

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Propiedades físicas de los complejos obtenidos

A continuación se muestran los datos obtenidos con respecto a las propiedades físicas de los compuestos obtenidos. Es importante mencionar respecto al complejo meclofenamato de cobre monometálico, que no fue empleado en las pruebas de actividad peroxidasa, hemolítica (con los eritrocitos lavados y con anticoagulante) y antimicrobiana, ya que no fue posible solubilizarlo en ninguno de los disolventes empleados. También es importante hacer notar que, en algunos de los compuestos se observaron rangos amplios de temperatura de punto de fusión que pueden indicar la presencia de polímeros que se van degradando poco a poco conforme la temperatura aumenta [Chang, 2001]. Sólo los pesos moleculares de los complejos de cobre y de cadmio fueron obtenidos por espectrometría de masas, cuyos espectros serán analizados en la sección correspondiente. Los datos espectroscópicos serán discutidos en apartados posteriores.

5.1.1 Meclofenamato de cadmio

Cristales prismáticos incoloros.

Fórmula molecular: $[\text{Cd}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \cdot (\text{CH}_3\text{OH})_2]$.

Peso molecular: 1628.00 g/mol.

Punto de fusión: 225.00-240.00°C.

Rendimiento teórico: 135.00 mg.

Rendimiento real: 39.70 mg (29.41%).

Solubilidad:

Agua	Metanol	Acetona	Cloroformo	Diclorometano	Dimetilformamida	Acetonitrilo
-	+/-	+	-	-	-	-

Datos espectroscópicos:

IR $\nu(\text{cm}^{-1})$: $\nu_{\text{asim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$ 1608, $\nu_{\text{sim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$ 1386.

UV $\lambda_{\text{máx}}$ (nm): 355, 336, 210.

5.1.2 Meclofenamato de plomo

Sólidos amorfos blanquecinos.

Fórmula molecular: $[\text{Pb}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}]_n$

Peso molecular: 815.43 g/mol

Punto de fusión: 243.00-250.00 °C.

Rendimiento teórico: 151.00 mg.

Rendimiento real: 65.00 mg (56.95%).

Solubilidad:

Agua	Metanol	Acetona	Cloroformo	Diclorometano	Dimetilformamida	Acetonitrilo
-	+/-	+	+	-	-	-

Datos espectroscópicos:

IR $\nu(\text{cm}^{-1})$: $\nu_{\text{asim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$ 1616, $\nu_{\text{sim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$ 1374.

UV $\lambda_{\text{máx}}$ (nm): 363, 339, 209.

5.1.3 Meclofenamato de cobalto

Agujas prismáticas rosadas.

Fórmula molecular: $[\text{Co}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$

Peso molecular: 685.17 g/mol

Punto de fusión: 200.00-205.00 °C

Rendimiento teórico: 137.00 mg.

Rendimiento real: 72.99 mg (53.28%).

Solubilidad:

Agua	Metanol	Acetona	Cloroformo	Diclorometano	Dimetilformamida	Acetonitrilo
-	+/-	+	-	-	+	-

Datos espectroscópicos:

IR $\nu(\text{cm}^{-1})$: $\nu_{\text{asim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$ 1606, $\nu_{\text{sim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$ 1375.

UV $\lambda_{\text{máx}}$ (nm): 573, 361, 346, 210.

5.1.4 Meclofenamato de cromo

Sólidos amorfos azulados.

Fórmula molecular: $[\text{Cr}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_3]$

Peso molecular: 937.35 g/mol

Punto de fusión: > 300.00 °C

Rendimiento teórico: 127.00 mg.

Rendimiento real: 63.50 mg (50%).

Solubilidad:

Agua	Metanol	Acetona	Cloroformo	Diclorometano	Dimetilformamida	Acetonitrilo
-	+/-	+	-	-	+	-

Datos espectroscópicos:

IR $\nu(\text{cm}^{-1})$: $\nu_{\text{asim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$ 1616, $\nu_{\text{sim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$ 1396.

UV $\lambda_{\text{máx}}$ (nm): 358, 336, 210.

5.1.5 Meclofenamato de zinc

Sólidos amorfos blanquecinos.

Fórmula molecular: $[\text{Zn}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$

Peso molecular: 691.61 g/mol

Punto de fusión: 215.00 °C

Rendimiento teórico: 145.00 mg.

Rendimiento real: 35.00 mg (24.13%).

Solubilidad:

Agua	Metanol	Acetona	Cloroformo	Diclorometano	Dimetilformamida	Acetonitrilo
-	+/-	+	-	-	-	-

Datos espectroscópicos:

IR $\nu(\text{cm}^{-1})$: $\nu_{\text{asim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$ 1616, $\nu_{\text{sim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$ 1396.

UV $\lambda_{\text{máx}}$ (nm): 366, 346, 210.

5.1.6 Meclofenamato de cobre bimetálico

Cristales prismáticos verdes.

Fórmula molecular: $[\text{Cu}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2]_2$

Peso molecular: 1401.00 g/mol

Punto de fusión: 235.00 °C

Rendimiento teórico: 126.00 mg.

Rendimiento real: 67.46 mg (53.54%).

Solubilidad:

Agua	Metanol	Acetona	Cloroformo	Diclorometano	Dimetilformamida	Acetonitrilo
-	+/-	+	+	+	+	-

Datos espectroscópicos:

IR $\nu(\text{cm}^{-1})$: $\nu_{\text{asim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$ 1616, $\nu_{\text{sim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$ 1395.

UV $\lambda_{\text{máx}}$ (nm): 683, 353, 335, 210.

5.1.7 Meclofenamato de cobre monometálico

Agujas prismáticas verdes.

Fórmula molecular: $[\text{Cu}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2] \cdot (\text{C}_5\text{H}_5\text{N})_2$

Peso molecular: 811.34 g/mol

Punto de descomposición: 235.00 °C

Rendimiento teórico: 67.00 mg

Rendimiento real: 52.00 mg (77.61%)

Solubilidad:

Agua	Metanol	Acetona	Cloroformo	Diclorometano	Dimetilformamida	Acetonitrilo
-	-	-	-	-	-	-

Datos espectroscópicos:

IR $\nu(\text{cm}^{-1})$: $\nu_{\text{asim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$ 1606, $\nu_{\text{sim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$ 1349.

5.2 Análisis de los espectros de Infrarrojo

De manera general, la tabla 6 muestra las bandas asimétrica y simétrica de todos los complejos obtenidos. Cada uno de los espectros será discutido posteriormente y pueden revisarse en el apéndice A.

Tabla 6. Vibración asimétrica y simétrica de las bandas de IR para el grupo carboxilato.

Compuesto	$\nu_{\text{asim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$ (cm^{-1})	$\nu_{\text{s}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$ (cm^{-1})	$\Delta\nu$ (cm^{-1}) ($\Delta\nu = \nu_{\text{asim}} - \nu_{\text{sim}}$)	Modo de coordinación
Meclofenamato sódico	1614	1385	228	Iónico
Meclofenamato de Cadmio [Cd(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂ (MeOH)] ₂	1608	1386	221	Bidentado
Meclofenamato de Plomo [Pb(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂ •H ₂ O] _n	1616	1374	241	Monodentado
Meclofenamato de Cobalto [Co(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂ •2H ₂ O]	1606	1375	231	Bidentado
Meclofenamato de cromo [Cr(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₃]	1616	1396	220	Bidentado
Meclofenamato de zinc [Zn(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂ •2H ₂ O]	1616	1396	220	Bidentado
Meclofenamato de cobre bimetálico [Cu(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂] ₂	1616	1395	220	Bidentado
Meclofenamato de cobre monometálico [Cu(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂ • (C ₅ H ₅ N) ₂]	1606	1349	257	Monodentado

5.2.1 Meclofenamato de cadmio [Cd(C₁₄H₁₀NO₂Cl₂)₂•(CH₃OH)]₂.

En el espectro de IR de este complejo (apéndice A, figura A2) la banda de vibración de estiramiento antisimétrico correspondiente al carbonilo del grupo carboxilo de sales de ácido carboxílico, en este caso aparece en 1608 cm^{-1} , mientras que la banda simétrica

correspondiente se observa a una frecuencia de 1386 para el mismo grupo funcional. La banda de absorción antisimétrica, $\nu_{\text{asim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$ para el meclofenamato sódico aparece en 1614 cm^{-1} y, la banda simétrica correspondiente, $\nu_{\text{sim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$ aparece en 1385 cm^{-1} . En el espectro de IR del meclofenamato sódico (figura A1) se observa un desplazamiento ligero en las bandas antisimétricas y simétricas del complejo de cadmio con respecto al del fármaco, que podrían indicar la coordinación del ión metálico al ligante. Sin embargo, no se observan diferencias significativas en el desplazamiento de dichas bandas debido a que estamos empleando la sal sódica del ligante y el ión sodio que interactúa con el carboxilato del ligante podría observarse de manera similar al ión cadmio, ya que están ocupando la misma posición en la molécula. Calculando la $\Delta\nu$ ($\Delta\nu = \nu_{\text{asim}} - \nu_{\text{sim}}$), se obtuvo un valor de 221 cm^{-1} , lo que sugiere un modo de coordinación bidentado. Si el valor de $\Delta\nu$ es mayor de 240, el grupo carboxilato se comporta como ligante monodentado, de lo contrario será bidentado [Mahmood *et al*, 2002].

5.2.2 Meclofenamato de plomo $[\text{Pb}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}]_n$

También se realizó el análisis correspondiente al espectro de IR del complejo de plomo (apéndice A, figura A3). De la misma forma se siguieron las bandas simétricas y antisimétricas de los grupos carboxilato. La banda de la vibración antisimétrica del grupo carboxilo, $\nu_{\text{asim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$, apareció en 1616 cm^{-1} y aparece ligeramente dobleteada. Además, se observa algo similar en la banda de vibración simétrica, $\nu_{\text{sim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$, que aparece en 1374 cm^{-1} , y puede observarse como una banda dobleteada de intensidad fuerte. De esta forma, el desplazamiento de las bandas antisimétrica y simétrica del meclofenamato de plomo muestran un ligero desplazamiento con respecto a las bandas observadas en el meclofenamato sódico. Al calcular la $\Delta\nu$ en este espectro se obtuvo un valor de 241 cm^{-1} , lo que sugiere un modo de coordinación monodentado [Mahmood *et al*, 2002]. Se observan bandas similares en el espectro del complejo $[\text{Pb}(\text{asp}_2)(\text{H}_2\text{O})]_n$ reportado por Vázquez-Árciga [2004], en el que el dobleteo probablemente ocurre por existir dos tipos de carbonilos en el sistema, y de esta forma podría sugerirse una estructura similar que la determinada previamente para el meclofenamato de plomo.

5.2.3 Meclofenamato de cobalto [$\text{Co}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$]

En el espectro de IR de este complejo (apéndice A, figura A5) se pudo observar que las bandas de vibración antisimétrica y simétrica presentan un desplazamiento ligero con respecto al espectro del meclofenamato sódico. La banda de vibración antisimétrica en el meclofenamato de cobalto, $\nu_{\text{asim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$, aparece en 1606 cm^{-1} y la vibración simétrica, $\nu_{\text{sim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$, aparece en 1375 cm^{-1} . Al calcular la $\Delta\nu$ se obtuvo un valor de 231 cm^{-1} [Mahmood *et al*, 2002], sugiriéndose un modo de coordinación bidentado. Sin embargo, en el estudio realizado por Bury et al [1988] solamente reportan la banda de vibración en 1390 cm^{-1} y la banda de vibración antisimétrica estuvo ausente.

5.2.4 Meclofenamato de cromo [$\text{Cr}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_3$]

En el espectro de IR de este complejo (apéndice A, figura A6) se observó que la intensidad de la banda de vibración antisimétrica, $\nu_{\text{asim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$, apareció en 1616 cm^{-1} y la intensidad de la banda fue débil. La banda de vibración simétrica, $\nu_{\text{sim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$, fue observada en 1395 cm^{-1} con una intensidad moderada y al calcular $\Delta\nu$ se obtuvo un valor de 221 cm^{-1} . También se sugiere un modo de coordinación bidentado [Mahmood *et al*, 2002], aunque esto debe ser corroborado con la obtención de la estructura cristalina de este compuesto. También se observó desplazamientos ligeros de las bandas antisimétricas y simétricas de este complejo comparadas con las bandas observadas en el espectro del meclofenamato sódico.

5.2.5 Meclofenamato de zinc [$\text{Zn}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$]

El espectro de IR de este complejo (apéndice A, figura A7) muestra gran similitud con el espectro observado en el meclofenamato de cadmio posiblemente por encontrarse en el mismo grupo de la tabla periódica, y a pesar del ligero desplazamiento de las bandas antisimétrica y simétrica del grupo carboxilato. La banda de vibración antisimétrica, $\nu_{\text{asim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$, del complejo meclofenamato de zinc apareció en 1616 cm^{-1} , mientras que la banda de vibración simétrica, $\nu_{\text{sim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$, apareció en 1396 cm^{-1} . La $\Delta\nu$ calculada en este

caso fue de 220 cm^{-1} . De igual manera se sugiere un modo de coordinación bidentado [Mahmood et al, 2002] con una estructura de difracción muy similar a la del complejo meclofenamato de cadmio y a la reportada para el complejo $[\text{Zn}_2(\text{Indo})_4(\text{Pyr})_2]$, en la que la presencia de la banda antisimétrica de carboxilato se reporta alrededor de la región de 1600 cm^{-1} y también sugieren para este compuesto coordinación bidentada [Zhou *et al*, 2000].

5.2.6 Meclofenamato de cobre bimetálico $[\text{Cu}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2]_2$

A diferencia de los demás espectros de IR, el complejo de cobre bimetálico mostró una disminución en la intensidad de las bandas simétricas y antisimétricas (apéndice A, figura A4). La banda de vibración antisimétrica, $\nu_{\text{asim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$, apareció en 1616 cm^{-1} y la banda de vibración simétrica, $\nu_{\text{sim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$, apareció en 1395 cm^{-1} . Ambas bandas mostraron intensidad débil y la banda de vibración simétrica mostró un ligero doblete. La $\Delta\nu$ dio un valor de 221 cm^{-1} , por lo que el modo de coordinación sugerido es el bidentado [Mahmood *et al*, 2002].

5.2.7 Meclofenamato de cobre monometálico $[\text{Cu}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \cdot (\text{C}_5\text{H}_5\text{N})_2]$

En el espectro de IR de este complejo (apéndice A, figura A8), las bandas de vibración antisimétrica del grupo carboxilato, $\nu_{\text{asim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$, y simétrica, $\nu_{\text{sim}}(\text{C}=\text{O})_{\text{coo}}$ aparecieron en 1606 cm^{-1} y 1349 cm^{-1} . La $\Delta\nu$ calculada fue de 257 cm^{-1} , por lo que se sugiere un modo de coordinación monodentado [Mahmood et al, 2002], aunque la estructura de rayos X, que será discutida posteriormente, revela que el modo de coordinación es bidentado. En el estudio reportado por Bury *et al* [1988], sólo se reporta la banda de la vibración simétrica que estuvo ubicada en 1395 cm^{-1} para el complejo de cobre monometálico, y en este caso el complejo no estaba coordinado con piridina.

5.3 Bandas de UV-Visible de los complejos metal-ácido meclofenámico

El equipo empleado en este estudio fue un espectrofotómetro UV-Vis Varian Cary 100, con celdas de cuarzo de 1 cm y a una velocidad de escaneo de 600 nm/min . El meclofenamato

sódico mostró dos bandas características, una muy intensa en 337 y otra de intensidad moderada en 210 nm. Sin embargo, los complejos mostraron tres bandas en común. Además, los complejos con metales de transición con cobre(II) y cobalto(II) mostraron una banda extra por la absorción UV-visible del ión metálico. Sin embargo, en el complejo de cromo(II) esa banda estuvo ausente. Es importante mencionar que, debido a su insolubilidad, el complejo de cobre monometálico no fue caracterizado por espectroscopía UV-Visible. La banda 1 en todos los complejos se encuentra ligera o nulamente desplazada con respecto a la del meclofenamato sódico. La banda 2 presenta un ligero desplazamiento en la región de 335-346 nm y existen diferencias poco significativas con respecto a la banda del meclofenamato sódico (a excepción de los complejos de cobalto y de zinc). La banda 3, que se observa como un hombro unido a la banda 2, también muestra un desplazamiento ligero comprendido en la región de 353-363 nm. Esta banda estuvo ausente en el meclofenamato sódico (Tabla 7).

Los espectros UV de los complejos sintetizados son mostrados en el apéndice B.

Tabla 7. Valores de las bandas de UV-Visible de los complejos metal-ácido meclofenámico

Compuesto	Banda 1 (nm)	Banda 2 (nm)	Banda 3 (nm)	Banda 4 -complejos con metales de transición (nm)
Meclofenamato sódico	210	337	---	---
Meclofenamato de cadmio	210	336	355	---
$[\text{Cd}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \bullet (\text{CH}_3\text{OH})]_2$				
Meclofenamato de plomo	209	339	363	---
$[\text{Pb}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \bullet \text{H}_2\text{O}]_n$				
Meclofenamato de cobalto	210	346	361	573
$[\text{Co}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \bullet 2\text{H}_2\text{O}]$				
Meclofenamato de cromo	210	336	358	---
$[\text{Cr}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_3]$				
Meclofenamato de zinc	210	346	366	---
$[\text{Zn}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \bullet 2\text{H}_2\text{O}]$				
Meclofenamato de cobre bimetálico	210	335	353	683
$[\text{Cu}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2]_2$				

5.4 Análisis de los espectros de masas de alta resolución.

5.4.1 Meclofenamato de cadmio $[\text{Cd}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \cdot (\text{CH}_3\text{OH})_2]$

Al analizar el espectro de masas del meclofenamato de cadmio (apéndice C, figura C2) se pudo comprobar que dicho complejo forma una red polimérica. Esto se pudo comprobar gracias al cálculo del patrón de fragmentación de la molécula, que es mostrado en el apéndice, junto con el espectro de masas. En dicho espectro se puede observar el ión molecular que fue de $m/z = 1628$, correspondería a tres átomos de cadmio, cuatro moléculas de ácido meclofenámico, tres moléculas de metanol y, de acuerdo al cálculo, un átomo de oxígeno que podría estar enlazado al tercer átomo de cadmio y correspondería al oxígeno de un quinto grupo carboxilato. El análisis conjunto de esta información con la estructura de difracción de rayos X es conveniente para determinar la naturaleza de dicho complejo.

5.4.2 Meclofenamato de cobre bimetálico $[\text{Cu}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2]_2$

En el espectro de masas del meclofenamato de cobre bimetálico (apéndice C, figura C3), también se puede observar que de acuerdo al patrón de fragmentación, este complejo presenta un arreglo polimérico. Esto ya había sido reportado para otros complejos bimetálicos de cobre, en los que los iones de los cuatro grupos carboxilato actúan como ligantes que puentean simétricamente a dos átomos de cobre [Weder *et al*, 2002]. El pico del ión molecular tuvo un valor de $m/z = 1401$. Este valor corresponde a tres átomos de cobre, cuatro moléculas de ácido meclofenámico y un átomo de oxígeno. El tercer átomo de cobre y el átomo de oxígeno aparecen en la estructura debido a que, como ya se mencionó, los complejos bimetálicos de cobre forman polímeros, y esos átomos corresponderían al centro de una tercera “unidad” en la estructura, es decir, serían el centro de cobre y un residuo de oxígeno de un grupo carboxilato. El patrón de fragmentación se encuentra en el apéndice C.

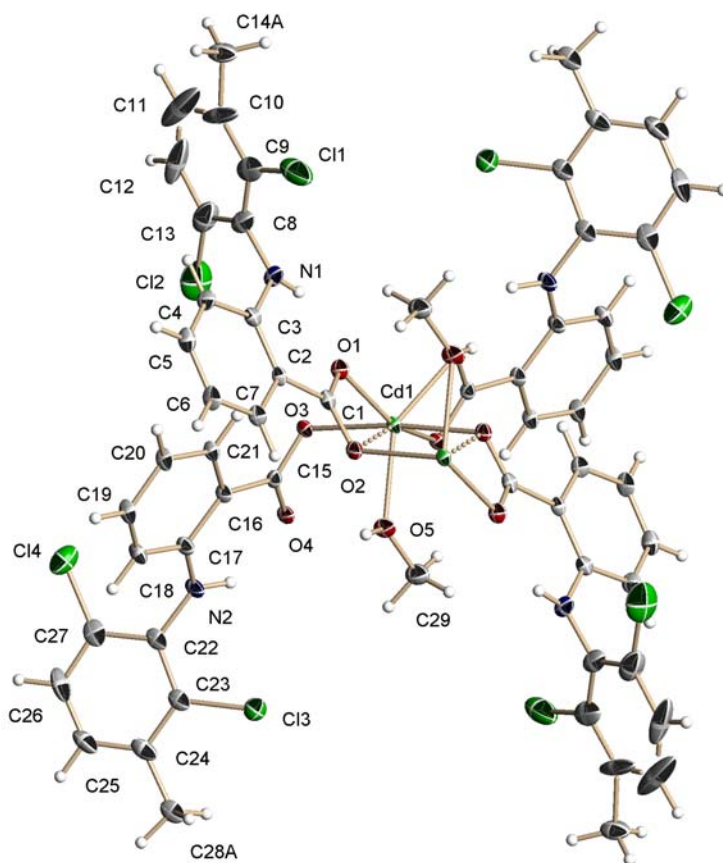


Figura 19. Estructura de $[Cd(C_{14}H_{10}NO_2Cl_2)_2 \cdot (CH_3OH)_2]$

Además, uno de los oxígenos del ligante meclufenamato (O2), puentea a otro átomo de cadmio, formándose así una red polimérica, de manera similar a los complejos conformados por Cu(II) y diferentes fármacos antiinflamatorios [Weder *et al*, 2002]. Los ángulos alrededor del átomo son similares a los reportados por Zhou *et al* [2000] para el complejo $[Zn_2(Indo)_4(Pyr)_2]$, y de esta forma se demuestra que, debido al patrón de simetría del complejo y las longitudes de enlace observadas en Cd-O3, el modo de coordinación es bidentado. Además, las longitudes de enlace Cd-O en todos los casos indican que el tipo de interacción es de naturaleza covalente coordinada [Vásquez-Árciga, 2004]. Los ángulos y longitudes de enlace alrededor del átomo de Cd se encuentran esquematizados en la tabla 8 y en la tabla 9 se observan los datos cristalográficos concernientes a este complejo.

Tabla 8. Parámetros geométricos selectos (Å, °) del complejo $[\text{Cd}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \cdot \text{MeOH}]_2$

Cd(1)-O(1)	2.201(4)	O(2)-C(1)	1.259(7)
Cd(1)-O(5)	2.249(4)	O(2)-Cd(1)#2	2.348(4)
Cd(1)-O(4)#1	2.320(4)	O(3)-C(15)	1.285(7)
Cd(1)-O(2)#2	2.348(4)	O(3)-Cd(1)#1	2.433(4)
Cd(1)-O(3)	2.383(4)	O(4)-C(15)	1.271(7)
Cd(1)-O(3)#1	2.433(4)	O(4)-Cd(1)#1	2.320(4)
Cd(1)-C(15)#1	2.732(6)	O(5)-C(29)	1.415(8)
O(1)-C(1)	1.279(7)	O(31)-C(31)	1.431(8)
O(1)-Cd(1)-O(5)	117.65(16)	O(3)-Cd(1)-C(15)#1	91.93(15)
O(1)-Cd(1)-O(4)#1	104.95(15)	O(3)#1-Cd(1)-C(15)#1	28.06(15)
O(5)-Cd(1)-O(4)#1	136.98(15)	C(1)-O(1)-Cd(1)	111.1(4)
O(1)-Cd(1)-O(2)#2	96.29(14)	O(4)-C(15)-O(3)	119.9(5)
O(5)-Cd(1)-O(2)#2	88.57(15)	O(4)-C(15)-C(16)	120.6(5)
O(4)#1-Cd(1)-O(2)#2	80.80(14)	O(3)-C(15)-C(16)	119.5(5)
O(1)-Cd(1)-O(3)	88.06(14)	O(4)-C(15)-Cd(1)#1	57.8(3)
O(5)-Cd(1)-O(3)	85.80(14)	O(3)-C(15)-Cd(1)#1	62.9(3)
O(4)#1-Cd(1)-O(3)	102.05(14)	C(16)-C(15)-Cd(1)#1	168.3(4)
O(2)#2-Cd(1)-O(3)	174.04(13)	C(1)-O(2)-Cd(1)#2	123.0(3)
O(1)-Cd(1)-O(3)#1	150.62(14)	C(15)-O(3)-Cd(1)	120.3(3)
O(5)-Cd(1)-O(3)#1	86.58(14)	C(15)-O(3)-Cd(1)#1	89.0(3)
O(4)#1-Cd(1)-O(3)#1	55.43(13)	Cd(1)-O(3)-Cd(1)#1	103.22(14)
O(2)#2-Cd(1)-O(3)#1	100.97(13)	C(15)-O(4)-Cd(1)#1	94.5(3)
O(3)-Cd(1)-O(3)#1	76.78(14)	C(29)-O(5)-Cd(1)	129.6(4)
O(1)-Cd(1)-C(15)#1	130.85(16)	O(2)-C(1)-O(1)	121.5(5)
O(5)-Cd(1)-C(15)#1	111.35(16)	O(2)-C(1)-C(2)	119.8(5)
O(4)#1-Cd(1)-C(15)#1	27.64(15)	O(1)-C(1)-C(2)	118.6(5)
O(2)#2-Cd(1)-C(15)#1	88.31(15)		

Transformaciones de simetría usadas para generar átomos equivalentes:

#1 -x+1,-y+2,-z+1 #2 -x+2,-y+2,-z+1

Tabla 9. Datos cristalográficos del complejo de cadmio.

Fórmula empírica	$C_{60} H_{56} Cd_2 Cl_8 N_4 O_{12}$	
Peso molecular	1533.49	
Temperatura	100(2) K	
Longitud de onda	0.71073 Å	
Sistema cristalino	Triclínico	
Grupo espacial	P-1	
Dimensiones de la unidad de celda	$a = 7.9538(7) \text{ \AA}$	$\alpha = 76.431(2)^\circ$.
	$b = 13.8201(13) \text{ \AA}$	$\beta = 82.556(2)^\circ$.
	$c = 14.6951(14) \text{ \AA}$	$\gamma = 78.143(2)^\circ$.
Volumen	$1531.1(2) \text{ \AA}^3$	
Z	1	
δ (calculada)	1.663 mg/m^3	
Coefficiente de absorción	1.109 mm^{-1}	
F (000)	772	
Tamaño del cristal	$0.32 \times 0.28 \times 0.19 \text{ mm}^3$	
Intervalo θ (°)	1.43 a 25.00°	
Rangos de índice	$-9 \leq h \leq 9, -14 \leq k \leq 16, -17 \leq l \leq 17$	
Reflexiones recolectadas	7269	
Reflexiones independientes	4939 [R(int) = 0.0198]	
Porcentaje de reflexiones a $\theta = 25.00^\circ$	91.5 %	
Correcciones de absorción	Ninguna	
Métodos de refinamiento	Mínimos cuadrados en F^2 -matriz completa	
Datos / restricciones / parámetros	4939 / 30 / 438	
Bondad de ajuste en F^2	1.085	
R Final [$I > 2\sigma(I)$]	R1 = 0.0539, wR2 = 0.1231	
Índice R (todos los datos)	R1 = 0.0579, wR2 = 0.1292	
Diferencia más grande entre máximo y mínimo	$1.182 \text{ y } -0.994 \text{ e \AA}^3$	

5.5.2 Meclofenamato de cobre monometálico $[\text{Cu}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \cdot (\text{C}_5\text{H}_5\text{N})_2]$

Los resultados del análisis por difracción de rayos X muestran que el complejo $[\text{Cu}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \cdot (\text{C}_5\text{H}_5\text{N})_2]$ es un complejo discreto, en el que alrededor de los centros metálicos los ligantes muestran una geometría de tipo octaédrica, con una esfera de coordinación del tipo $[\text{Cu}(\text{O})_4(\text{N})_2]$ y con un número de coordinación 6. Este complejo está conformado por dos moléculas de ligante meclofenamato unidas al centro de cobre por medio del grupo carboxilato, y dos moléculas de piridina (figuras 20 y 21).

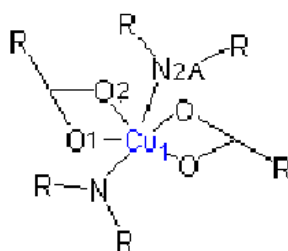


Figura 20. Esquema de la esfera de coordinación $[\text{Cu}(\text{O})_4(\text{N})_2]$

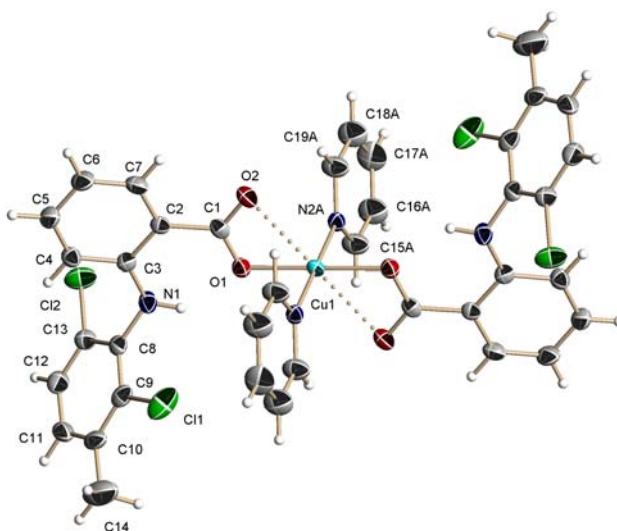


Figura 21. Estructura de $\text{Cu}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \cdot (\text{C}_5\text{H}_5\text{N})_2$.

Además, este complejo presenta una isomería *trans*, al mostrar los ligandos piridina en lados opuestos. La distancia Cu-O de ambos carboxilatos indica que los ligandos son simétricos,

siendo las longitudes de enlace de 1.949(2) Å, que corresponden a enlaces covalentes coordinados. De esta manera se puede afirmar que el meclofenamato se comporta como ligante bidentado. Esto ya ha sido reportado para monómeros de cobre que pueden existir como compuestos *trans*, como el reportado para el monómero del aspirinato de cobre [Cu(asp)₂(Pyr)₂], en un arreglo cuadrado plano con los átomos de N de dos moléculas de piridina unidos al centro metálico con longitudes de enlace Cu-N de 2.003(4) Å y con dos oxígenos unidos al centro metálico con una longitud de enlace Cu-O de 1.943(3) Å [Weder *et al*, 2002], que en general sería muy similar al complejo sintetizado en este trabajo. Las longitudes y ángulos de enlace del complejo monometálico de Cu(II) se muestran en la tabla 10, y en la tabla 11 se muestran los datos cristalográficos del complejo.

Tabla 10. Parámetros geométricos (Å, °) selectos del complejo [Cu(C₁₄H₁₀NO₂Cl)₂•(C₅H₅N)₂].

Cu(1)-O(1)	1.949(2)	O(1)-C(1)	1.293(5)
Cu(1)-O(1)#1	1.949(2)	O(2)-C(1)	1.238(4)
Cu(1)-N(2A)	1.9952(18)	N(2A)-C(15A)	1.3900
Cu(1)-N(2A)#1	1.9952(18)	N(2A)-C(19A)	1.3900
Cu(1)-N(2B)	2.0558(18)	N(2B)-C(15B)	1.3900
Cu(1)-N(2B)#1	2.0558(18)	N(2B)-C(19B)	1.3900
O(1)-Cu(1)-O(1)#1	180.000(1)	O(1)-Cu(1)-N(2B)#1	86.0(3)
O(1)-Cu(1)-N(2A)	91.10(10)	O(1)#1-Cu(1)-N(2B)#1	94.0(3)
O(1)#1-Cu(1)-N(2A)	88.90(10)	N(2A)-Cu(1)-N(2B)#1	174.99(19)
O(1)-Cu(1)-N(2A)#1	88.90(10)	N(2A)#1-Cu(1)-N(2B)#1	5.01(18)
O(1)#1-Cu(1)-N(2A)#1	91.10(10)	N(2B)-Cu(1)-N(2B)#1	180.0(3)
N(2A)-Cu(1)-N(2A)#1	180.00(15)	C(3)-N(1)-C(8)	124.1(3)
O(1)-Cu(1)-N(2B)	93.99(10)	C(1)-O(1)-Cu(1)	104.5(2)
O(1)#1-Cu(1)-N(2B)	86.01(10)	O(2)-C(1)-O(1)	121.5(3)
N(2A)-Cu(1)-N(2B)	5.0	O(2)-C(1)-C(2)	121.1(3)
N(2A)#1-Cu(1)-N(2B)	175.0	O(1)-C(1)-C(2)	117.3(3)

Transformaciones de simetría usadas para generar átomos equivalentes

#1 -x+1,-y+1,-z+1

Tabla 11. Datos cristalográficos del complejo $[\text{Cu}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl})_2 \bullet (\text{C}_5\text{H}_5\text{N})_2]$.

Fórmula empírica	$\text{C}_{38} \text{H}_{30} \text{Cl}_4 \text{Cu} \text{N}_4 \text{O}_4$
Peso molecular	812.00
Temperatura	100(2) K
Longitud de onda	0.71073 Å
Sistema cristalino	Triclínico
Grupo espacial	P-1
Dimensiones de la unidad de celda	$a = 8.9143(9) \text{ Å}$ $\alpha = 91.919(2)^\circ$. $b = 10.1325(10) \text{ Å}$ $\beta = 111.066(2)^\circ$. $c = 11.3351(12) \text{ Å}$ $\gamma = 110.552(2)^\circ$.
Volumen	$879.54(16) \text{ Å}^3$
Z	1
δ (calculada)	1.533 Mg/m^3
Coefficiente de absorción	0.973 mm^{-1}
F(000)	415
Tamaño del cristal	0.44 x 0.29 x 0.22 mm ³
Intervalo θ (°)	1.96 a 25.00°.
Rangos de índice	$-10 \leq h \leq 10, -12 \leq k \leq 12, -13 \leq l \leq 13$
Reflexiones recolectadas	8404
Reflexiones independientes	3090 [R(int) = 0.0191]
Porcentaje de reflexiones a $\theta = 25.00^\circ$	99.6 %
Correcciones de absorción	Ninguna
Transmisión máxima y mínima	0.8145 y 0.6742
Métodos de refinamiento	Mínimos cuadrados en F ² -matriz completa
Datos / restricciones / parámetros	3090 / 1 / 214
Bondad de ajuste en F ²	0.974
Índice R final [$I > 2\sigma(I)$]	R1 = 0.0565, wR2 = 0.1496
Índice R (todos los datos)	R1 = 0.0580, wR2 = 0.1513
Diferencia más grande entre máximo y mínimo	1.162 y -1.099 e Å ³

5.6 Actividad peroxidasa de complejos metal-ácido meclofenámico

La cinética de actividad peroxidasa fue determinada, como ya se mencionó, mediante la detección de la oxidación del guayacol para formar el tetraguayacol en un rango comprendido entre 316 y 340 nm. Únicamente se detectó la formación del polímero de guayacol en el caso del complejo de cromo-meclofenámico, cobalto-meclofenámico y cobre-meclofenámico. Sin embargo, al llevar a cabo el análisis cinético el meclofenamato de cromo no mostró ningún tipo de actividad catalítica, aún al incrementar la concentración del complejo, que ocasionó la aparición de un precipitado que eliminaba totalmente la transmitancia. Por esa razón, a continuación sólo se describirá el comportamiento cinético de los complejos de cobalto-meclofenámico y cobre-meclofenámico.

5.6.1 Meclofenamato de cobalto [$\text{Co}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$]

El estudio cinético, a manera de exploración de la actividad catalítica de este complejo, se realizó en un intervalo de concentraciones de solución con catalizador (en este caso, el meclofenamato de cobalto) de 75 μL , mientras que para el sustrato guayacol se emplearon concentraciones de 25 μL . La cantidad de peróxido empleada fue de 100 μL , ya que este reactivo siempre debe estar en exceso [Sánchez-Gaytán, 2004]. El guayacol y el peróxido de hidrógeno fueron disueltos previamente en 7 mL de acetona, que fue el solvente que pudo solubilizar completamente al complejo.

Las mediciones fueron realizadas de la siguiente manera: la reacción con 25 μL de guayacol, 100 μL de peróxido, y 75 μL de complejo de cobalto fue seguida en intervalos de 10 segundos durante 3 minutos en un espectrofotómetro Milton Roy Spectronic 20D a 316 nm de longitud de onda.

Este complejo, tanto en la prueba exploratoria como en el análisis final sí mostró actividad catalítica de tipo peroxidasa. La gráfica del cambio de la absorbancia con respecto al tiempo se comportó de la siguiente manera (Figura 22):

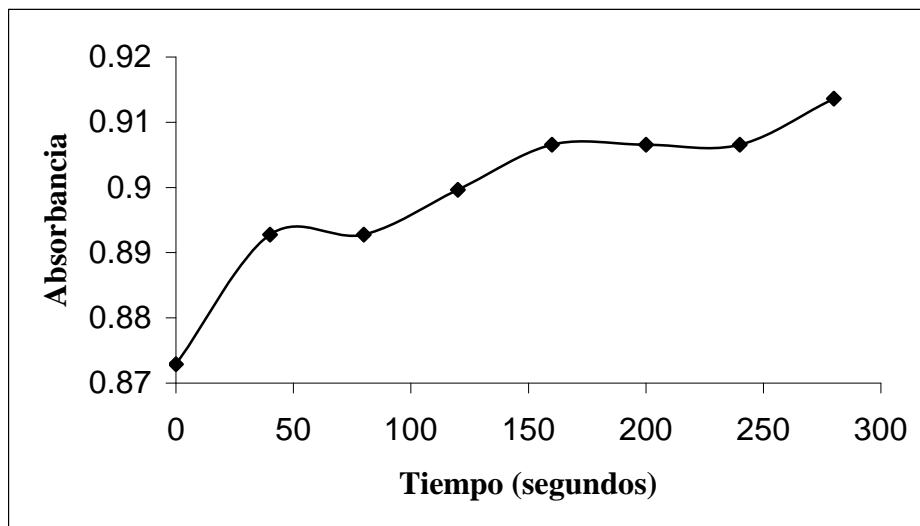


Figura 22. Cambio de la absorbancia con respecto al tiempo para la concentración de 25 μL de guayacol, 100 μL de peróxido y 75 μL del complejo $[\text{Co}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$.

Como se puede observar, el comportamiento del cambio de la absorbancia con respecto al tiempo es casi lineal, por lo que puede esperarse que la reacción sea de primer orden. Al determinar el orden de la reacción para la concentración de 6 μL de guayacol, 18 μL de complejo y 24 de H_2O_2 (Figura 23), la constante de velocidad k_1 dio un valor de $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$, con un coeficiente de correlación de 0.8375, por lo que se comprueba de esta forma que la reacción es de primer orden.

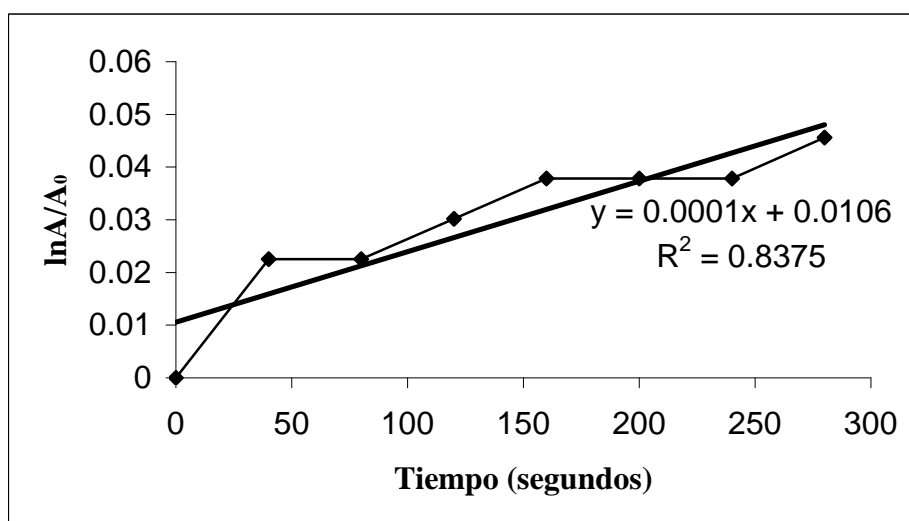


Figura 23. Análisis de primer orden de la actividad catalítica del complejo $[\text{Co}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$.

5.6.2 Meclofenamato de cobre bimetálico $[\text{Cu}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2]_2$

Este complejo mostró actividad catalítica de tipo peroxidasa en la prueba exploratoria. Inicialmente 53.2 mg de este complejo fueron solubilizados en 1 mL de acetona y posteriormente la cantidad completa fue adicionada a una solución de 7 mL de acetona-PBS al 50% que contenía disueltos 25 μL de guayacol y 100 μL de peróxido de hidrógeno. Se detectó la formación del polímero de guayacol en este caso, pero el complejo tendía a precipitarse posiblemente por interferencia de los fosfatos presentes en la solución con la solubilización del mismo. Además, con este complejo se tuvieron muchas dificultades al determinar su actividad peroxidasa debido a que el complejo, al estar disuelto en acetona, se solubilizaba unos pocos minutos y posteriormente tendía a precipitarse. Por lo tanto, fue necesario aplicar el complejo sin disolver y en cantidades menores a la empleada de manera inicial. Después de varios ensayos se decidió adicionar sólo 2 mg del complejo bimetálico de cobre a una solución con 7 mL de acetona conteniendo las mismas cantidades de guayacol y peróxido de hidrógeno (25 y 100 μL , respectivamente) y se monitoreó la reacción durante 3 minutos en el espectrofotómetro Milton Roy Spectronic 20D a 316 nm de longitud de onda. Se obtuvieron diferentes valores de absorbancia pero no se determinó ningún parámetro cinético debido a que el comportamiento del complejo era irregular al incrementarse de manera inicial los valores de absorbancia y disminuir después de 60 segundos de reacción, y al observar de manera directa el tubo de reacción se observaba una solución amarilla que parecía indicar la disociación del complejo a cobre libre, y probablemente los iones de cobre catalizaban de manera directa la reacción. Esto fue corroborado por un estudio inicial empleando CuCl_2 como catalizador, observándose la polimerización de guayacol, pero sólo en una solución acetona-PBS, ya que sólo en acetona ocurría lo mismo que en el caso del complejo. De esta manera se puede inferir que la actividad catalítica del complejo bimetálico de cobre podría ser dependiente de pH y no ocurrir en acetona, que, además de inhibir radicales libres en presencia de guayacol y peróxido de hidrógeno, disocia al complejo. Existe un estudio en el que se emplearon metaloporfirinas de Fe(III), Co(III) y Mn(III), para determinar su actividad peroxidasa, y efectivamente se demostró que los complejos tenían actividad catalítica eficiente a un rango de pH entre 8 y 8.5, con actividad óptima a pH 8.2 [Vinodu y Padmanabhan, 2001], por lo

que éste podría ser un indicio de la actividad catalítica dependiente de pH en este caso específico.

5.7 Actividad antimicrobiana de complejos metal-ácido meclofenámico

Al realizar la prueba de sensibilidad por difusión con discos, el meclofenamato de cadmio, meclofenamato de plomo, meclofenamato de cobalto, meclofenamato de cobre y meclofenamato de zinc fueron tóxicos para bacterias Gram positivas (*S. aureus* y *B. subtilis*), y el meclofenamato de cadmio fue el único complejo que inhibió el crecimiento de una bacteria Gram negativa (*E. coli*). Además, el meclofenamato sódico, cloruro de cromo, sulfato de zinc y cloruro de cadmio también fueron tóxicos. De acuerdo a lo anterior, se obtuvieron diferentes valores para la CMI obtenida en los sistemas de macrodilución en caldo. Los resultados obtenidos se muestran a continuación.

5.7.1 Meclofenamato de cadmio $[\text{Cd}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \bullet (\text{CH}_3\text{OH})_2$

En el caso del meclofenamato de cadmio, se aplicaron en cada disco 10 μL de la solución de 90 mg/mL, 9 mg/mL, 0.9 mg/mL y 0.09 mg/mL con el complejo. Además, se observó después de 18 horas de incubación a 37 °C que este complejo inhibió el crecimiento de las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*. Los promedios de los diámetros de los halos de inhibición son listados en la tabla 12 y dichos promedios son comparados con los observados en el meclofenamato sódico y el cloruro de cadmio, los cuales fueron aplicados en los discos de la misma manera.

Tabla 12. Diámetro de los halos de inhibición de crecimiento en la prueba de sensibilidad por difusión con discos.

	Meclofenamato sódico (mg/mL)				CdCl ₂ (mg/mL)				[Cd(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂ • (CH ₃ OH)] ₂ (mg/mL)			
	10	1	0.1	0.01	10	1	0.1	0.01	90	9	0.9	0.09
<i>S. aureus</i>	7.5	-	-	-	10	6	-	-	12.5	8.5	-	-
	mm				mm	mm			mm	mm		
<i>B. subtilis</i>	14.5	9.5	-	-	21.5	13.5	-	-	17	14.5	8	-
	mm	mm			mm	mm			mm	mm	mm	
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	17	8.5	-	-	12	7	-	-
					mm	mm			mm	mm		
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	6.5	-	-	-	-	-	-	-
					mm							

Como se puede observar, el CdCl₂ inhibió el crecimiento de las cuatro cepas analizadas. Aparentemente, el meclofenamato sódico inhibió ligeramente el crecimiento sólo de bacterias gram positivas, como fue el caso de *S. aureus* y *B. subtilis*. El meclofenamato de cadmio inhibió el crecimiento de *S. aureus*, *B. subtilis* y *E. coli*. De esta manera, la toxicidad del cadmio en este estudio parece ser modificada por la coordinación con el fármaco.

De acuerdo con el análisis de la actividad antimicrobiana con el sistema de macrodilución en caldo, la CMI obtenida para los tres casos, en cada microorganismo, es la siguiente:

Tabla 13. CMI de inhibidores de crecimiento.

Bacteria	Meclofenamato sódico	CdCl ₂	[Cd(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂ (CH ₃ OH)] ₂
<i>S. aureus</i>	1000 µg/mL	4000 µg/mL	2250 µg/mL
<i>B. subtilis</i>	500 µg/mL	250 µg/mL	585 µg/mL
<i>E. coli</i>	-	4000 µg/mL	4500 µg/mL
<i>P. aeruginosa</i>	-	5000 µg/mL	-

Es importante mencionar que la cantidad de cadmio disuelta y empleada fue la equivalente al pico del ión molecular en el espectro de masas del complejo

$[\text{Cd}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2(\text{CH}_3\text{OH})_2]$. Al calcular la cantidad de cadmio en moles en el complejo y en la sal metálica (Tabla 14) se puede observar que en el complejo es menor con respecto a la cantidad presente en el cloruro de cadmio, por lo tanto, el efecto tóxico del complejo puede estar dado por un efecto sinérgico entre el fármaco y el metal. En el caso específico de *P. aeruginosa*, el complejo no tuvo efecto, ya que la cantidad en moles de cadmio requerida para inhibir su crecimiento fue mayor, además de que el fármaco no provocó ningún efecto sobre ella. En algunos estudios empleando complejos de coordinación ha sido reportado que algunos complejos de coordinación exhiben un incremento en su actividad tóxica contra bacterias, pero también se ha observado que dicha actividad suele verse atenuada dependiendo de la toxicidad del ligante y del metal, requiriéndose mayor concentración del compuesto para alcanzar la CMI [Carcelli *et al*, 1995]. En este caso, el ión metálico de manera natural suele ser tóxico, y coordinado con mayor cantidad de moléculas de meclofenamato, que son tóxicas para *S. aureus* y *B. subtilis*, incrementa su toxicidad al formar parte de un complejo.

Tabla 14. Cantidad de cadmio en moles en los compuestos (equivalencia a CMI)

Bacteria	CdCl_2 (moles de Cd)	$[\text{Cd}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2(\text{CH}_3\text{OH})_2]$ (moles de Cd)
<i>S. aureus</i>	1.886×10^{-5}	4.092×10^{-6}
<i>B. subtilis</i>	1.182×10^{-6}	1.076×10^{-6}
<i>E. coli</i>	1.886×10^{-5}	8.29×10^{-6}
<i>P. aeruginosa</i>	2.39×10^{-5}	-

5.7.2 Meclofenamato de plomo $[\text{Pb}(\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}]_n$

Este complejo inhibió el crecimiento de *S. aureus* y *B. subtilis*, de la misma forma que el meclofenamato sódico. Sin embargo, el nitrato de plomo no mostró ningún efecto tóxico sobre las cepas analizadas. Los diámetros de inhibición de crecimiento se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 15. Diámetro de los halos de inhibición de crecimiento en la prueba de sensibilidad por difusión con discos.

	Meclofenamato sódico (mg/mL)				[Pb(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂ .H ₂ O] _n (mg/mL)			
	10	1	0.1	0.01	24	2.4	0.24	0.024
<i>S. aureus</i>	7.5	-	-	-	22	14	-	-
	mm				mm	mm		
<i>B. subtilis</i>	14.5	9.5	-	-	12.5	11	-	-
	mm	mm			mm	mm		

Como puede observarse, los diámetros de los halos de inhibición son mayores. La CMI calculada para el meclofenamato de plomo es mostrada en la tabla 16.

Tabla 16. CMI de inhibidores de crecimiento.

Bacteria	Meclofenamato sódico	[Pb(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂ .H ₂ O] _n
<i>S. aureus</i>	1000 µg/mL	6000 µg/mL
<i>B. subtilis</i>	500 µg/mL	300 µg/mL

Con base en estos resultados, se puede observar que *B. subtilis* mostró gran sensibilidad al meclofenamato de plomo, ya que la cantidad de complejo que inhibe su crecimiento es menor que la del ligante. Al calcular la cantidad en moles del fármaco libre y como parte del complejo se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 17. Cantidad de meclofenamato en moles en los compuestos (equivalencia a CMI)

Bacteria	Meclofenamato sódico (moles de ácido meclofenámico)	[Pb(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂ .H ₂ O] _n (moles de ácido meclofenámico)
<i>S. aureus</i>	3.14 x 10 ⁻⁶	1.47 x 10 ⁻⁵
<i>B. subtilis</i>	1.57 x 10 ⁻⁶	7.11 x 10 ⁻⁷

La diferencia en moles entre el ácido meclofenámico aplicado a *S. aureus* y el meclofenamato coordinado en el complejo de plomo es de 1.156 x 10⁻⁵ moles de fármaco, y dicha cantidad fue mayor en el complejo de plomo. En el caso de *B. subtilis*, la cantidad de

meclofenamato coordinada en el complejo fue menor que la aplicada en el meclofenamato sódico, concluyéndose así que la acción de este complejo es sinérgica contra *B. subtilis*, aunque en el caso de *S. aureus* la toxicidad pudo estar dada por la concentración incrementada de fármaco, aunque también es posible que la coordinación del fármaco y el metal modifique las propiedades del ligante, atenuándolas o incrementándolas en algunos casos [Carcelli *et al*, 1995; Marín-Hernández *et al*, 2003].

5.7.3 Meclofenamato de cobalto [Co(C₁₄H₁₀NO₂Cl₂)₂•2H₂O]

Los resultados obtenidos en la prueba de sensibilidad con discos para el complejo meclofenamato de cobalto son los siguientes:

Tabla 18. Diámetro de los halos de inhibición de crecimiento en la prueba de sensibilidad por difusión con discos.

	Meclofenamato sódico				[Co(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂ •2H ₂ O]			
	(mg/mL)				(mg/mL)			
	10	1	0.1	0.01	28	2.8	0.28	0.028
<i>S. aureus</i>	7.5	-			20	13.5		
	mm				mm	mm		
<i>B. subtilis</i>	14.5	9.5			11	7 mm		
	mm	mm			mm			

Una vez más, los halos de inhibición del meclofenamato de cobalto son mayores en diámetro que los del meclofenamato sódico en el caso de *S. aureus*, pero en el caso de *B. subtilis* los halos de inhibición son menores. El cloruro de cobalto no causó ningún efecto tóxico sobre los microorganismos analizados, y de acuerdo a la prueba de macrodilución en caldo la CMI obtenida para este complejo es la siguiente:

Tabla 19. CMI de inhibidores de crecimiento.

Bacteria	Meclofenamato sódico	[Co(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂ •2H ₂ O]
<i>S. aureus</i>	1000 µg/mL	5600 µg/mL
<i>B. subtilis</i>	500 µg/mL	1400 µg/mL

De acuerdo a los datos obtenidos, las cantidades en µg/mL son mayores en el caso del meclofenamato de cobalto que las obtenidas para la CMI del meclofenamato sódico. La cantidad en moles del ligante meclofenamato (Tabla 20) una vez más es mayor en el complejo que en el ligante sódico, por lo que la actividad tóxica puede estar dada, en gran medida, por el incremento en la cantidad suministrada de fármaco. Es probable que el ión metálico funcione como un transportador del ligante, contribuyendo así con su actividad tóxica [De Vizcaya-Ruiz *et al*, 2003], y también es posible que este complejo provoque algún efecto tóxico sobre pared celular de bacterias Gram positivas como las que resultaron afectadas con la aplicación de este complejo y del meclofenamato sódico.

Tabla 20. Cantidad de meclofenamato en moles en los compuestos (equivalencia a CMI).

Bacteria	Meclofenamato	
	sódico (moles de ácido meclofenámico)	[Co(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂ .2H ₂ O] (moles de ácido meclofenámico)
<i>S. aureus</i>	3.14 x 10 ⁻⁶	1.63 x 10 ⁻⁵
<i>B. subtilis</i>	1.57 x 10 ⁻⁶	4.1 x 10 ⁻⁶

5.7.4 Meclofenamato de cromo [Cr(C₁₄H₁₀NO₂Cl₂)₃]

Este complejo no mostró actividad tóxica en ninguna de las cepas analizadas. Es probable que la coordinación del ión cromo(III) al ligante meclofenamato disminuyera la actividad tóxica del metal, ya que el cloruro de cromo sí mostró actividad tóxica sobre *B. subtilis* y *P. aeruginosa*. Los diámetros de los halos de inhibición se muestran a continuación.

Tabla 21. Diámetro de los halos de inhibición de crecimiento en la prueba de sensibilidad por difusión con discos.

	CrCl ₃
Bacteria	10 mg/mL
<i>B. subtilis</i>	7.5 mm
<i>P. aeruginosa</i>	7.5 mm

Como se puede observar, el cloruro de cromo sí fue tóxico para *B. subtilis* y *P. aeruginosa*, y aunque los halos de inhibición de crecimiento son pequeños, la CMI obtenida para cada uno de estos microorganismos fue de 2000 y 4000 µg/mL, respectivamente. La cantidad de moles de cromo requerida para lograr inhibición de crecimiento en estas bacterias fue de 7.5×10^{-6} moles de cromo para *B. subtilis* y 1.5×10^{-5} moles para *P. aeruginosa*. Sin embargo, es probable que las cantidades empleadas de complejo no provocaran inhibición en ninguna de las bacterias, ya que el meclofenamato sódico sí fue tóxico para bacterias Gram positivas (*B. subtilis* y *S. aureus*). En algunos casos la sustitución de un grupo, ligante o ión metálico puede alterar la toxicidad de los complejos sintetizados, inhibiendo totalmente la actividad tóxica del mismo [Carcelli *et al*, 1995].

5.7.5 Meclofenamato de zinc [Zn(C₁₄H₁₀NO₂Cl₂)₂•2H₂O]

Este complejo sí mostró actividad tóxica sobre *S. aureus* y *B. subtilis*, de la misma forma que el meclofenamato sódico y el sulfato de zinc, que inhibió el crecimiento únicamente de *B. subtilis*. Los resultados se muestran a continuación.

Tabla 22. Diámetro de los halos de inhibición de crecimiento en la prueba de sensibilidad por difusión con discos.

	Meclofenamato sódico (mg/mL)				ZnSO ₄ ·7H ₂ O (mg/mL)				[Zn(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂ •2H ₂ O] (mg/mL)			
	10	1	0.1	0.01	10	1	0.1	0.01	24	2.4	0.24	0.024
<i>S. aureus</i>	7.5	-	-	-	-	-	-	-	10	7	-	-
	mm								mm	mm		
<i>B. subtilis</i>	14.5	9.5	-	-	13	-	-	-	16.5	9.5	-	-
	mm	mm			mm				mm	mm		
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Como puede observarse, el sulfato de zinc sólo inhibió el crecimiento de *B. subtilis*. El meclofenamato de zinc se comportó de manera similar al meclofenamato sódico al inhibir el crecimiento de *S. aureus* y *B. subtilis*. Al determinar las CMI del sulfato de zinc y del meclofenamato de zinc (tabla 23), se puede observar que el complejo se comporta de manera similar al meclofenamato sódico y esto puede ser porque el porcentaje de zinc en el complejo es muy pequeño y probablemente no tenga efectos significativos (9.45% de zinc en el complejo).

Tabla 23. CMI de inhibidores de crecimiento.

Bacteria	Meclofenamato sódico	ZnSO ₄ •7H ₂ O	[Zn(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂ •2H ₂ O]
<i>S. aureus</i>	1000 µg/mL	-	1200 µg/mL
<i>B. subtilis</i>	500 µg/mL	2000 µg/mL	600 µL

Al calcular la cantidad en moles de zinc en la sal metálica y el complejo (Tabla 24) se pudo observar que la cantidad de zinc en el complejo es menor que la suministrada en la sal metálica que además es capaz de inhibir el crecimiento en el caso de *B. subtilis*, por lo que la actividad tóxica en este caso debe atribuirse, en gran parte, a la cantidad de fármaco coordinada al ión metálico. Posiblemente el sulfato de zinc también contribuya con la actividad tóxica, pero dicho efecto no es tan notorio. Una vez más, depende de la naturaleza del ión metálico y del ligante en conjunto el incremento o la disminución de la actividad tóxica del complejo [Carcelli *et al*, 1995; Marín-Hernández *et al*, 2003], aunque la

toxicidad puede ser ocasionada por un efecto directo sobre la pared celular de estas bacterias. Sin embargo, ha sido reportado que algunos complejos de zinc, como los reportados por Chikaraishi *et al* [2003], mostraron menor actividad antimicrobiana que los ligantes, lo que podría ser un indicio de la atenuación de la actividad antimicrobiana de los complejos de coordinación con zinc.

Tabla 24. Cantidad de zinc en moles en los compuestos (equivalencia a CMI).

Bacteria	ZnSO ₄ ·7H ₂ O (moles de Zn)	[Zn(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂ ·2H ₂ O] (moles de Zn)
<i>S. aureus</i>	-	1.73 x 10 ⁻⁶
<i>B. subtilis</i>	8.48 x 10 ⁻⁶	8.67 x 10 ⁻⁷

5.7.6 Meclofenamato de cobre bimetálico [Cu(C₁₄H₁₀NO₂Cl₂)₂]₂

Este complejo también demostró actividad tóxica contra *S. aureus* y *B. subtilis* en la prueba de sensibilidad por difusión con discos (tabla 25). Se empleó la cantidad de complejo estequiométricamente equivalente a la del cloruro de cobre, tomando como base el peso molecular del complejo que fue analizada en el espectro de masas. El cloruro de cobre no provocó inhibición en el crecimiento de los microorganismos evaluados. Al parecer, el meclofenamato de cobre inhibió el crecimiento de dichas bacterias a concentraciones más bajas de complejo que en el caso del meclofenamato sódico. Sin embargo, al calcular la CMI del complejo de cobre (Tabla 25), se pudo observar que la cantidad de complejo capaz de producir un efecto tóxico sobre *S. aureus* y *B. subtilis* fue mucho mayor que la del meclofenamato sódico.

Tabla 25. Diámetro de los halos de inhibición de crecimiento en la prueba de sensibilidad por difusión con discos.

	Meclofenamato sódico (mg/mL)				[Cu(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂] ₂ (mg/mL)			
	10	1	0.1	0.01	76	7.6	0.76	0.076
<i>S. aureus</i>	7.5	-	-	-	16	11.5	-	-
	mm				mm	mm		
<i>B. subtilis</i>	14.5	9.5	-	-	22.5	19	10	-
	mm	mm			mm	mm	mm	

Tabla 26. CMI de inhibidores de crecimiento.

Bacteria	Meclofenamato sódico	[Cu(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂] ₂
<i>S. aureus</i>	1000 µg/mL	9000 µg/mL
<i>B. subtilis</i>	500 µg/mL	6000 µg/mL

Como ya se mencionó, en algunas ocasiones las características de los ligantes se ven modificadas por la coordinación con el ión metálico, aumentando o disminuyendo su actividad tóxica [Marín-Hernández *et al*, 2003; De Vizcaya-Ruiz *et al*, 2003; Carcelli *et al*, 1995; Mohamed, 2006]. Al calcular la cantidad en moles del meclofenamato presente en el complejo (tabla 27) se puede observar que es mayor que la empleada en el meclofenamato sódico para inhibir crecimiento, por lo que la actividad tóxica, al igual que en el caso anterior, se debe principalmente al efecto del ligante sobre las bacterias analizadas. Al parecer, ya que el complejo de cobre y el fármaco inhiben el crecimiento de bacterias Gram positivas, éstos podrían tener un efecto tóxico sobre pared celular, posiblemente dado por su unión a ella.

Tabla 27. Cantidad de meclofenamato en moles en los compuestos (equivalencia a CMI).

Bacteria	Meclofenamato sódico (moles de ácido meclofenámico)	[Cu(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂] ₂ (moles de ácido meclofenámico)
<i>S. aureus</i>	3.14×10^{-6}	2.57×10^{-5}
<i>B. subtilis</i>	1.57×10^{-6}	1.71×10^{-5}

Finalmente, para propósitos comparativos, la tabla 28 enlista las CMI de todos los compuestos que inhibieron crecimiento. Como puede observarse, *B. subtilis* fue el microorganismo más sensible a todos los compuestos que inhibieron crecimiento, y en algunos casos las cantidades de complejo eran menores que las de las sales metálicas o muy similares al meclofenamato sódico. La CMI calculada muestra que las cantidades de complejo fueron estequiométricamente mayores que las del fármaco, pero menores que las de las sales metálicas que resultaron tóxicas, por lo que puede suponerse que existe un efecto sinérgico entre los metales y el fármaco, inhibiendo así el crecimiento de la mayoría de las cepas evaluadas.

Tabla 28. CMI de las sales metálicas y complejos metal-ácido meclofenámico positivas para inhibición de crecimiento ($\mu\text{g/mL}$).

Compuesto	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>
CdCl_2	4000	4000	5000	250
CrCl_3	-	-	4000	2000
ZnSO_4	-	-	-	2000
Mec-Na	1000	-	-	500
$[\text{Cd}(\text{Mec})_2 \cdot (\text{MeOH})]_2$	2250	4500	-	585
$[\text{Pb}(\text{Mec})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}]_n$	6000	-	-	300
$[\text{Co}(\text{Mec})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$	5600	-	-	1400
$[\text{Cu}_2(\text{Mec})_4]$	9000	-	-	6000
$[\text{Zn}(\text{Mec})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$	1200	-	-	600

5.8 Actividad hemolítica de complejos metal-ácido meclofenámico

Se determinó la actividad hemolítica de los compuestos sintetizados mediante la exposición de eritrocitos en gelosa sangre a soluciones con los complejos a diferentes concentraciones. El procedimiento fue similar al empleado en las pruebas de sensibilidad con discos, pero se solubilizaron 5 mg de las sales metálicas y del meclofenamato sódico en 1 mL de agua (tabla 4). En el caso del complejo de cobre monometálico, como se mencionó en la metodología, se aplicaron 23.5 mg de éste (equivalente estequiométrico a 5 mg de cloruro de cobre) sobre la superficie de la placa. En la placa con los discos que tenían impregnadas

las sales metálicas y en la placa con los discos impregnados con los complejos no se observó la aparición de ningún halo de hemólisis. Esto pudo deberse a que los compuestos no se difundieron sobre la superficie de la placa o que no posean efecto hemolítico. Lo mismo ocurrió con el complejo de cobre monometálico ya que, aunque el complejo pulverizado fue aplicado directamente a la placa, no se formó ningún halo indicando actividad hemolítica.

Para responder a esta interrogante se hizo el experimento en el que se elaboró la curva de calibración para determinar el porcentaje de hemólisis provocado por la aplicación de los complejos y las sales metálicas (Tabla 5). Después de la aplicación a 5 mL de la suspensión con eritrocitos lavados de 10 μ L de las soluciones con las sales metálicas, el meclofenamato sódico, los complejos metal-ácido meclofenámico y la acetona como testigo, cada tubo con la suspensión de eritrocitos fue incubado durante 24 horas. No se empleó en este experimento el complejo de cobre monometálico por su insolubilidad. Posteriormente se realizaron las lecturas en el espectrofotómetro y se obtuvieron los siguientes valores de absorbancia (Tabla 29):

Tabla 29. Valores de absorbancia de los complejos metal-ácido meclofenámico y de las sales metálicas en la suspensión de eritrocitos.

Compuesto	Absorbancia (nm)	Porcentaje de hemólisis	Compuesto	Absorbancia (nm)	Porcentaje de hemólisis
Acetona	0.282	0%	Meclofenamato sódico	297	25%
CdCl ₂	0.289	10%	[Cd(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂ (CH ₃ OH)] ₂	300	20%
Pb(NO ₃) ₂	0.306	25%	[Pb(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂ .H ₂ O] _n	301	20%
CoCl ₂	0.282	0%	[Co(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂ .2H ₂ O]	284	5%
CrCl ₃	0.287	10%	[Cr(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₃]	290	10%
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.283	0%	[Zn(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂ .2H ₂ O]	303	25%
CuCl ₂	0.320	50%	[Cu(C ₁₄ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂) ₂] ₂	338	65%

Estos valores sugieren que los complejos hemolizan a los eritrocitos suspendidos en SSI, sin embargo, después de las 24 horas de incubación, se observó en el sobrenadante material

suspendido, que en algunos casos poseía color. Este material era el complejo, que no se disolvía en la SSI y permanecía en ella como polvo suspendido. En el caso de las sales metálicas éstas se disolvían totalmente pero no se observaba hemólisis, sólo se observaba el sobrenadante coloreado. Probablemente estos factores alteraron los valores de absorbancia, ya que en ninguno de los casos fue evidente la presencia de hemólisis.

En el último experimento, después de la aplicación de las sales metálicas y los complejos sobre los eritrocitos lavados y la sangre con anticoagulante, y después de la incubación, se procedió a la valoración de la hemólisis. Sin embargo, lo único que se pudo observar fue que en el caso de las sales metálicas, el sobrenadante una vez más adquiría el color de las sales metálicas y además se formaba un precipitado blanquecino sobre los eritrocitos sedimentados. En el caso de los complejos metal-ácido meclofenámico, se podía observar que el compuesto precipitó en el fondo del tubo y la suspensión de eritrocitos sedimentó sobre los compuestos y tampoco hubo evidencia de hemólisis en este caso, por lo que no fue necesario su análisis en el espectrofotómetro. De esta forma se puede suponer que los complejos metal-ácido meclofenámico no poseen actividad hemolítica *in vitro*, ya que en el estudio realizado por Palacios-Hernández [2005], en el que se suministraron a conejos con artritis inducida por micoplasmas complejos de coordinación de Cd, Pb, Al y Cu, con el fármaco antiinflamatorio ácido acetilsalicílico (asp), así como sus respectivas sales metálicas y el ligante libre, se observó evidencia de hemólisis al centrifugar la sangre de los animales tratados con nitrato de plomo y aluminio, y acetilsalicilato de plomo y aluminio, sin embargo, las causas de dicho efecto no fueron completamente esclarecidas. En otro estudio realizado por De Vizcaya-Ruiz *et al* [2003], para valorar la toxicidad de la Casiopeína II-gly en ratas, se demostró que estos compuestos provocaban anemia hemolítica durante los primeros 5 días de tratamiento. La hemólisis se debe siempre a anomalías de la membrana eritrocítica que, cuando pierde su deformabilidad (es decir, se vuelve rígida), impide que el eritrocito se desplace en forma adecuada por la microcirculación y genera su muerte. Se piensa que este fenómeno ocurre cuando el ATP intracelular es insuficiente para mantener las funciones de la membrana celular, lo que no necesariamente se refleja en la disminución del contenido de ATP en los eritrocitos circulantes. Para esto hay varias explicaciones: 1) los glóbulos rojos muy deficientes son

destruidos y por tanto no circulan, y 2) el contenido de ATP de los reticulocitos y su porcentaje durante los procesos hemolíticos son altos [Lisker, 2003].

Como se mencionó en los antecedentes, existe evidencia de que algunos metales pueden inducir daños sobre el sistema hematopoyético. El cobalto puede inhibir la síntesis de hemo *in vivo* actuando sobre las enzimas que catalizan la síntesis de δ -aminolevulinato y su conversión en hemo [De Matteis y Gibbs 1977]. El Pb afecta al sistema hematopoyético (síntesis de hemoglobina) ya que altera la actividad de las enzimas δ -aminolevulinato sintasa (ALAS), δ -aminolevulinato deshidratasa (ALAD) y ferroquelatasa [EPA, 1986]. La interferencia tan marcada con la síntesis de hemo resulta en una reducción de la concentración de hemoglobina en sangre, pero no es reportada una anemia hemolítica, sino que ocurre anemia hipocrómica debido a la disminución de hemoglobina en sangre y dentro del eritrocito.