DOI 10.37761/rsqp.v91i1.500

Recibido: 04.11.24
Aceptado: 12.05.25

SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTITUBERCULOSA *IN VITRO* DE COMPLEJOS METÁLICOS DE Fe(II) Y Co(II) CON HIBRIDO DE ISONIACIDA-PIRAZINAMIDA

Rocio I. Ramirez Panti[a], Christian M. Aliaga Paucar[a], Fernando Grandez[a], Patricia Sheen Cortovaria[b], Mirko Zimic Peralta[b], Ana C. Valderrama Negron*[a]

RESUMEN

La tuberculosis es la séptima causa de muerte en el mundo. Un tercio de la población mundial está infectada de la enfermedad de tuberculosis causada por el *Mycobacterium tuberculosis*, el cual ha desarrollo mecanismos de resistencia a diversas drogas de primera y segunda línea que resultaron extremadamente difíciles de tratar.

En este trabajo se presenta la síntesis de los complejos metálicos de Fe(II) y Co(II) con el híbrido (IP) de dos fármacos antituberculosos de primera línea: isoniacida (INH) y pirazinamida (PZA), todavía desconocido en la literatura científica, con la finalidad de potenciar la actividad antituberculosa de ambos fármacos.

Experimentalmente se obtuvo los complejos de Fe(II) y Co(II), y se determinó la actividad antituberculosa de los mismos.

La caracterización de los complejos metálicos se realizó mediante análisis elemental, espectroscopía infrarroja (FT-IR), espectroscopía Raman, espectroscopía UV-Vis, conductividad y análisis termogravimétrico (TGA), mostrando que se obtuvieron los complejos deseados.

Los ensayos de actividad biológica se realizaron mediante el Método Susceptibilidad TEMA en metalocomplejos de pirazinamida e isoniacida y sus sales precursoras; donde el complejo de cobalto y el híbrido (IP) presentan actividad antituberculosa.

Palabras clave: isoniacida, pirazinamida, tuberculosis y complejos metálicos.

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND EVALUATION OF THE IN VITRO ANTITUBERCULOSIS ACTIVITY OF METAL COMPLEXES OF Fe(II) AND Co(II) WITH ISONIACIDE-PYRAZINAMIDE HYBRID

ABSTRACT

Tuberculosis is the seventh cause of death in the world. One third of the world's population is infected with tuberculosis disease caused by *Mycobacterium tuberculosis*,

[a]*Laboratorio de Investigación en Biopolímeros y Metalofármacos (LIBIPMET), Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Túpac Amaru 210, Rímac, Lima, Perú, *anitacvn29@yahoo.com.mx

[b] Unidad de Bioinformática y Biología Molecular, Laboratorios de Investigación y Desarrollo, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Av. Honorio Delgado 430, SMP, Lima, Perú

which has developed resistance mechanisms to various first- and second-line drugs that have proven extremely difficult to treat.
This work presents the synthesis of Fe(II) and Co(II) metal complexes with the hybrid of two first-line antituberculosis drugs: isoniazid (INH) and pyrazinamide (PZA), still unknown in the scientific literature, with the purpose of enhancing the anti-tuberculosis activity of both drugs.
Experimentally, obtained to then obtain the Fe(II) and Co(II) complexes, and determined their antituberculous activity.
The characterization of the metal complexes was carried out by elemental analysis, infrared spectroscopy (FT-IR), Raman spectroscopy, UV-Vis spectroscopy, conductivity and thermogravimetric analysis (TGA), showing that the desired complexes.
Biological activity assays were carried out using the TEMA Susceptibility Method on pyrazinamide and isoniazid metallocomplexes and their precursor salts; where the cobalt complex and the hybrid present antituberculous activity.

Keywords: isoniazid, pyrazinamide, tuberculosis and metal complexes.

INTRODUCCIÓN

La química bioinorgánica estudia las relaciones que existe entre elementos y compuestos inorgánicos en procesos biológicos.[1,2] La investigación de los metalofármacos es una nueva expectativa para la medicina y farmacología que surge de la unión de un compuesto orgánico con un metal. Este puede haber sido usado para combatir bacterias, parásitos, virus o tumores cancerígenos, potenciando la actividad biológica de los compuestos iniciales, resultando más eficaces para el tratamiento de algunas enfermedades, como por ejemplo la tuberculosis[2].
La tuberculosis es una enfermedad contagiosa producida por *Mycobacterium tuberculosis* que convive con la humanidad desde sus antigüedades. Así como las civilizaciones han evolucionado, el Bacilo de Koch también lo ha hecho, resistiéndose a quedar atrás en la historia; este fenómeno surge debido a que la bacteria se ha vuelto extremadamente resistente al tratamiento con los fármacos que se usan actualmente3.
La Organización Mundial de la Salud (OMS) en su Informe sobre la Tuberculosis 2022, señala que, si bien hay un descenso de 47% de la mortalidad por TBC desde 1990, aún se sitúa como la principal causa de muerte por enfermedad infecciosa, por encima del SIDA, y esto se ha convertido en una amenaza global.[1,3]
Por ello, es necesario obtener derivados o nuevos fármacos que puedan contrarrestar la TB, utilizando metales de transición para conseguir un efecto sinérgico. Este presente trabajo está enfocado a la síntesis de complejos con centros metálicos de Fe(II) y de Co(II) todavía desconocidas en la literatura científica. La investigación se realizó en dos etapas: i) síntesis de los complejos metálicos de Fe(II) y Co(II) y su caracterización con técnicas espectroscópica y ii) estudios de la actividad biológica de los complejos metálicos (Susceptibilidad TEMA)

PARTE EXPERIMENTAL

Síntesis del complejo de cobalto (CO-IP)

Se disolvieron 2 mmol del híbrido (IP) en metanol (20 mL) y se añadió 1 mmol de cloruro de cobalto hexahidratado ($CoCl_2.6H_2O$) sólido. Las soluciones se mezclan lentamente con agitación continua a temperatura ambiente durante 3 h en atmosfera inerte, se obtuvo un precipitado de color anaranjado y después de una hora de agitación se torna anaranjado oscuro. Después de enfriar, el precipitado se filtró, se lavó con metanol y se secó al vacío

Síntesis del complejo de hierro ((Fe-IP)

Se utilizaron 2 mmol del híbrido (IP) en metanol (20 mL) y se añade 1 mmol de sulfato de hierro heptahidratado ($FeSO_4•7H_2O$) en sólido. Las soluciones se mezclan lentamente con agitación continua a temperatura ambiente en atmosfera inerte durante 3 horas. Se obtuvo un precipitado de color morado oscuro. Después se filtró, se lavó con metanol y se secó al vacío.

Técnicas de caracterización de los complejos

Análisis elemental de los complejos metálicos (C, H y N)

El análisis de CHNS Modelo Thermo Scientific Flash 2000 de los complejos metálicos se realizaron en el Instituto de Ciencias Exactas de la Universidad Federal de Juiz de Fora. Se analizó el contenido de carbono (%C), hidrógeno (%H) y nitrógeno (%N) en las muestras obtenidas, con la finalidad de determinar su grado de pureza y la relación estequiométrica. Laboratorio de Química Bioinorganica y catálisis (LaQBIC) – Instituto de Ciencias Exactas de la Universidad Federal de Juiz de Fora – Brasil.

Análisis Termogravimétrico

Esta técnica se realizó para observar la pérdida de masa con respecto a la temperatura, mostrando el porcentaje de descomposición del híbrido (IP) y los complejos metálicos. Se realizó en el Laboratorio de investigación de Fisicoquímica de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería – Perú. Las lecturas se realizaron en el rango de 35 – 900°C con una rampa de 10°C/min en el equipo PerkinElmer TGA 4000.

Espectrometría Raman

Los espectros de Raman de los complejos metálicos se obtienen con un espectrofotómetro Raman Horiba One Xplora. Las lecturas se realizaron en el rango de 400-4000 cm^{-1} en la Universidad Nacional de Ingeniería – Perú.

Análisis de conductividad

El análisis de conductividad de las muestras en disolución se basa en la disociación del complejo con sus iones conocidos como electrolitos, estos conducen la corriente eléctrica en disolución. La determinación de la conductividad de una disolución de un compuesto de coordinación, resulta útil para la caracterización del compuesto, ya que se puede así

conocer el tipo de electrolito de que se trata. La lectura se realizó en la Universidad Nacional de Ingeniería – Perú.

Espectrofotometría UV-Visible

Los espectros UV-Vis se obtuvieron mediante el espectrofotómetro UV-Vis Shimadzu UV1800 a 293 K, con lámpara de deuterio, celdas de cuarzo de 1 cm de espesor; rango de 200-400 nm, como solvente se utilizó agua destilada. Las medidas se realizaron en la Universidad Nacional de Ingeniería – Perú. En este análisis se obtuvieron espectros UV-Vis para identificar las transiciones d-d correspondientes al ión metálico y el desplazamiento de bandas correspondientes a la formación de nuevos productos.

Espectroscopía Infrarroja

Los espectros FTIR se obtuvieron con un espectrofotómetro Shimadzu IR Prestige 21 en el Laboratorio de Química Analítica e Instrumental de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería - Perú. Las lecturas se hicieron en modo de transmitancia en el rango de 400-4000 cm-1 en pastillas de KBr. Grado de pureza 99%, fue secada a alto vacío para eliminar la humedad. Se analizaron los espectros infrarrojos del híbrido derivado de isoniacida y pirazinamida y de los complejos metálicos con la finalidad de identificar los grupos funcionales y comparar las diferencias existentes entre cada par de compuestos evidenciando la formación de sus enlaces metal-ligando.

Evaluación de la actividad biológica

La evaluación de la actividad biológica in vitro de los complejos metálicos de Fe(II) y Co(II) con el híbrido Isoniacida-Pirazinamida se realizaron por el método TEMA en el laboratorio de Bioinformática y Biología Molecular de la Universidad Peruana Cayetano Heredia por Mirco Zimic Peralta y colaboradores. Los aislamientos de las cepas de Micobacterium tuberculosis (H37Rv) se obtuvieron del Hospital Universitario Cayetano Heredia. Sus suspensiones se prepararon en Tween 80 al 10% (v/v) (Sigma Chemical) de modo que sus turbideces coincidieran con las del estándar de turbidez McFarland Nº1 (aproximadamente 3 x 10 7 UFC / mL). Por lo tanto, las suspensiones se diluyeron 1:25 en caldo 7H9 (4.7 g de base de caldo Middlebrook 7H9 [Difco, Detroit, Mich.], 20 mL de glicerol al 10%, 1 g de Bacto Casitone [Difco], 880 ml de agua destilada, 100 mL de ácido oleico, albúmina, dextrosa y catalasa. Laboratorio de Bioinformática y Biología Molecular de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia – Perú.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Síntesis de los complejos de cobalto y de hierro

De la síntesis de los complejos se obtuvieron dos sólidos no cristalinos de color mostaza (complejo de cobalto) y color morado oscuro (complejo de hierro). Los rendimientos de las reacciones fueron de 60 % y 65 %, respectivamente. Además, se determinó que ambos complejos se descomponen a temperaturas mayores a 300 °C.

Análisis elemental

De acuerdo, con la medida de conductividad el complejo de cobalto presenta una relación metal: ligando (M:L) de 1:1, donde la fórmula propuesta ($[CoCl(C_{12}H_{10}N_6O_2)(H_2O)]Cl.2H_2O$) y peso molecular 454.13 g/mol muestra concordancia dentro de los valores calculados %C, H y N y los valores experimentales. Para el complejo de hierro presenta una relación metal: ligando (M:L) de 1:1, los resultados concuerdan con la estequiometria propuesta ($[Fe(C_{12}H_{10}N_6O_2)(H_2O)2]SO_4.H_2O$) son mostrados en el Tabla 1.

Tabla 1. Contenido de C, H y N calculado y experimental del complejo de cobalto (Co-IP) y del complejo de hierro (Fe-IP).

Elemento	*CoIP*		*FeIP*	
	Calculado	Experimental	Calculado	Experimental
%C	31.73	31.73	30.46	31.60
%H	3.55	3.91	3.38	2.75
%N	18.50	18.40	16.64	15.84
%S	-	-	6.74	7.11

Análisis de conductividad

Realizamos el análisis de conductividad teniendo en cuenta el solvente a usarse, el complejo de cobalto es soluble tanto en agua y DMSO. La conductividad molar depende del tipo de disociación del electrolito, estos conducen la corriente eléctrica en disolución. De acuerdo con la formula molecular propuesta $[CoCl(IP)(H_2O)]Cl$, esta se disocia en un anión de Cl y un catión $[CoCl(IP)(H_2O)]$, según Velho[4] y Geray[5], la conductividad obtenida para el complejo de cobalto (II) está de acuerdo con el tipo de electrolito 1: 1 (20 – 62 µS) a 25 °C en DMSO con una concentración de 10^{-3} M, donde probablemente un cloro actúa como contraión y el otro como ligante de la forma $[CoCl(L)(H_2O)]Cl$.
Los resultados de las mediciones conductimétricas se comparó la conductividad entre el híbrido, sulfato de hierro (II) y el complejo de hierro (FeIP); la conductividad obtenida para el complejo de hierro está de acuerdo con los complejos metálicos de tipo de electrolito 1: 1 (87 – 168 µS) a 25°C en agua con una concentración de 10^{-3} M, concordando con los datos de Velho[4], donde el sulfato actúa como contraión de la forma $[Fe(L)(H_2O)_2]SO_4$, y no como ligando. El híbrido IP no presenta conductividad en agua. Intervalos de conductividad molar para distintos tipos de electrolitos en las mismas condiciones experimentales que los complejos estudiados en esta tesis se presenta en la Tabla 3. Por esto que la determinación de la conductividad de una disolución de un compuesto de coordinación, resulta útil para la caracterización del compuesto, ya que se puede así conocer el tipo de electrolito de que se trata. En la Tabla 2, se muestra las conductividades de cada compuesto.

Tabla 2. Conductividad del híbrido (IP), sales y los complejos metálicos

Componentes	Λ DMSO (µS) a 25°C	Λ agua (µS) a 25°C
IP	1.6	6.0
Sal de cobalto	49.3	-
CoIP	29.6	-
Sal de hierro	-	198
FeIP	-	163

Tabla 3. Intervalos de conductancia molar para los distintos electrolitos en DMSO y agua a 25°C.

N°	Tipo de electrolito	Rango (µS) en DMSO	Rango (µS) en agua
1	1:1	20 – 62	87 – 168
2	2:1	54 – 110	168 – 310
3	3:1	-	350 – 425

Análisis Termogravimétrico de los complejos metálicos

En los termogramas TGA y DSC del complejo CoIP de la Figura 1, se observan varias etapas de descomposición. La descomposición térmica del complejo exhibe una pérdida de masa entre 45.77°C - 114.85°C se puede atribuir a la pérdida de dos aguas de hidratación o humedad.[6] Se asume que la presencia de humedad en la muestra es despreciable y probablemente el complejo tendría 2 moléculas de agua de hidratación y 1 de complejación. Dado que se propone una estructura en la que hay 3 moléculas de agua y que en el final del segundo pico endotérmico a 159.48°C existe una perdida porcentual teórica de masa: 88.07% (experimental) y 88.09% (calculada), siendo una molécula de agua coordinada al metal.

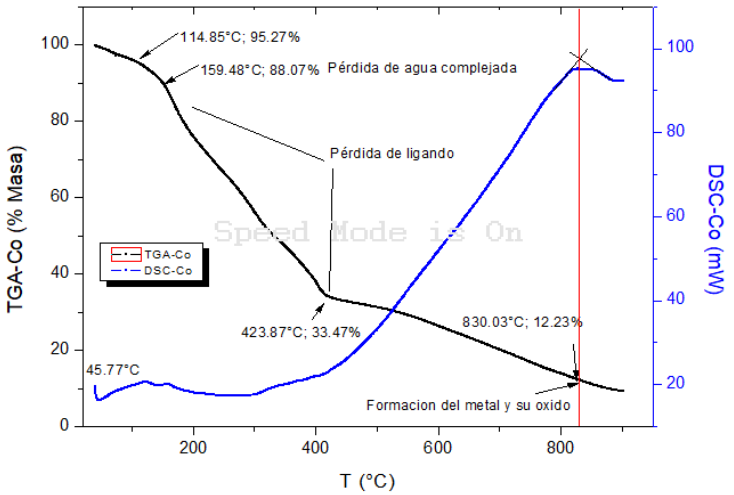


Figura 1. Termograma del complejo de cobalto

La pérdida de masa entre 159.48°C y 423.87°C se puede atribuir a la descomposición del híbrido siendo el valor calculado de 32.57% y resultados experimentales de 33.47%.

Finalmente, a 830.03°C se observa lo que, en porcentaje de masa, se podría atribuir a la presencia de cobalto metálico siendo el valor experimental y teórico a 12.23% y 12.97%, respectivamente. Cabe mencionar que el porcentaje de las pérdidas de masa experimentales con la teórica difieren en menos de 1% con los resultados teóricos, lo cual nos indica que la formula química propuesta es la correcta (Tabla 4).
% Calculado del metal:

Masa del complejo (454.13) → 100%
Masa del metal Co (58.93) → 12.97%

Tabla 4. Datos obtenidos del termograma del complejo de cobalto

Componentes	T° (°C)	% Calculado	% Experimental	Δ%
$3H_2O$	45.77 – 159.48	88.09	88.07	0.02
Híbrido (IP)	159.48 – 423.87	32.57	33.47	0.90
Metal (Co)	423.87 – 830.03	12.97	12.23	0.74

Las curvas TGA y DSC del complejo FeIP de la Figura 2 muestran varias etapas de descomposición. Se inicia con la perdida de aguas de hidratación61 o humedad a 44.21, también se observan picos endotérmicos que se pueden atribuir a la pérdida de agua coordinada al ion metálico a 121.56 °C - 208.97°C con un porcentaje de pérdida de masa experimental de 88.52%, concordando con el porcentaje de pérdida de masa teórica a 88.65%.

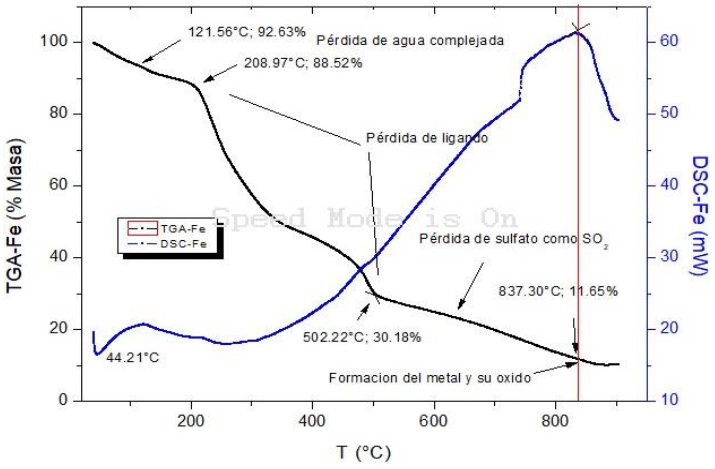


Figura 2. Termograma del complejo de hierro

Por tanto, asumiendo que la presencia de humedad en la muestra es despreciable, se tendría que el complejo tiene 1 moléculas de agua de hidratación y 2 de complejación. La pérdida de masa entre 208.97°C y 502.22°C, se puede atribuir a la pérdida del híbrido, pues el valor teórico es 31.90% y el valor experimental es 30.18%. La diferencia entre ambos valores debe evaluarse más detalladamente para determinar su causa. Finalmente, a 837.30°C se observa lo que, en porcentaje de masa, se podría atribuir a la presencia de hierro metálico, pues los valores experimental y teórico son 11.65% y 11.72%, respectivamente (Tabla 5).

% Calculado del metal:

Masa del complejo (454.13) → 100%
Masa del metal Co (58.93) → 11.72%

Tabla 5. Datos obtenidos del termograma del complejo de hierro

Componentes	T°(°C)	% Teórico	% Experimental	Δ%
H_2O hidratada	44.21	92.43	92.63	0.20
$2H_2O$ complejada	121.56 - 208.97	88.65	88.52	0.13
Hibrido (IP)	502.22	31.89	30.18	1.71
Metal (Fe)	837.30	11.72	11.65	0.07

Espectroscopía infrarroja de los complejos metálicos

El estudio del espectro infrarrojo del complejo proporciona información sobre la naturaleza de la unión del híbrido (IP) que actúa como un ligando unido al átomo central. En el híbrido (IP) las asignaciones se centran en 8 grupos donadores: anillo de la pirazinamida (N=C), anillo de isoniacida (N=C), amida terciaria (C=O), amida secundaria (C=O), base de schiff (N=C) y amina secundaria (NH); las vibraciones de los enlaces se desplazan a bajas y altas frecuencias cuando se produce la unión del ligando al metal.

El espectro del híbrido (IP) (Figura 4) presenta dos bandas características el grupo amida secundaria (3263 cm^{-1}) y terciaria (3207 cm^{-1}). El espectro del complejo de cobalto se observa la desaparición de los picos N-H con respecto al espectro del híbrido y la disminución de la intensidad de las bandas, esto probablemente debido a la existencia del solapamiento con una banda ancha de hidratación existente en el complejo, la banda característica del H_2O aparece en el espectro del complejo indicando que está hidratada o que se encuentra coordinada con el metal.[5]

Cuando el átomo de nitrógeno del grupo amida está involucrado en una coordinación, disminuye la frecuencia de la tensión N−H[7,8]. El espectro del complejo aparece una banda a 3362 cm^{-1} asignada a NH—N; mientras que en el híbrido esta banda no aparece. Sin embargo, esto no es suficiente para indicar la coordinación del metal con las bandas de N-H del híbrido. En este estudio, también se observan que los picos C-H del híbrido son 3092, 3068 y 3052 cm^{-1} se desplazan a bajas y altas frecuencias con respecto al espectro del complejo de cobalto a 3158, 3057 y 2960 cm^{-1}, respectivamente; es de destacar que esto ha sido también observado por Ramirez[9] y Ferrari[10].

En el espectro del complejo FeIP no se observan los picos N-H del híbrido. Sin embargo, esto no es suficiente para indicar la coordinación del metal con las bandas de N-H del híbrido. Aparece una banda ancha a 3414 cm^{-1} perteneciente al H2O probablemente debido a la hidratación o coordinación con el metal. Los picos C-H del complejo de cobalto se desplazan a 3147, 3057 y 2956 cm^{-1} con respecto al espectro del híbrido como se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Asignaciones de los grupos funcionales del híbrido y el complejo CoIP de v 3600 a 3000 cm^{-1}

Asignación	IP (cm^{-1})	CoIP (cm^{-1})	FeIP
ν(NH)	-----	3362	-----
	3263	-----	-----
	3207	-----	-----
ν(CH)	3092	3158	3147
	3068	3057	3057
	3052	2960	2956

Los puntos de coordinación involucrados en esta región son el oxígeno del grupo carbonilo (C=O) y el N de los dos anillos aromáticos del híbrido y de la base de schiff N=C. Cuando el grupo carbonilo está coordinando su frecuencia de tensión disminuye con respecto al ligando libre[7,11,12.] El espectro del complejo la banda del grupo carbonilo de la amida secundaria se encuentra a menores frecuencias desplazándose 1679 cm^{-1} con respecto al híbrido, mientras que la amida terciaria se desplaza solo 1659 cm^{-1}. Por ende, podemos indicar en la Figura 3 la formación del enlace metal-ligando.

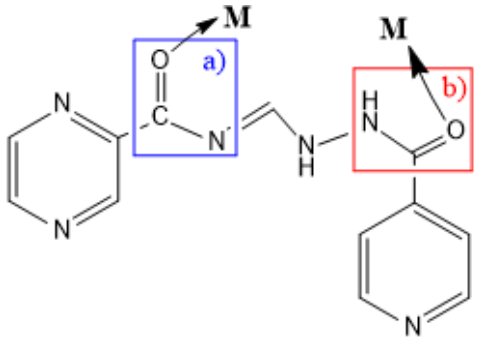


Figura 3. Estructura química del híbrido. Posibles coordinaciones con el metal a) amida terciaria o b) amida secundaria

La banda de base de schiff C=N en el espectro CoIP se desplaza a 1625 cm^{-1} disminuyendo la intensidad de la banda. En el espectro del híbrido IP (Figura 4) se aprecia una banda NH, esta se desplaza a menores frecuencias en el espectro de CoIP indicando que este pico está involucrado en la coordinación. La banda CO-N en el espectro de CoIP se desplaza 1371 cm^{-1} con respecto al híbrido; lo que nos proporciona un indicio de que el nitrógeno puede estar enlazado al metal. Por otro lado, también la banda NH se desplazó 1521 cm^{-1} en el espectro del complejo.

En el espectro del complejo de hierro (Figura 4) presenta dos bandas asignadas al grupo carbonilo de la amida secundaria y terciaria ambas desplazándose 1680 y 1661 cm^{-1} con respecto al híbrido. La banda de base de schiff C=N disminuye significativamente la intensidad del pico y se desplaza a 1628 cm^{-1}, lo que puede atribuirse al enlace metal-ligando o al solapamiento que le origina la banda de la amida terciaria. Además, la banda asignada como CO-N se desplaza 1368 cm^{-1} con respecto al híbrido lo que muestra que este grupo participa en la coordinación al metal. La banda C-N tiene dos picos

característicos el primero se desplazó 1300 cm^{-1}, mientras que el segundo pico no aparece, como se muestra en la Tabla 7.

Tabla 7. Asignaciones de los grupos funcionales del ligando y de los complejos de 1700 a 1200 cm^{-1}

Asignación	IP (cm^{-1})	CoIP (cm^{-1})	FeIP (cm^{-1})
ν(C=O)sec.	1687	1679	1680
ν(C=O)ter.	1654	1659	1661
ν(N=C)schiff	1620	1625	1628
ν(NH)	1548	1521	1548
ν(CO-N)	1341	1371	1368
ν(=C-N)	1303	1306	1300

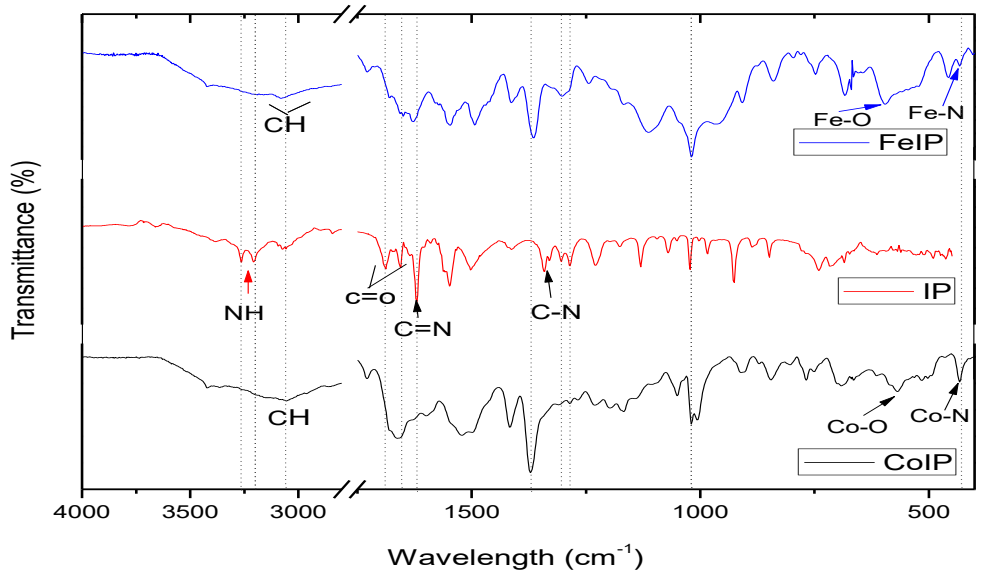


Figura 4. Comparación de los espectros FT-IR del híbrido y complejos metálicos

En el espectro del complejo CoIP la banda N-N se desplazó 1198 cm^{-1} indicando su posible participación en la coordinación al metal. De la misma manera exhiben dos bandas CH desplazadas 906 y 765 cm^{-1} con respecto a las bandas del ligando en C-H a 926 y 739 cm^{-1} respectivamente. Según la literatura[13,14] y en este estudio concuerda la presencia de las bandas de los enlaces Co-O a 565 cm^{-1} y Co-N a 430 cm^{-1}.

En el espectro del complejo FeIP la banda N-N se desplazó significativamente 1198 cm^{-1} con respecto al espectro IP, indicando su participación en la coordinación del metal. Así mismo, la banda C-N del anillo heteroaromático se desplazó 1132 cm^{-1}. El espectro del complejo FeIP exhibe dos bandas CH desplazándose 25 y 8 cm^{-1} con respecto a las bandas del ligando que aparecen en 926 y 739 cm^{-1} respectivamente. Numerosas investigaciones[11,12,13,14,15] y en este estudio concuerda con los picos de los enlaces Fe-O a 568 cm^{-1} y Fe-N a 433 cm^{-1} (Tabla 8). Según la literatura[8], se aprecia bandas del sulfato a 691 cm^{-1}.

Tabla 8. Asignaciones de los grupos funcionales del ligando y de los complejos de 1200 a 400 cm^{-1}

Asignación	IP (cm^{-1})	CoIP (cm^{-1})	FeIP (cm^{-1})
ν(N-N)	1171	1198	1198
ν(N-C)ring INH	1130	1136	1132
ν1(SO4)	----	-----	1112
ν(C-C)	1070	1055	----
ν(N-C)ring PZA	1022	1019	1019
ν2(SO4)	----	----	969
ν(C-H)	926	906	901
	739	765	747
ν(Fe-O)	----	-----	593
ν(Co-O)		565	----
ν3(SO4)	----	---	457
ν(Fe-N)	----	---	433
ν(Co-N)	----	430	----

Espectroscopía Raman de los complejos metálicos

El espectro Raman muestra modos de frecuencia experimentando un desplazamiento bajo o alto. El espectro del complejo de Co (Figura 5) presenta desplazamiento de algunas bandas del híbrido. En los espectros de los complejos metálicos las bandas que corresponde a la amida secundaria y terciaria se desplazan 1660 y 1637 cm^{-1} respectivamente con respecto a las observadas en el híbrido, lo que indicaría que existe formación del enlace metal-ligando. La banda de la base de schiff N=C se desplazó a menor frecuencia y aparece en 1559 cm^{-1}. En la Tabla 9 se muestra las bandas del híbrido (IP) y de los complejos metálicos.

Tabla 9. Identificación de las bandas del complejo metálico e IP

Asignación	IP (cm-1)	CoIP (cm^{-1})	FeIP (cm^{-1})
ν(C=O)amida sec.	1653	-----	1660
ν(C=O)amida ter.	1595	1589	1637
ν(N=C)schiff	1566	----	1559
ν(NH)	1523	1525	1522
ν(=C-N)	1305	1289	1296
	1265	1266	---
ν(N-N)	1105	1104	----
ν(C-N)anillo PZA	1015	1018	----
ν(NH)	621	----	----

En el espectro del complejo de cobalto presenta una banda de la amida terciaria C=O a menores frecuencias 1589 cm^{-1} con respecto al híbrido. Torregiari[15] indica que al desaparecer la banda de la amida hay formación del enlace metal-ligando, mientras que en nuestro estudio la banda de la amida secundaria desaparece. La banda de base de schiff N=C desaparece tras la formación del complejo. Observando la formación una banda ancha por lo que tal vez existe un solapamiento con la banda del carbonilo. En caso de la banda N-H de la amida, hay un ligero desplazamiento a 1525 cm^{-1}.

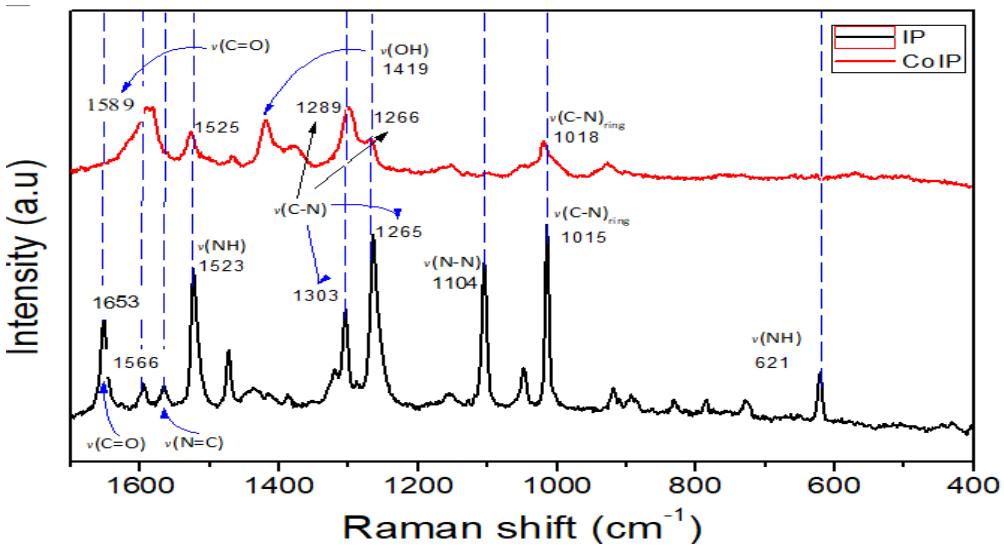


Figura 5. Comparación de los espectros Raman del híbrido IP y el complejo de cobalto CoIP

Por otro lado, existe un ligero desplazamiento de 1018 cm^{-1} de las bandas de C-N de los anillos aromáticos de pirazinamida e isoniacida mostrando que no forman parte del enlace metal-ligando. En el espectro de híbrido (IP) la banda de tensión de NH a 621 cm^{-1}, ya no se observa en el espectro del complejo.

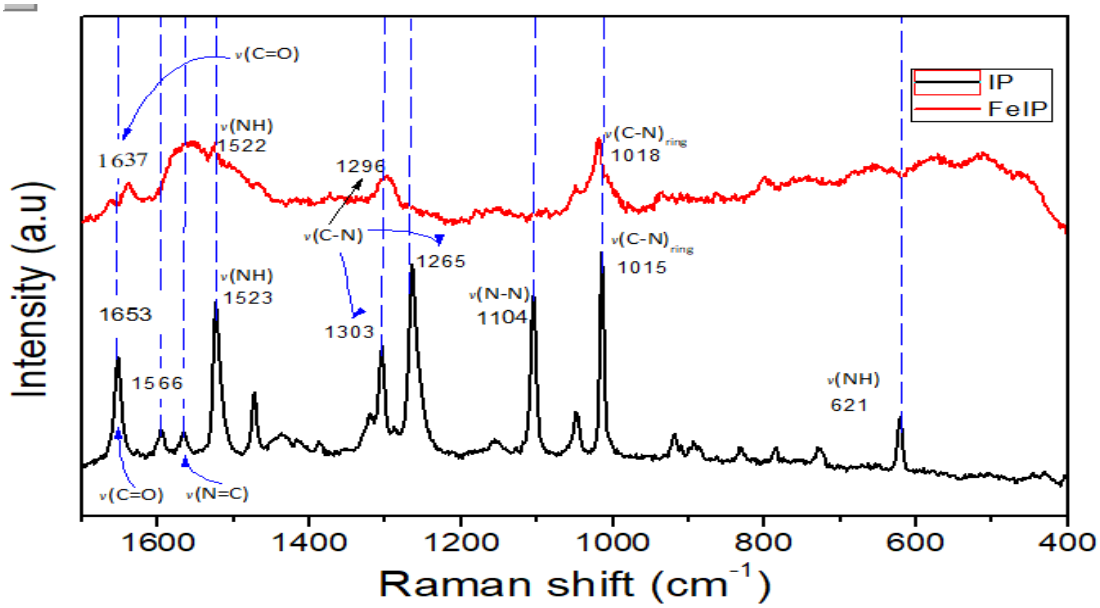


Figura 6. Espectros Raman de IP y complejo de hierro FeIP.

Para el enlace de unión C-N de los fármacos libres (pirazinamida e isoniacida) se presentó en 1303 y 1265 cm^{-1} en el híbrido mientras que en el complejo se desplazó 1296 cm^{-1}. Las bandas N-N, C-N y v2NH del híbrido ya no se observan más en el espectro del complejo de hierro (Figura 6). Además, no se puede apreciar las bandas de sulfato en el espectro Raman como en el espectro infrarrojo, ya que probablemente exista un solapamiento con las otras bandas.

Espectroscopía UV-Visible

El espectro del híbrido (línea azul) (Figura 7) presenta dos bandas, la primera a 214 nm (transición π -> π*) y la segunda a 278 nm (n -> π*), se puede atribuir a la presencia de heteroátomos y grupos sustituyentes con capacidad de donar sus electrones libres al anillo aromático. El espectro del complejo de Co (II) (línea negra) (Figura 7) la primera banda (210 nm) y segunda banda (267 nm) se desplazan a menores frecuencias con respecto al híbrido.
La banda del complejo se encuentra 434 nm donde probablemente el metal se encuentra coordinado a los grupos C=O ó C=N del híbrido. En la Figura 7 se muestra que la formación del complejo metálico provocó desplazamientos con respecto a las bandas del híbrido.

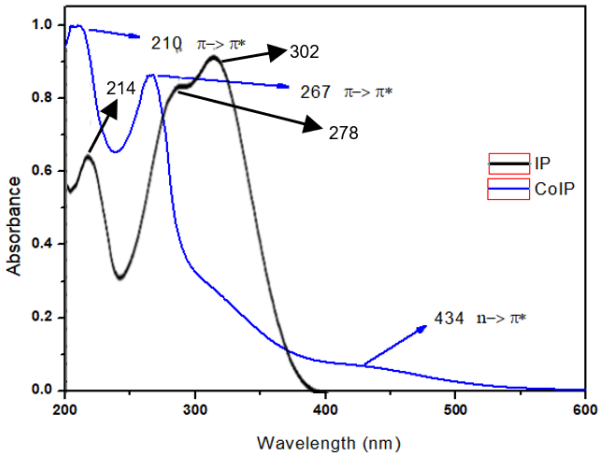


Figura 7. Espectro UV-Visible del híbrido IP y del complejo de Cobalto

En el espectro del complejo de hierro (línea negra) (Figura 8) se presentan 3 bandas, la primera y la segunda banda se generan debido a la presencia de heteroátomos y grupos sustituyentes con capacidad de donar sus electrones libres el anillo aromático desplazándose a menor longitud de onda 4 y 11 nm respectivamente. La tercera banda se encuentra a 313 nm desplazándose 11 nm con respecto al híbrido, mostrando la probable participación en la coordinación al metal; concordando con los datos de Taylor[16] y Kosasy[17] que sintetizaron complejos metálicos con grupos C=O y C=N presentes en el híbrido, esto nos indica que el metal se está enlazando con esos grupos.
Kamounah[18] y Herzfeld[19] han descrito los espectros de numerosos complejos de metales de transición que contienen diferentes ligandos de base de schiff.

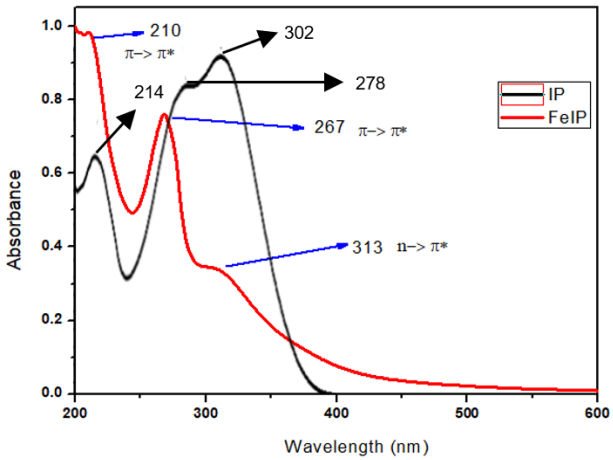


Figura 8. Espectro UV-Visible de lP y FeIP

Las bandas observadas en ambos espectros de los complejos metálicos presentan transiciones de n-> π *, transiciones de energía grande a menor longitud de onda por ello en ambos espectros UV-Vis no sobrepasa los 500 nm, tal vez debido a la naturaleza del ligando de campo fuerte generando transiciones de gran energía. Debido a los desplazamientos de las bandas nos indica que hay un indicio de la formación de los complejos metálicos en comparación del híbrido.

Estructura propuesta para los complejos metálicos

Tomando en cuenta la información extraída del análisis elemental, las técnicas espectroscópicas y termogravimetría, los complejos metálicos con fórmula: $[Co(C_{12}H_{10}N_6O_2)(H2O)Cl]Cl.2H_2O$ y $[Fe(C_{12}H_{10}N_6O_2)(H_2O)2]SO_4.H_2O$ (Figura 9 y 10, respectivamente)

En el complejo CoIP presenta una estructura octaédrica donde el análisis elemental coincide con la presencia de dos cloros en la estructura del compuesto de coordinación. Además, la prueba de conductividad eléctrica evidencia un ion cloruro como contraión y otro como coordinado al átomo central. En diversos trabajos de investigación se reporta al cobalto(II) con un número de coordinación igual a 6, el hibrido (IP) actúa como un ligando unido por cuatro puntos de coordinación, dando lugar a que los otros dos puntos de coordinación esten ocupados por un cloro coordinado al átomo central y una molécula de agua de coordinación, esta propuesta se corroboró en el análisis termogravimétrico que evidencia la perdida de una sola molécula de agua de coordinación en el rango de temperatura de 120 a 160 °C.

Por otro lado, el complejo FeIP está coordinado con 2 moléculas de agua. En ambos complejos contiene dos moléculas de agua de hidratación. FT-IR nos indica que por la amida secundaria (C=O) se desplaza a menor frecuencias, el pico N-N se desplaza a mayor frecuencia, el pico C-N se desplaza a mayor frecuencia y muestra picos característicos al enlace Co-N y Co-O.

Espectroscopía Raman en el espectro la banda de la amida secundaria y base de schiff desaparece. El análisis elemental y la conductividad nos proporciona información de la formula química propuesta. Así mismo el TGA.

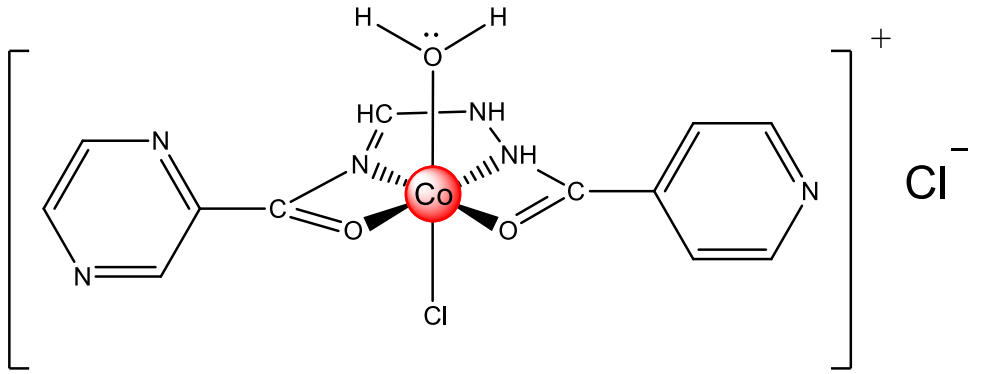


Figura 9. Propuesta de la estructura molecular del complejo Co-IP

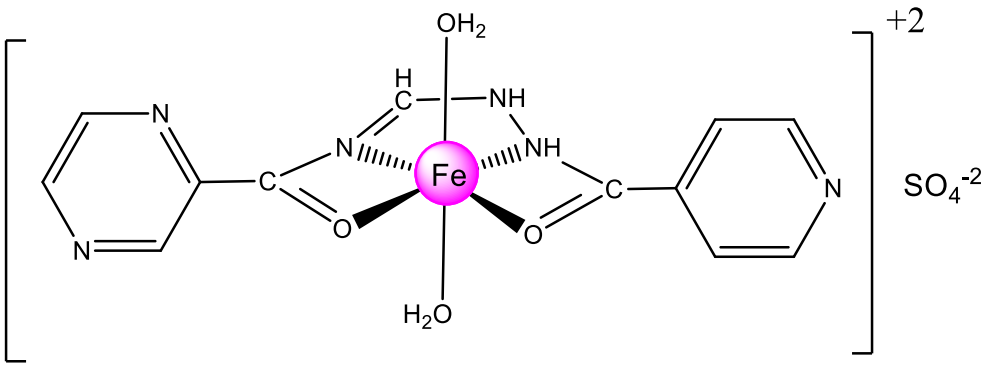


Figura 10. Propuesta de la estructura molecular del complejo Fe-IP

Evaluación de la actividad biológica

De acuerdo con los resultados de TEMA, la actividad antimicrobiana de pirazinamida fue desarrollado a un pH 6 y pH 6.7; siguiendo el método de Ensayo de microplaca de tetrazolio para la viabilidad celular (TEMA) de acuerdo con Luz Caviedes[20]

En la Tabla 10, se observa que la pirazinamida no afectó de manera absoluta el crecimiento de las micobacterias a pH 6.7. Sin embargo, se podría mencionar que las bacterias depositadas en los pozos con pirazinamida mayor o igual a 0.8 ug/mL podrían haber sido afectadas en alguna vía de señalización de la respiración celular.

Se observa el cambio de color con tetrazolio hasta 0.025 mM en la sal de cloruro de cobalto, las micobacterias no crecieron y tampoco se observó viraje de color; dicha concentración inhibe completamente el crecimiento de las micobacterias a pH 6.7 El compuesto sulfato ferroso tuvo efecto sobre la respiración celular a 3.25 mM, mas no inhibió el crecimiento. Cabe señalar que hubo precipitación de este compuesto, probablemente por la presencia de BSA en el medio de cultivo.

El complejo de hierro y el híbrido IP redujeron el crecimiento de las micobacterias a partir de 0.025 mM, similar a isoniazida, y tampoco se observó viraje de color a partir de dicha concentración. A diferencia de la respuesta del híbrido IP a pH 6.7, este compuesto inhibió drásticamente el crecimiento de las micobacterias a partir de 0.013 mM y no se

observó viraje de color a partir de 0.013 mM. La diferencia de la respuesta de crecimiento es explicada por el pH ácido (6.0), y se puede mencionar que esta condición favorece la acción de los compuestos.
Los valores de concentración mínima inhibitoria (Tabla 10) fueron considerados aquellas concentraciones con las que se inhibió la multiplicación de las micobacterias. Los valores con símbolo > son las de mayor concentración con respecto a un determinado compuesto que, probablemente empleando mayores concentraciones se lograría inhibir el crecimiento, y los valores con símbolo < son las de menor concentración del compuesto, lo que significa que a concentraciones menores tales compuestos podrían inhibir el crecimiento. Para la reacción negativa de viraje con tetrazolio, se consideraron los puntos de concentración del compuesto en el que no se observó cambio de color de amarillo ámbar a púrpura o azul violeta.

Tabla 10. Determinación de Concentración Mínima Inhibitoria y Reacción negativa de viraje de color con tetrazolio a pH 6.0 y 6.7 de los compuestos precursores de pirazinamida**.**

Compuesto	Concentración Mínima Inhibitoria (mM)	Reacción negativa de viraje con tetrazolio	Concentración Mínima Inhibitoria (mM)	Reacción negativa de viraje con tetrazolio	OBSERVACIONES
	a pH 6.0		a pH 6.7		
Cloruro de cobalto	ND	ND	0.2	0.05	
Complejo de cobalto	ND	ND	<0.025	0.025	
Híbrido IP	<0.013	0.013	0.025	0.025	
Sulfato ferroso	ND	ND	>3.25	3.25	Precipitación >3.25 mM
Complejo de hierro	ND	ND	1.63	0.025	

ND: No Determinado.

CONCLUSIONES

Se obtuvieron los complejos de Co(II) y Fe(II) con el hibrido pirazinamida-isoniacida; Adaptándose a los parámetros de atmosfera inerte, temperatura, relación molar metal: ligando (1:2) bajo estas condiciones se obtiene mayor rendimiento (30% más) y se evita la oxidación del metal. Las fórmulas moleculares propuestas con base en los resultados de la caracterización para los complejos fueron $[Co(C_{12}H_{10}N_6O_2)(H_2O)Cl]Cl.2H_2O$) para el complejo Co-IP y $[Fe(C_{12}H_{10}N_6O_2)(H_2O)_2]SO_4.H_2O$ para el complejo Fe-IP, en ambos complejos el centro metálico del metal se encuentra en un entorno octaédrico donde las moléculas del hibrido IP se ubican en el plano horizontal y los ligandos cloro y sulfato en

el plano axial de la molécula. La Evaluación de la actividad biológica del Complejo de cobalto $[Co(C_{12}H_{10}N_6O_2)(H_2O)Cl]Cl.2H_2O)$ e híbrido pirazinamida-isoniacida ($C_{12}H_{10}N_6O_2$) inhibieron el crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv a concentraciones inferiores 0.025 y 0.8 respectivamente en comparación con la concentración mínima inhibitoria de Pirazinamida, lo cual demuestra que la actividad antituberculosa de la pirazinamida aumenta cuando se encuentra enlazada al metal.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue financiado mediante el acuerdo de gestión N° 208-2015-FONDECYT al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional de Ingeniería. Agradecemos a la Dra. Maribel Navarro Acosta (Laboratorio de Bioinorgánica y Catálisis, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil) quien registró los espectros y el análisis elemental significativo, tanto en la investigación, como en la redacción del artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Tuberculosis. [Internet]. 2022 [Consultado 14 mayo 2024]. Disponible en: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis
2. Aguilar O, Castro R, Sánchez J, Lopez H, Barba N. Quimica inorganica medicinal: Vanadio, platino, oro. Educ Quím. 2012; 23(1), 33-40.
3. Mendoza A, Gotuzzo E. Extremely resistant tuberculosis, history and current situation. Acta Med Per. 2008; 25(4): 236-246.
4. García Velho R. Medidas de condutividade na caracterização de complexos inorgânicos : um levantamento bibliográfico. [Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas e da Terra)]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2006.
5. Geary J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds. Coord Chem Rev. 1991; 7 (1): 81-122.
6. Herzfeld R, Nagy P. Roles of the Acidity and Basicity of the Solvent in the Solvent Effect Observed in the Absorption Spectra of Certatn Types of Schiff Bases. Spectrosc Lett. 1999; 32(1), 57-71.
7. Socrates G. Infrared and Raman characteristic group frequencies tables and charts. Third edition. Chichester, UK: J. Wiley and Sons; 2001.
8. Nakamoto K. Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds: Part B: Applications in Coordination, Organometallic, and Bioinorganic Chemistry. 6th edition. Chichester, UK: J. Wiley and Sons; 2009. doi: 10.1002/9780470405888.
9. Ramírez RI, Aliaga CM, Grandez F, Brillo P, Zimic MJ, Cauna Y, et al. Pyrazinamide–isoniazid hy-brid: synthesis optimisation, characterisation, and antitu-berculous activity. Rev Colomb Quim. 2022; 50(3): 16-23.
10. Ferraresi-Curotto V, Eccheverria G, Piro O. Synthesis and characterization of a series of isoniazid hydrazones. Spectroscopic and theoretical study. J Mol Struct. 2016; 1133: 436-447.

11. Bhatia S, Kaushik NK, Sodhi GS. Studies on organomercury(II) complexes of isoniazid. J Inorg Biochem. 1987 Mar;29(3):181-6.
12. Bamigboye MO, Obaleye JA, Lawal M, Yakubu A. Synthesis, characterization and antimicrobial study of mixed isoniazid- pyridoxine metal drug complexes. Nat Sci. 2012; 10(8), 103–105.
13. Zinner LB, Crotty DE, Anderson TJ, Glick MD. Synthesis and Structure of Complexes of Lanthanide Nitrates and Isonicotinic Acid Hydrazide. Inorg Chem Commun. 1979; 18(7): 2045–2048.
14. Ali M, Qader SA, Shahid F, Arayne MS, Mumtaz M. Synthesis, characterization and enzyme inhibitory activity of new pyrazinamide iron complexes. Pak J Pharm Sci. 2017 May;30(3):825-831.
15. Torreggiani A, Taddei P, Fini G. Characterization of Dioxygenated Cobalt (II)–Carnosine Complexes by Raman and IR Spectroscopy. Biopolymers. 2002;67(1):70-81.
16. Kishore D, Kumar D. Cadmium and tin complexes of Schiff-base ligands. J Coord Chem. 2011; 64, 2130-2156.
17. El kosasy AM, Ghonim OAA, Ayada MF, Abdel-Fattah LE. Spectrophotometric kaand potentiometric determination of the stability constant of pyrazinamide-Fe(III) binary complex. ACAIJ. 2011; 10(3), 165–169.
18. Kamounah FS, Salman SR, Mahmoud A. Substitution and solvent effect of some substituted hydroxy Schiff bases. Spectrosc Lett. 1998; 31(7), 1557-1567.
19. Herzfeld R, Nagy P. Roles of the Acidity and Basicity of the Solvent in the Solvent Effect Observed in the Absorption Spectra of Certatn Types of Schiff Bases. Spectrosc Lett. 1999; 32(1), 57-71.
20. Caviedes L, Delgado J, Gilman RH. Tetrazolium microplate assay as a rapid and inexpensive colorimetric method for determination of antibiotic susceptibility of Mycobacterium tuberculosis. J Clin Microbiol. 2002 May;40(5):1873-4.