₂O)₈] y los complejos polinucleares [Cu₂(Schiff)Cl(H₂O)₅], [Cu₃(Schiff)(Cl)₂(H₂O)₃] y [Sn₃(Schiff)(OH)₅]. La caracterización de los complejos sintetizados se realizó utilizando técnicas de espectroscopia infrarroja, espectroscopia Ultravioleta-visible, conductividad molar, susceptibilidad magnética, análisis térmico y elemental. Las pruebas de susceptibilidad antibacteriana de cada complejo se realizaron en cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Streptococcus viridans* (cepa salvaje), *Enterococcus* sp. (cepa salvaje) y *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SARM) (cepa salvaje), utilizando las técnicas de difusión en agar y dilución en disco a diferentes concentraciones. La actividad de los complejos resultó efectiva para algunas de las bacterias estudiadas, como es el caso del complejo de [Fe(Schiff)SO₄(H₂O)₈] contra la cepas de *Streptococcus viridans* y *Enterococcus* sp.; de igual manera, los complejos de [Ni(Schiff)Ac(H₂O)₂], [Fe(Schiff)SO₄(H₂O)₈] y [Cu₂(Schiff)Cl(H₂O)₅] contra la cepa de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente, a pesar de ser esta, resistente al antibiótico comercial. Los complejos [Cu₃(Schiff)(Cl)₂(H₂O)₃] y [Sn₃(Schiff)(OH)₅] no mostraron actividad antibacteriana alguna contra las cepas ensayadas.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

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	juananacona@hotmail.com
	e-mail	
Brito, Liangel	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	12 660 798
	e-mail	Liangelve@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	12	12

Lenguaje: spa

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis_KVRF.doc	Aplication/Word

Alcance:

Espacial : _____

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

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

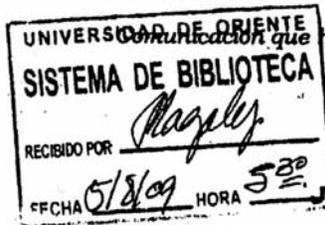
Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.



Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

JUAN A. BOLANOS CUNVELO
Secretario



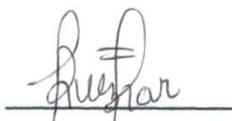
C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

Apartado Correos 094 / Telfs: 4008042 - 4008044 / 8008045 Telefax: 4008043 / Cumaná - Venezuela

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009): “Los trabajos de grados son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y solo podrá ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Concejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Concejo Universitario, para su autorización”.



Karen Ruiz

Autor



Juan Anaconda

Asesor