

Universidad de Los Andes
Facultad de Ciencias
Departamento de Química
Laboratorio de Organometálicos



Trabajo Especial de Grado

SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y PRUEBAS BIOLÓGICAS PRELIMINARES DE COMPLEJOS CARBONILOS DE Cr, Mo, y W CON QUININA

Autor: Br. Xiraidy Kisleth Osuna Briceño

Tutora: Prof. Yuraima Fonseca

Cotutor: Prof. Fernando Bellandi

Mérida, 2020

Índice General

Índice General.....	ii
Índice de Figuras.....	iv
Índice de Tablas.....	vi
Introducción.....	1
CAPÍTULO 1.....	3
1. MARCO TEÓRICO.....	3
1.1 Química Inorgánica.....	3
1.2 Ligandos.....	4
1.3 Química de Coordinación.....	5
1.3.1 Isomería.....	7
1.3.2 Complejos carbonilos de metales de transición.....	9
1.4 Química Organometálica.....	11
1.6 Quinina.....	17
CAPITULO 2.....	20
2.1 ANTECEDENTES.....	20
2.2 HIPÓTESIS.....	25
2.3 OBJETIVOS.....	25
2.3.1 Objetivo General.....	25
2.3.2 Objetivos específicos.....	25
CAPÍTULO 3.....	26
3.1 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	26
3.1.1 Materiales y reactivos.....	26
3.1.2.1 Optimización de parámetros.....	27
3.1.2.2Cromatografía de capa fina.....	28
3.1.2.3Actividad Antifúngica.....	30
3.2 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN.....	31
3.2.1 Fusiómetro.....	31
3.2.2 Espectroscopia vibracional infrarroja (FT-IR).....	31
3.3.3 Espectroscopia de Absorción Molecular (UV-Visible).....	33
3.3.4 Actividad Antifúngica.....	35
CAPÍTULO 4.....	37
4.1 Análisis y Discusión de Resultados.....	37
4.1.1 Determinación del Punto de Fusión.....	39

4.1.2 Rendimiento experimental.....	40
4.1.2 Espectroscopia de Infrarrojo (FT-IR)	41
4.1.3 Espectroscopia de Absorción Molecular (UV-Visible).....	53
4.1.4 Actividad antifúngica	58
CAPÍTULO 5.....	62
5.1 Conclusiones.....	62
5.2 Recomendaciones	63
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	64

www.bdigital.ula.ve

Índice de Figuras

Figura 1. Ejemplos de un complejo con un ligando a) polidentado b) quelante.	5
Figura 2. Isómeros <i>cis</i> y <i>trans</i> del complejo $[Co(NH_3)_4Cl_2]^+$	6
Figura 3. Esfera de Coordinación Interna	7
Figura 4. Geometrías y números de coordinación de los complejos metálicos	8
Figura 5. Enlace por retrodonación	10
Figura 6. Sal de Zeise (1827).	11
Figura 7. Estructura molecular del salvarsán.	16
Figura 8. Estructura de cianocobalamina (Vitamina B ₁₂).	16
Figura 9. Estructura molecular de la ferroquina.	17
Figura 10. Estructura molecular de la Quinina	17
Figura 11. Medicamentos antipalúdicos que contienen Quinina.	18
Figura 12. Sustitución de la Quinina	19
Figura 13. Fármacos antipalúdicos utilizados en la actualidad.	19
Figura 14. Mosquito <i>Anopheles</i> y parásitos <i>Plasmodium</i>	20
Figura 15. Ejemplos de los complejos coordinados por Nitrógeno Quinuclidínico y Nitrógeno Quinolínico.	21
Figura 16. Diagrama del complejo de Rutenio.	22
Figura 17. Sistema de reacción para la síntesis de los tres nuevos complejos metálicos.	28
Figura 18. Esquema de trabajo para la síntesis de los nuevos complejos.	29
Figura 19. Fusiómetro de marca Electrothermal 9100 perteneciente al Laboratorio de Docencia de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes.	31
Figura 20. Radiaciones Electromagnéticas	32
Figura 21. Espectrofotómetro de Infrarrojo con transformada de Fourier, Marca Perkin Elmer, Modelo Frontier, perteneciente al Laboratorio de Cinética y Catálisis de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Los Andes.	33
Figura 22. Diagrama de niveles energéticos para diferentes orbitales moleculares y las transiciones posibles en éstos.	34
Figura 23. Rango del Espectro Visible.	34
Figura 24. Espectrofotómetro marca Shimadzu Modelo UV mini 1240. Perteneciente a la Facultad de Ciencias de la Universidad de Los Andes	34
Figura 25. <i>Candida auris</i> .	35
Figura 26. Microdilución en Caldo M-27-A3	36

Figura 27 Cromatografía de capa fina de los nuevos complejos sintetizados.	37
Figura 28. Complejo 1 (Cr)	38
Figura 29. Complejo 2 (Mo)	38
Figura 30. Complejo 3 (W)	38
Figura 31. Espectros Infrarrojos a) Quinina b) $Cr(CO)_6$ c) Complejo 1 (Cr)	41
Figura 32. Espectros Infrarrojos de a) Quinina b) $Mo(CO)_6$ c) Complejo 2 (Mo)	46
Figura 33. Espectros Infrarrojos a) Quinina b) $W(CO)_6$ c) Complejo 3 (W)	49
Figura 34. Espectro UV-Visible del ligando (Quinina).	53
Figura 35. Espectro UV-Visible del complejo 1 (Cr).	54
Figura 36. Espectro UV-Visible del complejo 2 (Mo).	55
Figura 37. Espectro UV-Visible del complejo 3 (W).	55
Figura 38. Estructura propuesta para el complejo 1 (Cr). [acuo-tetracarbonil-quinina-cromo (0)]	56
Figura 39. Estructura propuesta para el complejo 2 (Mo).[diacuo-tricarbonil-quinina-molibdeno(0)]	57
Figura 40. Estructura propuesta para el complejo 3 (W). [triacuo-dicarbonil-quinina-molibdeno(0)]	57
Figura 41. Diseño experimental para el tamizaje de los complejos contra el <i>C. auris</i> Ca13 y Ca9 mediante la técnica de Microdilución en caldo CLSI-M27-A3.	58
Figura 42. Diseño experimental para el tamizaje de los complejos contra el <i>C. tropicalis</i> 750 y <i>C. auris</i> Ca4 mediante la técnica de Microdilución en caldo CLSI-M27-A3	58
Figura 43. Diseño experimental para el tamizaje de los complejos contra el <i>C. auris</i> Ca1 mediante la técnica de Microdilución en caldo CLSI-M27-A3.	59

Índice de Tablas

Tabla 1. Metales de Transición	3
Tabla 2. Reactivos utilizados en la síntesis de los complejos.	26
Tabla 3. Tipos de Cepas y Especies	30
Tabla 4. Puntos de Fusión de los reactivos de partida y complejos obtenidos.	39
Tabla 5. Porcentajes de rendimiento de los complejos obtenidos	40
Tabla 6. Bandas asignadas para los espectros IR de la Quinina	42
Tabla 7. Bandas asignadas para el espectro IR del compuesto de partida $Cr(CO)_6$	42
Tabla 8. Bandas asignadas para el espectro IR del complejo 1 (Cr).	43
Tabla 9. Bandas asignadas para el espectro IR del compuesto de partida $Mo(CO)_6$.	47
Tabla 10. Bandas asignadas para el espectro IR del complejo 2 (Mo).	47
Tabla 11. Bandas asignadas para el espectro IR del compuesto de partida $W(CO)_6$.	50
Tabla 12. Bandas asignadas para el espectro IR del complejo 3 (W).	50
Tabla 13. Bandas características para el ligando (quinina)	53
Tabla 14. Bandas características del complejo 1 (Cr).	54
Tabla 15. Bandas características del complejo 2 (Mo).	55
Tabla 16. Bandas características del complejo 3 (W).	56
Tabla 17. Porcentaje de inhibición de crecimiento de las levaduras en presencia de los nuevos complejos.	60

Introducción

El universo está compuesto de materia y energía radiante. Las diferentes clases de materia son llamadas sustancias. La química es la ciencia que estudia la materia, su estructura, propiedades y las reacciones que los transforman. Sus fundamentos modernos se instituyeron en el siglo XIX, cuando muchos de los avances tecnológicos e intelectuales permitieron a los científicos separar sustancias en componentes aún más pequeños, y, por consiguiente explicar muchas de sus características físicas y químicas. Mediante el uso de computadoras y microscopios electrónicos, los químicos pudieron analizar, por ejemplo, la estructura de los átomos y las moléculas, así como diseñar sustancias con propiedades específicas, como fármacos, entre otros. [1].

En efecto, el estudio de la composición y las propiedades de la materia, así como los cambios químicos que esta experimenta, son tan importantes que han encontrado aplicación en diversos campos profesionales, de esta forma, a través del conocimiento de la química, se producen: aceros inoxidables, pinturas, ladrillos, vidrios, entre otros. En el campo de la medicina, recientemente se ha venido desarrollando un gran interés por el estudio de los compuestos organometálicos y las posibles aplicaciones medicinales de los mismos, lo que ha sido de gran utilidad en la lucha contra los microorganismos que producen las enfermedades, y ha permitido el desarrollo y la producción de vacunas, sueros, antibióticos, anestésicos y otros productos [2].

Una importante rama del conocimiento de la química se basa en la Química Inorgánica, particularmente en lo que se refiere a los compuestos organometálicos, los cuales, por definición deben contener por lo menos un enlace entre un átomo del metal y un átomo de carbono. Estos compuestos se denominan complejos de coordinación.

En este sentido, cobra significado un área todavía más novedosa, se trata de la química bioorganometálica, una disciplina que busca comprender las relaciones que existen entre las estructuras de los compuestos inorgánicos u organometálicos y los receptores biológicos, en enfermedades como el cáncer, la malaria, leishmaniasis, provocadas por virus, hongos, levaduras,

entre otras. ^[3]. Se sabe, que la eficacia de un agente terapéutico determinado mejora después de la coordinación a un centro metálico, potenciando sinérgicamente su actividad biológica ^[4].

Por otra parte, las plantas medicinales han demostrado históricamente su valor como fuente de compuestos naturales con potencial terapéutico; en la actualidad, todavía representan un grupo importante en la identificación de nuevos productos y de esta manera se impulsa el desarrollo y producción de nuevos fármacos.

En las décadas del siglo XX, se realizaron investigaciones en otras plantas referidas como medicinales, lo cual provocó el auge en la investigación, así como la identificación y caracterización de muchos productos naturales, principalmente alcaloides (Quinina, nicotina, codeína, atropina, colchicina, cocaína, capsaicina) los cuales se aislaron de sus respectivas fuentes naturales ^[5].

La Quinina es un alcaloide natural, blanco y cristalino que se produce naturalmente en la corteza del árbol de la quina, posee propiedades antipiréticas, antipalúdicas, analgésicas y presenta un sabor muy amargo ^[6]. La quinina y sus derivados son utilizados en el tratamiento de la malaria debido a su efecto esquizonticida. Sin embargo la aparición de cepas resistentes de *Plasmodium Falciparum* y *Plasmodium vivax* hace que la búsqueda de nuevos compuestos antipalúdicos sea necesaria. La quinina también puede actuar como ligando formando un anillo estable de cinco miembros con algunos metales a través del nitrógeno quinuclidínico y el oxígeno de hidroxilo (sitio bidentado), o mediante la unión a través del nitrógeno aromático quinolínico (sitio monodentado) ^[7].

En este trabajo especial de grado, se realiza el estudio de los metales de transición pertenecientes al grupo VI: Cr, Mo, y W utilizando quinina como ligando con el fin de formar nuevos complejos organometálicos con los que se pueden realizar pruebas preliminares de actividad biológica contra hongos y/o levaduras con el fin de obtener nuevos posibles fármacos.

CAPÍTULO 1

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Química Inorgánica

La química inorgánica se define como la rama de la química que estudia los elementos cuyos átomos poseen una capa *d* incompleta, es decir, el estudio de la química de los metales de transición; estos se encuentran entre los grupos 3 a 12 de la tabla periódica, y entre los periodos comprendidos del 4 al 7. Estos metales incluyen no sólo los metales industriales más utilizados como el Hierro (Fe) y los ingredientes necesarios para convertir el hierro en acero, sino también metales más valiosos como el oro y la plata (Au, Ag). [8].

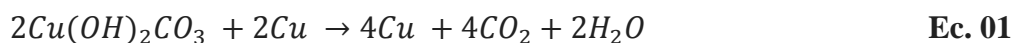
Ya que los orbitales $4s - 3d$; $5s - 4d$; $6s - 4f - 5d$; o $7s - 6d - 4f$; están energéticamente muy cercanos, las transiciones de los electrones entre estas capas se producen fácilmente, de modo que la mayoría de los metales de transición pueden existir en estados de oxidación diferentes tanto positivos como negativos [9].

Tabla 1. Metales de Transición

Periodo	Grupo									
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
IV	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn
V	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd
VI	La**	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg
VII	Ac**	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	Ds	Rg	Cn

Asimismo, también se define como la química de los compuestos que no proceden de seres vivos. Parte de la misma surgió de los procedimientos y métodos que se utilizaban para tratar minerales y menas al encontrarse sustancias naturales con propiedades útiles, como el pedernal o la calcedonia que podían utilizarse para fabricar herramientas. Una de las reacciones conocidas desde hace tiempo

es la de la reducción de óxidos metálicos, carbonatos y sulfuros a metales libres, tal como se muestra a continuación:



[Edad del cobre y del bronce, hace aproximadamente 4500-7500 años]



[Edad del hierro, hace aproximadamente 4500-3000 años, hasta la actualidad]

Este es el primer ejemplo de la química redox aplicada, como se observa, los términos oxidación-reducción están relacionados íntimamente con estos antiguos procesos metalúrgicos.

1.2 Ligandos

Los ligandos son moléculas que poseen un par de electrones de valencia no compartidos y son el punto de enlace con el metal. Estos ligandos se denominan monodentados cuando comparten un solo par de electrones. Si tienen más de un punto de enlace, son clasificados como polidentados. También existen ligandos denominados ambidentados: son aquellos que poseen más de un posible átomo donador y tienen un tamaño muy pequeño como para ser capaces de donar cada uno su par de electrones simultáneamente, y, en lugar de ello, se enlazan de una manera u otra dependiendo de las condiciones de reacción [10,3].

Cuando un ligando polidentado se une a un centro metálico formando un anillo estable se dice que se encuentra formando un complejo tipo quelato y al ligando polidentado se le denomina agente quelante (Fig.1). Los ligandos quelantes exhiben gran afinidad por los centros metálicos en comparación a los ligandos monodentados. La etilendiamina es un ejemplo de un agente quelante [11].

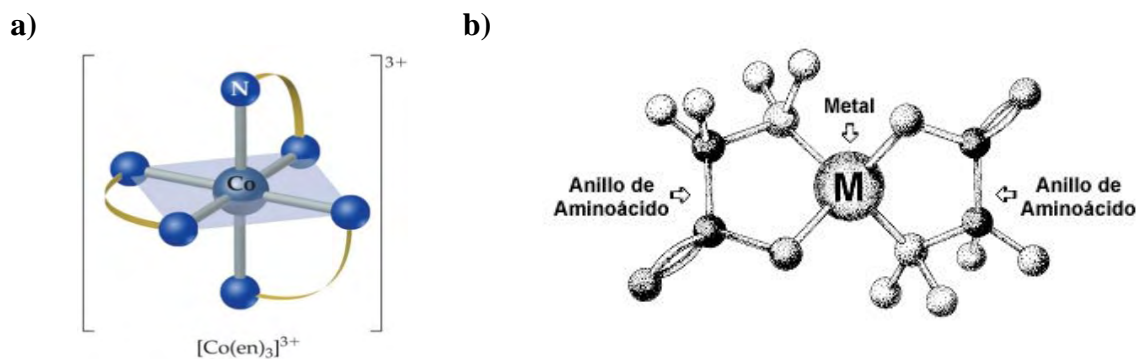


Figura 1. Ejemplos de un complejo con un ligando **a)** polidentado **b)** quelante.

El monóxido de carbono (CO), es un ligando común en la química de los metales de transición por la naturaleza particular de unirse a los metales. En este caso, la coordinación se produce a través del par libre de electrones del carbono. La mayoría de estos carbonilos metálicos son sólidos con la excepción de los carbonilos mononucleares del grupo 8 y el tetracarbonilo de níquel. Los carbonilos mononucleares son incoloros, mientras que los carbonilos polinucleares son coloreados [12,3].

Por otra parte, una gran cantidad de ligandos pueden formar diferentes complejos con características de biomoléculas y así cumplir un fin biológico. Por ejemplo, en la unión proteína-ligando, el ligando suele ser una molécula que produce una señal al unirse a un sitio en una proteína. Esta unión se produce por fuerzas intermoleculares, tales como, enlaces iónicos, enlaces de hidrógeno y fuerzas de Van de Waals [13,14].

1.3 Química de Coordinación

Los compuestos de coordinación se conocían y se han utilizado desde la antigüedad. Algunos ejemplos de estos compuestos inorgánicos que se encuentran aún en uso son: Azul de Prusia ($K_4[Fe(CN)_6]$), Aureolina amarillo ($K_3[Co(NO_2)_6] \cdot 6H_2O$), y el tinte rojo de Alizarina (sal de Aluminio de Calcio). Estos compuestos presentan colores sorprendentes, así como también cambios intensos del mismo durante su síntesis o aplicación.

Los ligandos típicos que generalmente se unen a los metales en sus estados de oxidación más bajos son: carbonilos, alquenos y arenos. Estos complejos se conocen como organometálicos. Por ejemplo: $Mo(CO)_6$, $(C_6H_6)Cr(CO)_3$, $Pt(C_2H_4)_3$. [15]

La historia y la interpretación de la reacción de los compuestos de coordinación comienzan con Alfred Werner (1866-1919); A partir del año 1893, Werner desarrolló y sintetizó nuevos compuestos con una imagen moderna de los complejos de coordinación, proponiendo que en los complejos de amoníaco, el ion metálico está rodeado de seis ligandos en una estructura octaédrica [16]. En este caso, preparó y caracterizó muchos isómeros, incluyendo formas verdes y violetas de $[Co(H_2NC_2H_4NH_2)_2Cl_2]^+$. Así mismo, Werner afirmó que estos compuestos tenían los cloruros dispuestos en forma *trans* (opuestos entre sí) y *cis* (adyacentes entre sí), en una geometría octaédrica general. A su vez, Jorgensen ofreció estructuras de isómeros alternativas, solo que no tenían la estructura correcta, pero finalmente admitió su error en 1907, cuando Werner demostró que tenía razón cuando reporta la síntesis de los isómeros *trans* verde y *cis* violeta del complejo. $[Co(NH_3)_4Cl_2]^+$ (Fig. 2).

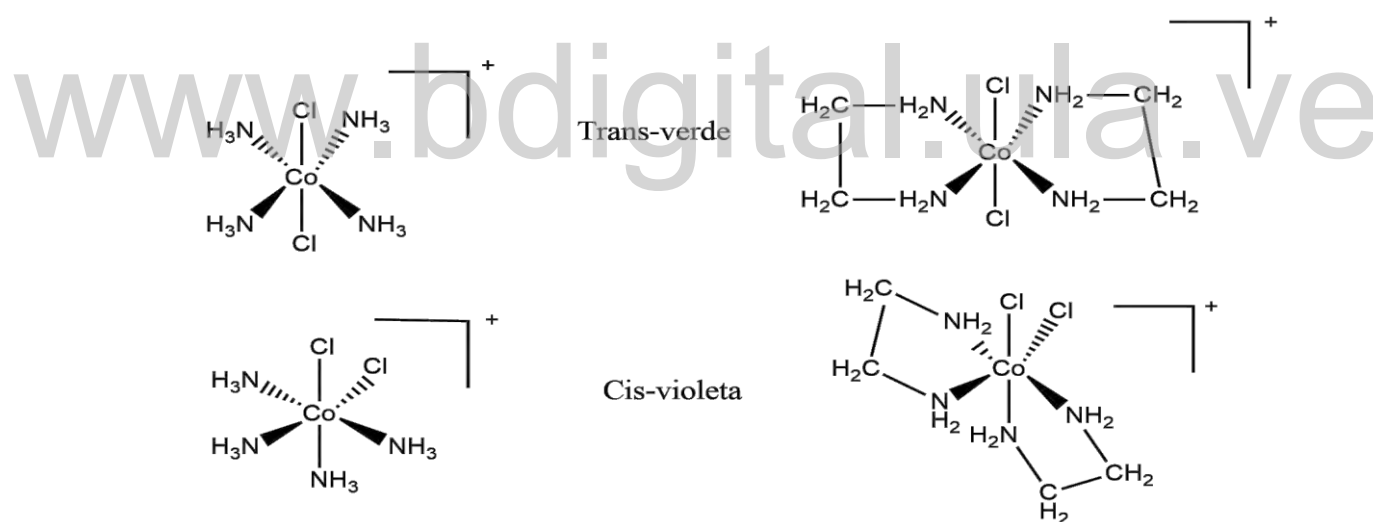


Figura 2. Isómeros *cis* y *trans* del complejo $[Co(NH_3)_4Cl_2]^+$

Werner estudió diferentes maneras para la determinación de las estructuras geométricas de los complejos metálicos. Actualmente, la difracción de rayos X permite determinar, las distancias de enlace, los ángulos precisos y, la resonancia magnética nuclear puede utilizarse como técnica para estudiar complejos con tiempo de vida superiores a microsegundos.

Los complejos inorgánicos también se denominan complejos de esfera interna, donde los ligandos, como referimos antes, se unen directamente al átomo o ion metálico central (Fig.3). Estos ligandos forman la esfera de coordinación primaria del complejo y su número es denominado número de coordinación. Existen tres factores que determinan el número de coordinación de un complejo:

- El tamaño del ion metálico central.
- Las interacciones estéricas entre los ligandos.
- Interacción electrónica entre el átomo central y los ligandos.

Los ligandos voluminosos favorecen números de coordinación bajos por razones estéricas, también aquellos ligandos que están cargados por las interacciones electrostáticas no favorables. Los números de coordinación altos son aquellos que se encuentran en la parte izquierda de un periodo, donde los iones tienen radios más grandes, comúnmente cuando el ion metálico posee un número pequeño de electrones de valencia, dando una mayor aceptación de electrones provenientes de la base de Lewis (ligandos) [17].

www.bdigital.ula.ve

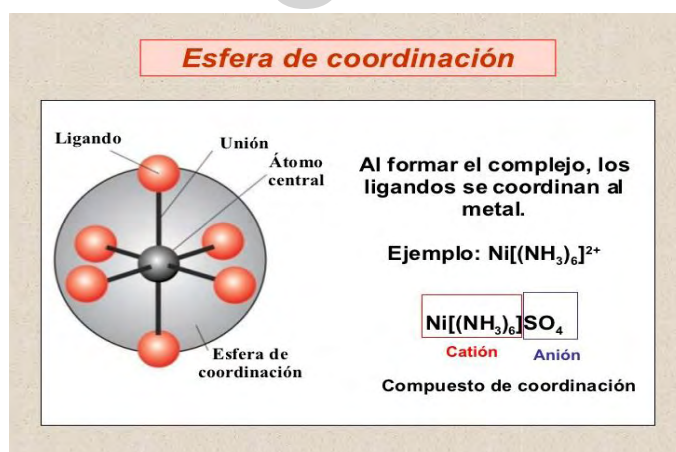


Figura 3. Esfera de Coordinación Interna

1.3.1 Isomería

Werner utilizó compuestos de cuatro o seis ligandos en el desarrollo de su teoría, con las formas de coordinación establecidas por la síntesis de isómeros. Por ejemplo, él fue capaz de sintetizar sólo

dos isómeros del complejo iónico $[Co(NH_3)_4Cl_2]^+$. Las posibles estructuras con seis ligandos fueron: prisma trigonal, octaédrico, bipirámide pentagonal y hexagonal. Por lo tanto, Werner afirmó que la estructura era octaédrica [15].

De esta manera fue demostrado, que la fórmula molecular no es suficiente para identificar un compuesto de coordinación, dado que este puede presentar isomería de enlace, de ionización, hidratación o de coordinación. De modo que, la existencia de ligantes ambidentados conduce a la posibilidad de que haya isomería de enlace, en la que el mismo ligando puede enlazarse a través de diferentes átomos. La isomería de ionización se da cuando un ligando y un contraión cambian sus posiciones en un compuesto. Por su parte, la isomería de hidratación, es muy similar a la de ionización, y ocurre cuando uno de los ligandos es agua. Por último, la isomería de coordinación surge cuando existen iones complejos diferentes que se forman a partir de compuestos que poseen la misma fórmula molecular.

El número de coordinación de un complejo monodentado corresponde al número de ligandos presentes alrededor del mismo (Fig.4). Las geometrías más comunes en los complejos de coordinación son las tetraédricas, planas cuadradas y octaédricas [16].

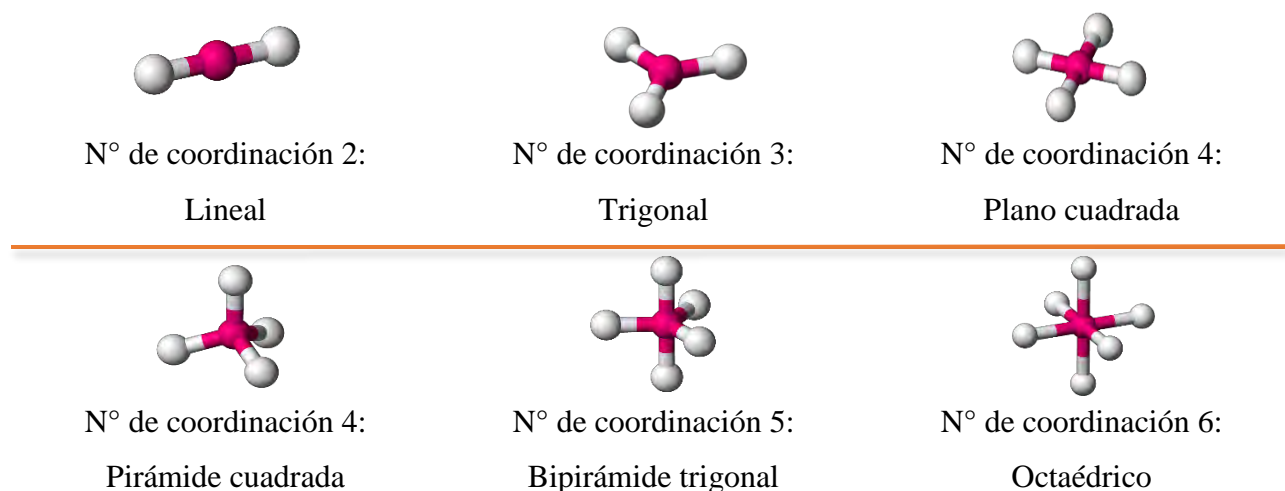


Figura 4. Geometrías y números de coordinación de los complejos metálicos

1.3.2 Complejos carbonilos de metales de transición

Estos complejos son aquellos que contienen uno o más enlaces $M-CO$, donde M es un metal de transición que posee su capa de electrones de valencia d incompleta. Sin embargo, existen algunos ejemplos de compuestos de este tipo que contienen metales con la capa de valencia que está, o completamente llena, metales d^{10} o completamente vacía, metales d^0 . [17].

Una de las primeras estructuras de carbonilos metálicos en ser conocida, es la del complejo de $Ni(CO)_4$, que fue descrita en 1935. Los carbonilos mononucleares tienen todas las geometrías que se pueden esperar sobre sus fórmulas empíricas, a saber, octaédricas, bipirámide trigonal o tetraédricas [17].

El monóxido de carbono (CO) es el ligando más usado en la química organometálica, este se observa en complejos carbonilos mononucleares tales como $Ni(CO)_4$, $W(CO)_6$ y en complejos dinucleares formando puentes como en el complejo $Fe_2(CO)_9$, o, más comúnmente en combinación con otros ligandos, tanto orgánicos como inorgánicos. [15].

La fuerte unión del enlace que existe entre el Metal y el CO depende de varios factores como son: la carga del complejo y el entorno del ligando del metal. Existen dos técnicas experimentales que demuestran el enlace correcto entre el carbonilo y el metal:

- ✓ La espectroscopia de infrarrojo.
- ✓ La difracción de rayos-X.

El estiramiento $C-O$ en los compuestos organometálicos es a menudo muy intenso y su energía proporciona información valiosa sobre la estructura molecular. El $Cr(CO)_6$ posee una energía menor de estiramiento $C-O$ a $2000cm^{-1}$ que el monóxido de carbono libre a $2143cm^{-1}$, ya que el enlace $C-O$ del $Cr(CO)_6$ es más débil [15].

El carbonilo se considera un ligando particularmente efectivo para estabilizar estados de oxidación muy bajos, incluso en muchos de los compuestos que el metal se halla en estado de oxidación cero, por ejemplo: $Fe(CO)_5$. Una manera simple de ver el enlace del carbonilo al átomo metálico es tratar al par libre del átomo de carbono como una base σ de Lewis (un donador de un par electrónico) y al orbital de antienlace vacío del CO como un ácido π de Lewis (un aceptor de un par electrónico), que acepta densidad electrónica de los orbitales d del metal que están llenos.

El enlace está constituido por dos partes: un enlace σ formado del ligando al átomo metálico, y un enlace π formado del átomo metálico al ligando, llamándolo así enlace por retrodonación π (Fig.5).

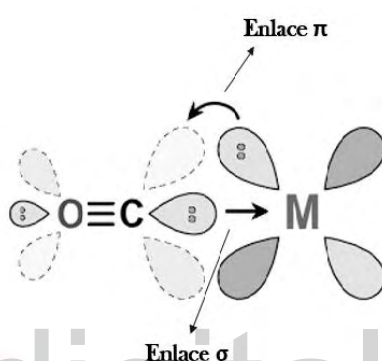


Figura 5. Enlace por retrodonación

El monóxido de carbono no tiene un carácter nucleofílico apreciable, por la cual el enlace σ que se forma con el átomo metálico d es débil. Sin embargo, existen muchos complejos carbonilos que son muy estables, puesto que la retrodonación π es muy fuerte y la estabilidad de los complejos proviene principalmente de las propiedades π -ceptoras del CO .

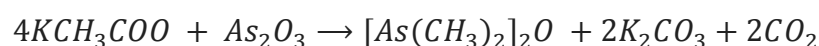
No obstante, el enlace del CO a un metal d es un resultado sinérgico (se ayudan mutuamente) proveniente de los enlaces σ y π : la retrodonación del metal al CO incrementa la densidad electrónica en el CO que hace que sea mayor la habilidad de este para formar un enlace σ con el átomo metálico^[3].

La magnitud de la retrodonación que se observa en un carbonilo metálico es altamente dependiente del estado de oxidación del metal de transición y del tipo o naturaleza del ligando. Un ejemplo de ello, es la frecuencia a la cual ocurre el estiramiento ν_{CO} en los espectros de infrarrojo de los carbonilos metálicos, la cual decrece en el siguiente orden $[Ni(CO)_4 (2060cm^{-1}) > [Co(CO)_4]^{1-} (1890cm^{-1}) > [Fe(CO)_4]^{2-} (1790cm^{-1})$, indicando como disminuye la fuerza del enlace a medida que disminuye el estado de oxidación [17].

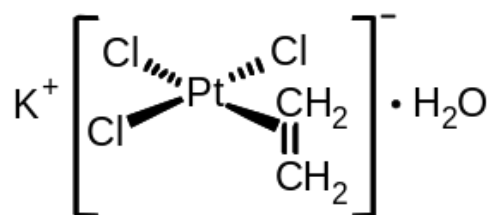
1.4 Química Organometálica

Louis Claude Cadet de Gassicourt, químico francés, preparó tintas que contenían cobalto y arsénico.

En 1760 sintetizó el óxido de bis (dimetilarsina), que se obtenía a través de la reacción de acetato de potasio con trióxido de arsénico:



En el siglo XIX, alrededor del año 1827, se sintetizó el primer complejo metálico del que se tiene reporte, este es conocido como la sal de Zeise $[K [PtCl_3 (\eta_2 - C_2H_4)]]$ (Fig.6); este compuesto organometálico de platino y etileno forma cristales de color amarillo. La estructura de esta sal se elucidó en 1975.



(triclora(η_2 - eteno)platinato(II)de potasio

Figura 6. Sal de Zeise (1827).

La Química Organometálica apareció esencialmente en los Estado Unidos, Inglaterra y Alemania en el tercer cuarto del siglo XX. Un compuesto organometálico se define generalmente, como aquel que contiene un enlace entre un metal y el carbono. La interacción del enlace, debe ser “iónica o

covalente, localizada o deslocalizada entre uno o más átomos de carbono de un grupo orgánico o molécula y un átomo metálico de transición” [8].

La química organometálica es uno de los mayores exponentes de una disciplina altamente interdisciplinaria, tomando los mejores aspectos de la química orgánica y conjugándolos con la química inorgánica en una combinación equilibrada donde se integran los elementos de transición. Existe un “enlace covalente coordinado” que se forma entre el carbono y los metales de transición, multiplicando las posibilidades de obtener toda una nueva gama de compuestos químicos que poseen una gran variedad de aplicaciones, clasificándolos como materiales híbridos, pues se mueven en la frontera entre la química orgánica y la química inorgánica.

Los compuestos que contienen metales que no poseen enlaces metal-carbono se consideran también si existe una estrecha relación con los principios y la práctica de la química organometálica. Tales compuestos pueden incluir, entre otros, representantes de las siguientes clases de compuestos: hidruros metálicos moleculares, alcóxidos metálicos, tiolatos, amidas y fosfuros, complejos metálicos que contienen organocompuestos de los grupos 15 y 16 como ligandos.

Se sabe que los metales de transición pueden formar compuestos organometálicos con ligandos que poseen enlaces múltiples (dobles o triples enlaces) localizados y con otros ligandos que poseen un sistema- π deslocalizado (característico de anillos aromáticos) [17].

Es importante reconocer que los enlaces metal-carbono en los compuestos organometálicos de metales de transición son generalmente más covalentes que los de los metales del grupo principal. Aunque en un principio se creyó que los compuestos organometálicos eran inestables debido a la debilidad intrínseca del enlace sigma del metal de transición-carbono, ahora está claro que la energía de disociación de este enlace es baja y comparable con la energía del enlace metal-carbono con elementos del grupo principal.

La formación de enlaces múltiples metal-carbono es estable, siendo esta una característica de la química organometálica de metales de transición. Aquellos compuestos que tienen enlaces dobles son llamados complejos carbenos $-C=M$ y aquellos con enlaces triples son llamados complejos carbinos $-C\equiv M$. Estas especies son muy reactivas y se observan generalmente como intermediarios en reacciones catalíticas [17].

La química organometálica muestra diferentes tipos de compuestos y las propiedades de los mismos, estas se basan en las características que poseen los enlaces metal-carbono. Sobre esta premisa, estos enlaces se clasifican como:

- **Enlace iónico:** De naturaleza iónica, con un catión metálico y un carbanión.
- **Deficiente en electrones:** Implica compartir un par de electrones en un solo átomo de carbono con dos átomos metálicos.
- **Covalente:** Implica compartir dos electrones entre un átomo de carbono y un átomo de metal considerándolo así, el tipo de enlace más común [18].

1.5 Química Bioinorgánica

La química bioinorgánica es considerada como el estudio de los elementos inorgánicos que se encuentran en sistemas biológicos. Una de las investigaciones más importantes tiene que ver con el estudio de los centros metálicos y su interacción con ligandos biológicos [3]. El descubrimiento y la importancia de los metales de transición en los sistemas biológicos comenzó a principios de la década de 1960, sin embargo, a partir del año 1930 se sabía que los metales estaban presentes en las enzimas y proteínas, como en la hemoglobina, los citocromos y en la primera enzima ureasa cristalizada.

Históricamente, el Hierro (Fe) se ha conocido como un metal de gran importancia desde hace siglos, dada sus diferentes aplicaciones y su papel en los sistemas biológicos. Desde las primeras

décadas del siglo XX, se comienzan a estudiar otros elementos y su rol en el sistema vida. Así, se descubre que sustancias como el yodo (I), cobalto (Co), cobre (Cu), manganeso (Mn), magnesio (Mg), calcio (Ca) y cinc (Zn), se encuentran en bajas concentraciones en los organismos pero tienen un papel fundamental en diferentes funciones metabólicas y enzimáticas de los seres vivos, a estos se conocen como oligoelementos [19].

La química bioinorgánica ha hecho importantes contribuciones en el campo de la medicina y por tanto una gran contribución al bienestar de la humanidad en el último medio siglo. Los descubrimientos recientes en la biomedicina, incluyen centros o iones metálicos que son utilizados como andamios sintéticos para la preparación de agentes terapéuticos de moléculas pequeñas. Uno de los descubrimientos más importantes es la aplicación del complejo cisplatino [cis-diaminodicloroplatino (II)] como fármaco en la lucha contra una amplia gama de manifestaciones del cáncer. El éxito de este compuesto es notable gracias a que, efectivamente ha curado al menos un tipo de cáncer (cáncer testicular) y se utiliza ampliamente en el tratamiento de otros tipos de tumores.

Los complejos de metales de transición, han mostrado ser eficientes en diferentes ensayos clínicos para el tratamiento de diversas enfermedades, estos compuestos también se han sintetizado con oro, litio, cobre y hierro [20]. Por esta razón, la química bioinorgánica se ha impulsado desde el punto de vista de la investigación y ha demostrado ser invaluable para el desarrollo de nuevos tratamientos [21]. Actualmente, se sabe que la alteración de los procesos de transporte de los metales denominados oligoelementos, producen graves problemas de salud. El cobre y el hierro son nutrientes esenciales en el organismo, cuya concentración de los mismos en las células debe regularse para optimizar su función en los procesos biológicos y proteger a los organismos vivos de la formación de radicales libres tóxicos [22].

El almacenamiento biológico y el mecanismo de transporte son dos características significativas en relación a la cantidad de metales de transición presentes en los seres vivos; a continuación se

nombran por orden decreciente de abundancia, estos son: hierro, cinc, cobre, molibdeno, cobalto, cromo, vanadio y níquel. El cinc es un metal de transición en su forma oxidada y también posee muchas propiedades bioinorgánicas vitales e importantes, interviniendo en funciones claves como la replicación del ADN ^[17].

En la naturaleza, los metales generalmente se encuentran unidos a entornos prostéticos complejos como corrinas y porfirinas. Los ligandos suelen estar coordinados a través de los átomos de N, O, S o C. Las proteínas con las que se asocian los metales de transición poseen, entre otras funciones, la de catalizar el reordenamiento intermolecular de los electrones y contribuir a la estructura del estado activo ^[23], sin embargo, las propiedades redox de los metales continúan siendo importantes en la mayoría de estas reacciones.

Como hemos visto hasta ahora, a través del desarrollo de la química bioinorgánica, se han logrado grandes avances farmacológicos para la cura de numerosas enfermedades. Otro ejemplo de este hecho, es el complejo llamado salvarsán (Fig.7), este compuesto organometálico fue sintetizado por primera vez en 1907 por Paul Ehrlich y fue utilizado con éxito como antibiótico para el tratamiento de la sífilis. En 1912, Ehrlich y sus colegas publicaron los primeros resultados de la investigación que mostraban las propiedades antisifílicas del salvarsán.

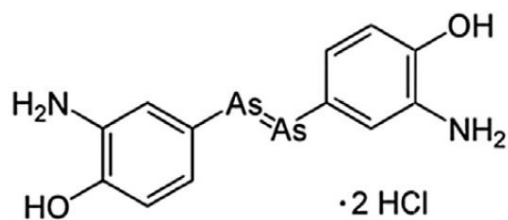


Figura 7. Estructura molecular del salvarsán.

A finales de la década de 1920, Minot y Murphy descubrieron un tratamiento exitoso para la anemia perniciosa, altamente mortal en esa época. Para entonces ya se sabía que el hígado contiene altas cantidades de cianocobalamina (Vitamina B₁₂) (Fig.8), razón por la cual, plantearon que al suplementar la dieta con hígado, la anemia podría revertirse. En 1948, Folkers y Smith lograron aislar la Vitamina B₁₂, la cual posee una estructura monomérica compleja y se ha estudiado ampliamente debido a su importancia metabólica dentro del cuerpo humano. Se ha determinado que los enlaces Co–C covalentes promueven su actividad.

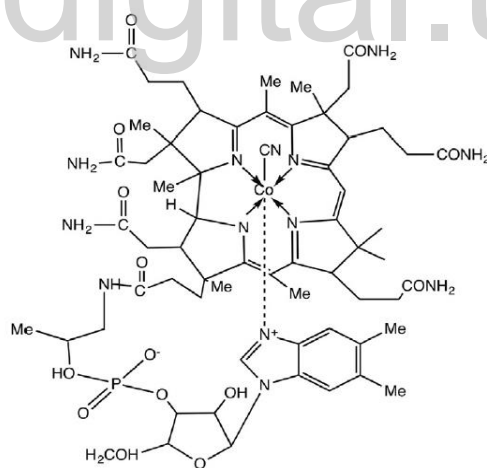


Figura 8. Estructura de cianocobalamina (Vitamina B₁₂).

El fármaco antimalárico ferroquina (Fig.9) es un derivado del ferroceno que ha mostrado gran actividad terapéutica en el tratamiento de otras enfermedades. La ferroquina es de la misma familia del ferrocifeno, esta vez, se obtuvo combinando el ferroceno con el muy conocido fármaco antimalárico, la cloroquina. Actualmente se encuentra en ensayos clínicos de fase II y se cree que

actúa a través de un mecanismo binario que implica una interacción con el grupo hemo libre para la formación de especies reactivas de oxígeno [21].

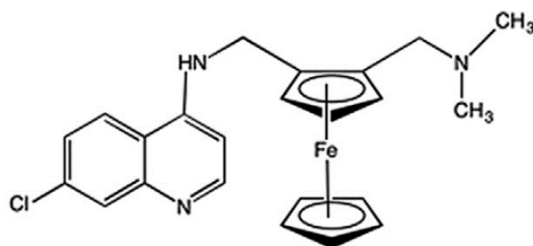


Figura 9. Estructura molecular de la ferroquina.

1.6 Quinina

La quinina fue descubierta en el año 1630, es un alcaloide que se encuentra en la corteza de los árboles del género “Cinchona” [24]. Fue aislada como principio activo de la planta por primera vez en el año 1820 por Pierre-Joseph Pelletier y Joseph Bienaimé Caventou (Fig.10), ellos demuestran que este es el componente antimalárico activo de la quina, lo cual dio lugar a la producción de la droga. La corteza de la cinchona contiene también otro tipo de alcaloides como la quinidina (isómero de la quinina), cinconidina y cinconina (isómero de la cinconidina) [25].



Figura 10. Estructura molecular de la Quinina

Por más de 400 años, la quinina ha sido uno de los agentes terapéuticos antimaláricos más utilizados a nivel mundial. Los científicos estadounidenses lograron sintetizarla en 1944, su uso

continuo se vio amenazado por la resistencia de algunos parásitos contra la malaria. Sin embargo, la búsqueda de nuevos fármacos con nuevas estructuras para el tratamiento de la malaria se ha venido realizando continuamente (Fig.11). Una estrategia complementaria es utilizar y desarrollar por modificación química el compuesto natural “quinina”, ya que se sabe que una porción de la quinolina es la responsable de las propiedades antimaláricas de la quinina, a pesar de ello, el modo de acción de los fármacos que contienen quinolina no han mostrado ser eficientes.

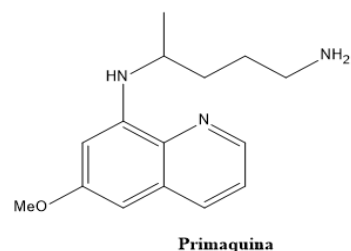


Figura 11. Medicamentos antipalúdicos que contienen Quinina.

La quinina ha sido modificada químicamente a través de tres procedimientos diferentes. Estos incluyen la sustitución en los grupos hidroxilo o vinilo, variaciones en el anillo de quinolina o quinuclidina y modificaciones a la estereoquímica. Así, se ha determinado que tanto el grupo hidroxilo como el nitrógeno quinolínico (del anillo quinolinico) son esenciales para la actividad antipalúdica de la quinina. Sin embargo, es posible modificar el anillo quinuclidínico sin pérdida de actividad [26].

Los iones metálicos poseen un gran potencial biomédico, por lo cual se han desarrollado continuamente moléculas con agentes terapéuticos para el desarrollo de nuevos fármacos. La quinina como base libre forma complejos con metales de transición, debido a las propiedades donadoras de electrones de su nitrógeno quinuclidínico y quinolínico o su oxígeno hidroxilo (Fig.12) [27].

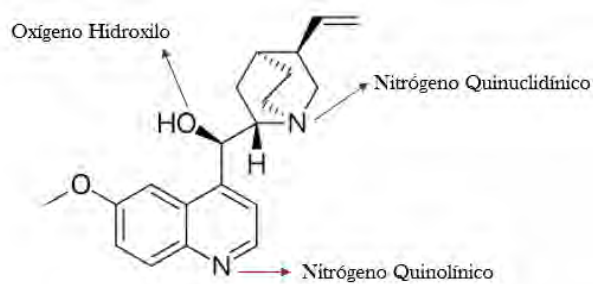


Figura 12. Sustitución de la Quinina

Muchos de los parásitos de la malaria resistentes a estos medicamentos están extendidos en América, Asia y África, por lo tanto, la investigación consiste en encontrar otras alternativas para mejorar la actividad de los medicamentos antipalúdicos mediante la incorporación de metales de transición en sus estructuras moleculares, llevando a cabo así, el enfrentamiento del desarrollo de resistencias de los fármacos de uso actual (Fig.13) [28].

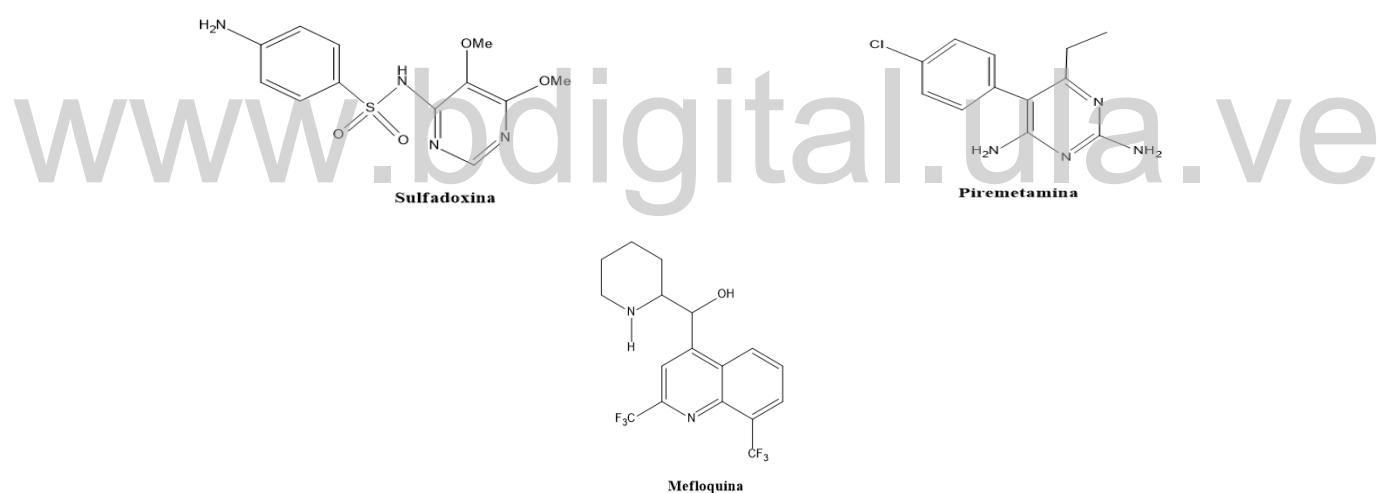
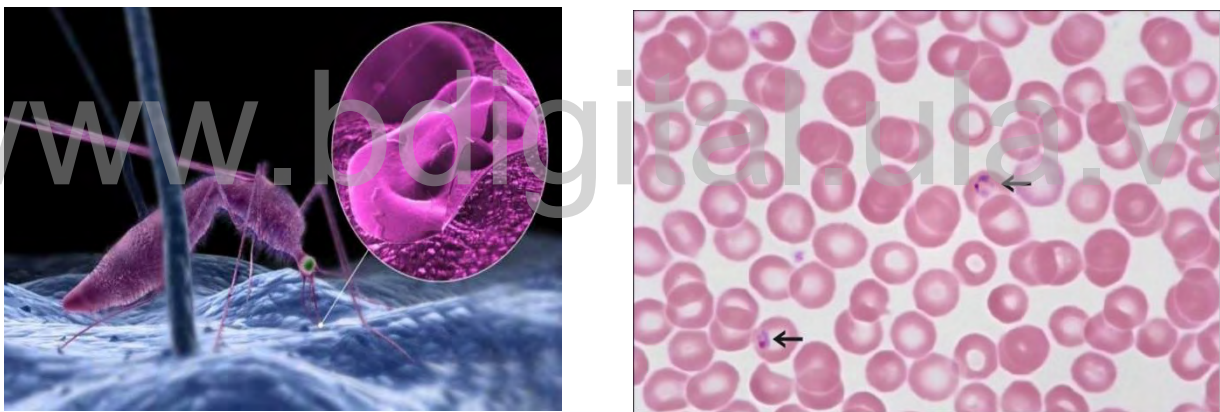


Figura 13. Fármacos antipalúdicos utilizados en la actualidad.

CAPITULO 2.

2.1 ANTECEDENTES

Los científicos han realizado un gran avance en la investigación de la química de productos naturales, descubriendo así infinidad de plantas con actividad biológica. Muchas de ellas actualmente se utilizan en fármacos para la cura de diferentes enfermedades, logrando así despertar interés respecto a su investigación en la actualidad. Uno de estos productos naturales es la quinina, la cual se aisló de la corteza del árbol cinchona. La quinina y sus derivados son utilizados como fármacos contra la malaria. La malaria es una enfermedad producida por un parásito llamado *Plasmodium*, el cual es transmitido por la picadura de la hembra del mosquito y ha sido y sigue siendo, una de las enfermedades que ha diezclado gran parte de la población que vive en el trópico a lo largo de los años (Fig.14).



Z

Figura 14. Mosquito *Anopheles* y parásitos *Plasmodium*

La fiebre alta es uno de los síntomas provocados por la malaria, la quinina posee propiedades antipiréticas y ayuda a combatirla. Sin embargo, debido al uso prolongado de este alcaloide, el parásito *Plasmodium* comenzó a mostrar resistencia al efecto terapéutico, razón por la cual la quinina empezó a ser utilizada en combinación con diferentes elementos [29-30].

La cloroquina, fue desarrollada en los Estados Unidos durante la segunda guerra mundial como otro medicamento efectivo contra la malaria. Al igual que la quinina, la cloroquina previene la

formación de hemozoinas que es el desecho del parásito. La seguridad, la eficacia y el bajo costo trajeron a la cloroquina a la vanguardia en 1944, y la misma se utilizó por dos décadas seguidas hasta que los parásitos desarrollaron resistencia nuevamente [31].

Luego fueron desarrollados y ensayados clínicamente complejos metálicos de coordinación, de este modo, la primaquina y amodiaquina fueron acomplejados con V (II), Cr (III), Fe (III), Cu (II), Co (II), Ni (II), Zn (II), Cd (II), Hg (II), Rh (III), Pd (II), Au (III), Ag (I), Mn (II), Sn (II) y Pt (II) en el año 1987 por Wasi *et al* [32], donde se reporta que la actividad antimálarica de los complejos sintetizados eran del mismo orden que del fármaco principal correspondiente.

Asimismo, en el año 2006 Rey *et al* [7] estudiaron dos modos de coordinación sintetizando tres complejos de Cu (II) con tres diferentes tipos de ligandos: quinuclidina, quinina e hidroquinidina (Fig.15). Ambos nitrógenos de los ligandos de tipo quinina constituyen sitios de unión para los iones cobre. Por lo tanto, si el nitrógeno quinuclidínico se encuentra protonado la coordinación ocurre por el nitrógeno quinolínico, y si el compuesto de partida se encuentra desprotonado la coordinación ocurre por el nitrógeno quinuclidínico.

La capacidad de estos agentes para interactuar con el hierro in vivo pareció ser determinante, a pesar de que los mecanismos de acción antipalúdicos de fármacos tipo quinina aún no se conocen completamente.

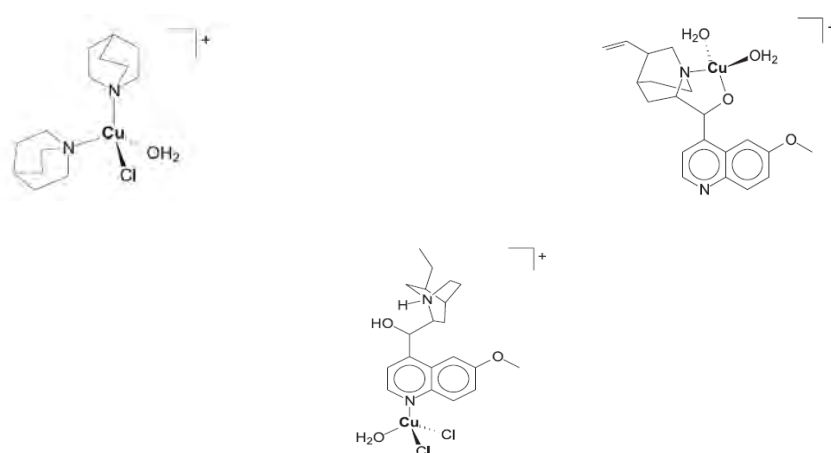


Figura 15. Ejemplos de los complejos coordinados por Nitrógeno Quinuclidínico y Nitrógeno Quinolínico.

En el año 2010, Filimon *et al* ^[33] sintetizaron dos tipos de ligandos quirales bidentados ópticamente activos, un derivado de la quinina y el iminazolidin-2-imina, para coordinarlos a complejos de rutenio que se utilizaron como catalizadores (Fig.16), estos ligandos fueron capaces de formar complejos quelatos estables.

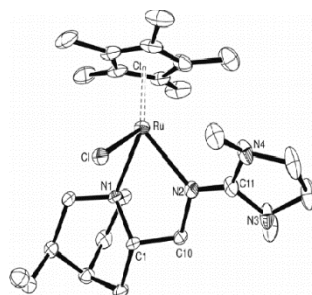


Figura 16. Diagrama del complejo de Rutenio.

Los metales del grupo (6) Cr, Mo, y W, son metales de transición biológicamente activos y considerados elementos esenciales para el organismo. En el año 2012, Saadia *et al* ^[34] empleó complejos carbonilos de Cr, Mo y W con un ligando derivado de la piridina 2-[2-(metilaminoetil)]piridina (maepy) que posee importancia biológica y farmacéutica obteniendo así tres complejos tipo $[Cr_2(CO)_4(2 - [2 - (metilaminoetil)]piridina)]$; $[Mo(CO)_4(2 - [2 - (metilaminoetil)]piridina)]$; $[W(CO)_4(2 - [2 - (metilaminoetil)]piridina)]$.

Estos investigadores reportan que el complejo $[Mo(CO)_4(maepy)]$ mostró una actividad considerable contra los hongos de *Candida Albicans*, aunque los de Cr y W no exhibieron ninguna actividad contra los hongos. Sin embargo, el ligando (maepy) fue más activo contra los hongos *C. Albican* y *A. Flavus* en comparación con los complejos.

Por otra parte, en el 2012 Ahmed *et al* ^[35] reportaron la síntesis de tres complejos con los metales del grupo 6, coordinándolo con el ligando 2,6-diaminopiridina (dap) obteniendo así los complejos $[Cr_2(O)_4(dap)_2]$, $[Mo_2(O)_4(dap)_2]$ y $[W_2(O)_4(dap)_2]$. El ligando y sus complejos se probaron *in vitro* contra bacterias, dando como resultado una actividad considerable contra diferentes tipos de bacterias y hongos. En este caso, los complejos mostraron mejores resultados que el ligando libre.

En el año 2013, Thakur *et al* ^[36] sintetizaron un complejo de Fe(III) con cloroquina probando así su actividad antimicrobiana y antimalárica. El estudio antimicrobiano se realizó en cinco cepas bacterianas como las de *Aspergillus Niger*, *Escherichia Coli*, *Salmonella typhi*, *Vibrio Colarae* y la Neumonía *Diplococcs*, y reportaron que los complejos muestran una mayor actividad antibacteriana en que el ligando sin acomplejar. El estudio antimalárico se realizó in vivo con ratones por 60 días continuos, encontrando así un 94% de reducción de parasitemia para los complejos sintetizados y un 68% para la cloroquina sola.

Posteriormente, en el año 2015 Mahmoud *et al* ^[37] sintetizaron complejos con una serie de metales de transición Cr (III), Fe (III), Mn (II), Co (II), Ni (II), Cu (II), Zn (II) y Cd (II) con un ligando de guaifenesina tridentado mono negativo (GFS) (sitios de donación de OOO) y 1,10-fenantrolina (Phen). Los complejos metálicos mostraron una actividad antibacteriana y antifúngica mayor en comparación con el ligando GFS. Los complejos también se ensayaron in vitro para determinar su actividad anticancerígena contra la línea celular de mama (MFC7), mostrando una actividad anticancerígena considerable.

En el año 2015, Jones *et al* ^[38] estudiaron compuestos que pudieran tener actividad antimalárica basados en los derivados de las moléculas híbridas de la quinina y la quinolina, se conoció que las moléculas híbridas que tienen más de un modo de acción pueden resultar particularmente importantes realizando contribuciones farmacológicas para la cura de la malaria.

ANTECEDENTES EN EL LABORATORIO DE ORGANOMETÁLICOS

En el Laboratorio de Organometálicos de la Universidad de los Andes se ha desarrollado una línea de investigación utilizando productos naturales como ligandos con el fin de evaluar su actividad biológica en la síntesis de nuevos complejos con diferentes metales de transición.

En el año 2008, Peixoto *et al* ^[39] estudiaron la hidroformilación de los ésteres metílicos de los dos ácidos y el trimetilsilil éter de kaurenol con el fin de ampliar el número de derivados de estos dos productos naturales (Ácido Kaurénico y Grandiolefénicos) siendo estos diterpenos.

Posterior, en el año 2017 Quintero *et al* ^[40] sintetizaron y caracterizaron ocho complejos carboxilatos de organoestaños (IV) empleando como ligando ácido *ent*-kaurénico (**AK**) y ácido grandiflorénico (**AG**). El estudio biológico se realizó contra bacterias (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) y levaduras (*Trametes-versicolor*) obteniendo una actividad significativa en los ocho complejos, algunos de ellos con mayor porcentaje de efectividad que otros.

En el año 2019, Luis Gonzales reportó la síntesis de 6 complejos de organoestaños con quinina, los cuales mostraron ser muy activos como antifúngicos en pruebas preliminares ^[41].

2.2 HIPÓTESIS

En la literatura se ha reportado gran cantidad de métodos de síntesis de complejos organometálicos muy versátiles y con diferentes aplicaciones, empleando varias técnicas de caracterización. En otro aspecto, también está en auge el uso de productos naturales como ligandos para la síntesis de nuevos complejos carbonilos de metales de transición que han mostrado excelentes resultados tanto en actividad biológica como farmacológica. Dado que los compuestos organometálicos de Cr, Mo y W son capaces de formar complejos con productos naturales, se propone sintetizar nuevos compuestos empleando el producto natural quinina como ligando, que puedan presentar nuevas configuraciones estructurales y/o de enlace que estén ligadas a alguna actividad farmacológica o exhiban algún tipo de actividad biológica.

2.3 OBJETIVOS

2.3.1 Objetivo General

- ✓ Sintetizar, caracterizar y realizar pruebas biológicas preliminares de tres nuevos complejos a partir de los complejos hexacarbonilos de Cr, Mo y W utilizando quinina como ligando.

2.3.2 Objetivos específicos

- ✓ Sintetizar tres nuevos complejos organometálicos utilizando como ligando quinina, partiendo de complejos hexacarbonilos de Cr, Mo, y W.
- ✓ Caracterizar los complejos por punto de fusión y las técnicas espectroscópicas de FT-IR, UV-Vis.
- ✓ Realizar pruebas biológicas preliminares de actividad antifúngica de los nuevos complejos de Cr, Mo y W sintetizados con quinina.

CAPÍTULO 3

3.1 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.1.1 Materiales y reactivos

Para la síntesis de los nuevos productos, se utilizaron los complejos de partida hexacarbonilos de Cr, Mo y W de marca *Ventron Alfa Products*, *Ventron Alfa División* sin purificación previa, diclorometano marca *Fisher Scientific* de grado analítico con una pureza del 99,9 %, etanol marca *Científica Andina* con una pureza del 98%, como ligando quinina en su forma libre de marca *Riedel-de Haën* con una pureza del 99,9%, láminas de silica de gel con fluoresceína para cromatografía de capa fina de marca *Schleicher & Schuell*, lámpara UV de marca *CAMAG*. El laboratorio cuenta con campanas extractoras, balanzas analíticas, lámpara UV, gases inertes y todo el material de vidrio necesario para la síntesis.

En la siguiente tabla se resumen las características de cada reactivo empleado en la síntesis.

Tabla 2. Reactivos utilizados en la síntesis de los complejos.

Reactivo	Formula	Marca	Grado	% Pureza
Quinina	$C_{20}H_{24}N_2O_2$	Riedel-de Haën	Analítico	99,99%
Hexacarbonil de Cromo	$Cr(CO)_6$	Ventron Alfa Products	Reactivo	
Hexacarbonil de Molibdeno	$Mo(CO)_6$	Ventron Alfa División	Reactivo	
Hexacarbonil de Tungsteno	$W(CO)_6$	Ventron Alfa División	Reactivo	
Etanol	C_2H_5OH	Científica Andina	Reactivo	98%
Diclorometano	CH_2Cl_2	Fisher Scientific	Analítico	99,9%

3.1.2 Método de síntesis

3.1.2.1 Optimización de parámetros.

Se realizan pruebas de solubilidad a cada uno de los compuestos de partida: quinina, $Cr(CO)_6$, $Mo(CO)_6$ y $W(CO)_6$, y así encontrar el solvente adecuado para la síntesis. Los solventes ensayados son: ciclohexano, acetonitrilo, etanol, metanol, THF y diclorometano. Todos los reactivos son insolubles en ciclohexano, parcialmente solubles en acetonitrilo, etanol, metanol y THF tornándose la solución turbia, y solubles en diclorometano, por lo tanto, este es el solvente seleccionado para la síntesis de los nuevos complejos.

Estos complejos se sintetizaron de dos maneras. Primero se realiza la reacción a través de la técnica de síntesis fotoquímica utilizando una lámpara de mercurio. Esta se lleva a cabo a temperatura ambiente por aproximadamente 3 horas, obteniendo resultados desfavorables, ya que se produce la descomposición del compuesto de partida, por lo tanto, no se continúa con este método de síntesis.

El otro sistema de reacción se monta tal como se muestra en la figura 17, a temperatura ambiente, utilizando gas inerte con agitación constante. La síntesis se realiza utilizando una relación 1:1 de los compuestos de partida hexacarbonilos de cada metal Cr, Mo, y W, con el ligando quinina. A la reacción se hace un seguimiento por cromatografía de capa fina, para asegurar el avance de la misma, monitoreando la desaparición de los compuestos de partida, para verificar que exista un solo producto de reacción, así como también, que no haya presencia de impurezas o productos secundarios. Luego de 24 h se observa a través de las placas de capa fina, la presencia de quinina en la reacción, de tal manera que la reacción se mantuvo por aproximadamente 48 h. A continuación, se muestra el sistema utilizado para la síntesis de los tres complejos.

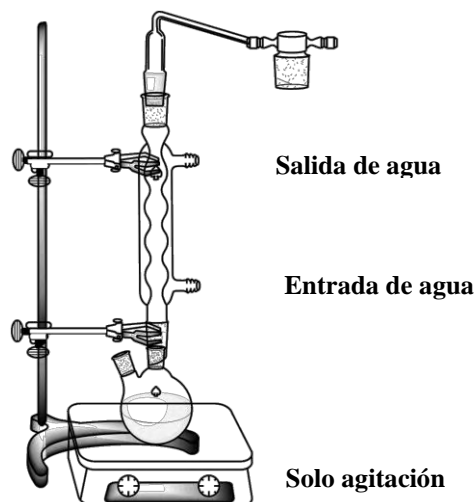


Figura 17. Sistema de reacción para la síntesis de los tres nuevos complejos metálicos.

Para el método de síntesis mencionado anteriormente, se añade a cada balón de reacción 0,6mmol del compuesto de partida (Hexacarbonilos de Cr, Mo y W) y 0,6mmol del ligando quinina, posteriormente se agrega 15mL de diclorometano, el agitador magnético y se hace pasar a través del sistema una corriente de argón para mantener una atmósfera inerte, la plancha se utiliza únicamente para mantener la agitación constante de la reacción y se coloca un burbujeador para evitar la pérdida de la atmósfera inerte y evitar la entrada de aire.

3.1.2.2 Cromatografía de capa fina

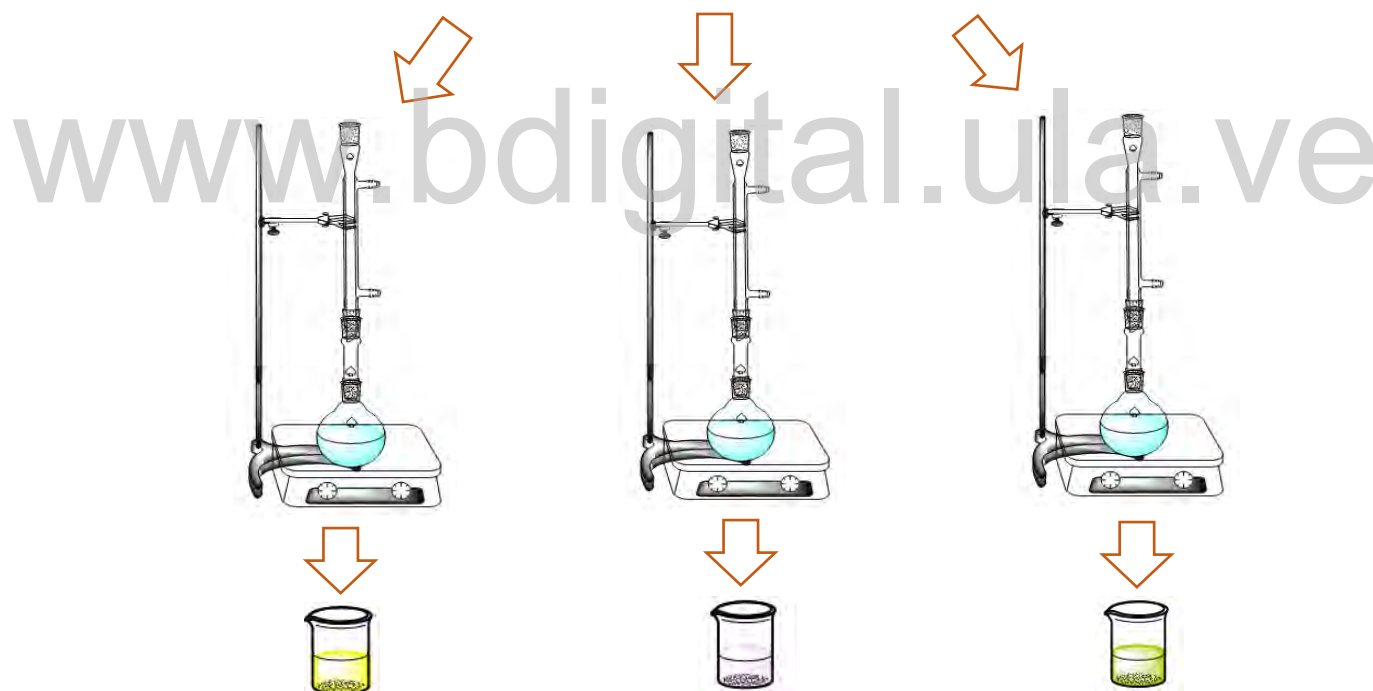
Para realizar la cromatografía de capa fina para el seguimiento de la reacción, se selecciona el o la mezcla de solventes ensayando previamente la solubilidad de los reactivos, utilizando disolventes polares y no polares como: ciclohexano, diclorometano, etanol, metanol, incluso utilizando mezclas de los mismos. Finalmente, el mejor eluyente es la mezcla 1:1 etanol: diclorometano.

Para monitorear el curso de la reacción, se cortan placas para capa fina de silica gel con fluoresceína sobre aluminio, de 4x3 cm. Soluciones de los reactivos (Hexacarbonilos de Cr, Mo y/o W; producto obtenido; Ligando: quinina) correspondientes, son preparadas en placas de toque con diclorometano, estas soluciones se aplican con capilares en las placas para TLC, a medio centímetro del borde inferior, y luego se eluyen en un recipiente con la mezcla EtOH:DCM 1:1.

En la figura 18 se muestra un resumen de la preparación para la síntesis de cada una de las reacciones.



Sistema de reacción de cada uno de los complejos con un tiempo aproximado de 48h a temperatura ambiente con agitación constante.



Los productos fueron obtenidos mediante la evaporación del solvente.

Figura 18. Esquema de trabajo para la síntesis de los nuevos complejos.

3.1.2.3 Actividad Antifúngica

La actividad antifúngica de los complejos sintetizados se determina implementando la técnica de Microdilución en caldo, midiendo un volumen específico en μL de cada uno de los diferentes tipos de cepas. En este caso, tenemos: una cepa ATCC 750 *C. tropicalis* y 4 aislados clínicos (muestra real) de *C. auris* (levaduras); estas cepas se preparan en una especie de solución y forman una suspensión de colonias de cepas que se expresan en un determinado volumen, en este caso se utiliza un medio de nutrición optimizado para mantenerlas. Las concentraciones de las mismas están expresadas en la tabla 3, cada una se inocula por separado en distintas placas, es decir, una placa para cada cepa; para ello, las placas fueron previamente sensibilizadas, esto significa que son impregnadas por hisopado con soluciones de los nuevos complejos 1, 2 y 3, cuyas concentraciones corresponden a $25 \mu\text{g/mL}$ utilizando DMSO como solvente. Las lecturas para determinar la concentración mínima inhibitoria (CIM) se realizaron por triplicado a 24h, 48h y 5 días en una incubadora a 37°C de temperatura.

Tabla 3. Tipos de Cepas y Especies

Tipo de Cepa	Código de Cepa	Especie	Suspensión 10^4	Volumen μL
Aislado clínico	Ca9	<i>C. auris</i>	90	14
Aislado clínico	Ca13	<i>C. auris</i>	233	5,4
ATCC	750	<i>C. tropicalis</i>	151	8,3
Aislado clínico	Ca4	<i>C. auris</i>	214	5,8
Aislado clínico	Ca1	<i>C. auris</i>	61	20,5

3.2 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

3.2.1 Fusiómetro

Por medio de este instrumento se mide el punto de fusión de los compuestos. Si se conoce el punto de fusión de los reactivos, al determinar el punto de fusión de los nuevos productos, por comparación se verifica que se han obtenido nuevos compuestos. El punto de fusión de los complejos serán medidos en un Fusiómetro de marca Electrothermal 9100 de la Facultad de Ciencias (Fig. 19).



Figura 19. Fusiómetro de marca Electrothermal 9100 perteneciente al Laboratorio de Docencia de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes.

3.2.2 Espectroscopia vibracional infrarroja (FT-IR)

La luz visible, luz infrarroja, luz ultravioleta, microondas y ondas de radio son ejemplos de radiaciones electromagnéticas (Fig.20), todas viajan a la velocidad de la luz, pero difieren en la frecuencia y en la longitud de onda.

La región infrarroja del espectro corresponde a frecuencias que se encuentran justo por debajo del visible y por encima de las microondas más altas. Los fotones de luz infrarroja no tienen suficiente energía para producir transiciones electrónicas, pero pueden hacer que grupos de átomos vibren respecto a los enlaces que los conectan. Al igual que en las transiciones electrónicas, estas transiciones vibracionales corresponden a distintas energías y las moléculas absorben radiación infrarroja solo a ciertas longitudes de onda y frecuencias.

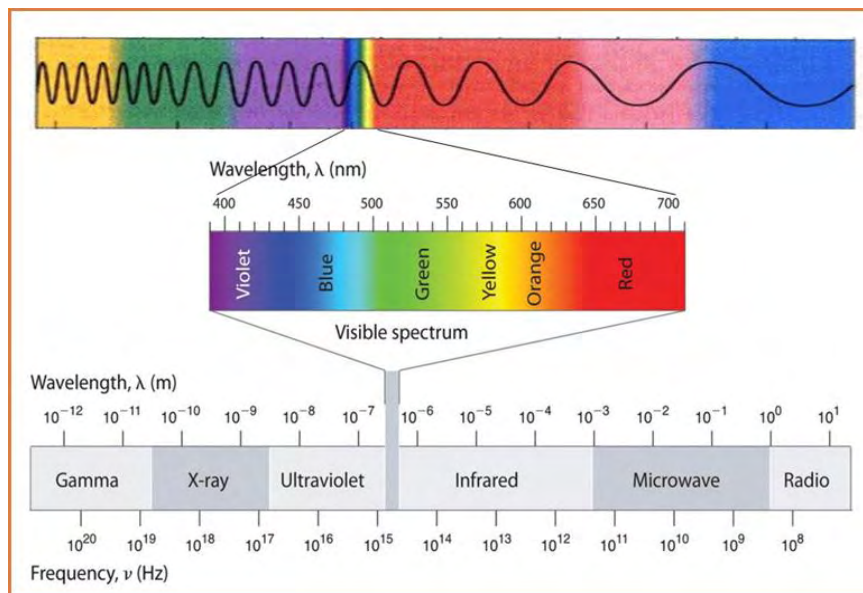


Figura 20. Radiaciones Electromagnéticas

La frecuencia de la vibración depende de las masas de los átomos y de la rigidez del enlace, los átomos más pesados vibran más lentamente que los más ligeros, por ejemplo, un enlace entre el $C - D$, tiene una frecuencia característica más baja que un enlace $C - H$. La frecuencia disminuye al aumentar la masa atómica.

Los enlaces más fuertes generalmente son más rígidos, requiriendo más fuerza para alargarlos o comprimirlos. Como consecuencia, los enlaces más fuertes vibran más de prisa y a frecuencias más altas que los enlaces débiles, suponiendo que los átomos tengan la misma masa [42].

Esta técnica permite analizar todas las absorciones en longitudes de onda del espectro infrarrojo para identificar los grupos funcionales, la cual le permite ser un método rápido y confiable en el momento de establecer la probable estructura de un compuesto. Esta ventaja permite el análisis de compuestos orgánicos, inorgánicos, tejidos y células.

El espectro infrarrojo es como si fuera la “huella dactilar” de una molécula, de hecho en la región de $(600 \text{ a } 1400) \text{ cm}^{-1}$ se le conoce como huella dactilar del espectro. La sección de mayor utilidad es la que se encuentra entre $(4000\text{-}650)\text{cm}^{-1}$ denominada región infrarroja media, la región lejana

es utilizada para los compuestos organometálicos e inorgánicos comprendida entre $(650-200)cm^{-1}$ [43].

Esta técnica se utiliza para determinar las bandas características de absorción de los grupos funcionales que poseen los complejos sintetizados, determinando así la posible coordinación del metal con el ligando y su posible estructura. Los complejos serán analizados en un Espectrofotómetro de Infrarrojo con transformada de Fourier (Fig.21).



Figura 21. Espectrofotómetro de Infrarrojo con transformada de Fourier, Marca Perkin Elmer, Modelo Frontier, perteneciente al Laboratorio de Cinética y Catálisis de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Los Andes.

3.3.3 Espectroscopia de Absorción Molecular (UV-Visible).

Dentro del rango general de radiación electromagnética que es de interés para el químico, UV y Espectroscopia de absorción visible ocupa sólo una frecuencia muy estrecha. Sin embargo, este rango es de suma importancia, ya que las diferencias de energía corresponden a los estados electrónicos de los átomos y las moléculas [44].

Para que una sustancia sea activa en el visible debe ser colorida: el que una sustancia tenga color, es debido a que absorbe ciertas frecuencias o longitudes de onda del espectro visible y transmite otras más.

La absorción de energía radiante en el Ultravioleta o Visible por los electrones n , σ ó π resulta en la excitación de éstos, los cuales pasan a ocupar alguno de los orbitales antienlazantes. La absorción de radiación Ultravioleta o Visible es capaz de efectuar dichas transiciones (Fig.22).

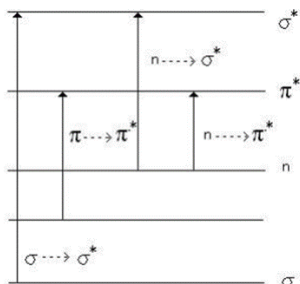


Figura 22. Diagrama de niveles energéticos para diferentes orbitales moleculares y las transiciones posibles en éstos.

El rango visible se encuentra entre los 400 y 750 nm. El rango del Ultravioleta cercano es de 180 a 400 nm (Fig. 23).

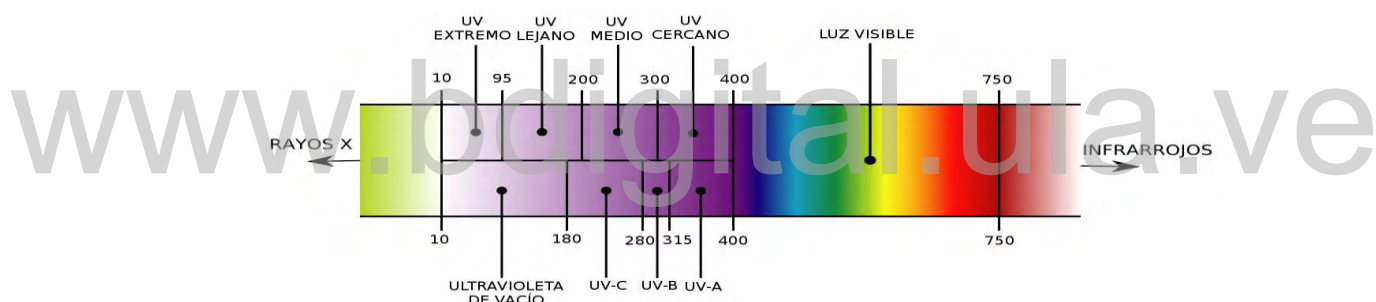


Figura 23. Rango del Espectro Visible.

Las medidas se realizan en un Espectrofotómetro marca Shimadzu modelo UV mini 1240 perteneciente al Laboratorio de Química Inorgánica de la Facultad de Ciencias de la ULA (Fig.24).



Figura 24. Espectrofotómetro marca Shimadzu Modelo UV mini 1240. Perteneciente a la

Facultad de Ciencias de la Universidad de Los Andes

3.3.4 Actividad Antifúngica

El *Candida auris* es un tipo de levadura (hongo) (Fig. 25). Se identificó por primera vez en Japón como un patógeno humano en el 2009. Es una levadura multirresistente que puede causar infecciones invasivas con una gran mortalidad. Estos aislamientos de *Candida auris* han tenido resistencia a muchos de los agentes antifúngicos de uso clínico para tratar estas infecciones como lo son el fluconazol, los azoles, incluyendo a las equinocandinas (en algunos casos), entre otros. En la actualidad, existe una falta de respuesta al tratamiento antimicótico para las infecciones por invasión de *Candidas*, sin embargo, durante los últimos años se ha venido realizando la búsqueda de nuevas moléculas con miras al desarrollo de nuevos fármacos que combatan este tipo de infección por *C. auris*. [45].

Estas especies son las responsables de infecciones severas principalmente en pacientes inmunocomprometidos. La mayoría de los contagios por esta levadura se da a través del contacto directo con una persona portadora o con material infectado. El *C. auris* desde que apareció hace una década, ha tenido una alta propagación y difícil control [46].



Figura 25. *Candida auris*.

En la parte experimental se utiliza la técnica de Microdilución en Caldo (Fig. 26), siguiendo el protocolo del Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI M-27-A3, la cual nos permite determinar la susceptibilidad *in-vitro* de diferentes especies micóticas con los nuevos complejos sintetizados, midiendo la concentración mínima inhibitoria (CIM) de los mismos, además de proporcionarnos condiciones de trabajo confiables y reales. [47].



Figura 26. Microdilución en Caldo M-27-A3

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO 4.

4.1 Análisis y Discusión de Resultados

Se sintetizan tres nuevos complejos organometálicos partiendo de los complejos hexacarbonilos de Cr, Mo y W con quinina como ligando, utilizando diclorometano como solvente, obteniéndose tres diferentes sólidos respectivamente. Luego de la síntesis, las soluciones obtenidas se transvasaron a vasos de precipitado utilizando papel parafilm perforado, con el fin de lograr mediante evaporación lenta del diclorometano la obtención de cristales de los nuevos productos sintetizados, los cuales se formaron al cabo de 48h aproximadamente^[48].

Durante el seguimiento de la reacción por placas para cromatografía de capa fina de silica gel con fluoresceína (fig. 27), en una mezcla de solventes 1:1 etanol:diclorometano, verificamos la desaparición progresiva de los reactivos $Cr(CO)_6$, $Mo(CO)_6$, $W(CO)_6$ y quinina, mediante una lámpara UV, así como también se evidencia la formación de los nuevos complejos organometálicos, en este caso solo se observa para el producto una sola mancha que nos indica la formación de un único producto bastante puro.

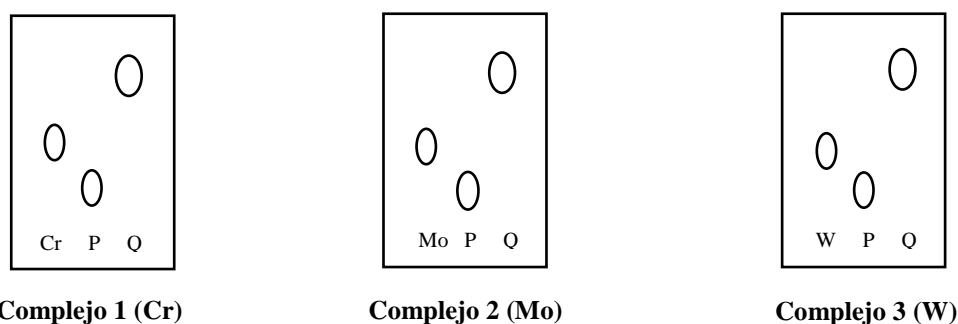


Figura 27 Cromatografía de capa fina de los nuevos complejos sintetizados.

Cr: Hexacarbonil de Cromo **Mo:** Hexacarbonil de Molibdeno **W:** Hexacarbonil de Tungsteno

P: Complejo 1 (Cr); Complejo 2 (Mo); Complejo 3 (W).

Q: Quinina

A continuación, se muestran las imágenes de los nuevos complejos obtenidos. Complejo con Cr (Fig. 28), complejo con Mo (Fig. 29) y complejo con W (Fig. 30).



Figura 28. Complejo 1 (Cr)



Figura 29. Complejo 2 (Mo)

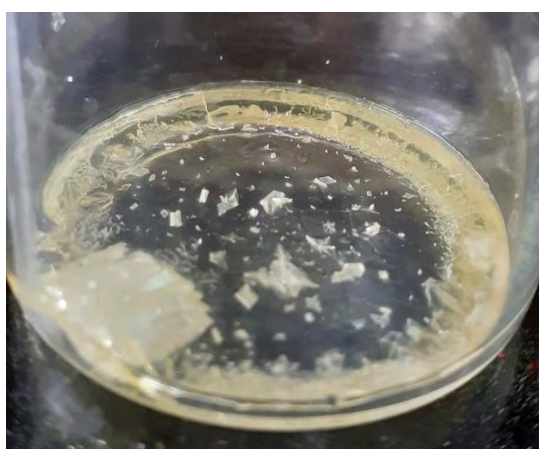


Figura 30. Complejo 3 (W)

4.1.1 Determinación del Punto de Fusión

Luego de obtener los sólidos de los nuevos complejos sintetizados, se procede a caracterizarlos mediante diferentes técnicas, una de ellas es la determinación del punto de fusión para cada uno de ellos.

Para una mejor comparación y discusión de los mismos, en la tabla 4 se muestran los puntos de fusión obtenidos de los nuevos complejos y de los reactivos de partida utilizados en dicha síntesis.

Tabla 4. Puntos de Fusión de los reactivos de partida y complejos obtenidos.

Reactivo	Punto de Fusión (°C)	Complejos obtenidos	Punto de Fusión (°C)
Quinina	177		
$Cr(CO)_6$	90	Complejo 1 (Cr)	(123,5-128,4)
$Mo(CO)_6$	150	Complejo 2 (Mo)	(126,5-129,9)
$W(CO)_6$	170	Complejo 3 (W)	(150,5-154,2)

El punto de fusión generalmente se utiliza como criterio de pureza de un compuesto, así como también como criterio de referencia para verificar que no sea producto de partida sino un nuevo complejo. De acuerdo con los resultados obtenidos, se observa el cambio en los puntos de fusión tomados para cada una de las muestras. Los valores muestran un intervalo de variación entre (4 a 5) °C lograndose así obtener compuestos puros. A su vez, la diferencia que existe entre los valores de los compuestos de partida y los nuevos complejos sintetizados es bastante notable, así como también su estado físico con respecto a los compuestos de partida, de esta manera podemos decir que se obtuvo un nuevo producto para cada una de las muestras sintetizadas.

4.1.2 Rendimiento experimental

En la tabla 5, se reporta el peso expresado en gramos de cada compuesto de partida y el peso en gramos obtenidos de los complejos sintetizados. Asimismo, se expresan los porcentajes de rendimiento para cada uno de los complejos.

Tabla 5. Porcentajes de rendimiento de los complejos obtenidos

Productos obtenidos	teóricos(g)	experimentales (g)	% de rendimiento
Complejo 1 (Cr)	0,3086	0,2601	84,28%
Complejo 2 (Mo)	0,32390	0,2174	67,19%
Complejo 3 (W)	0,37680	0,3219	85,42%

Apreciación de la balanza analítica 0,0001g

www.bdigital.ula.ve

4.1.2 Espectroscopia de Infrarrojo (FT-IR)

En la figura 31 y en las tablas 6, 7 y 8 se muestran los espectros infrarrojos y las bandas correspondientes de la quinina, $Cr(CO)_6$ y del complejo 1 (Cr) respectivamente.

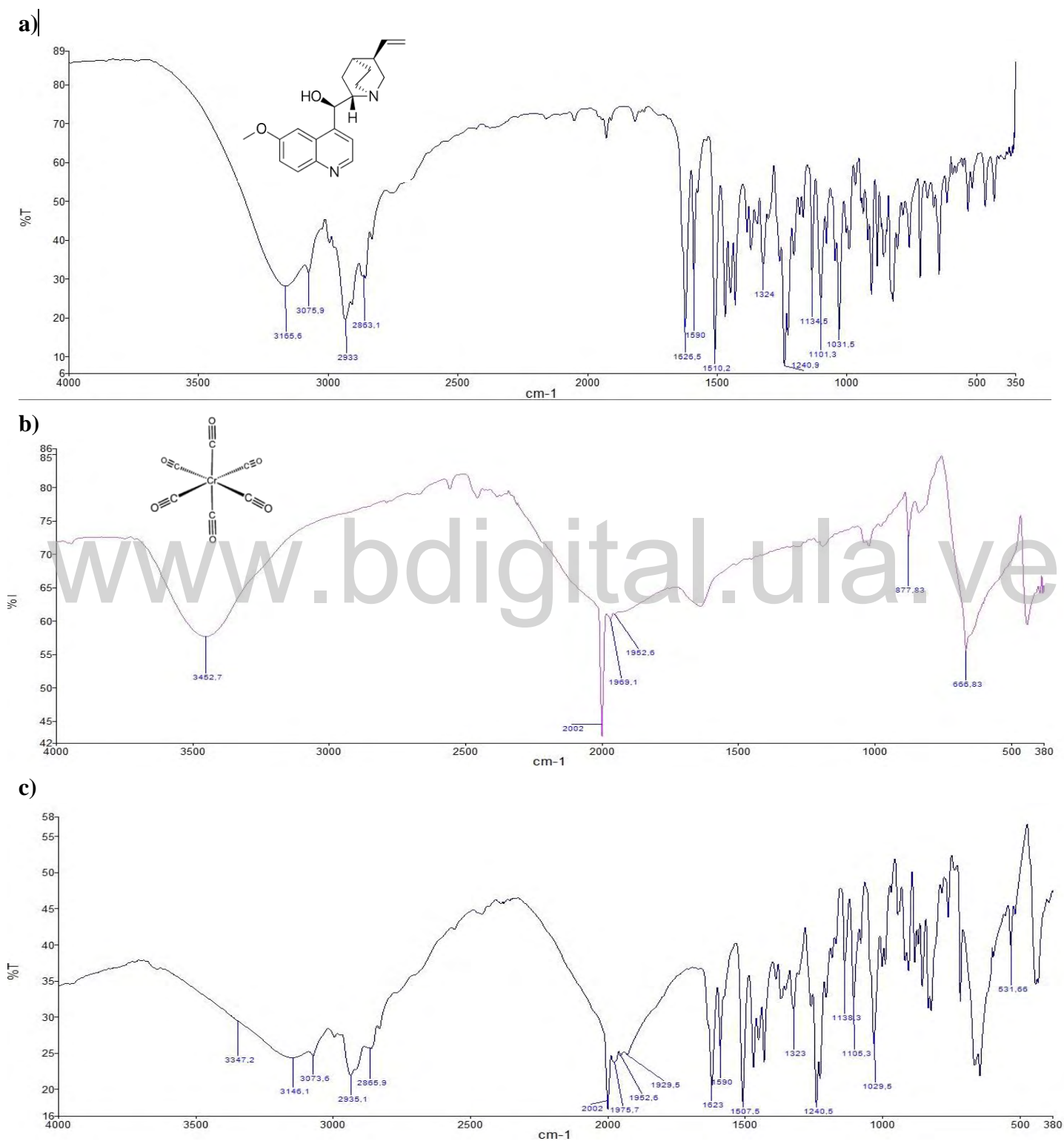


Figura 31. Espectros Infrarrojos a) Quinina b) $Cr(CO)_6$ c) Complejo 1 (Cr)

Tabla 6. Bandas asignadas para los espectros IR de la Quinina

Asignación	Frecuencia ν (cm^{-1})	Tipo de Vibración
1	3165	Tensión O-H
2	3075	Tensión C-H de Aromáticos
3	2933	Tensión C-H de alifáticos
4	2863	Tensión C-H de alifáticos
5	1626	Tensión C=C de Aromáticos
6	1590	Tensión C=N
7	1510	Tensión C=C de Aromáticos
8	1324	Flexión O-H en el plano de alcoholes secundarios
9	1241	Tensión C-O de Éteres para Aromáticos
10	1135	Tensión C-O de Éteres
11	1101	Tensión C-O de alcoholes secundarios
12	1032	Tensión C-N de Aminas

Tabla 7. Bandas asignadas para el espectro IR del compuesto de partida $\text{Cr}(\text{CO})_6$

Asignación	Frecuencia ν (cm^{-1})	Tipo de Vibración
1	3452	Tensión O-H
2	2002	Tensión C=O para carbonilos
3	1969	Tensión C=O para carbonilos
4	1953	Tensión C=O para carbonilos
5	878	Deformación O-H fuera del plano
6	667	Tensión Cr-C

Tabla 8. Bandas asignadas para el espectro IR del complejo 1 (Cr).

Asignación	Frecuencia ν (cm^{-1})	Tipo de Vibración
1	3347	Tensión O-H
2	3146	Tensión O-H
3	3073	Tensión C-H de Aromáticos
4	2935	Tensión C-H de alifáticos
5	2866	Tensión C-H de alifáticos
6	2002	Tensión C=O para carbonilos
7	1976	Tensión C=O para carbonilos
8	1953	Tensión C=O para carbonilos
9	1929	Tensión C=O para carbonilos
10	1623	Tensión C=C de Aromáticos
11	1590	Tensión C=N
12	1507	Tensión C=C de Aromáticos
13	1323	Flexión O-H en el plano de alcoholes secundarios
14	1241	Tensión C-O de Éteres para Aromáticos
15	1138	Tensión C-O de Éteres
16	1105	Tensión C-O de alcoholes secundarios
17	1029	Tensión C-N de Aminas
18	646	Tensión Cr-C de carbonilos
19	531	Tensión Cr-N

El espectro IR del ligando mostró un banda ancha a $3165cm^{-1}$ correspondiente al grupo O-H, con un hombro a $3075cm^{-1}$ perteneciente a la tensión C-H de los aromáticos. También, se asignaron dos bandas de estiramientos alifáticos C-H en $2933cm^{-1}$ y $2863cm^{-1}$ de los grupos metilenos presentes en el anillo quinuclidínico. Una tensión de C=C se muestra en $1626cm^{-1}$ perteneciente a los dobles enlaces de carbono del anillo aromático. En $1590cm^{-1}$ se observa una banda correspondiente al C=N del anillo quinolínico. A $1324cm^{-1}$ una banda de flexión O-H en el plano de alcoholes

secundarios correspondientes al grupo OH de la estructura, a 1241cm^{-1} y 1135cm^{-1} la banda Ar-O y C-O del grupo éter respectivamente, seguido a ello en 1101cm^{-1} se observa una banda de tensión C-O de alcoholes secundarios alquílicos correspondientes al OH que se observa en la estructura. Y por último, una banda C-N del anillo quinuclidínico a 1032cm^{-1} .

Seguidamente, para el complejo 1 (Cr), se observa el ensanchamiento en la banda correspondiente al grupo O-H a 3347cm^{-1} , la cual puede ser atribuida a la coordinación de moléculas de agua al centro metálico ^[7], asimismo, podemos suponer que esta banda existe por la presencia de agua presente en el medio de reacción, ya que los reactivos y los solventes de partida no se secaron previamente. A 3146cm^{-1} se observa la señal O-H correspondiente al alcohol secundario de la quinina, la presencia de esta banda en el espectro nos indica que no hubo coordinación del metal con el ligando por el oxígeno en ninguna forma de coordinación, ya sea monodentada o bidentada. La banda del estiramiento C-H de los aromáticos permanece sin cambios, tal como se observa en el espectro de la quinina.

Por otra parte, en el espectro se observan cuatro (4) bandas asignadas al grupo C=O, que aparecen con un número de onda de 2002cm^{-1} , 1976cm^{-1} , 1953cm^{-1} , y 1929cm^{-1} respectivamente, cada una de estas bandas indican la presencia de 4 moléculas de carbonilos coordinadas al centro metálico. Se observa la presencia de la banda de flexión O-H en el plano de alcoholes secundarios correspondientes a la quinina en 1323cm^{-1} , la presencia de esta confirma que la quinina no se coordina a través del oxígeno. También se observa en el complejo que la tensión C-N del enlace correspondiente al anillo quinuclidínico se desplazó a números de onda más bajos que el mostrado en el ligando, en este caso a 1029cm^{-1} , aquí, el cambio en el desplazamiento del número de onda, puede indicar la participación del nitrógeno quinuclidínico en la coordinación. La banda a 646cm^{-1} corresponde a la tensión Cr-C de los grupos carbonilos presentes en el complejo, y es la misma que se observa en el IR del producto de partida, se observa un poco desplazada a frecuencias más bajas y muestra una banda de menor intensidad, lo que nos indica que se mantienen algunos carbonilos

metálicos. Por último, se encuentra en el espectro, una de las bandas más importantes, la cual nos indica que existe efectivamente, la coordinación del metal al ligando a través del anillo quinuclidínico asociada al estiramiento Cr-N apareciendo a un número de onda de 531cm^{-1} .

En la figura 32 se muestran los espectros infrarrojos de la quinina, $\text{Mo}(\text{CO})_6$ y del complejo 2 (Mo) y en las tablas 9 y 10 las bandas características asociadas a los espectros del $\text{Mo}(\text{CO})_6$ y del complejo 2 (Mo).

www.bdigital.ula.ve

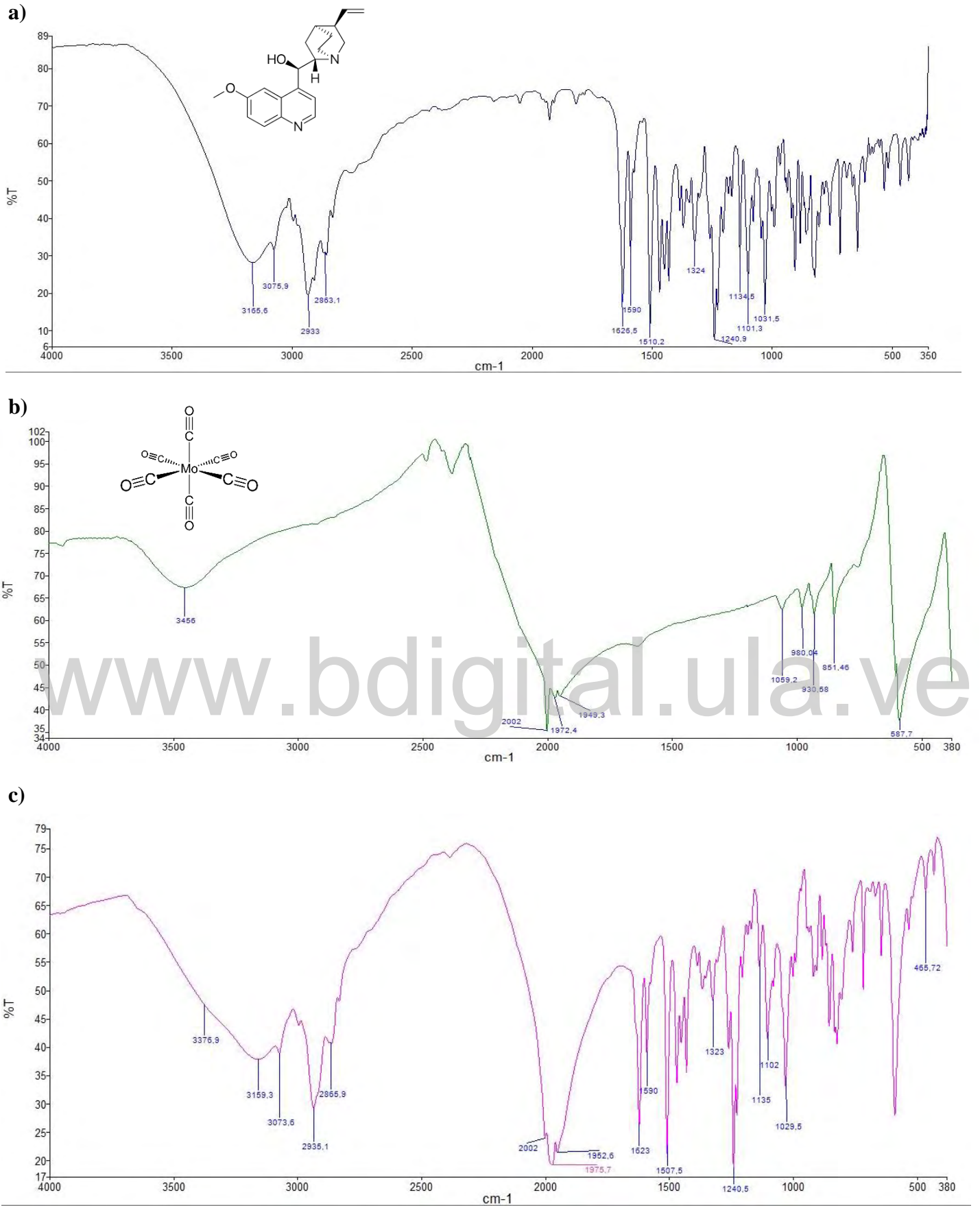


Figura 32. Espectros Infrarrojos de a) Quinina b) $Mo(CO)_6$ c) Complejo 2 (Mo)

Tabla 9. Bandas asignadas para el espectro IR del compuesto de partida $Mo(CO)_6$.

Asignación	Frecuencia ν (cm^{-1})	Tipo de Vibración
1	3456	Tensión O-H
2	2002	Tensión C=O para carbonilos
3	1972	Tensión C=O para carbonilos
4	1949	Tensión C=O para carbonilos
5	1059	Tensión C-O
6	980	Deformación O-H fuera del plano
7	931	Deformación O-H fuera del plano
8	851	Deformación O-H fuera del plano
9	588	Tensión Mo-C

Tabla 10. Bandas asignadas para el espectro IR del complejo 2 (Mo).

Asignación	Frecuencia ν (cm^{-1})	Tipo de Vibración
1	3376	Tensión O-H
2	3159	Tensión O-H
3	3073	Tensión C-H de Aromáticos
4	2935	Tensión C-H de alifáticos
5	2002	Tensión C=O para carbonilos
6	1976	Tensión C=O para carbonilos
7	1953	Tensión C=O para carbonilos
8	1623	Tensión C=C de Aromáticos
9	1590	Tensión C=N
10	1323	Flexión O-H en el plano de alcoholes secundarios
11	1241	Tensión C-O de Éteres para Aromáticos
12	1134	Tensión C-O de Éteres
13	1102	Tensión C-O de alcoholes secundarios
14	1029	Tensión C-N de Aminas

15	590	Tensión Mo-C
16	466	Tensión Mo-N

Para el complejo 2 (Mo) se observa una banda ancha de mediana intensidad correspondiente a la vibración de tensión O-H que pueden ser moléculas de agua coordinadas a la esfera del centro metálico en el complejo, y en este caso se observa en 3376cm^{-1} . Estos enlaces O-H absorben en un amplio intervalo de frecuencias en IR. De igual manera que en el complejo 1 (Cr), se observa la banda O-H a 3159cm^{-1} correspondiente al alcohol secundario de la quinina.

En este nuevo complejo, aparecen 3 bandas para la vibración de tensión C=O de los carbonilos metálicos a 2002cm^{-1} , 1976cm^{-1} y 1953cm^{-1} respectivamente, sugiriendo una posible coordinación de 3 carbonilos con el metal. Se observa la banda de flexión O-H en el plano de alcoholes secundarios de la quinina en 1323cm^{-1} , esta banda, al igual que la de tensión OH de alcoholes nos indica que no hubo coordinación del metal con el ligando por el átomo de oxígeno. La banda correspondiente a la tensión C=N permanece a la misma frecuencia que la del ligando mientras que la banda C-N se encuentra a 1029cm^{-1} desplazada a menor frecuencia, indicando así la coordinación del metal por el nitrógeno quinuclidínico. La banda Mo-C se observa en 590cm^{-1} correspondiente a los carbonilos que están enlazados al metal. Otra de las bandas importantes que nos indica la posible coordinación se encuentra en 466cm^{-1} correspondiente al enlace Mo-N.

Por último, en la figura 33 se muestran los espectros infrarrojos de la quinina, $W(CO)_6$ y del complejo 3 (W) y en las tablas 11 y 12 las bandas características asociadas a los espectros del $W(CO)_6$ y del complejo 3 (W).

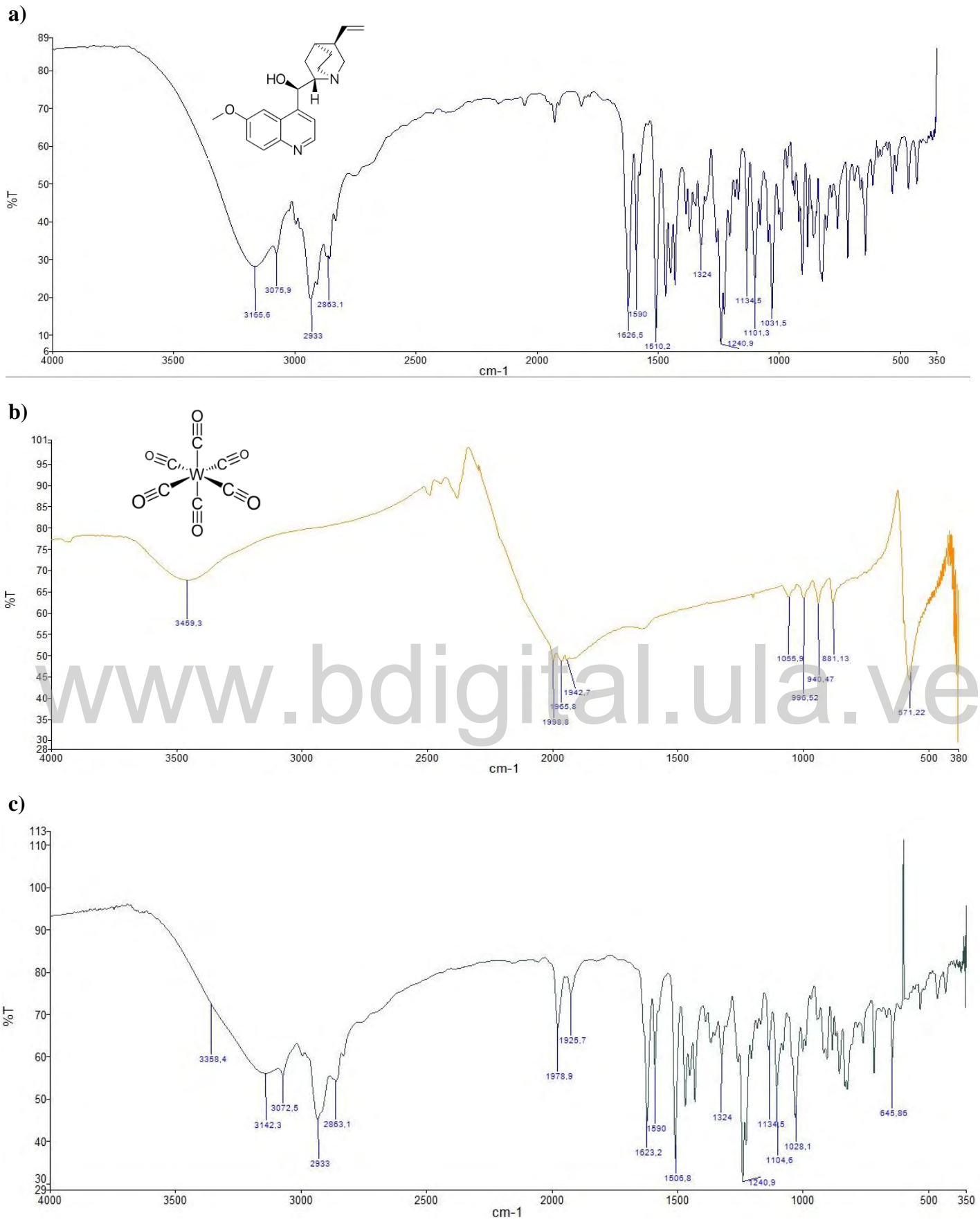


Figura 33. Espectros Infrarrojos a) Quinina b) $W(CO)_6$ c) Complejo 3 (W)

Tabla 11. Bandas asignadas para el espectro IR del compuesto de partida $W(CO)_6$.

Asignación	Frecuencia ν (cm^{-1})	Tipo de Vibración
1	3459	Tensión O-H
2	1999	Tensión C=O para carbonilos
3	1966	Tensión C=O para carbonilos
4	1943	Tensión C=O para carbonilos
5	1056	Tensión C-O
6	996	Deformación O-H fuera del plano
7	940	Deformación O-H fuera del plano
8	881	Deformación O-H fuera del plano
9	571	Tensión W-C

Tabla 12. Bandas asignadas para el espectro IR del complejo 3 (W).

Asignación	Frecuencia ν (cm^{-1})	Tipo de Vibración
1	3358	Tensión O-H
2	3142	Tensión O-H
3	3072	Tensión C-H de Aromáticos
4	2933	Tensión C-H de alifáticos
5	2863	Tensión C-H de alifáticos
6	1979	Tensión C=O para carbonilos
7	1926	Tensión C=O para carbonilos
8	1623	Tensión C=C de Aromáticos
9	1590	Tensión C=N
10	1507	Tensión C=C
11	1324	Flexión O-H en el plano del alcoholes secundarios
12	1241	Tensión C-O de Éteres para Aromáticos
13	1134	Tensión C-O de Éteres
14	1105	Tensión C-O de alcoholes secundarios

11	1028	Tensión C-N de Aminas
12	532	Tensión W-C
13	646	Tensión W-N

Finalmente, para el complejo 3 (W), también aparece una banda medianamente ancha para el O-H a 3358cm^{-1} correspondiente al agua coordinada en el complejo. Al igual que los dos complejos anteriores, se observa nuevamente la banda del grupo O-H correspondiente al alcohol secundario de la quinina a una frecuencia de 3142cm^{-1} . En este caso, hay solo dos carbonilos que quedaron coordinados con el metal, con vibraciones de tensión C=O de 1979cm^{-1} y 1926cm^{-1} respectivamente. La banda de flexión O-H en el plano de alcoholes secundarios se observa a una frecuencia de 1324cm^{-1} . La banda asignada a C-N del anillo quinuclidínico, el cual muestra un cambio en su frecuencia hacia 1028cm^{-1} , nos da un indicio de que la coordinación se pudo haber dado a través del nitrógeno quinuclidínico de modo similar a los anteriores complejos. La banda W-C correspondiente a los carbonilos enlazados a los metales se observa en 532cm^{-1} . También aparece la banda del enlace W-N en 646cm^{-1} , la cual nos confirma que en efecto se produjo la coordinación.

Comparando el espectro IR del ligando con los tres espectros de los nuevos complejos obtenidos, podemos proponer, que los tres complejos se coordinaron a través del nitrógeno del anillo quinuclidínico del ligando quinina. No se tiene certeza de cuantas moléculas de agua están coordinadas en cada una de las estructuras de los complejos, sin embargo, teniendo en cuenta la cantidad de posibles carbonilos coordinados a cada complejo, y en vista de que estos metales del grupo 6 tienden a formar complejos hexacoordinados bastante estables, podemos proponer una estructura de número de coordinación 6 alrededor de los centros metálicos respectivos. De modo que, para el complejo 1 (Cr) la posible estructura contiene cuatro (4) carbonilos coordinados al metal, más la coordinación monodentada del nitrógeno quinuclidínico y posiblemente existe al menos una molécula de agua en la esfera de coordinación del nuevo complejo. Para el complejo 2

(Mo), se observan tres (3) carbonilos coordinados al metal, así como también el enlace Mo-N tipo monodentado del nitrógeno quinuclidínico; de acuerdo a lo anteriormente expuesto, es posible que existan al menos dos moléculas de agua coordinadas, las cuales posiblemente forman un complejo hexacoordinado similar al anterior.

Para el complejo de W, solo se observan dos (2) carbonilos coordinados al metal, así como también la coordinación monodentada a través del nitrógeno quinuclidínico con el metal. En este caso, para completar la esfera de coordinación hexacoordinada, suponemos que existen al menos tres moléculas de agua de coordinación en el complejo.

De acuerdo a lo encontrado en la literatura, proponemos que la coordinación se produce de manera monodentada a través del nitrógeno quinuclidínico ya que este se encuentra con mejor disposición estéricamente, por lo tanto, se favorece la coordinación. Con respecto al nitrógeno quinolínico, este posee su par de electrones más comprometido con la nube π del anillo aromático, por lo que es menos probable la coordinación por el mismo.

No se tiene evidencia espectroscópica de que la coordinación del ligando al centro metálico se diera de manera bidentada a través del nitrógeno quinuclidínico junto con el oxígeno del alcohol secundario. Suponemos, que esta coordinación puede ser favorecida al variar las condiciones del sistema de reacción inicial, como por ejemplo, añadiendo una base que pueda desprotonar el OH y así el metal pueda coordinarse al oxígeno y al nitrógeno quinuclidínico dando la formación de un quelato de cinco miembros.

Sin embargo, la evidencia que se tiene hasta ahora, muestra que se obtuvieron nuevos complejos carbonilos coordinados a la quinina, sugiriendo que se ha producido de manera monodentada con cada uno de los metales, formándose tres nuevos complejos [28].

4.1.3 Espectroscopia de Absorción Molecular (UV-Visible).

Los complejos también se caracterizaron mediante espectroscopia de Absorción molecular (UV-Visible) preparando soluciones del ligando (quinina) y los nuevos complejos por separado en diclorometano a una concentración de $1 \times 10^{-4} M$. . En la figura 34 y la tabla 13 se muestra el espectro UV y las bandas de la quinina respectivamente, las figuras 35, 36 y 37 se observan también los espectros de los complejos 1,2 y 3 con sus respectivas bandas.

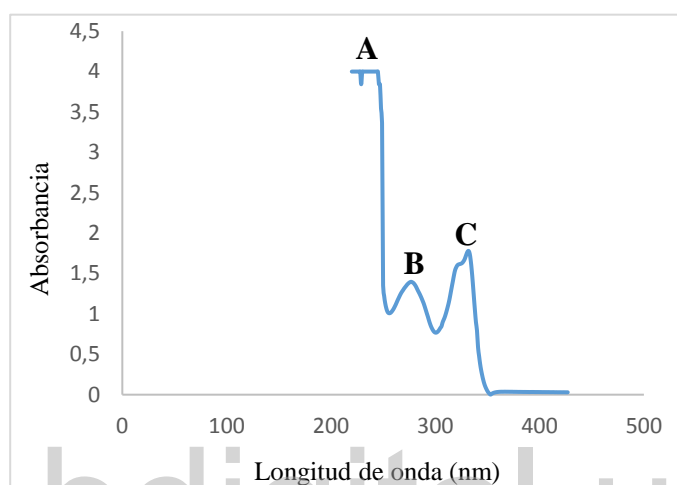


Figura 34. Espectro UV-Visible del ligando (Quinina).

Tabla 13. Bandas características para el ligando (quinina)

Banda	λ (nm)	Abs
A	229	3,8427
B	266	1,2257
C	333	1,7462

En la figura 34 se muestra el espectro UV-Visible de la quinina, el cual presenta absorciones en el UV gracias al sistema conjugado que posee en su estructura. En esta se observan tres tipos de bandas intraligando (IL) intensas, la bandas de 229 y 333 nm son asignadas a la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ de

los sistemas conjugados de la quinina. Posterior a ello, la banda asignada a 266nm corresponde a la transición $n \rightarrow \pi^*$ del grupo éter en el ligando.

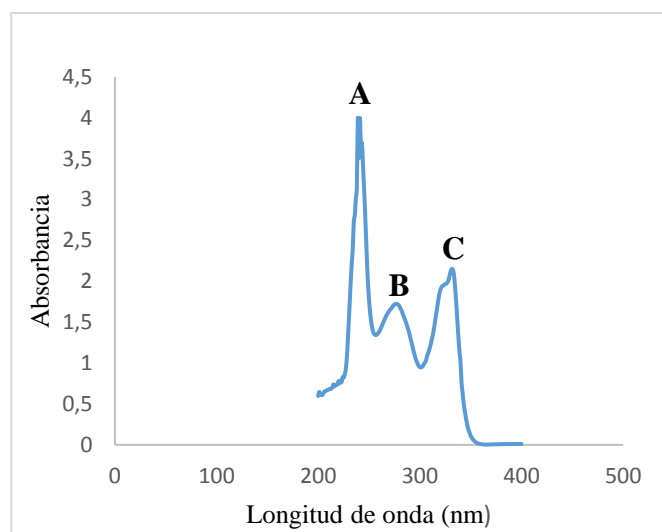


Figura 35. Espectro UV-Visible del complejo 1 (Cr).

Tabla 14. Bandas características del complejo 1 (Cr).

Banda	λ (nm)	Abs
A	241	3,9999
B	284	1,6440
C	335	1,8747

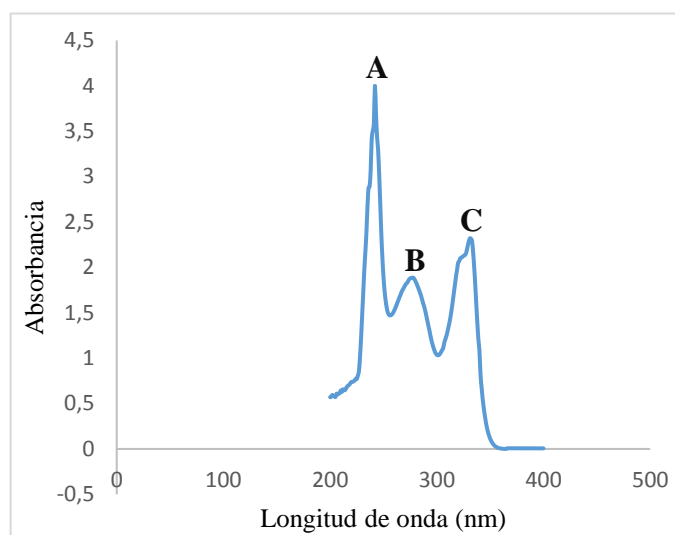


Figura 36. Espectro UV-Visible del complejo 2 (Mo).

Tabla 15. Bandas características del complejo 2 (Mo).

Banda	λ (nm)	Abs
A	242	3,9999
B	285	1,6960
C	334	2,1724

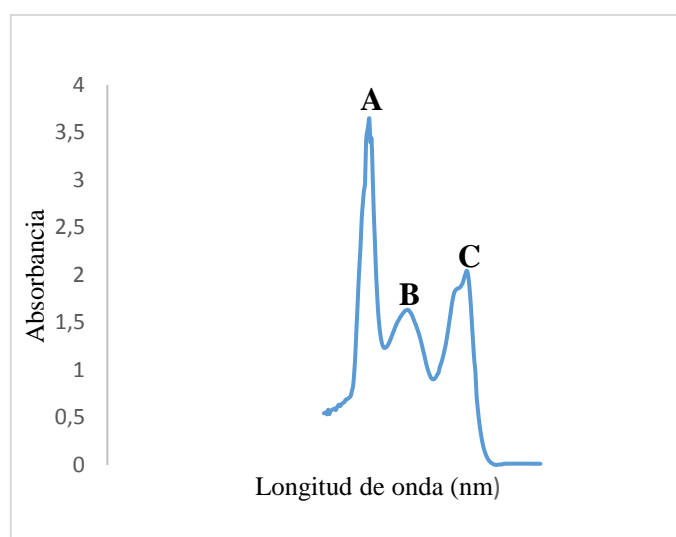


Figura 37. Espectro UV-Visible del complejo 3 (W).

Tabla 16. Bandas características del complejo 3 (W).

Banda	λ (nm)	Abs
A	242	3,6410
B	287	1,4056
C	334	1,9252

Por otro lado, las figuras 35; 36 y 37 y las tablas 14; 15 y 16 muestran los espectros UV y las bandas correspondientes de los complejos sintetizados respectivamente. Las bandas intraligando corresponden a las de la quinina, sin embargo, se observa un desplazamiento batocrómico en ellas, debido a la formación del enlace con el metal, así como también a las transiciones electrónicas asociadas a cada grupo funcional del ligando, la cual son afectadas por la densidad electrónica del metal, proponiendo así la coordinación del metal con el ligando.

De acuerdo a los análisis espectroscópicos obtenidos, proponemos las siguientes estructuras para cada uno de los complejos. En la figura 38, se observa la estructura propuesta para el complejo 1 (Cr).

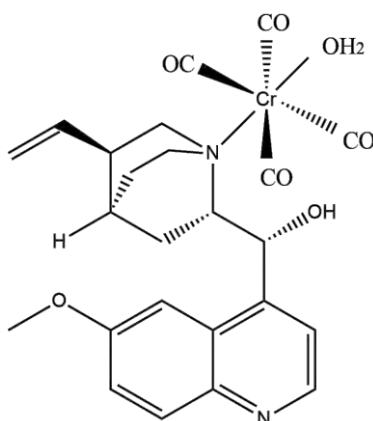


Figura 38. Estructura propuesta para el complejo 1 (Cr). [acuo-tetracarbonyl-quinina-cromo (0)]

Para el complejo 2 (Mo), en la figura 39 se muestra la estructura propuesta.

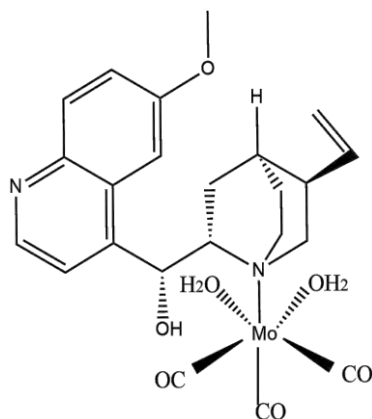


Figura 39. Estructura propuesta para el complejo 2 (Mo). [diacuo-tricarbonil-quinina-molibdeno(0)]

Y por último, la figura 40 muestra la estructura propuesta para el complejo 3 (W)

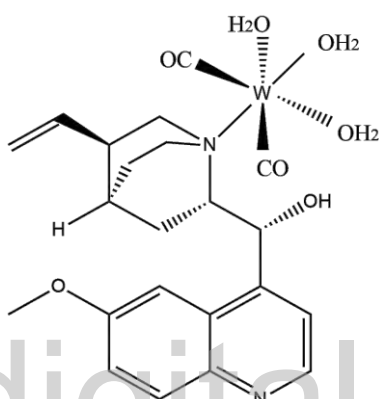


Figura 40. Estructura propuesta para el complejo 3 (W). [triacuo-dicarbonil-quinina-molibdeno(0)]

4.1.4 Actividad antifúngica

Se procede a realizar el tamizado inicial de los complejos con las especies micóticas de *C. auris* y *C. tropicalis* para diferentes tipos de cepas Ca13-Ca9 (Fig. 41), 750-Ca4 (Fig. 42) y por último Ca1 (Fig. 43).

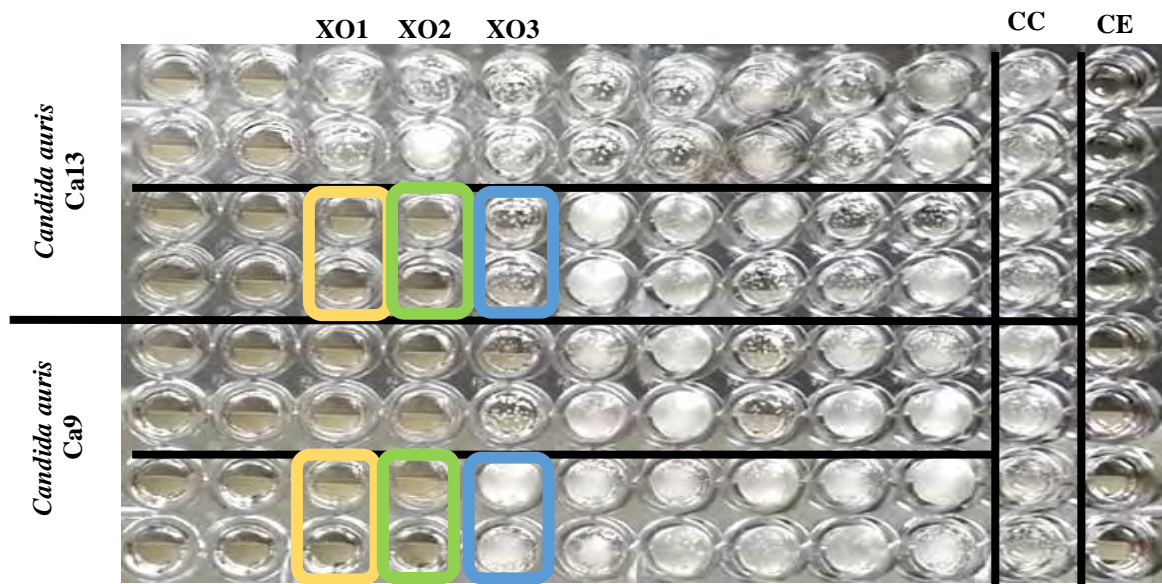


Figura 41. Diseño experimental para el tamizaje de los complejos contra el *C. auris* Ca13 y Ca9 mediante la técnica de Microdilución en caldo CLSI-M27-A3.

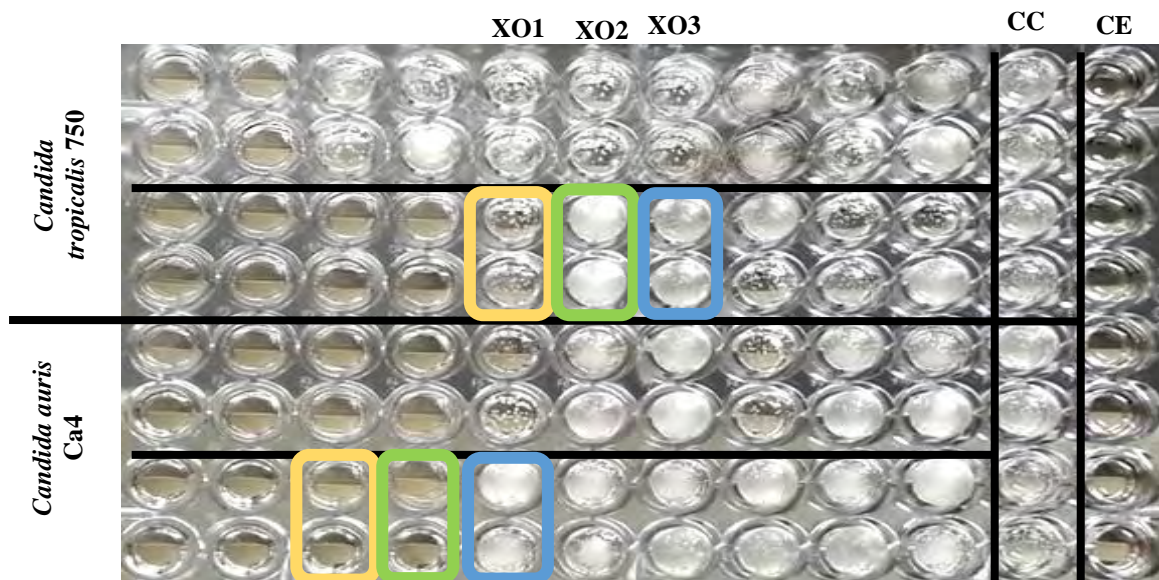


Figura 42. Diseño experimental para el tamizaje de los complejos contra el *C. tropicalis* 750 y *C. auris* Ca4 mediante la técnica de Microdilución en caldo CLSI-M27-A3

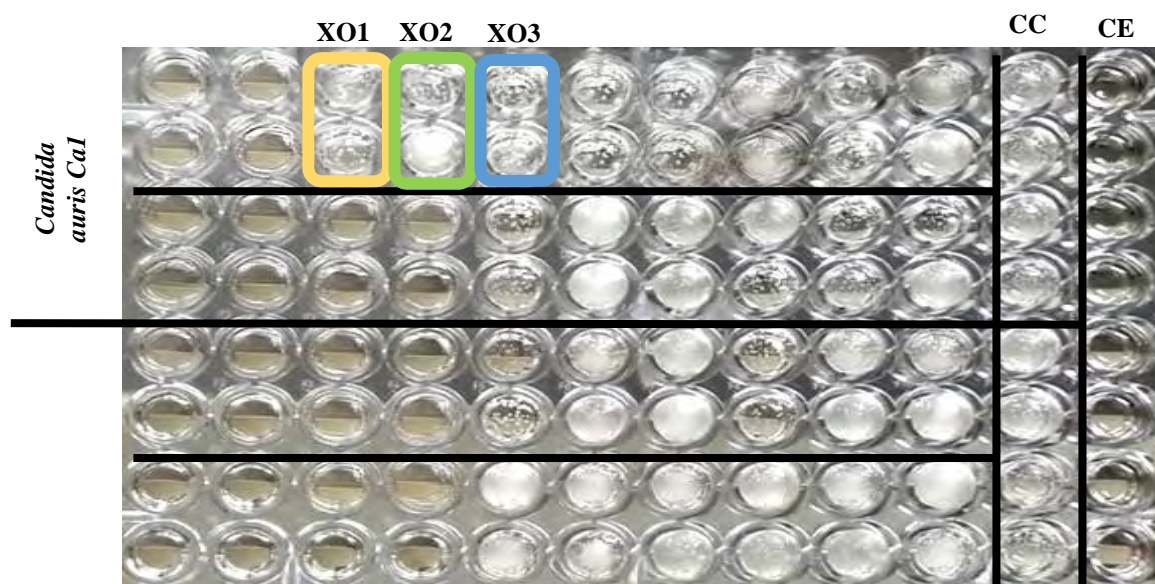


Figura 43. Diseño experimental para el tamizaje de los complejos contra el *C. auris* Ca1 mediante la técnica de Microdilución en caldo CLSI-M27-A3.

CC: Control de crecimiento.

CE: Control de esterilidad.

www.bdigital.ula.ve

Tabla 17. Porcentaje de inhibición de crecimiento de las levaduras en presencia de los nuevos complejos.

Tipo de Cepa	Código de Cepa	Especie	Código del complejo	% de Inhibición
			XO1	98
Aislado clínico	Ca9	<i>C. auris</i>	XO2	98
			XO3	0
			XO1, 5 días	98
Aislado clínico	Ca13	<i>C. auris</i>	XO2, 5 días	90
			XO3	50
			XO1	40
ATCC	750	<i>C. tropicalis</i>	XO2	0
			XO3	0
			XO1	98
Aislado clínico	Ca4	<i>C. auris</i>	XO2	98
			XO3	0
			XO1	90
Aislado clínico	Ca1	<i>C. auris</i>	XO2	0
			XO3	90

ATCC: American Type Culture Collection (Cepa Comercial)

XO1: Complejo 1 (Cr).

XO2: Complejo 2 (Mo).

XO3: Complejo 3 (W).

Se realizó el perfil de sensibilidad antifúngica por triplicado para cada cepa en estudio.

Se ensayaron las actividades de los tres nuevos complejos con 5 cepas de levaduras, constituidas por cuatro aislados clínicos de *C. auris* y un ATCC de *C. tropicalis*. De acuerdo a los resultados obtenidos, los complejos de Cr y Mo inhibieron el crecimiento de *C. auris* con un porcentaje de 98% en la cepa Ca9, en este caso el complejo de W no muestra actividad inhibitoria. Para la cepa Ca13 el porcentaje de inhibición para el complejo de Cr fue de 98% por un tiempo de 5 días, y para Mo es de 90% en la misma cantidad de tiempo. Para el complejo de W se observa una inhibición del 50%. En la figura 41, se puede apreciar el tamizaje experimental donde se observa una solución incolora, lo que indica que no hubo un medio prospero para el crecimiento de estas cepas.

Como se muestra en la figura 42, para la cepa ATCC 750 de la especie *C. tropicalis*, solo el complejo de Cr muestra un 40 % de inhibición en el crecimiento para este tipo de levadura. Para la Ca4 de la especie *C. auris*, se observa que las soluciones de Cr y Mo se mantienen transparentes, por lo tanto, esto indica que estos complejos en solución muestran un alto porcentaje de inhibición de alrededor del 98%. En cambio, para el complejo de W, nuevamente se observa la solución de un tono blanquecino, lo que muestra que esta solución no posee actividad biológica para evitar el crecimiento de esta cepa.

Por último, en la figura 43, se muestra el tamizaje experimental para la cepa Ca1 de *C. auris*, en este caso, los complejos de Cr y W inhibieron el 90% de crecimiento de estas levaduras; por otro lado, el complejo de Mo no inhibió el crecimiento de la cepa.

Para finalizar, estos nuevos complejos mostraron una actividad biológica apreciable contra las cepas estudiadas. Estableciendo el orden decreciente de actividad antifúngica mostrada por los complejos estudiados, tenemos que: Complejo 1 (Cr) >Complejo 2 (Mo)>Complejo 3 (W)

CAPÍTULO 5

5.1 Conclusiones

Se sintetizaron nuevos complejos carbonilos de Cr, Mo y W. Estos complejos fueron caracterizados por diferentes técnicas como: punto de fusión, espectroscopia IR y espectroscopia UV-Vis, además de ello se realizaron pruebas preliminares biológicas de cada uno de ellos.

Se sintetizó el nuevo complejo [acuo-tetracarbonil-quinina-cromo (0)] a partir del $Cr(CO)_6$ y quinina como ligando, obteniendo un punto de fusión de (123,5-128,4)°C y un rendimiento del 84,28%.

A su vez, también se sintetizó el nuevo complejo [diacuo-tricarbonil-quinina-molibdeno (0)] a partir del $Mo(CO)_6$ y quinina, obteniendo un punto de fusión de (126,5-129,9)°C y un rendimiento del 67,19%.

Por último, también se sintetizó el nuevo complejo [triacuo-dicarbonil-quinina-tungsteno (0)] a partir del $W(CO)_6$ y quinina, con un punto de fusión de (150,5-154,2)°C y un rendimiento de 85,42%.

Estos complejos se caracterizaron por espectroscopia IR, donde se observa el desplazamiento de la banda C-N que indica la posible coordinación de la quinina con el metal. Los tres complejos se coordinaron de manera monodentada a través del nitrógeno quinuclidínico.

Los complejos se caracterizaron por espectroscopia UV, observando el desplazamiento batocrómico de las bandas intraligando de la quinina, evidenciándose así una posible coordinación del metal.

Se realizaron pruebas preliminares antifúngicas del complejo 1 (Cr) con porcentajes de inhibición de 98% para Ca9, Ca13 y Ca4, 40% para 750 de *C. Tropicalis* y 90% para Ca 1.

Las pruebas preliminares para el complejo 2 (Mo) tuvo porcentajes de inhibición de 98% para Ca9, 90% para Ca13, 0% para 750 de *C. Tropicalis* y Ca1, y 98% para Ca4.

También para el complejo 3 (W) tuvo porcentajes de inhibición de 0% para Ca9, 750 de C. *Tropicalis* y Ca4, 50% para Ca13 y finalmente 90% para Ca1.

5.2 Recomendaciones

- ✓ Se recomienda realizar difracción de rayos X de polvo y monocristal, ya que la difracción de polvo realizada a los complejos no tuvieron buena resolución debido a que la recolección de datos fue de muy poco tiempo (30min).
- ✓ Se recomienda realizar análisis de espectroscopia de absorción con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP) para determinar el contenido de los elementos metálicos que se encuentran en los complejos.
- ✓ Se recomienda realizar un análisis termogravimétrico (TGA) para determinar la descomposición y pérdidas de masa, y así complementar la caracterización de los complejos obtenidos.
- ✓ Se recomienda hacer una Espectrometría de Masas para determinar el peso molecular y esbozar una posible estructura de los complejos.
- ✓ Se recomienda realizar un análisis elemental que permitirá determinar el contenido total de carbono, hidrogeno, nitrógeno y oxígeno presentes en los nuevos complejos obtenidos.

www.bdigital.ula.ve

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

[1] Chang R., College W., (2002). **“Química”** McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A de C.V. Séptima Edición. México D.F, 878-882

[2] **“Química Inorgánica”** MarWil., (2009) (2019, 26 de Enero) (2:10pm). La química y sus Ramas. Recuperado por: www.quimiramamas.blogspot.com

[3] Atkins P., Overton T., Rourke J., Weller M., Armstrong F., (2008). **“Química Inorgánica”** McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A de C.V. Cuarta Edición México, D.F, 219-711

[4] Wasi N., Singh H., Gajanana A., Raichowdhary A., (1987). **“Synthesis of Metal Complexes of Antimalarial Drugs and In Vitro Evaluation of their Activity Against Plasmodium falciparum”**. National Institute of Communicable Diseases, Delhi-110054, India, 133-137.

[5] Atanasov A., Waltenberger B., Pferschy-Wenzig E., Linder T., Wawrosch C., Uhrin P., (2015). **“Biotechnology Advances”**. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products, 2-15.

[6] **“¿Qué es la Quinina?”**. Vicsenabre., (2012) (2019, 1 de Febrero) (5:13pm).

Recuperado por: https://www.verema.com/blog/exquiso_me/962706-que-quinina

[7] Rey N., Santos K., Menezes M., Mangrich A., Pereira-Maia E. (2006). **“Two different modes for cooper (II) ion coordination to quinine-type ligands”**. Journal of the Brazilian Chemical Society 17(3), 497-504.

[8] Huheey J., Keiter E., Keiter R. (1997) **“Química Inorgánica, Principios de estructura y reactividad”**. Oxford University Press. México, S.A de C.V

[9] Herrman W., Brauer G., (1997). **“Synthetic Methods of Organometallic and Inorganic Chemistry”**. Thleme.

[10] **“Ligandos”**. (2019, 15 de Febrero) (12:38pm).

Recuperado por: <https://dequimica.com/teoria/ligandos>

[11] **“Inorganic Chemistry”** (2019, 15 de Febrero) (4:17pm) Recuperado por: [https://chem.libretexts.org/bookshelves/inorganic_chemistry/Supplemental_Modules_\(Inorganic_Chemistry\)/Coordination_Chemistry/Properties_of_Coordination_Compounds/Ligands](https://chem.libretexts.org/bookshelves/inorganic_chemistry/Supplemental_Modules_(Inorganic_Chemistry)/Coordination_Chemistry/Properties_of_Coordination_Compounds/Ligands)

[12] **“Carbonyl”** (2015) (2019, 20 de Febrero). (7:23pm).

Recuperado por: www.iiipi.com/organomet/carbonyl.html

[13] Baaske W., Rothbauer U., Braun D., Duhr S., (2010). **“Protein-binding assays in biological liquids using microscale thermophoresis”** Nature communications

[14] Berque-Bestel I., Lezoualc'h F., Jockers R., (2008). **“Bivalent Ligands as specific Pharmacological Tools for G Protein-Coupled Receptor Dimers”**. Current Drug Discovery Technologies 5(4), 312-318.

[15] Miessler G., Tarr D., (2004). **“Inorganic Chemistry”**. St. Olaf College Northfield, Minnesota. Pearson Education International, Third Edition, 299-322

[16] Crabtree R., (2009). **“The organometallic chemistry of the transition metals”**. Yale University, New Haven, Connecticut.

[17] Contreras R., (2014). **“Materiales Híbridos: Una aproximación a la química de los compuestos organometálicos”** Universidad de Los Andes. Consejo de desarrollo científico, humanístico, tecnológico y de las Artes. Primera Edición. Mérida, Venezuela, 9-14

[18] Thayer J., (1988). **“Organometallic Chemistry”**. An Overview. Department of Chemistry University of Cincinnati. VCH Publisher, Inc.

[19] Reedijk J., (2013). *“Bioinorganic Chemistry”*. Leiden University, the Netherlands. Elsevier Inc.

[20] Cohen S., (2007). *“New approaches for medicinal applications of bioinorganic chemistry”*. Department of Chemistry and Biochemistry. University of California San Diego, La Jolla. California. 92093-0358.USA.

[21] Hosmane N., (2017). *“Bioinorganic Chemistry and Applications”*. Advance Inorganic Chemistry, Northern Illinois University. Chapter 12, 225-249

[22] Que Jr L., Banci L., (2002). *“Bioinorganic Chemistry”*. Department of Chemistry and Center for Metals in Biocatalysis, University of Minnesota. Editorial Overview.

[23] Bertini I., Gray H., (1994). *“Bioinorganic Chemistry”*. University Science Books. Mill Valley, California.

[24] *“Artesunate versus quinine in the treatment of severe imported malaria comparative analysis of adverse events focussing on delayed haemolysis”*. Rolling T., Wichmann D., Schmiedel S., Burchard GD., Kluge S., Cramer J.,(2013) (2019, 23 de Febrero) (7:57pm) P Malar, 241. Recuperado por: www.iqb.es/cabsicas/farma/farma04/q004VADEMECUM.QUININA.

[25] Spikes J., (1997). *“Photosensitizing properties of uinine and synthetic antimalarials”*. Journal of Photochemistry and Photobiology. Department of biology, University of Utah, Salt Lake City, UT 84112, USA.

[26] Achan J., Talisuna A., Erthart A., Yeka A., Tibenderana J., Baliraine F., Rosenthal P., D' Alessandro U., (2011). *“Quinine, an old anti-malarial drug in a modern world: role in the treatment of malaria”* Malaria Journal.

[27] Tsarigaris J., Baxevanidis G., (1974). "**Complexes of Quinine with Cu(II), Ni(II), Co(II) and Cr(II) Chlorides**" National Technical University of Athens, Greece and National Hellenic Research Foundation, Athens, Greece.

[28] Tella A., Obaleye J., (2010). "**Synthesis of some 3d Metal Complexes of Quinine and Their Toxicological Studies Department of Chemistry**" University of Ilorin, Nigeria. J, Nepal Chem. Soc.

[29] Isawa K., Amino Y., Kahmura M., Ueda Y., Kurada M., (2010). "**Human.Environment Interactions-Taste**" Ajinomoto Co., Inc, Kawasaki, Japan.

[30] Kuhlmann F., Fleckenstein J., (2017). "**Antiparasitic Agents**". Infectious Diseases, Fourth Edition.

[31] Brogger S., (2015). "**Drugs and Drugs Lead Based on Natural Products for Treatment and Prophylaxis of Malaria**". In evidence-Based. Validation of Herbal Medicine.

[32] Wasi N., Singh H., Gajanana A., Raichowdhary A.N., (1986). "**Synthesis of Metal Complexes of Antimalarial Drugs and In Vitro Evaluation of their Activity Against Plasmodium Falciparum**" Department of chemistry, Delhi University, Delhi-110007, India. National Institute of Communicable Diseases, Delhi-110054, India. Inorganica Chimica 133-137.

[33] Filimon S., Hrib C., Randoll S., Neda I., Jones P., Tamm M., (2010). "**Quinine-Derived Imidazolidin-2-imine Ligands: Synthesis, Coordination Chemistry and Application in Catalytic Transfer Hydrogenation**". Zeitschrift Fur Anorganische und Allgemeine Chemie, 636(5), 691-699.

[34] Saadia A., Ahmed A., Amany M., Doaa H., (2012). "**Synthesis and characterization of new chromium, molybdenum and tungsten Complexes of 2-[2-(methylaminoethyl)] pyridine**". Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 164-168.

[³⁵] Ahmed A., Saadia A., Amany H., Doaa H., (2012). ***“Synthesis, characterization and biological activities of some new chromium molybdenum and tungsten Complexes with 2,6-diaminopyridine”***. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 329-332.

[³⁶] Thakur D., Mishra J., Pitre K., Joshi S., (2013). ***“Fe(III)-Chloriquine Complex: A New Potent Compound in Wellness Industries of High Antimicrobial and Antimalarial Activities”***. International Journal of Biotechnology for Wellness Industries, vol 2, 140-144.

[³⁷] Mahmoud W., Mahmoud N., Mohamed G., El Sonbati A., El-Bindary A., (2015). ***“Ternary metal complexes of guaifenesin drug: Synthesis, spectroscopic characterization and in vitro anticancer activity of the metal complexes”***. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.

[³⁸] Jones R., Panda S., Hall C., (2015). ***“Quinine conjugates and quinine analogues as potential Antimalarial agents”***. Center for Heterocyclic Compounds, University of Florida, Department of Chemistry. European Journal of Medicinal Chemistry.

[³⁹] Peixoto A., De Melo D., Fernandes T., Fonseca Y., Gusevskaya E., Silva A., Contreras R., Reyes M., Usubillaga A., (2008). ***“Rhodium catalyzed hidroformylation of Kaurane derivatives: A route to new diterpenes with potential bioactivity”***. Applied Catalysis A: General 212-219.

[⁴⁰] Quintero P., Fontal B., (2017). ***“Síntesis, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana de complejos carboxilatos de organoestaño (IV) de diterpenos del tipo ent-kaureno”***. Laboratorio de Organometálicos, Universidad de Los Andes, Facultad de Ciencias.

[⁴¹] Gonzales L., (2019). ***“Síntesis, caracterización y estudio de la actividad biológica de complejos de organoestaños con quinina”***. Trabajo especial de grado. Universidad de los Andes, Facultad de Ciencias.

[42] Wade L.G (2004). *“Química Orgánica”*. Quinta edición. PEARSON EDUCACIÓN, S.A., Madrid, 490-495.

[43] Aparicio M., Ariza D., Calvo T., Daza C., Echávez P., (2012). *“Espectroscopia infrarroja: una técnica alternativa para la identificación de microorganismos”*. Corporación Universitaria, Rafael Núñez. Ciencia y Salud, 123-131.

[44] *“UV-VIS Spectroscopy and its Applications”*. Perkampus H., (1992) (2019, 12 de Mayo) (3:05pm). SPRINGER LABORATORY.

Recuperado

por:

<https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=6ejwCAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA1&dq=Spectroscopy+uv+visible&ots=bOOVqv0XZS&sig=dAo62pNp8wFLHBptNKkVhxrm3hM#v=onepage&q=Spectroscopy%20uv%20visible&f=false>

[45] Calvo B., Salles A., Perozo A., Hernández M., Francisco E., Hagen F., Meis J., Colombo A., (2016). *“First report of Candida auris in America: Clinical and Microbiological aspects of 18 episodes of candidemia”*. British Infection Association, 1-6.

[46] Ruiz A., Moret A., Hontangas J., Molina J., López A., Cabezas A., Maseres J., Arcas R., (2017). *“Nosocomial fungemia by Candida auris: First reported cases in continental Europe”*. Revista Iberoamericana de Micología, 1-5.

[47] Aleman T., ((2018). *“Determinación de la sensibilidad antifúngica en aislamientos clínicos de Candida auris asociados a procesos invasivos y de colonización en Cartagena, Colombia”*. Trabajo de grado. Instituto Nacional de Salud. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D.C.

[48] *“Diclorometano”*. Gobierno de España. Ministerio para la Transición Ecológica. (2020, 07 de Enero) (4:15pm).

Recuperado por:

www.bdigital.ula.ve