



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE NUEVOS COMPUESTOS DE COORDINACIÓN CON ACTIVIDAD CITOTÓXICA.

Carlos Y. Fernández

Tesis de Doctorado

Presentada como uno de los requisitos para el título de Doctor.

Programa de Posgrado en Química de la Facultad de Química

Universidad de la República.

Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas.

Septiembre, 2023.

Síntesis y caracterización estructural de nuevos compuestos de coordinación con actividad citotóxica.

Tribunal:

Dra. Lucia Otero

Dra. Carolina Mendoza

Dra. Ana Di Virgilio

Dra. Gianella Facchin, Directora

Dr, Antonio J. Costa-Filho, Codirector

Síntesis y caracterización estructural de nuevos compuestos de coordinación con actividad citotóxica.

Carlos Y. Fernández.

Programa de Posgrado en Química de la Facultad de Química

Universidad de la República

2023

DIRECTORA: Gianella Facchin

CODIRECTOR: Antonio J. Costa-Filho

**(Área Química Inorgánica, Departamento Estrella Campos, Facultad de Química,
Universidad de la República)**

AGRADECIMIENTOS.

En primer lugar, a mi directora de tesis Gianella Facchin por la paciencia en este tiempo, por abrirme las puertas a esta oportunidad y guiarme a tomar las decisiones correctas para mi crecimiento como profesional.

A mi codirector, Antonio J. Costa-Filho por abrirme las puertas de su laboratorio y hacerme sentir parte del grupo desde el primer día.

A mis compañeros y compañeras del grupo de investigación actualmente y los que han estado. Principalmente a Natalia, por la paciencia en ayudarme a explicar la parte cristalográfica y siempre estar dispuesta a darme una mano en este tiempo.

A mis compañeros y compañeras de la Cátedra de Inorgánica y de Facultad de Química por los momentos compartidos y el apoyo en el proceso de esta tesis. En especial a Fery, Vale, Emi, Grysette y el Parce.

A todos los miembros del grupo del Laboratorio de Biofísica Molecular del Departamento de Física de la Facultad de Filosofía, Ciencias y Letras de Ribeirão Preto, de la Universidad de São Paulo (USP). Especialmente a Felipe, Bruno y Emanuel.

Al prof. Javier Ellena por haberme recibido 5 meses en su laboratorio y los estudios de DRX realizados para el desarrollo de este trabajo y a los estudiantes del Laboratorio de Cristalografía del Instituto de Física de São Carlos, USP de ese periodo. En especial a Juan y Matheus.

Al prof. Alzir Batista del Laboratorio de Bioinorgánica de la Universidad Federal de São Carlos (UFSCar), por recibirme en su laboratorio y a Analu Rocha por el apoyo brindado en la realización de las medidas de citotoxicidad *in vitro* presentadas en este trabajo.

A la Facultad de Química y a la Universidad de la República. A las instituciones financiadoras que permitieron el desarrollo de este trabajo mediante la otorgación de becas, proyectos y pasantías. Entre ellas se encuentran el Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas, la Comisión Sectorial de Investigación Científica, la Comisión Académica de Posgrado de la UdelaR, la Asociación de Universidades del Grupo Montevideo, la Agencia Nacional de Investigación e Innovación y la agencia de Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nivel superior.

A mi mamá y mi hermana, quienes a la distancia vivieron este proceso como si estuvieran aquí a mi lado dándome su apoyo y palabras de motivación. A mis tíos Félix y Ale, a mi tía Nina y a mi abuela Rosa por siempre estar ahí como mis padres y unas madres más para mí. A mis primos y primas que a pesar de la distancia siempre supieron sacarme una sonrisa. A Emilia por impulsarme a tomar esta decisión y a Richard por confiar en mí y no dudar en darme la mano cuando más lo necesitaba.

A Wendy quien ha sido mi compañera en gran parte de este proceso en los momentos de estrés y felicidad, alegrándose más que yo por mis logros.

Finalmente, a mis amigos fuera de la vida académica, por la compañía y desconexión cada vez que lo necesité.

RESUMEN

El Trabajo de Tesis de Doctorado se basa en el desarrollo de nuevos compuestos de coordinación usando como centro metálico Cu(II) y Ga(III), ligandos derivados de la 1,10-fenantrolina (NN) y coligandos aniónicos en busca de otorgar estabilidad a los complejos sintetizados y que permitan modular las propiedades fisicoquímicas de los complejos teniendo como objetivo principal compuestos que presentan actividad citotóxica ante líneas celulares tumorales. Se obtuvieron: 3 complejos homolépticos de Cu(II) de la forma $[Cu_2(\text{fenilcarboxilato})_4]$ (**CuLn**) con los ligandos aniónicos ácido 3-(4-hidroxifenil)propanoico (**L1**), ácido fenilpropanoico (**L2**) y ácido fenilacético (**L3**), 18 complejos heterolépticos de Cu(II) de la forma $[Cu_nCl_n(\text{fenilcarboxilato})_n(\text{NN})_n]$ con los ligandos derivados de la 1,10-fenantrolina y los ácidos fenilcarboxílicos previamente mencionados y 3 complejos homolépticos de Ga(III) de la forma $[Ga_n(\text{dipéptido})_n(\text{NO}_3)_n]$ usando como ligandos aniónicos los dipéptidos L-Gly-Val, L-Gly-Phe y L-Ala-Phe y de la forma $[Ga_n(\text{fenilcarboxilato})_n(\text{NO}_3)_n]$ con los ácidos fenilcarboxílicos previamente mencionados. Los complejos fueron caracterizados en estado sólido y solución por técnicas espectroscópicas a partir de las cuales se pudo proponer fórmulas para los complejos en estado sólido y posible entorno de coordinación de la especie mayoritaria en solución. Se estudió la interacción de los complejos con el ADN a partir de determinación de la constante de unión, estudios de dicroísmo circular y variación de viscosidad, concluyendo que los complejos interactúan por unión a los surcos del ADN. Para un grupo seleccionado de los complejos heterolépticos de Cu(II) se estudió el modo de interacción con modelos de membranas fosfolipídicas por calorimetría diferencial de barrido y espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica (EPR) usando marcadores de espín, a partir de este estudio se determinó que los complejos no penetran la membrana y la interacción se da de forma superficial. Finalmente se estudió la actividad citotóxica *in vitro* de los complejos en diferentes líneas celulares tumorales y no tumorales, en el caso de los complejos homolépticos de Cu(II) se estudió en las líneas celulares MDA-MB-231 (adenocarcinoma de mama metastásico humano, triple negativo), MCF-7 (adenocarcinoma de mama metastásico humano), A549 (carcinoma humano epitelial de pulmón), A278cis (carcinoma humano de ovario, resistente al cisplatino) y la línea celular no tumoral, MRC-5 (de pulmón) obteniéndose valores de $IC_{50} > 50 \mu\text{M}$ para los complejos en la mayoría de las líneas celulares estudiadas con excepción a la línea A278cis para la cual se obtuvieron valores de IC_{50} de 26,80 (**CuL1**), 13,50 (**CuL2**) y 7,85 (**CuL3**) μM pudiendo clasificarlos como agentes citotóxicos. En el caso de los complejos heterolépticos de Cu(II), se usaron las líneas de MDA-MB-231, MCF-7, A549 y líneas celulares no tumorales, MRC-5 y MCF-10A (de mama) obteniendo valores de IC_{50} menores a 10 μM clasificando así como potentes agentes citotóxicos, siendo el complejo $[CuCl(\text{fenilpropanoato})(\text{neocuproína})]0,5H_2O$ el complejo con mayor citotoxicidad y mayor índice de selectividad en las líneas tumorales estudiadas. Los complejos homolépticos de Ga(III) con dipéptidos fueron estudiados en la línea MCF-7, para los que se obtuvieron valores de IC_{50} entre 120 y 30 μM obteniendo mayor citotoxicidad que para los complejos análogos de Cu(II) estudiados previamente por el grupo en esta línea tumoral.

ÍNDICE

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN.....	19
1.1 ANTECEDENTES.....	20
1.2. OBJETIVOS DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN.	25
1.2.1 Objetivo general.	25
1.2.2 Objetivos específicos.....	25
1.3. MÉTODOS PARA LA CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPLEJOS EN ESTADO SÓLIDO Y SOLUCIÓN.	26
1.3.1 CARACTERIZACIÓN EN ESTADO SÓLIDO DE LOS COMPLEJOS.....	26
1.3.1.1. DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA CRISTALINA POR DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX).	26
1.3.1.1.1. Análisis de las distorsiones en centros de Cu(II) pentacoordinados.	27
1.3.1.2. ESPECTROSCOPIA INFRRARROJA.	27
1.3.1.2.1. Coordinación de grupo carboxilato.	28
1.3.1.2.2. Coordinación del grupo nitrato.....	28
1.3.1.2.3. Coordinación de piridina, bipyridina y derivados.	29
1.3.1.3. ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA PARAMAGNÉTICA ELECTRÓNICA (EPR).	29
1.3.1.3.1. EPR de complejos de Cu(II) en estado sólido.	30
1.3.2 CARACTERIZACIÓN EN SOLUCIÓN DE LOS COMPLEJOS.....	33
1.3.2.1. ESPECTROSCOPIA ELECTRÓNICA.	33
1.3.2.1.1. Espectros en la región visible de complejos de Cu(II).	33
1.3.2.1.2. Espectros en la región UV de complejos de Cu(II).	34
1.3.2.2 CONDUCTIVIDAD.	34
1.3.2.3 EPR EN SOLUCIÓN DE COMPLEJOS DE Cu(II).	35
1.3.2.4. RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN).	36
1.4. ESTUDIOS DE INTERÉS BIOLÓGICO.	37
1.4.1 Lipofilia.	37
1.4.2 ADN como blanco de acción de compuestos antitumorales y métodos de estudio.	38
1.4.2.1. Interacción de complejos con ADN.	39
1.4.2.2 Determinación de la constante de unión.....	41
1.4.2.3 Estudio del modo de interacción por dicroísmo circular.....	43
1.4.2.4 Estudio del modo de interacción por variación de la viscosidad.	44
1.4.3 Interacción con modelos de membranas fosfolipídicas.....	45

1.4.3.1. Estudios de interacción por calorimetría diferencial de barrido (DSC).	47
1.4.3.2. Estudio de la interacción con modelos de membranas por EPR.	48
1.5. ACTIVIDAD CITOTÓXICA.	48
CAPÍTULO 2: MÉTODOS Y MATERIALES.....	50
2.1 REACTIVOS Y MATERIALES.	51
2.2 SÍNTESIS DE LOS COMPLEJOS.	51
2.2.1 Síntesis de los complejos homolépticos de Cu(II).	51
2.2.2 Síntesis de los complejos heterolépticos de Cu(II).	51
2.2.3 Síntesis de los complejos de Ga(III) con ácidos fenilcarboxílicos.....	53
2.2.4 Síntesis de los complejos homolépticos de Ga(III) con dipéptidos.....	54
2.3 CARACTERIZACIÓN.	54
2.3.1 Caracterización en estado sólido.	54
2.3.1.1 Caracterización analítica y espectroscópica.	54
2.3.1.2 Difracción de Rayos X.	54
2.3.2 Caracterización en solución.....	57
2.3.2.1 Solubilidad de los complejos.....	57
2.3.2.1 Conductividad en solución.	58
2.3.2.2 Caracterización espectroscópica.....	58
2.4 ESTUDIOS DE INTERÉS BIOLÓGICO.	58
2.4.1 Lipofilia.	58
2.4.2 Interacción con ADN.....	59
2.4.2.1 Determinación de la constante de unión mediante espectroscopía electrónica.	59
2.4.2.2 Estudio del modo de interacción mediante dicroísmo circular.	59
2.4.2.3 Estudios del modo de interacción mediante viscosidad.	60
2.4.3 Interacción con modelos de membranas biológicas.	60
2.4.3.1 Estudios de interacción con membranas por medio de calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	60
2.4.3.2 Estudios de interacción con membranas por medio de espectroscopía paramagnética electrónica (EPR).	60
2.4.3.3 Estudios de interacción con membranas por medio de espectroscopía paramagnética electrónica (EPR) usando marcadores de espín.	61
2.5 ACTIVIDAD CITOTÓXICA <i>IN VITRO</i>	61

CAPÍTULO 3: CARACTERIZACIÓN EN ESTADO SÓLIDO DE LOS COMPLEJOS DE Cu(II)	63
3.0 COMPLEJOS OBTENIDOS.	64
3.1 DETERMINACIÓN DE ESTRUCTURAS CRISTALINAS POR DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE MONOCRISTAL	65
3.1.1 Complejos homolépticos.	65
3.2.2 Complejos heterolépticos.	68
3.2.2.1. Análisis de fuerzas intermoleculares y de enlaces de baja energía intramoleculares.	72
3.3 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA.	75
3.3.1 Complejos homolépticos.	75
3.2.2 Complejos heterolépticos.	76
3.3 ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA PARAMAGNÉTICA ELECTRÓNICA (EPR).	81
3.3.1 Complejos heterolépticos.	81
3.4 CONCLUSIONES.	83
CAPÍTULO 4: CARACTERIZACIÓN EN SOLUCIÓN DE LOS COMPLEJOS DE Cu(II)	85
4.1 ESPECTROSCOPIA ELECTRÓNICA.	86
4.1.1 Complejos homolépticos.	86
4.1.2 Complejos heterolépticos.	88
4.2 ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA PARAMAGNÉTICA ELECTRÓNICA (EPR).	92
4.2.1 Complejos heterolépticos	92
4.3 CONDUCTIVIDAD.	94
4.3.1 Complejos homolépticos.	94
4.3.2 Complejos heterolépticos.	94
4.4 CONCLUSIONES.	97
CAPÍTULO 5: CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPLEJOS DE Ga(III)	100
5.1. COMPLEJOS DE Ga(III) CON ÁCIDOS FENILCARBOXÍLICOS.	101
5.1.1 CARACTERIZACIÓN EN ESTADO SÓLIDO.	101
5.1.1.1 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA.	101
5.1.1.3 CONCLUSIONES.	106
5.1.2 CARACTERIZACIÓN EN SOLUCIÓN.	108
5.1.2.1 CONDUCTIVIDAD.	108
5.1.2.2 RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN).	108

5.1.2.3 CONCLUSIONES.....	113
5.2. COMPLEJOS DE Ga(III) CON DIPÉPTIDOS.	114
5.2.1 CARACTERIZACIÓN EN ESTADO SOLIDO.	114
5.2.1.1 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA.	114
5.2.1.2 CONCLUSIONES.....	116
5.2.2 CARACTERIZACIÓN EN SOLUCIÓN.....	118
5.2.2.1 CONDUCTIVIDAD.	118
5.2.2.2 RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN).....	119
5.2.2.3 CONCLUSIONES.....	123
CAPÍTULO 6: ESTUDIOS DE INTERÉS BIOLÓGICO	124
6.1 LIPOFILIA.....	125
6.1.1 Complejos de Cu(II).....	125
6.1.1.1 Complejos homolépticos.	125
6.1.1.2 Complejos heterolépticos.	125
6.1.2 Complejos de Ga(III).....	127
6.2 INTERACCIÓN CON ADN DE LOS COMPLEJOS DE Cu(II).....	128
6.2.1 CONSTANTES DE UNIÓN.....	128
6.2.1.1. Complejos homolépticos.	128
6.2.1.2 Complejos heterolépticos.	128
6.2.2 ESTUDIO DEL MODO DE INTERACCIÓN MEDIANTE DICROÍSMO.....	133
6.2.2.1. Complejos heterolépticos.	133
6.2.3 ESTUDIOS DEL MODO DE INTERACCIÓN POR VARIACIÓN DE VISCOSIDAD.	136
6.2.3.1. Complejos homolépticos.	136
6.2.3.2 Complejos heterolépticos.	137
6.2.4 CONCLUSIONES.....	140
6.3 INTERACCIÓN CON ADN DE LOS COMPLEJOS DE Ga(III).	141
6.3.1 CONSTANTES DE UNIÓN.....	141
6.3.2 ESTUDIOS DEL MODO DE INTERACCIÓN POR VARIACIÓN DE VISCOSIDAD.	142
6.2.3 CONCLUSIONES.....	143
6.4 INTERACCIÓN CON MODELOS DE MEMBRANAS LIPÍDICAS DE LOS COMPLEJOS HETEROLÉPTICOS DE Cu(II).	144

6.4.1 ESTUDIOS DE INTERACCIÓN POR MEDIO DE CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC).....	144
6.4.2 ESTUDIOS DE INTERACCIÓN POR MEDIO DE EPR.....	150
6.4.3 ESTUDIOS DE INTERACCIÓN POR MEDIO DE EPR CON MARCADORES DE ESPÍN.	153
6.4.4 CONCLUSIONES.....	158
CAPÍTULO 7: ACTIVIDAD CITOTÓXICA <i>IN VITRO</i>	159
7.1 Complejos de Cu(II).....	160
7.1.1 Complejos homolépticos.	160
7.1.2 Complejos heterolépticos.	161
7.1.3 CONCLUSIONES.....	165
7.2 Complejos de Ga(III).....	166
7.2.1 CONCLUSIONES.....	167
CAPÍTULO 8: CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	168
8.1 Conclusiones complejos homolépticos de Cu(II).....	169
8.2 Conclusiones complejos heterolépticos de Cu(II).....	169
8.3 Conclusiones complejos de Ga(III).....	169
8.4 Perspectivas complejos de Cu(II).....	170
8.5 Perspectivas complejos de Ga(III).	170
REFERENCIAS.	171

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.0.1. Esquema del complejo [Cu(4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina)(acetilacetionato)(NO ₃)(H ₂ O)]	21
Figura 1.0.2. Esquema de los ligandos diimínicos (NN) usados en el trabajo.	24
Figura 1.0.4. Esquema de los dipéptidos usados en el trabajo.	25
Figura 1.0.5. Esquema para la determinación del descriptor τ en sistemas pentacoordinados. Adaptado de Addison y colaboradores	27
Figura 1.0.6. Modos de coordinación del grupo carboxilato, a) monodentado, b) bidentado y c) puente.	28
Figura 1.0.8. Espectro con simetría axial de complejos de Cu(II) con geometría cuadrada o pirámide de base cuadrada, adaptada de Garribba y colaboradores	30
Figura 1.0.9. Espectro con simetría axial de complejos de Cu(II) con geometría TBP, adaptada de Garribba y colaboradores	31
Figura 1.1.0. Espectro con simetría axial para complejo de Cu(II) con geometría intermediaria TBP, adaptada de Garribba y colaboradores.	31
Figura 1.1.1. Espectro para complejos diméricos de Cu(II) diméricos, adaptada de Gatteschi	32
Figura 1.1.2. Espectro isotrópico de complejos de Cu(II) en polvo cristalino, adaptada de Hathaway y colaboradores	32
Figura 1.1.3. Espectro electrónico para complejo de Cu(II) con puentes carboxilatos	34
Figura 1.1.4. Espectro EPR en solución congelada con simetría axial de complejos monoméricos de Cu(II).	35
Figura 1.1.5. Espectro en solución congelada de complejos con la presencia de dos especies de Cu(II)	36
Figura 1.1.6. Diagrama ORTEP de 50% de probabilidad del complejo [Ga(CH ₂ (CO ₂ Me) ₂) ₃]·3[GaCl ₄] ⁻ reportado por Novikov y colaboradores	37
Figura 1.1.7. Figura cristalina de las principales conformaciones estructurales del ADN	38
Figura 1.1.8. Simulación de la estructura cristalina del aducto Cisplatino-ADN	40
Figura 1.1.9. Simulación de la estructura cristalina de la intercalación al ADN del complejo [Pt(phen)(en)] ²⁺	41
Figura 1.2.0. Espectro de dicroísmo circular de las formas B, C y Z del ADN	43
Figura 1.2.1. Variación de la viscosidad relativa del ADN (expresada como $(\eta/\eta_0)^{1/3}$) en presencia de bromuro de etidio	44
Figura 1.2.2. Composición de las membranas de las células normales y tumorales	45

Figura 1.2.3. Estructura de los lípidos seleccionados para la composición de la membrana estudiada.	46
Figura 1.2.4. Termograma típico de la membrana DPPC/DPPS.....	47
Figura 1.2.5. Termograma del aducto amodiaquina-DPPC/DPPS.....	48
Figura 3.0.2. Representación tipo Ortep con 50% de probabilidad de a) la unidad asimétrica y b) fracción molecular de $[\text{Cu}_2(\text{fenilacetato})_4] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ CuL3	66
Figura 3.0.3. Cadena supramolecular 1D y modos de coordinación de los grupos carboxilatos presentes en el complejo CuL3.	67
Figura 3.0.4. Representación tipo Ortep con 50% de probabilidad y esquema de numeración de la unidad asimétrica del complejo 1P.....	69
Figura 3.0.5. Representación tipo Ortep con 50% de probabilidad y esquema de numeración de la unidad asimétrica para: a) complejo 8N b) complejo 9N.....	70
Figura 3.0.6. Representación tipo Ortep con 50% de probabilidad y esquema de numeración de la unidad asimétrica para el complejo 17BI.	72
Figura 3.0.7. Interacciones intramoleculares $\text{C-H} \cdots \pi$ en el complejo $[\text{Cu}_2(3-(4\text{-hidroxifenil})\text{propanoato})_3(\text{phen})_2]\text{Cl} \cdot 7\text{H}_2\text{O} \cdot \text{EtOH}$ (1P)	73
Figura 3.0.8. Interacciones $\pi \cdots \pi$ en el complejo $[\text{CuCl}(\text{fenilpropanoato})(\text{neo})] \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (8N). L 73	
Figura 3.0.9. Interacciones intramoleculares $\text{C-H} \cdots \pi$ en el complejo $[\text{Cu}_2\text{Cl}(\text{fenilpropanoato})(\text{bipy})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_2 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O} \cdot 2,5\text{EtOH}$ (17BI).....	74
Figura 3.1.0. FT-IR de los complejos homolépticos con los ligandos fenilcarboxílicos.	75
Figura 3.1.1. FT-IR de los complejos heterolépticos sintetizados a partir de fenantrolina.	76
Figura 3.1.2. FT-IR de los complejos heterolépticos sintetizados en este trabajo.	77
Figura 3.1.3. Comparación de los FT-IR de los complejos diméricos 3P 7N y 6M.	78
Figura 3.1.4. Espectros de EPR de los complejos heterolépticos sintetizados en este trabajo.....	82
Figura 3.1.5. Esquema de la estructura para los complejos heterolépticos monoméricos.	83
Figura 3.1.6. Esquema de la estructura para los complejos heterolépticos diméricos.	84
Figura 4.0.1. Espectros electrónicos de los complejos homolépticos de Cu(II) en la región UV en DMSO.	86
Figura 4.0.2. Espectro electrónico del complejo homoléptico de CuL1 en el rango visible.....	87
Figura 4.0.3. Espectros electrónicos de los complejos heterolépticos de Cu(II) en la región UV. 88	
Figura 4.0.4. Espectros electrónicos en solución de los complejos heterolépticos de Cu(II) en el rango visible.	89
Figura 4.0.6. Espectros en soluciones congeladas de DMSO y agua de los complejos heterolépticos de Cu(II).	93

Figura 4.0.7. Esquema de la especie mayoritaria para los complejos homolépticos en solución, siendo X = H ₂ O o DMSO.....	97
Figura 4.0.8. Esquema de la especie mayoritaria para los complejos con entorno 2npv+2ow en solución, siendo X = DMSO o H ₂ O (2P).	98
Figura 4.0.9. Esquema de la especie mayoritaria para los complejos con entorno 2npv+1ow+1oc en solución, siendo X = H ₂ O (3P y 21D).	98
Figura 4.1.0. Esquema de la especie mayoritaria para los complejos con entorno 2npv+2oc en solución, siendo X = DMSO o H ₂ O	98
Figura 5.0.1. FT-IR de los complejos homolépticos de Ga(III) GaL1, GaL2 y GaL3.....	101
Figura 5.0.2. FT-IR del complejo heteroléptico GaP.	103
Figura 5.0.3. Esquema de coordinación propuesto para el complejo GaL1.....	106
Figura 5.0.4. Esquema de coordinación propuesto para el complejo GaL2.....	106
Figura 5.0.5. Esquema de coordinación propuesto para el complejo GaL3.....	106
Figura 5.0.6. Esquema de coordinación propuesto para el complejo GaP.	107
Figura 5.0.8. Espectros ¹ H-RMN: a) ligando L2 y b) del complejo GaL2.	109
Figura 5.0.9. Espectros ¹ H-RMN: a) ligando L3 y b) del complejo GaL3.	110
Figura 5.1.0. Espectros ¹ H-RMN: a) fenantrolina, b) ligando L1 y c) del complejo GaP.	111
Figura 5.1.1. FT-IR de los complejos homolépticos Ga1, Ga2 y Ga3.	114
Figura 5.1.2. Esquema de coordinación propuesto para el complejo Ga1.	116
Figura 5.1.4. Esquema de coordinación propuesto para el complejo Ga3.	117
Figura 5.1.5. Espectros ¹ H-RMN: a) ligando Gly-Val y b) del complejo Ga1.	119
Figura 5.1.6. Espectros ¹ H-RMN: a) ligando Gly-Phe y b) del complejo Ga2.	120
Figura 5.1.7. Espectros ¹ H-RMN: a) ligando Ala-Phe y b) del complejo Ga3.	121
Figura 6.0.1. Espectro de 1P a distintas concentraciones de ADN.	129
Figura 6.0.2. Espectros de dicroísmo circular obtenidos para los complejos heterolépticos de cobre	133
Figura 6.0.3. Perfiles de variación de viscosidad del ADN por agregado de los complejos homolépticos de Cu(II).....	136
Figura 6.0.4. Perfiles de variación de viscosidad relativa del ADN por agregado de los complejos heterolépticos, los complejos Cu-diimina, y el ligando diiminico correspondiente a cada familia.	137
Figura 6.0.5. Perfiles de variación de viscosidad relativa del ADN por agregado de los complejos homolépticos de Ga(III).	142

Figura 6.0.6. Termogramas de DSC del modelo de membrana DPPC/DPPS en presencia de los complejos 1P, 2P y 3P.....	144
Figura 6.0.7. Termogramas de DSC del modelo de membrana DPPC/DPPS en presencia de los complejos 4M, 5M y 6M.....	146
Figura 6.0.8. Termogramas de DSC del modelo de membrana DPPC/DPPS en presencia de los complejos 7N, 8N y 9N.....	148
Figura 6.0.9. Espectros EPR de los complejos 1P, 2P y 3P en solución y en presencia de la membrana DPPC/DPPS a temperatura ambiente.....	150
Figura 6.1.1. Espectros EPR de los complejos 7N, 8N y 9N en solución y en presencia de la membrana DPPC/DPPS a temperatura ambiente.....	151
Figura 6.1.2. Espectros EPR de las membranas DPPC/DPPS marcada con DOPTC y 14-PC en presencia del complejo 8N a temperatura ambiente.....	153
Figura 6.1.3. Espectros EPR de las membranas POPC/POPS y DPPC/DPPG marcada con DOPTC en presencia del complejo 8N a temperatura ambiente.....	154
Figura 6.1.4. Espectros EPR de las membranas DPPC marcada con DOPTC y 14PC en presencia del complejo 8N a temperatura ambiente.....	155
Figura 6.1.5. Espectros EPR de las membranas DPPC/DPPS+Colesterol marcada con DOPTC y 14PC en presencia del complejo 8N a temperatura ambiente.....	156
Figura 6.1.6. Espectros EPR de la Composición A marcada con DOPTC y 14PC en presencia del complejo 8N.....	156

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.0.1. Coeficientes ν_i para la estimación de $\lambda_{\text{máx}}$ en complejos de Cu(II).	33
Tabla 1.0.2. Rango de conductividad molar y de número de iones correspondientes a especies en solución acuosa.	35
Tabla 2.0.1. Complejos homolépticos obtenidos de Cu(II), fórmulas, peso fórmula (PF), rendimientos obtenidos (R%) y resultados del análisis elemental.	51
Tabla 2.0.2. Complejos heterolépticos con fórmula general de Cu(II), rendimientos obtenidos (R%) y el procedimiento para obtención del sólido.	52
Tabla 2.0.3. Peso fórmula (PF) y resultados de análisis elemental de los complejos obtenidos.	52
Tabla 2.0.4. Complejos homolépticos con fórmula general de Ga(III) y rendimientos obtenidos.	53
Tabla 2.0.5. Peso fórmula (PF) y resultados de análisis elemental de los complejos obtenidos.	53
Tabla 2.0.6. Complejos homolépticos obtenidos de Ga(III), fórmulas, peso fórmula (PF), rendimientos obtenidos (R%) y resultados del análisis elemental.	54
Tabla 2.0.7. Datos Cristalográficos y parámetros de los refinamientos finales.	56
Tabla 2.0.8. Solubilidad de los complejos homolépticos de Cu(II) en agua y DMSO.	57
Tabla 2.0.9. Solubilidad de los complejos heterolépticos de Cu(II) en agua y DMSO.	57
Tabla 2.1.0. Solubilidad de los complejos de Ga(III) en agua y DMSO.	58
Tabla 3.0.1. Códigos y fórmulas de los complejos homolépticos de Cu(II).	64
Tabla 3.0.2. Códigos y fórmulas de los complejos heterolépticos de Cu(II).	64
Tabla 3.0.3. Geometrías y entorno de coordinación de cada una de las estructuras cristalinas.	65
Tabla 3.0.4. Distancias de enlace [Å] y ángulos [°] seleccionados de la estructura cristalina para el complejo CuL1.	65
Tabla 3.0.5. Distancias de enlace [Å] y ángulos [°] seleccionados de la estructura cristalina para el complejo CuL3.	67
Tabla 3.0.6. Geometrías y entorno de coordinación de cada una de las estructuras cristalinas.	68
Tabla 3.0.7. Distancias de enlace [Å] y ángulos [°] seleccionados de la estructura cristalina para el complejo 1P.	69
Tabla 3.0.8. Distancias de enlace [Å] y ángulos [°] seleccionados de la estructura cristalina para los complejos 8N y 9N.	71
Tabla 3.0.9. Distancias de enlace [Å] y ángulos [°] seleccionados de la estructura cristalina para el complejo 17BI.	72
Tabla 3.1.0. Principales bandas vibracionales de los complejos homolépticos.	75

Tabla 3.1.1. Principales bandas vibracionales de los complejos heterolépticos y su asignación tentativa.	78
Tabla 4.0.1. Longitud de onda del máximo observado ($\lambda_{\text{máx}}$) y absorptividades molares (ϵ) de los compuestos sintetizados.	87
Tabla 4.0.2. Entorno ecuatorial propuesto para cada uno de los complejos y $\lambda_{\text{máx}}$ calculado,	87
Tabla 4.0.3. Longitud de onda del máximo observado ($\lambda_{\text{máx}}$) y absorptividades molares (ϵ) de los complejos heterolépticos y los complejos Cu-diimina correspondientes, en solución acuosa y DMSO en soluciones de 5 mM.	89
Tabla 4.0.4. Entorno ecuatorial propuesto para cada uno de los complejos y $\lambda_{\text{máx}}$ calculado.	90
Tabla 4.0.6. Conductividad molar en función del tiempo para los complejos homolépticos de Cu(II) obtenidos.	94
Tabla 4.0.7. Conductividad molar para los complejos heterolépticos de Cu(II) obtenidos.	94
Tabla 4.0.9. Especies mayoritarias resumidas para cada uno de los complejos de Cu(II) estudiados.	99
Tabla 5.0.1. Códigos de los complejos de Ga(III) y su fórmula propuesta.	101
Tabla 5.0.2. Principales bandas de absorción de los complejos de Ga(III) y asignación tentativa.	102
Tabla 5.0.3. Principales bandas de absorción del complejo GaP de Ga(III) y su asignación tentativa.	103
Tabla 5.0.4. Conductividad molar de los complejos de Ga(III) obtenidos.	108
Tabla 5.0.5. Códigos de los complejos de Ga(III) y sus fórmulas propuestas.	114
Tabla 5.0.6. Principales bandas de absorción de los complejos de Ga(III) y asignación tentativa.	114
Tabla 5.0.7. Conductividad molar de los complejos de Ga(III).	118
Tabla 6.0.1. Coeficiente de reparto (P) determinado para los complejos homolépticos.	125
Tabla 6.0.2. Coeficiente de reparto (P) determinado y grado de disociación en solución para cada uno de los complejos heterolépticos.	125
Tabla 6.0.3. Coeficiente de reparto (P) determinado para los complejos homolépticos.	127
Tabla 6.0.4. Constantes de unión al ADN obtenidas para los complejos homolépticos.	128
Tabla 6.0.5. Constantes de unión al ADN obtenidas y grado de disociación en solución para cada uno de los complejos heterolépticos.	130
Tabla 6.0.6. Constantes de unión al ADN obtenidas para los complejos homolépticos.	141
Tabla 6.0.7. Temperatura de transición (T_i) y variación de la entalpía asociada a la transición gel-fluido de los lípidos de la membrana en presencia cada uno de los complejos y la membrana libre.	145

Tabla 6.0.8. Temperatura de transición (T_t) y variación de la entalpía asociada a la transición gel-fluido de los lípidos de la membrana en presencia cada uno de los complejos y la membrana libre.	147
Tabla 6.0.9. Temperatura de transición (T_t) y variación de la entalpía asociada a la transición gel-fluido de los lípidos de la membrana en presencia cada uno de los complejos y la membrana libre.	148
Tabla 7.0.1. Actividad citotóxica expresada como IC_{50} a 48 h en cultivos de líneas celulares tumorales y no tumorales de los complejos homolépticos de Cu(II).	160
Tabla 7.0.2. Actividad citotóxica expresada como IC_{50} a 48h en cultivos de líneas celulares tumorales y no tumorales de los complejos de heterolépticos de Cu(II).	161
Tabla 7.0.3. Índices de selectividad de los complejos en las líneas celulares cancerígenas.	163
Tabla 7.0.4. Actividad citotóxica expresada como IC_{50} a 48 h en cultivos de líneas celulares tumorales y no tumorales de los complejos de homolépticos de Ga(III).	166

LISTA DE ABREVIATURAS

phen	1,10-fenantrolina
4met-phen	4-metil-1,10-fenantrolina
neo	2,9-dimetil-1,10-fenantrolina
bato	4,7-difenil-1,10-fenantrolina
batoneo	4,7-difenil-2,9-dimetil-1,10-fenantrolina
bipy	2,2'-bipiridina
dmb	4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina
DPPC	1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina
DPPS	1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoserina
MDA-MB-231	Adenocarcinoma de mama metastásico humano
MCF-7	Adenocarcinoma de mama metastásico humano
A549	Carcinoma humano epitelial de pulmón
MRC-5	Célula humana de pulmón
MCF-10A	Célula humana de mama

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1 ANTECEDENTES.

El cáncer es una enfermedad con una alta prevalencia tanto a nivel mundial como en nuestro país. La Organización Mundial de la Salud estima que en Uruguay se diagnostican 15.000 personas por año con enfermedades oncológicas, siendo la segunda causa de muerte. Por ejemplo, el cáncer de mama, el más frecuente en la mujer, genera 1.800 nuevos diagnósticos y 600 muertes por año [1]. Existen diferentes medidas para la prevención del mismo y/o su diagnóstico temprano que son de elevada utilidad y deben potenciarse. Pero una vez que ocurre un diagnóstico es necesario contar con un conjunto de tratamientos para dar respuesta a los pacientes. La Química Medicinal ha desarrollado tratamientos farmacológicos con posibilidad de ser curativos para diferentes tipos de cáncer, incluso en etapas relativamente avanzadas. Pero lamentablemente aún no es esta la realidad para cada enfermedad oncológica. Por lo tanto, es necesario ampliar el arsenal de medicamentos para su tratamiento, de manera de tener respuestas para más tipos de cáncer, que redunden en más personas curadas o que mejoren su calidad de vida[2].

Una de las áreas del conocimiento que puede aportar moléculas útiles para el tratamiento del cáncer es la Química Inorgánica Medicinal. Esta área, se originó con el descubrimiento de la elevada actividad antitumoral del compuesto de coordinación $\text{cis-}[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$, Cisplatino, que inició una intensa búsqueda de compuestos de coordinación con actividad citotóxica. Se desarrollaron fármacos que se usan en clínica como, además del Cisplatino, los compuestos de segunda generación Carboplatino y Oxalilplatino. Actualmente, gran parte de las quimioterapias incluyen alguno de estos compuestos (aproximadamente 50 %). Estos compuestos permiten un tratamiento pretendido curativo en ciertos tipos de cáncer. Por ejemplo en el tratamiento del cáncer de colon, uno de los más frecuentes, el uso del Oxalilplatino permite alcanzar tasas de curación cercanas al 80 % [2]. El éxito de estos compuestos de coordinación demuestra la utilidad de la investigación en el tema. Ésta se ha realizado fundamentalmente a nivel de universidades u otro tipo de institutos de investigación ya que la industria farmacéutica aún es reticente a la inversión en el desarrollo de esta clase de fármacos [2].

El uso de compuestos de coordinación es una herramienta versátil para el avance en esta área. Los compuestos adquieren nuevas características fisicoquímicas en relación con el metal o al ligando por separado, que les permiten eventualmente presentar diferentes perfiles farmacológicos [3]. También, es común la inclusión de un segundo ligando en el complejo, buscando modular tanto propiedades fisicoquímicas como la solubilidad, o modificar el mecanismo de acción, o agregar posiciones lábiles para la sustitución por ligandos biológicos [4].

Una de las estrategias utilizadas es la búsqueda de nuevos compuestos de metales esenciales, como el Cobre (Cu), ya que para éstos existen vías metabólicas para su almacenamiento y eliminación, permitiendo, en principio, lograr compuestos activos con menores efectos secundarios [3–11]. Además, al tratarse de metales con diferente reactividad química, podrían presentar diferentes mecanismos de acción y nuevos espectros de acción en relación con los compuestos de Pt [4,5]. Diferentes complejos de cobre han sido estudiados con resultados promisorios. El complejo

$[(\text{Cu}(\text{II}))(\text{4,4'}\text{-dimetil-2,2'}\text{-bipiridina})(\text{acetilacetionato})(\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})]$ (Fig. 1.0.1), de la familia Casiopeínas® desarrollado por L. Ruíz y colaboradores, se encuentra en Fase I de estudios clínicos [11,12]. El mecanismo de acción de estos compuestos incluye la determinación de la muerte celular por apoptosis. A su vez, las señales que podrían desencadenar el proceso apoptótico en éstos incluyen la producción de especies radicalarias del oxígeno y degradación del ácido desoxirribonucleico (ADN) celular.

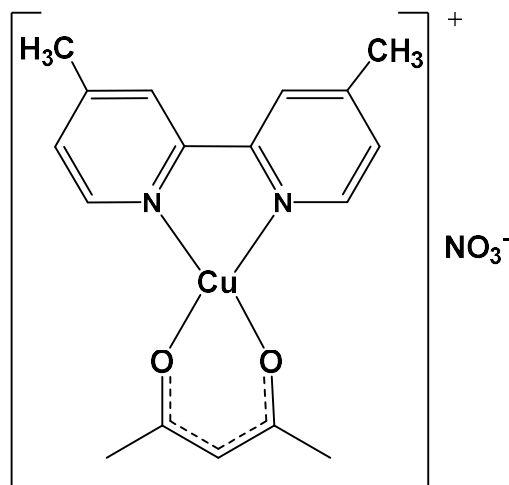


Figura 1.0.1. Esquema del complejo $[\text{Cu}(\text{4,4'}\text{-dimetil-2,2'}\text{-bipiridina})(\text{acetilacetionato})(\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})]$ [11].

Respecto a los mecanismos de acción citotóxica de los complejos de coordinación de Cu la información es aún parcial [13]. Numerosos estudios muestran que los complejos de cobre pueden unirse al ADN aislado, por intercalación o unión a los surcos de la doble hélice [6,14,15]. Éstos a su vez pueden causar la alteración por oxidación de diferentes moléculas presentes a nivel celular como lípidos, proteínas y ADN [5,6,16]. Este proceso se verificó para algunos de los complejos, como los que contienen diiminas aromáticas (NN), con datos obtenidos fundamentalmente *in vitro*. Es de destacar que las células tumorales son especialmente sensibles al daño por ROS [16], por lo que éste podría ser un mecanismo con relativa selectividad hacia las células tumorales. También se ha reportado inhibición de topoisomerasas (I y II) para complejos con oximas, tiosemicarbazonas y pirofosfatos entre otros; e inhibición de la proteasoma como los complejos con ditiocarbamatos [6]. Para un grupo de compuestos de Cu(II) con pirazol-piridinas se estudió también la relación entre el Cu total en células tratadas y la actividad citotóxica. Se encontró que la actividad antiproliferativa es proporcional a la cantidad de Cu total intracelular en las células tratadas con cada compuesto. Se postuló que, en ese grupo de compuestos, los ligandos actuarían como “transportadores de Cu” a través de la membrana de las células. Según dicho estudio el responsable final de la actividad antitumoral es el Cu o sea, las especies catiónicas de Cu presentes a nivel intracelular, no el complejo de coordinación como tal [17]. Considerando esta diversidad de acciones *in vitro* o a nivel celular, aún es necesaria más investigación para conocer el mecanismo

de acción de los complejos de Cu, lo que es de utilidad tanto para su diseño racional, como para el diseño de nuevos tratamientos contra el cáncer que incluyan metalofármacos de Cu.

Otro metal para el cual se han reportado resultados prometedores es el Galio (Ga). El Ga ha demostrado eficacia en el tratamiento de una variedad de trastornos, como: reabsorción ósea acelerada, enfermedades autoinmunes, ciertos cánceres y enfermedades infecciosas [18]. El mismo exhibe actividad antineoplásica en forma de sales simples de Ga(III), tales como el nitrato o el cloruro. Sin embargo, el uso de sales de Ga(III) presenta algunos inconvenientes, relacionados a su toxicidad y su baja biodisponibilidad [19]. En la búsqueda de nuevos agentes antitumorales, la coordinación de Ga con ligandos orgánicos es reconocida como una estrategia prometedora para el desarrollo de nuevos agentes con mayor biodisponibilidad [20].

El potencial farmacológico del galio se evidencia en 1931 con el reporte de que el tartrato de galio es capaz de curar la sífilis en ratones [21]. En relación con el tratamiento del cáncer, se inició el interés en el área por la observación de que el ^{67}Ga (isótopo radioactivo) se localiza en tumores, originando el desarrollo del Citrato de ^{67}Ga como agente imagenológico [22]. Asimismo, esta propiedad del galio condujo a la investigación de compuestos no radioactivos. Hace ya cincuenta años que se encontró que el $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$ presenta actividad antitumoral en ratas, induciendo en algunos casos una supresión total de los tumores [23]. Otras sales simples de galio presentaron actividad similar [24]. Se realizaron estudios clínicos de Fase I y II de la actividad del $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$. Se encontró que es efectivo en el tratamiento del linfoma no Hodgkin y cáncer de vesícula avanzado [25], resistentes a otros tratamientos. Además, se observó que el Ga(III) no produce supresión de la producción de linfocitos, a diferencia de otros tratamientos quimioterápicos. Se encontró también que es útil para el tratamiento de la hipercalcemia asociada al cáncer, uso para el cual está aprobado en Estados Unidos (GaniteR) desde 1990 [26]. Presenta toxicidad renal, que puede ser minimizada con tiempos de infusión intravenosa adecuados y con la correcta hidratación de los pacientes [26]. En relación a su especiación en sangre, el $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$ se encuentra mayoritariamente como galato, especie soluble de rápida excreción renal [27,28]. La toxicidad del $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$ se plantea que está asociada a esta especie [26].

Además de sales simples de galio, en una segunda etapa, se estudiaron complejos de coordinación. Entre ellos, fueron seminales los estudios del maltolato de galio y el quinolinato de galio, los que llegaron a probarse en humanos. Estos complejos presentaron semejanzas en la actividad antitumoral al nitrato de galio, pero no exactamente el mismo perfil. Por ejemplo, el maltolato de galio se puede administrar de manera oral. Una vez absorbido se encuentra en la circulación unido a la transferrina. En relación a su actividad citotóxica, presenta mayor actividad que el $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$ en cultivos celulares y además no presenta resistencia cruzada. Los ensayos *in vivo* en ratones mostraron una alta efectividad en modelos de linfomas de células T y gliomas [18]. En antecedentes, se encuentran complejos que presentan actividad citotóxica en diferentes líneas celulares tumorales [29–39], como por ejemplo el compuesto $[\text{GaL}_2][\text{GaCl}_4]$ (KP1089, L = 3-aminopiridina-2-carboxaldehído tiosemicarbazona) el cual fue evaluado contra adenoma de colon, adenocarcinoma de mama, y líneas tumorales celulares humanas (carcinoma de ovario). En resultados más recientes

de complejos de Ga(III) con 1,10-fenantrolina y 2,2'-bipiridina con actividad citotóxica están los reportados por Halevas y colaboradores, los cuales fueron sintetizados con 5,7-dihidroxi flavona como coligando lo cual formaría un sistema parecido al propuesto por nosotros en este proyecto [38]. Principalmente mostrando buena actividad frente a células del tipo MDA-MB-231 (adenocarcinomas de mama metastásico) [37]. Otro resultado prometedor reciente, que motiva esta investigación, es el observado para los complejos homolépticos de Ga(III) sintetizados con 3,4,7,8-tetrametil-1,10-fenantrolina donde determinaron que tienen una elevada actividad antitumoral en osteosarcoma y células madres en dosis del orden de nanomolar [39].

Se encuentra bien establecido que el mecanismo de acción las sales simples de galio se vincula con la similitud química de este ión con el Fe(III). Si bien no se conoce ninguna función natural para el Ga, el mismo se puede unir a proteínas que transporta, almacenan o utilizan Fe(III). A pesar de las similitudes entre Ga(III) y Fe(III), el primero por ejemplo no presenta estado de oxidación +II fácilmente accesible como el Fe(III). Por eso lo sustituye *in vivo* interfiriendo en los procesos que dependen del mismo. El Ga(III) se une a la transferrina, con una constante de unión levemente menor que el Fe(III). Como el Ga(III) tiene una solubilidad mayor que el Fe(III) con el primero es posible alcanzar concentraciones que superen la capacidad de la transferrina de unirlos, permitiendo la existencia de galato en plasma dependiendo la concentración lograda con la administración del compuesto. El Ga(III) que se une a la transferrina ingresa a la célula unidos a esta. En particular se reconoce a la unión de Ga(III) a la ribonucleótido reductasa un blanco principal de acción del Ga(III), lo que finalmente produce la apoptosis [25].

La 1,10-fenantrolina (phen) es un “viejo ligando” ampliamente utilizado en química de coordinación para la formación de complejos con diferentes metales, característicos por sus elevadas constantes de estabilidad termodinámica. Es así que existen reportados miles de complejos metálicos conteniendo phen, estudiados para diversos fines [40]. En las últimas décadas surge un nuevo uso para este ligando, y sus derivados, los complejos con actividad citotóxica. Esta puede ser debida a la actividad antitumoral de la phen en sí, posiblemente relacionada con su capacidad de intercalar el ADN [41]. También pueden actuar como “transportadores” del metal al interior de la célula, debido a que las elevadas constantes de formación de estos complejos permiten que se encuentren como tal a nivel celular, formando una especie más lipofílica de bajo peso molecular [17]. Existen diversas moléculas derivadas de la phen, muchas de las cuales presentan elevada actividad antitumoral tanto del ligando libre como de sus complejos de coordinación [2]. En la siguiente imagen se presentan las moléculas derivadas de phen que se utilizaron en este trabajo:

Capítulo 1 - Introducción

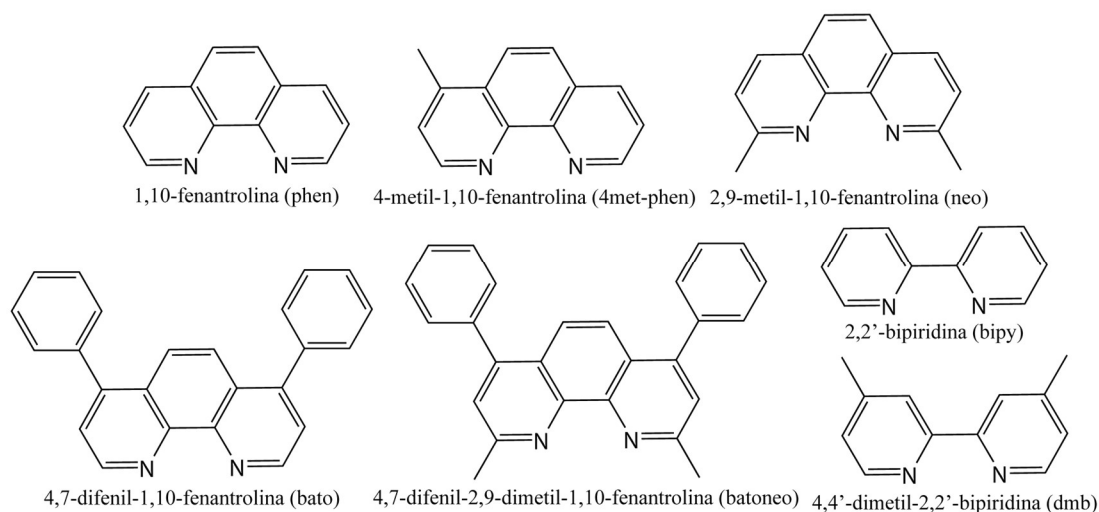


Figura 1.0.2. Esquema de los ligandos diimínicos (NN) usados en el trabajo.

En nuestro grupo de investigación se trabaja intentando maximizar la actividad de la phen y sus derivados introduciéndolas en complejos con metales que presenten actividad citotóxica, como lo es el caso del Cu y el Ga. De esta forma se obtiene un grupo farmacóforo que une, de manera sinérgica, la actividad antitumoral de los complejos metálicos, con la que presentan los compuestos de coordinación donde se encuentran presentes la phen y sus derivados. Asimismo, se busca modificar sus propiedades fisicoquímicas y bioquímicas mediante la formación de complejos ternarios con diferentes coligandos aniónicos que logren neutralizar la carga de la especie $[\text{Cu}(\text{NN})]^{2+}$ de manera de mejorar las propiedades antes descritas.

Para los complejos de Cu(II) se escogieron derivados de ácidos carboxílicos, como es el caso de los ligandos fenilcarboxílicos (Fig. 1.0.3). El uso de estos ligandos viene dado a partir de resultados encontrados para estos por Dubler y colaboradores, los cuales lograron obtener complejos ternarios de la forma $[\text{Cu}(\text{fenilcarboxilato})(\text{phen})]$, resultando en complejos ternarios con una alta estabilidad, la cual fue atribuida a la presencia de un stacking intramolecular entre los anillos aromáticos presentes en la phen y en los ligandos fenilcarboxílicos [40]. Además, se ha reportado que el ácido fenilacético es un compuesto que se usa para el tratamiento de niveles altos de nitrógeno en pacientes hepáticos, por lo que puede ser usado como fármaco [42]. A partir de estos antecedentes, se escogieron tres ácidos fenilcarboxílicos para usar como ligandos, la Figura 1.0.3 presenta sus esquemas.

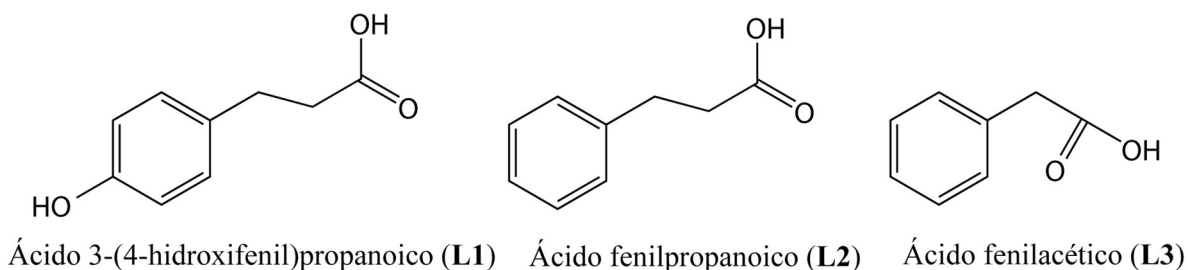


Figura 1.0.3. Esquema de los ligandos fenilcarboxílicos usados en el trabajo.

En el caso de los complejos de Ga(III), se escogieron como ligandos a usar los ácidos fenilcarboxílicos previamente mencionados, de manera de poder comparar los resultados obtenidos para los complejos de Cu(II) con estos ligandos.

Otra serie de ligandos escogida para trabajar con Ga(III) fueron los dipéptidos (Fig. 1.0.4). El grupo de investigación cuenta una amplia experiencia en la síntesis y caracterización de complejos con estos ligandos y con Cu(II), de las formas $[\text{Cu}(\text{dipéptido})]$ y $[\text{Cu}(\text{dipéptido})(\text{NN})]$, obteniendo complejos heterolépticos que se pueden calificar como potentes agentes citotóxicos [43–52]. Se buscó trasladar esta experiencia a sistemas nuevos como lo son los complejos de Ga(III), lo cual permita ampliar la misma y a su vez explorar nuevos sistemas a partir de moléculas conocidas por el grupo en cuanto a la forma en la cual se comportan tanto como a nivel químico y como a nivel biológico.

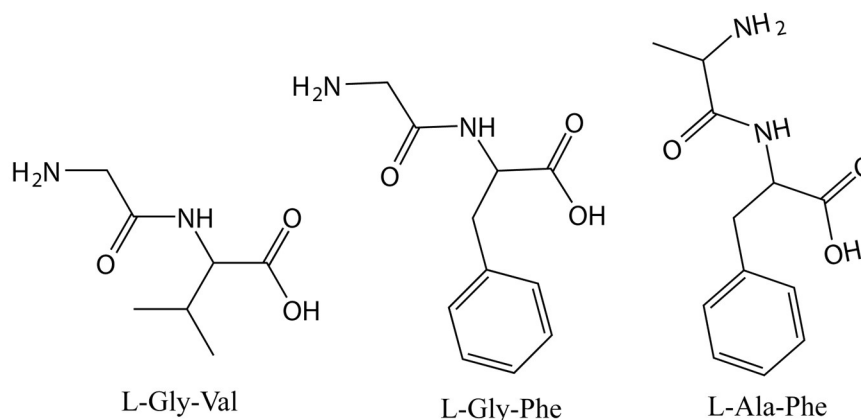


Figura 1.0.4. Esquema de los dipéptidos usados en el trabajo.

1.2. OBJETIVOS DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN.

1.2.1 Objetivo general.

Desarrollar nuevos compuestos de coordinación con actividad antitumoral.

1.2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar complejos ternarios del tipo: $[\text{Cu}(\text{coligando})(\text{N}-\text{N})]$ donde N-N=4,7-difenil-1,10-fenantrolina, 4,7-difenil-2,9-dimetil-1,10-fenantrolina y coligandos aniónicos como ácidos carboxílicos de cadena corta y $[\text{Ga}(\text{N}-\text{N})]\text{X}$ y $[\text{Ga}(\text{coligando})(\text{N}-\text{N})]\text{X}$ donde N-N= 1,10-fenantrolina, 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina, 4,7-difenil-1,10-fenantrolina, 4,7-difenil-2,9-dimetil-1,10-fenantrolina y coligandos aniónicos.
- Caracterizar los nuevos complejos en estado sólido y en solución acuosa.
- Conocer propiedades fisicoquímicas de interés biológico como la lipofilia.
- Conocer la constante de unión con ADN de los complejos y caracterizar la interacción.

- e) Conocer la actividad antiproliferativa en cultivos celulares tumorales de compuestos seleccionados.

1.3. MÉTODOS PARA LA CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPLEJOS EN ESTADO SÓLIDO Y SOLUCIÓN.

Existen diversas metodologías disponibles para la caracterización de complejos de coordinación. A continuación, se describe la utilidad de las técnicas seleccionadas en este trabajo en relación a los problemas planteados en la tesis, así como consideraciones en cuanto a su aplicación a los sistemas en estudio.

1.3.1 CARACTERIZACIÓN EN ESTADO SÓLIDO DE LOS COMPLEJOS.

Para lograr la caracterización de los complejos en esta sólido, se hizo uso de diferentes técnicas espectroscópicas las cuales permitieron obtener diferente información de la presencia de los ligandos en el complejo, y la posible coordinación de estos al centro metálico.

1.3.1.1. DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA CRISTALINA POR DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX).

La técnica de determinación estructural mediante difracción de rayos X, cuando se obtienen monocristales adecuados, es la manera que permite conocer con mayor precisión la esfera de coordinación, así como el arreglo tridimensional de los átomos que forman el compuesto. Como los sistemas en estudio pueden dar lugar a diferentes esquemas de coordinación, se recurrió a esta técnica siempre que fue posible obtener un monocristal [53,54].

En la base cristalográfica CSD, por sus siglas en inglés (Cambridge Structural Database), se encuentran reportadas 33830 estructuras cristalinas de Cu(II). De las cuales 17816 estructuras son de átomos de Cu(II) pentacoordinados, donde 453 de estas estructuras presentan átomos donores similares a los usados en este trabajo para los complejos heterolépticos de Cu(II) (dos átomos de N, dos de átomos de O y un átomo de Cl). De las 33830 estructuras de Cu(II), 2006 son de compuestos diméricos de Cu(II), de las cuales 786 estructuras presentan ambos átomos de Cu(II) pentacoordinados con átomos donores similares a los usados para los complejos homolépticos (5 átomos de O) [55].

Para compuestos de Ga(III) en la base CSD se encuentran 4355 estructuras cristalinas con este centro metálico. De las cuales 90 estructuras son de átomos de Ga(III) hexacoordinados con O como átomos donores. De las 4355 estructuras cristalinas, 2049 son de especies diméricas de Ga(III), donde solo 8 de éstas presentan ambos centros metálicos hexacoordinados con O como átomos donores.

Los complejos de Cu(II) obtenidos en este trabajo, como será discutido más adelante, presentan un entorno de coordinación pentacoordinado, por lo cual se discutirá las posibles distorsiones que presentan los complejos.

1.3.1.1.1. Análisis de las distorsiones en centros de Cu(II) pentacoordinados.

Las geometrías de coordinación para centros de Cu(II) pentacoordinados suelen ser intermedios entre geometrías de pirámide de base cuadrada (PBC) y bipirámide trigonal (BPT) ideales. Addison y colaboradores definen el factor τ como índice del grado de la distorsión trigonal en este tipo de sistemas [56].

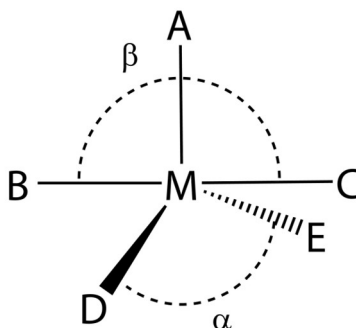


Figura 1.0.5. Esquema para la determinación del descriptor τ en sistemas pentacoordinados. Adaptado de Addison y colaboradores [56].

Si se considera un centro metálico M como el representado en la figura 1.0.5, el ángulo α (D-M-E) para las geometrías PBC y BPT ideales vale 180° y 120° , respectivamente. En el caso de geometrías intermedias se define el ángulo β (B-M-C) como el ángulo basal mayor considerando A como el átomo donador en posición axial.

En la gran mayoría de los compuestos con geometría de pirámide de base cuadrada el átomo central se encuentra desplazado respecto al plano de los átomos donadores ecuatoriales, la distorsión se puede caracterizar utilizando la diferencia $\beta - \alpha$ que vale 0° para entornos BPC ideales y 60° para entornos BPT ideales (Ecuación 1.1).

$$\tau = \frac{(\beta - \alpha)}{60^\circ} \quad \text{Ec. 1.1}$$

Un valor de $\tau = 0$ indica una geometría PBC ideal y $\tau = 1$ una BPT ideal [56].

1.3.1.2. ESPECTROSCOPIA INFRAROJA.

La técnica de espectrofotometría infrarroja (FT-IR) permite obtener información de la forma en la cual coordinan los ligandos al centro metálico a partir de los corrimientos observados. A continuación, se realiza un análisis de los modos vibracionales característicos de los grupos presentes en los compuestos estudiados, y un análisis de su comportamiento frente a la coordinación.

1.3.1.2.1. Coordinación de grupo carboxilato.

El grupo carboxilato en sales inorgánicas presenta dos bandas características que corresponden al estiramiento simétrico y asimétrico del enlace C-O, $\nu(\text{COO}^-)_{\text{as}}$ y $\nu(\text{COO}^-)_{\text{s}}$. Estas bandas aparecen alrededor de 1550 y 1400 cm^{-1} , respectivamente [57,58].

Los posibles modos de coordinación del grupo carboxilato se presentan en la figura 1.0.6. Para discriminar entre las formas de coordinación del grupo carboxilato, se usa la diferencia de frecuencia entre las bandas del estiramiento simétrico y asimétrico. Cuando se encuentra coordinado de forma monodentada se observa una diferencia entre 200 y 300 cm^{-1} . Cuando la coordinación es bidentada, la diferencia de las frecuencias se encuentra entre 50 y 100 cm^{-1} . Si el carboxilato actúa como puente entre dos centros metálicos la diferencia de las frecuencias es mayor a la obtenida para compuestos bidentados, entre un rango de 100 y 200 cm^{-1} [57–59].

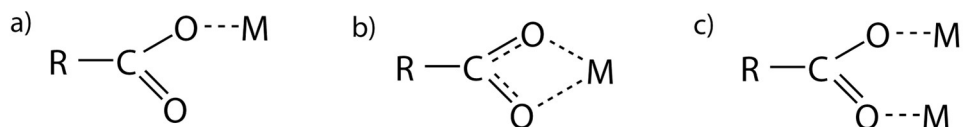


Figura 1.0.6. Modos de coordinación del grupo carboxilato, a) monodentado, b) bidentado y c) puente.

Si el carboxilato se protona se forma el ácido carboxílico correspondiente por lo que aparece también una banda correspondiente al estiramiento del enlace O-H entre 3500 y 2500 cm^{-1} . Sin embargo, en las estructuras que contienen moléculas de agua esta banda no puede ser utilizada para determinar si este grupo se encuentra protonado o no por solapamiento con la banda correspondiente a los estiramientos de los enlaces O-H del agua [57,60].

1.3.1.2.2. Coordinación del grupo nitrato.

El grupo nitrato puede estar presente como ion libre o de forma coordinada como se muestra en la Figura 1.0.7. El nitrato en su forma iónica presenta una fuerte banda alrededor de 1745 cm^{-1} [61]. Los modos de coordinación del grupo nitrato vienen dados por combinación de frecuencias, producida por tres bandas vibracionales. La forma monodentada exhibe dos bandas alrededor de 1420 y 1305 cm^{-1} correspondientes a la vibración simétrica y asimétrica de NO_2 , y una tercera banda alrededor de 1008 cm^{-1} correspondiente al enlace N-O. Mientras que la forma bidentada presenta dos bandas alrededor de 1476 y 1290 cm^{-1} correspondientes a la vibración simétrica y asimétrica de NO_2 , y una tercera banda alrededor de 1025 cm^{-1} correspondiente al enlace N-O [57,62,63]. Para la coordinación en forma de puente, se presentan dos bandas alrededor de 1780 y 1760 cm^{-1} [61].

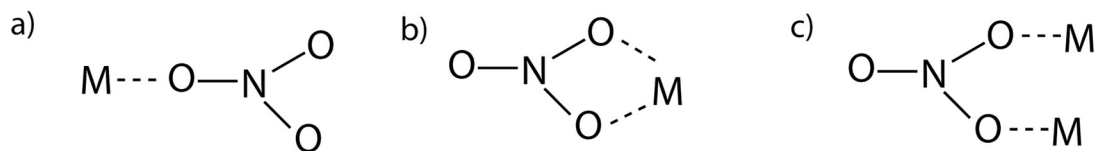


Figura 1.0.7. Modos de coordinación del grupo nitrato, a) monodentado, b) bidentado y c) puente.

1.3.1.2.3. Coordinación de piridina, bipyridina y derivados.

Para este tipo de ligandos es relevante el estudio de las bandas correspondientes a los estiramientos de los enlaces cercanos al átomo donador en la coordinación. Las bandas asignadas a estiramientos C-N y C-C de sistemas aromáticos en el ligando libre aparecen en torno a $1400\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$, mientras que el efecto de la coordinación provoca un corrimiento hacia menores frecuencias de onda apareciendo en torno a $1400\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ [57].

Por otra parte, las absorciones asignadas a flexiones de los enlaces C-H del sistema aromático, sufren pequeños corrimientos y aparecen en el rango $840\text{-}730\text{ cm}^{-1}$ tanto para el ligando libre como para el ligando coordinado [47,51,57,64,65].

Mediante el método de intercambio isotópico se estudió numerosos sistemas de cobre(II) con ligandos derivados de piridina observándose que las vibraciones $\nu(\text{Cu-N})$ se encuentran en torno a $180\text{-}290\text{ cm}^{-1}$. Sin embargo, para ligandos de mayor peso molecular, esta banda puede aparecer a mayores números de onda, $400\text{-}500\text{ cm}^{-1}$, como en el caso del complejo $[\text{Cu}(\text{terpy})(\text{SO}_4)(\text{H}_2\text{O})]$ estudiado por DFT [51,57,64].

1.3.1.3. ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA PARAMAGNÉTICA ELECTRÓNICA (EPR).

La técnica de EPR es una técnica útil en el estudio del entorno de especies que poseen electrones desapareados, tanto como iones de metales de transición, radicales libres y estados electrónicos excitados. En el campo de la química inorgánica esta técnica toma importancia en el entendimiento de la estructura electrónica de complejos metálicos [63].

Un uso común de esta técnica es el estudio de especies que contienen el ion Cu(II) (configuración electrónica $3d^9$, estado de espín electrónico $S = \frac{1}{2}$ y espín nuclear $I = \frac{3}{2}$), el cual presenta un amplio rango de posibilidades en cuanto a la estereoquímica, como se discutió en la sección 1.3.1 [66]. Las características del espectro (número de líneas e intensidad relativa) de cobre(II) depende de la simetría y energía del campo de los ligandos alrededor del ion, así como también de las orientaciones de las moléculas cercanas en la red cristalina. Por lo tanto, la forma del espectro quedará determinada tanto por la geometría de la esfera de coordinación como por las características de los ligandos coordinados, principalmente los átomos donores [67,68]. Asimismo, el régimen de movimiento de las moléculas influencia el espectro, por lo que su análisis conlleva diferentes

consideraciones para muestras en estado sólido y soluciones congeladas de los compuestos en comparación con estudios en solución.

1.3.1.3.1. EPR de complejos de Cu(II) en estado sólido.

En muestras bajo la forma de polvo policristalino, dependiendo de la cercanía de los centros de cobre en la red cristalina, ocurren frecuentemente efectos de intercambio electrónico entre los centros metálicos que causan el ensanchamiento de las señales ocultando de forma parcial o total la estructura hiperfina.

Los espectros de EPR de complejos monoméricos de Cu(II) se pueden distinguir de los diméricos por el perfil del espectro. En el caso de complejos de Cu(II) con geometrías cuadrada o pirámide de base cuadrada presentan un espectro como el de la Figura 1.0.8, para el cual se observan dos valores de g .

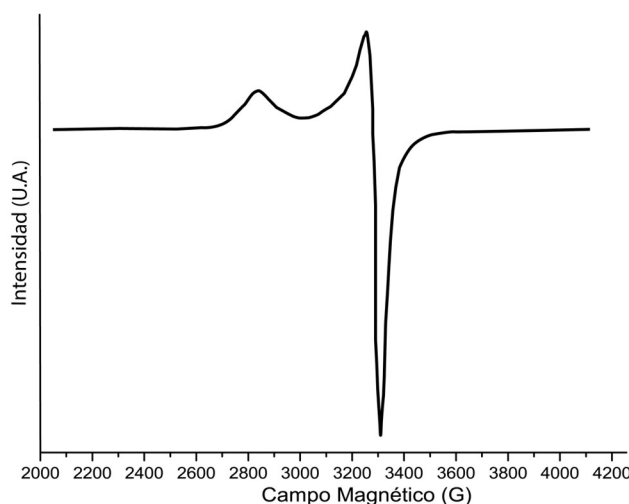


Figura 1.0.8. Espectro con simetría axial de complejos de Cu(II) con geometría cuadrada o pirámide de base cuadrada, adaptada de Garribba y colaboradores [66].

Para complejos pentacoordinados de Cu(II) existen dos alternativas posibles de geometría: pirámide de base cuadrada (SBP) y bipirámide trigonal (TBP). La espectroscopia EPR puede diferenciar entre estas dos situaciones. Para complejos con geometría TBP se obtiene un espectro con simetría axial como el mostrado en la Figura 1.0.9 con dos valores distintos de g , donde el estado fundamental es d_{z^2} debido a la disposición pentacoordinada apuntada hacia una geometría TBP que presentan los átomos de Cu(II).

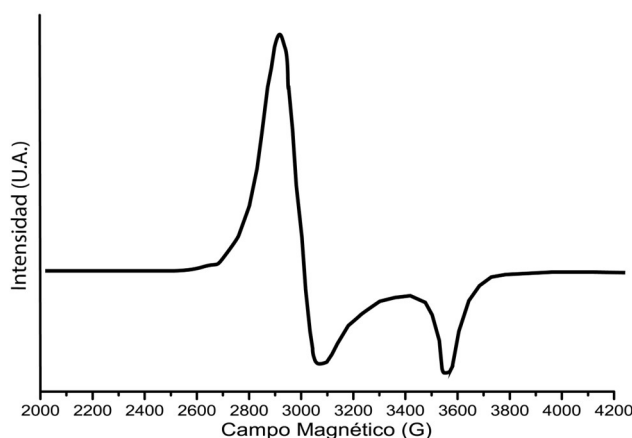


Figura 1.0.9. Espectro con simetría axial de complejos de Cu(II) con geometría TBP, adaptada de Garribba y colaboradores [66].

Otro espectro para complejos pentacoordinados de Cu(II) que se puede obtener es el mostrado en la Figura 1.1.0 para el complejo $[\text{Cu}(\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})](\text{NO}_3)_2$ [66], el cual se caracteriza por la presencia de tres valores de g . Esto sugiere que el estado fundamental es una combinación de los orbitales d_z^2 y $d_{x^2-y^2}$. Los espectros con tres valores de g son indicativos de iones de Cu(II) pentacoordinados con una geometría intermedia entre TBP y SBP.

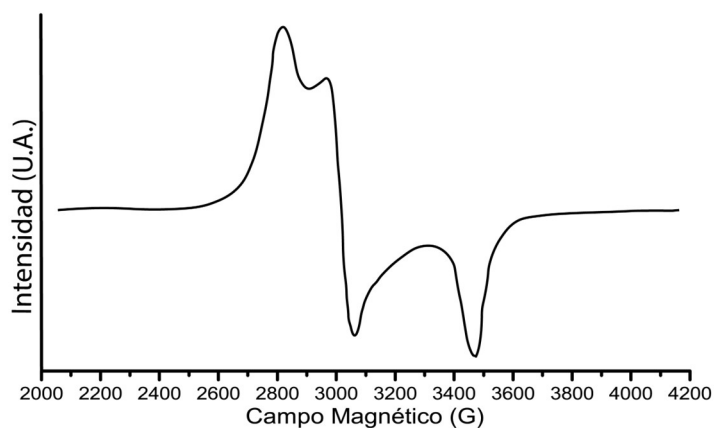


Figura 1.1.0. Espectro con simetría axial para complejo de Cu(II) con geometría intermedia TBP, adaptada de Garribba y colaboradores.

En la Figura 1.1.1 se presenta un espectro de EPR en estado sólido típico de especies diméricas de Cu(II) en los cuales se observan intercambio antiferromagnético. Estos espectros son característicos de complejos de cobres con acetatos y carboxilatos [69]. En los espectros de compuestos diméricos de Cu(II) se observa con bastante frecuencia, más allá de las transiciones dentro del triplete, transiciones correspondientes a especies simples $S = 1/2$. La intensidad de las señales en estos espectros está asociadas a impurezas "mononucleares" que pueden originarse en sitios defectuosos en la red [70]. Asimismo, se ha observado que este tipo de espectros se observan para distancias entre los átomos de Cu(II) iguales o mayores a 3 Å [71].

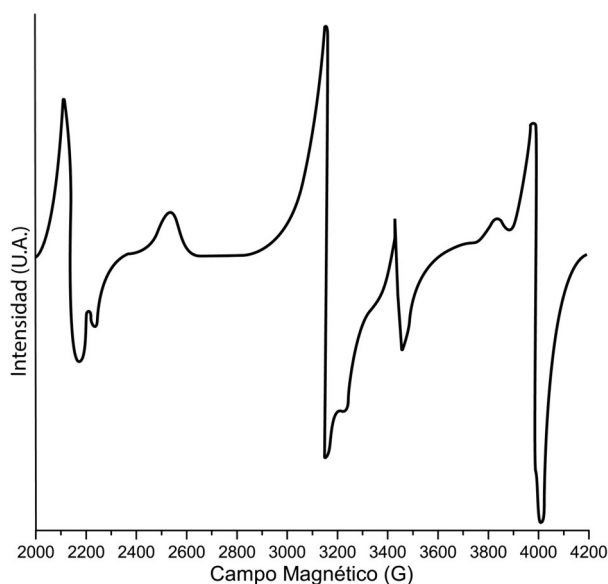


Figura 1.1.1. Espectro para complejos diméricos de Cu(II) diméricos, adaptada de Gatteschi [70].

En muchos casos no se pueden distinguir las situaciones previamente descritas debido a la presencia del acoplamiento isotrópico, que es el factor más importante en la disminución de la información estructural observable en los espectros de EPR. En muestras bajo la forma de polvo policristalino, dependiendo de la cercanía de los centros de cobre en la red cristalina, ocurren frecuentemente efectos de intercambio electrónico entre los centros metálicos que causan el ensanchamiento de las señales ocultando de forma parcial o total la estructura hiperfina [69]. Esta situación genera espectros de tipo isotrópico (Fig. 1.1.2) [67].

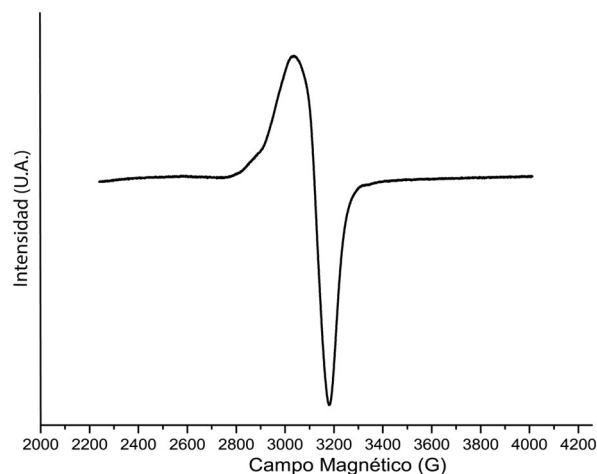


Figura 1.1.2. Espectro isotrópico de complejos de Cu(II) en polvo cristalino, adaptada de Hathaway y colaboradores [67].

1.3.2 CARACTERIZACIÓN EN SOLUCIÓN DE LOS COMPLEJOS.

Tanto los complejos de Cu(II) como los de Ga(III) son lábiles y por lo tanto pueden intercambiar rápidamente sus ligandos en diferentes condiciones. Por lo tanto, un acercamiento a las especies mayoritarias en solución tiene relevancia para un posterior análisis de los comportamientos observados en los estudios a nivel biológico, dónde los complejos se encuentran en solución. A continuación, se presentan las técnicas seleccionadas para estos estudios.

1.3.2.1. ESPECTROSCOPIA ELECTRÓNICA.

1.3.2.1.1. Espectros en la región visible de complejos de Cu(II).

A partir de 1970 se han realizado relaciones empíricas que permiten obtener información estructural en solución acuosa de los espectros de complejos de cobre(II). Esta correlación consiste en el estudio de los espectros en solución acuosa de un número grande de compuestos de cobre(II), la cual considera que el desdoblamiento del campo cristalino para un complejo octaédrico con donores diferentes es un promedio ponderado del desdoblamiento causado por los complejos octaédricos de cada donador, de acuerdo a la regla del campo promedio. A partir de esta premisa introducida por Billo (década de 1970) fue seguida por Sigel y Martin (década de 1980), quienes introdujeron al estudio un mayor número de compuestos y propusieron una ecuación para determinar la longitud de onda del máximo de absorbancia para los complejos de cobre(II). Finalmente, a finales de 1990 y principios del 2000 Prenesti y colaboradores, realizaron un estudio extenso considerando la estabilidad de los compuestos formados, una estimación del error del modelo y una aproximación del aporte de los ligandos en posiciones axiales, así adaptando la ecuación propuesta por Sigel y Marín a este nuevo modelo [72–75]. La Ecuación 1.2, fue usada para analizar el entorno de coordinación de los complejos de cobre(II).

$$\lambda_{\text{máx}} = \frac{10^3}{\sum_{i=1}^4 \bar{\nu}_i} \quad \text{Ec. 1.2}$$

Tabla 1.0.1. Coeficientes $\bar{\nu}_i$ para la estimación de $\lambda_{\text{máx}}$ en complejos de Cu(II).

Átomo donador	$\bar{\nu}_i$
N piridínico (npv)	0,427
N amínico (na)	0,450
O carboxílico (oc)	0,353
O agua (ow)	0,296

En la tabla 1.0.1 se muestra los valores de $\bar{\nu}_i$ determinados por Prenesti y colaboradores, para los tipos de átomo donador presentes en los ligandos utilizados en este trabajo. Para los cálculos se aproximará correspondiente al nitrógeno piridínico utilizando el valor para el tipo diimínico [74].

Otra característica cuyo análisis resulta útil en la caracterización de los sistemas diméricos, es la presencia de una banda entre 350 y 450 nm (Fig. 1.1.3 negro) causada a partir de una transferencia

de carga ligando-metal que se da a partir del orbital p_x del oxígeno presente en el ligando en el plano xy de CuO_4 al orbital $d_{x^2-y^2}$ del metal [76–79]. La presencia de esta banda permite confirmar la presencia de puentes carboxilatos en solución y que los complejos de $Cu(II)$ se mantenga en forma dimérica en solución.

1.3.2.1.2. Espectros en la región UV de complejos de $Cu(II)$.

También se ha observado para complejos de $Cu(II)$ con ligandos que presentan anillos aromáticos la presencia de una banda en la región UV entre 240 y 350 nm (Fig. 1.1.3 rojo) ocasionada por interacciones π entre los anillos aromáticos [76,80–82]. En estos sistemas de complejos de $Cu(II)$, son estabilizados por un sistema π deslocalizado. Los orbitales p_π del ligando forman enlaces π con el orbital d_{xy} del metal produciendo así un sistema de puentes π , característico de todas las moléculas binucleares de cobre(II) con anillos aromáticos [76].

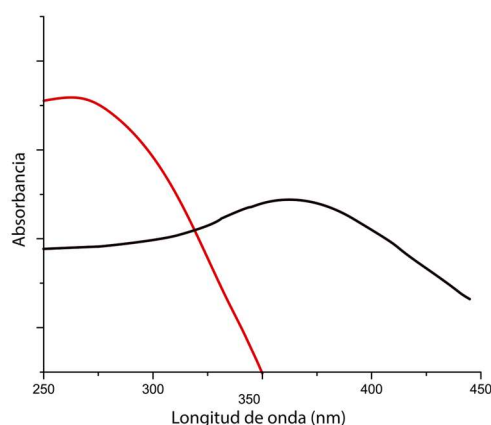


Figura 1.1.3. Espectro electrónico para complejo de $Cu(II)$ con puentes carboxilatos [76].

1.3.2.2 CONDUCTIVIDAD.

Se estudió la conductividad de los complejos sintetizados, el valor de esta dependerá del número de iones presentes en solución por unidad de volumen [83]. Los resultados obtenidos a partir de este estudio permiten solamente determinar la presencia de especies cargadas en solución, pero no la identidad de estas. Sin embargo, el complemento de esta técnica con las otras técnicas usadas para el estudio en solución de los complejos, permitió confirmar cuales son las especies presentes en solución para cada uno de los complejos de cobre(II) y de galio(III).

La conductividad molar a una concentración dada y a una temperatura dada de una solución de un electrolito con determinado número de iones caerá dentro de un rango predecible y cualquier especie cuya Λ_M caiga dentro dicho rango, puede concluirse que tendrá ese mismo número de iones. En la siguiente tabla se presentan dichos rangos, determinados experimentalmente a una concentración de 1 mM y 25 °C [83,84].

Tabla 1.0.2. Rango de conductividad molar y de número de iones correspondientes a especies en solución acuosa.

Nº de iones	Λ_M (Scm ² mol ⁻¹)
2	118-131
3	235-273
4	408-435
5	-560

Para estudios de conductividad en DMSO, Geary y colaboradores estudiaron especies que se disocian en dos iones en solución como es el caso de sales de sulfato y tiocianato, encontrando rangos para estas especies de 23 a 70 Scm² mol⁻¹ [85,86]. También encontraron valores por encima de 109 Scm² mol⁻¹ para especies que presentan 4 iones o más en solución, en este caso complejos de lantánidos de la forma $[\text{Ln}(\text{DMSO})_n(\text{NO}_3)_3]$, ($n = 3,4$; Ln = La, Ce, Pr, Nd, Sm, Gd, Y, Ho, Yb) [86].

1.3.2.3 EPR EN SOLUCIÓN DE COMPLEJOS DE Cu(II).

Así como se describió en estado sólido, el EPR en solución también es sensible ante diferentes conformaciones estructurales de los complejos de Cu(II). Esta técnica nos permite detectar la presencia de diferentes especies en solución. Para los complejos monoméricos o donde no se observa presencia de más de una especie de Cu(II) en solución, los espectros presentan una simetría axial con resolución de las líneas asociadas a la interacción hiperfina, como se presenta en la Figura 1.1.4.

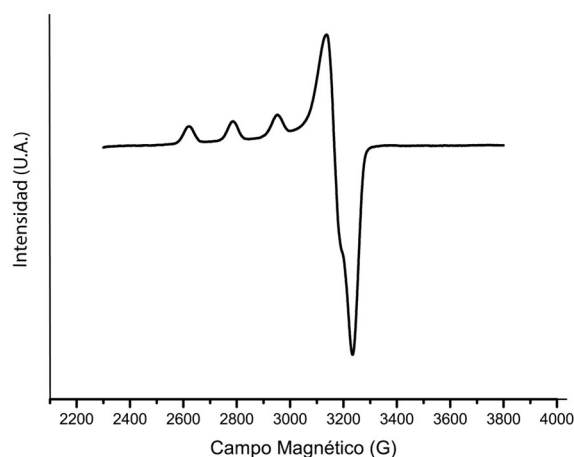


Figura 1.1.4. Espectro EPR en solución congelada con simetría axial de complejos monoméricos de Cu(II).

En la Figura 1.1.5, se presenta un espectro de EPR típico para la presencia de dos especies de Cu(II) con esferas de coordinación diferentes coexistiendo en solución [87].

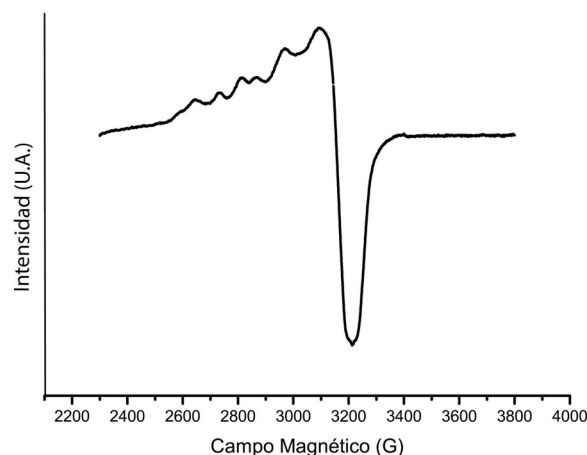


Figura 1.1.5. Espectro en solución congelada de complejos con la presencia de dos especies de Cu(II) [71,87].

El EPR puede ayudar a caracterizar el comportamiento en solución de complejos de Cu(II) que en estado sólido se observan como diméricos, pero en solución su especie cambia a monomérica. Esto se ha observado para complejos de Cu(II) con actividad citotóxica, como es el caso del complejo con quinolona, el cual en estado sólido el espectro EPR coincide para especies diméricas y en solución congelada el espectro cambia para especies monomérica en agua [88].

1.3.2.4. RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN).

La resonancia magnética nuclear (RMN) constituye una técnica con un amplio y reconocido espectro de aplicaciones en el campo del análisis estructural. La constante de blindaje de RMN (σ) para cualquier átomo se puede dividir formalmente en contribuciones diamagnéticas (σ_d) y paramagnéticas (σ_p). Esta partición no es única, pero proporciona una imagen intuitiva del mecanismo de protección. La contribución diamagnética refleja la densidad electrónica total del estado fundamental alrededor del átomo espectador de RMN y es relativamente invariable al cambio en su entorno químico. Por el contrario, la contribución paramagnética se origina en los acoplamientos entre los orbitales moleculares (OM) frontera ocupados y vacantes en presencia de un campo magnético y proporciona información química importante sobre la estructura electrónica molecular y los enlaces [89,90].

Para los complejos de Ga(III) se evaluó la coordinación en solución a partir de los espectros ^1H -RMN. La coordinación de los ligandos con el centro metálico causa cambios estructurales en el mismo que se pueden identificar a partir del espectro RMN del complejo, las señales presentes en el ligando al coordinar al centro metálico sufrirán un desplazamiento ocasionado por la interacción de los orbitales del ligando y el metal.

En complejos de Ga(III) con ligandos con grupos carboxilatos como el que se muestra en la Figura 1.1.6 de fórmula $[\text{Ga}(\text{CH}_2(\text{CO}_2\text{Me})_2)_3] \cdot 3[\text{GaCl}_4]^-$ observan desplazamientos de los protones (δH) entre los espectros de los ligandos libres y de los ligandos en su forma coordinada entre $\pm 0,08$ y $\pm 0,40$ ppm [91]. Rangos similares también fueron observados en los complejos homolépticos

sintetizados por Gómez-Ruiz y colaboradores en complejos de Ga(III) con ligandos metoxifenilacéticos [92].

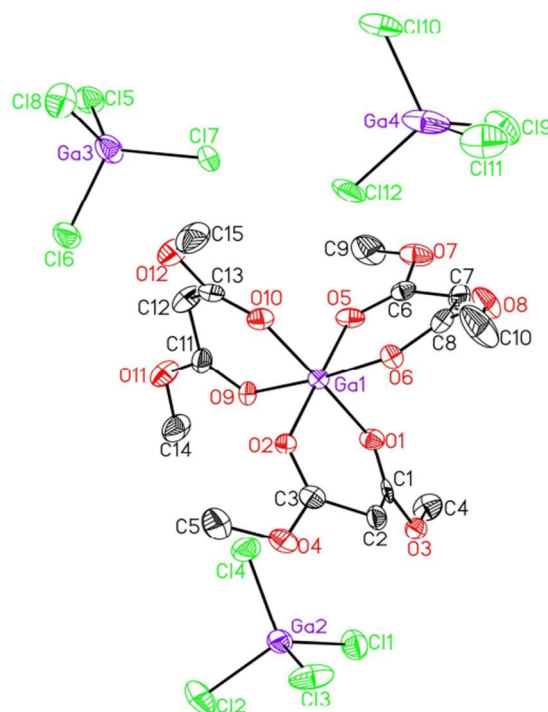


Figura 1.1.6. Diagrama ORTEP de 50% de probabilidad del complejo $[\text{Ga}(\text{CH}_2(\text{CO}_2\text{Me})_2)_3] \cdot 3[\text{GaCl}_4]^-$ reportado por Novikov y colaboradores [91].

Para complejos con fenantrolina, Papaefstathiou y colaboradores obtuvieron el siguiente $[\text{Ga}_2(\text{OH})_2(\text{phen})_4](\text{NO}_3)_4 \cdot 4,5\text{MeOH}$ donde para los protones de la fenantrolina, H(2,9), H(3,8), H(4,7) y H(5,6), en la forma coordinada encontraron valores de δH de 8,90, 7,71, 8,74, y 8,25 ppm los cuales aparecen en el ligando libre con δH de 9,17, 7,65, 8,47, y 7,81 ppm respectivamente. Para este estudio concluyeron que cada átomo de Ga(III) presentaba en solución dos moléculas de fenantrolina, las cuales eran magnéticamente equivalentes entre sí, debido a que no hubo variación en las integraciones de las señales de los protones [34].

1.4. ESTUDIOS DE INTERÉS BIOLÓGICO.

1.4.1 Lipofilia.

La lipofilia es un parámetro importante en el descubrimiento y diseño de nuevos fármacos, porque constituye la propiedad fisicoquímica más informativa en la química medicinal. La lipofilia contribuye a su solubilidad y permeabilidad a través de membranas; afectando su metabolismo y farmacocinética; y también afectando su perfil farmacodinámico y toxicológico [93]. Por esto, en el diseño de potenciales fármacos es importante lograr un balance entre la hidrofobicidad y la hidrofiliidad del mismo para que se permita el acceso y la unión al sitio de acción de este. [93–96].

Para el estudio de la lipofilia se usó un método adaptado [96,97] del modelo usado con mayor frecuencia para evaluar la lipofilia de un compuesto, como lo es el coeficiente de reparto entre dos fases líquidas inmiscibles de distinta polaridad. La combinación de solventes utilizada es agua y n-octanol, donde la lipofilia se mide como el coeficiente de reparto (P) entre estas fases. La expresión del coeficiente de reparto en función de la concentración de complejo en cada se muestra en la Ecuación 1.3.

$$P = C_{\text{octanol}} / C_{\text{agua}} \quad \text{Ec. 1.3}$$

1.4.2 ADN como blanco de acción de compuestos antitumorales y métodos de estudio.

El ADN es un biopolímero formado por asociación de dos cadenas polinucleotídicas complementarias en una doble hélice antiparalela. Como consecuencia del enrollamiento de la doble hélice, debido a la asimetría de los nucleótidos, se forman hendiduras o surcos de diferente tamaño, que se repiten en cada giro completo. La conformación tridimensional adoptada depende de la acción cooperativa de los enlaces de hidrógeno entre pares de bases complementarios, el apilamiento π entre las bases y la repulsión electrostática entre las cadenas externas de azúcar-fosfato cargadas negativamente [98]. Existen varias formas polimórficas del ADN, las cuales se pueden observar en la Figura 1.1.7.

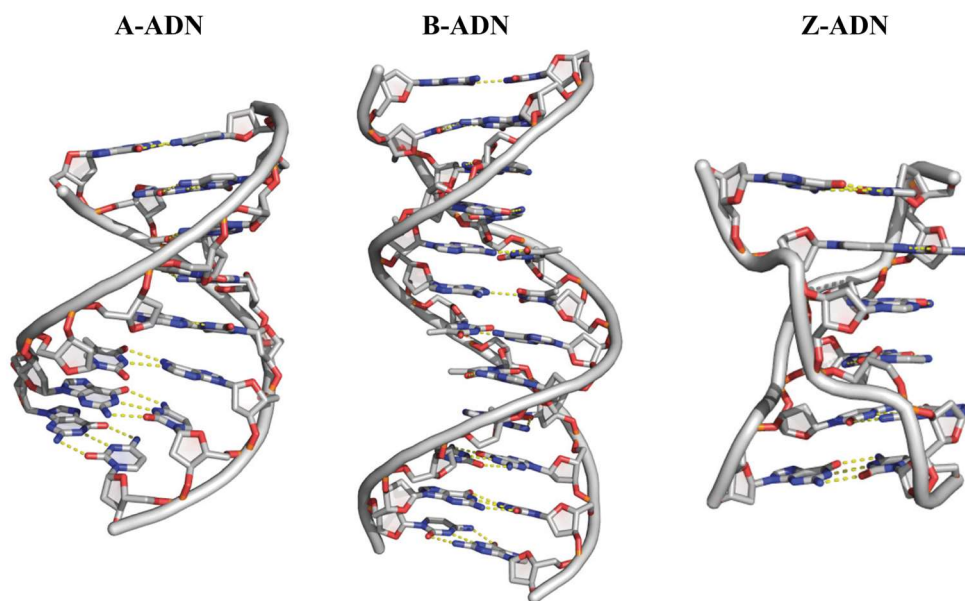


Figura 1.1.7. Figura cristalina de las principales conformaciones estructurales del ADN [99].

La forma B es la más frecuente en solución acuosa y medios biológicos. Las uniones de forma no covalente por las cuales los complejos se unen al ADN pueden incluir intercalación, inserción, unión por los surcos o coordinación por los grupos fosfatos presentes en el ADN. En todas estas posibilidades de interacción influyen factores de carga y geometría de los complejos, que pueden causar cambios conformacionales en el ADN, donde este cambie su conformación de la forma B a las Z o C [99].

La flexibilidad del ADN se presta a la formación de muchas conformaciones alternativas generadas bajo la influencia de solventes y pequeñas moléculas. La conformación A es la forma deshidratada de la B y tiene una forma similar pero más rígida y compactada que consta de 11 pares de bases por vuelta helicoidal con un ascenso axial de 2,55 Å entre pares de bases (Fig. 1.1.7). La conformación Z se forma durante el proceso de transcripción *in vivo* debido a las tensiones torsionales generadas como el superenrollamiento que es causado por la ARN polimerasa que se mueve a lo largo de la secuencia del ADN. Hay una diferencia radical entre las conformaciones Z y B cuando el sentido helicoidal cambia de diestro a zurdo; este cambio conformacional se debe a la alternancia de *sin-* y *anti-*conformaciones de bases púricas y pirimidínicas, respectivamente. Estructuralmente, la conformación Z es alargada y estrecha con un diámetro de 18 Å y se compone de una sola ranura estrecha análoga a la del surco menor de la conformación B resultando en una disposición en zigzag de la columna vertebral [100,101].

1.4.2.1. Interacción de complejos con ADN.

El ADN es una de las principales moléculas que puede servir como blanco para posibles metalofármacos antitumorales. Las interacciones de los complejos metálicos con el ADN han sido de gran interés durante mucho tiempo. El descubrimiento de la actividad antitumoral de $\text{cis-[PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$ (Cisplatino) a finales de 1960 y la posterior investigación de sus propiedades de unión al ADN han dado como resultado uno de los ejemplos más conocidos de interacciones complejo-ADN [102].

La formación del aducto complejo-ADN puede ocurrir mediante uniones de tipo covalente y no covalentes, incluyendo interacciones de esfera interna o externa, coordinación del metal con las bases del ADN, interacciones electrostáticas, interacciones hidrofóbicas, enlaces de hidrogeno e intercalación [99,103]. Las interacciones de tipo covalente incluyen la coordinación del metal a las bases nitrogenadas del ADN o a los átomos de oxígeno externos del esqueleto azúcar-fosfato como consecuencia de un ataque nucleofílico de la biomolécula al centro metálico del complejo, causando sustitución de algunos de los ligandos u ocupación de posiciones libres en la esfera de coordinación [102]. Las interacciones no coordinativas dependen de la forma del ADN y las características estructurales del complejo, que son las que determinarán el reconocimiento molecular en función de las interacciones intermoleculares potenciales [104,105].

La unión de tipo covalente es la forma más común de interacción de metalofármacos con el ADN. El Cisplatino es la molécula que se une de forma covalente al ADN clínicamente más exitosa, también es capaz de interaccionar con una amplia gama de otras biomoléculas [104]. El aducto Cisplatino-ADN fue caracterizado estructuralmente a partir de difracción de rayos X en 1995 por el grupo de Lippard (Fig. 1.1.8). En esta estructura, se observa que el ADN sufre un alto grado de distorsión. De hecho, el nivel de distorsión es tan fuerte que la estructura del ADN cambia de la conformación B a la conformación A [105,106].

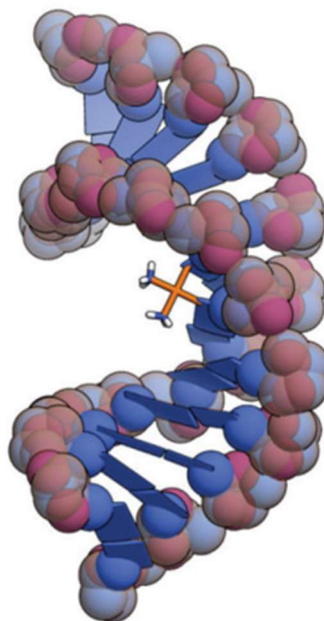


Figura 1.1.8. Simulación de la estructura cristalina del aducto Cisplatino-ADN [105].

La unión no covalente de moléculas pequeñas al ADN incluye intercalación entre pares de bases adyacentes, unión de surcos menores y mayores e interacciones electrostáticas con el esqueleto azúcar-fosfato [107].

La intercalación es un modo de unión al ADN que ha sido extensamente estudiado en los últimos años (Fig. 1.1.9). Este modo de unión se observa en complejos que contienen ligandos aromáticos heterocíclicos que pueden insertarse entre los pares de bases del ADN [106]. Dicha inserción es estabilizada por interacciones de tipo π - π entre los pares de bases y los anillos aromáticos de los ligandos cíclicos [105].

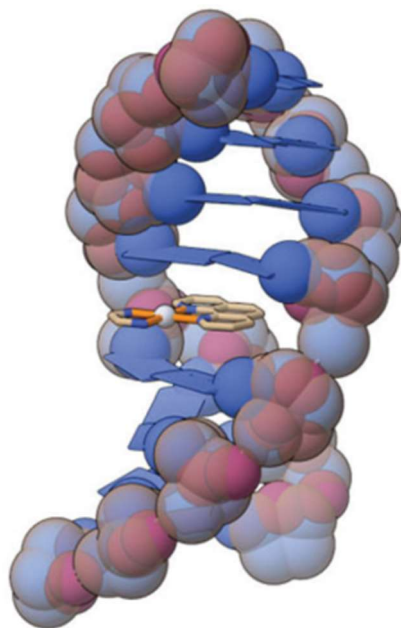


Figura 1.1.9. Simulación de la estructura cristalina de la intercalación al ADN del complejo $[\text{Pt}(\text{phen})(\text{en})]^{2+}$ [105].

Las moléculas que se unen por los surcos del ADN exhiben características esenciales que les permiten interactuar con este, como lo son una estructura que presentan moléculas aromáticas que encajan en el surco menor del ADN y que tiene grupos donores y aceptores de electrones capaces de formar enlaces de hidrógeno [107]. Las fuerzas que predominan la unión de pequeñas moléculas por los surcos menores del ADN son electrostáticas, de Van der Waals, hidrofóbicas y enlaces de hidrógeno [108]. A diferencia de los intercaladores, las moléculas que se unen al surco inducen poco o ningún reordenamiento estructural de la hélice del ADN [109].

1.4.2.2 Determinación de la constante de unión.

Una de las técnicas usadas para el estudio de interacción de los complejos con el ADN, es la determinación de la constante de unión (K_b) al ADN a partir del uso de la espectroscopia electrónica. Esta técnica se basa en el monitoreo del cambio del espectro UV-visible del complejo o del ADN causado por la interacción entre ellos [107].

Los complejos metálicos que se unen al ADN por intercalación usualmente causan un efecto de hipocromismo y batocromismo [110,111] mientras que el efecto de hipercromismo [109,112] se asocia para aquellos complejos que su interacción es de tipo electrostática, enlaces de hidrogeno o por unión a los surcos de las hélices del ADN [107].

El estudio del grado de unión de una molécula con el ADN se puede realizar mediante la determinación espectrofotométrica de la constante de unión aparente basada en el modelo de Benesi-Hildebrand para sistemas con estequiometría 1:1 con uniones no covalentes [103,109]. El espectro UV-visible del ADN presenta una banda en la región UV (200 – 350 nm) con un máximo

de absorción a 260 nm. Esta técnica permite determinar la concentración molar del ADN a medida que se aumenta la concentración de la molécula que interacciona con el mismo, a partir del valor de absorbancia registrado a 260 nm [103].

Para el sistema ADN-complejo se describe a continuación el modelo y suposiciones para la determinación de la constante de unión intrínseca adaptado de Schmechel y colaboradores [113].

Se definen las cantidades: C_N^0 , C_F y C_B como concentración total de ácido nucleico en pares de bases, concentración de complejo libre y concentración de complejo unido. La concentración total de complejo (C_T) es entonces la suma de las concentraciones C_F y C_B . El cociente entre la concentración de complejo unido sobre la concentración total de ácido nucleico se denomina r .

Suponiendo que existe un sitio potencial de unión por par de bases y que el efecto de exclusión de los vecinos [114] desaparece cuando r tiende a cero, se puede escribir la expresión de la constante de equilibrio $K(0)$ para la reacción: ADN + complejo \rightarrow ADN-complejo (Ecuación 1.4)

$$K(0) = \lim_{r \rightarrow 0} \left(\frac{C_B}{C_N^0 C_F} \right) \quad \text{Ec. 1.4}$$

$K(0)$ corresponde entonces a la constante de unión intrínseca de un sitio de unión aislado. Sustituyendo C_B por el producto rC_N^0 , la ecuación anterior se modifica a:

$$K(0) = \lim_{r \rightarrow 0} \left(\frac{r}{C_F} \right) \quad \text{Ec. 1.5}$$

De esta forma se puede definir $K(r)$:

$$K(r) = \frac{C_B}{[(C_N^0 - C_B)C_F]} = \frac{r}{[(1-r)C_F]} \quad \text{Ec. 1.6}$$

que cumple con que el límite de $K(r)$ con r tendiendo a cero es $K(0)$.

Se definen los coeficientes de extinción molar ϵ_F y ϵ_B como los correspondientes a la forma libre y unida del complejo, respectivamente. La absorbancia de una mezcla de complejo libre y unido en distintas relaciones se obtiene a partir de forma espectrofotométrica, como se mencionó previamente. Si ϵ_{ap} es la absorptividad molar de la mezcla, determinada como el cociente de la absorbancia por la concentración total de complejo (C_T), se obtiene la relación:

$$A = \epsilon_F C_F + \epsilon_B C_B \quad \text{Ec. 1.7}$$

que combinando con la definición de la absorptividad molar aparente se llega a la expresión

$$C_B = \frac{C_T(\epsilon_{ap} - \epsilon_F)}{(\epsilon_B - \epsilon_F)} \quad \text{Ec. 1.8}$$

sustituyendo estos valores en Ec. 1.6 y aproximando $C_N^0 - C_B \approx C_N^0 - C_T$ para valores de C_N^0 altos, la ecuación resultante es:

$$\frac{1}{(\epsilon_{ap} - \epsilon_F)} = \frac{1}{(\epsilon_B - \epsilon_F)(C_N^0 - C_T)K(r)} + \frac{1}{(\epsilon_B - \epsilon_F)} \quad \text{Ec. 1.9}$$

La constante intrínseca se calcula del cociente de la ordenada de origen con la pendiente de la gráfica de $(\epsilon_{ap} - \epsilon_F)^{-1}$ en función de $(C_N^0 - C_T)^{-1}$ [109].

1.4.2.3 Estudio del modo de interacción por dicroísmo circular.

Otra técnica espectroscópica que brinda información sobre la interacción de pequeñas moléculas con el ADN es el Dicroísmo circular (DC). El espectro de dicroísmo circular del ADN es altamente sensible al arreglo tridimensional de las cadenas [115,116]. Estos cambios en el espectro electrónico del ADN pueden ser usados para confirmar el tipo de interacción del fármaco con el ADN.

El espectro de dicroísmo circular de la forma B del ADN se presenta en la Figura 1.2.0, se caracteriza por la presencia de una banda positiva en el rango 260-280 nm correspondiente al apilamiento de las bases y una segunda banda negativa alrededor de 245 nm correspondiente a la elipticidad del ADN [107,116].

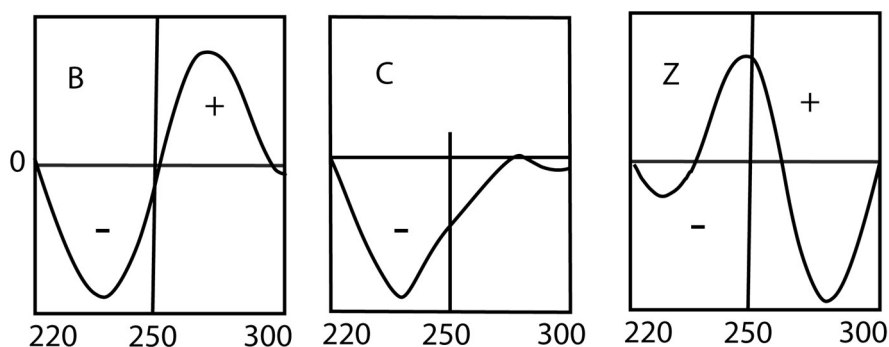


Figura 1.2.0. Espectro de dicroísmo circular de las formas B, C y Z del ADN [116,117].

La intercalación en el ADN causa un incremento en la señal de las bandas asociadas a la elipticidad (245nm) y la asociada al apilamiento de bases (280-260 nm), mientras que uniones por los surcos del ADN ocasiona un aumento de la intensidad de la banda negativa a 245 nm y una disminución de la intensidad de la banda positiva a 260 nm [64].

Asimismo, a partir de los estudios de dicroísmo circular también se puede evidenciar cambios conformacionales de las formas del ADN del tipo $B \rightarrow Z$ y $B \rightarrow A$. Para la forma Z, la orientación de las bases es opuesta a la observada para la forma B. Como consecuencia, el espectro observa es el inverso al observado para la forma B, presentando una banda negativa a 290 nm y una positiva a 280 nm. Mientras que la conformación A del ADN, presenta una forma similar a la de la B, con la diferencia de la intensidad de las bandas, la banda positiva alrededor de 260 nm es mucho más

intensa a la que presenta el espectro de la conformación B, mientras que la intensidad de la banda negativa es mucho menor que la observada en la conformación B [67].

1.4.2.4 Estudio del modo de interacción por variación de la viscosidad.

Las mediciones hidrodinámicas se consideran la prueba más crítica de un modelo de unión de ADN en solución [118].

La viscosidad es un método directo donde las interacciones molécula-ADN son estudiadas en función de los cambios hidrodinámicos inducidos por la molécula al unirse al ADN. El experimento se basa en introducir concentraciones crecientes de la molécula a una solución que contiene una concentración fija de ADN y observando cómo se va modificando la velocidad de desplazamiento del ADN [103].

La viscosidad del ADN depende estrictamente de los cambios de longitud que pueden ocurrir como consecuencia de una interacción entre la doble hélice del ADN y una pequeña molécula. Un complejo metálico intercalado provoca una separación de los pares de bases, para que se acomode en la estructura del ADN, lo que lleva a un alargamiento de la hélice del ácido nucleico y un aumento de su viscosidad (Fig. 1.2.1). En el caso de intercalación parcial y/o no clásica (unión en los surcos o en el esqueleto de azúcar-fosfato), el complejo metálico puede doblar o torcer la doble hélice del ADN, causando un cambio menos obvio (un aumento o una disminución) o ningún cambio en la viscosidad del ADN [103,118,119]

La viscosidad relativa para el ADN en presencia o en ausencia de los complejos, se puede determinar a partir de la siguiente ecuación:

$$\eta = (t-t_0)/t_0, \quad \text{Ec. 2.0}$$

donde t es el tiempo de flujo observado para el ADN en presencia de los complejos, y t_0 el tiempo de flujo del buffer solo. La viscosidad es graficada como $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ versus la relación molar [Complejo/ADN] (teoría de Cohen y Eisenberg), donde η_0 es la viscosidad relativa del ADN en ausencia de los complejos y η la viscosidad relativa del ADN en presencia de los complejos [118].

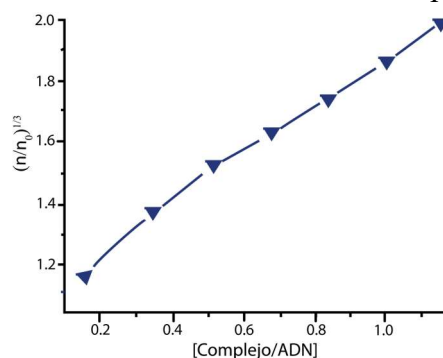


Figura 1.2.1. Variación de la viscosidad relativa del ADN (expresada como $(\eta/\eta_0)^{1/3}$) en presencia de bromuro de etidio [119].

1.4.3 Interacción con modelos de membranas fosfolipídicas.

La membrana celular es el primer medio que debe atravesar un compuesto para ejercer su efecto en la célula. Existen pocas referencias del estudio de la interacción de complejos con modelos de membrana. En la Figura 1.2.2 se presenta un esquema comparativo de la composición de las membranas presentes en líneas celulares normales y tumorales.

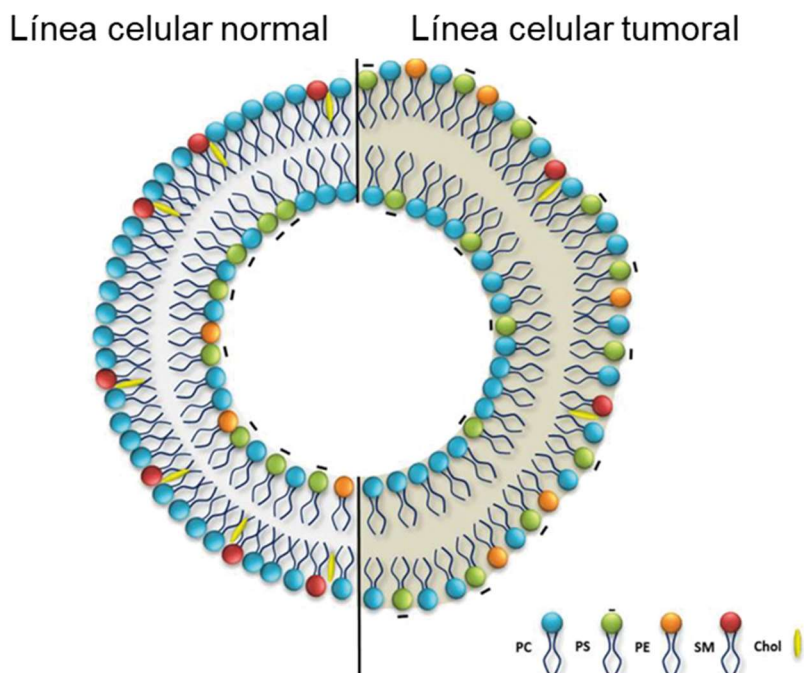


Figura 1.2.2. Composición de las membranas de las células normales y tumorales [120]. PC: fosfatidilcolina, PS: fosfatidilserina, PE: fosfatidiletanolamina, SM: esfingomielina, Chol: colesterol.

Una forma de estudiar la interacción de moléculas con las membranas celular es observando los cambios estructurales a los que se induce la membrana en presencia de estas moléculas. Los cambios en las membranas lipídicas se han asociado a varias patologías, incluidas el cáncer entre ellas. Las células tumorales presentan características químicas, estructurales, metabólicas y biofísicas que difieren de las que presentan las células normales. El cáncer se caracteriza por una proliferación celular en la que las células que se dividen rápidamente requieren varias biomoléculas, incluyendo ácidos grasos y membranas lipídicas, para satisfacer sus necesidades [120,121].

Como se mencionó previamente, existen pocas referencias de estudios de interacción de compuestos de coordinación con modelos de membrana, sin embargo, en la bibliografía se encuentran trabajos de interacción con complejos de Cu(II) como los son el de Rossos y colaboradores, quienes realizaron estudios de interacción a partir de simulaciones computacionales con modelos de membrana, usando el complejo $[Cu(2\text{-benzimidazolyl-úrea})_2](NO_3)_2$ con el lípido 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC), donde observaron que debido a las cargas de la

membrana se daba un impedimento de la penetración del complejo de Cu(II) en la misma [122]. Palaniandavar y colaboradores, estudiaron el comportamiento de diferentes especies de la forma $[\text{Cu}(\text{NN})_2\text{Cl}]\text{Cl}$ (donde las diiminas usadas fueron 2,2'-bipiridina, 1,10-fenantrolina, 4-metil-1,10-fenantrolina, 5-metil-1,10-fenantrolina, 5-nitro-1,10-fenantrolina, 4,7-dimetil-1,10-fenantrolina, 5,6-dimetil-1,10-fenantrolina, 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina y 3,4,7,8-tetrametil-1,10-fenantrolina), los cuales fueron estudiados en la presencia de soluciones de micelas aniónicas, catiónicas y no iónicas por diferentes métodos espectroscópicos y redox, donde observaron que estos interactuaban de con mayor fuerza con la micela aniónica 1-dodecanosulfonato de sodio (SDS) y que en presencia de esta se da la coexistencia de las especies $[\text{Cu}(\text{NN})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]^+$ y $[\text{Cu}(\text{NN})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ las cuales se unen por la cabeza negativa de la micela SDS [123].

Para los estudios de interacción llevado a cabo en este trabajo, se seleccionó un modelo de membrana constituido por una mezcla equimolar de los lípidos 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC) y 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoserina (DPPS) (Fig. 1.2.3). La selección de esta mezcla se basó en utilizar un sistema lo más aproximado posible a la composición real de las membranas que recubren a las células tumorales y no tumorales (Fig. 1.2.2), con la cual el grupo del Dr. Costa-Filho ya ha realizado trabajo de estudios de interacción de fármacos, como es el caso de amodiaquina, el cual es usado como antimalárico [124].

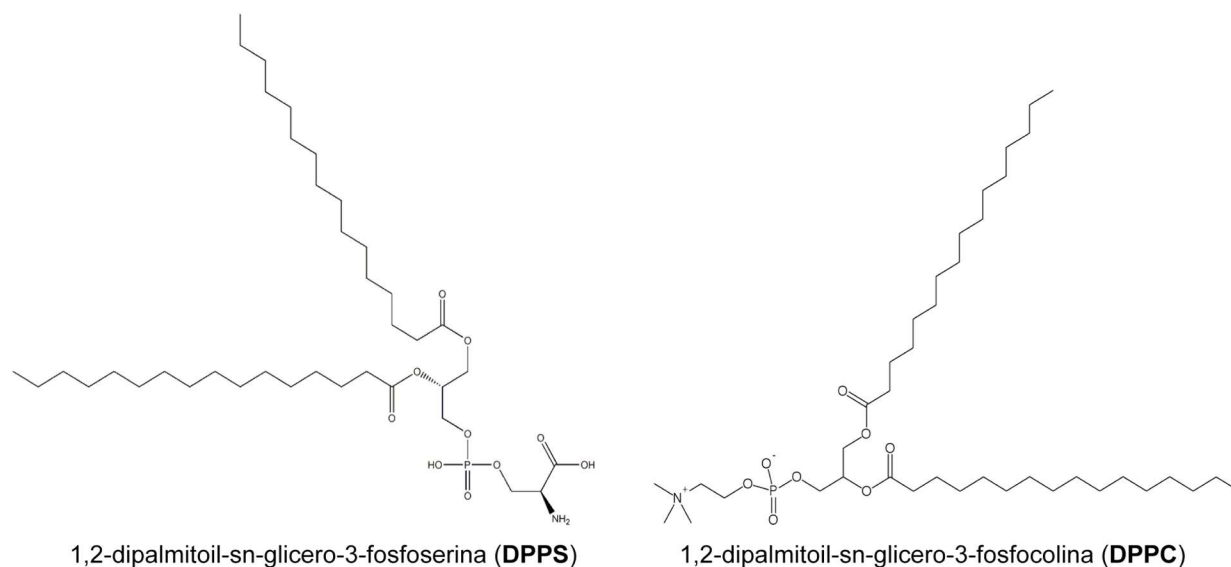


Figura 1.2.3. Estructura de los lípidos seleccionados para la composición de la membrana estudiada.

Distintas técnicas son usadas para el estudio de la interacción de moléculas con los modelos de membranas, para el caso de este trabajo se seleccionaron dos técnicas: la calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés) y la espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica (EPR, por sus siglas en inglés).

1.4.3.1. Estudios de interacción por calorimetría diferencial de barrido (DSC).

Debido a la complejidad de las membranas biológicas y su inestabilidad, el estudio de sus transiciones de fase no es una tarea fácil. Por lo tanto, los lípidos y especialmente las bicapas fosfolipídicas (que comparten muchas de las propiedades conformacionales y dinámicas de las membranas naturales) son utilizados como modelo de membranas. Cuando se hidratan, las fosfatidilcolinas forman espontáneamente bicapas multilaminares. Por lo tanto, estos fosfolípidos han recibido mucha atención en términos de sus propiedades físicas en presencia y ausencia de moléculas de un posible fármaco [125].

La calorimetría es la única técnica que mide directamente la termodinámica de las interacciones que estabilizan las estructuras de las macromoléculas biológicas, permitiendo así la caracterización del sistema. A partir de esta técnica se estudió de la modificación del perfil de la transición de fase de las membranas lipídicas (Fig. 1.2.4) por la presencia de los complejos metálicos. Los parámetros termodinámicos obtenidos permitieron proponer posibles sitios de unión de los complejos en la membrana lipídica [124].

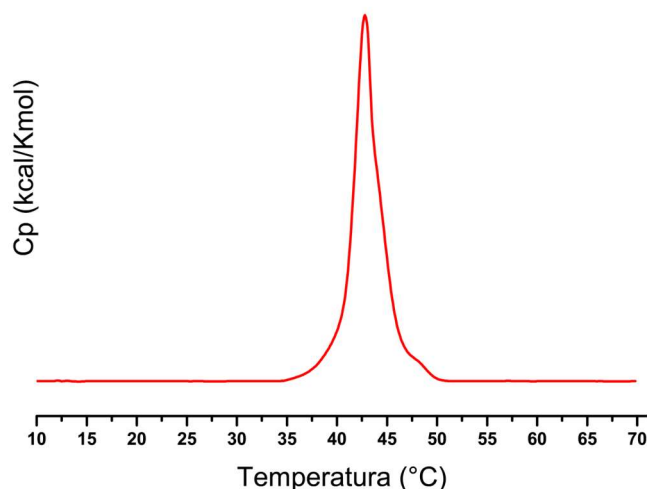


Figura 1.2.4. Termograma típico de la membrana DPPC/DPPS.

El perfil observado para las membranas se modifica según el tipo de interacción que presentan las pequeñas moléculas con la misma. Una de las modificaciones es la observada con la interacción de amodiaquina con este modelo de membrana, donde el perfil obtenido para el dominio amodiaquina-membrana presentó la separación del perfil en dos picos (Fig. 1.2.5), en este caso se determinó que la presencia de dos picos corresponden a la presencia de dos dominios ricos en cada uno de los fosfolípidos, y esta diferencia se podía observar debido a la preferencia de la amodiaquina por uno de los dominios que forman la mezcla de la membrana, donde la temperatura de transición menor corresponde al dominio rico en DPPC y la de mayor valor al dominio rico en DPPS, el pico correspondiente a cada uno de los dominios intensifica su intensidad según la preferencia del fármaco por cada uno de ellos. En el caso de la amodiaquina se observó una intensificación de la banda correspondiente al dominio rico en DPPC [124].

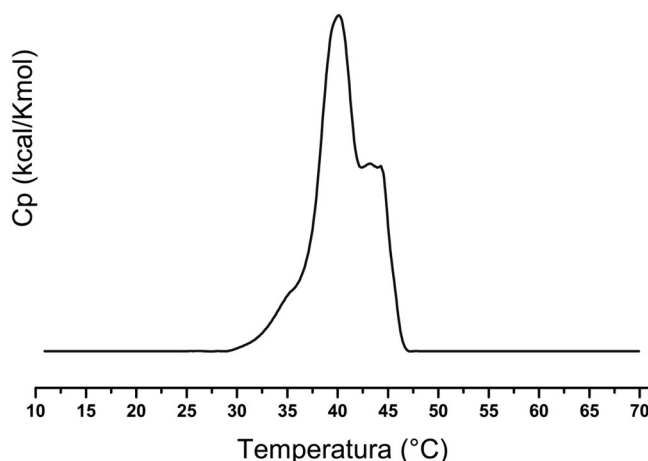


Figura 1.2.5. Termograma del aducto amodiaquina-DPPC/DPPS, adaptada de [124].

1.4.3.2. Estudio de la interacción con modelos de membranas por EPR.

Esta técnica tiene dos usos primordiales en el estudio de este tipo de interacciones, primeramente para monitorear la señal de centro metálico de cobre(II), o de otros centros metálicos activos en el EPR, en presencia de las membranas lipídicas, donde se pueden identificar cambios en la esfera de coordinación de los complejos ocasionados por la unión de los mismos con la membrana. Estos se pueden evidenciar comparando los espectros de los complejos en solución a temperatura ambiente, y luego en presencia de la membrana lipídica.

El segundo uso es el seguimiento de la señal de los espectros a través del uso de marcadores de espín, los cuales son sondas magnéticas derivadas de los fosfolípidos. Un marcador de espín es una molécula orgánica que presenta en su estructura un radical libre paramagnético estable, pudiendo ser en principio cualquier especie paramagnética, pero en la práctica, las sondas de espín presentan generalmente un fragmento paramagnético N-O [126].

Existen sondas marcadas en diferentes posiciones de la cadena, como lo son las DOPTC (marcador de cabeza) y los marcadores de cadena de forma *n*-PCSL (*n* pudiendo ser 5, 7, 10, 12, 14 y 16), siendo usado para este trabajo DOPTC y 14-PCSL. En el uso de marcadores de espín se monitorea si existen cambios en el espectro del marcador a una temperatura dada lo que refleja un cambio del ambiente estructural del marcador. Estas modificaciones, en particular, se deben a una mayor o menor fluidez de la membrana con el fármaco en comparación a la membrana en ausencia del mismo. Este estudio permite obtener información del modo de interacción que se da entre el fármaco y la membrana, a partir de este estudio se puede observar si el fármaco penetra la membrana o la interacción se da por la cabeza de esta [124].

1.5. ACTIVIDAD CITOTÓXICA.

En el desarrollo de nuevos agentes antitumorales, uno de los testeos que se realiza, primeramente, es el estudio en cultivos celulares de líneas tumorales y no tumorales, dónde se exponen cultivos

celulares a diferentes concentraciones de los complejos y se analiza la viabilidad celular en presencia de estos. Los métodos para estudiar esta viabilidad celular pueden variar de simple a métodos completos [127].

Los ensayos que miden la actividad metabólica son adecuados para analizar proliferación, viabilidad y citotoxicidad. La reducción de sales de tetrazolio como 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio, bromuro de tetrazolio (MTT), 2,3-bis-(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazolio-5-carboxanilida (XTT) y sales de tetrazolio solubles en agua (WST1), a compuestos de formazán coloreados, ocurre solo en células metabólicamente activas [128]. Este método es particularmente útil cuando un cultivo celular necesita ser monitoreado varias veces para, por ejemplo, medir la proliferación celular, ya que este producto no es tóxico y, por lo tanto, permite realizar pruebas repetitivas de una misma preparación celular [129].

El método de MTT es uno de los más usados. Este método utiliza un colorímetro para determinar la viabilidad celular. El reactivo MTT produce bajos valores de absorbancia en ausencia de células. En el ensayo MTT, la relación lineal entre células metabólicamente activas y el color producido está establecido, lo que permite una cuantificación precisa de cambios en la tasa de muerte o proliferación celular. MTT es el método comúnmente aplicado para la evaluación de la viabilidad celular y la citotoxicidad para el desarrollo de fármacos [127].

Los experimentos de citotoxicidad generalmente están diseñados para determinar valores de IC_{10} y IC_{50} (es decir, la concentración que causa el 10 o 50 % de muerte celular, respectivamente), así como la concentración máxima no tóxica de un compuesto (es decir, la concentración más alta compatible con la supervivencia celular) [130].

Para el estudio de la actividad citotóxica de los complejos de cobre(II) se realizaron estudios *in vitro* de una serie de células tumorales y no tumorales, usando el ensayo calorimétrico MTT. Para esto se seleccionaron diferentes líneas celulares tumorales derivadas de tumores en humanos:

- Líneas de cáncer de mama, el de mayor incidencia, de MDA-MB-231 (correspondientes a adenocarcinoma de mama metastásico humano), MCF-7 (adenocarcinoma de mama metastásico humano).
- A549 provenientes de carcinoma humano epitelial de pulmón.
- A278cis provenientes de carcinoma humano de ovario, resistente al cisplatino, lo que permite evaluar si en este caso existe resistencia cruzada entre los complejos en estudio y el Cisplatino.
- Líneas celulares no tumorales, MRC-5 (de pulmón) y MCF-10A (de mama).

CAPÍTULO 2: MÉTODOS Y MATERIALES

2.1 REACTIVOS Y MATERIALES.

Los reactivos fueron utilizados sin previa purificación. La sal de cobre utilizada para la síntesis de los complejos fue $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck). Los ligandos usados se obtuvieron de Sigma-Aldrich: ácido 3-(4-hidroxifenil)propanoico (98%), ácido fenilpropanoico (99%), ácido fenilacético (99%), L-Gly-Val (95%), L-Gly-Phe (>97%), L-Ala-Phe (>98%), 2,2'-bipiridina (>99%), 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina (99%), 1,10-fenantrolinea (99%), 4-metil-1,10-fenantrolinea (97%), 2,9-dimetil-1,10-fenantrolinea (>98%), 4,7-difenil-1,10-fenantrolinea (97%) y 2,9-dimetil-4,7-difenil-1,10-fenantrolinea (96%). Los solventes orgánicos: etanol, n-octanol y DMSO también fueron obtenidos de Sigma-Aldrich.

2.2 SÍNTESIS DE LOS COMPLEJOS.

Para la obtención de los complejos se utilizaron metodologías de sustitución en solución acuosa. Se sintetizaron complejos homolépticos a partir de los ligandos fenilcarboxílicos, ácido 3-(4-hidroxifenil)propanoico, ácido fenilpropanoico, ácido fenilacético y heterolépticos a partir de ligandos diimínicos (NN) como la 1,10-fenantrolinea y sus derivados, usando como coligando los ligandos fenilcarboxílicos. Para los complejos de Ga(III) se sintetizaron complejos homolépticos usando como ligando los ácidos fenilcarboxílicos y dipéptidos seleccionados.

2.2.1 Síntesis de los complejos homolépticos de Cu(II).

Se disolvió 0,23 mmol de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en 5 ml de agua y se mezcló con una solución de ácido fenilcarboxílico 0,23 mmol en 2 ml de etanol y 8 ml de agua, el color de las tres síntesis se tornó verde azulado. Se le ajustó el pH hasta un valor de 6 con NaOH 0,1 M para evitar precipitación del hidróxido de Cu(II), intensificándose el color de la solución. Se agitó por 10 minutos, y la solución se dejó evaporar a temperatura ambiente. Obteniéndose monocristales para dos de los complejos sintetizados de fórmula $[\text{Cu}_2(3-(4\text{-hidroxifenil})\text{propanoato})_4(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y $[\text{Cu}_2(\text{fenilacetato})_4]$.

Tabla 2.0.1. Complejos homolépticos obtenidos de Cu(II), fórmulas, peso fórmula (PF), rendimientos obtenidos (R%) y resultados del análisis elemental.

Código	Fórmula propuesta	R (%)	PF (g/mol)	%C _t /%C _e	%H _t /%H _e
CuL1*	$[\text{Cu}_2(3-(4\text{-hidroxifenil})\text{propanoato})_4(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	60	859,82	50,29/50,15	5,16/5,45
CuL2	$[\text{Cu}_2(\text{fenilpropanoato})_4(\text{H}_2\text{O})_2]$	65	759,79	56,90/56,80	5,31/5,39
CuL3*	$[\text{Cu}_2(\text{fenilacetato})_4]$	57	667,65	57,57/57,67	4,23/4,57

*Complejos cuya estructura cristalina se determinó por difracción de rayos X.

2.2.2 Síntesis de los complejos heterolépticos de Cu(II).

Se disolvió 0,23 mmol del ligando diimínico en 2 ml de etanol y 0,23 mmol de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en 5 ml de agua, estas soluciones se mezclaron en agitación obteniéndose una solución azul o verde según el ligando. La solución anterior se mezcló con una solución del ácido fenilcarboxílico 0,23 mmol en 2 ml de etanol y 8 ml de agua, el color de la primera solución se tornó más oscuro en cada caso. Se le ajustó el pH a 7 con NaOH 0,1 M intensificándose el color de la solución. Se agitó por 10 minutos, y la solución se dejó evaporar a temperatura ambiente (TA) o se filtró el precipitado

(F) según el caso (se especifica en la tabla 2.0.2 para cada complejo). Obteniéndose monocristales para 4 de los complejos sintetizados de fórmula $[\text{Cu}_2(3-(4\text{-hidroxifenil})\text{propanoato})_3(\text{phen})_2]\text{Cl}\cdot 7\text{H}_2\text{O}\cdot \text{EtOH}$, $[\text{CuCl}(\text{fenilpropanoato})(\text{neo})]\cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$, $[\text{CuCl}(\text{fenilacetato})(\text{neo})]$ y $[\text{Cu}_2\text{Cl}(\text{fenilpropanoato})(\text{bipy})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_2\cdot 2,5\text{H}_2\text{O}\cdot 2,5\text{EtOH}$.

Tabla 2.0.2. Complejos heterolépticos con fórmula general de Cu(II), rendimientos obtenidos (R%) y el procedimiento para obtención del sólido.

Código	Fórmula propuesta	R (%)	Obtención del sólido
1P*	$[\text{Cu}_2(3-(4\text{-hidroxifenil})\text{propanoato})_3(\text{phen})_2]\text{Cl}\cdot 7\text{H}_2\text{O}\cdot \text{EtOH}$	45	TA
2P	$[\text{CuCl}(\text{fenilpropanoato})(\text{phen})]\cdot 2\text{EtOH}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$	55	F
3P	$[\text{Cu}_2\text{Cl}(\text{fenilacetato})(\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	43	F
4M	$[\text{CuCl}(3-(4\text{-hidroxifenil})\text{propanoato})(4\text{metil-phen})]$	37	TA
5M	$[\text{Cu}_2\text{Cl}(\text{fenilpropanoato})(4\text{metil-phen})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_2\cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$	41	F
6M	$[\text{Cu}_2\text{Cl}(\text{fenilacetato})(4\text{metil-phen})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_2\cdot 4,5\text{H}_2\text{O}$	45	F
7N	$[\text{Cu}_2\text{Cl}(3-(4\text{-hidroxifenil})\text{propanoato})(\text{neo})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$	37	F
8N*	$[\text{CuCl}(\text{fenilpropanoato})(\text{neo})]\cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$	51	TA
9N*	$[\text{CuCl}(\text{fenilacetato})(\text{neo})]$	48	TA
10B	$[\text{CuCl}(3-(4\text{-hidroxifenil})\text{propanoato})(\text{batho})]\cdot 0,5\text{H}_2\text{O}\cdot 3\text{EtOH}$	31	F
11B	$[\text{Cu}(\text{fenilpropanoato})(\text{bato})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	29	F
12B	$[\text{Cu}_2\text{Cl}(\text{fenilacetato})(\text{bato})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	32	F
13BC	$[\text{Cu}(3-(4\text{-hidroxifenil})\text{propanoato})(\text{batoneo})_2]\text{Cl}\cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$	27	F
14BC	$[\text{Cu}_2\text{Cl}(\text{fenilpropanoato})(\text{batoneo})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	29	F
15BC	$[\text{Cu}_2\text{Cl}(\text{fenilacetato})(\text{batoneo})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	32	F
16BI	$[\text{CuCl}(3-(4\text{-hidroxifenil})\text{propanoato})(\text{bipy})]\cdot 4,5\text{H}_2\text{O}\cdot 2\text{EtOH}$	41	TA
17BI*	$[\text{Cu}_2\text{Cl}(\text{fenilpropanoato})(\text{bipy})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_2\cdot 2,5\text{H}_2\text{O}\cdot 2,5\text{EtOH}$	48	TA
18BI	$[\text{CuCl}(\text{fenilacetato})(\text{bipy})]\cdot 1,5\text{H}_2\text{O}\cdot 3\text{EtOH}$	42	TA
19D	$[\text{CuCl}(3-(4\text{-hidroxifenil})\text{propanoato})(\text{dmb})]\cdot 1,5\text{H}_2\text{O}\cdot 0,5\text{EtOH}$	51	TA
20D	$[\text{Cu}_2\text{Cl}(\text{fenilpropanoato})(\text{dmb})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_2\cdot 1,5\text{H}_2\text{O}\cdot 2\text{EtOH}$	45	TA
21D	$[\text{Cu}_2\text{Cl}(\text{fenilacetato})(\text{dmb})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}\cdot \text{EtOH}$	37	TA

*Complejos cuya estructura cristalina se determinó por difracción de rayos X.

Tabla 2.0.3. Peso fórmula (PF) y resultados de análisis elemental de los complejos obtenidos.

Código	P. F.(g/mol)	%C _t /%C _e	%N _t /%N _e	%H _t /%H _e	C/N _t /C/N _e
1P*	1190,63	53,46/53,49	4,71/4,71	5,33/5,17	11,4/11,4
2P	564,47	53,19/53,33	4,96/5,03	4,46/4,21	10,7/10,6
3P	783,04	49,08/48,77	7,15/7,09	3,73/3,89	6,9/6,9
4M	458,39	57,60/57,50	6,11/6,12	4,18/4,12	9,4/9,4
5M	798,09	52,67/52,61	7,02/7,09	3,95/3,60	7,5/7,4
6M	870,16	48,72/48,75	6,68/6,58	4,32/4,35	7,3/7,3
7N	905,20	48,61/48,75	6,49/6,20	3,60/3,84	7,9/7,5
8N*	465,43	59,35/59,32	6,02/6,30	4,76/4,85	9,6/9,3
9N*	442,39	59,73/59,32	6,33/6,35	4,33/4,85	9,4/9,3
10B	693,20	67,15/67,57	4,04/4,04	4,90/4,22	16,7/16,6
11B	1003,03	68,15/68,25	5,81/5,59	5,13/5,12	12,2/11,8
12B	1159,48	57,83/58,00	5,12/4,83	4,08/4,60	12,0/11,3
13BC	985,05	84,01/77,40	5,93/5,69	6,37/5,01	13,1/14,2
14BC	1229,62	59,81/59,58	5,10/4,60	4,22/5,16	13,1/11,7

15BC	1215,59	48,84/59,28	7,85/4,61	4,24/5,06	12,9/6,2
16BI	583,77	47,38/47,34	4,77/4,80	4,60/4,84	9,9/9,9
17BI*	860,60	47,23/47,45	6,54/6,51	4,72/4,04	7,2/7,2
18BI	531,42	53,12/53,06	4,98/4,76	4,32/4,96	10,1/10,0
19D	466,41	53,99/53,87	5,69/5,70	4,92/4,92	9,4/9,4
20D	796,12	50,60/50,62	6,38/6,37	4,60/4,90	7,9/7,9
21D	868,16	47,04/47,20	6,41/6,45	4,88/5,31	7,3/7,3

Los complejos resaltados en color rojo en la Tabla 2.0.3, correspondientes a las diiminas batofenantrolina y batoneocuproína, a pesar de numerosos intentos de cambios en los métodos de síntesis y recristalización, no se obtuvieron con la pureza adecuada en estado sólido para continuar su caracterización.

2.2.3 Síntesis de los complejos de Ga(III) con ácidos fenilcarboxílicos.

Para los complejos homolépticos, se disolvieron 0,1 mmol de $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$ en 2 ml de agua y 0,3 mmol de los ácidos fenilcarboxílicos en 5 ml de etanol. Se mezclaron las soluciones, obteniéndose una solución incolora. Se le ajustó el pH a 5 con NaOH 0,1 M y se dejaron en agitación y calentamiento leve (30 °C aproximadamente) por 15 minutos. Se obtuvieron precipitados blancos en los tres casos. Se separó por filtración los sólidos y se dejaron secar a temperatura ambiente.

En el caso del complejo heteroléptico, se disolvieron 0,1 mmol de $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$ en 2 ml de agua y 0,3 mmol de los ácidos fenilcarboxílicos en 5 ml de etanol. Se mezclaron las soluciones, obteniéndose una solución incolora. Se le ajustó el pH a 5 con NaOH 0,1 M. En 2 ml de etanol se disolvió 0,3 mmol de fenantrolina y se agregó a la solución anterior. Se dejaron en agitación y calentamiento leve (30 °C aproximadamente) por 15 minutos. Se obtuvo un precipitado blanco. Se separó por filtración el sólido y se dejó secar a temperatura ambiente.

Tabla 2.0.4. Complejos homolépticos con fórmula general de Ga(III) y rendimientos obtenidos.

Código	Fórmula propuesta	R(%)
GaL1	$[\text{Ga}(3-(4\text{hidroxifenil})\text{propanoato})(\text{OH})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$	42
GaL2	$[\text{Ga}_2(\text{fenilpropanoato})_5(\text{NO}_3)] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$	38
GaL3	$[\text{Ga}(\text{fenilacetato})(\text{OH})(\text{NO}_3)] \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot 0,25\text{EtOH}$	45
GaP	$[\text{Ga}_2(3-(4\text{hidroxifenil})\text{propanoato})_3(\text{phen})_3](\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} \cdot 3\text{EtOH}$	32

Tabla 2.0.5. Peso fórmula (PF) y resultados de análisis elemental de los complejos obtenidos.

Código	PF (g/mol)	%C _t /%C _e	%N _t /%N _e	%H _t /%H _e
GaL1	286,92	37,67/37,61	-	4,57/4,62
GaL2	1091,40	49,52/49,37	1,28/1,29	5,63/5,10
GaL3	313,41	32,57/32,44	4,47/4,49	3,69/3,62
GaP	1589,86	52,13/52,01	7,93/7,94	5,01/4,13

2.2.4 Síntesis de los complejos homolépticos de Ga(III) con dipéptidos.

Se disolvieron 0,1 mmol de $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$ en 2 ml de agua y 0,1 mmol los dipéptidos en 4 ml de agua. Se mezclaron las soluciones, obteniéndose una solución incolora. Se le ajustó el pH a 6 con NaOH 0,1 M y se dejaron en agitación y calentamiento leve (30 °C aproximadamente) por 15 minutos. Se obtuvieron precipitados blancos en los tres casos. Se separó por filtración el sólido y se dejó secar a temperatura ambiente.

Tabla 2.0.6. Complejos homolépticos obtenidos de Ga(III), fórmulas, peso fórmula (PF), rendimientos obtenidos (R%) y resultados del análisis elemental.

Código	Fórmula propuesta	R(%)	PF(g/mol)	%C _t /%C _e	%N _t /%N _e	%H _t /%H _e
Ga1	$[\text{Ga}(\text{Gly-Val})_2(\text{NO}_3)] \cdot 18\text{H}_2\text{O}$	32	802,38	20,62/20,95	9,19/8,73	4,59/4,78
Ga2	$[\text{Ga}(\text{Gly-Phe})_2(\text{NO}_3)] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	28	562,22	46,17/46,69	12,45/12,45	5,36/5,38
Ga3	$[\text{Ga}_2(\text{Ala-Phe})_2(\text{NO}_3)_2(\text{OH})_2] \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$	25	774,98	37,19/36,91	10,84/10,73	4,31/4,69

2.3 CARACTERIZACIÓN.

2.3.1 Caracterización en estado sólido.

2.3.1.1 Caracterización analítica y espectroscópica.

La caracterización analítica de los compuestos se realizó por análisis de elementos livianos (C, H, N y S) en un equipo Thermo Flash 2000.

Los estudios de espectroscopía infrarroja se realizaron en pastillas de bromuro de potasio en una concentración aproximada de 1% en el rango de 400 a 4000 cm^{-1} con una acumulación de 20 espectros y una resolución de 4 cm^{-1} en un equipo Shimadzu IR Prestige 21.

Se realizaron estudios de espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica (EPR) a temperatura ambiente en un equipo JEOL JES-FA200 de banda X perteneciente al Laboratorio de Biofísica Molecular del Departamento de Física de la Facultad de Filosofía, Ciencias y Letras de Ribeirão Preto de la Universidad de São Paulo (LBM, USP-RP).

2.3.1.2 Difracción de Rayos X.

La resolución de estructura de los complejos se realizó por difracción de rayos X de monocristal usando un difractómetro Enraf-Nonius FR590 Kappa-CCD utilizando radiación $\text{MoK}\alpha$ monocromada de grafito (0,71073 Å). El software de recolección utilizado fue un software Bruker AXS Collect, y el procesamiento de datos se realizó con el conjunto de programas HKL Denzo-Scalepack. Las estructuras se resolvieron por métodos directos utilizando el programa SIR-92 y el modelo definido con SHELXL-2013. Los gráficos de la estructura molecular se prepararon utilizando el programa MERCURY. Las medidas y el refinamiento de las estructuras fueron

Capítulo 2 -Métodos y Materiales

realizadas por el Dr. Javier Ellena en el Laboratorio de Cristalografía del Instituto de Física de São Carlos, de la Universidad de São Paulo.

Tabla 2.0.7. Datos Cristalográficos y parámetros de los refinamientos finales.

Código	CuL1	CuL3	1P	8N	9N	17BI
Fórmula empírica	C ₃₆ H ₄₄ Cu ₂ O ₁₆	C ₁₆ H ₁₄ CuO ₄	C ₅₁ H ₄₅ ClCu ₂ N ₄ O ₁₀	C ₄₆ H ₄₂ Cl ₂ Cu ₂ N ₄ O ₄	C ₂₂ H ₁₉ ClCuN ₂ O ₂	C ₂₉ H ₃₃ Cl ₂ Cu ₂ N ₄ O ₇
Color	Azul	Azul	Azul	Verde	Verde	Azul
Peso fórmula	859,832	333,81	1036,47	912,81	442,38	747,57
Sistema cristalino	Triclinico	Monoclinico	Triclinico	Triclinico	Monoclinico	Triclinico
Grupo espacial	<i>P</i> $\bar{1}$	<i>P</i> 2 ₁ /c	<i>P</i> -1	<i>P</i> -1	<i>P</i> 2 ₁ /n	<i>P</i> -1
a(Å)	8,6810(2)	5.17356(6)	12,0229(10)	9,4826(5)	7,5685(3)	7,5056(3)
b(Å)	10,6746(3)	26.2143(3)	12,4358(9)	14,5483(7)	16,8575(6)	14,0909(6)
c(Å)	11,3849(3)	10.20173(12)	16,9684(12)	16,4812(10)	15,3371(6)	16,6157(6)
$\alpha(^{\circ})$	66,930(3)	90	84,683(6)	114,739(5)	90	112,391(4) $^{\circ}$
$\beta(^{\circ})$	70,661(2)	97.8378(11)	72,723(7)	96,265(5)	93,039(4)	99,069(3) $^{\circ}$
$\gamma(^{\circ})$	71,814(2)	90	68,647(7)	90,151(4)	90	90,468(3) $^{\circ}$
Volumen (Å³)	895,43(5)	1370.64(3)	2255,91(2)	2049,7(2)	1954,05(13)	1600,00(12)
Z	1	4	4	2	4	2
Densidad calculada (g/cm³)	1,594	1,618	1,541	1,479	1,504	1,552
Coefficiente de absorción (mm⁻¹)	2,130	2,374	2,483	1,218	1,275	1,547
Tamaño de cristal (mm³)	0,15×0,10×0,10	0,30×0,15×0,08	0,15×0,23×0,18	0,20×0,16×0,15	0,38×0,13×0,08	0,22×0,14×0,03
Rango de colección en theta	4,347 – 80,066 $^{\circ}$	3,372 – 79,397 $^{\circ}$	2,977 – 31,645	4,918 – 69,074 $^{\circ}$	5,32 – 69,014 $^{\circ}$	5,386 – 69,07 $^{\circ}$
Reflecciones colectadas	15912	13429	19933	21105	30052	44532
Reflecciones Independientes	3875	2965	4708	15048	7618	12837
Restricciones/parámetros	0/251	0/191	0/619	0/527	0/255	0/409
Bondad de ajuste en F²	1,040	1,027	1,089	1,010	1,056	1,025
Índices R finales (I>2σ)	R ₁ = 0,0275, wR ₂ = 0,0706	R ₁ = 0,0325, wR ₂ = 0,0835	R ₁ = 0,0663, wR ₂ = 0,0835	R ₁ = 0,0504, wR ₂ = 0,1336	R ₁ = 0,0645, wR ₂ = 0,1663	R ₁ = 0,0360, wR ₂ = 0,0851
Índices R finales (todos los datos)	R ₁ = 0,0278, wR ₂ = 0,0708	R ₁ = 0,0349, wR ₂ = 0,0855	R ₁ = 0,1190, wR ₂ = 0,0835	R ₁ = 0,0989, wR ₂ = 0,1648	R ₁ = 0,1250, wR ₂ = 0,2110	R ₁ = 0,0676, wR ₂ = 0,0995

2.3.2 Caracterización en solución.

2.3.2.1 Solubilidad de los complejos.

La solubilidad de los compuestos obtenidos se definen cuatro categorías según su rango de solubilidad: muy solubles (MS) para compuestos con solubilidad mayor a 3 mM, solubles (S) para aquellos cuya solubilidad se encuentra entre 1 y 3 mM, poco solubles (PS) para solubilidades menores a 1 mM e insolubles (I) para sólidos muy poco solubles para solubilidades menores a 0,1 mM.

Tabla 2.0.8. Solubilidad de los complejos homolépticos de Cu(II) en agua y DMSO.

Complejo	Agua	DMSO
CuL1	PS	MS
CuL2	PS	MS
CuL3	PS	MS

Tabla 2.0.9. Solubilidad de los complejos heterolépticos de Cu(II) en agua y DMSO.

Complejo	Agua	DMSO
1P	S	PS
2P	MS	PS
3P	MS	PS
4M	PS	MS
5M	S	S
6M	MS	PS
7N	I	MS
8N	MS	PS
9N	MS	PS
10B	I	PS
11B	I	PS
12B	I	S
13BC	I	PS
14BC	I	PS
15BC	I	S
16BI	MS	PS
17BI	MS	PS
18BI	S	PS
19D	MS	PS
20D	MS	PS
21D	MS	PS

Tabla 2.1.0. Solubilidad de los complejos de Ga(III) en agua y DMSO.

Complejo	Agua	DMSO
GaL1	I	S
GaL2	I	S
GaL3	I	S
GaP	I	S
Ga1	MS	PS
Ga2	MS	PS
Ga3	MS	PS

2.3.2.1 Conductividad en solución.

Se determinó la conductividad de los complejos con soluciones acuosas o DMSO, según solubilidad de los complejos, de 1 mM medidas a temperatura ambiente con un conductímetro Oakton CON 700. Las soluciones se prepararon en agua destilada y/o DMSO según la solubilidad de los complejos.

2.3.2.2 Caracterización espectroscópica.

Se registró los espectros electrónicos de soluciones de los complejos en cubetas de cuarzo en el rango de 200 a 900 nm en un espectrofotómetro Thermo Scientific modelo Shimadzu UV-1603. Las soluciones fueron preparadas en agua destilada y/o DMSO según la solubilidad de los complejos, para las soluciones en la región UV (200-400 nm) se prepararon concentraciones de 1 mM y para la región visible (400-900 nm) se hicieron diluciones de aproximadamente 5 mM.

Se realizaron espectros de resonancia paramagnética electrónica (EPR) en solución a concentraciones de aproximadas a 5 mM en agua o DMSO según la solubilidad de los complejos, en un equipo JEOL JES-FA200 de banda X perteneciente al LBM, USP-RP. Los espectros se registraron a temperatura ambiente y posteriormente estas soluciones se congelaron a temperatura de nitrógeno líquido, para lograr obtener una mejor información de los complejos en solución.

Los espectros de ^1H -RMN de los complejos de Ga(III) en un equipo Bruker DPX-400 o Avance NEO DPX-400 de Facultad de Química, Udelar, a 30°C. Se prepararon soluciones de los compuestos en DMSO- d_6 para los complejos de los ácidos fenilcarboxílicos y de los compuestos con dipéptidos en D_2O . Se utilizó un B_0 de 400 MHz para los espectros de ^1H . En todos los casos se utilizó tetrametilsilano (TMS) como estándar interno.

2.4 ESTUDIOS DE INTERÉS BIOLÓGICO.

2.4.1 Lipofilia.

Se determinó la lipofilia de los complejos mediante la constante de reparto entre n-octanol y agua, determinándose espectrofotométricamente la concentración de los complejos en cada solvente. Se

utilizó un método adaptado de [96,97]. Para ello se satura octanol con agua y se pone en contacto 0,5 M de este con 0,5 mL de una solución acuosa de los complejos aprox. 1 mM. El tubo se agita vigorosamente por inversión 100 veces. Se separan las fases por centrifugación y se determina el contenido de complejo en cada fase por espectrometría UV, siguiendo el máximo observado de la diimina para los complejos heterolépticos y el de los ligandos aniónicos para los homolépticos. En los casos donde la solubilidad en agua del complejo era demasiado baja, se disolvieron los complejos en el octanol. El valor de P (coeficiente de reparto) se determinó a partir de la Ecuación 1.3 (Capítulo 1).

$$P = C_{\text{octanol}}/C_{\text{agua}} \quad \text{Ec. 1.3}$$

2.4.2 Interacción con ADN.

Se preparó una solución de ADN de timo de ternera (CT-ADN) dejando hidratar el ADN por 12 horas, luego de pasado el tiempo se agitó la solución. Se realizaron diluciones de diferente concentración a partir de dicha solución de ADN. Según el ensayo a realizar, se determinó la concentración usando la absorbancia de la banda a 260 nm (expresado en pares de bases $\epsilon_{260} = 6600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Se corroboró que estuviera suficientemente libre de proteína mediante la determinación del cociente A_{260}/A_{280} , obteniéndose un valor entre 1,8 y 1,9.

2.4.2.1 Determinación de la constante de unión mediante espectroscopía electrónica.

Se realizaron valoraciones de las soluciones de los complejos en presencia de concentraciones crecientes de ADN mediante registro de espectros electrónicos. Para esto a 500 μL de una solución de complejo entre 10-15 μM en buffer Tris/HCl pH=7,4 5mM/NaCl 50 mM, se le agregaron alícuotas de 10 μL de una solución de CT-ADN aproximadamente 2,5 mM y de complejo de concentración del doble de la anterior (para mantener así constante la concentración de complejo durante el experimento). Luego de cada agregado se agitó la celda utilizando un vortex y se registró un espectro por cada agregado de CT-ADN. De esta manera se obtuvieron espectros con concentraciones de CT-ADN que varían de 0 a 250 μM sobre una concentración fija de complejo de aproximadamente 15 μM obteniéndose relaciones de 0 a 20 mol de pares de bases por mol de complejo [131].

2.4.2.2 Estudio del modo de interacción mediante dicroísmo circular.

Para estudiar el modo de interacción de los complejos se registraron espectros de dicroísmo circular (DC) de una solución de CT-ADN en presencia de concentraciones crecientes de los complejos. Para ello a 500 μL de una solución 15 μM de CT-ADN en buffer $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ pH=7,4 10 mM se le agregan 10 μL de solución 2,5 mM de complejo y 20 μM de CT-ADN en buffer 10mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ pH=7,4 manteniendo la concentración de CT-ADN y buffer fija durante todo el experimento. Los espectros fueron registrados en un equipo JASCO J-815 en el rango de 210 a 350 nm con una velocidad de barrido de 100 nm/min, un tiempo de respuesta de

1 s con 4 a 6 acumulaciones para todas las medidas. Estas medidas fueron llevadas a cabo en el LBM, USP-RP.

2.4.2.3 Estudios del modo de interacción mediante viscosidad.

Las medidas de viscosidad se realizaron en un viscosímetro de Ostwald mantenido una temperatura constante de $25,0 \pm 0,1$ °C en un baño termostático.

Se prepararon soluciones de CT-ADN 150 μ M y los compuestos por separado en Tris-HCl (10 mM, pH = 7,2) y posteriormente termostatizados a 25 °C. Las soluciones Complejo-CT-ADN (6 ml) se prepararon justo antes de ejecutar cada experimento, a diferentes relaciones molares ($[\text{complejo}]/[\text{CT-ADN}] = 0,125, 0,250, 0,375, 0,500, 0,625$ y $0,750$). Las soluciones se equilibraron durante 15 min a 25 °C y luego se registraron 5 tiempos de flujo para cada una de las relaciones molares.

La viscosidad relativa del ADN en ausencia (η_0) y presencia (η) de complejos fue calculado como: $(\eta/\eta_0) = t - t_0/t_{\text{ADN}} - t_0$, donde t_0 y t_{ADN} son los tiempos de flujo del tampón y de la solución de CT-ADN solos, respectivamente, mientras que t es el tiempo de flujo de la solución de CT-ADN en presencia de los complejos. Los datos se presentan como $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ en función a la relación $[\text{complejo}]/[\text{ADN}]$ [132].

2.4.3 Interacción con modelos de membranas biológicas.

Para realizar el estudio se preparó una solución de 2 mg/L de una mezcla de los lípidos 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC) y 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoserina (DPPS) en aproximadamente 1 mL de cloroformo y fue secada con N_2 hasta formación de la membrana, luego se dejó en desecador por 24 h. Se disolvió la membrana en buffer HEPES 71,4 mM, a esta solución se le agregó 50 μ l de 2 mg/L (aproximadamente 5 mM) de complejo ayudando a homogenizar con vortex. La preparación de la membrana y los estudios llevados a cabo con estas se realizaron en el LBM, USP-RP.

2.4.3.1 Estudios de interacción con membranas por medio de calorimetría diferencial de barrido (DSC).

Los termogramas de cada mezcla de complejo con membrana se obtuvieron usando un equipo PerkinElmer DSC 4000 en un rango de temperatura de 10 a 70 °C y usando una velocidad de calentamiento lineal de 10 °C/min.

2.4.3.2 Estudios de interacción con membranas por medio de espectroscopía paramagnética electrónica (EPR).

La solución de las membranas DPPC/DPPS en presencia de los complejos se midieron por EPR en campo correspondiente a la señal de cobre, para observar si se formaba algún cambio en la esfera de coordinación del cobre con relación al complejo en solución, al estar en contacto con la

membrana. Se hicieron medidas a temperatura ambiente y a la temperatura de transición mostrada por la membrana en el experimento de DSC (42 °C).

2.4.3.3 Estudios de interacción con membranas por medio de espectroscopía paramagnética electrónica (EPR) usando marcadores de espín.

Las mezclas de membranas y membranas usadas para este ensayo fueron: POPC (1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina), POPC/POPG (siendo POPG 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol), POPC/POPS (siendo POPS 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfo-L-serina), DPPC/DPPS, DPPC/DPPG (siendo DPPG 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol). Se usaron como marcadores: DOPTC y 14PC. A estas soluciones se le agregó una solución del complejo 8N y se midieron por EPR en campo correspondiente a la señal de los marcadores usados, para observar si se formaba algún cambio en la membrana en presencia del complejo. Se hicieron medidas a temperatura ambiente, y por encima de la temperatura de transición mostrada por la membrana en el experimento de DSC (42 °C).

2.5 ACTIVIDAD CITOTÓXICA *IN VITRO*.

Los ensayos de actividad citotóxica se realizaron en cultivos celulares de MDA-MB-231 (adenocarcinoma de mama metastásico humano, triple negativo), MCF-7 (adenocarcinoma de mama metastásico humano), A549 (carcinoma humano epitelial de pulmón) y líneas celulares normales, MRC-5 (de pulmón) y MCF-10A (de mama) usando el ensayo calorimétrico MTT. Las células fueron cultivadas en un medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) para MDA-MB-231, A549 y MRC-5, suplementado con suero bovino fetal (FBS) 10%, medio Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 para MCF-7, suplementado con FBS 10% o medio Eagle modificado de Dulbecco, mezcla de nutrientes F-12 (DMEM F-12) para MCF-10A, conteniendo suero de caballo 5%, factor de crecimiento epidérmico (EGF, 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$), hidrocortisona (0.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$), insulina (0,01 mg mL^{-1}), penicilina 1% y estreptomycin 1% a 310 K en atmósfera humidificada con 5% de CO_2 .

Para el ensayo, 1.5×10^4 células/pocillo fueron sembradas en 150 μL de medio en placas de 96 pocillos e incubado a 310 K en atmósfera con 5% de CO_2 por 24 h para permitir la adhesión de las células. Luego, las células fueron tratadas con los complejos de cobre por 48 h. Los complejos fueron disueltos en agua o DMSO según solubilidad, y 0.75 μL de la solución fueron agregados en cada pocillo con 150 μL de medio. Después del tratamiento, bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolio (MTT, 50 μL 1 mg mL^{-1} en PBS) fue agregado a cada pocillo, y las placas fueron incubadas por 3 h. La viabilidad celular fue determinada por reducción del MTT a formazan púrpura en células vivas. Los cristales de formazan fueron solubilizados con isopropanol (150 μL /pocillo), y la densidad óptica para cada pocillo fue determinada usando un espectrofotómetro de microplacas a longitud de onda de 540 nm. La concentración inhibitoria para el 50% de la proliferación celular (IC_{50}) fue obtenida por el análisis de los datos de las absorbancias

Capítulo 2 -Métodos y Materiales

de tres experimentos independientes. El estudio fue realizado en el Laboratorio de Bioinorgánica de la Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, Brasil.

CAPÍTULO 3: CARACTERIZACIÓN EN ESTADO SÓLIDO DE LOS COMPLEJOS DE Cu(II)

3.0 COMPLEJOS OBTENIDOS.

De acuerdo a lo presentado en la sección 2.2.1 (Capítulo 2) se sintetizaron y caracterizaron tres nuevos compuestos homolépticos de Cu(II) con los ligandos fenilcarboxílicos. Y como especifica en la sección 2.2.2 (Capítulo 2) se sintetizaron 21 nuevos complejos heterolépticos de Cu(II) a partir de ligandos diimínicos y los ligandos fenilcarboxílicos, obteniendo 15 con la pureza adecuada para su caracterización. Las Tablas 3.0.1 y 3.0.2 presenta los códigos, así como la fórmula asignada para cada uno de los complejos.

Tabla 3.0.1. Códigos y fórmulas de los complejos homolépticos de Cu(II).

Código	Fórmula
CuL1	$[\text{Cu}_2(3-(4\text{-hidroxifenil})\text{propanoato})_4(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
CuL2	$[\text{Cu}_2(\text{fenilpropanoato})_4(\text{H}_2\text{O})_2]$
CuL3	$[\text{Cu}_2(\text{fenilacetato})_4]$

Tabla 3.0.2. Códigos y fórmulas de los complejos heterolépticos de Cu(II).

Código	Fórmula
1P	$[\text{Cu}_2(3-(4\text{-hidroxifenil})\text{propanoato})_3(\text{phen})_2]\text{Cl} \cdot 7\text{H}_2\text{O} \cdot \text{EtOH}$
2P	$[\text{CuCl}(\text{fenilpropanoato})(\text{phen})]2\text{EtOH} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$
3P	$[\text{Cu}_2\text{Cl}(\text{fenilacetato})(\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
4M	$[\text{CuCl}(3-(4\text{-hidroxifenil})\text{propanoato})(4\text{metil-phen})]$
5M	$[\text{Cu}_2\text{Cl}(\text{fenilpropanoato})(4\text{metil-phen})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_2 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O} \cdot 5\text{EtOH}$
6M	$[\text{Cu}_2\text{Cl}(\text{fenilacetato})(4\text{metil-phen})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} \cdot 0,5\text{EtOH}$
7N	$[\text{Cu}_2\text{Cl}(3-(4\text{-hidroxifenil})\text{propanoato})(\text{neo})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
8N	$[\text{CuCl}(\text{fenilpropanoato})(\text{neo})]0,5\text{H}_2\text{O}$
9N	$[\text{CuCl}(\text{fenilacetato})(\text{neo})]$
16BI	$[\text{CuCl}(3-(4\text{-hidroxifenil})\text{propanoato})(\text{bipy})]4,5\text{H}_2\text{O} \cdot 2\text{EtOH}$
17BI	$[\text{Cu}_2\text{Cl}(\text{fenilpropanoato})(\text{bipy})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_2 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O} \cdot 2,5\text{EtOH}$
18BI	$[\text{CuCl}(\text{fenilacetato})(\text{bipy})] \cdot 1,5\text{H}_2\text{O} \cdot 3\text{EtOH}$
19D	$[\text{CuCl}(3-(4\text{-hidroxifenil})\text{propanoato})(\text{dmb})] \cdot 1,5\text{H}_2\text{O} \cdot 0,5\text{EtOH}$
20D	$[\text{Cu}_2\text{Cl}(\text{fenilpropanoato})(\text{dmb})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_2 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O} \cdot 2\text{EtOH}$
21D	$[\text{Cu}_2\text{Cl}(\text{fenilacetato})(\text{dmb})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} \cdot \text{EtOH}$

3.1 DETERMINACIÓN DE ESTRUCTURAS CRISTALINAS POR DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE MONOCRISTAL

3.1.1 Complejos homolépticos.

Para los complejos homolépticos se obtuvo monocristales adecuados para difracción de rayos X para dos de ellos. En la Tabla 3.0.3 se presenta la geometría y el entorno de coordinación. En la Figura 3.0.1, se presenta el contenido de la unidad asimétrica de la estructura cristalina para el complejo $[\text{Cu}_2(3\text{-(4-hidroxifenil)propanoato})_4(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**CuL1**).

Tabla 3.0.3. Geometrías y entorno de coordinación de cada una de las estructuras cristalinas.

Complejo	Geometría	Entorno de coordinación
CuL1	Pirámide de base cuadrada (SBP)	O ₅
CuL3	Pirámide de base cuadrada (SBP)	O ₅

a)

b)

Figura 3.0.1. Representación tipo Ortep con 50% de probabilidad de a) la unidad asimétrica y b) estructura cristalina de $[\text{Cu}_2(3\text{-(4-hidroxifenil)propanoato})_4(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ **CuL1**. Los solventes no se muestran para mejor observación de la estructura cristalina.

La estructura cristalina del complejo **CuL1** muestra que se forma un complejo dimérico en estado sólido. Ambos centros metálicos poseen un índice de coordinación de 5, con una geometría que se aproxima a una pirámide de base cuadrada (SBP), con un valor τ de 0,92. Las posiciones ecuatoriales ocupadas con 4 átomos de O provenientes de 4 moléculas del ligando fenilcarboxílico, los cuales coordinan en forma puente a los centros metálicos. En las posiciones axiales de cada centro metálico se encuentra una molécula de agua. La estructura mostrada en la Figura 3.0.1a, es la denominada “paddle wheel”, observada comúnmente en complejos diméricos de la forma Cu-carboxilato, como es el caso de ligandos como acetato [133,134], propanoato [135], dinitrobenzoatos [136] y N-acetilglicinato [137]. En la Tabla 3.0.4 se presentan las distancias de enlace y ángulos seleccionados para este complejo.

Tabla 3.0.4. Distancias de enlace [Å] y ángulos [°] seleccionados de la estructura cristalina para el complejo **CuL1**.

Distancias (Å)		Ángulos (°)	
Cu1-Cu2	2,608	O1-Cu1-O4	90,98

Cu1-O1	1,960	O5'-Cu1-O4	169,16
Cu1-O2'	1,963	O5'-Cu1-O1	88,48
Cu1-O4	1,965	O2'-Cu1-O4	91,39
Cu1-O5'	1,975	O2'-Cu1-O1	168,36
		O5'-Cu1-O2'	87,05

Se realizó una búsqueda en la base de datos cristalográfica Cambridge Structural Database (CSD), la cual se puede encontrar en los anexos (Fig. A.3.0), donde se encontraron 786 estructuras similares a las del complejo **CuL1**. Existen 900 distancias $\text{Cu}\cdots\text{Cu}$ para estas estructuras diméricas que están determinadas por la coordinación de los grupos carboxilatos en forma de puente bidentado, las distancias se encuentran en un rango entre 2,58 y 2,68 Å (Fig. A.3.1), incluida la distancia observada para este complejo de 2,608 Å. En la búsqueda se encontraron otras estructuras con una distancia $\text{Cu}\cdots\text{Cu}$ de 2,608 Å, que incluyen ligandos acetato [138], propanoato [135,139], benzoato [140,141] y paranitrobenzoato [142]. Las distancias Cu-O para estas estructuras se encuentran entre 1,80 y 2,20 Å (Fig. A.3.2), estando las observadas para este complejo dentro de este rango.

El empaquetamiento cristalino se mantiene unido por la presencia de interacciones de enlaces de hidrógeno [143], que involucran a los grupos hidróxidos y carboxilatos presente en el ligando y las moléculas de agua coordinadas y de cristalización. Cada grupo hidróxido actúa como un aceptor con una molécula coordinada de agua de una molécula de complejo cercana (la distancia $\text{H}\cdots\text{O}$ es de 1,898 Å, el ángulo O-H-O 172,4°) y actúa como donador de una molécula de agua de cristalización (la distancia $\text{H}\cdots\text{O}$ es de 1,903 Å, el ángulo O-H-O 172,5°). El agua de cristalización también actúa como donador en el enlace de hidrógeno a un átomo de O del grupo carboxilato, con una distancia $\text{H}\cdots\text{O}$ de 2,028 Å y un ángulo O-H-O de 153,0°. Se observan enlaces de hidrogeno no clásicos en la interacción $\text{C-H}\cdots\pi$ entre el anillo fenilo y los ligandos de las moléculas de complejos cercanas, con una distancia de H a centroide de 2,658 Å y con un ángulo entre los anillos fenilos de 47,45°.

En la Figura 3.0.2, se presenta el contenido de la unida asimétrica de la estructura cristalina para el complejo $[\text{Cu}_2(\text{fenilacetato})_4]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**CuL3**).

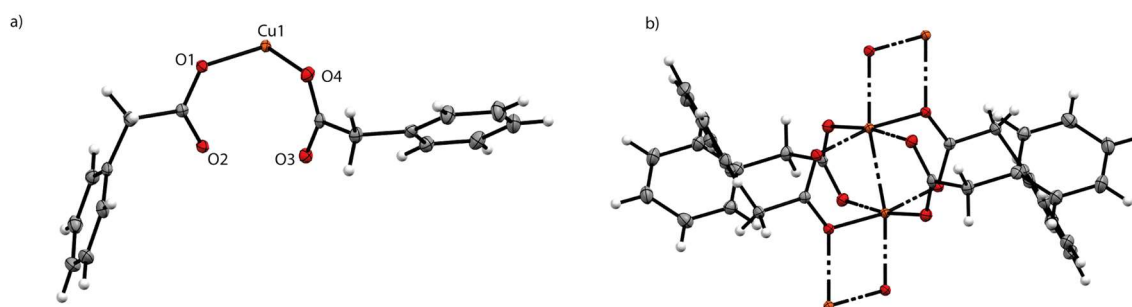


Figura 3.0.2. Representación tipo Ortep con 50% de probabilidad de a) la unidad asimétrica y b) fracción molecular de $[\text{Cu}_2(\text{fenilacetato})_4]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ **CuL3**. Los solventes no se muestran para mejor observación de la estructura cristalina

La estructura del complejo **CuL3** muestra que los átomos de Cu(II) están unidos entre sí por la presencia de cuatro moléculas de ligando **L3**, quienes coordinan por los grupos carboxilatos en forma de puente, al igual que complejo **CuL1**. El complejo **CuL3** cristaliza en un grupo espacial de simetría ($P2_1/c$) mayor en comparación al del complejos **CuL1**, debido a como se observa en la Figura 3.0.2b, hay un cambio considerable en el grupo donador en la posición axial del Cu(II) pentacoordinado, debido a que para este complejo el átomo de O que ocupa la posición axial proviene de una molécula del ligando **L3**. Esta combinación de modos de coordinación del ligando produce la formación de una cadena 1D a lo largo del eje *a* (Fig. 3.0.3). Para este complejo el valor de τ se aproxima para una geometría de BPT para ambos centros metálicos. Las distancias de enlace y ángulos alrededor del centro metálico se presentan en la Tabla 3.0.5.

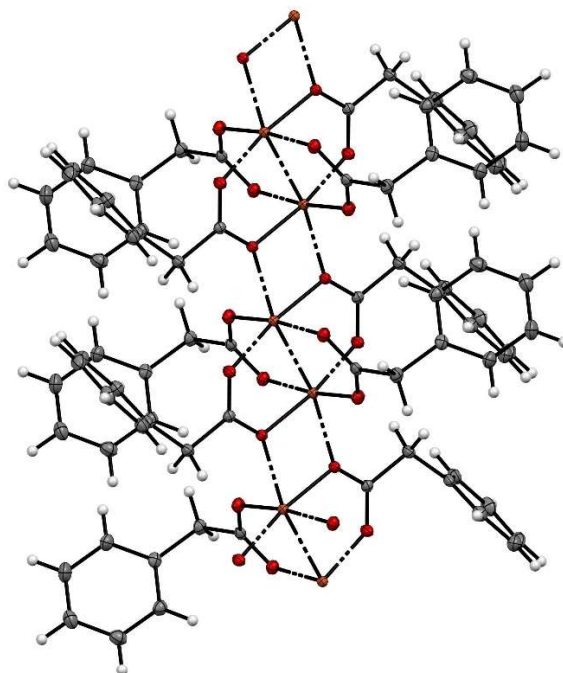


Figura 3.0.3. Cadena supramolecular 1D y modos de coordinación de los grupos carboxilatos presentes en el complejo **CuL3**.

Tabla 3.0.5. Distancias de enlace [Å] y ángulos [°] seleccionados de la estructura cristalina para el complejo **CuL3**.

Distancias (Å)		Ángulos (°)	
Cu1-Cu2	2,579	O4-Cu1-O1	90,85
Cu1-O1	2,017	O4-Cu1-O1'	93,56
Cu1-O1'	1,981	O3'-Cu1-O1	88,81
Cu1-O4	1,949	O3'-Cu1-O1'	96,07
Cu1-O3'	1,948	O3'-Cu1-O4	170,18
Cu1-2'	1,955	O2'-Cu1-O1'	109,16
		O2'-Cu1-O1	169,97
		O2'-Cu1-O4	88,18
		O2'-Cu1-O3'	90,45

En el complejo **CuL3** la distancia Cu···Cu se encuentra dentro del rango encontrado para las estructuras encontradas en la CSD. Las distancias encontradas en el complejo **CuL3** son diferentes a las encontradas para el complejo **CuL1**. Esta distancia entre los centros metálicos también se observó en complejos con ligandos con grupos carboxilatos coordinando en forma de puente entre los átomos de Cu(II) como lo son los complejos con los ligandos hexanoato [144], benzoato [145,146] y 2,3-dihidro-1,4benzodioxina-6-carboxilato [147]. Los enlaces C-O se encuentran dentro del rango de los observados en la CSD (Fig. A.3.2).

En la estructura del complejo **CuL3** se observan interacciones del tipo C-H··· π entre los anillos fenilos del ligando y los átomos de H de la cadena 1D de las moléculas de complejo cercana, con una distancia del átomo de H al centroide de 3,062 Å y un ángulo entre los anillos fenilos de 71,0°. Las cadenas infinitas se mantienen unidas entre si debido a interacciones de dispersión que están asociadas a los anillos fenilos. No se observan enlaces de hidrógeno ni interacciones del tipo π en la estructura.

3.2.2 Complejos heterolépticos.

Se obtuvo monocristales adecuados para difracción de rayos X para cuatro de los complejos sintetizados, de los cuales dos presentan forma dimérica y dos monomérica. En la Tabla 3.0.6 se presenta la geometría, el entorno de coordinación y el valor de τ para cada uno de ellos.

Tabla 3.0.6. Geometrías y entorno de coordinación de cada una de las estructuras cristalinas.

Complejo	Geometría	Entorno de coordinación	τ
1P	Pirámide de base cuadrada (SBP) (1 y 2)	N ₂ O ₃	0,16 (1) 0,20 (2)
8N	Bipirámide trigonal (BPT)	ClN ₂ O ₂	0,80
9N	Bipirámide trigonal (BPT)	ClN ₂ O ₂	0,92
17BI	Pirámide de base cuadrada (SBP) (1 y 2)	ClN ₂ O ₂	0,10 (1) 0,12 (2)

En la Figura 3.0.4 se observa el contenido de la unidad asimétrica de la estructura cristalina para el complejo [Cu₂(3-(4-hidroxifenil)propanoato)₃(phen)₂]Cl·7H₂O·EtOH (**1P**). El complejo **1P** presenta estructura dimérica. Donde ambos centros metálicos tienen un índice de coordinación de 5, dos posiciones ocupadas por dos átomos de N proveniente de una fenantrolina, dos átomos de oxígeno provenientes de dos ligandos de ácido 3-(4-hidroxifenil)propanoico, y otro átomo de oxígeno en posición axial proveniente de otra molécula de ácido 3-(4-hidroxifenil)propanoico. También se observa la presencia del ion cloruro, que actúa como contraión en la estructura. En la Tabla 3.0.7 se presentan las distancias y ángulos de enlaces seleccionados para este complejo.

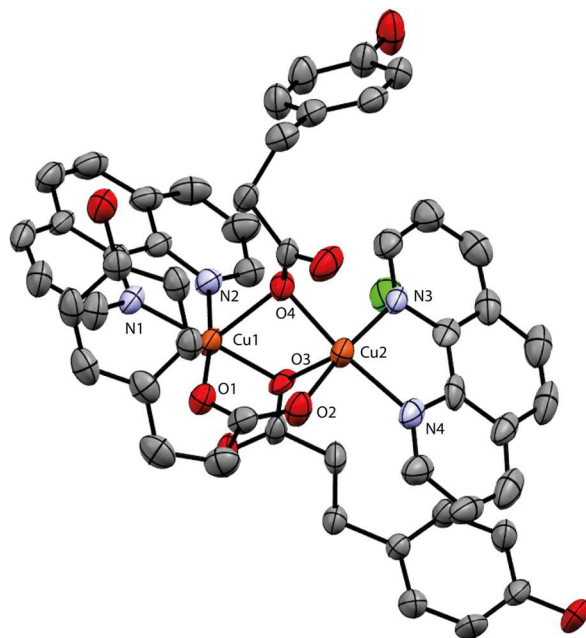


Figura 3.0.4. Representación tipo Ortep con 50% de probabilidad y esquema de numeración de la unidad asimétrica del complejo **1P**.

Tabla 3.0.7. Distancias de enlace [Å] y ángulos [°] seleccionados de la estructura cristalina para el complejo **1P**.

Distancias (Å)		Ángulos (°)	
Cu1···Cu2	2,789	N1-Cu1-N2	82,1
N1-Cu1	2,003	N1-Cu1-O4	104,2
N2-Cu1	1,995	N2-Cu1-O4	94,9
O1-Cu1	1,950	O1-Cu1-O3	94,4
O3-Cu1	1,922	O1-Cu1-O4	89,0
O4-Cu1	2,313	O3-Cu1-O4	81,8
N3-Cu2	2,005	N3-Cu2-N4	81,9
N4-Cu2	2,019	N3-Cu2-O3	93,0
O2-Cu2	1,922	N4-Cu2-O3	101,9
O3-Cu2	2,284	O2-Cu2-O4	94,1
O4-Cu2	1,947	O2-Cu2-O3	90,1
		O4-Cu2-O3	82,0

Para ambos centros metálicos la geometría predominante es la SBP. Las distancias en posición ecuatorial con respecto a ambos átomos centrales son muy similares entre sí. Se puede observar que para el átomo de Cu1 el átomo O4 es el que se encuentra en la posición axial, debido a que esta distancia es mayor con respecto al resto de distancias como consecuencia del efecto Jahn Teller. Para el Cu2 el átomo que se encuentra en posición axial es el átomo O3.

En la bibliografía se encuentra una estructura cristalina reportada con fórmula similar a la obtenida para el complejo **1P** pero con el ligando **L3** (usado para el síntesis del complejo **3P**), $[\text{Cu}_2(\text{fenilacetato})_3(\text{phen})_2] \cdot \text{ClO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ [148]. La disposición de los ligandos alrededor del centro

metálico es la misma que la encontrada para el complejo **1P**, donde tres moléculas del ligando fenilcarboxílico unidas a los dos centros metálicos en forma de puente, dos moléculas del ligando **L1** haciendo puente con un solo átomo de O, y otra molécula haciendo puente con sus dos átomos de O. Sin embargo, las distancias de enlaces no son las mismas en cada complejo. En el caso del complejo $[\text{Cu}_2(\text{fenilacetato})_3(\text{phen})_2]\cdot\text{ClO}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ la distancia $\text{Cu}\cdots\text{Cu}$ es de 3,007 Å la cual difiere de la observada en el complejo **1P**. Sin embargo, los ángulos de enlace N-Cu-N en el complejo $[\text{Cu}_2(\text{fenilacetato})_3(\text{phen})_2]\cdot\text{ClO}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ son ambos de 82,1° que es el mismo valor para el reportado en la Tabla 3.0.7 como N1-Cu1-N2, pero el resto de los ángulos en ambas estructuras difieren, por lo que la “mordida” de los ligandos fenilcarboxílicos son diferentes en los dos complejos, lo que justifica que las distancias de los centros metálicos sean distintas.

En la Figura 3.0.5 se presentan las unidades asimétricas de las estructuras cristalinas de los complejos $[\text{CuCl}(\text{fenilpropanoato})(\text{neo})]\cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (**8N**) y $[\text{CuCl}(\text{fenilacetato})(\text{neo})]$ (**9N**). El entorno de coordinación de los compuestos **8N** y **9N** es muy similar, en ambos casos el cobre se encuentra pentacoordinado. En las posiciones ecuatoriales se encuentra enlazado a dos átomos de N provenientes de la neocuproína, y a dos átomos de O provenientes del carboxilato del ligando **L2** en el caso del complejo **8N** y del **L3** en el caso del complejo **9N**. La esfera de coordinación se completa con un cloruro en posición axial en ambos casos. Los valores cercanos a 1 encontrados para τ de 0,80 y 0,92, para **8N** y **9N** respectivamente, indican que la geometría de los centros metálicos es predominantemente bipirámide trigonal. En la Tabla 3.0.8 se presentan las distancias y ángulos de enlace seleccionados para ambos complejos.

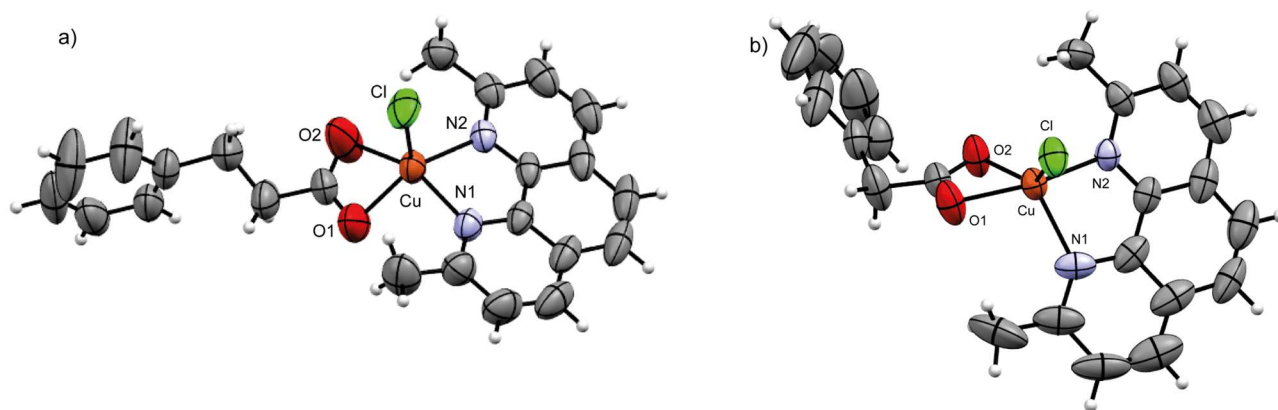


Figura 3.0.5. Representación tipo Ortep con 50% de probabilidad y esquema de numeración de la unidad asimétrica para: a) complejo **8N** b) complejo **9N**.

Tabla 3.0.8. Distancias de enlace [Å] y ángulos [°] seleccionados de la estructura cristalina para los complejos **8N** y **9N**.

Distancias (Å)	8N	9N	Ángulos (°)	8N	9N
Cu-Cl	2,352	2,262	N1-Cu-N2	83,1	80,3
N1-Cu	2,004	1,984	O1-Cu-O2	63,2	62,7
N2-Cu	2,004	2,161	N1-Cu-O1	100,9	99,1
O1-Cu1	2,033	2,105	N2-Cu-O2	100,7	105,5
O2-Cu1	2,033	1,986	N1-Cu-Cl	107,1	96,2
			N2-Cu-Cl	104,9	110,6
			O1-Cu-Cl	100,8	135,3
			O2-Cu-Cl	98,6	97,7

A pesar de las similitudes estructurales, existen diferencias en las distancias de enlace. Para el complejo **8N**, las distancias Cu-N y Cu-O son exactamente las mismas para cada enlace, pero para el complejo **9N** estas distancias son diferentes entre sí. Otra diferencia la podemos observar en los ángulos de enlace, que representan las “mordidas” de los ligandos, para los ángulos N-Cu-N y O-Cu-O en el complejo **9N** son menores que para el complejo **8N**. En la base CSD se encontraron 453 estructuras cristalinas de Cu(II) con geometría BPT con los mismo átomos donores de los complejos **8N** y **9N**.

Los complejos de Cu(II) con neocuproína pentacoordinados tienden a dar geometrías BPT debido al efecto estérico de los metilos [149,150]. Como es el caso del complejo [Cu(hidroxisofalato)(neo)(Cl)]·H₂O para el cual también se observa una geometría de bipirámide trigonal [150], donde la distancia de los enlaces Cu-N y Cu-O diferente entre cada uno al igual que para el complejo **9N**, pero los ángulos N-Cu-N (83,8°) y O-Cu-O (64,3°) se aproximan más a los observados para el complejo **8N**.

A continuación, se muestra la unidad asimétrica de la estructura cristalina del complejo [Cu₂Cl(fenilpropanoato)(bipy)₂(H₂O)]Cl₂·2,5H₂O·2,5EtOH (**17BI**) (Fig. 3.0.6). La estructura cristalina del complejo **17BI** muestra la presencia de un complejo dimérico, donde cada centro metálico presenta un índice de coordinación de 5. Cada átomo de cobre se encuentra enlazado ecuatorialmente a dos átomos de N proveniente de la 2,2'-bipiridina, a un átomo de O del carboxilato del fenilpropanoato unido de forma bidentada conectando los dos centros metálicos, y a un átomo de O, en forma de puente entre los dos centros metálicos, proveniente de una molécula de agua, el cual actúa como puente entre los dos centros metálicos. Este puente se ha observado en otros complejos diméricos de Cu(II) pentacoordinado, como los obtenidos por Tokii y colaboradores de fórmulas [Cu₂(acetato)(phen)₂(H₂O)](NO₃)₂·H₂O y [Cu₂(propanoato)(phen)₂(H₂O)](NO₃)₂·H₂O y [151]. La posición axial en el entorno de coordinación la ocupa en ambos centros metálicos un cloruro, el cual cumple una función de puente entre ellos. Para cada centro metálico tenemos una geometría predominantemente pirámide de base cuadrada, teniendo valores de τ de 0,10 para cada esfera de coordinación de cobre. En la Tabla 3.0.9 se presentan las distancias y ángulos de enlace para el complejo.

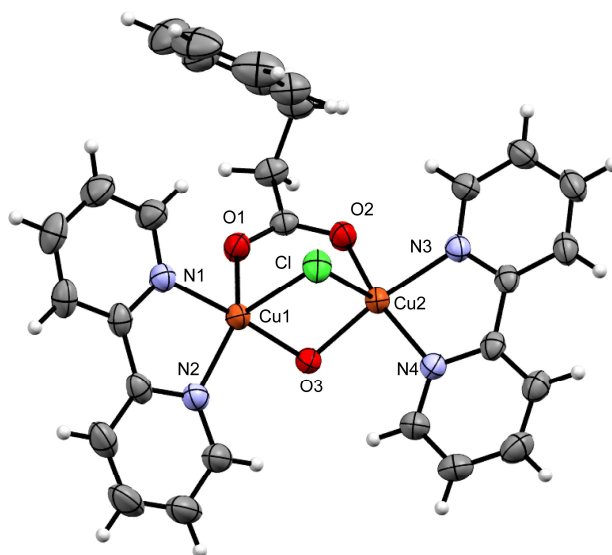


Figura 3.0.6. Representación tipo Ortep con 50% de probabilidad y esquema de numeración de la unidad asimétrica para el complejo **17BI**.

Tabla 3.0.9. Distancias de enlace [Å] y ángulos [°] seleccionados de la estructura cristalina para el complejo **17BI**.

Distancias (Å)		Ángulos (°)	
Cu1-Cu2	2,952	N1-Cu1-N2	80,7
N1-Cu1	1,981	N1-Cu1-Cl	92,3
N2-Cu1	2,008	N2-Cu1-Cl	113,1
O1-Cu1	1,992	O1-Cu1-O3	92,7
O3-Cu1	1,909	O1-Cu1-Cl	89,3
Cl-Cu1	2,555	O3-Cu1-Cl	98,9
N3-Cu2	2,001	N3-Cu2-N4	80,5
N4-Cu2	2,004	N3-Cu2-Cl	99,0
O2-Cu2	1,953	N4-Cu2-Cl	94,6
O3-Cu2	1,920	O2-Cu2-O3	93,5
Cl-Cu2	2,598	O2-Cu2-Cl	99,5
		O3-Cu2-Cl	87,8

La distancia del enlace Cu···Cu para el complejo **17BI**, se aproxima a la reportada para el complejo [Cu₂(fenilpropanoato)₂(phen)₂(NO₃)₂·2H₂O [40]. Mientras que es mayor a la observada para el complejo dimérico **1P** (2,789 Å). Las distancias de los enlaces ecuatoriales observadas para el complejo **17BI** se encuentran dentro de las observadas para ambos complejos diméricos. Se realizó una búsqueda en la base CSD y no se encontraron estructuras cristalinas similares a la determinada para el complejo **17BI**.

3.2.2.1. Análisis de fuerzas intermoleculares y de enlaces de baja energía intramoleculares.

A partir de lo discutido en el Capítulo 1, de la relevancia de este tipo de interacciones para la estabilidad de los complejos se realizará un análisis priorizando estas en los complejos

heterolépticos. En las Figuras 3.0.7, 3.0.8 y 3.0.9 se pueden observar las interacciones que se presentan en los complejos **1P**, **8N** y **17BI** respectivamente.

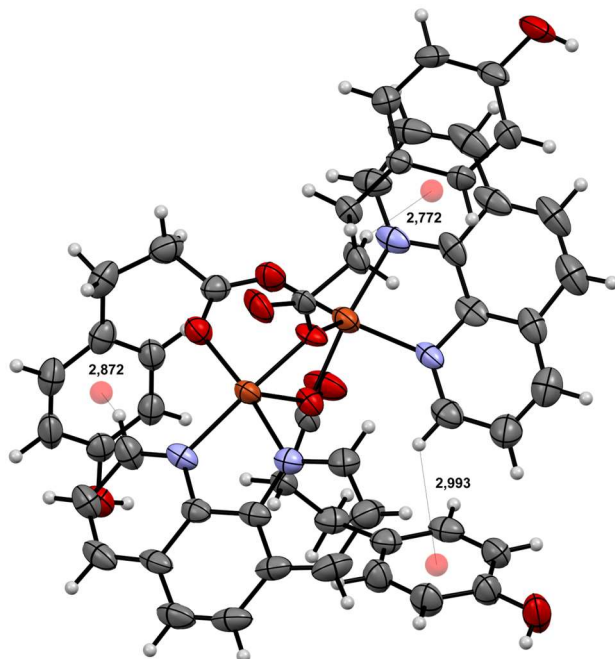


Figura 3.0.7. Interacciones intramoleculares C-H \cdots π en el complejo [Cu₂(3-(4-hidroxifenil)propanoato)₃(phen)₂]Cl \cdot 7H₂O \cdot EtOH (**1P**). Los solventes no se muestran para mejor observación de las interacciones.

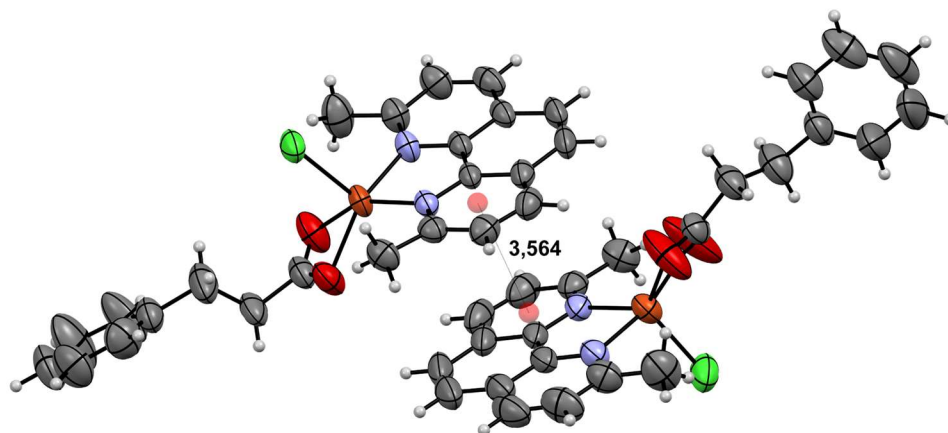


Figura 3.0.8. Interacciones $\pi\cdots\pi$ en el complejo [CuCl(fenilpropanoato)(neo)] \cdot 0,5H₂O (**8N**). Los solventes no se muestran para mejor observación de las interacciones.

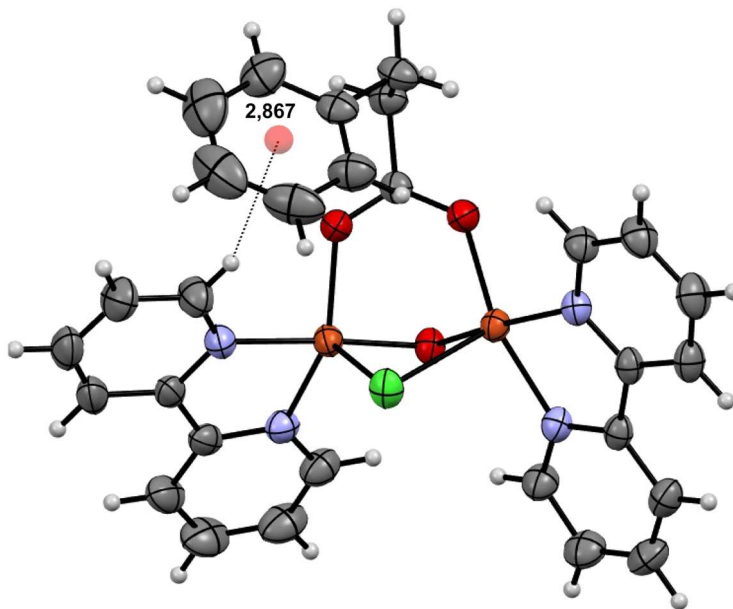


Figura 3.0.9. Interacciones intramoleculares C-H... π en el complejo $[\text{Cu}_2\text{Cl}(\text{fenilpropanoato})(\text{bipy})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_2 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O} \cdot 2,5\text{EtOH}$ (**17BI**). Los solventes no se muestran para mejor observación de las interacciones.

En las estructuras previamente discutidas no se observa el stacking intramolecular que presentó el complejo reportado por Dubler [40], sin embargo, se observa otras interacciones en las moléculas. Para el complejo **1P** se observa que las tres moléculas del ligando **L1** las cuales participan en interacciones intramoleculares C-H... π con las dos moléculas de fenantrolina presentes en la estructura, con distancias H-centroide entre 2,722 y 2,993 Å, las cuales se encuentran dentro de lo habitual para interacciones intramoleculares de este tipo [152]. En el caso del complejo **8N** si bien no se observa interacciones intramoleculares en el complejo, se presenta una interacción π - π por superposición de un anillo aromático de la neocuproína, donde los planos definidos por el ligando se encuentran paralelos con una distancia intercentroide 3,564 Å, este tipo de interacción con distancia intercentroide similar, ya se había observado en trabajos previos del grupo [65]. Finalmente, en la estructura cristalina del complejo **17BI** se observa una interacción intramolecular de tipo C-H... π , con una distancia H-centroide de 2,867 Å, al igual como se mencionó para el complejo **1P**, esta distancia es habitual para interacciones de este tipo.

Las únicas interacciones observadas entre los ligandos fenilcarboxílicos y los ligandos diimínicos son del tipo C-H... π , las cuales están consideradas un tipo de enlace de hidrogeno débil según la clasificación hecha por Desiraju [143].

3.3 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA.

3.3.1 Complejos homolépticos.

Los espectros infrarrojos para los complejos homolépticos sintetizados se presentan en la Figura 3.1.0. Los espectros en el rango de 4000 a 400 cm^{-1} se encuentran en los anexos (Fig. A.3.3).

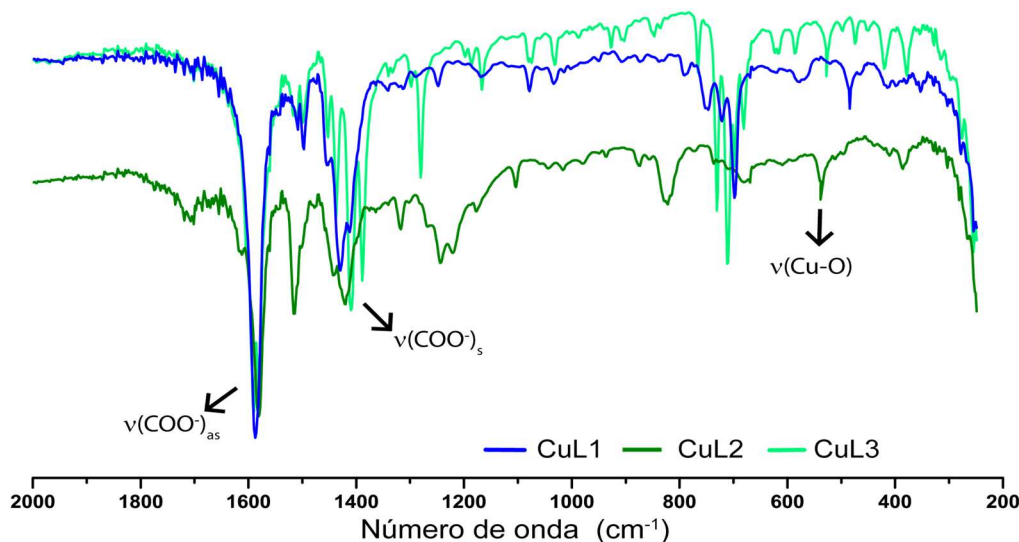


Figura 3.1.0. FT-IR de los complejos homolépticos con los ligandos fenilcarboxílicos.

La asignación de las bandas de absorción de los complejos homolépticos se realizó en función de referencias bibliográficas generales y de complejos con estructura similar sintetizados por el grupo [45,57].

Se observa que los espectros de los complejos tienen un perfil muy similar entre sí, debido a las similitudes estructurales de los ligandos fenilcarboxílicos y a que además la coordinación del ligando es similar. En la Tabla 3.1.0 podemos observar las principales bandas vibracionales de los complejos.

Tabla 3.1.0. Principales bandas vibracionales de los complejos homolépticos.

Banda	L1	CuL1	L2	CuL2	L3	CuL3
$\nu(\text{O-H})$	3402	3330	3200-2900	3500-3200	3100-2900	-
$\nu(\text{COO}^-)_{\text{as}}$	1692	1582	1692	1588	1692	1594
$\nu(\text{COO}^-)_{\text{s}}$	1504	1425	1491	1431	1406	1438
$\nu(\text{Cu-O})$	-	532	-	480	-	532

Para los complejos **CuL1** y **CuL2** podemos ver absorción para la banda $\nu(\text{O-H})$, sin embargo, la forma de las bandas es distinta entre ellos. Esto se justifica debido a la presencia del ion -OH en el anillo del ligando **L1**. Mientras que para el complejo **CuL2** se observa en forma de “hombro” por la presencia de las moléculas de agua

Los corrimientos de las bandas correspondientes a las vibraciones $\nu(\text{COO}^-)_{\text{as}}$ y $\nu(\text{COO}^-)_{\text{s}}$, con respecto a las frecuencias observadas para los ligandos y para los complejos, confirma la coordinación de los ligandos fenilcarboxílicos con el ion de cobre. Si determinamos el $\Delta\nu = \{\nu(\text{COO}^-)_{\text{as}} - \nu(\text{COO}^-)_{\text{s}}\}$ para cada uno de los complejos, encontramos que para **CuL1** = 157 cm^{-1} , **CuL2** = 157 cm^{-1} y **CuL3** = 176 cm^{-1} . Para todos los complejos el modo de unión es de forma de puente bidentado [45,153]. Comparando el valor de $\Delta\nu$ calculado para el complejo **CuL3** y el observado por Massignani en el complejo polimérico $[\text{Cu}_2(\text{fenilpropanoato})_4]_n$ (170 cm^{-1}) [154] se encuentran en el mismo orden para ambos complejos, lo cual es de esperarse debido a que la coordinación de los ligandos fenilcarboxílicos es la misma. La similitud de los valores de $\Delta\nu$ calculados para el complejo **CuL2** y el complejo **CuL1**, da evidencia que la coordinación del ligando fenilcarboxílico en el complejo **CuL2** se asemeja más a la observada en el complejo **CuL1**.

También se observa la banda $\nu(\text{Cu-O})$ correspondiente a un estiramiento del enlace Cu-O, la cual no se observa en los espectros de los ligandos (Fig. A.3.4). La asignación de esta banda se pudo hacer en función a trabajos que por medio de estudios teóricos y experimentales pudieron caracterizar esta vibración, la cual confirma la coordinación de los ligandos al centro metálico [64,155,156].

3.2.2 Complejos heterolépticos.

A continuación, se presentan los espectros infrarrojos obtenidos para todos los complejos heterolépticos sintetizados para este trabajo. Se presenta el espectro en la región de 2000 a 400 cm^{-1} de manera de facilitar la vista de las bandas de mayor interés en los complejos, los espectros a mayor rango se encuentran en los anexos (Fig. A.3.5). Se ordenaron según el ligando diimínico usado para su síntesis.

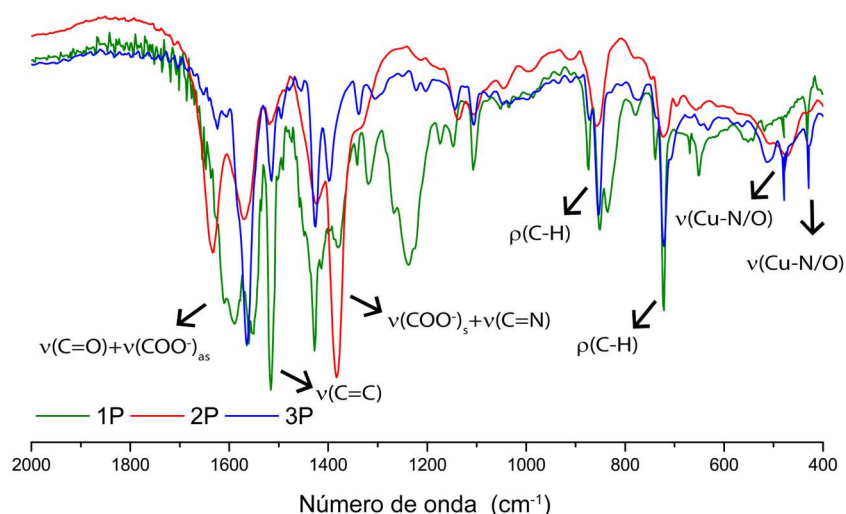


Figura 3.1.1. FT-IR de los complejos heterolépticos sintetizados a partir de fenantrolina.

En la Figura 3.1.1, se presentan los espectros infrarrojos de los complejos **1P**, **2P** y **3P**. En este caso particular los complejos presentan fórmulas distintas entre ellos, y se ve reflejado en sus

espectros infrarrojos. Si bien, las bandas de los grupos funcionales presentes en los espectros son las mismas, los modos de coordinación no lo son, por lo que justifica tanto la diferencia en la forma de las bandas y los corrimientos de estas. Se señalan las vibraciones principales presentes tanto en los complejos en la figura 3.1.1 como en el resto de los complejos heterolépticos mostrados en la figura 3.1.2. Los espectros de los ligandos diimínicos (Fig. A.3.6) y las principales bandas vibracionales (Tabla A.3.1) se presentan en los anexos.

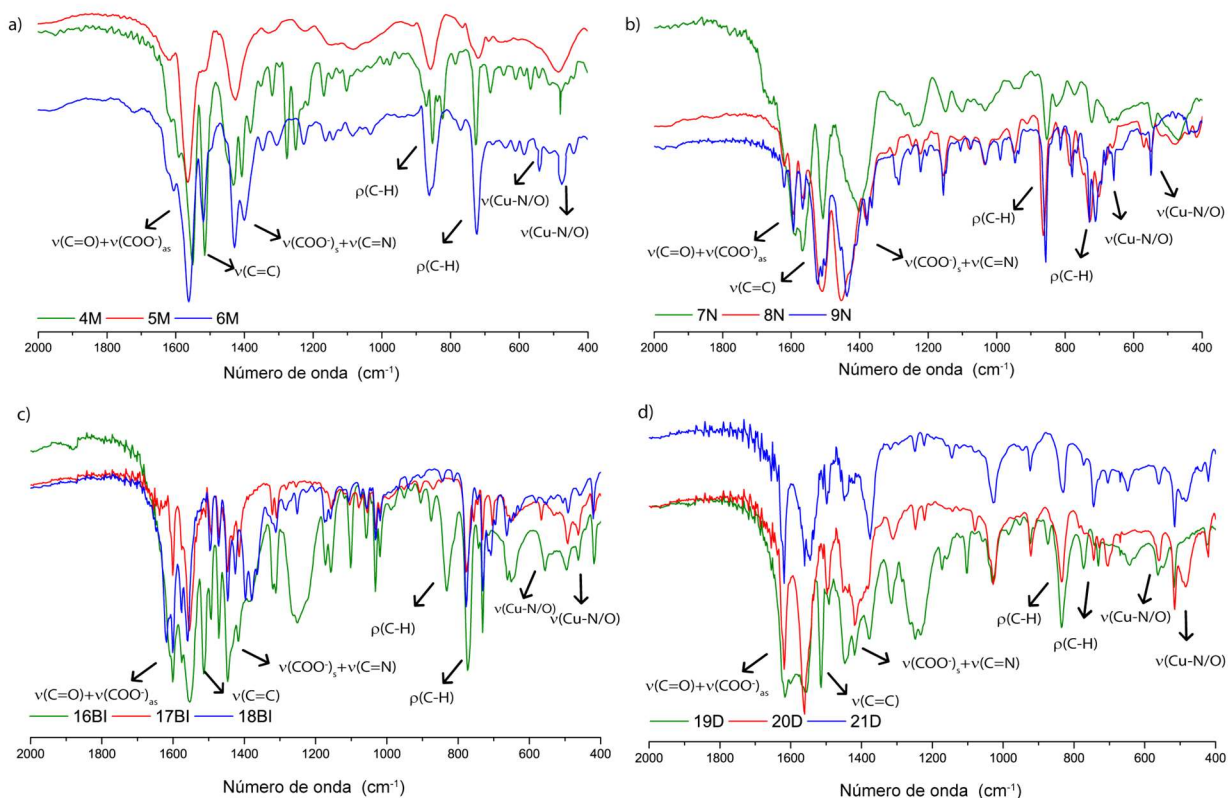


Figura 3.1.2. FT-IR de los complejos heterolépticos sintetizados en este trabajo.

En la Figura 3.1.2, se presentan los espectros infrarrojos de todos los complejos heterolépticos, los complejos 8N y 9N presentan una estructura muy similar entre sí (Fig. 3.0.5) y los espectros infrarrojos para ambos presentan un perfil muy similar entre ellos con las bandas vibracionales casi en la misma posición (Fig. 3.1.2b).

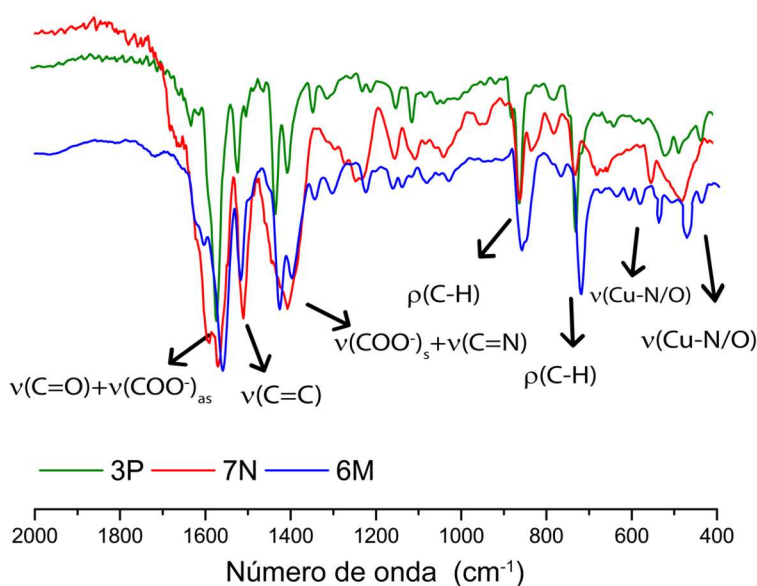


Figura 3.1.3. Comparación de los FT-IR de los complejos diméricos **3P** **7N** y **6M**.

De forma de observar un patrón entre los complejos presentados, se compararon los espectros infrarrojos de los que se presentan en forma de dímeros como se observa en la Figura 3.1.3, donde se comparan los espectros de los complejos **3P**, **6M** y **7N**. Observando que, existe una similitud entre los corrimientos de las bandas de los ligandos, sin embargo, este patrón no pudo ser observado en todos los complejos diméricos, así como en todos los monómeros.

Al igual que para los complejos homolépticos, la asignación tentativa de las bandas características de los complejos y las conclusiones se realizaron en función de referencias bibliográficas [45,49–51,64,149,153,155–160]. Dicha asignación se presenta en la Tabla 3.1.1.

Tabla 3.1.1. Principales bandas vibracionales de los complejos heterolépticos y su asignación tentativa.

Banda	1P	2P	3P	4M	5M	6M
$\nu(\text{C}=\text{N})+\nu(\text{COO})_{as}$	1605, 1587	1701,1585	1583, 1560	1591, 1549	1624, 1589	1624, 1606
$\nu(\text{C}=\text{C})$	1516	1516	1516	1512	1517	1517
$\nu(\text{COO}^-)_s$	1425	1423	1425	1429	1425	1427
$\rho(\text{C-H})$	838	856	851	847	853	853
$\rho(\text{C-H})$	722	722	722	723	718	716
$\nu(\text{Cu-N/O})$	538	514	520	559	540	547
$\nu(\text{Cu-N/O})$	429	475	482	482	482	462
	7N	8N	9N	16BI	17BI	18BI
$\nu(\text{C}=\text{N})+\nu(\text{COO})_{as}$	1595, 1560	1593,1560	1593, 1560	1607, 1554	1600, 1547	1615, 1575
$\nu(\text{C}=\text{C})$	1508	1510	1510	1506	1494	1505
$\nu(\text{COO}^-)_s$	1425	1425	1436	1453	1453	1447

Capítulo 3 – Caracterización en estado sólido de los complejos de Cu(II)

$\rho(\text{C-H})$	859	859	853	836	773	779
$\rho(\text{C-H})$	728	723	721	729	734	727
$\nu(\text{Cu-N/O})$	547	544	544	547	510	503
$\nu(\text{Cu-N/O})$	482	476	431	487	435	433
	19D	20D	21D			
$\nu(\text{C=N})+\nu(\text{COO})_{as}$	1607, 1554	1619, 1566	1619, 1566			
$\nu(\text{C=C})$	1513	1501	1501			
$\nu(\text{COO}^-)_s$	1420	1415	1460			
$\rho(\text{C-H})$	836	817	829			
$\rho(\text{C-H})$	729	741	734			
$\nu(\text{Cu-N/O})$	514	514	526			
$\nu(\text{Cu-N/O})$	421	480	487			

Así como se mencionó previamente con los espectros infrarrojos de los complejos, si observamos las bandas mostradas en las tablas es notorio que todas las bandas se mantienen en un mismo orden de número de ondas, los corrimientos hacia valores mayores o menores son muy pequeños entre sí. Este comportamiento es esperado debido a que los grupos funcionales presentes son los mismos para cada uno de los complejos.

En su mayoría presentaron desplazamientos en las bandas representativas a las frecuencias de estiramiento de los anillos de fenantrolina y sus derivados con respecto a las presentadas por los ligandos en su forma libre, asociadas a enlaces cercanos al sitio de coordinación (C-N, C-C), confirmando la coordinación de estos con el centro metálico. Este es el caso el corrimiento de la banda $\nu(\text{C=C})$ presente en todos los complejos en un rango entre 1480 y 1521 cm^{-1} , correspondiente al estiramiento del enlace aromático C=C el cual está presente en todos los ligandos diimínicos. El amplio rango al cual se presenta esta banda entre todos los complejos se explica debido a que existen anillos aromáticos que poseen un número de sustituyentes diferentes entre sí, que a su vez se encuentran algunos interactuando o no con los ligandos fenilcarboxílicos, como se mencionó previamente en la discusión de las estructuras cristalinas. Alrededor de 716 y 859 cm^{-1} se observan señales asociadas al balanceo de los enlaces C-H presentes en todos los anillos aromáticos de los ligandos diimínicos y fenilcarboxílicos presentes en todos los complejos.

El corrimiento de la banda $\nu(\text{C=N})+\nu(\text{COO})_{as}$ se presenta en todos los complejos estudiados en comparación a lo observado para los ligandos fenilcarboxílicos (Tabla 3.1.0), lo que indica la coordinación de los ligandos al centro metálico. Una correspondiendo al estiramiento asimétrico del enlace O-C-O del grupo carboxilato, y la otra a las vibraciones de los enlaces C=N presentes en todos los anillos aromáticos. La banda del enlace C=N se observa corrida en comparación a los espectros de los ligandos diimínicos, por consecuencia de la coordinación del ligando al centro metálico.

El corrimiento observado en la banda del estiramiento simétrico $\nu(\text{COO}^-)_s$ al igual que la banda del estiramiento asimétrico nos confirma la coordinación del ligando fenilcarboxílico en todos los complejos.

Si determinamos el $\Delta\nu = \{\nu(\text{COO}^-)_{as} - \nu(\text{COO}^-)\}$ para cada los complejos, encontramos que los valores se encuentran entre 106 y 179 cm^{-1} . Estos valores coinciden con una forma de coordinación de puente bidentado para carboxilatos, coincidiendo en este caso con lo esperado para los complejos diméricos. Sin embargo, para los complejos monoméricos se espera que la coordinación de los carboxilatos sea de forma bidentada.

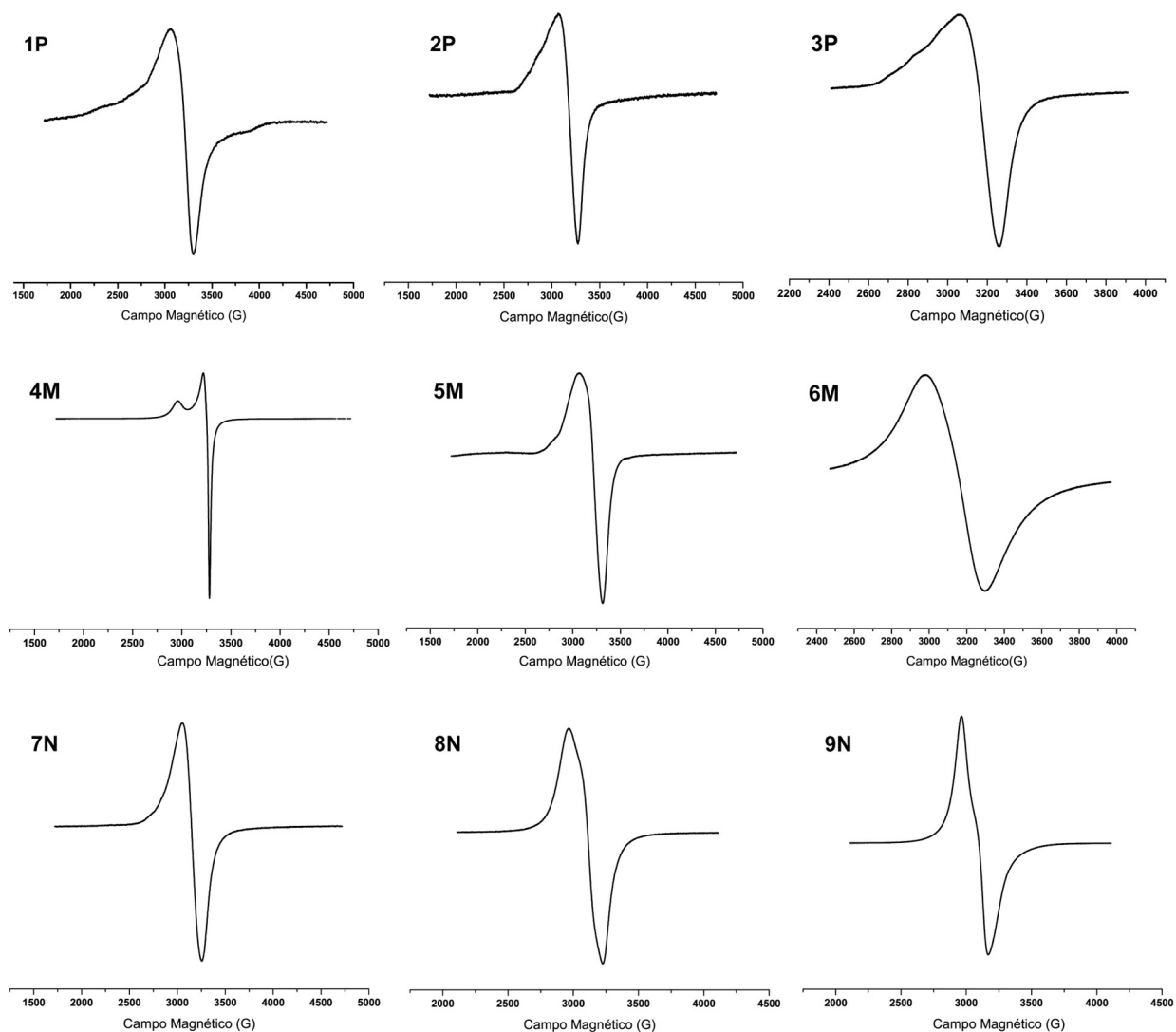
Asimismo, también se observan dos bandas que están asociadas a los enlaces Cu-N y Cu-O presentes en todos los complejos y no en los espectros de los ligandos, la cual confirma la coordinación de los ligandos al centro metálico.

Se intentó encontrar un patrón entre los espectros infrarrojos de los complejos para aquellos que sus fórmulas moleculares determinadas sean similares entre sí, a excepción del complejo **1P** que presenta una fórmula molecular diferente al resto de complejos. Entre complejos que se presentan como monómeros y los que se presentan como dímeros no se observó un patrón entre las frecuencias de los corrimientos de las principales bandas vibracionales.

3.3 ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA PARAMAGNÉTICA ELECTRÓNICA (EPR).

3.3.1 Complejos heterolépticos.

En la Figura 3.1.4 se presentan los espectros de EPR en estado sólido de los complejos heterolépticos, medidos a 77 K.



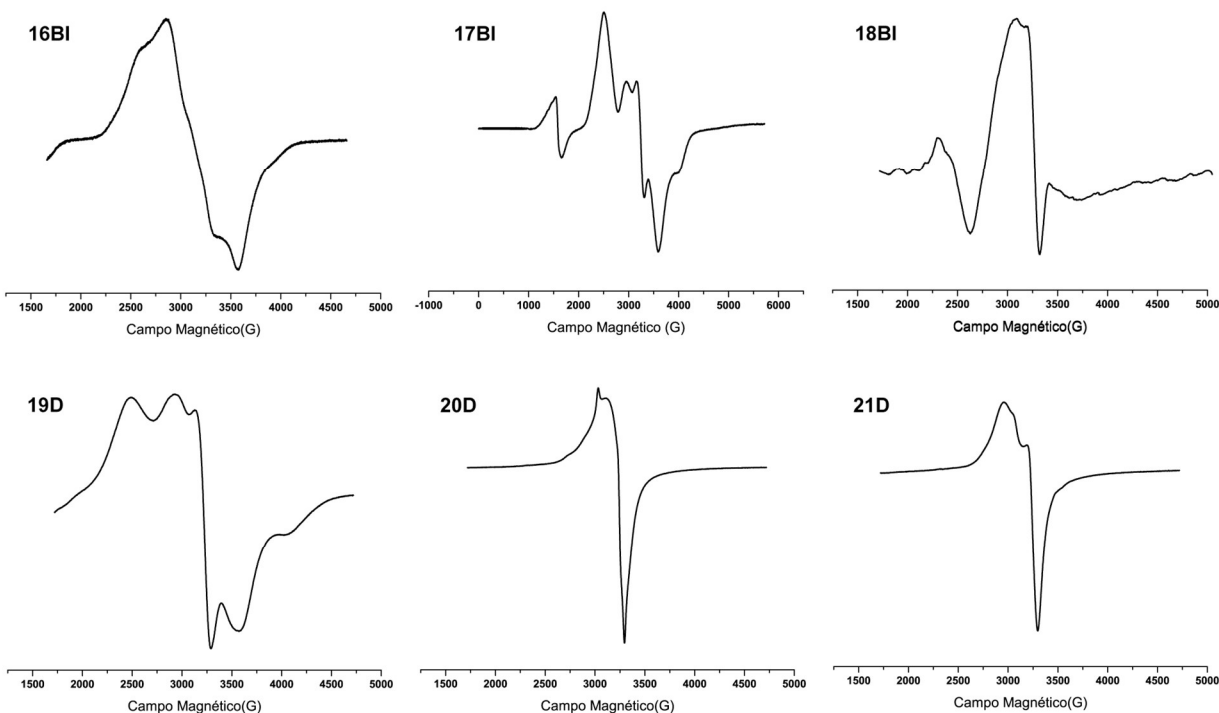


Figura 3.1.4. Espectros de EPR de los complejos heterolépticos sintetizados en este trabajo.

Se observa que la mayoría de los de los complejos presentan un espectro isotrópico o axial, comunes para complejos de Cu(II) en estado sólido [66].

Todos los espectros poseen una resonancia dominante posicionada alrededor de 3300 G, que en la frecuencia de banda X corresponde a un valor de g aproximado a 2, típico de sistemas de Cu(II) $S = \frac{1}{2}$. En la mayoría de los espectros no se observa una estructura hiperfina debido a la interacción entre el momento magnético de spin electrónico y el momento magnético del spin nuclear del Cu(II), lo que sugiere un acoplamiento entre iones de Cu(II), que comúnmente se encuentra en complejos de Cu(II) en estado sólido.

Los espectros de EPR de los complejos **16BI** y **19D** muestran un perfil esperado para complejos de Cu(II) que poseen una geometría de bipirámide trigonal [88,161–164].

Los espectros de los complejos **17BI** y **18BI**, presentan perfiles en los cuales se puede observar que existen tres valores de g distintos entre sí (g_x , g_y y g_z). Estos espectros son compatibles a los discutidos por Gatteschi para especies diméricas [70], lo cual se ajusta la estructura cristalina observada para el complejo **17BI** y la fórmula propuesta para el complejo **18BI**.

3.4 CONCLUSIONES.

Se obtuvieron tres complejos (uno de ellos nuevo) y dos estructuras cristalinas para los complejos homolépticos de cobre sintetizados, los tres complejos presentan estructura dimérica típica de los carboxilatos de cobre.

Se obtuvieron 15 complejos (14 de ellos nuevos) y cuatro nuevas estructuras cristalinas para los complejos heterolépticos de cobre. Presentando en todos los casos un índice de coordinación de 5 para cada uno de los centros metálicos con geometrías de coordinación de pirámide de base cuadrada para los complejos diméricos y para los dos complejos monoméricos de bipirámide trigonal. Para los complejos heterolépticos se evidenció que los ligandos fenilcarboxílicos coordinan de forma bidentada al centro metálico para los complejos monoméricos y en forma de puente bidentado en los complejos diméricos.

Teniendo en consideración los estudios realizados podemos inferir que los complejos que se presentan en forma de monómeros (**2P**, **4M**, **16BI**, **18BI** y **19D**) su estructura se aproxima a la presentada para los complejos **8N** y **9N**, con una geometría cercana a una bipirámide trigonal (Fig. 3.1.5).

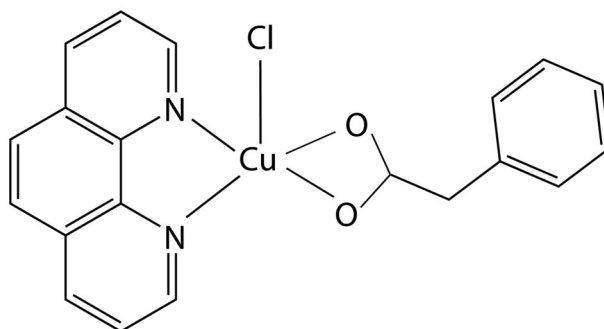


Figura 3.1.5. Esquema de la estructura para los complejos heterolépticos monoméricos.

Los complejos **3P**, **5M**, **6M**, **7N**, **20D** y **21D** que se presentan como dímeros. Basándonos en la estructura cristalina observada en el complejo **17BI**, podemos concluir que los centros metálicos poseen una geometría de pirámide de base cuadrada con diferentes grados de distorsión (Fig. 3.1.6).

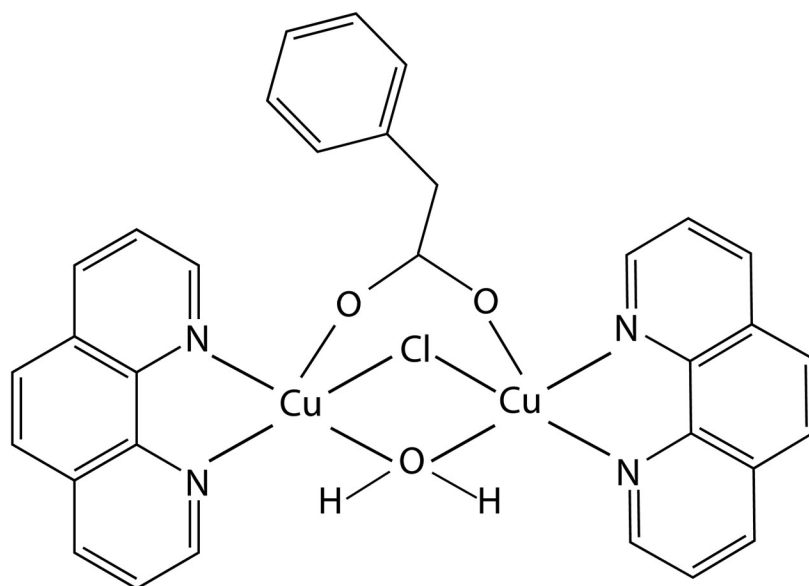


Figura 3.1.6. Esquema de la estructura para los complejos heterolépticos diméricos.

CAPÍTULO 4: CARACTERIZACIÓN EN SOLUCIÓN DE LOS COMPLEJOS DE Cu(II)

4.1 ESPECTROSCOPIA ELECTRÓNICA.

4.1.1 Complejos homolépticos.

En la Figura 4.0.1, se presentan los espectros electrónicos de los complejos en la región UV. Una forma de determinar si la especie mayoritaria en solución mantienen en forma dimérica, es estudiando el espectro electrónico de los complejos en la región UV, donde la presencia de una banda entre 350 y 450 nm está asociada a la transferencia de carga Cu-O, como se describió en el Capítulo 1 [76,78,165].

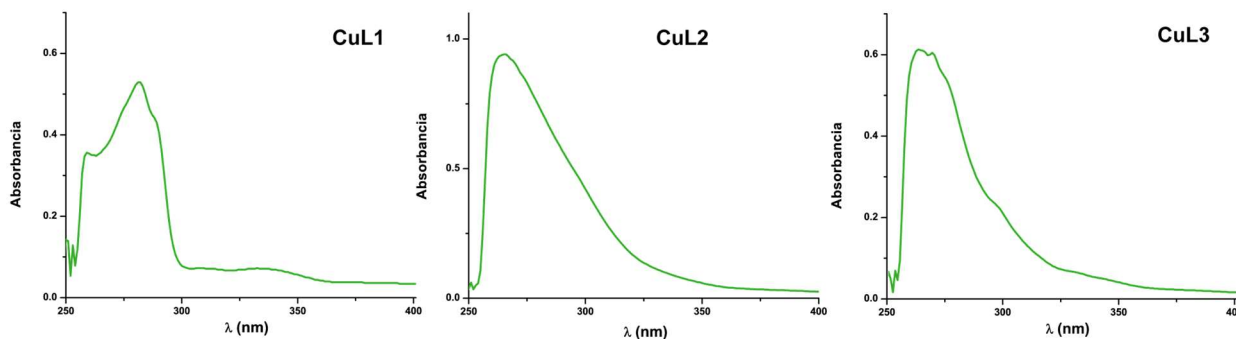


Figura 4.0.1. Espectros electrónicos de los complejos homolépticos de Cu(II) en la región UV en DMSO.

En los espectros electrónicos de los complejos homolépticos en la región de 250 – 400 nm, se puede observar la presencia de una banda con un $\lambda_{\text{máx}}$ alrededor de 265 nm para cada uno de los complejos, si bien en la bibliografía citada la presencia de la banda correspondiente a la presencia de puentes carboxilatos se presentan a valores mayores de longitud de onda, son realizados en solución acuosa por lo que es posible que en DMSO se dé un corrimiento de la banda. Esta banda observada en la Figura 4.0.1 no se observa en los espectros electrónicos de los ligandos fenilcarboxílicos, por lo que es asociada netamente a los complejos. Su presencia, nos indica que para estos complejos en solución la especie mayoritaria se mantiene en forma de dímero con los átomos de Cu(II) unidos por puentes carboxilato.

En la Figura 4.0.2 se presentan el espectro electrónico en el rango visible (400 – 900 nm) obtenidos para el complejo homoléptico **CuL1**, los espectros de los complejos **CuL2** y **CuL3** se presentan en los anexos (Fig. A.4.0), en solución de DMSO de 5 mM. Se trata de espectros típicos para complejos de Cu(II). Observamos que los espectros obtenidos para los complejos son similares entre sí, lo cual es lo esperado debido a la similitud de las esferas de coordinación de los complejos. La Tabla 4.0.1 presenta las longitudes de ondas observadas.

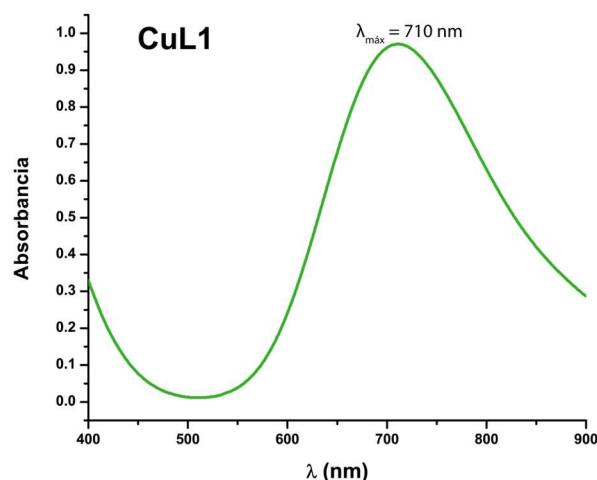


Figura 4.0.2. Espectro electrónico del complejo homoléptico de **CuL1** en el rango visible.

Tabla 4.0.1. Longitud de onda del máximo observado ($\lambda_{\text{máx}}$) y absortividades molares (ϵ) de los compuestos sintetizados.

Código	Complejo	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	ϵ ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)
CuL1	$[\text{Cu}_2(3-(4\text{-hidroxifenil})\text{propanoato})_4(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	710	388
CuL2	$[\text{Cu}_2(\text{fenilpropanoato})_4(\text{H}_2\text{O})_2]$	715	313
CuL3	$[\text{Cu}_2(\text{fenilacetato})_4]$	711	404

De manera de poder estimar la especie mayoritaria que se presenta en solución para cada uno de los complejos, se calculó, la usando la Ec. 1.2, la longitud de onda de absorbancia máxima ($\lambda_{\text{máx}}$) esperada según la esfera de coordinación. Los entornos propuestos se presentan en la Tabla 4.0.2. Se proponen dos posibles opciones, una correspondiente a la coordinación observada en estado sólido, y la otra correspondiente a la hidrólisis de un fenilacetato por átomo de Cu(II).

Tabla 4.0.2. Entorno ecuatorial propuesto para cada uno de los complejos y $\lambda_{\text{máx}}$ calculado, dónde “oc” hace referencia a un átomo de O proveniente de un carboxilato y “ow” hace referencia a un átomo de O proveniente de una molécula de agua.

Entorno ecuatorial propuesto	$\lambda_{\text{máx}}$ calculado (nm)
2oc+2ow	770
4oc	708

Los complejos homolépticos presentaron valores de $\lambda_{\text{máx}}$ muy próximos entre sí. El entorno de coordinación propuesto en la Tabla 4.0.2 más aproximado para estos complejos, es el entorno 4oc. El cual nos indica que la especie mayoritaria de los complejos mantienen 4 átomos de O unidos al centro metálico, provenientes de los fenilcarboxílicos, y las posiciones axiales libres posiblemente se encuentren ocupadas por átomos de O provenientes posiblemente de H_2O ó DMSO.

4.1.2 Complejos heterolépticos.

En la Figura 4.0.3 se presentan los espectros electrónicos en la región 200 a 400 nm de los complejos **3P**, **5M**, **6M**, **17BI**, **20D** y **21D**, para los cuales las fórmulas propuestas corresponden a especies diméricas.

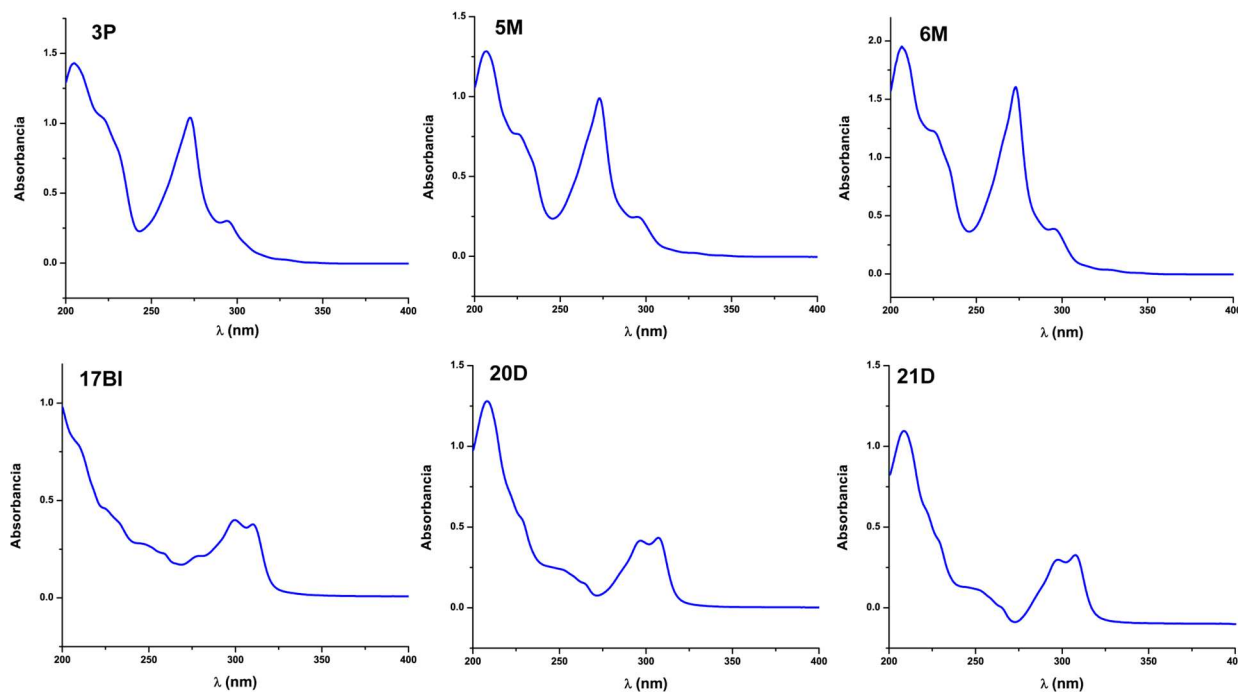


Figura 4.0.3. Espectros electrónicos de los complejos heterolépticos de Cu(II) en la región UV.

En los espectros sólo se observan las bandas características de los ligandos diimínicos correspondientes a sus transiciones $\pi-\pi^*$. Esto confirma que para los complejos que en estado sólido su fórmula se presenta en forma dimérica, la especie mayoritaria en solución se encuentra en forma monomérica, como se evidencia por la ausencia de la banda del puente carboxilato esperado. Asimismo, no se observa la banda entre 250 y 350 nm correspondiente al stacking de anillos aromáticos. Esto sugiere que no se observa en nuestros complejos stacking intramolecular observado por Dubler entre el anillo del ligando fenilcarboxílico y del ligando diimínico [40].

Los espectros electrónicos para los complejos heterolépticos de Cu(II) se realizaron en la región visible (400 – 900 nm) en concentraciones de 5 mM en solución acuosa y/o en DMSO, según la solubilidad de los complejos.

En la Figura 4.0.4 se pueden observar los dos perfiles distintos de los espectros electrónicos de los complejos estudiados en solución acuosa, el resto de los espectros se presentan en los anexos (Fig. A.4.1).

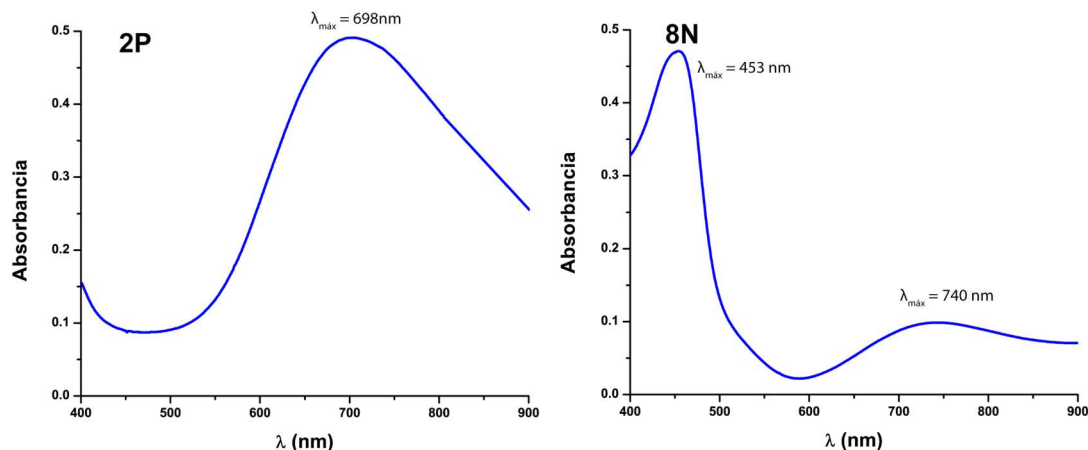


Figura 4.0.4. Espectros electrónicos en solución de los complejos heterolépticos de Cu(II) en el rango visible.

La mayoría de los espectros electrónicos en la región del visible poseen un perfil similar, típico de complejos de Cu(II), con excepción de aquellos que contienen neocuproína como diimina. A modo de ejemplo la Figura 4.0.4 presenta el espectro de **2P** y **8N**.

Los espectros observados presentan un máximo alrededor de 640 y 700 nm (Tabla 4.0.3).

Tabla 4.0.3. Longitud de onda del máximo observado ($\lambda_{\text{máx}}$) y absortividades molares (ϵ) de los complejos heterolépticos y los complejos Cu-diimina correspondientes, en solución acuosa y DMSO en soluciones de 5 mM.

Código	Complejo	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm) H ₂ O	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm) DMSO	ϵ (M ⁻¹ cm ⁻¹)
	[CuCl ₂ (phen)]	696		60
1P	[Cu ₂ (3-(4-hidroxifenil)propanoato) ₃ (phen) ₂]Cl	-	686	158
2P	[CuCl(fenilpropanoato)(phen)]	698	695	37
3P	[Cu ₂ Cl(fenilacetato)(phen) ₂]Cl ₂	670	690	70
	[CuCl ₂ (4metil-phen)]	706		73
4M	[CuCl(3-(4-hidroxifenil)propanoato)(4metil-phen)]	-	687	66
5M	[Cu ₂ Cl(fenilpropanoato)(4metil-phen) ₂]Cl ₂	652	698	88
6M	[Cu ₂ Cl(fenilacetato)(4metil-phen) ₂]Cl ₂	653	698	39
	[CuCl ₂ (neo)]	739		99
7N	[Cu ₂ Cl(3-(4-hidroxifenil)propanoato)(neo) ₂]Cl ₂	-	738 (I) 458 (II)	80 200
8N	[CuCl(fenilpropanoato)(neo)]	740 (I) 453 (II)	822 (I) 455 (II)	19 (I) 90 (II)
9N	[CuCl(fenilacetato)(neo)]	740 (I) 458 (II)	822 (I) 458 (II)	22 (I) 250 (II)
	[CuCl ₂ (bipy)]	704		70
16BI	[CuCl(3-(4-hidroxifenil)propanoato)(bipy)]	649	665	33

17BI	[Cu ₂ Cl(fenilpropanoato)(bipy) ₂]Cl ₂	646	693	61
18BI	[CuCl(fenilacetato)(bipy)]	651	683	35
	[CuCl ₂ (dmb)]	714		60
19D	[CuCl(3-(4-hidroxifenil)propanoato)(dmb)]	649	663	80
20D	[Cu ₂ Cl(fenilpropanoato)(dmb) ₂]Cl ₂	646	665	40
21D	[Cu ₂ Cl(fenilacetato)(dmb) ₂]Cl ₂	673	692	74

Para un análisis de la coordinación según la longitud de onda del máximo, se recurre nuevamente a la Ec. 1.2 (Capítulo 1). La Tabla 4.0.4, presenta los valores calculados para diferentes entornos de coordinación que se podrían originar por la hidrólisis parcial de los complejos, como para el entorno propuesto en estado sólido.

Tabla 4.0.4. Entorno ecuatorial propuesto para cada uno de los complejos y $\lambda_{\text{máx}}$ calculado.

Entorno ecuatorial propuesto	$\lambda_{\text{máx}}$ calculado (nm)
2npy+2oc	641
2npy+1ow+1oc	665
2npy+2ow	691

Para el complejo **1P** se obtuvo una $\lambda_{\text{máx}}$ de 686 nm, por encima del valor calculado para el entorno de coordinación propuesto. En estado sólido se da la presencia de tres ligandos fenilcarboxílicos en su estructura, teniendo los centros metálicos en posición axial un átomo de O proveniente de los ligandos fenilcarboxílicos, en estudios experimentales se observó que en complejos penta y hexacoordinados donde las posiciones axiales están ocupadas por moléculas distintas al agua se observa un corrimiento hacia mayores longitudes de onda respecto a la longitud calculada considerando solamente los donores ecuatoriales [68,74]. Si bien, aún no existe una relación directa según el tipo de donador axial y la magnitud de corrimiento se ha observado un corrimiento usual por coordinación de grupos carboxilatos que se encuentra entre los 19 y 44 nm [74]. Por lo que para el complejo **1P** es posible que en su especie mayoritaria se mantengan los 3 ligandos fenilcarboxílicos y los 2 ligandos diimínicos en su estructura.

El valor de $\lambda_{\text{máx}}$ obtenido para el complejo **2P** (698 nm) se aproxima al calculado para el entorno presentado como 2npy+2ow. A su vez, el valor de $\lambda_{\text{máx}}$ observado en este complejo es análogo al observado para la especie [Cu(phen)]²⁺ (696 nm), lo cual confirma que esta especie mayoritaria observada en el complejo Cu-diimina, es la misma para el complejo **2P**. En solución de DMSO el valor de $\lambda_{\text{máx}}$ se mantiene en el mismo orden que el observado en solución acuosa, por lo que se mantiene la misma especie mayoritaria en ambos solventes.

Los complejos **3P** y **21D** presentaron un valor de $\lambda_{\text{máx}}$ más aproximados al entorno de coordinación de la forma 2npy+1ow+1oc, donde se da la sustitución del ion cloruro y además de la unión del ligando fenilcarboxílico de forma unidentada. En ambos casos, no se puede descartar una mezcla de especies en la solución donde una presente el carboxilato bidentado junto con una especie donde

esté sustituido por moléculas de agua. Además, ambos complejos en estado sólido se encuentran en forma dimérica, pero ya se observó que no hay evidencias de que este sea el caso en solución (Fig. 4.0.3), por lo que la especie mayoritaria para ambos compuestos se presenta en forma monomérica. En solución de DMSO se observa un aumento en el valor de $\lambda_{\text{máx}}$, este comportamiento se ha observado en otros complejos del grupo [51]. En ambos casos, se mantienen por debajo de las observadas para las especies mayoritarias para los complejos Cu-diimina correspondientes.

Para el complejo **4M** se obtuvo un valor de $\lambda_{\text{máx}}$ de 687 nm, el cual es mayor al estimado para el entorno de coordinación de 2oc+2npy, pero menor al correspondiente al complejo [CuCl₂(4metilphen)] (690 nm calculada, 706 nm experimental). Esto podría explicarse considerando que una molécula de DMSO sustituye al ion cloruro en solución, lo cual como se mencionó previamente puede ocasionar un corrimiento a longitudes de onda mayores. Además, se observó en la caracterización en estado sólido que existe distorsión en la geometría de los centros metálicos que puede estar influenciando este corrimiento a longitudes mayores. De todas formas, de acuerdo con este análisis no se puede excluir la presencia de la especie Cu-diimina [74].

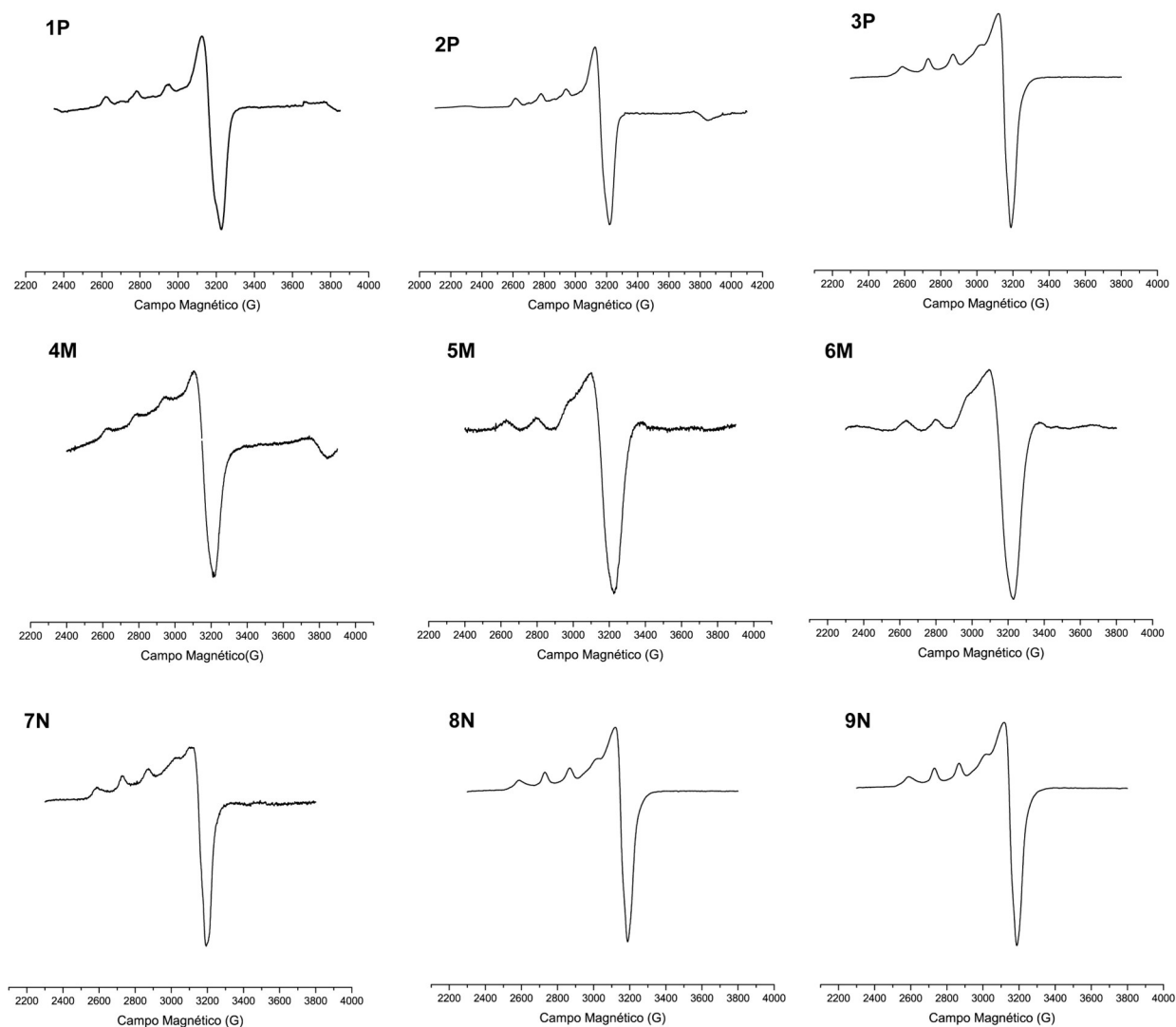
Para los complejos **5M**, **6M**, **16BI**, **17BI**, **18BI**, **19D** y **20D** los valores de $\lambda_{\text{máx}}$ presentados en la Tabla 4.0.4 pueden asociarse al obtenido para el entorno de coordinación 2npy+2oc, para el cual el valor calculado es de 641 nm, el cual se ajusta a una disociación parcial donde solamente se da la sustitución del ion cloruro de la posición axial. En todos los casos los valores de $\lambda_{\text{máx}}$ observados no se encuentran en el mismo orden que las especies mayoritarias para los complejos Cu-diimina correspondiente. Los complejos **5M**, **6M**, **17BI** y **20D** en estado sólido se presentan en forma dimérica, en solución no se observaron evidencias de que esta situación se mantenga, como fue mostrado en el estudio realizado en la Figura 4.0.3. Al igual que para el resto de los complejos en DMSO el valor de $\lambda_{\text{máx}}$ aumenta con respecto al observado en solución acuosa, pero se mantienen lejos del observado para los complejos Cu-diimina correspondiente.

Finalmente, los complejos **7N**, **8N** y **9N** presentan un comportamiento diferente. Se observan dos valores de $\lambda_{\text{máx}}$ en sus espectros, uno alrededor de 740 nm (I) y el otro 450 nm (II). El color de la solución, al momento de preparar las soluciones se fue tornando de color anaranjado rojizo, que se fue intensificando con el tiempo. La banda observada a 450 nm en los tres complejos, confirma la reducción de Cu(II) a Cu(I), debido a que esta es asociada a la transferencia de carga Cu(I)-N de la especie [Cu(neo)₂]⁺ [166,167]. El valor de $\lambda_{\text{máx}}$ de 740 nm puede estar asociado a la especie mayoritaria de Cu(II) con un entorno de coordinación 2npy+2ow, este valor se aproxima al de la especie para el complejo [CuCl₂(neo)] (739 nm), por lo cual podría estar dándose la hidrólisis del ligando fenilcarboxílico. Por lo que para estos complejos se presenta la coexistencia de dos especies en solución, una reducida a Cu(I) y la otra de forma [Cu(neo)₂]²⁺.

4.2 ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA PARAMAGNÉTICA ELECTRÓNICA (EPR).

4.2.1 Complejos heterolépticos

Se midieron los espectros de EPR para los complejos heterolépticos en solución acuosa (**2P**, **3P**, **5M**, **6M**, **8N**, **9N**, **16BI**, **17BI**, **18BI**, **19D**, **20D** y **21D**) o en solución de DMSO (**1P**, **4M** y **7N**) congeladas en nitrógeno líquido, a concentraciones de 5 mM. Los espectros obtenidos se pueden observar en la Figura 4.0.6.



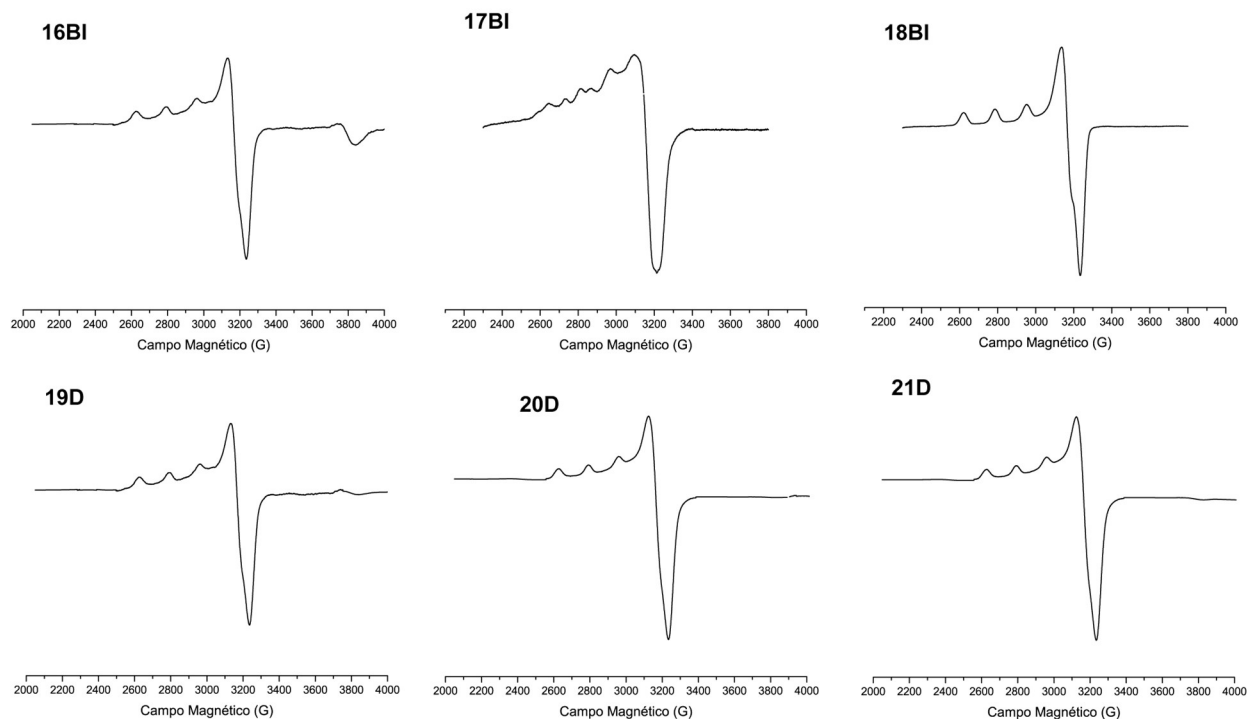


Figura 4.0.6. Espectros en soluciones congeladas de DMSO y agua de los complejos heterolépticos de Cu(II).

En la mayoría de los espectros en solución corresponden a espectros de especies de Cu(II) con simetría axial, con clara resolución de las líneas asociadas a la interacción hiperfina en la dirección paralela [88].

El espectro de los complejos **1P** y **17BI** se observa una multiplicación del número de líneas esperadas, esto puede ser ocasionado por la presencia de dos átomos de Cu(II) con diferentes esferas de coordinación [71,168]. Este comportamiento también fue observado por Kukcova y colaboradores para el complejo $\text{Cu}_2(\mu\text{-5-Cl-Sal})(5\text{-Cl-HSal})_2(\text{Neo})_2 \cdot \text{EtOH}$ en espectros a baja temperatura, donde cada centro metálico posee un entorno de coordinación distinto al otro [149]. En el espectro electrónico del complejo, se observa que la especie mayoritaria del complejo se encuentra en forma de monómero, por lo que en este caso se puede dar por la presencia del otro centro metálico con un entorno de coordinación distinto a la especie mayoritaria determinada para el complejo. Es posible que para el resto de los complejos que se presentan en forma de dímeros, esto no se pueda observar por la diferencia de proporciones en las que se encuentren dichas especies y no puedan ser observadas en el EPR.

En los espectros de los complejos **8N** y **9N** se observa solo la presencia de una especie en el EPR, debido a que las especies de Cu(I) no poseen señal de EPR.

4.3 CONDUCTIVIDAD.

4.3.1 Complejos homolépticos.

Se midió la conductividad de los complejos en soluciones de 1 mM en DMSO en tiempos de 0, 24 y 48 horas. Los valores de conductividad mostrada en la Tabla 4.0.6 para los complejos en soluciones de DMSO corresponden para especies no disociadas [85,86].

Tabla 4.0.6. Conductividad molar en función del tiempo para los complejos homolépticos de Cu(II) obtenidos.

Complejo	Λ_M (S $\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$)		
	0 h	24 h	48 h
CuL1	2	2	2
CuL2	0	0	0
CuL3	1	1	1

Para los complejos **CuL1**, **CuL2** y **CuL3** la conductividad da evidencia que la estructura de la especie mayoritaria en solución para los complejos es similar a la encontrada en estado sólido. Se realizó la medida de la conductividad, donde se observa que no existe un aumento en el grado de disociación que presentan los complejos en solución. Manteniéndose la especie mayoritaria de los complejos en este tiempo estudiado.

4.3.2 Complejos heterolépticos.

En la Tabla 4.0.7 se muestran los valores de conductividad molar obtenidos para los complejos heterolépticos de Cu(II), para una concentración de 1 mM en solución acuosa y en DMSO, o solo en DMSO según la solubilidad del complejo. Una forma de tener idea del nivel de disociación que se encuentran los complejos en solución acuosa es comparando los valores de conductividad molar obtenidos para los complejos, con el rango mostrado en la Tabla 1.0.2, (Capítulo 1).

Tabla 4.0.7. Conductividad molar para los complejos heterolépticos de Cu(II) obtenidos.

Código	Complejo	Λ_M (S $\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$)	Λ_M (S $\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$)
		Agua	DMSO
1P	[Cu ₂ (3-(4-hidroxifenil)propanoato) ₃ (phen) ₂]Cl	ND	35
2P	[CuCl(fenilpropanoato)(phen)]	260	20
3P	[Cu ₂ Cl(fenilacetato)(phen) ₂]Cl ₂	210	20
4M	[CuCl(3-(4-hidroxifenil)propanoato)(4metil-phen)]	ND	20
5M	[Cu ₂ Cl(fenilpropanoato)(4metil-phen) ₂]Cl ₂	400	22
6M	[Cu ₂ Cl(fenilacetato)(4metil-phen) ₂]Cl ₂	300	30
7N	[Cu ₂ Cl(3-(4-hidroxifenil)propanoato)(neo) ₂]Cl ₂	ND	20
8N	[CuCl(fenilpropanoato)(neo)]	120	18
9N	[CuCl(fenilacetato)(neo)]	200	19
16BI	[CuCl(3-(4-hidroxifenil)propanoato)(bipy)]	180	18
17BI	[Cu ₂ Cl(fenilpropanoato)(bipy) ₂ (H ₂ O)]Cl ₂	200	22
18BI	[CuCl(fenilacetato)(bipy)]	260	20

19D	[CuCl(3-(4-hidroxifenil)propanoato)(dmb)]	130	12
20D	[Cu ₂ Cl(fenilpropanoato)(dmb) ₂]Cl ₂	160	15
21D	[Cu ₂ Cl(fenilacetato)(dmb) ₂]Cl ₂	180	11

El complejo **2P** se ha observado evidencia de que en solución se encuentra en un alto grado de disociación donde su especie mayoritaria es la misma que para el complejo [CuCl₂(phen)]. El valor de Λ_M obtenido para el complejo es de $260 \text{ Scm}^2 \text{ mol}^{-1}$, el cual si lo ubicamos en el rango mostrado en la Tabla 1.0.2, se ubica para un número de iones igual a 3. Esta observación va de la mano con lo esperado para la especie mayoritaria del complejo, debido a que la presencia de 3 iones en solución puede deberse a la disociación del ion cloruro y del ligando **L2** en solución.

En el caso de los complejos **4M**, **8N**, **9N**, **16BI**, **18BI** y **19D** en estado sólido sus fórmulas se presentan en forma monomérica y en los estudios de espectroscopia UV-vis, se observan evidencias que estas se mantienen en solución como especie mayoritaria de los complejos. Los valores de Λ_M obtenidos para los complejos **8N** y **19D**, mostrados en la Tabla 4.0.7, entran en el rango para un número de iones de 2, lo que confirma que los complejos se mantengan en forma monomérica en solución con una estructura similar a la observada en estado sólido, donde la disociación parcial de los complejos se puede dar por la sustitución del ion cloruro, lo cual es observado en complejos ternarios de cobre con esfera de coordinación similar como lo son los complejos [Cu(bipiridina)(glicina)Cl]·2H₂O y [Cu(dipiridilamina)(glicina)Cl]·2H₂O [169]. Para los complejos **9N** y **16BI** los valores de Λ_M reportados no entran dentro de los rangos mostrados en la Tabla 1.0.2, para un número de iones de 2, sin embargo, se mantienen por debajo del rango reportado para un número de iones de 3, por lo que podría decirse que es posible que el número de iones para estos complejos se aproxime a 2, que significa una disociación parcial de los complejos en solución, dándose por la sustitución del ion cloruro en solución. El complejo **18BI** presenta un valor de Λ_M que entra en el rango para un número de iones de 3, lo cual corresponde a un alto grado de disociación del complejo, a pesar de que en los otros estudios se observó evidencia de que el complejo en solución mantiene el ligando fenilcarboxílico unido en su estructura, por lo que el estudio de conductividad en este caso no concuerda a lo discutido anteriormente. El complejo **4M**, por solubilidad fue solo estudiado en solución de DMSO, para el cual se obtuvo valores para complejos que se disocian parcialmente para este solvente [85,86], por lo que es de esperarse que la especie mayoritaria para este complejo sea monomérica similar a la observada en estado sólido.

Para los complejos **1P**, **3P**, **5M**, **6M**, **17BI**, **20D** y **21D** en estado sólido se obtuvieron fórmulas y estructuras de forma dimérica para todos, pero no se observaron evidencias de que los complejos se mantengan de forma dimérica en solución. Los valores de Λ_M obtenido para los complejos entran en rangos de 2 o 3 iones de solución, lo cual no concuerda con la disociación esperada para cada uno de los complejos, así como con la cantidad de iones esperado para estos complejos según lo visto en otros estudios del grado de disociación que presentan.

Todos los complejos fueron medidos en DMSO, obteniéndose valores para especies que se disocian parcialmente en este solvente, como fue mencionado previamente para el complejo **4M**. Esto se traduce a 2 iones en solución para los complejos, lo cual en algunos casos concuerda con

Capítulo 4 – Caracterización en solución de los complejos de Cu(II)

la fórmula propuesta (**2P**, **4M**, **8N**, **9N**, **16BI**, **18BI** y **19D**), mientras que para otros sucede lo mismo que en solución acuosa, donde el grado de disociación esperado para el complejo no corresponde al número de iones observados a partir de la conductividad del complejo (**1P**, **3P**, **5M**, **6M**, **7N**, **17BI**, **20D** y **21D**).

4.4 CONCLUSIONES.

Los complejos homolépticos (**CuL1**, **CuL2** y **CuL3**) en DMSO presentan especies mayoritarias dónde el fenilcaboxilato permanece coordinado al centro de Cu(II), posiblemente formando estructuras diméricas, como se esquematiza en la Fig. 4.0.7.

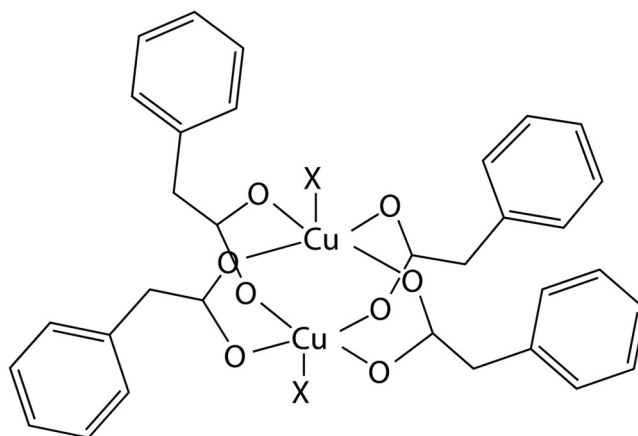


Figura 4.0.7. Esquema de la especie mayoritaria para los complejos homolépticos en solución, siendo X = H₂O o DMSO.

En el caso de los complejos heterolépticos se observó una variedad de comportamientos en solución dependiendo de los ligandos en particular.

- Los complejos que se hidrolizan dando como especie mayoritaria Cu-diimina, con un entorno 2npy+2ow (Fig. 4.0.8) el cual se determinó para el complejo **2P**.
- Los complejos dónde ocurre una hidrólisis parcial del carboxilato, con un entorno 2npy+1oc+1ow o a una mezcla de especies con y sin fenilcarboxilicos (Fig. 4.0.9), el cual se ajusta más para los complejos **3P** y **21D**.
- Complejos dónde no se evidencia un grado de hidrólisis importante del fenilcarboxilato, correspondiendo a un entorno 2npy+2oc (Fig. 4.1.0), para **4M**, **5M**, **6M**, **16BI**, **17BI**, **18BI**, **19D** y **20D**.
- Complejos que se reducen en solución. Los complejos que contienen neocuproína (**7N**, **8N** y **9N**) en solución se reducen, coexistiendo la especie reducida con el complejo Cu-diimina.

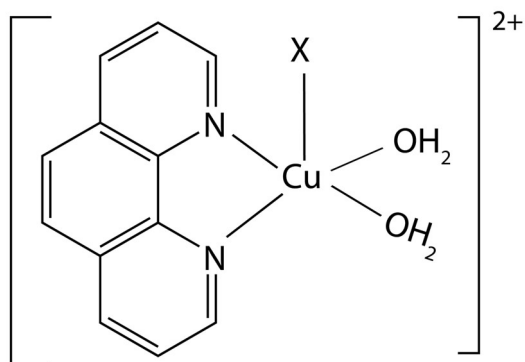


Figura 4.0.8. Esquema de la especie mayoritaria para los complejos con entorno 2npy+2ow en solución, siendo X = DMSO o H₂O (**2P**).

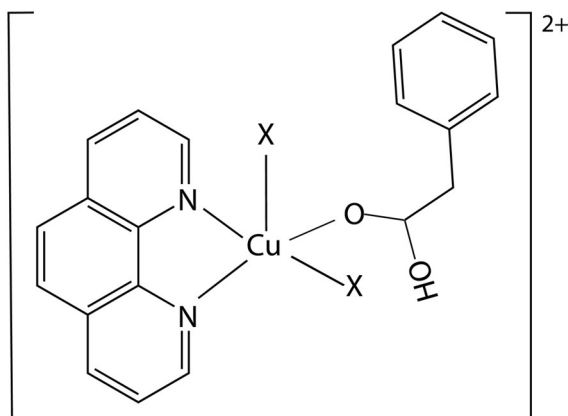


Figura 4.0.9. Esquema de la especie mayoritaria para los complejos con entorno 2npy+1ow+1oc en solución, siendo X = H₂O (**3P** y **21D**).

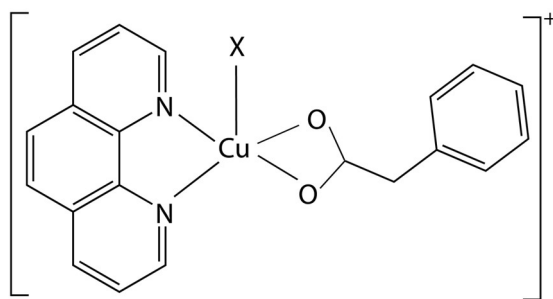


Figura 4.1.0. Esquema de la especie mayoritaria para los complejos con entorno 2npy+2oc en solución, siendo X = DMSO o H₂O

Para los complejos **3P** y **21D** no es posible establecer con certeza sus especies mayoritarias en solución a partir de los estudios realizados.

De forma de resumen, se presenta una tabla con los códigos de los complejos y la especie mayoritaria para cada uno de los complejos en solución, de manera de facilitar la lectura a los siguientes capítulos de este trabajo.

Tabla 4.0.9. Especies mayoritarias resumidas para cada uno de los complejos de Cu(II) estudiados.

Complejo	Entorno de coordinación sugerido ecuatorialmente	Código
CuL1	4oc	-
CuL2	4oc	-
CuL3	4oc	-
1P	2npy+2oc	PD
2P	2npy+2ow	AD
3P	---	-
4M	2npy+2oc	PD
5M	2npy+2oc	PD
6M	2npy+2oc	PD
7N	Reducción parcial a Cu(I) y 2npy+2ow (Cu(II))	RAD
8N	Reducción parcial a Cu(I) y 2npy+2ow (Cu(II))	RAD
9N	Reducción parcial a Cu(I) y 2npy+2ow (Cu(II))	RAD
16BI	2npy+2oc	PD
17BI	2npy+2oc	PD
18BI	2npy+2oc	PD
19D	2npy+2oc	PD
20D	2npy+2oc	PD
21D	---	-

PD = parcialmente disociado por la sustitución del ion cloruro, MD = medianamente disociados por la sustitución de un enlace del grupo carboxilato y el cloruro, AD = altamente disociados por la sustitución del ligando fenilcarboxílico y el ion cloruro y RAD = para los complejos de neocuproína

Los complejos en negrita son para los que se determinó su estructura cristalina por DRX en estado sólido.

CAPÍTULO 5: CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPLEJOS DE Ga(III)

5.1. COMPLEJOS DE Ga(III) CON ÁCIDOS FENILCARBOXÍLICOS.

Tabla 5.0.1. Códigos de los complejos de Ga(III) y su fórmula propuesta.

Código	Fórmula
GaL1	$[\text{Ga}(3\text{-(4hidroxifenil)propanoato})(\text{OH})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$
GaL2	$[\text{Ga}_2(\text{fenilpropanoato})_5(\text{NO}_3)] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$
GaL3	$[\text{Ga}(\text{fenilacetato})(\text{OH})(\text{NO}_3)] \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot 0,25\text{EtOH}$
GaP	$[\text{Ga}_2(3\text{-(4hidroxifenil)propanoato})_3(\text{phen})_3](\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} \cdot 3\text{EtOH}$

5.1.1 CARACTERIZACIÓN EN ESTADO SOLIDO.

5.1.1.1 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA.

En la Figura 5.0.1, se muestran los espectros infrarrojos obtenidos para cada uno de los complejos en la región de 2000 a 400 cm^{-1} de manera de facilitar la vista de las bandas de mayor interés en los complejos (los espectros a mayor rango se encuentran en los anexos Fig. A.5.0).

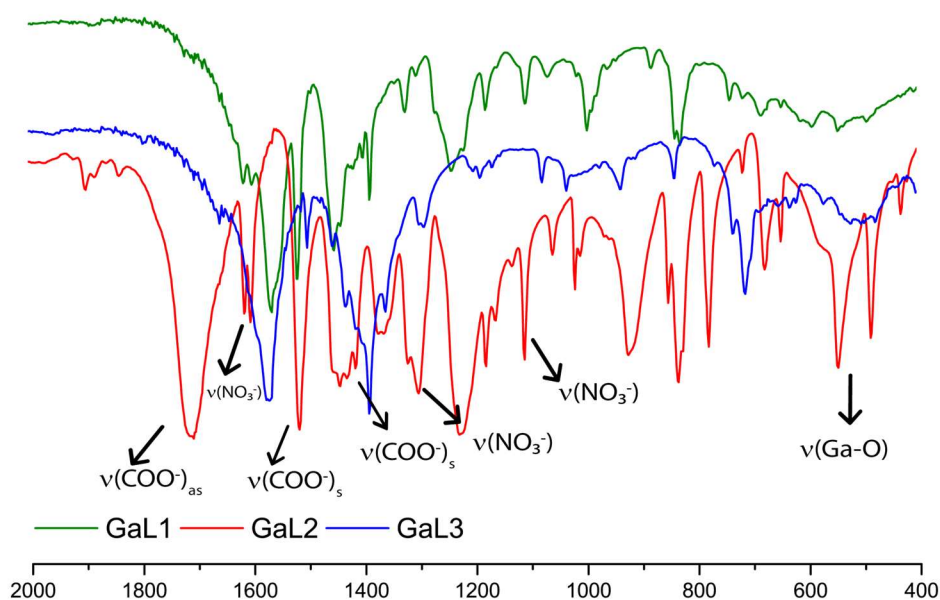


Figura 5.0.1. FT-IR de los complejos homolépticos de Ga(III) **GaL1**, **GaL2** y **GaL3**.

El perfil del IR de los tres complejos homolépticos difiere entre sí, sugiriendo que a pesar de la similitud estructural de los ligandos existen diferencias en la coordinación de los mismos. Esto es compatible con las diferentes fórmulas propuestas para los complejos.

Para cada uno de los complejos se obtuvo una fórmula distinta con respecto a los otros, por lo que esta variación de los espectros es compatible con la diferencia entre las estructuras de los complejos en estado sólido.

La asignación tentativa de las bandas vibracionales correspondientes a los grupos coordinantes para los complejos mostradas en la Figura 5.0.1, se realizó en función de referencias bibliográficas generales y de complejos con estructura similar [30,34–36,57,92,170,171].

Tabla 5.0.2. Principales bandas de absorción de los complejos de Ga(III) y asignación tentativa.

Banda	L1	GaL1	L2	GaL2	L3	GaL3
$\nu(\text{O-H})$	3402	3396	3200-2900	3500-3300	3100-2900	3430-3280
$\nu(\text{COO}^-)_{\text{as}}$	1692	1563	1692	1694	1692	1568
$\nu(\text{COO}^-)_{\text{s}}$	1504	1446	1491	1511,1444	1406	1484
$\nu(\text{NO}_3^-)$	-	-	-	1605, 1599	-	1388,1285
$\nu(\text{Ga-O})$	-	582	-	572	-	588

Podemos observar la presencia de la banda $\nu(\text{O-H})$ en los tres complejos, para el complejo **GaL1** se observa una banda marca a 3396 cm^{-1} , mientras que para los complejos **GaL2** y **GaL3** se observa la banda en forma de “hombro”. Esto por la presencia del grupo -OH en el ligando L1 y en la estructura del complejo **GaL1**, si bien en el complejo **GaL3** presenta en su estructura también el grupo -OH, se observa un pequeño “pico” al inicio del hombro que puede representar la presencia de este grupo. Al igual que para los complejos homolépticos de Cu(II) se observa la presencia de las bandas correspondientes a las vibraciones $\nu(\text{COO}^-)_{\text{as}}$ y $\nu(\text{COO}^-)_{\text{s}}$ los corrimientos de las mismas en comparación a las frecuencias observadas para los ligandos, confirman la coordinación de los ligandos fenilcarboxílicos con el ion de galio. Para el complejo **GaL2** se observan dos bandas que corresponden a la vibración $\nu(\text{COO}^-)_{\text{s}}$, debido a que para este complejo se propone la presencia de 5 moléculas del ligando **L2** y pueden presentar formas de coordinación distintas. El valor de $\Delta\nu = \{\nu(\text{COO}^-)_{\text{as}} - \nu(\text{COO}^-)_{\text{s}}\}$ para cada uno de los complejos es de: **GaL1** = 117 cm^{-1} , **GaL2** = 250 y 183 cm^{-1} y **GaL3** = 84 cm^{-1} . Estos valores nos dan idea de la forma en que coordinan los ligandos fenilcarboxílicos al Ga(III), los cuales se ajustan a una coordinación bidentada para los complejos **GaL1** y **GaL3** [57,92]. Para el complejo **GaL2**, se observan valores de $\Delta\nu$ que indican la presencia de dos formas de coordinación en el complejo, una asociada a una forma bidentada y otra de puente entre dos centros metálicos [57,92].

Para los complejos **GaL2** y **GaL3** se observan bandas correspondientes para la vibración $\nu(\text{NO}_3^-)$. En el caso del complejo **GaL2** se observaron dos bandas a 1605 y 1599 cm^{-1} , además de las correspondientes para las vibraciones de NO_2 señaladas en la Figura 5.0.1, las cuales se aproximan a las frecuencias esperadas para una unión en forma de puente para el NO_3^- , como fue descrito en la introducción. Mientras que para el complejo **GaL3** solo se observaron dos de las tres bandas, las cuales se aproximan a una forma de unión bidentada del ion nitrato. Las bandas para esta vibración se superponen con las bandas correspondientes a las bandas asociadas al balanceo de los enlaces C-H presentes en los anillos de los ligandos fenilcarboxílicos, por lo que en esta región para el complejo **GaL1** también se observa señales con formas diferentes.

También, se asignó la banda $\nu(\text{Ga-O})$ correspondiente al estiramiento del enlace Ga-O. Esta banda se observó en los complejos alrededor de 588 y 572 cm^{-1} la cual pudo ser asignada debido a que en trabajos donde por estudios teóricos y experimentales lograron caracterizar esta vibración, la cual confirma la coordinación de los ligandos con los centros metálicos. [34,92]. Dichas bandas no fueron observadas en los espectros de los ligandos en su forma libre.

El espectro infrarrojo del complejo heteroléptico $[\text{Ga}_2(3-(4\text{hidroxifenil})\text{propanoato})_3(\text{phen})_3](\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} \cdot 3\text{EtOH}$ (**GaP**) se muestra en la Figura 5.0.2. Se presenta el espectro en la región de 2000 a 400 cm^{-1} de manera de facilitar el análisis de las bandas (los espectros a mayor rango se encuentran en los anexos Fig. A.5.1).

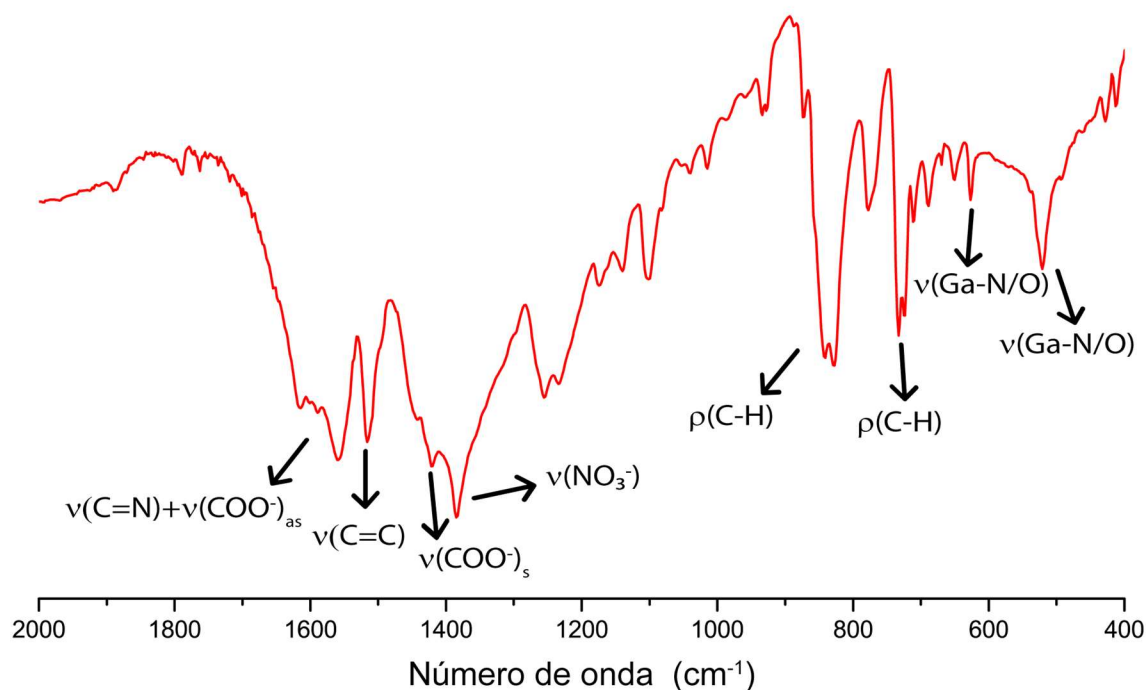


Figura 5.0.2. FT-IR del complejo heteroléptico **GaP**.

Al igual que para los complejos homolépticos, las bandas se asignaron en función a referencias bibliográficas, trabajos de complejos ternarios de Ga(III) y con trabajos de complejos con ligandos diimínicos con otros metales [30,34–36,43,45,47,51,57,65,92,170,171].

Tabla 5.0.3. Principales bandas de absorción del complejo **GaP** de Ga(III) y su asignación tentativa.

Banda	GaP
$\nu(\text{O-H})$	3397
$\nu(\text{C=N})+\nu(\text{COO})_{as}$	1614, 1560
$\nu(\text{C=C})$	1512
$\nu(\text{COO}^-)_s$	1420
$\nu(\text{NO}_3^-)$	1385
$\rho(\text{C-H})$	835
$\rho(\text{C-H})$	721
$\nu(\text{Ga-N/O})$	627
$\nu(\text{Ga-N/O})$	535

La banda $\nu(\text{O-H})$ se asocia a la presencia del grupo -OH presente en el ligando **L1**, y por la presencia de las moléculas de agua en la estructura del complejo. El corrimiento de la frecuencia de la banda $\nu(\text{COO})_{as}$ en comparación a la frecuencia de la misma banda en el ligando libre es indicador de la coordinación del ligando fenilcarboxílico al centro metálico. La banda $\nu(\text{C=C})$, correspondiente al enlace aromático C=C, la cual en el espectro de fenantrolina se observa a 1520 cm^{-1} y en el espectro del complejo a 1512 cm^{-1} , es característica de estiramientos y deformaciones asociadas a la coordinación del ligando diimínico al ion de galio. Otra banda característica de este efecto es la banda $\nu(\text{C=N})$ de la vibración del enlace C=N en el anillo aromático del ligando diimínico, se observa un corrimiento de esta banda en el espectro infrarrojo del complejo con respecto al espectro del ligando libre. La vibración del estiramiento asimétrico del enlace O-C-O representada de forma $\nu(\text{COO})_s$, que al igual que la banda de la vibración asimétrica confirma la coordinación del ligando fenilcarboxílico. El valor de $\Delta\nu = \Delta\nu = \{\nu(\text{COO}^-)_{as} - \nu(\text{COO}^-)_s\}$ para el complejo es de 140 cm^{-1} dando indicios de una coordinación de forma bidentada de las moléculas de ligandos fenilcarboxílicos presentes en el complejo. Al presentar más de una molécula del ligando **L1**, es posible que presenten distintos modos de coordinarse a los centros metálicos, como se discutió previamente para el complejo **GaL2**, en este caso no se observa evidencia de esto, pero no se puede descartar una posible superposición de una banda correspondiente a la vibración $\nu(\text{COO})_s$ con la vibración correspondiente a $\nu(\text{NO}_3^-)$.

En el espectro también se observa una banda a 1385 cm^{-1} correspondiente a la vibración $\nu(\text{NO})$ la cual corresponde a la presencia del nitrato en su forma iónica como se propone en la fórmula del complejo [34].

Se observa también, la presencia de bandas asociadas al balanceo de los enlaces C-H presentes en el ligando diimínico y en el anillo de los ligandos fenilcarboxílicos. Asimismo, la presencia de dos bandas, no observadas en los espectros de los ligandos, correspondiente a las vibraciones de los enlaces Ga-O y/o Ga-N a 627 y 535 cm^{-1} , confirma la coordinación del centro metálico a los ligandos presentes en el complejo.

Por último, si comparamos el espectro infrarrojo del complejo **GaP** con su análogo de Cu(II) (**1P**), se encontraron fórmulas de complejos diméricos para ambos, donde la diferencia además de los contraiones presentes en cada uno de ellos, es la presencia de una molécula más de fenantrolina en el complejo **GaP**. Si bien, existe una diferencia en los corrimientos de las principales bandas vibracionales entre los complejos, estas no son tan marcadas como las observadas en los complejos homolépticos.

De forma de proponer un posible esquema de coordinación para cada uno de los complejos, se realizó una búsqueda en la base de datos cristalográfica de Cambridge (CCDC) donde se encontraron 207 estructuras de complejos de Ga(III) con geometrías similares a las propuestas para los complejos tanto homolépticos como heterolépticos [91,172–183]. En el caso del complejo **GaL1**, se encontraron 4 estructuras para complejos de Ga(III) con un entorno de coordinación similar al propuesto para este complejo con un índice de coordinación igual a 4, siendo átomos de O los átomos donores los cuales presentan una geometría tetraédrica [172–175], por lo que se

propone que a partir de las evidencias bibliográficas que la geometría para este compleja se aproxime a esta.

Para los complejos **GaL2** y **GaL3**, propone una fórmula para la cual el Ga(III) puede presentar un índice de coordinación 5, donde los 5 átomos donores son átomos de O. Para ambos complejos los centros metálicos pueden presentar una geometría aproximada a pirámide de base cuadrada, como para el complejo obtenido por Ziembowska $\text{Bu}_3\text{Ga}_2[\text{OC}(\text{CH}_3)_3\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{O}][\text{OC}(\text{CH}_3)_3\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{OH}]$ [176], el cual su estructura cristalina presentan dos centros metálicos de Ga(III) pentacoordinados con 5 átomos donores de O. A partir de esta estructura se propone que para los complejos de **GaL2** y **GaL3**, los ligandos presentes en cada uno de los complejos los ligandos fenilcarboxílicos coordinen a partir del grupo carboxilato de forma bidentada y el ion nitrato por dos átomos de O de forma bidentada.

Finalmente, la fórmula propuesta para el complejo **GaP** se presenta en forma dimérica, en la búsqueda realizada en la base de datos CCDC se encontraron dos estructuras para complejos diméricos con índice de coordinación 5 y 6, con entornos de coordinación similares al del complejo **GaP** [176,177], y tres estructuras para complejos monoméricos con átomos de O y N donores [182–184], como es el caso del complejo $[\text{Ga}(\text{salicilato})(1,10\text{-fenantrolina})_2](\text{PF}_6)$ reportado por Vincent y colaboradores [184]. A partir de estas evidencias se propone que ambos átomos de Ga(III) puedan presentar una geometría octaédrica.

5.1.1.3 CONCLUSIONES.

Se obtuvo tres complejos homolépticos con fórmulas $[\text{Ga}(3\text{-(4hidroxifenil)propanoato)}(\text{OH})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**GaL1**), $[\text{Ga}_2(\text{fenilpropanoato})_5(\text{NO}_3)] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ (**GaL2**) y $[\text{Ga}(\text{fenilacetato})(\text{OH})(\text{NO}_3)] \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot 0,25\text{EtOH}$ (**GaL3**). Y un complejo heteroléptico con fórmula $[\text{Ga}_2(3\text{-(4hidroxifenil)propanoato})_3(\text{phen})_3](\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} \cdot 3\text{EtOH}$ (**GaP**).

A partir del análisis de los espectros IR se propone el esquema de coordinación para cada uno de los complejos, los cuales se presentan en las siguientes figuras:

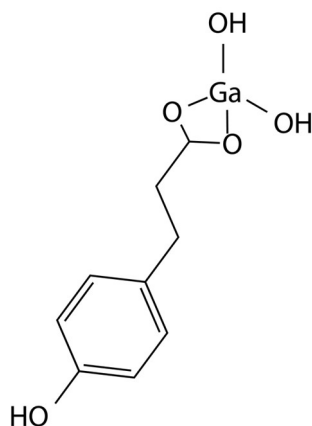


Figura 5.0.3. Esquema de coordinación propuesto para el complejo **GaL1**.

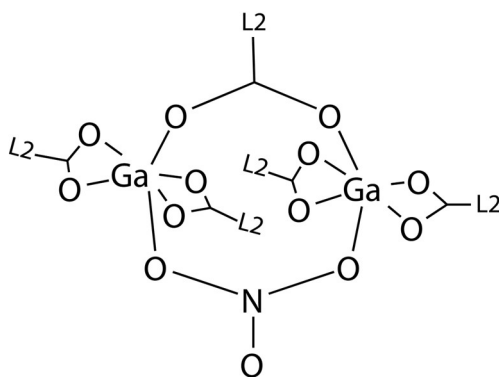


Figura 5.0.4. Esquema de coordinación propuesto para el complejo **GaL2**.

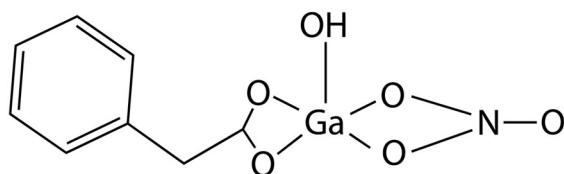


Figura 5.0.5. Esquema de coordinación propuesto para el complejo **GaL3**.

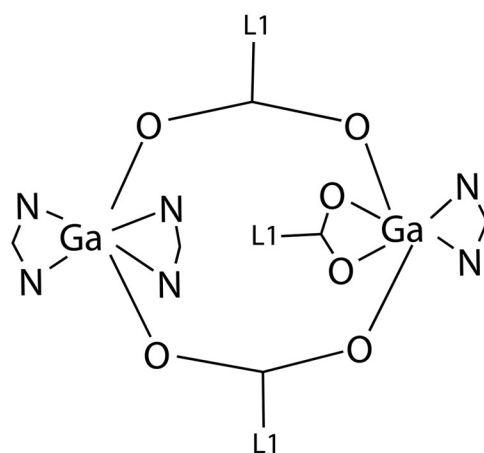


Figura 5.0.6. Esquema de coordinación propuesto para el complejo **GaP**.

5.1.2 CARACTERIZACIÓN EN SOLUCIÓN.

5.1.2.1 CONDUCTIVIDAD.

La conductividad de los complejos se estudió en soluciones de DMSO de concentración 1 mM, los valores de conductividad molar se presentan en la Tabla 5.0.4.

Tabla 5.0.4. Conductividad molar de los complejos de Ga(III) obtenidos.

Código	Complejo	Λ_M (Scm ² mol ⁻¹)
GaL1	[Ga(3-(4hidroxifenil)propanoato)(OH) ₂]	46
GaL2	[Ga ₂ (fenilpropanoato) ₅ (NO ₃)]	190
GaL3	[Ga(fenilacetato)(OH)(NO ₃)]	62
GaP	[Ga ₂ (3-(4hidroxifenil)propanoato) ₃ (phen) ₃](NO ₃) ₃	180

Los complejos presentaron valores de Λ_M para compuestos que presentan especies iónicas en DMSO [85,86]. Esto significa que en solución los complejos sufren sustitución de ligandos unidos al centro metálico. En el caso de los complejos **GaL1** y **GaL3**, los valores de Λ_M sugieren un grado de disociación menor al del resto de complejos. Los altos valores para los complejos **GaL2** y **GaP** puede estar asociado a la cantidad de sustituyentes presentes en estos complejos debido que ambos se presentan de forma dimérica.

5.1.2.2 RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN).

Se realizaron los espectros ¹H-RMN de los complejos obtenidos, de forma de obtener más información sobre la especie mayoritaria de los complejos en solución. Los espectros de los complejos y de los respectivos ligandos fueron realizado en soluciones de DMSO deuterado.

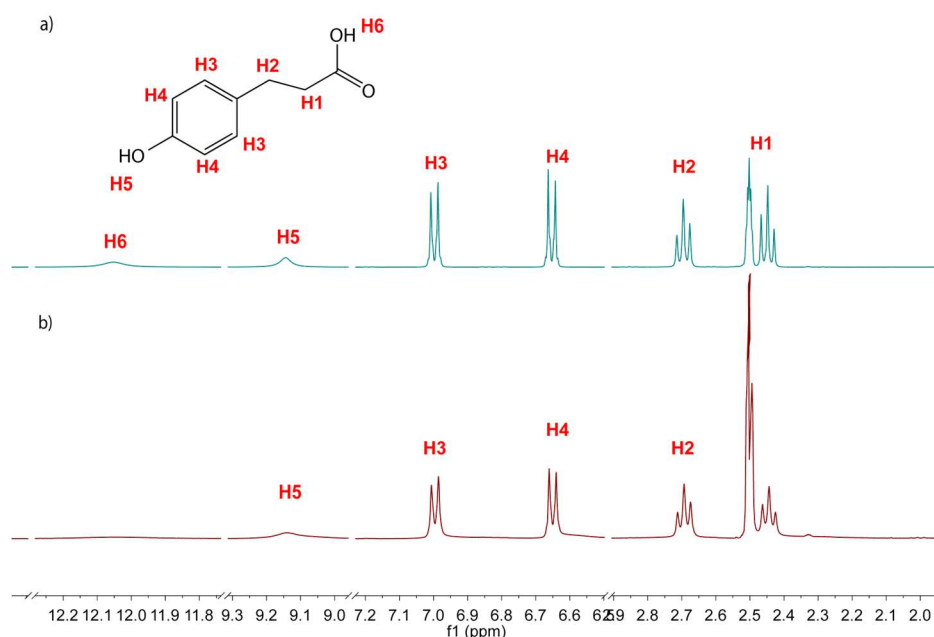


Figura 5.0.7. Espectros ¹H-RMN: a) ligando L1 y b) del complejo GaL1.

En la Figura 5.0.7 se presentan superpuestos los espectros ^1H -RMN del ligando **L1** y **GaL1**, en esta comparación se observa que las señales del ligando no presentan un corrimiento en el espectro del ligando. Si observamos los δH de las señales presentes en el ligando, aparecen exactamente en la misma posición en el espectro del complejo ($\delta\text{H1} = 2,48$ ppm, $\delta\text{H2} = 2,70$ ppm, $\delta\text{H3} = 7,00$ ppm, $\delta\text{H4} = 6,65$ ppm y $\delta\text{H5} = 9,14$ ppm) con la excepción del protón señalado en la figura como H6, el cual en el espectro del complejo no se observa la señal correspondiente. Esta observación en el espectro del complejo, sugiere que el complejo en solución se está disociando completamente, y no se mantiene el ligando unido al Ga(III).

Relacionando lo observado con el valor de Λ_M para este complejo, el cual indica que el complejo está sufriendo disociación, se puede concluir que esta disociación es por la pérdida de la molécula del ligando **L1** en solución.

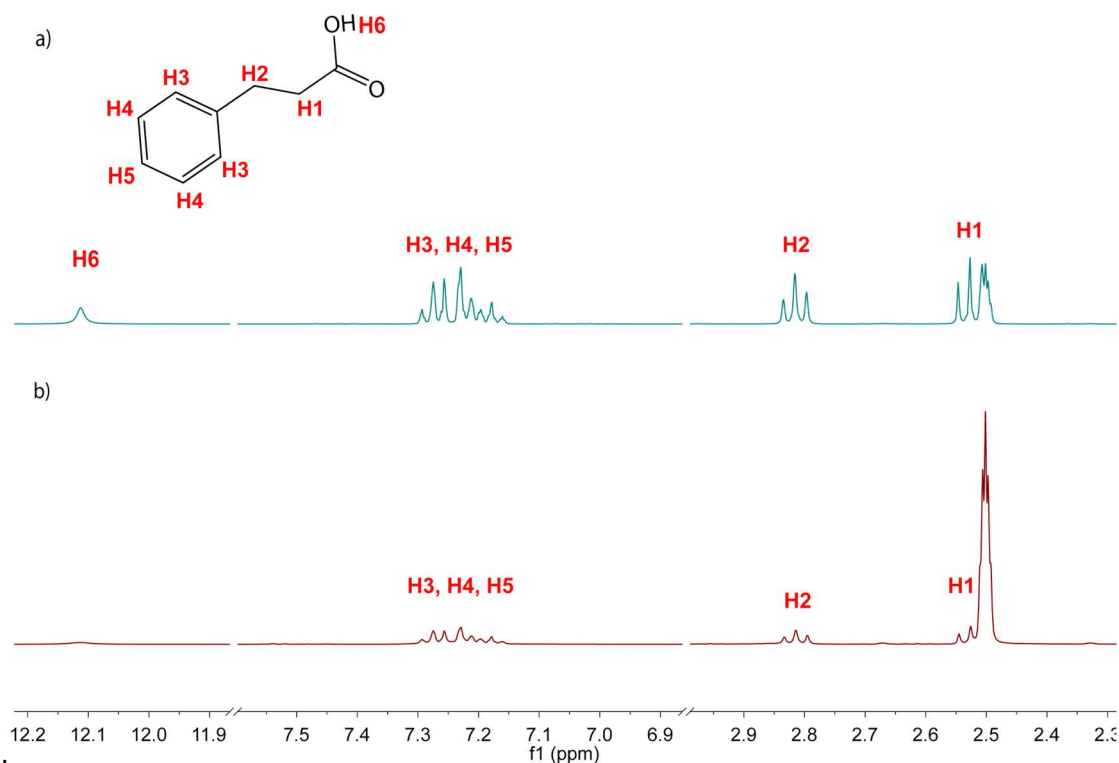


Figura 5.0.8. Espectros ^1H -RMN: a) ligando **L2** y b) del complejo **GaL2**.

En los espectros ^1H -RMN del ligando **L2** y del complejo **GaL2** superpuestos se observa que las señales del ligando presentes en el complejo aparecen en la misma posición en el espectro del complejo, al igual como se observó para el complejo **GaL1**. Los δH de las señales presentes en el ligando y en el complejo son exactamente los mismos ($\delta\text{H1} = 2,50$ ppm, $\delta\text{H2} = 2,81$ ppm, δH3 , δH4 y $\delta\text{H5} = 7,25$ ppm), a excepción del protón H6 para el cual no se observa señal en el espectro del complejo.

Al igual que se concluyó para el complejo **GaL1**, se puede decir que en solución el complejo **GaL2** está altamente disociado, donde las moléculas del ligando **L2** no se mantienen unidas al Ga(III).

El valor de Λ_M para este complejo coincide con lo observado para el complejo en el espectro de ^1H -RMN, lo cual confirma la pérdida de las moléculas del ligando **L2**, para el cual se propuso la presencia de 5 moléculas en estado sólido.

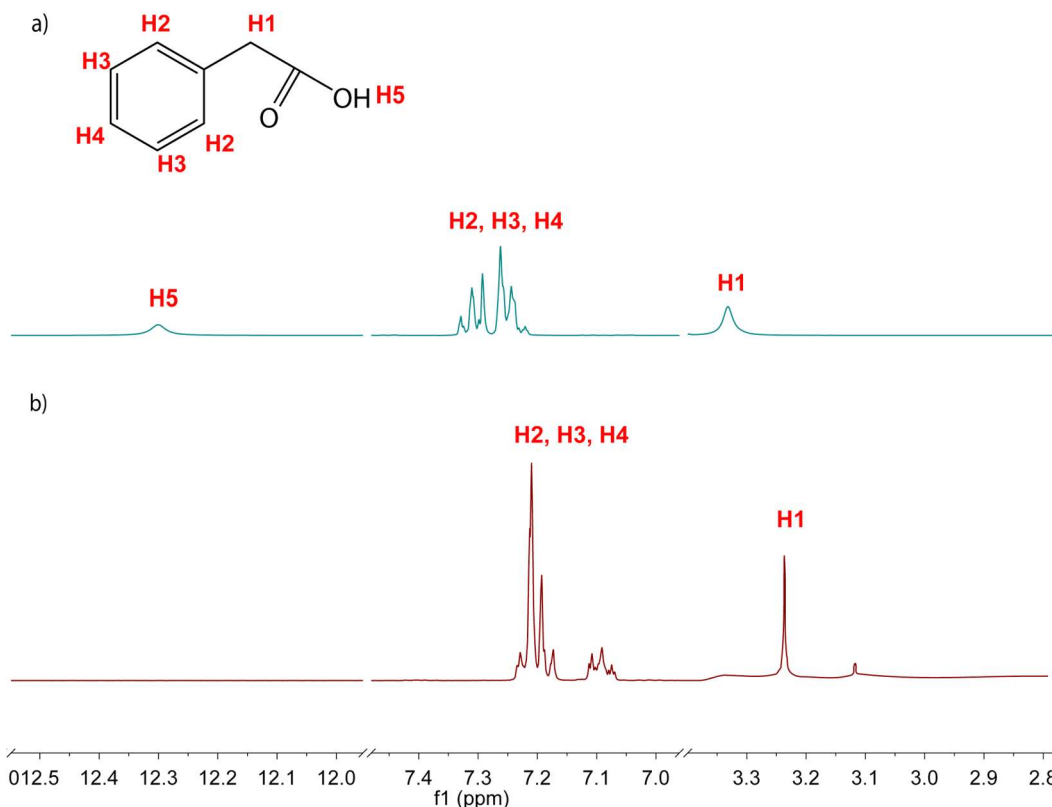


Figura 5.0.9. Espectros ^1H -RMN: a) ligando **L3** y b) del complejo **GaL3**.

A diferencia de lo observado en los dos complejos anteriores, en los espectros del ligando **L3** y **GaL3** se evidencia un corrimiento de las señales del ligando presentes en el complejo. La señal del protón marcado como H1 presenta un $\Delta\delta$ ($\delta\text{H}_{\text{complejo}} - \delta\text{H}_{\text{ligando}}$) de -0,11 ppm. En las señales de los protones H2, H3 y H4 además de observarse un desplazamiento, en el espectro del complejo **GaL3** se observa una separación de la señal del protón H2 del resto, el cual se encuentra más cerca del grupo carboxilato donde se está dando la coordinación del Ga(III). El $\Delta\delta$ de toda la señal para los tres protones es de -0,07 ppm. La señal del protón H5 no se observa en el espectro del complejo, debido a la deprotonación del ligando al formar el complejo.

Relacionando lo observado para este complejo con el valor de Λ_M obtenido para este en solución, indicaba un grado de disociación bajo. Por lo que, en el caso de este complejo en solución, se puede dar la pérdida del ion nitrato a diferencia de los complejos **GaL1** y **GaL2**, los cuales pierden los ligandos fenilcarboxílicos presentes en estado sólido.

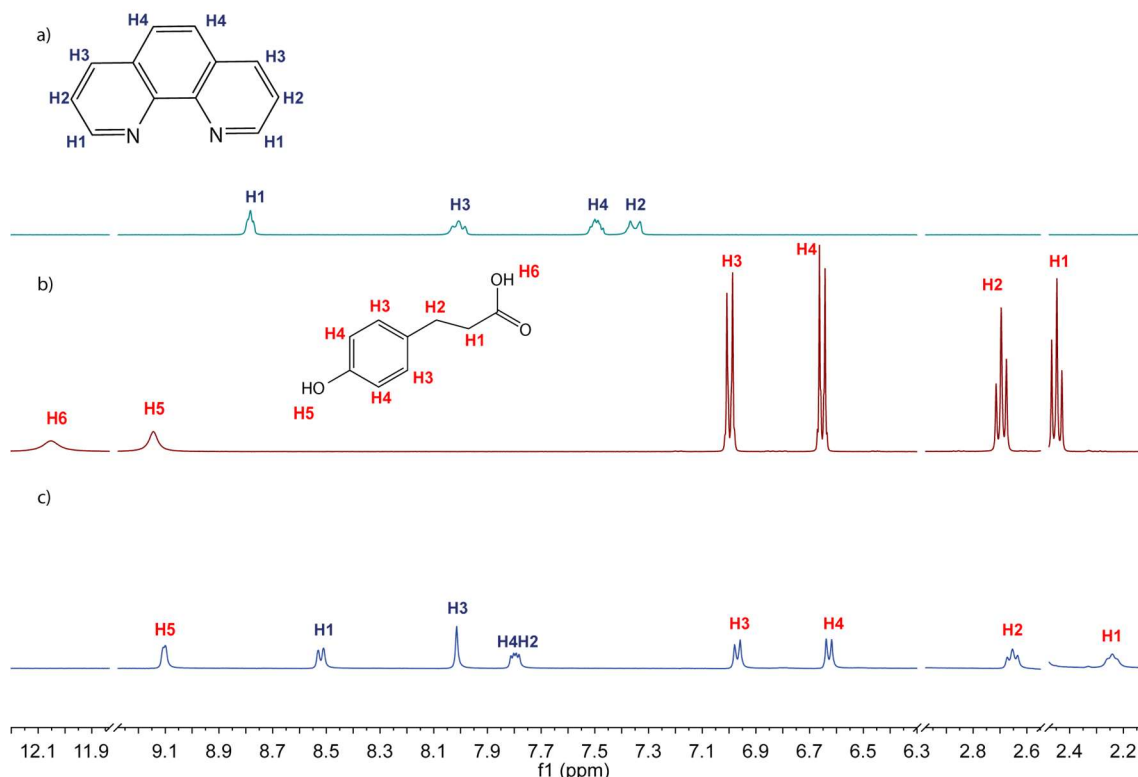


Figura 5.1.0. Espectros ^1H -RMN: a) fenantrolina, b) ligando **L1** y c) del complejo **GaP**.

En la Figura 5.1.0, se observa el espectro del complejo **GaP** y los ligandos presentes en su estructura. Las señales de los protones presentes en el ligando fenantrolina (de color azul), se observan en el espectro del complejo y además se observan desplazadas. Los $\Delta\delta$ para las señales de este ligando son: H1 = -0,24 ppm, H2 = 0,46 ppm, H3 = 0 ppm y H4 = 0,30 ppm. La señal para los protones marcados como H2 y H4 en el espectro del complejo se unen como consecuencia de la coordinación de la fenantrolina al Ga(III), debido a que el H2 está cerca de los átomos donores de N donde se da la coordinación. A su vez, el protón H1 también se ve desplazado por consecuencia de la coordinación del ligando, se desplaza a campo más alto en comparación a lo observado en el espectro del ligando. En estado sólido, se propone la presencia de tres moléculas de fenantrolina, las integraciones del espectro dan indicio de la presencia de una sola molécula del ligando, por lo que es posible que las moléculas de fenantrolina sean magnéticamente equivalentes entre sí en la especie en solución.

En el caso de las señales del ligando **L1**, a diferencia de lo observado para el complejo **GaL1**, en el espectro del complejo **GaP** si se observa desplazamiento de las señales del ligando (marcadas en rojo). Principalmente, se observa un $\Delta\delta$ del protón H1 con valor de -0,21 ppm, para esta señal es la que se observa mayor desplazamiento debido a que este protón es el que se encuentra más cerca del grupo carboxilato donde se da la coordinación del Ga(III). El resto de $\Delta\delta$ son: H2 = -0,05 ppm, H3 = -0,03 ppm, H4 = 0,02 ppm y H5 = -0,04 ppm. Estos desplazamientos confirman que el ligando **L1** se mantiene coordinado al Ga(III) en solución. Para este complejo en estado sólido se propuso la presencia de tres moléculas del ligando, en este caso si estudiamos la integración de las

señales para los protones del ligando **L1** en el espectro del complejo, se observa que la integración se duplica. En el caso del protón H5 en el espectro del ligando integra para un protón, mientras que en el espectro del complejo esta señal integra para dos protones. Mismo caso para las señales de los protones H1 y H2, ambas señales en el espectro del ligando integran para dos protones cada una, mientras que en el espectro del complejo integran para 4 protones, lo que es indicio de la presencia de una molécula del ligando **L1** coordinada al centro metálico.

A partir de lo discutido, se puede concluir que en solución la especie mayoritaria del complejo mantiene coordinada la fenantrolina y el ligando **L1**. Relacionando esto con lo observado en los valores de Λ_M es posible que alto valor registrado se da por la presencia de los iones nitratos en solución, los cuales se encontraban en forma de contra ion, y la presencia una especie mayoritaria de Ga(III) que aún mantiene ligandos unidos en su estructura, ya sea en forma dimérica o no.

5.1.2.3 CONCLUSIONES.

En solución (DMSO), los complejos **GaL1** y **GaP** presentan un alto grado de disociación, mientras que los complejos **GaL2** y **GaL3** se encuentran poco disociados.

En el complejo **GaP** los ligandos fenilcarboxílicos y fenantrolina mayoritariamente se encuentran coordinados, pero ocurre disociación de los nitratos.

5.2. COMPLEJOS DE Ga(III) CON DIPÉPTIDOS.

5.2.1 CARACTERIZACIÓN EN ESTADO SOLIDO.

Tabla 5.0.5. Códigos de los complejos de Ga(III) y sus fórmulas propuestas.

Código	Fórmula
Ga1	$[\text{Ga}(\text{Gly-Val})_2(\text{NO}_3)] \cdot 18\text{H}_2\text{O}$
Ga2	$[\text{Ga}(\text{Gly-Phe})_2(\text{NO}_3)] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Ga3	$[\text{Ga}_2(\text{Ala-Phe})_2(\text{NO}_3)_2(\text{OH})_2] \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$

5.2.1.1 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA.

En la Figura 5.1.1, se muestran los espectros infrarrojos obtenidos para cada uno de los complejos en el rango de 2000 a 400 cm^{-1} . El espectro en el rango completo se encuentra en los anexos (Fig. A.5.2).

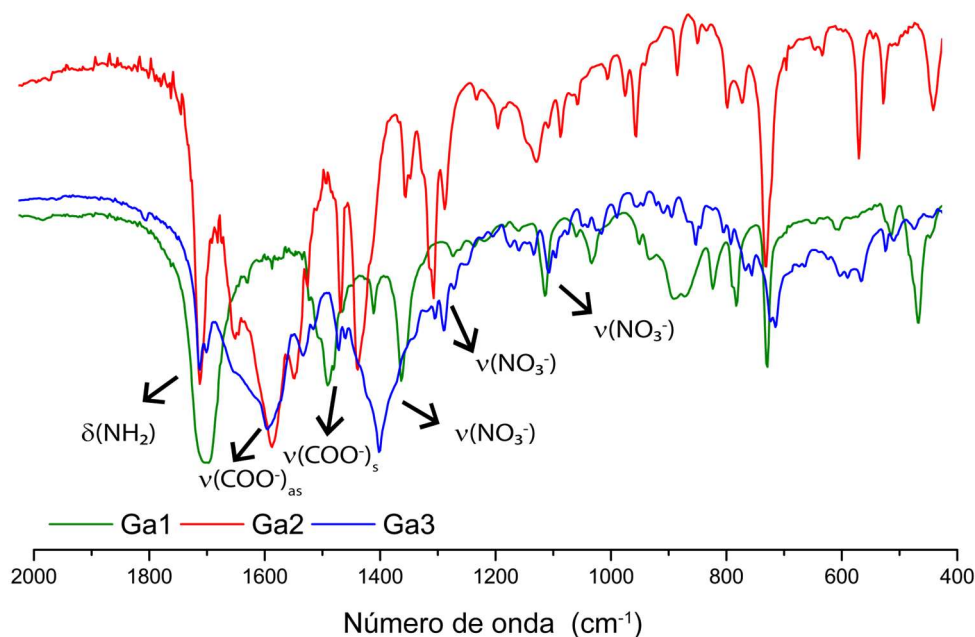


Figura 5.1.1. FT-IR de los complejos homolépticos **Ga1**, **Ga2** y **Ga3**.

La asignación de las bandas vibracionales más relevantes para los complejos mostrados en la Figura 5.1.1, fueron asignadas en función de referencias bibliográficas generales y de complejos con estructura similar [30,34–36,43,45,47,51,57,65,92,170,171].

Tabla 5.0.6. Principales bandas de absorción de los complejos de Ga(III) y asignación tentativa.

Banda	Gly-Val	Ga1	Gly-Phe	Ga2	Ala-Phe	Ga3
$\nu(\text{NH}_2)$	3176	3179	3200	3190	3100	3104
$\delta(\text{NH}_2)$	1677	1674	1678	1687	1672	1665
$\nu(\text{COO}^-)_{\text{as}}$	1498	1451	1465	1560	1549	1578

$\nu(\text{COO}^-)_s$	1400	1330	1330	1443	1394	1455
$\nu(\text{NO}_3^-)$	-	1381,1089	-	1412,1283,1100	-	1383,1285,1089
$\nu(\text{Ga-O})$	-	450	-	544	-	548

En la Tabla 5.0.6 se presentan las principales bandas de absorción de los complejos y de los ligandos en su forma libre (Fig. A.5.3 espectros de los ligandos). Las dos primeras bandas mostradas, corresponden a las vibraciones de los grupos amino presente en los ligandos $\nu(\text{NH}_2)$ y $\delta(\text{NH}_2)$, las cuales, en comparación con las frecuencias presentadas en el espectro del ligando libre, se puede descartar la coordinación de los ligandos a partir de estos grupos. En los complejos análogos de Cu(II) reportados por el grupo [43,45], estas vibraciones sufren corrimientos que se encuentran entre 100 y 50 cm^{-1} debido a que la coordinación en estos complejos se da por el grupo amino. En el caso de los complejos de Ga(III) podemos decir que al ser corrimiento tan leve se puede descartar la unión de los ligandos a partir de estos grupos.

Los corrimientos de las bandas correspondientes a las vibraciones $\nu(\text{COO}^-)_{as}$ y $\nu(\text{COO}^-)_s$ en el espectro de los complejos en comparación con las frecuencias observadas para los ligandos en su forma libre, son indicios de la coordinación de los ligandos fenilcarboxílicos con el ion de galio. Asimismo, los corrimientos observados en los complejos son diferentes a los observados en sus análogos de Cu(II), reportados por Facchin [43,45], esto debido a que la coordinación al Cu(II) viene dada por la amina secundaria y por un átomo de O del carboxilato presente en el dipéptido, mientras que para los complejos de Ga(III) se espera que la coordinación sea por los dos átomos de O del carboxilato. Por lo que el corrimiento de las bandas COO asimétrica y simétrica se ve más marcado que en los complejos homolépticos de Cu(II). El valor de $\Delta\nu = \{\nu(\text{COO}^-)_{as} - \nu(\text{COO}^-)_s\}$ para cada uno de los complejos es de: **Ga1** = 121 cm^{-1} , **Ga2** = 117 cm^{-1} y **Ga3** = 123 cm^{-1} . Estos valores nos dan idea de la forma en que coordinan los dipéptidos al Ga(III), los cuales se ajustan a una coordinación bidentada [57,92].

En los espectros de los complejos se observa la presencia de tres bandas correspondientes a la vibración $\nu(\text{NO}_3^-)$, las frecuencias a las que se presentan son evidencia de que el ion nitrato se une al Ga(III) de forma bidentada, completando la esfera de coordinación de los complejos.

También, se asignó la banda $\nu(\text{Ga-O})$ correspondiente al estiramiento del enlace Ga-O. Esta banda se observó en los tres complejos alrededor de 548 y 450 cm^{-1} [34,92].

A partir de la búsqueda en la base de datos CCDC, se encuentran 90 estructuras reportadas de Ga(III) con 6 átomos donores de O formando geometrías octaédricas, de las cuales 82 son para complejos monoméricos y 8 para complejos diméricos. Por lo que se propone que la geometría de los complejos sea octaédrica con los ligandos dipéptidos coordinados de forma bidentada a partir del grupo carboxilato y el ion nitrato unido también de forma bidentada.

5.2.1.2 CONCLUSIONES.

Se obtuvieron tres nuevos complejos homolépticos de Ga(III) con la pureza adecuada para su caracterización en estado sólido. En éstos, el dipéptido coordina por el carboxilato al Ga(III).

Se propone el esquema de coordinación para cada uno de los complejos, los cuales se presentan en las siguientes figuras:

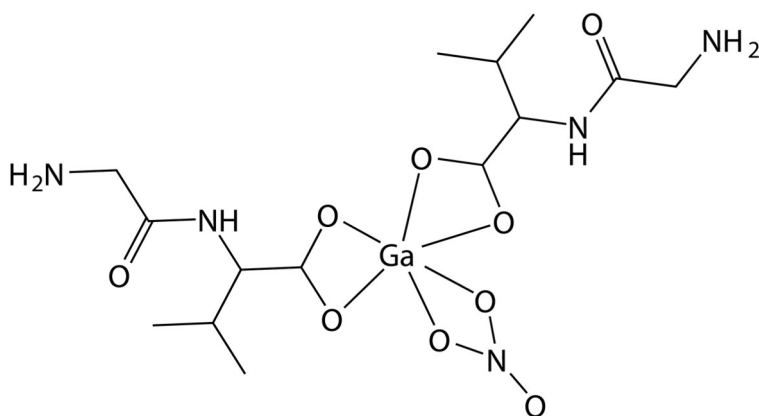


Figura 5.1.2. Esquema de coordinación propuesto para el complejo **Ga1**.

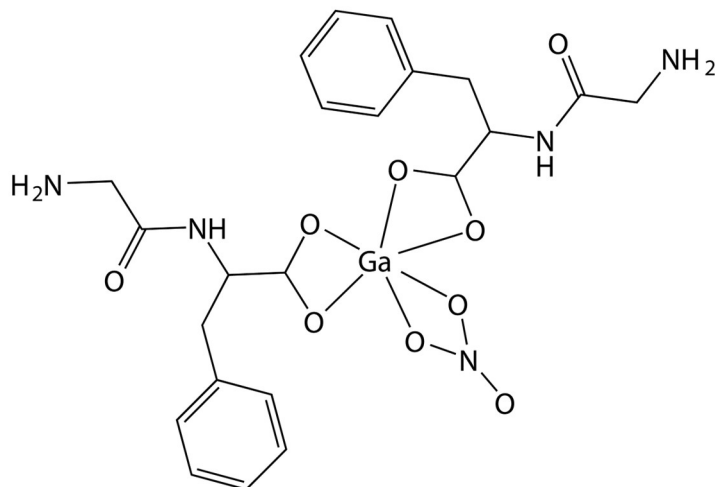


Figura 5.1.3. Esquema de coordinación propuesto para el complejo **Ga2**.

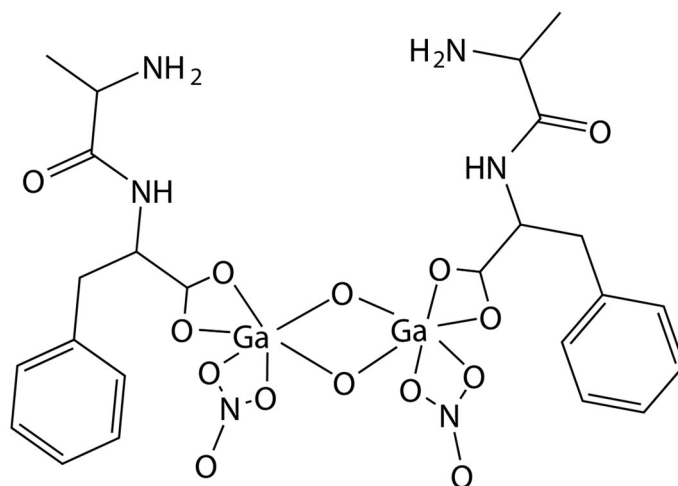


Figura 5.1.4. Esquema de coordinación propuesto para el complejo **Ga₃**.

5.2.2 CARACTERIZACIÓN EN SOLUCIÓN.

5.2.2.1 CONDUCTIVIDAD.

La conductividad de los complejos se realizó en solución acuosa de concentración 1 mM, los valores de conductividad molar obtenidos se puede observar en la Tabla 5.0.7.

Tabla 5.0.7. Conductividad molar de los complejos de Ga(III).

Código	Complejo	Λ_M (Scm ² mol ⁻¹)
Ga1	[Ga(Gly-Val) ₂ (NO ₃)]·18H ₂ O	120
Ga2	[Ga(Gly-Phe) ₂ (NO ₃)]·2H ₂ O	125
Ga3	[Ga ₂ (Ala-Phe) ₂ (NO ₃) ₂ (OH) ₂]·0,5H ₂ O	491

Los complejos presentaron valores de Λ_M que corresponden a especies iónicas en solución. Los valores de la Tabla 5.0.7, se pueden ubicar dentro de los rangos mostrados en el Capítulo 1 (Tabla 1.0.2), para así tener una idea del grado de disociación al cual se encuentran. Para los complejos **Ga1** y **Ga2**, se obtuvieron valores que corresponden para un número de 2 iones en solución, lo cual puede significar la sustitución del ion nitrato en solución para ambos complejos, quedando parcialmente disociados. En el caso del complejo **Ga3**, el valor de Λ_M obtenido en solución acuosa corresponde a 5 iones en solución, el cual puede deberse a la sustitución del ion nitrato o del ligando Ala-Phe.

En los tres complejos se observa un grado de disociación parcial, donde se asume que este grado de disociación se da por la hidrólisis de los iones nitrato en solución, pero también pondría darse la sustitución de los dipéptidos en solución.

5.2.2.2 RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN).

Se realizaron los espectros ^1H -RMN de los complejos homolépticos obtenidos, de forma de confirmar que en solución los dipéptidos siguen unidos al centro metálico. Los espectros de los complejos y de los respectivos ligandos fueron realizados en soluciones de D_2O .

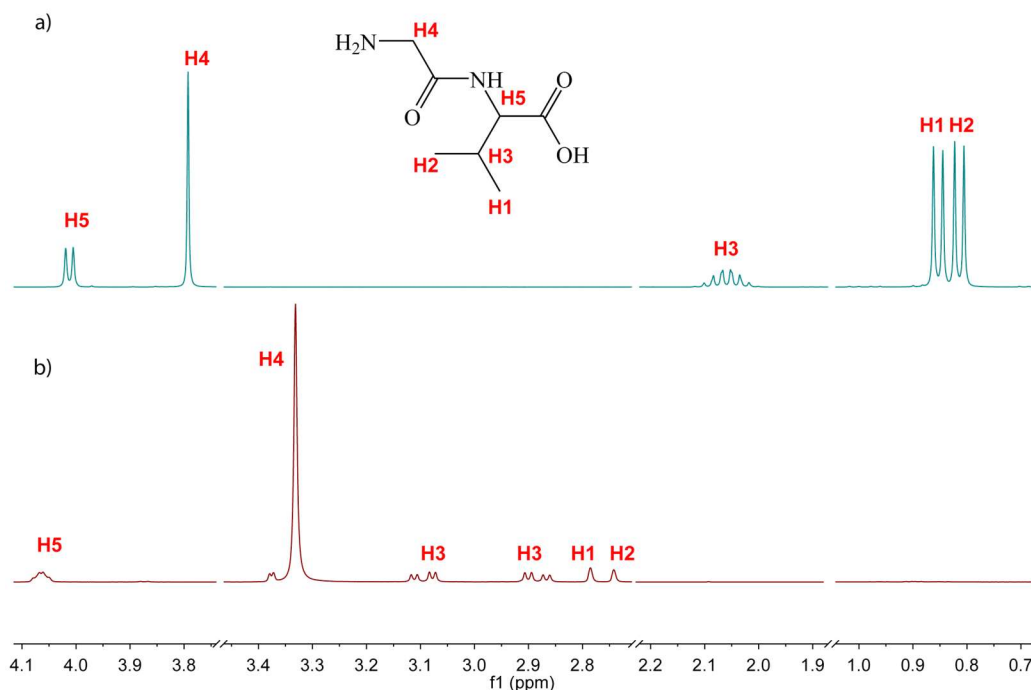


Figura 5.1.5. Espectros ^1H -RMN: a) ligando Gly-Val y b) del complejo **Ga1**.

En la Figura 5.1.5, se presenta el espectro ^1H -RMN del ligando Gly-Val en su forma libre y del complejo **Ga1** resaltando las señales de los protones presentes en el ligando.

La señal correspondiente a los protones H1 y H2 en el ligando libre se encuentran con un δH de 0,85 y 0,81 ppm respectivamente, corriéndose a 2,79 y 2,75 ppm en el complejo. Mismo caso se observa con las señales de H3 y H4, sufren un corrimiento considerable comparado al de los protones H1 y H2, el protón H4 presenta un δH en el ligando de 3,79 ppm desplazándose a campo alto con un δH 3,37 ppm en el complejo. Sin embargo, con el protón H3 además de observar un corrimiento en el valor de δH presente en el complejo en comparación con el observado en el ligando, se observa una multiplicación de su señal, lo cual es indicativo de la presencia de más de una molécula del ligando en solución que no son magnéticamente equivalentes. Así como se observa una multiplicación de la señal de H3, también se observa un aumento en la integración de las señales, como es el caso de los protones H1 y H2, donde en el ligando integra para 3 protones debido a que son grupos CH_3 y en el complejo esta integración se ve aumentada a 6 protones.

Estas observaciones son indicios de que el complejo **Ga1** se mantenga en solución unido a las dos moléculas del dipéptido, donde la disposición de los ligandos sea de forma no simétrica y permita

observar una diferencia en la integración de las señales del ligando en su forma libre con las del espectro del complejo.

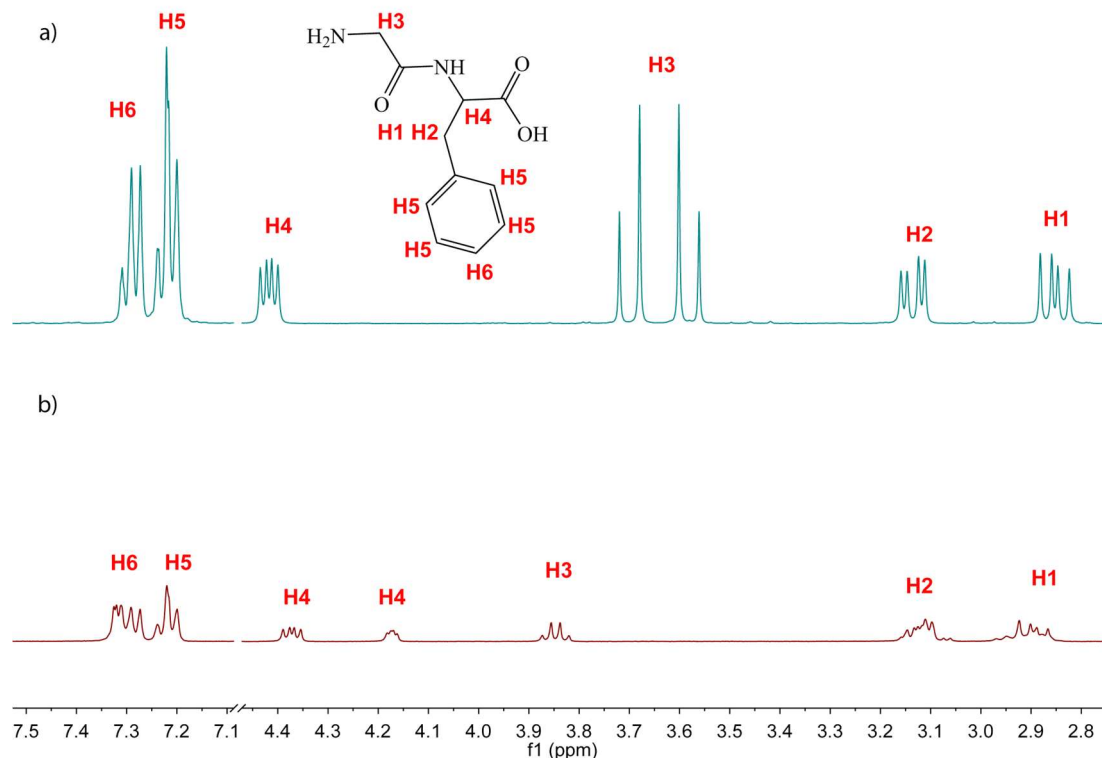


Figura 5.1.6. Espectros ¹H-RMN: a) ligando Gly-Phe y b) del complejo **Ga2**.

Los espectros ¹H-RMN del ligando Gly-Phe en su forma libre y del complejo **Ga2**, así mismo como un esquema del complejo Gly-Phe con las señales presentes en los espectros. Al igual que para el complejo **Ga1**, se pudieron ubicar todas las señales observadas en el espectro ¹H-RMN del ligando en su forma libre, en el espectro obtenido para el complejo.

Los corrimientos observados en este complejo no son tan marcados como los mencionados para el complejo **Ga1**, sin embargo, se observa que para los protones H1 y H2 en el ligando se encuentran a δ H 2,85 y 3,14 ppm respectivamente y en el complejo los δ H se desplazan con $\Delta\delta$ (δ H_{complejo} – δ H_{ligando}) de apenas -0,05 y 0,02 ppm respectivamente. Para el resto de los protones los corrimientos se mantienen en el mismo orden de los observados para los protones H1 y H2. Sin embargo, para el protón H3 se observa un valor de $\Delta\delta$ de 0,15 ppm, siendo este el corrimiento de mayor magnitud observado en el espectro. A pesar de que los corrimientos son de magnitudes pequeñas, se puede decir que el ligando está coordinando al centro metálico debido a que las señales de los protones si están sufriendo modificación de sus δ H [34,173,178,179].

El complejo **Ga2** presenta dos moléculas del ligando en estado sólido, y al igual que para el complejo **Ga1** se observan evidencias de que esto se siga manteniendo en solución. Una de estas evidencias es la aparición de dos señales para el protón H4 con δ H de 4,17 y 4,37, siendo este el protón más próximo al grupo carboxilato por donde sucede la coordinación del ligando al Ga(III).

Así mismo, se observa para los protones del anillo aromático, donde además de las dos señales esperadas para los protones H5 y H6 se observa una tercera señal con un δH de 6,97 ppm, que puede darse por la multiplicación de las señales por la presencia de otra molécula del ligando Gly-Phe. Además de las multiplicaciones de las señales presentes en los espectros, también se observa en la integración de las señales de los protones H5 y H6, las cuales en el espectro del ligando libre presentan una integración de 5 protones, y en el espectro del complejo **Ga2**, se obtiene una integración de 10 protones.

De esta forma también se evidencia la presencia de dos moléculas del ligando Gly-Phe en la estructura del ligando magnéticamente no equivalentes que, al igual como se mencionó para el complejo **Ga1**, es posible que en solución la disposición de los ligandos alrededor del Ga(III) sea de forma no simétrica, lo que permite diferenciar entre las dos moléculas por su integración.

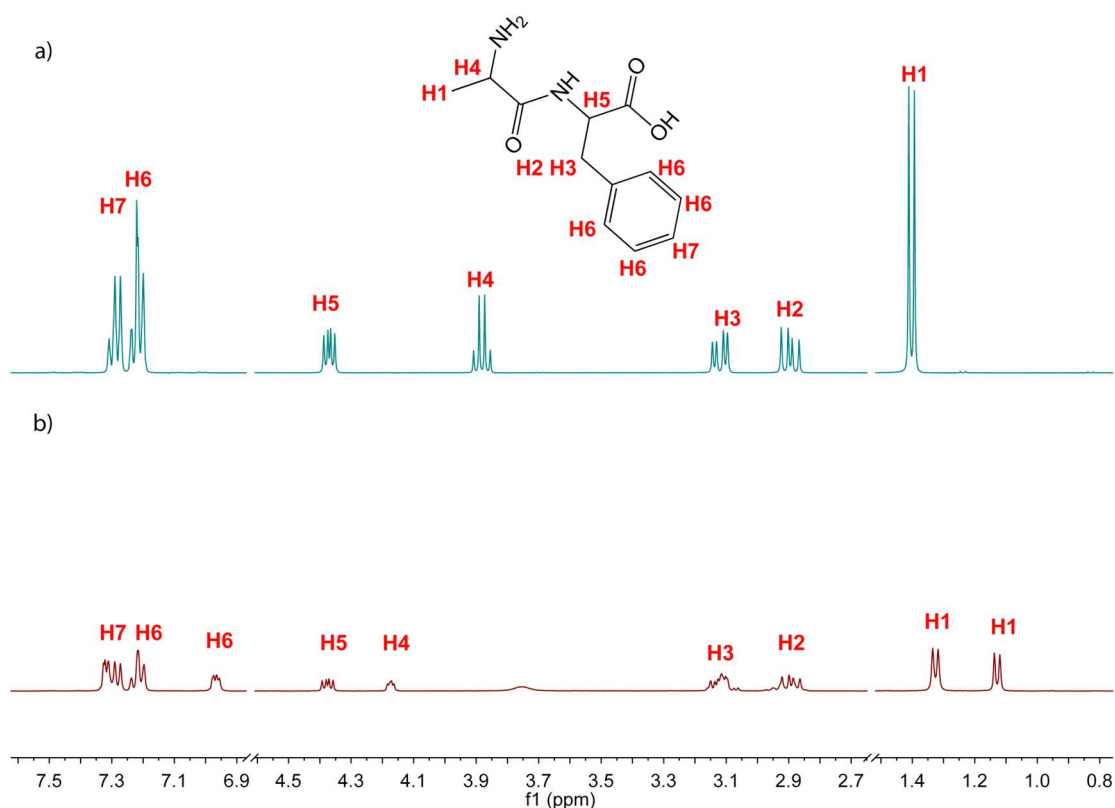


Figura 5.1.7. Espectros ¹H-RMN: a) ligando Ala-Phe y b) del complejo **Ga3**.

En la Figura 5.1.7 se presentan los espectros ¹H-RMN para el ligando Ala-Phe y para el complejo **Ga3**, asimismo se presenta un esquema del dipéptido con las principales señales a observar en ambos espectros.

El corrimiento más significativo observado en los espectros se da para el protón H4, el cual en el ligando presenta δH de 3,88 ppm y en el espectro del complejo **Ga3** presenta un δH de 4,17 ppm,

esto es un corrimiento bastante significativo en comparación con los observados en los otros dos complejos estudiados, el cual ayuda a confirmar la coordinación del ligando Ala-Phe al Ga(III).

El complejo **Ga3** en estado sólido presenta una fórmula para un compuesto dimérico con dos moléculas del ligando Ala-Phe en su estructura, esto se evidencia también en el espectro ^1H -RMN del complejo **Ga3**. Una de las evidencias observadas de que en solución el complejo mantiene la presencia de dos moléculas del ligando, es la multiplicación de la señal del protón H1 en el espectro del complejo, se observan dos señales con δH de 1,33 y 1,17 ppm mientras que en el espectro del ligando se observa una sola señal para este protón a 1,40 ppm. Y al igual que para el complejo **Ga2**, se observa la aparición de una tercera señal para los protones aromáticos H6 y H7 en el espectro del complejo que puede darse por la presencia de dos anillos aromáticos presentes en la estructura.

Sumado a las multiplicaciones de las señales, también se observa una integración para 5 protones de los protones H6 y H7 en el espectro del ligando libre, mientras que para el espectro del complejo esta integración se hace casi el doble con un valor de 10. Al igual como se discutió previamente para los complejos **Ga1** y **Ga2**, esto es evidencia de la presencia de moléculas del ligando que no son magnéticamente equivalente que se pueden estar diferenciando por la disposición que adopta en solución la especie mayoritaria del complejo.

En este caso en particular, el alto valor de Λ_{M} obtenido para este complejo y las observaciones realizadas a los espectros ^1H -RMN se puede concluir que en solución sucede la sustitución de los iones nitrato y es posible que el complejo no se mantenga en forma dimérica separándose en dos especies de Ga(III) que ocasione que las moléculas del ligando no sean magnéticamente equivalentes.

Si se compara los resultados con otros estudios de ^1H -RMN de complejos de Ga(III) con entornos de coordinación similares, en todos los complejos se observa un corrimiento significativo con respecto al de los ligandos libres. Por ejemplo, los complejos $[\text{Ga}(\text{2-acetilpiridina-fenilhidrazonato})_2]\text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y $[\text{Ga}(\text{ftaloil-DL-alanina})]_2$ [34,92,170,177], donde si bien los corrimientos son en magnitud mayores a los observados en nuestros complejos, no se alejan de forma significativa.

5.2.2.3 CONCLUSIONES.

Las especies mayoritarias en solución son similares a las propuestas en estado sólido, con hidrólisis de los iones nitrato. En todos los casos se mantiene la coordinación de los dipéptidos al Ga.

En los espectros ^1H -RMN de los complejos, se observaron evidencias de la presencia de más de una molécula de los ligandos dipéptidos en los complejos siendo magnéticamente no equivalentes, lo que permite concluir que la disposición de los ligandos en solución es no simétrica entre ellos.

CAPÍTULO 6: ESTUDIOS DE INTERÉS BIOLÓGICO

6.1 LIPOFILIA.

6.1.1 Complejos de Cu(II).

6.1.1.1 Complejos homolépticos.

Se determinaron los coeficientes de reparto octanol-agua (P) para los complejos homolépticos de Cu(II), los cuales se presentan en la Tabla 6.0.1. Para los ligandos fenilcarboxílicos usados, se realizó también el procedimiento para la de terminación de P, pero a partir del método llevado a cabo el coeficiente de reparto para estos no fue detectable (no se detecta su presencia en la fase acuosa).

Tabla 6.0.1. Coeficiente de reparto (P) determinado para los complejos homolépticos.

Código	Complejo	P
CuL1	$[\text{Cu}_2(3-(4\text{-hidroxifenil})\text{propanoato})_4(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,1
CuL2	$[\text{Cu}_2(\text{fenilpropanoato})_4(\text{H}_2\text{O})_2]$	0,2
CuL3	$[\text{Cu}_2(\text{fenilacetato})_4]$	0,5

Se observa que el complejo **CuL3** es el que presenta mayor valor de lipofilia con respecto a los otros dos complejos homolépticos. En solución los complejos mantienen su forma dimérica, lo cual fue demostrado en la caracterización de estos, por lo que la variación de los valores de las constantes de reparto para esta familia de complejos se puede asociar al ligando fenilcarboxílico.

El ligando **L1** presente en el complejo **CuL1** presenta en su estructura el grupo OH, ocasionado que este compuesto sea el más hidrofílico. Mientras que el ligando **L3** su única diferencia con el ligando **L2** es la presencia de un átomo de C menos en la cadena alifática, no esperándose que fuese más lipofílico. Debido a este comportamiento diferente al esperado, estos resultados se podrían confirmar usando una técnica distinta, como podría ser siguiendo la concentración del Cu(II) por absorción atómica.

6.1.1.2 Complejos heterolépticos.

Para los complejos heterolépticos se presenta los coeficientes de reparto para los complejos que su caracterización en estado sólido y solución evidenciaron mayor pureza. En la Tabla 6.0.2, se presentan los coeficientes de reparto octanol-agua para cada uno de los complejos sintetizados y para la especie Cu-diimina correspondiente.

Tabla 6.0.2. Coeficiente de reparto (P) determinado y grado de disociación en solución para cada uno de los complejos heterolépticos.

Código	Complejo	P	D
-	$[\text{CuCl}_2(\text{phen})]$	0,1	
1P	$[\text{Cu}_2(3-(4\text{-hidroxifenil})\text{propanoato})_3(\text{phen})_2]\text{Cl} \cdot 7\text{H}_2\text{O} \cdot \text{EtOH}$	1,4	PD

2P	[CuCl(fenilpropanoato)(phen)]2EtOH·3H ₂ O	0,1	AD
3P	[Cu ₂ Cl(fenilacetato)(phen) ₂ (H ₂ O)]Cl ₂ ·2H ₂ O	0,3	
-	[CuCl ₂ (4metil-phen)]	0,3	
4M	[CuCl(3-(4-hidroxifenil)propanoato)(4metil-phen)]	ND	PD
5M	[Cu ₂ Cl(fenilpropanoato)(4metil-phen) ₂ (H ₂ O)]Cl ₂ ·0,5H ₂ O·5EtOH	ND	PD
6M	[Cu ₂ Cl(fenilacetato)(4metil-phen) ₂ (H ₂ O)]Cl ₂ ·4H ₂ O·0,5EtOH	ND	PD
-	[CuCl ₂ (neo)]	1,8	
7N	[Cu ₂ Cl(3-(4-hidroxifenil)propanoato)(neo) ₂ (H ₂ O)]Cl ₂ ·4H ₂ O	0,5	RAD
8N	[CuCl(fenilpropanoato)(neo)]0,5H ₂ O	0,7	RAD
9N	[CuCl(fenilacetato)(neo)]	0,7	RAD
-	[CuCl ₂ (bipy)]	ND	
16BI	[CuCl(3-(4-hidroxifenil)propanoato)(bipy)]4,5H ₂ O·2EtOH	0,3	PD
17BI	[Cu ₂ Cl(fenilpropanoato)(bipy) ₂ (H ₂ O)]Cl ₂ ·2,5H ₂ O·2,5EtOH	0,3	PD
18BI	[CuCl(fenilacetato)(bipy)]·1,5H ₂ O·3EtOH	0,4	PD
-	[Cu Cl ₂ (dmb)]	0,4	
19D	[CuCl(3-(4-hidroxifenil)propanoato)(dmb)]·1,5H ₂ O·0,5EtOH	1,2	PD
20D	[Cu ₂ Cl(fenilpropanoato)(dmb) ₂ (H ₂ O)]Cl ₂ ·1,5H ₂ O·2EtOH	0,5	PD
21D	[Cu ₂ Cl(fenilacetato)(dmb) ₂ (H ₂ O)]Cl ₂ ·4H ₂ O·EtOH	0,3	MD

Los valores de P muestran que los complejos más lipofílicos son los de la familia de neo, con excepción de los complejos **1P** y **19D**. Al aumentar el número de anillos aromáticos y los sustituyentes en los ligandos diimínicos se favorece la lipofilia de los complejos [65,185,186], esto se cumple tanto como en los complejos heterolépticos como en los Cu-diimina, donde el complejo [CuCl₂(neo)] es el que presenta mayor lipofilia. Los complejos heterolépticos de neo presentan valores de lipofilia menores al determinado para el homoléptico Cu-diimina, en todos los complejos heterolépticos de neo se observó una coexistencia de las especies mayoritarias de Cu(II) con una especie de Cu(I) lo que puede estar haciendo menos lipofílicos los complejos.

El complejo **1P** se determinó que en solución es el único de los complejos heterolépticos que podría mantenerse de forma dimérica. El valor de lipofilia para este complejo se ve justificado por la presencia de dos ligandos de phen en su estructura, así como la presencia de tres ligandos **L1**, lo cual aumenta considerablemente la cantidad de anillos aromáticos por complejo, lo que favorece la lipofilia de los complejos.

El comportamiento observado para los complejos homolépticos, donde la presencia del ligando **L3** favoreció la lipofiliidad del complejo **CuL3**, no se observa claramente en estos complejos. Solo se observa en la familia de neo y bipy donde los complejos **9N** y **18BI** son los que presentan mayor valor de constante de reparto con respecto a los complejos pertenecientes a su familia.

6.1.2 Complejos de Ga(III).

Al igual como se hizo para los complejos de Cu(II), también se determinó la constante de reparto octanol-agua (P) para los complejos homolépticos de Ga(III), los cuales se presentan en la Tabla 6.0.3.

Tabla 6.0.3. Coeficiente de reparto (P) determinado para los complejos homolépticos.

Código	Complejo	P
Ga1	$[\text{Ga}(\text{Gly-Val})_2(\text{NO}_3)] \cdot 18\text{H}_2\text{O}$	2,4
Ga2	$[\text{Ga}(\text{Gly-Phe})_2(\text{NO}_3)] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,8
Ga3	$[\text{Ga}_2(\text{Ala-Phe})_2(\text{NO}_3)_2(\text{OH})_2] \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$	0,4

Se observa que el complejo **Ga1** es el que presenta mayor lipofilia Si comparamos esto con el complejo **Ga2**, es de esperarse que para el complejo **Ga2** este valor fuera mayor por la presencia del anillo aromático en el ligando Gly-Phe, lo cual favorece la lipofilia de los complejos.

En el caso del complejo **Ga3** se observa que presenta menor valor de P con respecto al resto de complejos, este resultado no era el esperado si hacemos el mismo análisis que en el caso anterior, la presencia de los anillos aromáticos en el ligando Ala-Phe debería favorecer la lipofilia del complejo, pero en este complejo se da la presencia de dos iones OH^- en su estructura lo cual hace al complejo más hidrofílico.

6.2 INTERACCIÓN CON ADN DE LOS COMPLEJOS DE Cu(II).

6.2.1 CONSTANTES DE UNIÓN.

6.2.1.1. Complejos homolépticos.

Para los complejos **CuL1**, **CuL2** y **CuL3** se determinó las constantes de unión al ADN por medio del método espectrofotométrico, como se encuentra descrito en el capítulo de métodos y materiales, en soluciones de DMSO. En la Tabla 6.0.4 se puede observar los valores de constantes obtenidos:

Tabla 6.0.4. Constantes de unión al ADN obtenidas para los complejos homolépticos.

Código	Complejo	$K_b \times 10^2 (M^{-1})$
CuL1	$[Cu_2(3-(4\text{-hidroxifenil})propanoato)_4(H_2O)_2] \cdot 2H_2O$	5,2
CuL2	$[Cu_2(fenilpropanoato)_4(H_2O)_2]$	2,0
CuL3	$[Cu_2(fenilacetato)_4]$	8,7

En la tabla se observa que para los complejos la constante de unión se encuentra en orden de 10^2 . Para los ligandos libres no se detectó unión al ADN, por lo que esta actividad se le puede adjudicar directamente al complejo en solución.

Sin embargo, si comparamos con otros compuestos homolépticos de cobre con ligandos fenilcarboxílicos similares a los usados en este trabajo como lo son $[Cu_2(nitrofenilacetato)_4(H_2O)_2]$ y $[Cu_2(fenilbutanoato)_4]_n$ se encuentra que el orden de magnitud de las constantes de unión reportadas está entre $10^3 - 10^4$ [155,160].

La magnitud del valor de la constante de unión es menor que la observada para complejos que intercalan el ADN, y similar a la observada para compuestos que se interactúan por unión a los surcos del ADN. Parte de la diferencia entre la magnitud de los complejos homolépticos de este trabajo con respecto a los complejos con ligandos similares previamente citados, puede venir debido a que en el caso del complejo $[Cu_2(nitrofenilacetato)_4(H_2O)_2]$ [155] la presencia del grupo nitro, le otorga al complejo una nueva posición por la que pueda interactuar con el ADN.

6.2.1.2 Complejos heterolépticos.

Las constantes de unión al ADN para los complejos heterolépticos se determinó solo para los complejos que se obtuvieron con la pureza adecuada. En la Figura 6.0.1 se presentan los espectros para el complejo **1P** y la ecuación de la recta usada para la determinación de la constante.

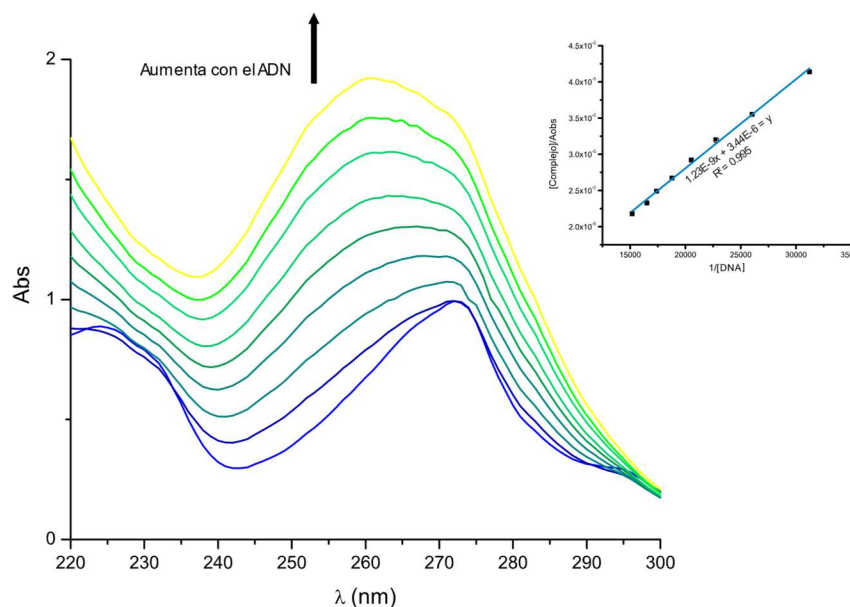


Figura 6.0.1. Espectro de **1P** a distintas concentraciones de ADN.

Si observamos los espectros a medida que se aumenta la cantidad de ADN en la solución de complejo, se puede observar que la banda centrada a 260 nm, asignada a una transición $\pi \rightarrow \pi^*$ correspondiente al ligando diimínico (presente en todos los complejos), sufre un marcado hipocromismo con un leve corrimiento de la longitud de onda, lo cual sugiere una fuerte interacción del complejo con el ADN. El efecto de hipocromismo es asociado a interacciones del modo de unión por los surcos o intercalación parcial con el ADN lo cual unido a las constantes de unión intrínseca ayuda a sugerir que estos son los tipos de interacción que pueden adjudicarse para estos complejos estudiados. En estudios de complejos de sistemas comparables a los complejos reportados en este trabajo, se encuentran los reportados por el grupo de Longanathan $[\text{Cu}(\text{nalidixiato})(\text{NN})(\text{H}_2\text{O})](\text{ClO}_4)$ y $[\text{Cu}(\text{N-benziliminodiacetato})(\text{NN})]$ donde el modo de interacción propuesto es de intercalación parcial los espectros registrados por medio de espectroscopía electrónica también presentaban un hipocromismo a medida que se aumentaba la cantidad de ADN presente en la solución [185,186]. A su vez el leve corrimiento de la longitud de onda de la banda a 260 nm, también sugiere una interacción del complejo con el ADN, este efecto puede verse también en sistemas similares donde el modo de interacción sugerido es la intercalación parcial de los complejos con el ADN [187].

Las constantes de unión determinadas para cada uno de los complejos a partir del método espectrofotométrico se presentan en la Tabla 6.0.5.

Tabla 6.0.5. Constantes de unión al ADN obtenidas y grado de disociación en solución para cada uno de los complejos heterolépticos.

Código	Complejo	Kb x 10 ³ (M ⁻¹)	D
-	[CuCl ₂ (phen)]	5,4	-
1P	[Cu ₂ (3-(4-hidroxifenil)propanoato) ₃ (phen) ₂]Cl·7H ₂ O·EtOH	6,6	PD
2P	[CuCl(fenilpropanoato)(phen)]2EtOH·3H ₂ O	3,5	AD
3P	[Cu ₂ Cl(fenilacetato)(phen) ₂ (H ₂ O)]Cl ₂ ·2H ₂ O	5,6	
-	[Cu Cl ₂ (4metil-phen)]	2,4	-
4M	[CuCl(3-(4-hidroxifenil)propanoato)(4metil-phen)]	2,5	PD
5M	[Cu ₂ Cl(fenilpropanoato)(4metil-phen) ₂ (H ₂ O)]Cl ₂ ·0,5H ₂ O·5EtOH	6,0	PD
6M	[Cu ₂ Cl(fenilacetato)(4metil-phen) ₂ (H ₂ O)]Cl ₂ ·4H ₂ O·0,5EtOH	8,1	PD
-	[Cu Cl ₂ (neo)]	3,6	-
7N	[Cu ₂ Cl(3-(4-hidroxifenil)propanoato)(neo) ₂ (H ₂ O)]Cl ₂ ·4H ₂ O	7,8	RAD
8N	[CuCl(fenilpropanoato)(neo)]0,5H ₂ O	3,3	RAD
9N	[CuCl(fenilacetato)(neo)]	6,7	RAD
-	[CuCl ₂ (bipy)]	2,6	-
16BI	[CuCl(3-(4-hidroxifenil)propanoato)(bipy)]4,5H ₂ O·2EtOH	7,0	PD
17BI	[Cu ₂ Cl(fenilpropanoato)(bipy) ₂ (H ₂ O)]Cl ₂ ·2,5H ₂ O·2,5EtOH	9,1	PD
18BI	[CuCl(fenilacetato)(bipy)]·1,5H ₂ O·3EtOH	4,0	PD
-	[Cu Cl ₂ (dmb)]	1,1	-
19D	[CuCl(3-(4-hidroxifenil)propanoato)(dmb)]·1,5H ₂ O·0,5EtOH	1,5	PD
20D	[Cu ₂ Cl(fenilpropanoato)(dmb) ₂ (H ₂ O)]Cl ₂ ·1,5H ₂ O·2EtOH	4,8	PD
21D	[Cu ₂ Cl(fenilacetato)(dmb) ₂ (H ₂ O)]Cl ₂ ·4H ₂ O·EtOH	4,5	-

Los complejos heterolépticos presentan constantes de unión que se encuentran entre $1,5 - 9,1 \times 10^3$. Si comparamos con compuestos reportados en la bibliografía que poseen constantes de unión de orden similares a las obtenidas se encuentra que el modo de interacción con ADN reportado para estos complejos es por medio la unión a los surcos o por intercalación parcial [47,50,51,65,99,149,159,185–191]. Estos valores también se encuentran en el mismo orden que los obtenidos para los complejos [Cu(Ldipeptido)(phen)], [Cu(Ldipeptido)(tmp)] y [Cu(Ldipeptido)(batho)] estudiados por el grupo [50,51,65] para los que se determinó que el modo de interacción es por unión a los surcos del ADN.

Si comparamos los valores obtenidos para los complejos heterolépticos con respecto a los obtenidos para los homolépticos (Tabla 6.0.4) se observa un incremento en la magnitud de la constante de unión. Dicho incremento se justifica con la presencia de los ligandos diimínicos en los complejos heterolépticos, debido a que la presencia de moléculas planas con anillos aromáticos favorece el modo de interacción de intercalación con el ADN. También se ha reportado, que al aumentar los sustituyentes en la 1,10-fenantrolina aumenta la constante de unión obtenida [50,185,186]. En los resultados obtenidos, este efecto no se logra ver con exactitud. Esto puede

relacionarse, a que en solución no solo se encuentra presente la especie mayoritaria determinada para cada complejo, también coexisten especies distintas a esta con menor o mayor grado de disociación que afectan los valores de constantes de unión obtenidos.

En la Tabla 6.0.5, además de los valores obtenidos para los complejos heterolépticos, también se presentan los valores para los complejos homolépticos correspondientes a las especies Cu-diimina, además se encuentra el grado de disociación en solución para cada uno de los complejos estudiados.

Para los complejos sintetizados con 1,10-fenantrolina (phen), se determinó que los tres complejos en solución presentan una especie mayoritaria diferente entre ellos. El complejo **1P**, es para el que se encontró un valor de constante de unión mayor en esta familia de complejos, seguido del complejo **3P** y luego el complejo **2P**, en ordenes de magnitud. Este comportamiento tiene sentido si observamos las especies mayoritarias en solución para cada uno de los complejos. En el caso del complejo **1P** y **3P**, se encontró una especie mayoritaria parcialmente disociada, pero con estructuras distintas, en el complejo **1P** se encuentra en forma de dímero con la presencia de dos ligandos diimínicos y tres ligandos fenilcarboxílicos, mientras que para el complejo **3P** a partir de los estudios de caracterización no se pudo determinar la especie mayoritaria. Como se mencionó previamente la presencia de un mayor número de anillos aromáticos favorece la interacción de las moléculas con el ADN, lo que justifica la diferencia de los valores de constantes de unión entre estos complejos. Sin embargo, el valor encontrado para el complejo **3P** ($5,6 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$) está muy aproximado al valor de la especie $[\text{Cu}(\text{phen})]^{2+}$. Esto puede justificarse debido a que en solución el complejo ternario no es la única especie presente en solución, la fórmula encontrada para este complejo inicialmente era en forma dimérica, por lo que no se descarta la coexistencia de otras especies en forma homoléptica y el valor obtenido para la constante de unión se vea afectado por estas. Por otro lado, para el complejo **2P** (su especie mayoritaria es la especie $[\text{Cu}(\text{phen})]^{2+}$) el valor de constante de unión se encuentra por debajo de la encontrada para el complejo Cu-diimina. Si bien, con respecto los complejos **1P** y **3P** se cumple con el patrón esperado del valor de las constantes por la alta disociación del complejo en solución, el valor se esperaría que se encuentre más aproximado al valor de $[\text{Cu}(\text{phen})]^{2+}$. Al igual como se discutió para el complejo **3P**, en solución pueden coexistir otras especies en solución que estén afectado el valor obtenido para este complejo. Si bien, existe una diferencia en el valor obtenido con respecto al del complejo Cu-diimina correspondiente, el orden de magnitud sigue siendo el mismo.

En el caso de los complejos sintetizados con 4metil-fenantrolina (4met-phen), se encontró evidencia que en solución la especie mayoritaria para todos los complejos es la especie ternaria de forma $[\text{Cu}(\text{L}_n)(\text{NN})]^{2+}$. Para los tres complejos se observó que el valor de constante de unión encontrado está por encima del valor obtenido para la especie $[\text{Cu}(4\text{metil-phen})]^{2+}$, lo que nos indica que los complejos ternarios se están uniendo más al ADN que los complejos homolépticos. El complejo **4M**, presenta un valor aproximado al de la especie $[\text{Cu}(4\text{metil-phen})]^{2+}$ ($2,5$ y $2,4 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$, respectivamente) al igual como se explicó para los complejos de phen.

Por otra parte, los complejos con neocuproína (neo) la especie mayoritaria en solución acuosa para estos complejos es una mezcla de la especie de Cu(I) y la especie $[\text{Cu}(\text{neo})_2]^{2+}$. En ninguno de los tres complejos, se pudo determinar una proporción de coexistencia de las especies. Esto justifica la diferencia del valor de las constantes de unión de estos complejos con respecto a la de la especie $[\text{Cu}(\text{neo})_2]^{2+}$. Para el complejo **7N** el valor de constante de unión es mayor que para el resto de los complejos de esta familia, la alta disociación del complejo, más la presencia de otras especies en solución puede justificar este comportamiento.

Los complejos **16BI**, **17BI** y **18BI** tienen valores de magnitud de las constantes de unión mayor que la especie mayoritaria del correspondiente complejo Cu-diimina, $[\text{Cu}(\text{bipy})]^{2+}$ ($2,6 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$), lo cual es lo esperado debido a que para estos complejos la especie mayoritaria en solución es el complejo ternario. Como se fundamentó anteriormente la presencia del ligando fenilcarboxílico y la presencia de dos ligandos bipy, hacen que estos complejos tengan mayor magnitud de constante de unión que para el complejo $[\text{CuCl}_2(\text{bipy})]$. La misma situación se encuentra en los complejos **19D**, **20D**, y **21D** todos poseen mayor valor de magnitud de constante de unión que la especie $[\text{Cu}(\text{dmb})]^{2+}$ ($1,1 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$) debido a que en solución su especie mayoritaria también es la especie ternaria, con excepción del complejo **21D** para el cual no se pudo determinar su especie mayoritaria. Sin embargo, en ambas familias se observa que los complejos que en estado sólido se encuentran en forma de dímeros, el valor de constante de unión es mayor que para los complejos que se presentan en forma de monómeros, esto se justifica porque la especie dímera puede seguir formada en menor proporción lo que hace que la unión sea mayor al ADN por la presencia de un mayor número de anillos aromáticos. Esta última observación se hace presente en todas las familias de complejos.

En conclusión, se observa que los complejos que se presentan en forma de dímero en estado sólido que su especie mayoritaria en solución es el complejo ternario, presentan un mayor valor de constante de unión al ADN, que los complejos que se presentan en forma de monómeros.

Tanto como con los espectros electrónicos como con los valores de constantes de unión obtenidos para los complejos, se asocian a un modo de interacción de unión por los surcos o de intercalación parcial al ADN. Para profundizar sobre esta conclusión se realizaron otros estudios del modo de interacción que sirven para confirmar este comportamiento observado.

6.2.2 ESTUDIO DEL MODO DE INTERACCIÓN MEDIANTE DICROÍSMO.

6.2.2.1. Complejos heterolépticos.

Se estudió mediante dicroísmo circular los cambios conformacionales que se producen en el ADN por medio del agregado de los complejos a una solución de ADN. Se decidió realizar para los complejos sintetizados con phen, 4metil-phen y neo debido a que entre estos complejos ya existe una variedad de diferentes situaciones para estudiar a nivel de especies mayoritarias presentes en solución. Los espectros registrados se pueden observar en la Figura 6.0.2.

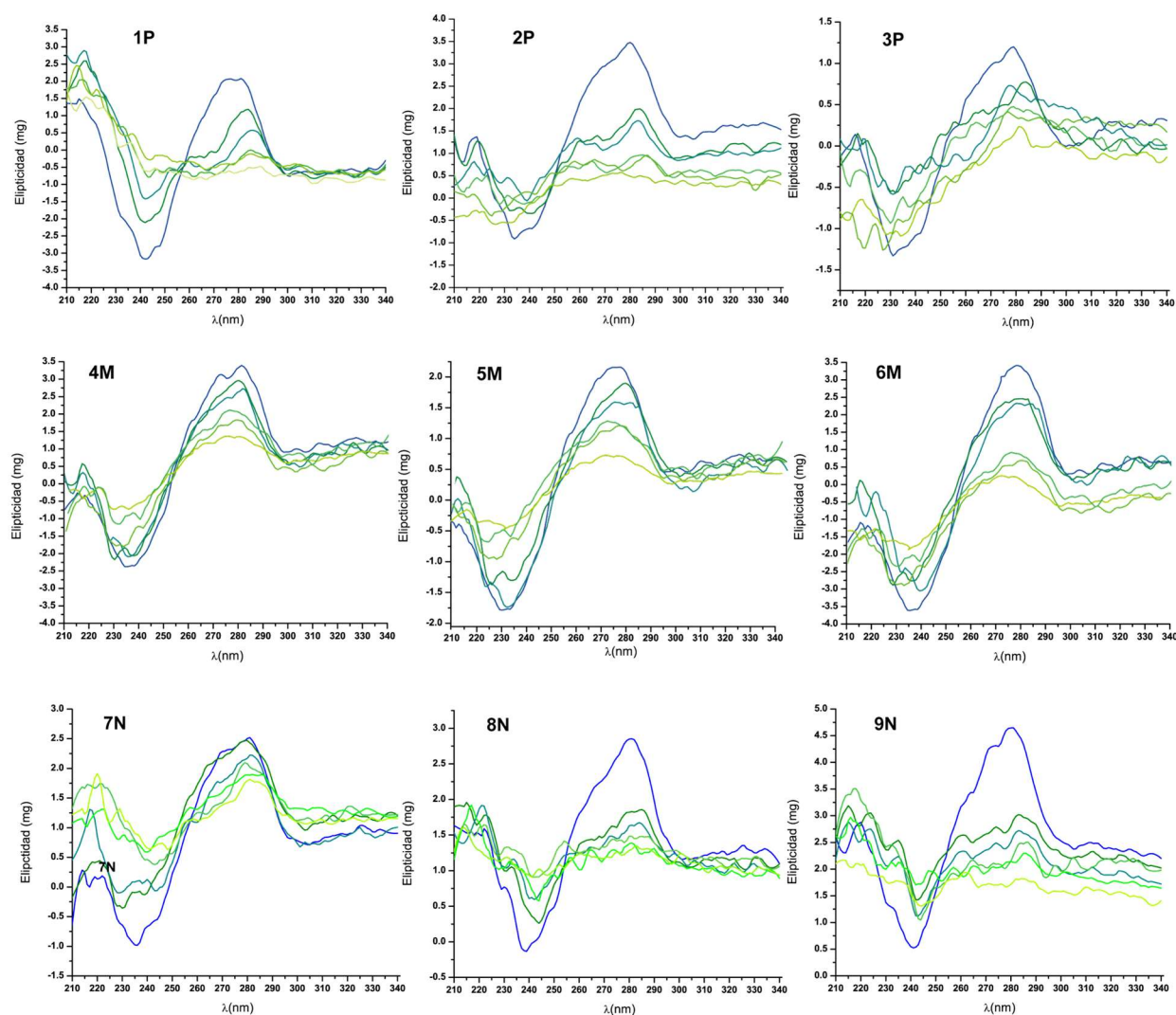


Figura 6.0.2. Espectros de dicroísmo circular obtenidos para los complejos heterolépticos de cobre. En azul se encuentra el espectro para el ADN. A medida que el color verde se hace más claro, aumenta el agregado de complejo.

El espectro de dicroísmo circular para ADN en conformación B (conformación en la que se encuentra el ADN de timo de ternera) consiste en una banda positiva alrededor de 275 nm

correspondiente al apilamiento de bases y una banda negativa alrededor de 245 nm debido a la helipticidad. Cuando se da la interacción por los surcos o electrostática de una pequeña molécula con ADN, estas bandas muestran o no pequeñas perturbaciones en su intensidad, mientras que los compuestos intercaladores ocasionan una intensificación de ambas bandas [191–193].

En todos los espectros se puede observar que existe un mismo comportamiento de los complejos en el modo de interacción con el ADN. Se observa que la intensidad de la banda negativa alrededor de 245 nm aumenta y la intensidad de la banda positiva alrededor de 275 nm va decayendo a medida que aumenta la cantidad de agregado del complejo, lo cual sugiere un desenrollamiento de la doble hélice, llegando a casi desaparecer por completo la propiedad óptica del ADN. Este tipo de comportamientos se asocia a un modo de interacción de unión por los surcos del ADN de los complejos. A su vez, esto también sugiere un cambio en la conformación del ADN pasando de la forma B a la forma Z. Este tipo de comportamiento ya se ha visto en complejos previamente reportados por el grupo como es el caso del complejo $[\text{Cu}(\text{ala-phe})(\text{neo})] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ [49], asimismo como en otros trabajos con complejos de estructura similar a los complejos estudiados en este trabajo como lo son $[\text{Cu}(\text{diclofenac})_2(\text{phen})]$ y $[\text{Cu}(\text{di}(2\text{-picolil})\text{amina})(\text{phen})](\text{ClO}_4)_2$, donde además de presentar indicios de un modo de interacción por medio de unión a los surcos del ADN no descartan la intercalación parcial de los complejos a pesar del cambio de conformación del ADN observado por la modificación del espectro por el agregado de los complejos [191,194–196]

En trabajos previo del grupo, se estudió el modo de interacción de los complejos Cu-diimina por dicroísmo circular, de forma de observar si el modo de interacción varia por la presencia de los ligandos fenilcarboxílico se pueden los comportamientos observados para cada una de las familias de complejos heterolépticos y el complejo Cu-diimina correspondiente, siempre teniendo en cuenta que las relaciones molares ($[\text{complejo}]/[\text{ADN}]$) usadas para esto difieren de las usadas en este trabajo.

Para el caso de la especie $[\text{Cu}(\text{phen})]^{2+}$ se observó que en su espectro la intensidad de las bandas de 245 y 275 nm aumenta con el agregado de los complejos. Es esperable que para los complejo **1P** y **3P** el comportamiento difiera, debido a que la especie mayoritaria para el complejo **1P** en solución no se asemeja a la especie $[\text{Cu}(\text{phen})]^{2+}$ y para el complejo **3P** no se descarta la presencia de mezclas de especies en solución. Sin embargo, el complejo **2P** si presentan la misma especie mayoritaria en solución que el complejo $[\text{CuCl}_2(\text{phen})]$ el espectro obtenido no posee el comportamiento esperado, al igual como se mencionó previamente, la presencia del ligando **L2**, si bien no presenta unión al ADN, no deja de estar presente en solución en su forma libre o formando el complejo homolépticos. Además de la diferencia de las relaciones molares, la coexistencia de diferentes especies en solución influye en el comportamiento de los complejos con el ADN.

Para los complejos **4M**, **5M** y **6M** la especie mayoritaria determinada para cada uno de ellos en solución mantiene unido la diimina y el fenilcarboxilato, por lo que es esperado que el comportamiento observado en el dicroísmo circular para estos complejos difiera del de la especie $[\text{Cu}(4\text{met-phen})]^{2+}$, para la cual se observó que al aumentar su concentración en la solución con

ADN, la intensidad de las bandas de 245 y 275 nm aumentaron con el agregado. Si bien, los ligandos fenilcarboxílicos no se observó unión al ADN, en los complejos homolépticos se evidenció que al unirse al Cu(II) si comienzan a presentar unión al ADN. Por lo que se puede justificar la diferencia del comportamiento de los complejos heterolépticos con respecto a la especie $[\text{Cu}(\text{4met-phen})]^{2+}$.

Para los complejos sintetizados con neo, el comportamiento de los espectros obtenidos para los tres complejos se asemeja los obtenidos para la especie $[\text{Cu}(\text{neo})_2]^{2+}$. Sin embargo, se puede ver que en los complejos **7N**, **8N** y **9N** la pérdida de la propiedad óptica del ADN se ve más marcada que en el espectro de la especie $[\text{Cu}(\text{neo})_2]^{2+}$. Para los tres complejos se determinó que coexiste en los tres casos la especie $[\text{Cu}(\text{neo})_2]^{2+}$ con una de Cu(I), si bien existen escasos estudios de la interacción de compuestos de cobre (I) con el ADN, habitualmente estos compuestos se ha reportado que causan daño al ADN mediante generación de especies reactivas de oxígeno [197,198]. La coexistencia de esta especie puede justificar que la pérdida de propiedad óptica para estos complejos se vea más marcada con respecto a la observada en la especie $[\text{Cu}(\text{neo})_2]^{2+}$.

El modo de interacción de los complejos con el ADN puede modificarse a medida que varía la relación molar entre ellos. Entre los estudios de determinación de la constante de unión al ADN y los estudios de modo de interacción por dicroísmo circular las relaciones molares $[\text{complejo}]/[\text{ADN}]$ se mantuvieron en ordenes similares, por lo que podemos decir que las observaciones experimentales en los dos estudios se complementan. En este caso no se observó una diferencia entre las especies que se presentan como dímero en estado sólido, y las que se presentaron como monómero como se discutió en las constantes de unión, el comportamiento para la mayoría de los complejos fue similar entre sí, ajustándose más a una interacción por unión a los surcos del ADN.

6.2.3 ESTUDIOS DEL MODO DE INTERACCIÓN POR VARIACIÓN DE VISCOSIDAD.

6.2.3.1. Complejos homolépticos.

Se realizó el estudio de variación de la viscosidad del ADN con agregados de los complejos homolépticos, de manera de determinar el modo de interacción de estos con el ADN a partir de la variación del perfil de la viscosidad. Los perfiles obtenidos para los complejos homolépticos se presentan en la Figura 6.0.3.

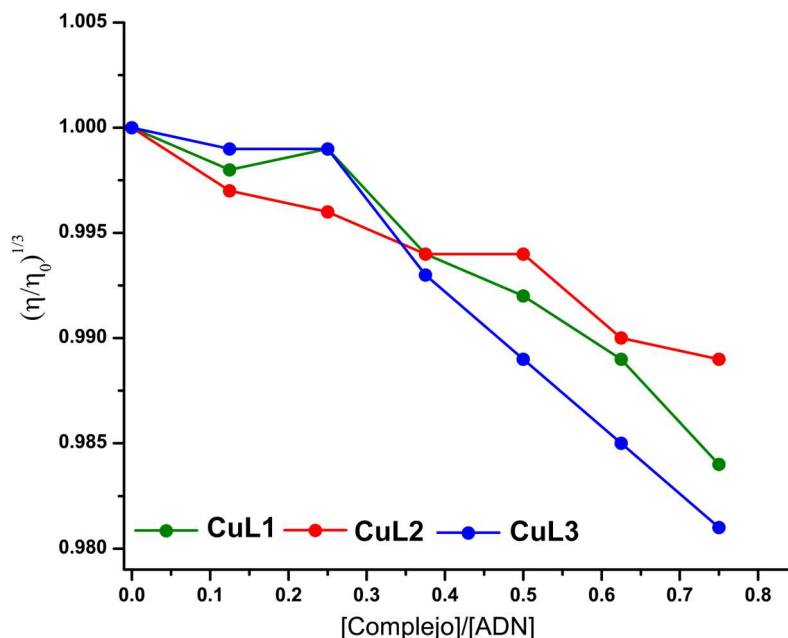


Figura 6.0.3. Perfiles de variación de viscosidad del ADN por agregado de los complejos homolépticos de Cu(II).

Los perfiles observados para los complejos van de la mano con los valores de constante unión obtenidas para los complejos. En los perfiles obtenidos para los complejos homolépticos muestran que, al aumentar la concentración de estos en presencia del ADN, la viscosidad relativa de este disminuye. Este comportamiento se ha visto para complejos que interactúan por los surcos del ADN como es el caso de los complejos $[\text{Cu}(\text{NN})(\text{batho})]$ [191], los cuales presentaron un perfil similar a los observados a los presentados en la Figura 6.0.3. Asimismo, además de observarse diferencia en los valores de constante de unión con los complejos $[\text{Cu}_2(\text{nitrofenilacetato})_4(\text{H}_2\text{O})_2]$ y $[\text{Cu}_2(\text{fenilbutanoato})_4]_n$ [155,160], también se observa una diferencia en los perfiles de variación de viscosidad relativa, donde para los complejos citados la viscosidad del ADN aumenta en presencia de los mismos.

6.2.3.2 Complejos heterolépticos.

El estudio por medio de variación de viscosidad relativa del ADN se realizó con los mismos complejos a los que se le hizo estudio por dicroísmo circular, de manera de profundizar en los resultados obtenidos entre los dos estudios previamente discutidos. La viscosidad del ADN es altamente sensible a cambios en la longitud del ADN. El estudio del modo de interacción por la variación de la viscosidad del ADN está considerado uno de los más confiables en cuanto a la interacción de pequeñas moléculas en solución.

En la Figura 6.0.4 se presentan los perfiles de variación de viscosidad para los complejos correspondientes a este trabajo, así como los perfiles del ligando diiminico libre, y de la especie Cu-diimina correspondiente en cada caso.

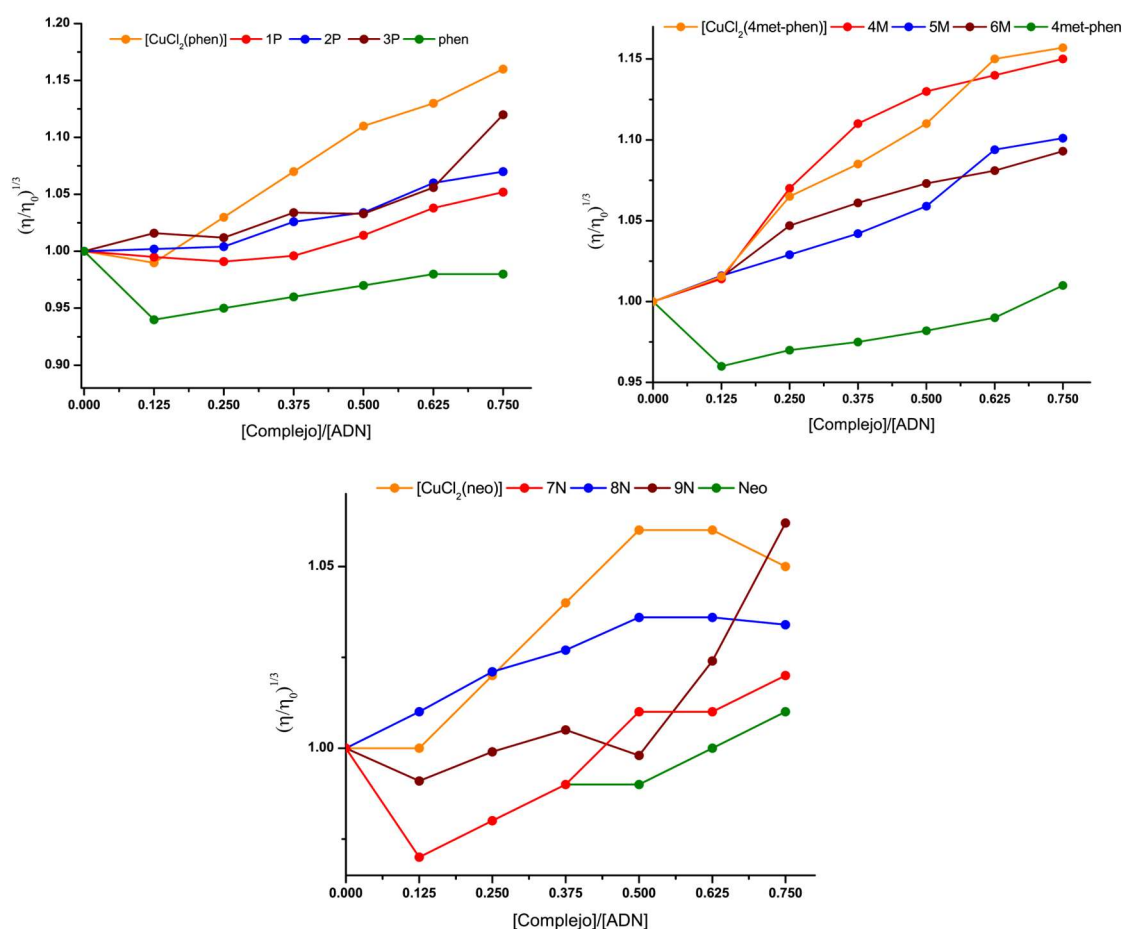


Figura 6.0.4. Perfiles de variación de viscosidad relativa del ADN por agregado de los complejos heterolépticos, los complejos Cu-diimina, y el ligando diiminico correspondiente a cada familia.

En estudios de otros grupos podemos observar que en complejos con esferas de coordinación semejantes a la de los complejos estudiados en este trabajo, como el complejo $[Cu(diclofenac)_2(phen)]$, obtuvieron perfiles de viscosidad similares en compuestos que

determinaron que eran intercaladores parciales y con un valor de constante de unión al ADN del mismo orden que los mencionados previamente para los complejos de este trabajo [191].

Para los complejos de phen, podemos ver que en el perfil de la diimina libre hay una pequeña disminución de la viscosidad en la relación $[\text{complejo}]/[\text{ADN}]$ de 0,125. Este comportamiento (que también es observado en las otras diiminas libres) se asocia a modos de interacción que produzcan torceduras o que se doblen las hélices de los pares de base, efecto que se puede observar en moléculas que intercalan parcialmente o intercaladores no clásicos al ADN como lo es el complejo $\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$ [199,200]. Sin embargo, al aumentar las relaciones molares el perfil cambia, la viscosidad parece ir en aumento, por lo que se puede decir que a medida que se agrega phen al ADN en un punto este satura todas las posiciones para el modo de interacción a 0,125 y para relaciones mayores el modo de interacción comienza a ser otro.

En el complejo $[\text{CuCl}_2(\text{phen})]$ se observa que su perfil va aumentando a medida que la relación molar aumenta también, lo que significa que el complejo aumenta la viscosidad del ADN, esto puede asociarse a un modo de interacción de intercalación del complejo en el ADN. Si bien el perfil se asemeja al de un intercalador al ADN, la pendiente del perfil no (0,27), la cual se aproxima a la estimada para compuestos que intercalan parcialmente o son intercaladores no clásicos al ADN [201]. El bromuro de etidio, que es un intercalador clásico, posee una pendiente de aproximadamente 1 [118], por lo que esto va de la mano con el modo de interacción de intercalación parcial y de unión por los surcos al ADN determinado para este compuesto por medio de estudios de EPR de fibra [13].

Para el complejo **2P** para el cual en solución la especie mayoritaria es la misma que para el complejo $[\text{CuCl}_2(\text{phen})]$, si bien el perfil no es exactamente igual, se puede observar una tendencia de ir en aumento la viscosidad a medida que se aumenta la relación molar $[\text{complejo}]/[\text{ADN}]$. Mismo comportamiento se observa para el complejo **3P**, que en solución puede haber una mezcla de especies, a partir de la relación molar de 0,625 el comportamiento pareciera modificarse, lo que podría significar que el modo de interacción al aumentar el agregado de complejo comienza a ser diferente. Sin embargo, la pendiente para estos dos perfiles está muy próxima a 0,1 lo cual representa un menor crecimiento en la viscosidad del ADN en presencia de estos complejos. Este valor de pendiente en estudios de EPR de fibra para complejos Cu-3,4,7,8-tetrametil-1,10-fenantrolina, los cuales poseen un modo de interacción por unión a los surcos del ADN [13]. Mismo caso podemos observar por el complejo **1P**, a pesar de que la especie mayoritaria en solución para este complejo no es la misma que para los otros dos complejos, la pendiente del perfil de variación de viscosidad para este complejo es exactamente 0,1. Por lo tanto, para estos complejos se confirma que el modo de interacción es de unión por los surcos a las relaciones molares usadas para este estudio. Sin embargo, a medida que las relaciones molares se hacen mayores el modo de interacción pasa a ser otro por la presencia de mayor cantidad de complejo en la solución.

En estudios de otros autores observaron que la variación de la viscosidad del ADN aumentaba a medida que el ligando diiminico estaba más sustituido por grupos metilos [202]. Según esta premisa, los complejos sintetizados con 4metil-phen y neo, deberían aumentar la viscosidad del ADN en mayor medida que la de los complejos de phen. Este efecto no fue observado en nuestros complejos. Al igual que para los complejos de phen, los complejos **5M** y **6M** poseen un valor de pendiente próximos a 0,1. Si bien, su perfil parece ir aumentando a medida que aumenta la relación molar, no es un aumento muy marcado, incluso la viscosidad relativa de los complejos (η/η_0) es menor que la observada para los complejos de phen. Por lo que para estos complejos también se puede decir que para las relaciones molares estudiadas el modo de interacción con el ADN es de unión por los surcos. Sin embargo, para el complejo **4M** la pendiente tiene un valor de 0,24 el cual se aproxima a valores para compuestos que intercalan parcialmente o son intercaladores no clásicos al ADN [201]. Esto podría significar que el complejo a las relaciones molares estudiadas el modo de interacción se diferencia de los otros dos complejos estudiados de la misma familia, este complejo fue estudiado en DMSO y los otros dos complejos en solución acuosa, por lo que la diferencia de comportamientos puede justificarse.

Finalmente, en los complejos de neo se puede observar que el comportamiento del perfil de variación de viscosidad, tanto como para el complejo $[\text{CuCl}_2(\text{neo})]$ como para los complejos **7N**, **8N** y **9N**, no es de aumento de la viscosidad a medida que aumenta la relación molar $[\text{complejo}]/[\text{ADN}]$. En el perfil del complejo $[\text{CuCl}_2(\text{neo})]$ se ve un aumento del perfil hasta la relación molar de 0,50, a partir de esta relación se ve una tendencia a decaer la viscosidad del ADN, lo cual puede deberse a que el modo de interacción cambia.

En cierta medida, se observa el mismo comportamiento del complejo $[\text{CuCl}_2(\text{neo})]$ para **8N**, pero de manera menos marcada. Mientras que para los complejos **7N** y **9N** a partir de la relación molar de 0,5 se empieza a observar un comportamiento diferente al que presentan a relaciones molares menores. Lo cual se puede adjudicar a una variación del modo de interacción del complejo con el ADN. Estas variaciones del modo de interacción se pueden deber a la presencia de la especie reducida de Cu(I) que coexiste en los tres complejos. Las pendientes obtenidas para los 3 complejos son próximas a 0,1 por lo que se les puede adjudicar un modo de interacción por unión a los surcos del ADN.

6.2.4 CONCLUSIONES.

Los complejos se unen al ADN de las siguientes formas:

Los complejos **homolépticos** con los ácidos fenilcarboxílicos interactúan por los surcos del ADN, de acuerdo con el orden de magnitud de su K_b y los estudios de variación de viscosidad.

Los complejos **heterolépticos** se unen mayoritariamente por los surcos del ADN, de acuerdo con el orden que presentan sus K_b , las modificaciones de sus espectros de DC y los estudios de variación de viscosidad. El complejo **4M** es el único que parece intercalar significativamente al ADN.

6.3 INTERACCIÓN CON ADN DE LOS COMPLEJOS DE Ga(III).

6.3.1 CONSTANTES DE UNIÓN.

Para los complejos análogos a los de cobre, **Ga1**, **Ga2** y **Ga3** se les determinó las constantes de unión al ADN por medio del método espectrofotométrico en soluciones de DMSO. En la siguiente tabla se puede observar los valores obtenidos para cada uno de los complejos:

Tabla 6.0.6. Constantes de unión al ADN obtenidas para los complejos homolépticos.

Código	Complejo	$K_b \times 10^3 (M^{-1})$
Ga1	$[Ga(Gly-Val)_2(NO_3)] \cdot 18H_2O$	3,3
Ga2	$[Ga(Gly-Phe)_2(NO_3)] \cdot 2H_2O$	4,6
Ga3	$[Ga_2(Ala-Phe)_2(NO_3)_2(OH)_2] \cdot 0,5H_2O$	4,0

La constante de unión de los complejos de Ga(III) se encuentran en un orden de 1×10^3 . Si comparamos estos complejos con otros complejos de Ga(III) encontrados en la bibliografía se observan valores más altos de constante de unión que los obtenidos para los complejos en este trabajo, entre $10^4 - 10^5$ [203–207]. Para estos complejos, si bien, la constante de unión al ADN se encuentra a valores para moléculas que son intercaladores parciales al ADN, para todos ellos llegaron a la conclusión que el modo de interacción de los complejos al ADN es de unión por los surcos. Los complejos encontrados en la bibliografía son estructuralmente muy diferentes a los estudiados en este trabajo, la mayoría poseen un mayor número de anillos aromáticos que favorecen la intercalación de los complejos al ADN. No existen muchos antecedentes de estudio de interacción con ADN de complejos de galio como los presentados en este trabajo. Sin embargo, si se observa una mayor unión de los complejos de galio con respecto a sus análogos de cobre en su constante de unión.

Es importante mencionar que, al igual que para los complejos de cobre, las relaciones molares $[complejo]/[ADN]$ a las que se realizan los estudios también es importante para la comparación de los modos de interacción con el ADN. Por lo que es posible que los valores de constante de unión de los complejos encontrados en la bibliografía con los estudiados en este trabajo sean diferentes. Para profundizar en este comportamiento se realizaron estudios de modo de interacción por medio de dicroísmo circular.

6.3.2 ESTUDIOS DEL MODO DE INTERACCIÓN POR VARIACIÓN DE VISCOSIDAD.

Se realizó de forma complementaria el estudio de la variación de la viscosidad del ADN por agregado de complejos, para confirmar el modo de interacción de los complejos con el ADN.

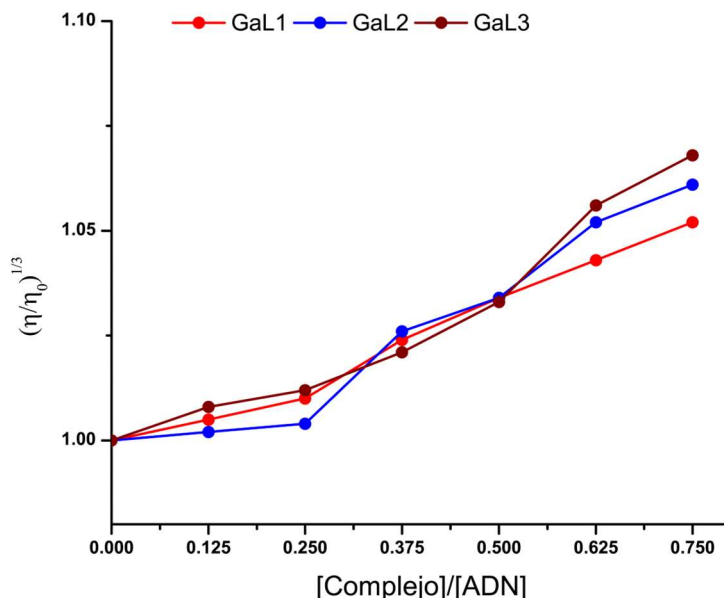


Figura 6.0.5. Perfiles de variación de viscosidad relativa del ADN por agregado de los complejos homolépticos de Ga(III).

En la Figura 6.0.5, se observa el perfil de viscosidad de cada uno de los complejos homolépticos de Ga(III) donde a medida que aumenta la concentración de complejo presente en solución pareciera que la viscosidad del ADN aumenta también. El perfil obtenido para cada uno de los complejos se asemejan a los observados por Leitao y colaboradores, en complejo de Ga(III) con hidrazonas [208].

Este comportamiento, como se mencionó previamente, se da para compuestos que intercalan al ADN. Sin embargo, la pendiente de cada uno de los perfiles de viscosidad de cada uno de los complejos se aproxima a 0,1. Por lo tanto, para estos complejos se confirma que el modo de interacción es de unión por los surcos a las relaciones molares usadas para este estudio. Lo cual complementa con lo observado previamente para los complejos.

6.2.3 CONCLUSIONES.

Los complejos de Ga(III) se unen al ADN mediante unión a los surcos. Esto se evidencia por las constantes de unión obtenidas y los perfiles de variación de viscosidad relativa del ADN por agregado de complejos

6.4 INTERACCIÓN CON MODELOS DE MEMBRANAS LIPÍDICAS DE LOS COMPLEJOS HETEROLÉPTICOS DE Cu(II).

6.4.1 ESTUDIOS DE INTERACCIÓN POR MEDIO DE CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC).

El estudio de interacción con modelos de membranas se realizó, al igual que los estudios de interacción con ADN, para los complejos sintetizados a partir de phen, neo y 4met-phen. Se obtuvieron los termogramas para cada uno de los complejos, y el complejo Cu-diimina correspondiente en presencia de una mezcla de membranas de DPPC/DPPS, los cuales se pueden observar en las Figuras 6.0.6, 6.0.7 y 6.0.8.

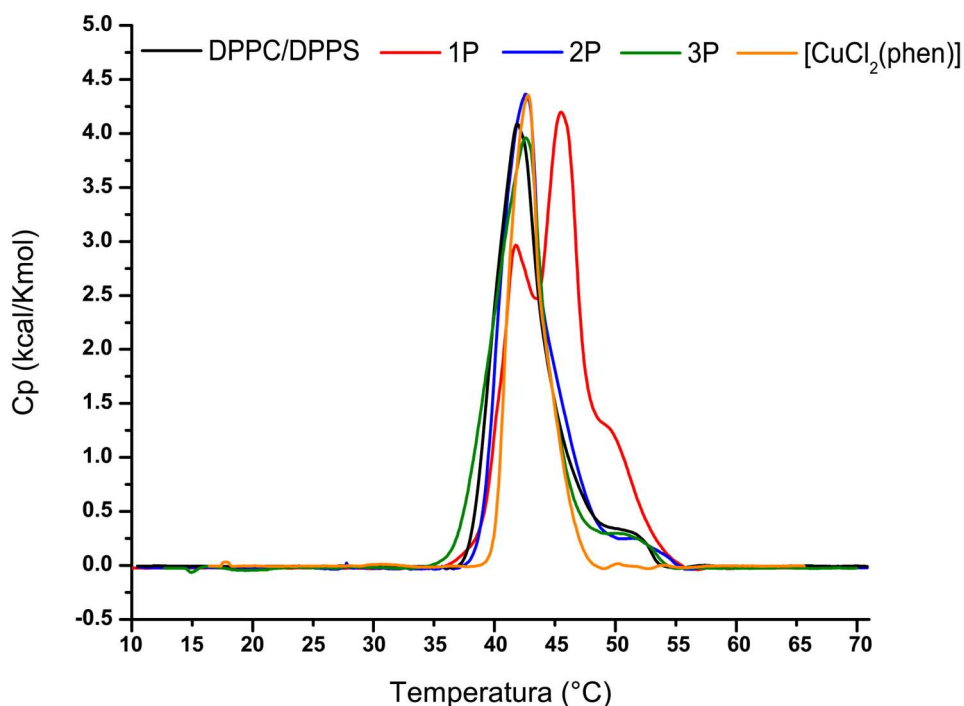


Figura 6.0.6. Termogramas de DSC del modelo de membrana DPPC/DPPS en presencia de los complejos **1P**, **2P** y **3P**.

En la Figura 6.0.6, se muestra los termogramas para los modelos de membrana con la presencia de los complejos heterolépticos con phen y del complejo [CuCl₂(phen)], además del termograma control de la membrana libre. En este último, identificamos un pico asociado a la transición de fase gel a la fase fluida de los fosfolípidos que ocurre aproximadamente a 42 °C. En cada uno de los complejos se observa una modificación del perfil observado para la membrana libre, lo que indica que existe una interacción de los complejos con la misma. En cada uno de los termogramas de los complejos heterolépticos se observa un perfil distinto de termograma, es decir, cada uno puede estar interactuando de forma distinta con la membrana. El caso donde se observó una variación más extrema fue en presencia del complejo **1P** que indujo el apareamiento de dos nuevos picos (uno de ellos en forma de “hombro” entre las temperaturas 47 y 50°C). El resto de los

complejos, con excepción de $[\text{CuCl}_2(\text{phen})]$, indujeron la aparición de un pico en forma de hombro alrededor de 50°C . En la Tabla 6.0.7, se presentan la temperatura de transición registrada y el valor de ΔH para cada uno de los complejos y de la membrana libre.

Tabla 6.0.7. Temperatura de transición (T_t) y variación de la entalpía asociada a la transición gel-fluido de los lípidos de la membrana en presencia cada uno de los complejos y la membrana libre.

	DPPC/DPPS	1P	2P	3P	$[\text{CuCl}_2(\text{phen})]$
$T_t (^\circ\text{C})$	42,8	42,4 46,9	41,9	41,2	41,9
$\Delta H \text{ (kcal/mol)}$	8,84	6,20	7,65	7,50	7,62

Como se muestra en la Tabla 6.0.7, existe variaciones en la temperatura de transición y de ΔH en todos los casos, pero de diferentes magnitudes, esto es evidencia de que existe interacción de los complejos con la membrana a diferentes niveles para cada complejo. En el caso del complejo **2P** la variación de la temperatura de transición y de ΔH fue igual a la del complejo $[\text{CuCl}_2(\text{phen})]$, este comportamiento era el esperado, debido a que en solución los dos complejos presentan la misma especie mayoritaria. Estos valores van de la mano con el perfil del termograma obtenido para cada uno de los complejos, como se observa en la Figura 6.0.6, ambos termogramas se superponen en el gráfico por la similitud de los comportamientos. Los valores de temperatura de transición y de ΔH del complejo **3P** muestran una mayor variación con respecto a los observados para el complejo **2P**, esto puede deberse a que los complejos interactúan de manera diferente por la diferencia estructural de la especie mayoritaria en solución, marcada por la presencia del ligando **L3** en la estructura del complejo **3P**. Para el complejo **1P**, se observa un comportamiento distinto a los mostrados por los otros dos complejos. En este caso se observa la presencia de dos picos de temperatura para el termograma del complejo, una por debajo ($42,4^\circ\text{C}$) y otra mayor ($46,9^\circ\text{C}$) del valor registrado para la membrana DPPC/DPPS, además de un pico alrededor de 50°C . La presencia de nuevos picos indica la formación de nuevos dominios lipídicos en la membrana causado por la presencia de los complejos. Este comportamiento diferente al observado para los otros complejos es justificado por la diferencia de la estructura de la especie mayoritaria del complejo en solución con respecto a la de los complejos **2P** y **3P**.

El perfil observado para el complejo **1P** puede deberse a una interacción del complejo con un dominio particular de la membrana, por encima del otro. Schultz y colaboradores, por medio de espectros infrarrojos determinaron la coexistencia de agregados en su forma libre de DPPC y DPPS, como de agregados unidos a otra molécula en la mezcla de la membrana DPPC/DPPS y a su vez, que las moléculas de DPPC tienen un punto de fusión, en la mezcla, menor que el del DPPS [209]. Por lo que la diferencia de intensidad de los picos en el termograma del complejo **1P** puede deberse a una mayor presencia de la membrana DPPC/DPPS en su forma unida al complejo **1P** con respecto a la forma libre de la membrana DPPC/DPPS. Así como también la interacción con uno de los dos lípidos presente en la membrana, lo cual causa la intensificación o disminución de

uno de los picos. A partir de este estudio no se puede definir cuál de los dos es la interacción que se da para este complejo.

Asimismo, en trabajo de interacción de moléculas con la membrana DPPC/DPPS o de otras membranas, observaron que cuando se da una penetración de la molécula a la membrana la temperatura de transición de la membrana disminuye y la entalpia de transición aumenta, como fue lo reportado por Barroso y colaboradores en la interacción de amodiaquina con el mismo modelo de membrana [124,210]. Si bien, la temperatura de transición del modelo de membrana disminuye en presencia de los complejos, la entalpia de transición también disminuye en presencia de los complejos, por lo que puede significar que no exista penetración de los complejos a la membrana DPPC/DPPS y el modo de interacción sea otro.

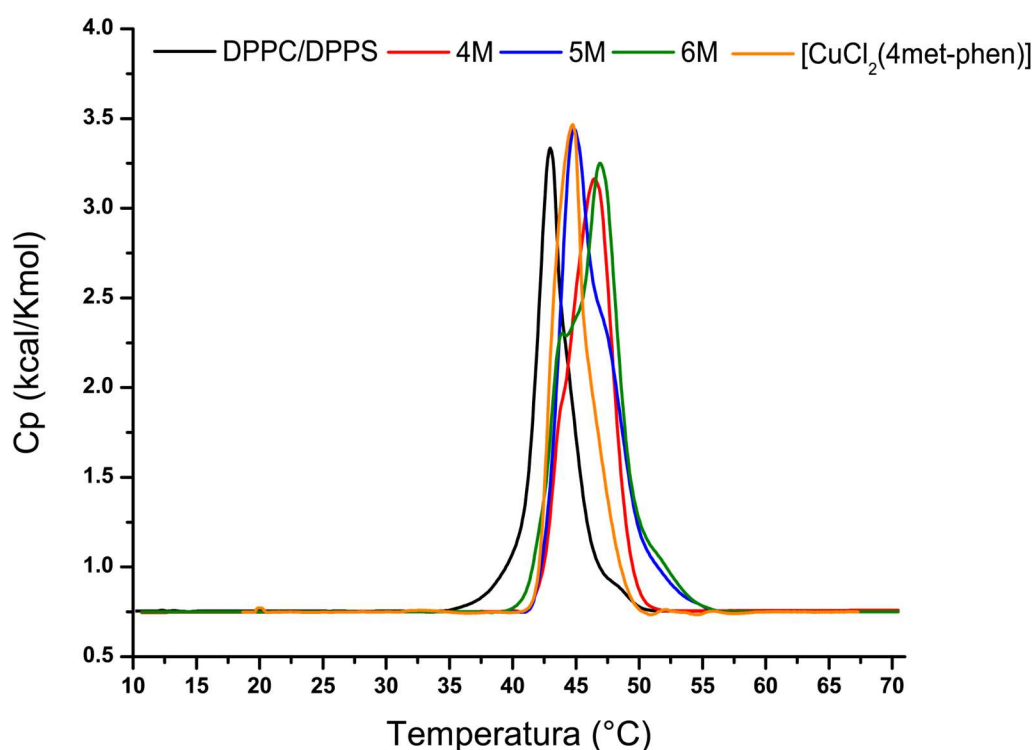


Figura 6.0.7. Termogramas de DSC del modelo de membrana DPPC/DPPS en presencia de los complejos **4M**, **5M** y **6M**.

Al igual como se observó para los complejos de phen, los complejos 4met-phen también causan una modificación del perfil de la membrana DPPC/DPPS, confirmando la interacción de estos con la membrana. En la Figura 6.0.7, se observa en los termogramas un claro corrimiento de la temperatura de transición a mayores temperaturas en todos los complejos. En el caso de los complejos **5M** y **6M** presentan dos picos en los termogramas. En presencia del complejo **5M** se observa un pico en forma de “hombro” cerca de 50°C de poca intensidad, que coincide con el pico de mayor intensidad en presencia del complejo **6M**. Y en presencia del complejo **6M** se observa también un pico en forma de “hombro” de poca intensidad que coincide con el de mayor intensidad

en presencia del complejo **5M**. En presencia del complejo **4M** el comportamiento es distinto en comparación de lo discutido previamente, para este se observa solo la presencia de un pico en el termograma. Estos comportamientos pueden indicar que la interacción de los complejos con el modelo de membrana es diferente para cada uno. En la Tabla 6.0.8 se muestran los valores de temperatura y variación de la entalpía de transición para cada uno de los complejos en presencia de la membrana DPPC/DPPS.

Tabla 6.0.8. Temperatura de transición (T_t) y variación de la entalpía asociada a la transición gel-fluido de los lípidos de la membrana en presencia cada uno de los complejos y la membrana libre.

	DPPC/DPPS	4M	5M	6M	[CuCl ₂ (4met-phen)]
T_t (°C)	42,8	45,9	44,2 46,8	43,8 46,4	44,1
ΔH (kcal/mol)	8,84	7,75	6,05	6,10	6,62

El comportamiento observado en presencia de los complejos **5M** y **6M** se evidencia por la presencia de dos valores de temperatura de transición, ambos valores se encuentran muy por encima del de la membrana DPPC/DPPS, al igual que el observado en la presencia del complejo **4M**. Mientras que los valores de entalpía de transición se encuentran por debajo de la observada para la membrana libre. Todos los valores de temperatura y entalpía de transición para los complejos difieren de los observados para el complejo [CuCl₂(4met-phen)], que se puede justificar debido a la diferencia que existe entre las especies mayoritarias para los complejos.

A diferencia de los complejos de phen, el comportamiento observado para estos complejos es distinto debido a que la temperatura de transición aumenta en vez de bajar. Este comportamiento fue observado por Çetinel y colaboradores en la interacción de miltefosina con el lípido DPPC, donde concluyeron que estos corrimientos a temperatura mayores se dan por la presencia de un mayor porcentaje de moléculas de DPPC en su forma rica de miltefosina [211]. Por lo que es posible que a la concentración usada para la interacción de los complejos con la membrana DPPC/DPPS, la mayoría de las moléculas presentes de la membrana se encuentren en su forma unida a los complejos, lo que tiene como consecuencia el aumento de la temperatura de transición. Mientras el valor de ΔH disminuye con respecto a la observada para la membrana, al igual como se mencionó previamente esto puede significar que el complejo no penetra la membrana, pudiendo ser una interacción superficial del complejo con la misma, en todos los casos.

En la Figura 6.0.8 se muestran los termogramas para los modelos de membrana en presencia de los complejos de la familia de neo, se puede observar que en presencia de los complejos **7N**, **8N** y **9N** modifican el perfil observado para la membrana DPPC/DPPS lo que confirma que existe la interacción de los complejos con la membrana. Así como también estos perfiles son distintos entre sí, lo cual va de acuerdo con las especies mayoritarias para cada uno son diferentes y el tipo de interacción con la membrana DPPC/DPPS puede ser distinto para cada uno de ellos.

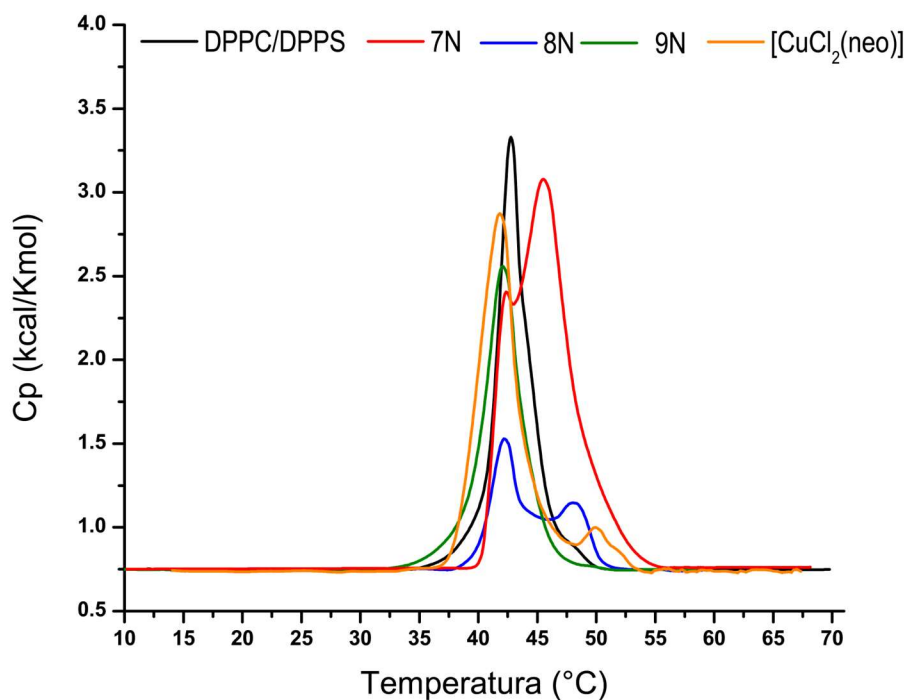


Figura 6.0.8. Termogramas de DSC del modelo de membrana DPPC/DPPS en presencia de los complejos 7N, 8N y 9N.

En la Tabla 6.0.9 se presentan los valores de temperatura y entalpía de transición para cada uno de los complejos heterolépticos y del complejo $[\text{CuCl}_2(\text{neo})]$.

Tabla 6.0.9. Temperatura de transición (T_t) y variación de la entalpía asociada a la transición gel-fluido de los lípidos de la membrana en presencia cada uno de los complejos y la membrana libre.

	DPPC/DPPS	7N	8N	9N	$[\text{CuCl}_2(\text{neo})]$
Tt (°C)	42,8	43,1 46,6	42,2 48,3	42,1	41,2
ΔH (kcal/mol)	8,84	6,15	4,21	7,89	7,75

La variación de los valores presentados en la Tabla 6.0.9 van de la mano con los perfiles obtenidos para cada uno de los complejos donde se evidencia una diferencia entre cada uno de ellos. En el caso del complejo 7N, el perfil observado para este es similar al encontrado para el complejo 1P, para el cual se discutió la posibilidad de que dicha diferencia sea por la presencia de una mayor concentración de moléculas de la membrana DPPC/DPPS unidas al complejo o por la interacción del complejo con uno de los dos lípidos presente en la membrana. Para el caso del complejo 7N, se encontró evidencia en solución la coexistencia de la especie de Cu(I) $[\text{Cu}(\text{neo})_2]^+$ y de Cu(II) $[\text{Cu}(\text{neo})_2]^{2+}$, lo que puede estar ocasionando la interacción de cada uno de las especies con los diferentes lípidos en la membrana. El aumento de la temperatura de transición mostrado en ambos picos, como se discutió previamente, es evidencia de la presencia de una mayor concentración de la forma de la membrana DPPC/DPPS unida al complejo, al ser dos especies distintas en solución

puede darse la presencia de dos agregados de la membrana unido cada uno a las especies $[\text{Cu}(\text{neo})_2]^+$ y $[\text{Cu}(\text{neo})_2]^{2+}$.

En el caso del complejo **8N** se observa también la presencia de dos picos como en el complejo **7N**, al igual que para el complejo previamente discutido se da la coexistencia de la especie $[\text{Cu}(\text{neo})_2]^+$ y $[\text{Cu}(\text{L2})(\text{neo})]^+$ en solución, por lo que en ambos complejos se podría estar dando la misma situación. Sin embargo, en el termograma del complejo **8N** solo una de las temperaturas de transición está por encima de la observada para la membrana y el otro se encuentra por debajo, así como la intensidad de estos se ve muy disminuida con respecto al resto de los complejos, así como el valor de ΔH , por lo que el tipo de interacción sea distinta. En el trabajo realizado por Freddi en interacción de compuestos de Cu(II) con el lípido DPPC, observó una disminución de la intensidad del pico de la membrana y un corrimiento a menores temperaturas donde se concluyó que el tipo de interacción pueda darse por el grupo localizado en la cabeza polar del lípido [212,213].

Finalmente, el complejo **9N** se observa una disminución de la temperatura y la entalpía de transición, por lo que la penetración del complejo a la membrana puede descartarse [124,210]. El tipo de interacción puede darse de forma superficial con la membrana, pero en este experimento no se puede concluir con certeza que este sea el modo de interacción.

6.4.2 ESTUDIOS DE INTERACCIÓN POR MEDIO DE EPR.

Se midieron los espectros de EPR de los complejos en presencia de la membrana DPPC/DPPS, de forma complementaria de los estudios de calorimetría discutidos previamente. De manera de evidenciar un cambio en el entorno del centro metálico, se presentan los espectros de EPR de los complejos en solución y luego en presencia de la membrana a temperatura ambiente. Las soluciones fueron preparadas de la misma forma usada para el estudio de calorimetría, como se describió en el capítulo de material y métodos.

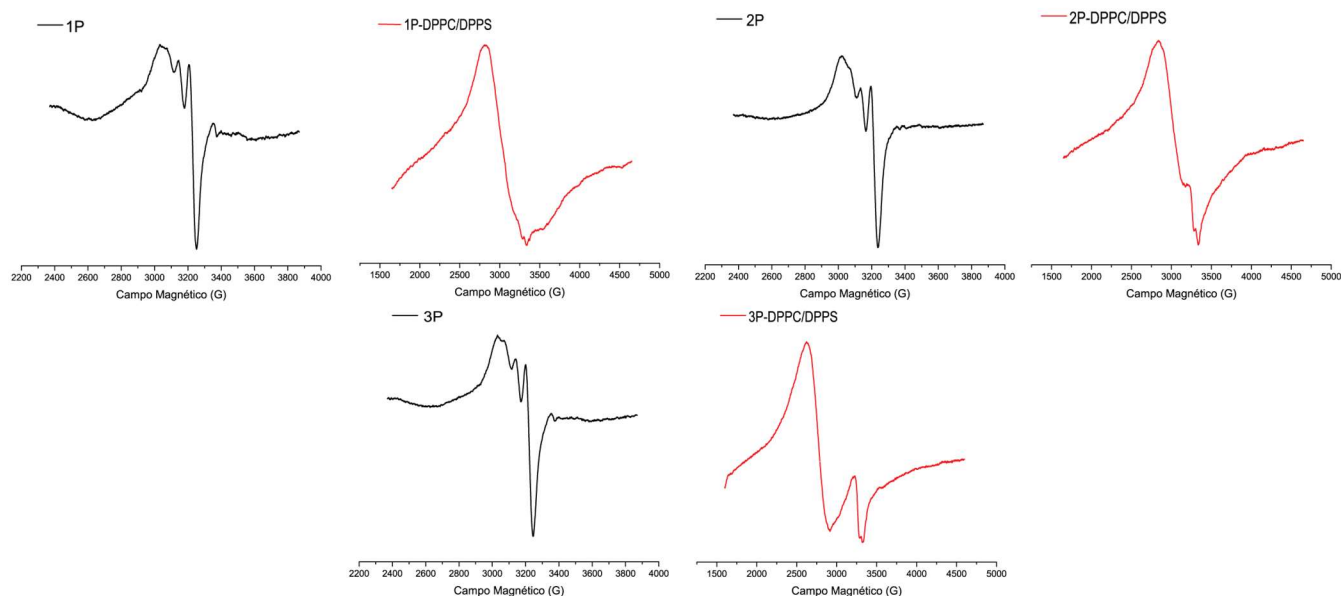


Figura 6.0.9. Espectros EPR de los complejos **1P**, **2P** y **3P** en solución y en presencia de la membrana DPPC/DPPS a temperatura ambiente.

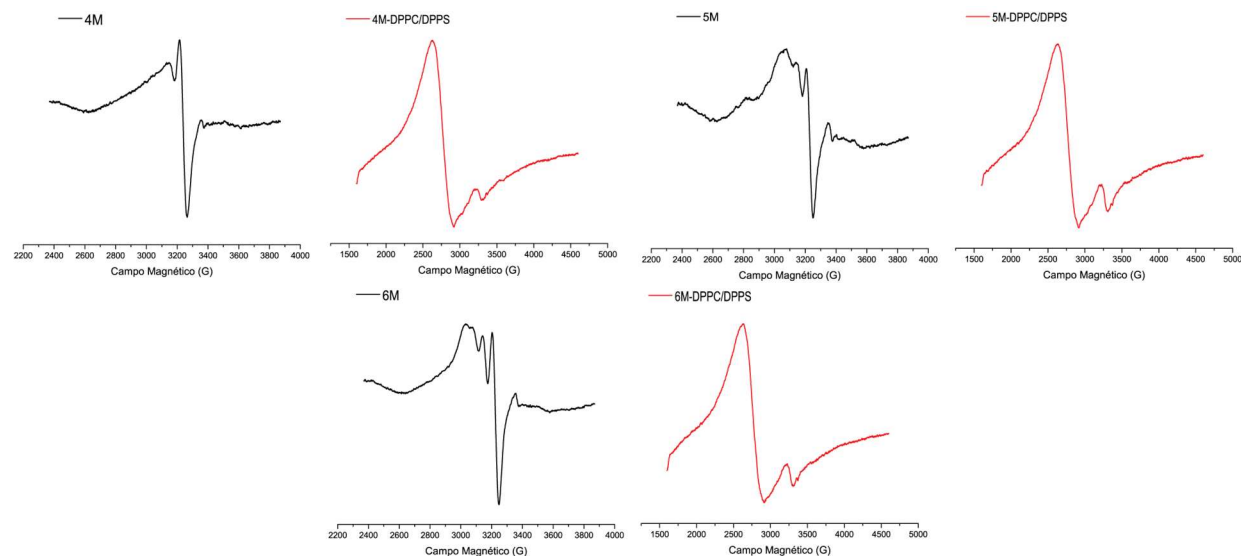


Figura 6.1.0. Espectros EPR de los complejos **4M**, **5M** y **6M** en solución y en presencia de la membrana DPPC/DPPS a temperatura ambiente.

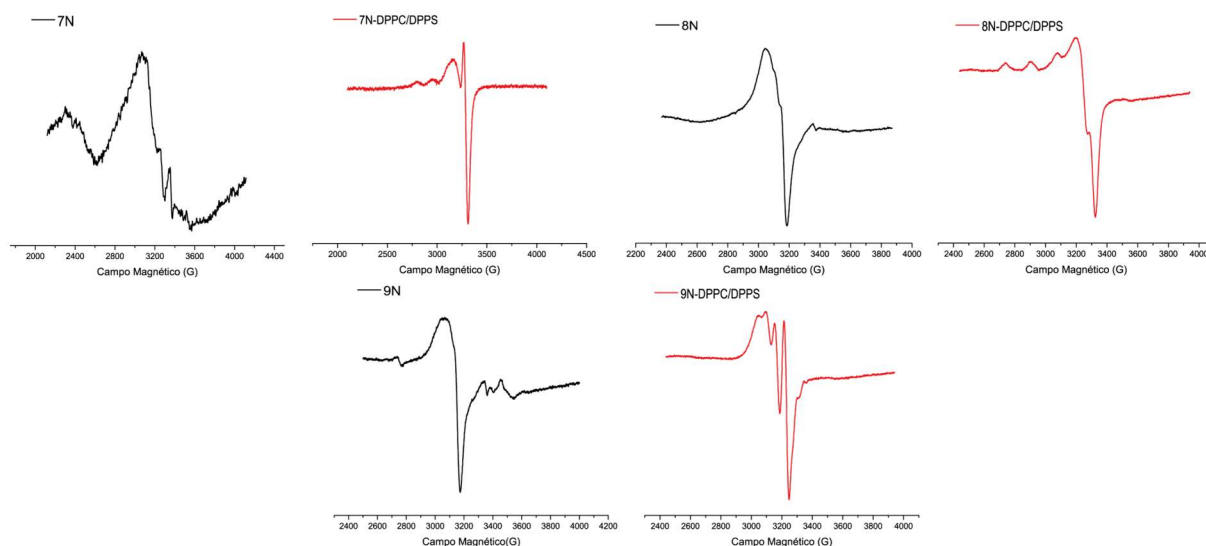


Figura 6.1.1. Espectros EPR de los complejos **7N**, **8N** y **9N** en solución y en presencia de la membrana DPPC/DPPS a temperatura ambiente.

En las Figuras 6.0.9, 6.1.0 y 6.1.1 se presentan los espectros EPR de los complejos heterolépticos en solución y en presencia de la membrana DPPC/DPPS a temperatura ambiente. Si comparamos los espectros de los complejos en solución y en presencia de la membrana, se observa un cambio evidente en la forma del espectro para cada uno de los complejos. Los espectros de los complejos **1P**, **2P**, **3P**, **4M**, **5M** y **6M** en solución a temperatura ambiente presentan un espectro anisotrópico con simetría axial esperado para complejos de Cu(II) [214,215], mientras que en presencia de la membrana este perfil se ve modificado con el desaparecimiento de la estructura hiperfina característica de Cu(II). Este comportamiento da indicio de un cambio en el entorno de coordinación del centro metálico, lo cual puede significar la posible unión del complejo a la membrana con formación de “clusters” conteniendo Cu(II), lo que explicaría la ausencia de las líneas hiperfinas. Esto puede deberse a la unión de los complejos a los agregados de membrana DPPC/DPPS, debido a como se observó en los estudios de calorimetría, no se evidencia una penetración de los complejos en la membrana por lo que la interacción puede darse por unión superficial del complejo a la membrana. Si bien, se puede confirmar una unión de los complejos a la membrana, no se puede diferenciar a que región de la membrana los complejos se están uniendo.

En la Figura 6.1.1 se observa que el comportamiento de los complejos **7N**, **8N** y **9N** es diferente en comparación al de los complejos previamente mencionados. Se observa que el perfil de los espectros EPR en presencia de la membrana lleva a los complejos a un estado monomérico con diferentes grados de movilidad del Cu(II), se observa un perfil donde se observan las 4 líneas correspondientes al acoplamiento hiperfino para complejos de Cu(II) [88]. En el complejo **9N** se observa movilidad del Cu(II), mientras que en el caso de los complejos **7N** y **8N**, se observa que el espectro EPR para cada uno de ellos en presencia de la membrana se asemejan más a los observados para los complejos en solución congelada, siendo el complejo **8N** para el que se observan menos grados de movilidad del Cu(II). Esto puede indicar que la unión del complejo al

modelo de membrana DPPC/DPPS es tan fuerte que los complejos quedan rígidamente unidos a la misma, lo que logró simular un comportamiento a bajas temperaturas.

6.4.3 ESTUDIOS DE INTERACCIÓN POR MEDIO DE EPR CON MARCADORES DE ESPÍN.

De forma de complementar los estudios previos, se realizaron estudios de interacción por EPR usando fosfolípidos conteniendo marcadores de espín, lo que permite estudiar la interacción complejo-membrana desde el punto de vista de los fosfolípidos. Este estudio se realizó buscando indicios de en qué región se está dando la unión de los complejos con la membrana DPPC/DPPS. Para esto se usaron dos marcadores: 14-PC (posición 14 del lípido) y DOPTC (cabeza del lípido). El estudio se realizó solo con el complejo **8N**, debido a que tanto como en el estudio de calorimetría y en el espectro EPR en presencia de la membrana, mostró un comportamiento diferente a los vistos para los otros complejos.

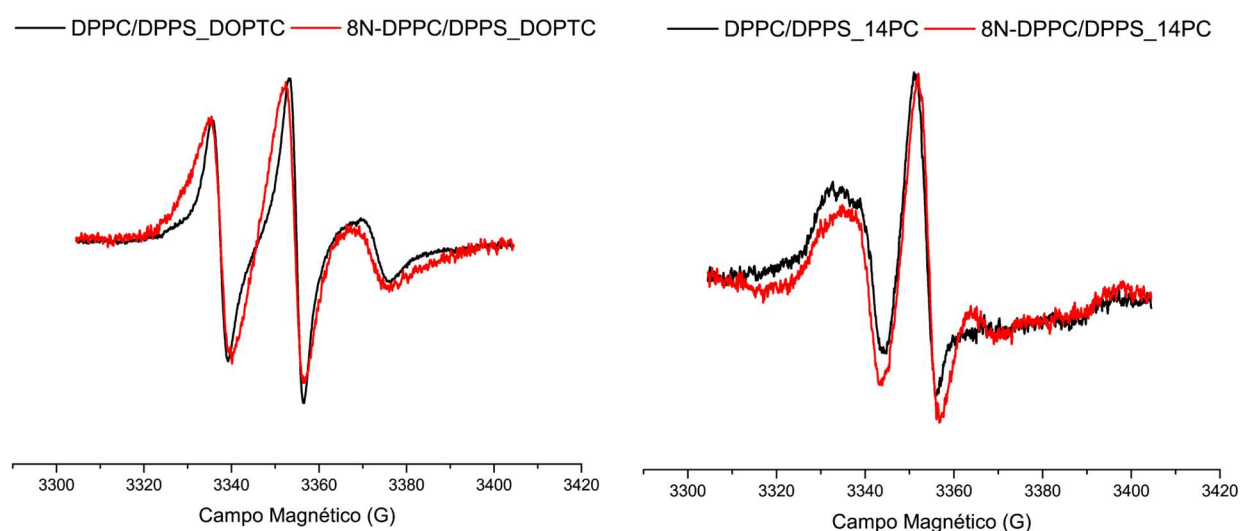


Figura 6.1.2. Espectros EPR de las membranas DPPC/DPPS marcada con DOPTC y 14-PC en presencia del complejo **8N** a temperatura ambiente.

En la Figura 6.1.2 se muestra los espectros EPR de las membranas con los marcadores DOPTC y 14-PC, en ambos casos se puede observar una modificación del perfil de los espectros muy fuerte. Al ser muy fuerte la modificación en presencia de ambos marcadores, no se puede distinguir si la interacción del complejo con la membrana se da por la cabeza, la cola o por la cadena alifática, debido a que al interactuar por una de las dos regiones la otra se puede estar viendo afectada debido a que su entorno se ve alterado por la presencia del complejo en regiones cercanas, esto causando también una modificación del espectro EPR registrado. En ambos casos, las modificaciones observadas en los espectros EPR sugieren una disminución en la movilidad de la sonda de espín, teniendo como consecuencia un alargamiento de líneas (DOPTC) o de la resolución característica de campo alto (14-PC). En el caso de DOPTC el alargamiento observado puede ser debido a la formación de “clusters” de fosfolípidos como consecuencia de la fuerte inmovilización sufrida por el complejo en presencia de la membrana (Fig. 6.1.1). Esto también explicaría el apareamiento de un pico a mayores temperaturas en el termograma de DSC de la membrana en presencia del complejo **8N** (Fig. 6.0.8).

De manera de buscar un indicio que permita identificar la afinidad del complejo **8N** por alguna de las regiones de la membrana DPPC/DPPS otros experimentos con diferentes composiciones de membrana fueron llevados a cabo con los marcadores DOPTC y 14-PC.

Uno de los primeros estudios que se realizó fue el de cambiar la composición de las membranas de manera de determinar si existe una afinidad por una de las regiones de la membrana DPPC/DPPS. Primeramente, se cambió la membrana por la composición POPC/POPS, en este caso se mantienen la cabeza polar de los lípidos como en la membrana DPPC/DPPS, pero se modifica la cadena carbónica por PO (palmitoil-oleil) que son cadenas conteniendo una insaturación. Y como segundo experimento, se modificó por una composición DPPC/DPPG donde la cabeza polar del lípido PG (fosfoglicerol) posee misma carga que la PS (fosfo-L-serina), pero con la diferencia de la presencia de un grupo amino en el segundo.

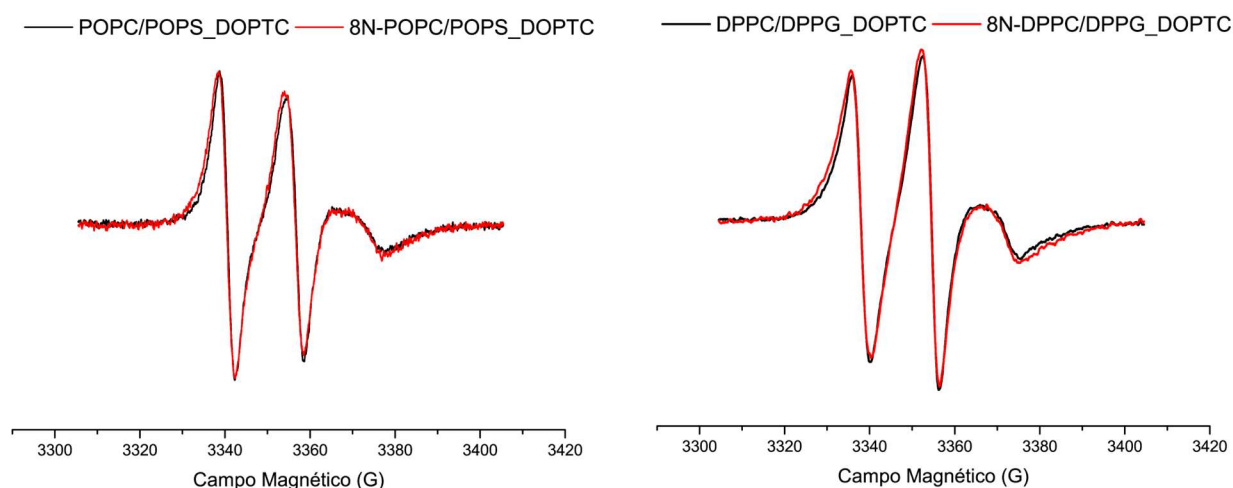


Figura 6.1.3. Espectros EPR de las membranas POPC/POPS y DPPC/DPPG marcada con DOPTC en presencia del complejo **8N** a temperatura ambiente.

En ambos casos se hizo uso de los dos marcadores, 14-PC y DOPTC. En la Figura 6.1.3 se muestran solo los espectros con el marcador DOPTC en presencia del complejo **8N** debido a que con el marcador 14-PC no se observó ninguna modificación del perfil del espectro EPR en ambas composiciones de membrana. Si bien existe una modificación de los espectros observados en la Figura 6.1.3, si los comparamos con los observados en la membrana DPPC/DPPS son modificaciones muy leves, por lo que no existe el mismo nivel de afinidad del complejo **8N** con estas nuevas composiciones de membranas.

Sin embargo, este estudio nos ayuda a identificar que la afinidad del complejo **8N** con la membrana, puede darse tanto por la carga o como la composición de la cabeza polar PS de la membrana. Debido a que al usar una membrana como la POPC/POPS se observa una modificación del perfil por la interacción del complejo, así como también cuando se realiza con una membrana con una carga similar como lo es la membrana DPPC/DPPG.

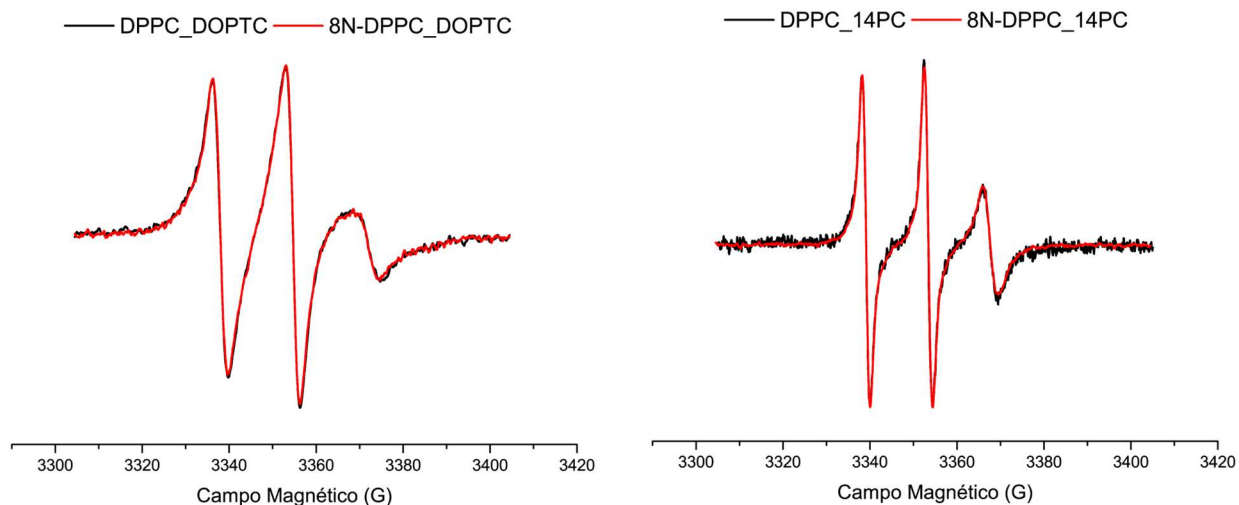


Figura 6.1.4. Espectros EPR de las membranas DPPC marcada con DOPTC y 14PC en presencia del complejo **8N** a temperatura ambiente.

En la Figura 6.1.4, se observan los espectros EPR del lípido DPPC en presencia del complejo **8N** con los marcadores DOPTC y 14-PC. En el estudio previo se observaron indicios que la afinidad del complejo con la membrana DPPC/DPPS podría darse por la composición o carga de la cabeza porlar PS de la membrana, una forma de descartar o confirmar esta teoría fue realizando el mismo estudio con el lípido DPPC. Como se observa en los espectros, tanto en presencia del marcador DOPTC como con el marcador 14-PC los espectros no presentan ningún tipo de modificación. Esta observación ayuda confirmar la teoría previamente discutida, donde la afinidad del complejo **8N** con la membrana DPPC/DPPS viene dada por la presencia del lípido DPPS en su composición.

Si bien, es posible que esta interacción se esté dando por la cabeza polar PS de la membrana, es posible que la modificación del perfil del espectro EPR del marcador 14-PC en la membrana DPPC/DPPS (Fig. 6.1.2), este siendo influenciado por la presencia del complejo en su entorno. Para confirmar esta teoría se realizaron modificaciones de la membrana de forma de complicar más su composición y aproximarla a su composición real a nivel biológico [216], así de esta manera la cadena alifática del lípido DPPS estaría, estéricamente, más alejada del complejo **8N**. Por lo que la modificación del espectro del marcador 14-PC debería hacerse menor en comparación a la observada en la Figura 6.1.2.

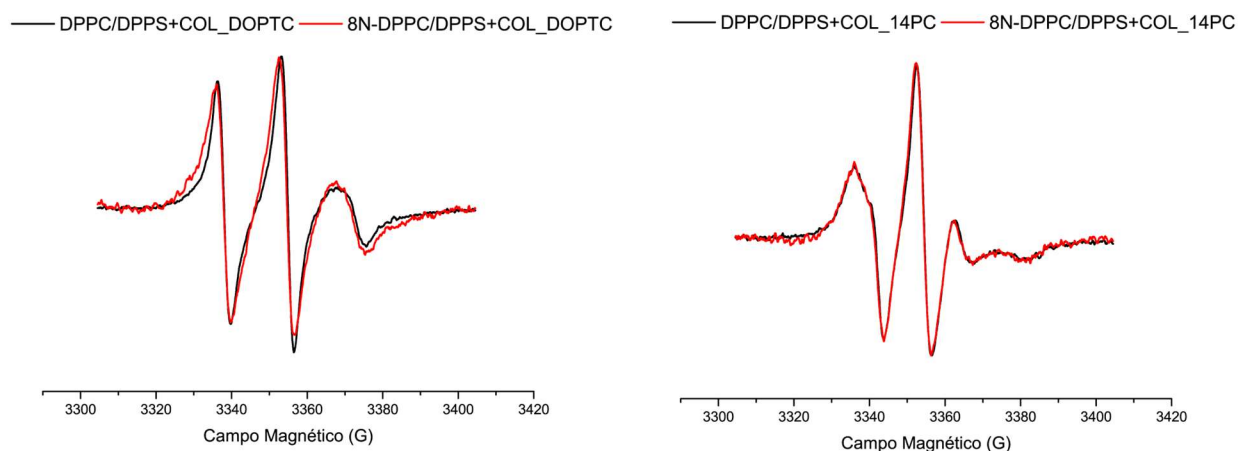


Figura 6.1.5. Espectros EPR de las membranas DPPC/DPPS+Colesterol marcada con DOPTC y 14PC en presencia del complejo **8N** a temperatura ambiente.

Esta primera composición se realizó a partir de: 26% colesterol, 37% DPPC y 37% DPPS, la cual se midió usando DOPTC y 14PC como marcadores a temperatura ambiente. Los espectros obtenidos se presentan en la Figura 6.1.5. Se puede observar que el perfil del espectro del marcador 14-PC prácticamente no se modifica en presencia del complejo **8N**, sin embargo, al usar el marcador DOPTC se sigue observando una modificación en el espectro. Estos comportamientos observados en ambos espectros van con lo propuesto previamente. Al aumentar la complejidad de la membrana usada el centro de unión de esta con el complejo, en este caso la cabeza polar PS, se ve más alejado de la cadena alifática de la membrana y el entorno de esta no se ve afectado por la presencia del complejo **8N**, lo que se traduce a una no modificación del espectro al marcar el carbono en la posición 14.

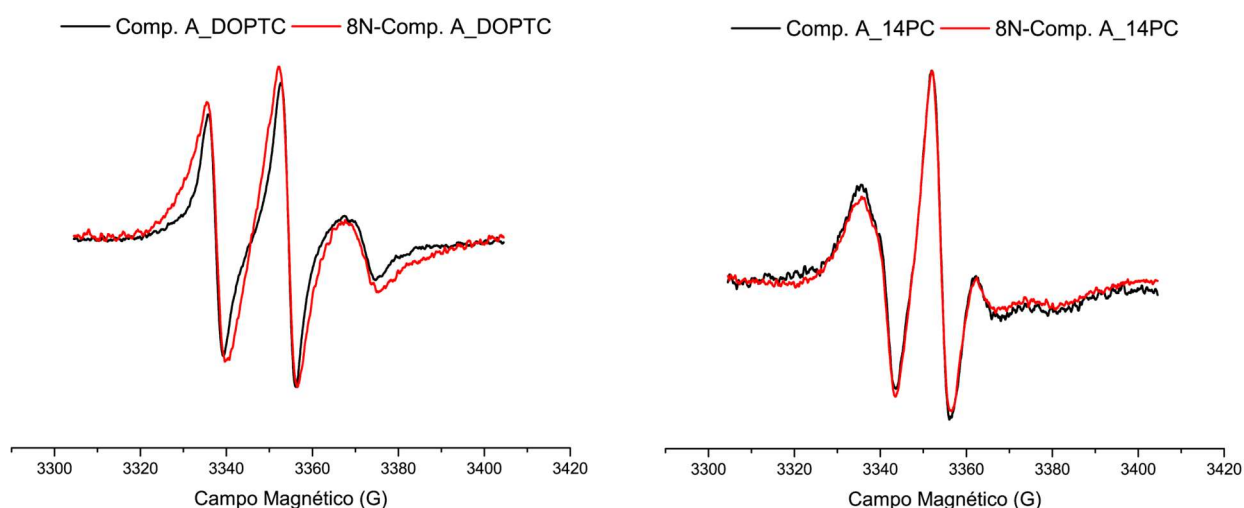


Figura 6.1.6. Espectros EPR de la Composición A marcada con DOPTC y 14PC en presencia del complejo **8N**.

Por último, se hizo otra mezcla de la membrana DPPC/DPPS usando colesterol y esfingomielina, de forma de complicar más la composición de la membrana. Con una composición 25% colesterol,

15% esfingomielina, 30% DPPC y 30% DPPS (Composición A). Los espectros obtenidos con los marcadores DOPTC y 14PC en presencia del complejo **8N** a temperatura ambiente, se pueden observar en la Figura 6.1.6. Si bien, existe una muy leve modificación del perfil del espectro del marcador 14-PC, la modificación en el espectro DOPTC en presencia del complejo sigue siendo muy fuerte a pesar de la complejidad de la composición de la membrana. Esto confirma la fuerte interacción del complejo observada en los estudios por calorimetría y por EPR. A su vez, termina de confirmar la interacción del complejo con la cabeza PS de la membrana.

En suma, se puede concluir que el complejo **8N** posee una fuerte afinidad por la cabeza PS de la membrana, y que esta interacción no es por cargas, se sigue observando un alargamiento de las líneas del EPR del DOPTC, que sugiere la formación de “clusters” de los fosfolípidos con el complejo **8N**. Así como también, la mayoría de las interacciones fuertes se observaron con el marcador DOPTC, de lo que se puede concluir que las interacciones están sucediendo en la cabeza de los lípidos. Si observamos la estructura de la membrana DPPS, se encuentra un carboxilato que en uno de sus oxígenos se encuentra una carga negativa [49], la afinidad de Cu(II) por el oxígeno puede estar ocasionando la preferencia del complejo por este tipo de lípido.

Estas conclusiones ayudan a explicar el comportamiento observado en el termograma obtenido para la membrana en presencia del complejo **8N** (Fig. 6.1.1). Como se había mencionado, en la bibliografía se encontró que en la mezcla DPPC/DPPS, el lípido DPPS posee un punto de fusión mayor que el del DPPC [38], y en el caso de la presencia del complejo **8N** el pico correspondiente a la temperatura del DPPS se ve disminuido en comparación del correspondiente al DPPC. Esto puede dar indicios de la preferencia del complejo **8N** a unirse por lípido DPPS a la membrana. Mientras que en el caso de los complejos **1P**, **6M** y **7N** donde se observan también dos picos, siendo el de menor intensidad el correspondiente al lípido DPPC, no se puede dar total seguridad que los complejos estén prefiriendo la unión a la membrana solo por este lípido. Es posible que en el caso de estos complejos se esté dando la unión de los complejos a la membrana por ambos lípidos, y exista mayor proporción de una de las dos situaciones por lo que permite observar una leve división de las temperaturas de transición en los termogramas. Mientras que en los complejos que no vemos esta división en el termograma obtenido, puede ser debido a que la unión por uno de los dos lípidos que conforman la membrana es mucho mayor en proporción con respecto a la otra. La afinidad observada en el complejo **8N** por la cabeza polar PS de la membrana, puede dar indicios que el resto de los complejos pueden preferir esta también al momento de unirse a la membrana y en alguno de ellos se presenta en mayor proporción.

6.4.4 CONCLUSIONES.

Los complejos interactúan con la membrana por unión superficial de los complejos con la membrana.

En los espectros EPR de los complejos en presencia de la membrana, se observó que para los complejos de neo se obtuvieron perfiles para complejos de Cu(II) con menor grado de movilidad con respecto al resto de complejos.

Se observó una preferencia del complejo **8N** por la membrana DPPC/DPPS, asociada a la presencia de la carga negativa en el carboxilato presente en la cabeza polar PS.

CAPÍTULO 7: ACTIVIDAD CITOTÓXICA *IN VITRO*

7.1 Complejos de Cu(II).

7.1.1 Complejos homolépticos.

En la Tabla 7.0.1, se presenta los valores de IC₅₀ para los complejos homolépticos y los ligandos fenilcarboxílicos usados para la síntesis de los complejos. Se prepararon las soluciones en DMSO de los complejos inmediatamente al momento de realizar las medidas biológicas.

Tabla 7.0.1. Actividad citotóxica expresada como IC₅₀ a 48 h en cultivos de líneas celulares tumorales y no tumorales de los complejos homolépticos de Cu(II).

Citotoxicidad, IC ₅₀ (μM±SD)					
Compuesto	MDA-MB-231	MCF-7	A549	A278cis	MRC-5
L1	>100	>100	>100	>100	>100
CuL1	>50	>50	>50	26,80 ± 4,50	>50
L2	>100	>100	>100	>100	>100
CuL2	>50	20,20±0,78	>50	13,50 ± 0,57	>50
L3	>100	>100	>100	>100	>100
CuL3	>50	>50	>50	7,85 ± 0,86	>50
Cisplatino	12,43 ± 0,20	8,91±2,60	14,40 ± 1,40	26,90 ± 0,60	29,10 ± 0,78

Los ligandos libres no presentan actividad citotóxica (a las concentraciones estudiadas), tanto en las líneas celulares tumorales y no tumorales. Los complejos homolépticos, presentan mayor actividad citotóxica, incluso pudiéndose determinar valores de IC₅₀ para todos en la línea cancerígena A278cis, y en la línea cancerígena MCF-7 en el caso del complejo **CuL2**.

Este comportamiento es el esperado para complejos conteniendo como centro metálico Cu(II), debido a que este metal posee actividad citotóxica *per se* [217] y nuestro objetivo era trasladar esta actividad a los complejos. En comparación con los valores reportados para el Cisplatino, los cuales también se encuentran en la Tabla 7.0.1, en la línea cancerígena MCF-7 el complejo **CuL2** presenta citotoxicidad, pero menor a la obtenida para el Cisplatino. En las líneas celulares tumorales MDA-MB-231 y A549, el Cisplatino presenta mayor actividad que los complejos homolépticos.

Los complejos son buenos agentes citotóxicos frente a la línea A278cis, de acuerdo con la clasificación de Santini y colaboradores [5], mientras que en las otras líneas estudiadas son poco activos. Tanto como **CuL2** y **CuL3** son más tóxicos que el Cisplatino para la línea celular mencionada y a su vez son menos tóxicos que el Cisplatino en la línea celular no tumoral estudiada, lo que genera interés en estudiar la actividad de estos complejos en otras líneas celulares tumorales, incluyendo las que presentan resistencia al Cisplatino. El complejo más activo es el **CuL3**, seguido por el **CuL2** y finalmente **CuL1**. Esto puede relacionarse con la lipofilia de los complejos, ya que el complejo más lipofílico es el más citotóxico. No se observa relación directa con las constantes de unión al ADN (kb).

Comparando los resultados obtenidos de IC₅₀ de los complejos homolépticos con otros complejos, como lo son [Cu(ala-phe)] y [Cu(phe-ala)] para los cuales se obtuvieron valores de IC₅₀ para las líneas celulares MDA-MB-231 y MCF-7, con valores de 165 y 125 M respectivamente para cada uno de los complejos [218], donde se observa que el complejo **CuL2** presenta mayor actividad en la línea MCF-7. Comparando con otros complejos homolépticos de Cu(II) sintetizados a partir de ácidos carboxílicos, se observa que los complejos [Cu(salicilato)₂(H₂O)] y [Cu(3,5-diisopropilsalicilato)₂(H₂O)] [219] presentan, a 96 h de incubación, menor actividad que el complejo **CuL2** en la línea celular MCF-7 (IC₅₀ 100 y 78 µM, respectivamente). Mismo comportamiento se observa para el complejo [Cu(nalidixiato)₂(H₂O)] [220], este complejo a 48 h de cultivo presenta un valor de IC₅₀ de 200 M, por encima el determinado para el complejo **CuL2**. Sin embargo, al estudiar el complejo [Cu(salicilato)₂(H₂O)] en la línea tumoral de pulmón A549 [221], este complejo presenta mayor actividad en esta línea que nuestros complejos homolépticos. El complejo [Cu(salicilato)₂(H₂O)] también fue estudiado en la línea tumoral de colon HT29, resistente al Cisplatino, para los cuales el complejo no presentó actividad ante esta línea a las concentraciones estudiadas [219].

7.1.2 Complejos heterolépticos.

Los valores de citotoxicidad para los complejos se presentan en la Tabla 7.0.2. Al igual que para los complejos homolépticos, se prepararon soluciones acuosas o en DMSO, según solubilidad, de los complejos inmediatamente al momento de realizar las medidas biológicas.

Tabla 7.0.2. Actividad citotóxica expresada como IC₅₀ a 48h en cultivos de líneas celulares tumorales y no tumorales de los complejos de heterolépticos de Cu(II).

Citotoxicidad, IC ₅₀ (µM±SD)					
Compuesto	MDA-MB-231	MCF-7	A549	MCF-10A	MRC-5
[CuCl ₂ (phen)]	0,47±0,07	3,41±1,18	3,26±0,16	5,16±0,42	0,43±0,07
1P(d)	9,25±1,72	3,12±0,99	5,21±0,24	4,61±0,23	2,20±0,16
2P*	4,16±0,75	4,38±0,76	3,46±0,16	3,61±0,49	1,78±0,11
3P(m)	2,66±0,59	2,22±0,03	1,56±0,33	1,18±0,11	1,13±0,25
[CuCl ₂ (4metil-phen)]	4,25±0,72	5,25±0,62	6,27±0,32	3,61±0,13	1,01±0,16
4M(m)	2,02±0,13	4,24±0,69	3,51±0,19	3,97±0,11	2,55±0,41
5M(m)	8,47±0,25	3,35±0,51	4,76±0,74	17,29±0,38	1,45±0,42
6M(m)	1,35±0,28	1,74±0,07	1,22±0,07	1,45±0,13	0,69±0,06
[CuCl ₂ (neo)]	0,62±0,12	0,84±0,27	0,33±0,03	1,13±0,03	0,14±0,03
7N*	0,26±0,03	0,63±0,13	0,33±0,11	1,28±0,01	0,39±0,12
8N(m)	0,21±0,01	0,31±0,15	0,22±0,09	1,13±0,29	0,24±0,01
9N(m)	0,92±0,04	0,92±0,16	0,34±0,17	2,12±0,96	0,31±0,06
Cisplatino	12,43 ± 0,20	8,91±2,60	14,40 ± 1,40	26,90 ± 0,60	29,10 ± 0,78

*Complejos altamente disociados en Cu-diimina y ligando carboxílico.

(m) complejos que en solución su especie mayoritaria se presenta en forma monomérica.

(d) complejos que en solución su especie mayoritaria se presenta en forma dimérica.

Si comparamos los valores obtenidos para estos compuestos con los homolépticos discutidos previamente, se observa mayor actividad citotóxica en los heterolépticos, a su vez estos complejos según la clasificación realizada por Santini para complejos de Cu(II) [5], pueden ser catalogados como potentes agentes citotóxicos (IC_{50} en el rango nanomolar). Este mismo comportamiento se observa para los complejos sintetizadas por el grupo previamente, como lo son los pertenecientes a la familia [Cu(dipéptido)(diimina)] [47,49–51] y en una variedad de complejos de la bibliografía [39,185,186,188–190,219,221,222] como es el caso de los complejos previamente citados complejos [Cu(salicilato)₂(H₂O)] y [Cu(3,5-diisopropilsalicilato)₂(H₂O)] [219], los cuales al agregarles una fenantrolina a sus estructuras los complejos presentan mayor actividad citotóxica a la observada en los complejos homolépticos.

La mayoría de los complejos presentó mayor actividad que el Cisplatino en las líneas celulares cancerígenas MCF-7 y A549, mientras que en la línea MDA-MB-231 solo los complejos de neocuproína y el complejo **6M** presentaron mayor actividad que el Cisplatino.

Si se intenta relacionar los resultados de citotoxicidad de los complejos en estudio con su grado de disociación en solución no se encuentra un patrón. Se observa que complejos que en solución presentan un alto grado de disociación, como lo son los complejos **2P** y **7N**, presentan mayor actividad que otros complejos que se mantienen en solución sin disociar. Por lo que se puede concluir que la disociación de los complejos en solución no está afectando en gran medida la toxicidad de los complejos en las células tumorales.

Este comportamiento observado en la actividad citotóxica de los complejos puede deberse a que si bien, se determinó una especie mayoritaria para cada uno de los complejos en solución acuosa o DMSO, estas especies pueden verse modificadas a nivel de medio de cultivo y por lo tanto no ser determinantes en la actividad. La presencia de los componentes del medio de cultivo puede causar que los complejos al interactuar con estos formen nuevas especies en solución y esto se vea reflejados en los resultados de actividad citotóxica.

En las familias de phen y 4metil-phen se observa que los complejos que presentaron mayor actividad sobre las líneas celulares tumorales son los complejos **3P** y **6M**, los cuales presentan en su estructura el ligando **L3**. Mientras que, en la familia de neo, el complejo más activo fue el complejo **8N**, el cual presenta el ligando **L2** en su estructura. En el caso de las primeras dos familias nombradas (phen y 4metil-phen) se observa el mismo patrón que se presenta para los resultados de los complejos homolépticos, donde el complejo sintetizado con el ligando **L3** presenta mayor actividad en la línea A278cis.

A medida que se aumentan los sustituyentes en los ligandos diimínicos la actividad biológica se ve aumentada [65,185,186], este comportamiento se ve reflejado en los valores presentado en la Tabla 7.0.2, donde los complejos de la familia de neo son los complejos que presentaron mayor citotoxicidad en las líneas celulares tumorales, lo que se observa también los complejos Cu-diimina.

Al igual que para los complejos homolépticos, se observa relación entre la lipofilia de los complejos y la actividad citotóxica. La familia de neo fue la que presenta mayor actividad citotóxica en las líneas celulares tumorales estudiadas y a su vez fueron los que presentaron mayor lipofilia (con excepción de los complejos **1P** y **19D**). Sin embargo, no se observa relación con las constantes de unión al ADN (kb). En cuanto a los estudios de interacción con los modelos de membrana, se observó por DSC que el complejo **8N** era el complejo que mayor modificación causaba al perfil del termograma de la membrana, a su vez este complejo es el que presenta mayor actividad en las tres líneas tumorales estudiadas, pudiendo tener relación esta interacción con la membrana con su actividad citotóxica.

Los complejos heterolépticos presentan valores de IC_{50} que, si los comparamos con otros complejos ternarios sintetizados a partir de estas diiminas, se observa mayor actividad para nuestros complejos que para los reportados en estas mismas líneas celulares cancerígenas estudiadas, como lo son los complejos: $[Cu(\text{fenilalaninaimidazolacetato})(\text{phen})] \cdot 2H_2O$ presentó un valor de IC_{50} de 40 μM a 48 h de incubación en la línea tumoral MCF-7; y el complejo $[Cu(\text{tiofeno carboxilato})(\text{phen})(H_2O)]$ el cual presentó valores de IC_{50} de 34 y 80 μM a 48 h de incubación en las líneas tumorales A-549 y MDA-MB-231, respectivamente [39,188–190,222–224].

Tabla 7.0.3. Índices de selectividad de los complejos en las líneas celulares cancerígenas.

Índices de Selectividad (IC_{50}célula tumoral/IC_{50}célula no tumoral)			
Compuesto	MDA-MB-231	MCF-7	A549
$[CuCl_2(\text{phen})]$	11,0	1,5	0,1
1P	0,5	1,5	0,4
2P	0,9	0,8	0,5
3P	0,4	0,5	0,7
$[CuCl_2(4\text{metil-phen})]$	0,9	2,9	0,4
4M	2,0	0,9	0,7
5M	2,0	3,6	0,3
6M	1,1	0,8	0,6
$[CuCl_2(\text{neo})]$	1,8	1,3	0,4
7N	4,9	2,0	1,2
8N	5,4	3,6	1,1
9N	2,3	2,3	0,9
Cisplatino	2,2	2,7	2,0

En los resultados mostrados en la Tabla 7.0.3 se observa que los complejos presentan menor índice de selectividad que el Cisplatino en las tres líneas tumorales, pero manteniéndose en un mismo orden en la línea MCF-7. El complejo $[CuCl_2(\text{phen})]$ presenta un índice de selectividad mayor que el Cisplatino y el resto de los complejos heterolépticos en la línea tumoral MDA-MB-231.

No se observa que los complejos cumplan un patrón en los valores de selectividad determinados para las líneas celulares tumorales estudiadas. En los complejos sintetizados con 4metil-phen y neo, se observa que los complejos que presentan mayor selectividad son los sintetizados con el ligando **L2** dentro de sus mismas familias. Por otro lado, los complejos de neo presentan mayor selectividad en las tres líneas celulares tumorales estudiadas en comparación con el resto de los complejos heterolépticos sintetizados, incluso presentan mayor selectividad que la especie $[\text{CuCl}_2(\text{neo})]$.

Comparando la selectividad observada para los complejos con respecto a la del Cisplatino, en las líneas tumorales MDA-MB-231 y A549 los complejos heterolépticos presentan menor selectividad que el Cisplatino. Por otro lado, en la línea tumoral MCF-7, se observa que los complejos **5M**, **7N**, **8N** y **9N** presentan índices de selectividad que se aproximan al del Cisplatino en esta línea celular, incluso estando los complejos **5M** y **8N** por encima de este.

7.1.3 CONCLUSIONES.

Los complejos **homolépticos CuL2** y **CuL3** se pueden catalogar como buenos agentes citotóxicos en la línea celular tumoral A278cis, siendo estos más activos que el Cisplatino, evidenciando que no están afectados por los mecanismos de resistencia al Cisplatino. Se observa relación directa entre la lipofilia de los complejos con la actividad presentada.

Los complejos **heterolépticos** se pueden catalogar como potentes agentes citotóxicos. No se observó relación entre el grado de disociación de los complejos en solución con respecto a la actividad citotóxica. Se observó relación directa entre la lipofilia y la actividad citotóxica, mientras que no se observó relación con la constante de unión al ADN.

La actividad citotóxica de los complejos y la selectividad se ve favorecida por el aumento de sustituyentes en la diimina. El complejo **8N** es el que presentó mayor actividad citotóxica y mayor selectividad de todos los complejos heterolépticos estudiados.

7.2 Complejos de Ga(III).

Se determinó la actividad citotóxica de los complejos homolépticos de Ga(III) en la línea tumoral MCF-7 a 48 h de incubación. Las soluciones acuosas fueron preparadas al momento de realizar los ensayos biológicos.

Tabla 7.0.4. Actividad citotóxica expresada como IC₅₀ a 48 h en cultivos de líneas celulares tumorales y no tumorales de los complejos de homolépticos de Ga(III).

Citotoxicidad, IC ₅₀ (μM±SD)	
Compuesto	MCF-7
Ga1	125,20±1,18
Ga2	22,08±1,94
Ga3	30,97±1,14
Cisplatino	8,91±2,60

Los valores de IC₅₀ presentados en la Tabla 7.0.4 para los complejos, muestran que en la línea celular tumoral estudiadas son menos activos que el Cisplatino, siendo el complejo **Ga2** el más citotóxico de los tres. Los resultados obtenidos no se relacionan con la lipofilia de los complejos, donde el complejo que mostró mayor lipofilia fue el complejo **Ga1** que a su vez fue el menos activo de los tres.

Comparando los complejos homolépticos con sus análogos de Cu(II) reportados por el grupo [218], se observa que el complejo **Ga3** presenta mejor actividad citotóxica ante la línea celular tumoral estudiada a los mismos tiempos de incubación que su análogo [Cu(Ala-Phe)] [218], por lo que se puede decir que la unión al Ga(III) le otorga mayor actividad al ligando al formar el complejo en comparación a lo observado al unirse al Cu(II).

A su vez, los complejos homolépticos **Ga2** y **Ga3** presentan mejor actividad ante esta línea celular tumoral que algunos complejos publicados recientemente, como lo son los complejos [Ga(2-acetilpiridina)(NO₃)₂].2H₂O y (2-aminobenzimidazol)[Ga(2,6-piridinadicarboxilato)₂].2H₂O los cuales a 48 y 72 h presentaron valores de IC₅₀ mayores a 50 M [37,225,226].

7.2.1 CONCLUSIONES.

Los complejos de Ga con dipéptidos presentaron actividad citotóxica ante la línea celular tumoral MCF-7 mayor a la de sus análogos de Cu(II).

No se observa relación entre la lipofilia y la actividad citotóxica.

CAPÍTULO 8: CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

8.1 Conclusiones complejos homolépticos de Cu(II).

Se sintetizaron tres complejos de cobre, incluyendo uno nuevo, con estructura dimérica típica de carboxilatos de cobre. En DMSO, los complejos homolépticos (CuL1, CuL2 y CuL3) exhiben especies mayoritarias donde el fenilcarboxilato permanece coordinado al centro de Cu(II), posiblemente formando estructuras diméricas.

Además, los complejos homolépticos con ácidos fenilcarboxílicos muestran interacción con los surcos del ADN, según sus valores de Kb y estudios de variación de viscosidad. CuL2 y CuL3 se destacan como agentes citotóxicos efectivos en la línea celular A278cis, superando la actividad del Cisplatino y mostrando resistencia limitada a sus mecanismos. La lipofilia de los complejos presenta una correlación directa con su actividad.

8.2 Conclusiones complejos heterolépticos de Cu(II).

Se sintetizaron 15 complejos de cobre, incluyendo 14 nuevos, con geometrías de coordinación específicas. Se observaron estructuras diméricas y monoméricas, con evidencia de coordinación bidentada y puente bidentado de ligandos fenilcarboxílicos. La estructura de los monómeros se asemeja a una bipirámide trigonal, mientras que los dímeros muestran una geometría de pirámide de base cuadrada con distorsiones variables.

En solución, los complejos heterolépticos mostraron diversos comportamientos, desde hidrólisis hasta reducción. La unión al ADN fue mayoritariamente a través de los surcos, demostrado por estudios de Kb, cambios en espectros de DC y viscosidad. La interacción con membranas también se evidenció, destacando la preferencia del complejo 8N por membranas con carga negativa.

A pesar de la variabilidad en la disociación en solución, los complejos heterolépticos exhibieron potente actividad citotóxica, con una correlación positiva con la lipofilia y la presencia de sustituyentes en la diimina. El complejo 8N destacó por su alta citotoxicidad y selectividad en comparación con otros complejos estudiados.

8.3 Conclusiones complejos de Ga(III).

Se sintetizaron tres nuevos complejos homolépticos de Ga(III) con alta pureza, en los cuales el dipéptido coordina al Ga(III) a través del carboxilato. Las especies predominantes en solución reflejan las propuestas en estado sólido, con hidrólisis de iones nitrato, y se mantiene la coordinación de los dipéptidos al Ga. Los espectros ¹H-RMN sugieren una disposición no simétrica de las moléculas de dipéptidos en solución.

Los complejos de Ga(III) muestran afinidad por unirse al ADN a través de los surcos, evidenciado por constantes de unión y perfiles de variación de viscosidad relativa del ADN al agregar los complejos. Además, los complejos de Ga con dipéptidos exhiben actividad citotóxica frente a la línea celular MCF-7, superando a sus análogos de Cu(II). No se observa una relación clara entre la lipofilia y la actividad citotóxica.

8.4 Perspectivas complejos de Cu(II).

Debido a los resultados prometedores de la actividad citotóxica de los complejos homolépticos en la línea tumoral resistente al cisplatino A278cis, se plantea como perspectiva el estudio de la actividad citotóxica de los complejos heterolépticos en esta línea tumoral, y tanto de los complejos homolépticos como heterolépticos en otras líneas tumorales resistentes al cisplatino.

8.5 Perspectivas complejos de Ga(III).

Se plantea como perspectivas de los complejos de Ga(III) optimizar la síntesis de los complejos con los ligandos fenilcarboxilatos de manera de obtener los complejos con mayor pureza.

Con respecto a los complejos homolépticos con los dipéptidos, los resultados prometedores obtenidos de la actividad citotóxica de los complejos se plantean como perspectiva el estudio de la actividad citotóxica de los complejos en diferentes líneas tumorales y no tumorales para estudiar si se mejora la selectividad de los complejos.

REFERENCIAS.

- [1] E. Barrios, M. Garau, E. Barrios, M. Garau, Cáncer: magnitud del problema en el mundo y en Uruguay, aspectos epidemiológicos, *An. Fac. Med.* 4 (2017) 7–161. <https://doi.org/10.25184/anfamed2017.4.1.2>.
- [2] A. Casini, A. Vessi res, S.M. Meier-Menches, Metal-based anticancer agents, Royal Society of Chemistry, 2019.
- [3] C. Orvig, M.J. Abrams, Medicinal inorganic chemistry: introduction, *Chem. Rev.* 99 (1999) 2201–2204. <https://doi.org/10.1021/cr980419w>.
- [4] C. Marzano, M. Pellei, F. Tisato, C. Santini, Copper complexes as anticancer agents, *Anticancer Agents Med. Chem.* 9 (2009) 185–211. <https://doi.org/10.2174/187152009787313837>.
- [5] C. Santini, M. Pellei, V. Gandin, M. Porchia, F. Tisato, C. Marzano, Advances in copper complexes as anticancer agents, *Chem. Rev.* 114 (2014) 815–862. <https://doi.org/10.1021/cr400135x>.
- [6] C. Yuan, Z. Peng, Q. Pan, D. Li, Y. Shen, Spectroscopic and theoretical studies on copper(II) complex of maleonitriledithiolate and 5-nitro-1,10-phenanthroline, *J. Mol. Struct.* 789 (2006) 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2005.12.016>.
- [7] R. Balamurugan, M. Palaniandavar, H. Stoeckli-Evans, M. Neuburger, Axial versus equatorial coordination of thioether sulfur: Mixed ligand copper(II) complexes of 2-pyridyl-N-(2'-methylthiophenyl)-methyleneimine with bidentate diimine ligands, *Inorganica Chim. Acta.* 359 (2006) 1103–1113. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2005.09.062>.
- [8] J.O. Pinho, J.D. Amaral, R.E. Castro, C.M. Rodrigues, A. Casini, G. Soveral, M.M. Gaspar, Copper complex nanoformulations featuring highly promising therapeutic potential in murine melanoma models, *Nanomed.* 14 (2019) 835–850. <https://doi.org/10.2217/nnm-2018-0388>.
- [9] I. Iakovidis, I. Delimaris, S.M. Piperakis, Copper and Its Complexes in Medicine: A Biochemical Approach, *Mol. Biol. Int.* 2011 (2011) 1–13. <https://doi.org/10.4061/2011/594529>.
- [10] J. Serment-Guerrero, P. Cano-Sanchez, E. Reyes-Perez, F. Velazquez-Garcia, M.E. Bravo-Gomez, L. Ruiz-Azuara, Genotoxicity of the copper antineoplastic coordination complexes casiopeinas[®], *Toxicol. In Vitro.* 25 (2011) 1376–1384. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2011.05.008>.
- [11] S.G. Davila-Manzanilla, Y. Figueroa-de-Paz, C. Mejia, L. Ruiz-Azuara, Synergistic effects between a copper-based metal Casiopeína III-ia and cisplatin, *Eur. J. Med. Chem.* 129 (2017) 266–274. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.01.045>.
- [12] D. Denoyer, S. Masaldan, S. La Fontaine, M.A. Cater, Targeting copper in cancer therapy: 'Copper That Cancer,' *Metallomics.* 7 (2015) 1459–1476. <https://doi.org/10.1039/C5MT00149H>.
- [13] M. Chikira, C.H. Ng, M. Palaniandavar, Interaction of DNA with Simple and Mixed Ligand Copper(II) Complexes of 1,10-Phenanthrolines as Studied by DNA-Fiber EPR Spectroscopy, *Int. J. Mol. Sci.* 16 (2015) 22754–22780. <https://doi.org/10.3390/ijms160922754>.
- [14] C. Nicco, A. Laurent, C. Chereau, B. Weill, F. Batteux, Differential modulation of normal and tumor cell proliferation by reactive oxygen species, *Biomed. Pharmacother.* 59 (2005) 169–174. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2005.03.009>.
- [15] D. Kraj iov , M. Meln k, E. Havr nek, A. Forg csov , P. Miku , Copper compounds in nuclear medicine and oncology, *J. Coord. Chem.* 67 (2014) 1493–1519. <https://doi.org/10.1080/00958972.2014.915966>.
- [16] S. Tardito, I. Bassanetti, C. Bignardi, L. Elviri, M. Tegoni, C. Mucchino, O. Bussolati, R. Franchi-Gazzola, L. Marchi , Copper binding agents acting as copper ionophores lead to caspase inhibition and paraptotic cell death in human cancer cells, *J. Am. Chem. Soc.* 133 (2011) 6235–6242. <https://doi.org/10.1021/ja109413c>.

- [17] L.R. Bernstein, Mechanisms of Therapeutic Activity for Gallium, *Pharmacol. Rev.* 50 (1998) 665–682.
- [18] L.R. Bernstein, T. Tanner, C. Godfrey, B. Noll, Chemistry and Pharmacokinetics of Gallium Maltolate, a Compound With High Oral Gallium Bioavailability, *Met.-Based Drugs.* 7 (2000) 33–47. <https://doi.org/10.1155/MBD.2000.33>.
- [19] J. Lessa, G. Parrilha, H. Beraldo, Gallium complexes as new promising metallodrug candidates, *Inorganica Chim. Acta.* 393 (2012) 53–63. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2012.06.003>.
- [20] C. Levaditi, J. Bardet, A. Tchakirian, A. Vaisman, Therapeutic Properties of Gallium in Syphilis and Trypanosomiasis., *C. r. Acad. Sci.* 192 (1931). <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19312902000> (accessed July 30, 2023).
- [21] D. Front, R. Bar-Shalom, R. Epelbaum, N. Haim, M.W. Ben-Arush, M. Ben-Shahar, M. Gorenberg, U. Kleinhaus, S. Parmett, G.M. Kolodny, Early detection of lymphoma recurrence with gallium-67 scintigraphy, *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* 34 (1993) 2101–2104.
- [22] M.M. Hart, R.H. Adamson, Antitumor activity and toxicity of salts of inorganic group 3a metals: aluminum, gallium, indium, and thallium, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 68 (1971) 1623–1626. <https://doi.org/10.1073/pnas.68.7.1623>.
- [23] P. Collery, B. Keppler, C. Madoulet, B. Desoize, Gallium in cancer treatment, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 42 (2002) 283–296. [https://doi.org/10.1016/S1040-8428\(01\)00225-6](https://doi.org/10.1016/S1040-8428(01)00225-6).
- [24] L. Einhorn, Gallium nitrate in the treatment of bladder cancer, *Semin. Oncol.* 30 (2003) 34–41. [https://doi.org/10.1016/s0093-7754\(03\)00174-x](https://doi.org/10.1016/s0093-7754(03)00174-x).
- [25] C.R. Chitambar, Gallium Complexes as Anticancer Drugs, *Met. Ions Life Sci.* 18 (2018) /books/9783110470734/9783110470734-016/9783110470734-016.xml. <https://doi.org/10.1515/9783110470734-016>.
- [26] L. Bernstein, 31Ga Therapeutic Gallium Compounds, in: *Met. Drugs Met.-Based Diagn. Agents Use Met. Med.*, 2005: pp. 259–277. <https://doi.org/10.1002/0470864052.ch14>.
- [27] M. Gielen, E.R.T. Tiekink, NetLibrary, Inc, eds., *Metallotherapeutic drugs and metal-based diagnostic agents: the use of metals in medicine*, Wiley, Hoboken, N.J, 2005. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/0470864052> (accessed July 30, 2023).
- [28] V.B. Arion, M.A. Jakupiec, M.S. Galanski, P. Unfried, B.K. Keppler, Synthesis, structure, spectroscopic and in vitro antitumour studies of a novel gallium(III) complex with 2-acetylpyridine 4N-dimethylthiosemicarbazone, *J. Inorg. Biochem.* 91 (2002) 298–305. [https://doi.org/10.1016/S0162-0134\(02\)00419-1](https://doi.org/10.1016/S0162-0134(02)00419-1).
- [29] A.V. Rudnev, L.S. Foteeva, C. Kowol, R. Berger, M.A. Jakupiec, V.B. Arion, A.R. Timerbaev, B.K. Keppler, Preclinical characterization of anticancer gallium(III) complexes: Solubility, stability, lipophilicity and binding to serum proteins, *J. Inorg. Biochem.* 100 (2006) 1819–1826. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2006.07.003>.
- [30] W.-J. Chang, P.-C. Chang, H.-M. Kao, K.-H. Lii, Synthesis, structural characterization, and solid-state NMR spectroscopy of [Ga(phen)(H_{1.5}PO₄)₂].H₂O and [Ga(phen)(HPO₄)(H₂PO₄)]·1.5H₂O (phen=1, 10-phenanthroline), two organic–inorganic hybrid compounds with 1-D chain structures, *J. Solid State Chem.* 178 (2005) 3722–3728. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2005.09.028>.
- [31] P. Collery, F. Lechenault, A. Cazabat, E. Juvin, L. Khassanova, A. Evangelou, B. Keppler, Inhibitory effects of gallium chloride and tris (8-quinolinolato) gallium III on A549 human malignant cell line, *Anticancer Res.* 20 (2000) 955–958.
- [32] M.A. Jakupiec, P. Collery, B.K. Keppler, Synergistic antiproliferative effects of tris (8-quinolinolato) gallium (III)(KP46) in combination with platinum drugs in ovarian and colon carcinoma cells, *Met. Ions Biol Med.* 10 (2008) 110–115.

- [33] M.C. Alley, D.A. Scudiero, A. Monks, M.L. Hursey, M.J. Czerwinski, D.L. Fine, B.J. Abbott, J.G. Mayo, R.H. Shoemaker, M.R. Boyd, Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay, *Cancer Res.* 48 (1988) 589–601.
- [34] G.S. Papaefstathiou, A. Sofetis, C.P. Raptopoulou, A. Terzis, G.A. Spyroulias, T.F. Zafiropoulos, 2,2'-Bipyridine,1,10-phenanthroline and 2,2':6',2''-terpyridine in gallium(III) chemistry: Complexes containing the $\{\text{GaIII}2(\mu\text{-OH})_2\}4+$ core, *J. Mol. Struct.* 837 (2007) 5–14. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2006.09.027>.
- [35] I.C. Mendes, M.A. Soares, R.G. dos Santos, C. Pinheiro, H. Beraldo, Gallium(III) complexes of 2-pyridineformamide thiosemicarbazones: Cytotoxic activity against malignant glioblastoma, *Eur. J. Med. Chem.* 44 (2009) 1870–1877. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2008.11.006>.
- [36] E. Halevas, B. Mavroidi, O. Antonoglou, A. Hatzidimitriou, M. Sagnou, N. Pantazaki, G. Litsardakis, P. Maria, Structurally characterized gallium-chrysin complexes with anticancer potential, *Dalton Trans.* 49 (2020). <https://doi.org/10.1039/C9DT04540F>.
- [37] E. Halevas, M. Arvanitidou, B. Mavroidi, A.G. Hatzidimitriou, K. Politopoulos, E. Alexandratou, M. Pelecanou, M. Sagnou, A novel curcumin gallium complex as photosensitizer in photodynamic therapy: Synthesis, structural and physicochemical characterization, photophysical properties and in vitro studies against breast cancer cells, *J. Mol. Struct.* 1240 (2021) 130485. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130485>.
- [38] P. Robin, K. Singh, K. Suntharalingam, Gallium(III)-polypyridyl complexes as anti-osteosarcoma stem cell agents, *Chem. Commun.* 56 (2020) 1509–1512. <https://doi.org/10.1039/C9CC08962D>.
- [39] W.W. Brandt, F.P. Dwyer, E.D. Gyarfas, Chelate Complexes of 1,10-Phenanthroline and Related Compounds., *Chem. Rev.* 54 (1954) 959–1017. <https://doi.org/10.1021/cr60172a003>.
- [40] E. Dubler, U.K. Haering, K.H. Scheller, P. Baltzer, H. Sigel, Ternary complexes in solution. 44. Dependence of an intramolecular aromatic-ring stacking interaction in mixed-ligand copper(II) complexes in aqueous solution on the distance of the stacking moiety from the coordinating group and the solid-state structure of the ternary copper(II)-1,10-phenanthroline-phenylpropionate complex, *ACS Publ.* (2002). <https://doi.org/10.1021/ic00191a024>.
- [41] P.G. Sammes, G. Yahiloglu, 1,10-Phenanthroline: a versatile ligand, *Chem. Soc. Rev.* 23 (1994) 327–334. <https://doi.org/10.1039/CS9942300327>.
- [42] J. De Las Heras, L. Aldámiz-Echevarría, M.-L. Martínez-Chantar, T.C. Delgado, An update on the use of benzoate, phenylacetate and phenylbutyrate ammonia scavengers for interrogating and modifying liver nitrogen metabolism and its implications in urea cycle disorders and liver disease, *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 13 (2017) 439–448. <https://doi.org/10.1080/17425255.2017.1262843>.
- [43] G. Facchin, M.H. Torre, E. Kremer, O.E. Piro, E.E. Castellano, E.J. Baran, Structural and Spectroscopic Characterization of Two New Cu(II)-Dipeptide Complexes, *Z. Für Naturforschung B.* 55 (2000) 1157–1162. <https://doi.org/10.1515/znb-2000-1209>.
- [44] G. Facchin, M.H. Torre, I. Viera, E. Kremer, O. Piro, E.E. Castellano, A.J. da Costa Filho, Cu(II)-dipeptide complexes phenylalanine containing with potential pharmacological interest, *Abstract.* (2003). <https://repositorio.usp.br/item/001347462> (accessed July 30, 2023).
- [45] G. Facchin, E. Kremer, E.J. Baran, E.E. Castellano, O.E. Piro, J. Ellena, A.J. Costa-Filho, M.H. Torre, Structural characterization of a series of new Cu-dipeptide complexes in solid state and in solution, *Polyhedron.* 25 (2006) 2597–2604. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2006.03.012>.
- [46] S. Iglesias, M.H. Torre, G. Facchin, E. Kremer, A.J. da Costa Filho, Spectroscopic characterization of [Cu(dipeptide)(phenanthroline)] complexes and its interaction with Calf Thymus DNA, *Abstracts.* (2010). <https://repositorio.usp.br/item/002145705> (accessed July 30, 2023).
- [47] S. Iglesias, N. Alvarez, M.H. Torre, E. Kremer, J. Ellena, R.R. Ribeiro, R.P. Barroso, A.J. Costa-Filho, M.G. Kramer, G. Facchin, Synthesis, structural characterization and cytotoxic activity of ternary

- copper(II)–dipeptide–phenanthroline complexes. A step towards the development of new copper compounds for the treatment of cancer, *J. Inorg. Biochem.* 139 (2014) 117–123. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2014.06.007>.
- [48] N. Alvarez, A.J. Costa-Filho, M.H. Torre, M.G. Kramer, J. Ellena, G. Facchin, Structural characterization of [Cu(iminodiacetate)(diimine)] coordination complexes with in vitro antiproliferative activity, in: *Blucher Mater. Sci. Proc.*, Editora Blucher, Vitória, Brasil, 2017: pp. 29–29. <https://doi.org/10.5151/23abcr-16>.
- [49] N. Alvarez, D. Viña, C.M. Leite, L.F.S. Mendes, A.A. Batista, J. Ellena, A.J. Costa-Filho, G. Facchin, Synthesis and structural characterization of a series of ternary copper(II)-L-dipeptide-neocuproine complexes. Study of their cytotoxicity against cancer cells including MDA-MB-231, triple negative breast cancer cells, *J. Inorg. Biochem.* 203 (2020) 110930. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.110930>.
- [50] N. Alvarez, C.M. Leite, A. Napoleone, L.F.S. Mendes, C.Y. Fernández, R.R. Ribeiro, J. Ellena, A.A. Batista, A.J. Costa-Filho, G. Facchin, Tetramethyl-phenanthroline copper complexes in the development of drugs to treat cancer: synthesis, characterization and cytotoxicity studies of a series of copper(II)-L-dipeptide-3,4,7,8-tetramethyl-phenanthroline complexes, *JBIC J. Biol. Inorg. Chem.* 27 (2022) 431–441. <https://doi.org/10.1007/s00775-022-01938-3>.
- [51] C.Y. Fernández, N. Alvarez, A. Rocha, J. Ellena, A.J. Costa-Filho, A.A. Batista, G. Facchin, New Copper(II)-L-Dipeptide-Bathophenanthroline Complexes as Potential Anticancer Agents-Synthesis, Characterization and Cytotoxicity Studies-And Comparative DNA-Binding Study of Related Phen Complexes, *Mol. Basel Switz.* 28 (2023) 896. <https://doi.org/10.3390/molecules28020896>.
- [52] N. Alvarez, A. Rocha, V. Collazo, J. Ellena, A.J. Costa-Filho, A.A. Batista, G. Facchin, Development of Copper Complexes with Diimines and Dipicolinate as Anticancer Cytotoxic Agents, *Pharmaceutics*. 15 (2023) 1345. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15051345>.
- [53] W. Massa, *Crystal Structure Determination*, Springer, Berlin, Heidelberg, 2004. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-06431-3>.
- [54] J.P. Glusker, K.N. Trueblood, *Crystal Structure Analysis: A Primer*, Oxford University Press, 2010.
- [55] Advancing Structural Science | CCDC, (n.d.). <https://www.ccdc.cam.ac.uk/> (accessed August 24, 2023).
- [56] A.W. Addison, T.N. Rao, J. Reedijk, J. van Rijn, G.C. Verschoor, Synthesis, structure, and spectroscopic properties of copper(II) compounds containing nitrogen–sulphur donor ligands; the crystal and molecular structure of aqua[1,7-bis(N-methylbenzimidazol-2'-yl)-2,6-dithiaheptane]copper(II) perchlorate, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (1984) 1349–1356. <https://doi.org/10.1039/DT9840001349>.
- [57] K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds, Part B: Applications in Coordination, Organometallic, and Bioinorganic Chemistry*, John Wiley & Sons, 2009.
- [58] M. Nara, H. Torii, M. Tasumi, Correlation between the Vibrational Frequencies of the Carboxylate Group and the Types of Its Coordination to a Metal Ion: An ab Initio Molecular Orbital Study, *J. Phys. Chem.* 100 (1996) 19812–19817. <https://doi.org/10.1021/jp9615924>.
- [59] M. Ibrahim, A. Nada, D.E. Kamal, Density functional theory and FTIR spectroscopic study of carboxyl group, *IJPAP Vol4312 Dec. 2005.* (2005). <http://nopr.niscpr.res.in/handle/123456789/8906> (accessed August 8, 2023).
- [60] J.P. Coates, P.H. Shelley, *Infrared Spectroscopy in Process Analysis*, in: *Encycl. Anal. Chem.*, John Wiley & Sons, Ltd, 2006. <https://doi.org/10.1002/9780470027318.a2108>.
- [61] A.B.P. Lever, E. Mantovani, B.S. Ramaswamy, Infrared Combination Frequencies in Coordination Complexes containing Nitrate Groups in various Coordination Environments. A Probe for the Metal–Nitrate Interaction, *Can. J. Chem.* 49 (1971) 1957–1964. <https://doi.org/10.1139/v71-315>.

- [62] C.C. Addison, N. Logan, S.C. Wallwork, C.D. Garner, Structural aspects of co-ordinated nitrate groups, *Q. Rev. Chem. Soc.* 25 (1971) 289–322. <https://doi.org/10.1039/QR9712500289>.
- [63] B. Onghena, E. Papagni, E.R. Souza, D. Banerjee, K. Binnemans, T.V. Hoogerstraete, Speciation of lanthanide ions in the organic phase after extraction from nitrate media by basic extractants, *RSC Adv.* 8 (2018) 32044–32054. <https://doi.org/10.1039/C8RA06712K>.
- [64] N. Alvarez, N. Veiga, S. Iglesias, M.H. Torre, G. Facchin, Synthesis, structural characterization and DNA interaction of new copper-terpyridine complexes, *Polyhedron*. 68 (2014) 295–302. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2013.11.002>.
- [65] N. Alvarez, L.F.S. Mendes, M.G. Kramer, M.H. Torre, A.J. Costa-Filho, J. Ellena, G. Facchin, Development of copper(II)-diimine-iminodiacetate mixed ligand complexes as potential antitumor agents, *Inorganica Chim. Acta*. 483 (2018) 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2018.07.052>.
- [66] E. Garribba, G. Micera, The Determination of the Geometry of Cu(II) Complexes: An EPR Spectroscopy Experiment, *J. Chem. Educ.* 83 (2006) 1229. <https://doi.org/10.1021/ed083p1229>.
- [67] B.J. Hathaway, D.E. Billing, The electronic properties and stereochemistry of mono-nuclear complexes of the copper(II) ion, *Coord. Chem. Rev.* 5 (1970) 143–207. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(00\)80135-6](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(00)80135-6).
- [68] E.J. Billo, Copper(II) chromosomes and the rule of average environment, *Inorg. Nucl. Chem. Lett.* 10 (1974) 613–617. [https://doi.org/10.1016/0020-1650\(74\)80002-4](https://doi.org/10.1016/0020-1650(74)80002-4).
- [69] S.P. Harish, J. Sobhanadri, EPR and magnetic studies of copper amino carboxylates, *Inorganica Chim. Acta*. 108 (1985) 147–153. [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(00\)84533-8](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(00)84533-8).
- [70] A. Bencini, D. Gatteschi, *Electron Paramagnetic Resonance of Exchange Coupled Systems*, Springer, Berlin, Heidelberg, 1990. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-74599-7>.
- [71] T.D. Smith, J.R. Pilbrow, The determination of structural properties of dimeric transition metal ion complexes from epr spectra, *Coord. Chem. Rev.* 13 (1974) 173–278. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(00\)80255-6](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(00)80255-6).
- [72] R.B. Martin, H. Sigel, Coordinating properties of the amide bond. Stability and structure of metal ion complexes of peptides and related ligands, *Chem. Rev.* (1982). <https://doi.org/10.1021/cr00050a003>.
- [73] E. Prenesti, P.G. Daniele, M. Prencipe, G. Ostacoli, Spectrum–structure correlation for visible absorption spectra of copper(II) complexes in aqueous solution, *Polyhedron*. 18 (1999) 3233–3241. [https://doi.org/10.1016/S0277-5387\(99\)00279-X](https://doi.org/10.1016/S0277-5387(99)00279-X).
- [74] E. Prenesti, P.G. Daniele, S. Berto, S. Toso, Spectrum–structure correlation for visible absorption spectra of copper(II) complexes showing axial co-ordination in aqueous solution, *Polyhedron*. 25 (2006) 2815–2823. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2006.04.026>.
- [75] E. Prenesti, P.G. Daniele, S. Toso, Visible spectrophotometric determination of metal ions: the influence of structure on molar absorptivity value of copper(II) complexes in aqueous solution, *Anal. Chim. Acta*. 459 (2002) 323–336. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)00135-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)00135-6).
- [76] L. Dubicki, R.L. Martin, The π System of Binuclear Copper(II) and Chromium(II) Acetates, *ACS Publ.* (2002). <https://doi.org/10.1021/ic50046a027>.
- [77] A.B.P. Lever, D. Ogden, Haloacetate complexes of cobalt(II), nickel(II), and copper(II), and the question of band assignments in the electronic spectra of six-co-ordinate cobalt(II) complexes, *J. Chem. Soc. Inorg. Phys. Theor.* (1967) 2041–2048. <https://doi.org/10.1039/J19670002041>.
- [78] A. Karaliota, O. Kretsi, C. Tzougraki, Synthesis and characterization of a binuclear coumarin-3-carboxylate copper(II) complex, *J. Inorg. Biochem.* 84 (2001) 33–37. [https://doi.org/10.1016/S0162-0134\(00\)00214-2](https://doi.org/10.1016/S0162-0134(00)00214-2).
- [79] F.T. Greenaway, A. Pezeshk, A.W. Cordes, M.C. Noble, J.R.J. Sorenson, Characterization of a mononuclear copper carboxylate complex: Bis(acetylsalicylato)bis(pyridine)copper(II), *Inorganica Chim. Acta*. 93 (1984) 67–71. [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(00\)87890-1](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(00)87890-1).

- [80] T. Sugimori, H. Masuda, N. Ohata, K. Koiwai, A. Odani, O. Yamauchi, Structural Dependence of Aromatic Ring Stacking and Related Weak Interactions in Ternary Amino Acid–Copper(II) Complexes and Its Biological Implication, *Inorg. Chem.* 36 (1997) 576–583. <https://doi.org/10.1021/ic9608556>.
- [81] T. Sugimori, H. Masuda, O. Yamauchi, Structures and Properties of Ternary Copper(II) Complexes Involving a Halogen Substituted Phenylalanine and 2,2'-Bipyridine. Intermolecular Interactions between Halo and Organic Groups, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 67 (1994) 131–137. <https://doi.org/10.1246/bcsj.67.131>.
- [82] H. Sigel, Hydrophobic interactions in biological systems: some background information based on ligand-ligand interactions in metal ion complexes, *Pure Appl. Chem.* 61 (1989) 923–932. <https://doi.org/10.1351/pac198961050923>.
- [83] R.B. Fischer, D.G. Peters, *Analisis químico cuantitativo*, Interamericana, 1970.
- [84] G.H. Duffey, J. Moneva Moneva, *Química física.*, (1965).
- [85] P.G. Sears, G.R. Lester, L.R. Dawson, A Study of the Conductance Behavior of Some Uni-univalent Electrolytes in Dimethyl Sulfoxide at 25°, *ACS Publ.* (2002). <https://doi.org/10.1021/j150544a024>.
- [86] W.J. Geary, The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds, *Coord. Chem. Rev.* 7 (1971) 81–122. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(00\)80009-0](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(00)80009-0).
- [87] J. Jezierska, V. Kokozay, A. Ożarowski, EPR studies of spin-spin interactions between Cu(II) centers in dimeric, hexameric and homo- and heteronuclear tetrameric complexes, *Res. Chem. Intermed.* 33 (2007) 901–914. <https://doi.org/10.1163/156856707782169381>.
- [88] K.E. Prosser, C.J. Walsby, Electron Paramagnetic Resonance as a Tool for Studying the Mechanisms of Paramagnetic Anticancer Metallodrugs, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2017 (2017) 1573–1585. <https://doi.org/10.1002/ejic.201601142>.
- [89] J. Mason, NMR spectroscopy of the early transition metals, *Polyhedron*. 8 (1989) 1657–1668. [https://doi.org/10.1016/S0277-5387\(00\)80614-2](https://doi.org/10.1016/S0277-5387(00)80614-2).
- [90] J. Novotný, J. Vícha, P.L. Bora, M. Repisky, M. Straka, S. Komorovsky, R. Marek, Linking the Character of the Metal–Ligand Bond to the Ligand NMR Shielding in Transition-Metal Complexes: NMR Contributions from Spin–Orbit Coupling, *J. Chem. Theory Comput.* 13 (2017) 3586–3601. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.7b00444>.
- [91] R.A. Novikov, K.V. Potapov, D.N. Chistikov, A.V. Tarasova, M.S. Grigoriev, V.P. Timofeev, Y.V. Tomilov, Synthesis and Structures of Cyclopropanedicarboxylate Gallium Complexes, *Organometallics*. 34 (2015) 4238–4250. <https://doi.org/10.1021/acs.organomet.5b00399>.
- [92] M.R. Kaluderović, S. Gómez-Ruiz, B. Gallego, E. Hey-Hawkins, R. Paschke, G.N. Kaluderović, Anticancer activity of dinuclear gallium(III) carboxylate complexes, *Eur. J. Med. Chem.* 45 (2010) 519–525. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.10.038>.
- [93] J.A. Arnott, S.L. Planey, The influence of lipophilicity in drug discovery and design, *Expert Opin. Drug Discov.* 7 (2012) 863–875. <https://doi.org/10.1517/17460441.2012.714363>.
- [94] M.J. Waring, Lipophilicity in drug discovery, *Expert Opin. Drug Discov.* 5 (2010) 235–248. <https://doi.org/10.1517/17460441003605098>.
- [95] S. Lobo, Is there enough focus on lipophilicity in drug discovery?, *Expert Opin. Drug Discov.* 15 (2020) 261–263. <https://doi.org/10.1080/17460441.2020.1691995>.
- [96] M. Mannhold, G. Poda, C. Ostermann, I. Tetko, Calculation of molecular lipophilicity: state of the art and comparison of methods on more than 96000 compounds, *Chem. Cent. J.* 3 (2009) O7. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-3-S1-O7>.
- [97] The Pharmaceutical Codex, Pharmaceutical Press, 1979.
- [98] R.R. Sinden, *DNA Structure and Function*, Gulf Professional Publishing, 1994.

- [99] A. Kellett, Z. Molphy, C. Slator, V. McKee, N.P. Farrell, Molecular methods for assessment of non-covalent metallodrug–DNA interactions, *Chem. Soc. Rev.* 48 (2019) 971–988. <https://doi.org/10.1039/C8CS00157J>.
- [100] A. Kellett, Z. Molphy, C. Slator, V. McKee, N. P. Farrell, Molecular methods for assessment of non-covalent metallodrug–DNA interactions, *Chem. Soc. Rev.* 48 (2019) 971–988. <https://doi.org/10.1039/C8CS00157J>.
- [101] N. Hadjiliadis, E. Sletten, *Metal Complex - DNA Interactions*, John Wiley & Sons, 2009.
- [102] J. Müller, *Metal Complex-DNA Interactions*. Edited by Nick Hadjiliadis and Einar Sletten., *Angew. Chem. Int. Ed.* 49 (2010) 844–845. <https://doi.org/10.1002/anie.200906042>.
- [103] L.B. Hendry, V.B. Mahesh, E.D. Bransome, D.E. Ewing, Small molecule intercalation with double stranded DNA: Implications for normal gene regulation and for predicting the biological efficacy and genotoxicity of drugs and other chemicals, *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.* 623 (2007) 53–71. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2007.03.009>.
- [104] K. Benjamin Garbutcheon-Singh, M. P. Grant, B. W. Harper, A. M. Krause-Heuer, M. Manohar, N. Orkey, J. R. Aldrich-Wright, Transition Metal Based Anticancer Drugs, *Curr. Top. Med. Chem.* 11 (2011) 521–542. <https://doi.org/10.2174/156802611794785226>.
- [105] B.J. Pages, D.L. Ang, E.P. Wright, J.R. Aldrich-Wright, Metal complex interactions with DNA, *Dalton Trans.* 44 (2015) 3505–3526. <https://doi.org/10.1039/C4DT02700K>.
- [106] A.C. Komor, J.K. Barton, The path for metal complexes to a DNA target, *Chem. Commun.* 49 (2013) 3617–3630. <https://doi.org/10.1039/C3CC00177F>.
- [107] T. Topal, A. Bodoki, A. Oprean, R. Oprean, EXPERIMENTAL TECHNIQUES EMPLOYED IN THE STUDY OF METAL COMPLEXES-DNA – INTERACTIONS, 62 (2014).
- [108] A. Lauria, A. Montalbano, P. Barraja, G. Dattolo, A.M. Almerico, DNA minor groove binders: an overview on molecular modeling and QSAR approaches, *Curr. Med. Chem.* 14 (2007) 2136–2160. <https://doi.org/10.2174/092986707781389673>.
- [109] M. Sirajuddin, S. Ali, A. Badshah, Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry, *J. Photochem. Photobiol. B.* 124 (2013) 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2013.03.013>.
- [110] F. Xue, C.-Z. Xie, Y.-W. Zhang, Z. Qiao, X. Qiao, J.-Y. Xu, S.-P. Yan, Two new dicopper(II) complexes with oxamido-bridged ligand: Synthesis, crystal structures, DNA binding/cleavage and BSA binding activity, *J. Inorg. Biochem.* 115 (2012) 78–86. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2012.05.018>.
- [111] P. Krishnamoorthy, P. Sathyadevi, A.H. Cowley, R.R. Butorac, N. Dharmaraj, Evaluation of DNA binding, DNA cleavage, protein binding and in vitro cytotoxic activities of bivalent transition metal hydrazone complexes, *Eur. J. Med. Chem.* 46 (2011) 3376–3387. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.05.001>.
- [112] F. Arjmand, S. Parveen, Mohd. Afzal, Mohd. Shahid, Synthesis, characterization, biological studies (DNA binding, cleavage, antibacterial and topoisomerase I) and molecular docking of copper(II) benzimidazole complexes, *J. Photochem. Photobiol. B.* 114 (2012) 15–26. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2012.05.003>.
- [113] D.E.V. Schmechel, D.M. Crothers, Kinetic and hydrodynamic studies of the complex of proflavine with poly A-poly U, *Biopolymers.* 10 (1971) 465–480. <https://doi.org/10.1002/bip.360100304>.
- [114] D.M. Crothers, Calculation of binding isotherms for heterogeneous polymers, *Biopolymers.* 6 (1968) 575–584. <https://doi.org/10.1002/bip.1968.360060411>.
- [115] A. Rodger, Circular and Linear Dichroism of Drug-DNA Systems, in: K.R. Fox (Ed.), *Drug-DNA Interact. Protoc.*, Humana Press, Totowa, NJ, 2010: pp. 37–54. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-418-0_3.
- [116] D.M. Gray, R.L. Ratliff, M.R. Vaughan, [19] Circular dichroism spectroscopy of DNA, in: *Methods Enzymol.*, Academic Press, 1992: pp. 389–406. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(92\)11021-A](https://doi.org/10.1016/0076-6879(92)11021-A).

- [117] V.I. Ivanov, L.E. Minchenkova, A.K. Schyolkina, A.I. Poletayev, Different conformations of double-stranded nucleic acid in solution as revealed by circular dichroism, *Biopolymers*. 12 (1973) 89–110. <https://doi.org/10.1002/bip.1973.360120109>.
- [118] D. Suh, J.B. Chaires, Criteria for the mode of binding of DNA binding agents, *Bioorg. Med. Chem.* 3 (1995) 723–728. [https://doi.org/10.1016/0968-0896\(95\)00053-J](https://doi.org/10.1016/0968-0896(95)00053-J).
- [119] S.J. Singer, G.L. Nicolson, THE FLUID MOSAIC MODEL OF THE STRUCTURE OF CELL MEMBRANES Reprinted with permission from Science, Copyright AAA, 18 February 1972, Volume 175, pp. 720–731., *Membr. Viruses Immunopathol.* (1972) 7–47. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-207250-5.50008-7>.
- [120] E. Sevcsik, G. Pabst, W. Richter, S. Danner, H. Amenitsch, K. Lohner, Interaction of LL-37 with Model Membrane Systems of Different Complexity: Influence of the Lipid Matrix, *Biophys. J.* 94 (2008) 4688–4699. <https://doi.org/10.1529/biophysj.107.123620>.
- [121] A.K. Ghosh, R. Basu, S. Dey, S. Das, N.P. Nayak, B. Barat, P. Nandy, Lipid-disordering effect of aspirin on the liposomal membrane of dipalmitoyl phosphatidyl choline — A fluorescence anisotropy study, *Colloids Surf. B Biointerfaces*. 4 (1995) 309–311. [https://doi.org/10.1016/0927-7765\(95\)01188-O](https://doi.org/10.1016/0927-7765(95)01188-O).
- [122] G. Rossos, S.K. Hadjikakou, N. Kourkouvelis, Molecular Dynamics Simulation of 2-Benzimidazolyl-Urea with DPPC Lipid Membrane and Comparison with a Copper(II) Complex Derivative, *Membranes*. 11 (2021) 743. <https://doi.org/10.3390/membranes11100743>.
- [123] N. Anitha, R. Balamurugan, M. Palaniandavar, Spectral and electrochemical studies of bis(diimine)copper(II) complexes in anionic, cationic and nonionic micelles, *J. Colloid Interface Sci.* 362 (2011) 243–252. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2011.05.075>.
- [124] R.P. Barroso, L.G.M. Basso, A.J. Costa-Filho, Interactions of the antimalarial amodiaquine with lipid model membranes, *Chem. Phys. Lipids*. 186 (2015) 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2014.12.003>.
- [125] T.M. Mavromoustakos, The Use of Differential Scanning Calorimetry to Study Drug-Membrane Interactions, in: A.M. Dopico (Ed.), *Methods Membr. Lipids*, Humana Press, Totowa, NJ, 2007: pp. 587–600. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-519-0_39.
- [126] F.S. Axel, Biophysics with nitroxyl radicals, *Biophys. Struct. Mech.* 2 (1976) 181–218. <https://doi.org/10.1007/BF00535367>.
- [127] A. Bahuguna, I. Khan, V.K. Bajpai, S. Chul, MTT assay to evaluate the cytotoxic potential of a drug, *Bangladesh J. Pharmacol.* 12 (2017) 8. <https://doi.org/10.3329/bjp.v12i2.30892>.
- [128] L. Tolosa, M.T. Donato, M.J. Gómez-Lechón, General Cytotoxicity Assessment by Means of the MTT Assay, in: M. Vinken, V. Rogiers (Eds.), *Protoc. Vitro Hepatocyte Res.*, Springer, New York, NY, 2015: pp. 333–348. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2074-7_26.
- [129] A.L. Niles, R.A. Moravec, T.L. Riss, Update on in vitro cytotoxicity assays for drug development, *Expert Opin. Drug Discov.* 3 (2008) 655–669. <https://doi.org/10.1517/17460441.3.6.655>.
- [130] R. Matsukawa, Z. Dubinsky, E. Kishimoto, K. Masaki, Y. Masuda, T. Takeuchi, M. Chihara, Y. Yamamoto, E. Niki, I. Karube, A comparison of screening methods for antioxidant activity in seaweeds, *J. Appl. Phycol.* 9 (1997) 29–35. <https://doi.org/10.1023/A:1007935218120>.
- [131] H.A. Benesi, J.H. Hildebrand, A Spectrophotometric Investigation of the Interaction of Iodine with Aromatic Hydrocarbons, *J. Am. Chem. Soc.* 71 (1949) 2703–2707. <https://doi.org/10.1021/ja01176a030>.
- [132] R.L. Scruggs, P.D. Ross, Viscosity study of DNA, *Biopolymers*. 2 (1964) 593–609. <https://doi.org/10.1002/bip.360020608>.
- [133] M.V. Rap, H. Manohar, Synthesis and crystal structure of methanol and acetic acid adducts of copper acetate. Predominance of σ -interaction between the two copper atoms in the dime,

- Inorganica Chim. Acta. 34 (1979) L213–L214. [http://dx.doi.org/10.1016/S0020-1693\(00\)94639-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0020-1693(00)94639-5) (accessed August 15, 2023).
- [134] Y. Kanazawa, T. Mitsudome, H. Takaya, M. Hirano, Pd/Cu-Catalyzed Dehydrogenative Coupling of Dimethyl Phthalate: Synchrotron Radiation Sheds Light on the Cu Cycle Mechanism, *ACS Catal.* 10 (2020) 5909–5919. <https://doi.org/10.1021/acscatal.0c00918>.
- [135] M. Kendin, A. Nikiforov, R. Svetogorov, P. Degtyarenko, D. Tsymbarenko, A 3D-Coordination Polymer Assembled from Copper Propionate Paddlewheels and Potassium Propionate 1D-Polymeric Rods Possessing a Temperature-Driven Single-Crystal-to-Single-Crystal Phase Transition, *Cryst. Growth Des.* 21 (2021) 6183–6194. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.1c00637>.
- [136] A.K. Jassal, S. Sharma, G. Hundal, M.S. Hundal, Structural Diversity, Thermal Studies, and Luminescent Properties of Metal Complexes of Dinitrobenzoates: A Single Crystal to Single Crystal Transformation from Dimeric to Polymeric Complex of Copper(II), *Cryst. Growth Des.* 15 (2015) 79–93. <https://doi.org/10.1021/cg500883w>.
- [137] M.R. Udupa, B. Krebs, Crystal and molecular structure of tetra- μ -N-acetylglutinatodiaquodiacopper(II), *Inorganica Chim. Acta.* 37 (1979) 1–4. [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(00\)95510-5](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(00)95510-5).
- [138] G.B.M. Vaughan, S. Schmidt, H.F. Poulsen, Multicrystal approach to crystal structure solution and refinement, *Z. Für Krist. - Cryst. Mater.* 219 (2004) 813–825. <https://doi.org/10.1524/zkri.219.12.813.55870>.
- [139] Y.Y. Wang, Q. Shi, Q.Z. Shi, Y.C. Gao, Self-assembly of porous two-dimensional copper(II) α , β -unsaturated carboxylate complexes with trimethyl phosphate, *Transit. Met. Chem.* 25 (2000) 382–387. <https://doi.org/10.1023/A:1007045413122>.
- [140] J.-R. Li, J. Yu, W. Lu, L.-B. Sun, J. Sculley, P.B. Balbuena, H.-C. Zhou, Porous materials with pre-designed single-molecule traps for CO₂ selective adsorption, *Nat. Commun.* 4 (2013) 1538. <https://doi.org/10.1038/ncomms2552>.
- [141] S. Pathak, N. Biswas, B. Jana, T. Ghorai, Synthesis and characterization of a nano Cu₂ cluster, *Adv. Mater. Proc.* 2017 (2016) 275–279. <https://doi.org/10.5185/amp.2017/414>.
- [142] O. Kristiansson, L.-E. Tergenius, Structure and host–guest properties of the nanoporous diaquatetrakis(p-nitrobenzoato)dicopper(II) framework, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (2001) 1415–1420. <https://doi.org/10.1039/B100734N>.
- [143] G.R. Desiraju, T. Steiner, *The Weak Hydrogen Bond: In Structural Chemistry and Biology*, Oxford University Press, 2001.
- [144] A. Doyle, J. Felcman, M.T. do P. Gambardella, C.N. Verani, M.L.B. Tristão, Anhydrous copper(II) hexanoate from cuprous and cupric oxides. The crystal and molecular structure of Cu₂(O₂CC₅H₁₁)₄, *Polyhedron.* 19 (2000) 2621–2627. [https://doi.org/10.1016/S0277-5387\(00\)00568-4](https://doi.org/10.1016/S0277-5387(00)00568-4).
- [145] F. Katzsch, A.S. Münch, F.O.R.L. Mertens, E. Weber, Copper(II) benzoate dimers coordinated by different linear alcohols – A systematic study of crystal structures, *J. Mol. Struct.* 1064 (2014) 122–129. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2014.01.080>.
- [146] L. Krause, R. Herbst-Irmer, D. Stalke, An empirical correction for the influence of low-energy contamination, *J. Appl. Crystallogr.* 48 (2015) 1907–1913. <https://doi.org/10.1107/S1600576715020440>.
- [147] G.-H. Sheng, Q.-C. Zhou, J. Sun, X.-S. Cheng, S.-S. Qian, C.-Y. Zhang, Z.-L. You, H.-L. Zhu, Synthesis, structure, and urease inhibitory activities of three binuclear copper(II) complexes with protocatechuic acid derivative, *J. Coord. Chem.* 67 (2014) 1265–1278. <https://doi.org/10.1080/00958972.2014.910597>.

- [148] L. Xue-Yi, Z. Xiao-Hua, Y. Kai-Bei, J. Liang-Nian, Synthesis, molecular structure and intramolecular aromatic-ring stacking interaction of a novel binuclear Cu(II) complex with 1,10-phenanthroline and phenylacetate, *Chin. J. Chem.* 18 (2000) 638–642. <https://doi.org/10.1002/cjoc.20000180435>.
- [149] L. Kucková, K. Jomová, A. Švorcová, M. Valko, P. Segfa, J. Moncol, J. Kožíšek, Synthesis, Crystal Structure, Spectroscopic Properties and Potential Biological Activities of Salicylate–Neocuproine Ternary Copper(II) Complexes, *Molecules*. 20 (2015) 2115–2137. <https://doi.org/10.3390/molecules20022115>.
- [150] M. Muslim, M. Ahmad, M. Arish, M.J. Alam, A. Alarifi, Mohd. Afzal, N. Sepay, S. Ahmad, 5-Hydroxyisophthalic acid and neocuproine containing copper(II) complex as a promising cytotoxic agent: Structure elucidation, topology, Hirshfeld surface, DFT calculations, and molecular docking analysis, *J. Mol. Struct.* 1270 (2022) 133879. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.133879>.
- [151] T. Tokii, N. Hamamura, M. Nakashima, Y. Muto, Crystal Structures and Magnetic Properties of Novel μ -Carboxylato- μ -Hydroxo-Bridged Binuclear Copper(II) Complexes with 1,10-Phenanthroline, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 65 (1992) 1214–1219. <https://doi.org/10.1246/bcsj.65.1214>.
- [152] M. Nishio, The CH/ π hydrogen bond in chemistry. Conformation, supramolecules, optical resolution and interactions involving carbohydrates, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 13 (2011) 13873–13900. <https://doi.org/10.1039/C1CP20404A>.
- [153] R. Kapoor, R. Sharma, P. Kapoor, Dioxobis(Carboxylato)Chromium(VI) and Oxo(Carboxylato)Chromium(III): Reactions of CrO₃ with Carboxylic Acid Anhydrides, *Z. Für Naturforschung B.* 39 (1984) 1702–1705. <https://doi.org/10.1515/znb-1984-1214>.
- [154] S. Massignani, R. Scatena, A. Lanza, M. Monari, F. Condello, F. Nestola, C. Pettinari, F. Zorzi, L. Pandolfo, Coordination polymers from mild condition reactions of copper(II) carboxylates with pyrazole (Hpz). Influence of carboxylate basicity on the self-assembly of the [Cu₃(μ -3-OH)(μ -pz)₃]²⁺ secondary building unit, *Inorganica Chim. Acta.* 455 (2017) 618–626. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2016.05.009>.
- [155] M. Iqbal, S. Ali, M.N. Tahir, Octahedral copper(II) carboxylate complex: synthesis, structural description, DNA-binding and anti-bacterial studies, *J. Coord. Chem.* 71 (2018) 991–1002. <https://doi.org/10.1080/00958972.2018.1456655>.
- [156] T. Petrov, I. Markova, O. Chauvet, R. Nikolov, I. Denev, Sem and ft-ir spectroscopy study of Cu, Sn and Cu-Sn nanoparticles, *J. Univ. Chem. Technol. Metall.* 47 (2012) 197–206.
- [157] I. Ardelean, S. Cora, FT-IR, Raman and UV–VIS spectroscopic studies of copper doped 3Bi₂O₃·B₂O₃ glass matix, *J. Mater. Sci. Mater. Electron.* 19 (2008) 584–588. <https://doi.org/10.1007/s10854-007-9393-3>.
- [158] S. Iglesias, N. Alvarez, M.G. Kramer, M.H. Torre, E. Kremer, J. Ellena, A.J. da Costa Filho, G. Facchin, Structural characterization and cytotoxic activity of heteroleptic copper (II) complexes with l-dipeptides and 5-NO₂-phenanthroline.: crystal structure of [Cu(Phe- Ala)(5-NO₂-Phen)], *Struct. Chem. Crystallogr. Commun.* 1 (2015) 1–7.
- [159] N. Shahabadi, M. Falsafi, N.H. Moghadam, DNA interaction studies of a novel Cu(II) complex as an intercalator containing curcumin and bathophenanthroline ligands, *J. Photochem. Photobiol. B.* 122 (2013) 45–51. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2013.03.002>.
- [160] N. Muhammad, M. Ikram, F. Perveen, M. Ibrahim, M. Ibrahim, Abel, Viola, S. Rehman, S. Shujah, W. Khan, D.F. Shams, C. Schulzke, Syntheses, crystal structures and DNA binding potential of copper(II) carboxylates, *J. Mol. Struct.* 1196 (2019) 771–782. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.07.014>.
- [161] R.K. Ray, G.B. Kauffman, An EPR study of some copper(II) coordination compounds of substituted biguanides. Part IV, *Inorganica Chim. Acta.* 174 (1990) 257–262. [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(00\)80309-6](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(00)80309-6).

- [162] P.P. Borbat, A.J. Costa-Filho, K.A. Earle, J.K. Moscicki, J.H. Freed, Electron Spin Resonance in Studies of Membranes and Proteins, *Science*. 291 (2001) 266–269. <https://doi.org/10.1126/science.291.5502.266>.
- [163] R. P. Sartoris, V. T. Santana, E. Freire, R. F. Baggio, O. R. Nascimento, R. Calvo, Exchange couplings and quantum phases in two dissimilar arrays of similar copper dinuclear units, *Dalton Trans.* 49 (2020) 5228–5240. <https://doi.org/10.1039/D0DT00567C>.
- [164] M. K. Bhattacharyya, U. Saha, D. Dutta, A. Das, A. K. Verma, A. Frontera, Solvent-driven structural topology involving energetically significant intra- and intermolecular chelate ring contacts and anticancer activities of Cu(ii) phenanthroline complexes involving benzoates: experimental and theoretical studies, *RSC Adv.* 9 (2019) 16339–16356. <https://doi.org/10.1039/C9RA01181A>.
- [165] E. Kokot, R.L. Martin, Magnetic properties of anhydrous copper(II) nitrate, *Chem. Commun. Lond.* (1965) 187a–187a. <https://doi.org/10.1039/C1965000187A>.
- [166] D.V. Scaltrito, D.W. Thompson, J.A. O'Callaghan, G.J. Meyer, MLCT excited states of cuprous bis-phenanthroline coordination compounds, *Coord. Chem. Rev.* 208 (2000) 243–266. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(00\)00309-X](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(00)00309-X).
- [167] S. Mahadevan, M. Palaniandavar, Spectroscopic and Voltammetric Studies on Copper Complexes of 2,9-Dimethyl-1,10-phenanthrolines Bound to Calf Thymus DNA, *Inorg. Chem.* 37 (1998) 693–700. <https://doi.org/10.1021/ic961066r>.
- [168] D. Kivelson, R. Neiman, ESR Studies on the Bonding in Copper Complexes, *J. Chem. Phys.* 35 (2004) 149–155. <https://doi.org/10.1063/1.1731880>.
- [169] M.S. Mohamed, A.A. Shoukry, A.G. Ali, Synthesis and structural characterization of ternary Cu (II) complexes of glycine with 2,2'-bipyridine and 2,2'-dipyridylamine. The DNA-binding studies and biological activity, *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* 86 (2012) 562–570. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2011.11.015>.
- [170] A.A.R. Despaigne, G.L. Parrilha, J.B. Izidoro, P.R. da Costa, R.G. dos Santos, O.E. Piro, E.E. Castellano, W.R. Rocha, H. Beraldo, 2-Acetylpyridine- and 2-benzoylpyridine-derived hydrazones and their gallium(III) complexes are highly cytotoxic to glioma cells, *Eur. J. Med. Chem.* 50 (2012) 163–172. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.01.051>.
- [171] J. Morizzi, M. Hobday, C. Rix, Gallium(III) organophosphonate adducts with the bidentate amines 2,2'-bipyridyl and 1,10-phenanthroline, *Inorganica Chim. Acta.* 320 (2001) 67–74. [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(01\)00471-6](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(01)00471-6).
- [172] J.P. Dombrowski, M.S. Ziegler, N.M. Phadke, E. Mansoor, D.S. Levine, R.J. Witzke, M. Head-Gordon, A.T. Bell, T.D. Tilley, Siloxyaluminate and Siloxygallate Complexes as Models for Framework and Partially Hydrolyzed Framework Sites in Zeolites and Zeotypes, *Chem. – Eur. J.* 27 (2021) 307–315. <https://doi.org/10.1002/chem.202002926>.
- [173] S. Mishra, E. Jeanneau, S. Daniele, V. Mendez, Aminoalkoxo-supported heteroleptic hexanuclear gallium(III) wheel as a synthon for group 13 heterometallics: A rare sol–gel precursor for mixed Al–Ga oxide as support for gold catalysts, *Dalton Trans.* 39 (2010) 7440–7443. <https://doi.org/10.1039/C0DT00485E>.
- [174] S. Matsunaga, J. Das, J. Roels, E.M. Vogl, N. Yamamoto, T. Iida, K. Yamaguchi, M. Shibasaki, Catalytic Enantioselective meso-Epoxy Ring Opening Reaction with Phenolic Oxygen Nucleophile Promoted by Gallium Heterobimetallic Multifunctional Complexes, *J. Am. Chem. Soc.* 122 (2000) 2252–2260. <https://doi.org/10.1021/ja993650f>.
- [175] M. Valet, D.M. Hoffman, Synthesis of Homoleptic Gallium Alkoxide Complexes and the Chemical Vapor Deposition of Gallium Oxide Films, *Chem. Mater.* 13 (2001) 2135–2143. <https://doi.org/10.1021/cm0014177>.

- [176] W. Ziemkowska, R. Anulewicz-Ostrowska, M. Cyrański, Synthesis and structural characterisation of alkylaluminium and alkylgallium pinacولات, *Polyhedron*. 27 (2008) 962–968. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2007.11.027>.
- [177] L. Liu, S.-K. Lo, C. Smith, J.M. Goicoechea, Pincer-Supported Gallium Complexes for the Catalytic Hydroboration of Aldehydes, Ketones and Carbon Dioxide, *Chem. – Eur. J.* 27 (2021) 17379–17385. <https://doi.org/10.1002/chem.202103009>.
- [178] T.B. Karpishin, T.D.P. Stack, K.N. Raymond, Stereoselectivity in chiral iron(III) and gallium(III) tris(catecholate) complexes effected by nonbonded weakly polar interactions, *ACS Publ.* (2002). <https://doi.org/10.1021/ja00067a029>.
- [179] S. Halis, H. Reinsch, N. Stock, Synthesis and Characterization of $[M_2(OH)_2(C_4O_4)_2(H_2O)_4] \cdot 2H_2O$ ($M = Al$ or Ga), *Z. Für Anorg. Allg. Chem.* 642 (2016) 1340–1344. <https://doi.org/10.1002/zaac.201600366>.
- [180] G.L. Abbati, L.-C. Brunel, H. Casalta, A. Cornia, A.C. Fabretti, D. Gatteschi, A.K. Hassan, A.G.M. Jansen, A.L. Maniero, L. Pardi, C. Paulsen, U. Segre, Single-Ion versus Dipolar Origin of the Magnetic Anisotropy in Iron(III)-Oxo Clusters: A Case Study, *Chem. – Eur. J.* 7 (2001) 1796–1807. [https://doi.org/10.1002/1521-3765\(20010417\)7:8<1796::AID-CHEM17960>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/1521-3765(20010417)7:8<1796::AID-CHEM17960>3.0.CO;2-Y).
- [181] S. Gómez-Ruiz, B. Gallego, M.R. Kaluđerović, H. Kommera, E. Hey-Hawkins, R. Paschke, G.N. Kaluđerović, Novel gallium(III) complexes containing phthaloyl derivatives of neutral aminoacids with apoptotic activity in cancer cells, *J. Organomet. Chem.* 694 (2009) 2191–2197. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2009.02.027>.
- [182] A.V. Maleeva, O.Yu. Trofimova, I.V. Ershova, K.V. Arsenyeva, K.I. Pashanova, I.A. Yakushev, A.V. Cherkasov, R.R. Aysin, A.V. Piskunov, Molecular and electronic structures of paramagnetic gallium complexes with differently charged o-quinone ligands, *Russ. Chem. Bull.* 71 (2022) 1441–1452. <https://doi.org/10.1007/s11172-022-3550-y>.
- [183] Z. Wang, J. Li, B.M. Benin, B. Yu, S.D. Bunge, N. Abeydeera, S.D. Huang, M.-H. Kim, Lipophilic Ga Complex with Broad-Spectrum Antimicrobial Activity and the Ability to Overcome Gallium Resistance in both *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*, *J. Med. Chem.* 64 (2021) 9381–9388. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c00656>.
- [184] R.A. Vincent, G. Passeri, J. Northcote-Smith, K. Singh, K. Suntharalingam, The Osteosarcoma Stem Cell Activity of a Gallium(III)-Phenanthroline Complex Appended to Salicylate, *ChemBioChem*. 23 (2022) e202200532. <https://doi.org/10.1002/cbic.202200532>.
- [185] R. Loganathan, S. Ramakrishnan, M. Ganeshpandian, N.S.P. Bhuvanesh, M. Palaniandavar, A. Riyasdeen, M.A. Akbarsha, Mixed ligand copper(II) dicarboxylate complexes: the role of co-ligand hydrophobicity in DNA binding, double-strand DNA cleavage, protein binding and cytotoxicity, *Dalton Trans.* 44 (2015) 10210–10227. <https://doi.org/10.1039/C4DT03879G>.
- [186] R. Loganathan, M. Ganeshpandian, N.S.P. Bhuvanesh, M. Palaniandavar, A. Muruganantham, S.K. Ghosh, A. Riyasdeen, M.A. Akbarsha, DNA and protein binding, double-strand DNA cleavage and cytotoxicity of mixed ligand copper(II) complexes of the antibacterial drug nalidixic acid, *J. Inorg. Biochem.* 174 (2017) 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2017.05.001>.
- [187] M. Tabatabaee, M. Bordbar, M. Ghassemzadeh, M. Tahriri, M. Tahrir, Z. Mehri Lighvan, B. Neumüller, Two new neutral copper(II) complexes with dipicolinic acid and 3-amino-1H-1,2,4-triazole formed under different reaction conditions: Synthesis, characterization, molecular structures and DNA-binding studies, *Eur. J. Med. Chem.* 70 (2013) 364–371. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.10.009>.
- [188] Z. Boulsourani, G.D. Geromichalos, S. Katsamakas, V. Psycharis, C.P. Raptopoulou, D. Hadjipavlou-Litina, D. Sahnazidou, C. Dendrinos-Samara, Mononuclear copper(II) complexes with 2-thiophene carboxylate and N-N donors; DNA interaction, antioxidant/anti-inflammatory and antitumor activity, *Mater. Sci. Eng. C*. 94 (2019) 493–508. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.09.059>.

- [189] B. Annaraj, C. Balakrishnan, M.A. Neelakantan, Synthesis, structure information, DNA/BSA binding affinity and in vitro cytotoxic studies of mixed ligand copper(II) complexes containing a phenylalanine derivative and diimine co-ligands, *J. Photochem. Photobiol. B.* 160 (2016) 278–291. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.04.021>.
- [190] T. Hirohama, Y. Kuranuki, E. Ebina, T. Sugizaki, H. Ariei, M. Chikira, P. Tamil Selvi, M. Palaniandavar, Copper(II) complexes of 1,10-phenanthroline-derived ligands: Studies on DNA binding properties and nuclease activity, *J. Inorg. Biochem.* 99 (2005) 1205–1219. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2005.02.020>.
- [191] F. Dimiza, F. Perdihi, V. Tangoulis, I. Turel, D.P. Kessissoglou, G. Psomas, Interaction of copper(II) with the non-steroidal anti-inflammatory drugs naproxen and diclofenac: Synthesis, structure, DNA- and albumin-binding, *J. Inorg. Biochem.* 105 (2011) 476–489. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2010.08.013>.
- [192] C.T. Pich, P.R. dos Santos, T.V.O. Fortunato, M. Chiarello, I.M. de Oliveira, B.Q. Soares, N.E. Ghermani, M. Machado, M. Roesch-Ely, F. Dumas, H. Terenzi, J.A.P. Henriques, S. Moura, Mixed Ternary Mononuclear Copper(II) Complexes Based on Valproic Acid with 1,10-Phenanthroline and 2,2'-Bipyridine Ligands: DNA Interaction and Cytotoxicity in V79 Cells, *J. Braz. Chem. Soc.* 30 (2019) 597–613. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20180229>.
- [193] J. Kypr, I. Kejnovská, D. Renčiuk, M. Vorlíčková, Circular dichroism and conformational polymorphism of DNA, *Nucleic Acids Res.* 37 (2009) 1713–1725. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp026>.
- [194] G. Psomas, A. Tarushi, E.K. Efthimiadou, Y. Sanakis, C.P. Raptopoulou, N. Katsaros, Synthesis, structure and biological activity of copper(II) complexes with oxolinic acid, *J. Inorg. Biochem.* 100 (2006) 1764–1773. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2006.06.012>.
- [195] S. Rajalakshmi, T. Weyhermüller, A.J. Freddy, H.R. Vasanthi, B.U. Nair, Anomalous behavior of pentacoordinate copper complexes of dimethylphenanthroline and derivatives of terpyridine ligands: Studies on DNA binding, cleavage and apoptotic activity, *Eur. J. Med. Chem.* 46 (2011) 608–617. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.11.041>.
- [196] S.U. Rehman, T. Sarwar, M.A. Husain, H.M. Ishqi, M. Tabish, Studying non-covalent drug–DNA interactions, *Arch. Biochem. Biophys.* 576 (2015) 49–60. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2015.03.024>.
- [197] P. Krishnamoorthy, P. Sathyadevi, K. Senthilkumar, P.T. Muthiah, R. Ramesh, N. Dharmaraj, Copper(I) hydrazone complexes: Synthesis, structure, DNA binding, radical scavenging and computational studies, *Inorg. Chem. Commun.* 14 (2011) 1318–1322. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2011.05.004>.
- [198] D. Varna, G. Psomas, T. Choli-Papadopoulou, R. Papi, A.G. Hatzidimitriou, P. Aslanidis, Dinuclear copper(I) complexes of N-methylbenzothiazole-2-thione: synthesis, structures, antibacterial activity and DNA interaction, *J. Coord. Chem.* 69 (2016) 2500–2513. <https://doi.org/10.1080/00958972.2016.1206893>.
- [199] S. Satyanarayana, J.C. Dabrowiak, J.B. Chaires, Neither .DELTA.- nor .LAMBDA.-tris(phenanthroline)ruthenium(II) binds to DNA by classical intercalation, *Biochemistry.* 31 (1992) 9319–9324. <https://doi.org/10.1021/bi00154a001>.
- [200] L. Kapicak, E.J. Gabbay, Topography of nucleic acid helices in solutions. XXXIII. Effect of aromatic cations on the tertiary structures of deoxyribonucleic acid, *ACS Publ.* (2002). <https://doi.org/10.1021/ja00835a031>.
- [201] P. Gratal, M.-S. Arias-Pérez, L. Gude, 1H-imidazo[4,5-f][1,10]phenanthroline carbohydrate conjugates: Synthesis, DNA interactions and cytotoxic activity, *Bioorganic Chem.* 125 (2022) 105851. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2022.105851>.

- [202] S. Ramakrishnan, M. Palaniandavar, Mixed-ligand copper(II) complexes of dipicolylamine and 1,10-phenanthrolines: The role of diimines in the interaction of the complexes with DNA, *J. Chem. Sci.* 117 (2005) 179–186. <https://doi.org/10.1007/BF03356114>.
- [203] L.-G. Liu, Y.-M. Sun, Z.-Y. Liu, Y.-H. Liao, L. Zeng, Y. Ye, H.-Y. Liu, Halogenated Gallium Corroles: DNA Interaction and Photodynamic Antitumor Activity, *Inorg. Chem.* 60 (2021) 2234–2245. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.0c03016>.
- [204] M.-Y. Li, W. Yang, J.-H. Cen, L.-G. Liu, G. Yang, H.-Y. Liu, Y.-H. Liao, X.-H. Zhong, Gallium(III) Amide Corroles: DNA Interaction and Photodynamic Activity in Cancer Cells, *ChemPlusChem.* 88 (2023) e202200413. <https://doi.org/10.1002/cplu.202200413>.
- [205] F.A. Beckford, A. Brock, A. Gonzalez-Sarrías, N.P. Seeram, Cytotoxic gallium complexes containing thiosemicarbazones derived from 9-anthraldehyde: Molecular docking with biomolecules, *J. Mol. Struct.* 1121 (2016) 156–166. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.05.075>.
- [206] J.-M. Wang, Y. Li, H.-Q. Yuan, D.-H. Wu, X. Ying, L. Shi, H.-T. Zhang, H.-Y. Liu, Methyl Benzoate Gallium(III) corrole complexes: DNA-binding, Photocleavage Activity, Cytotoxicity on Tumor Cells, *Appl. Organomet. Chem.* 31 (2017) e3571. <https://doi.org/10.1002/aoc.3571>.
- [207] B. Gallego, M.R. Kaluđerović, H. Kommera, R. Paschke, E. Hey-Hawkins, T.W. Remmerbach, G.N. Kaluđerović, S. Gómez-Ruiz, Cytotoxicity, apoptosis and study of the DNA-binding properties of bi- and tetranuclear gallium(III) complexes with heterocyclic thiolato ligands, *Invest. New Drugs.* 29 (2011) 932–944. <https://doi.org/10.1007/s10637-010-9449-8>.
- [208] R.C.F. Leitao, F. Silva, G.H. Ribeiro, I.C. Santos, J.F. Guerreiro, F. Mendes, A.A. Batista, F.R. Pavan, P.I. da S. Maia, A. Paulo, V.M. Deflon, Gallium and indium complexes with isoniazid-derived ligands: Interaction with biomolecules and biological activity against cancer cells and *Mycobacterium tuberculosis*, *J. Inorg. Biochem.* 240 (2023) 112091. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2022.112091>.
- [209] Z.D. Schultz, I.M. Pazos, F.K. McNeil-Watson, E.N. Lewis, I.W. Levin, Magnesium-Induced Lipid Bilayer Microdomain Reorganizations: Implications for Membrane Fusion, *J. Phys. Chem. B.* 113 (2009) 9932–9941. <https://doi.org/10.1021/jp9011944>.
- [210] L.G.M. Basso, R.Z. Rodrigues, R.M.Z.G. Naal, A.J. Costa-Filho, Effects of the antimalarial drug primaquine on the dynamic structure of lipid model membranes, *Biochim. Biophys. Acta BBA - Biomembr.* 1808 (2011) 55–64. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2010.08.009>.
- [211] Z.Ö. Çetinel, D. Bilge, The effects of miltefosine on the structure and dynamics of DPPC and DPPS liposomes mimicking normal and cancer cell membranes: FTIR and DSC studies, *J. Mol. Liq.* 356 (2022) 119041. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.119041>.
- [212] P. Freddi, Interações entre complexos de interesse farmacológico e modelos de membrana, *Mestrado em Física Aplicada à Medicina e Biologia*, Universidade de São Paulo, 2013. <https://doi.org/10.11606/D.59.2013.tde-15102013-112806>.
- [213] M. Budai, Z. Szabó, M. Szógyi, P. Gróf, Molecular interactions between DPPC and morphine derivatives: a DSC and EPR study, *Int. J. Pharm.* 250 (2003) 239–250. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(02\)00560-4](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(02)00560-4).
- [214] A.M. Bukonjić, D.Lj. Tomović, A.S. Stanković, V.V. Jevtić, Z.R. Ratković, J.V. Bogojeski, J.Z. Milovanović, D.B. Đorđević, A.N. Arsenijević, M.Z. Milovanović, I. Potočňák, S.R. Trifunović, G.P. Radić, Synthesis, characterization and biological activity of copper(II) complexes with ligands derived from β -amino acids, *Transit. Met. Chem.* 44 (2019) 65–76. <https://doi.org/10.1007/s11243-018-0270-0>.
- [215] M.V. Alipázaga, G. Cerchiaro, H.D. Moya, N. Coichev, Oxidative DNA damage induced by S(IV) in the presence of Cu(II) and Cu(I) complexes, *J. Braz. Chem. Soc.* 20 (2009) 1302–1312. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532009000700015>.

- [216] A.C. Alves, D. Ribeiro, C. Nunes, S. Reis, Biophysics in cancer: The relevance of drug-membrane interaction studies, *Biochim. Biophys. Acta BBA - Biomembr.* 1858 (2016) 2231–2244. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2016.06.025>.
- [217] F. Tisato, C. Marzano, M. Porchia, M. Pellei, C. Santini, Copper in diseases and treatments, and copper-based anticancer strategies, *Med. Res. Rev.* 30 (2010) 708–749. <https://doi.org/10.1002/med.20174>.
- [218] G. Facchin, N. Veiga, M.G. Kramer, A.A. Batista, K. Várnagy, E. Farkas, V. Moreno, M.H. Torre, Experimental and theoretical studies of copper complexes with isomeric dipeptides as novel candidates against breast cancer, *J. Inorg. Biochem.* 162 (2016) 52–61. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2016.06.005>.
- [219] M. O'Connor, A. Kellett, M. McCann, G. Rosair, M. McNamara, O. Howe, B.S. Creaven, S. McClean, A. Foltyn-Arfa Kia, D. O'Shea, M. Devereux, Copper(II) Complexes of Salicylic Acid Combining Superoxide Dismutase Mimetic Properties with DNA Binding and Cleaving Capabilities Display Promising Chemotherapeutic Potential with Fast Acting in Vitro Cytotoxicity against Cisplatin Sensitive and Resistant Cancer Cell Lines, *J. Med. Chem.* 55 (2012) 1957–1968. <https://doi.org/10.1021/jm201041d>.
- [220] M. Kumar, G. Kumar, N.K. Mogha, R. Jain, F. Hussain, D.T. Masram, Structure, DNA/proteins binding, docking and cytotoxicity studies of copper(II) complexes with the first quinolone drug nalidixic acid and 2,2'-dipyridylamine, *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* 212 (2019) 94–104. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.12.045>.
- [221] M. Devereux, D. O'Shea, M. O'Connor, H. Grehan, G. Connor, M. McCann, G. Rosair, F. Lyng, A. Kellett, M. Walsh, D. Egan, B. Thati, Synthesis, catalase, superoxide dismutase and antitumour activities of copper(II) carboxylate complexes incorporating benzimidazole, 1,10-phenanthroline and bipyridine ligands: X-ray crystal structures of [Cu(BZA)₂(bipy)(H₂O)], [Cu(SalH)₂(BZDH)₂] and [Cu(CH₃COO)₂(5,6-DMBZDH)₂] (SalH₂=salicylic acid; BZAH=benzoic acid; BZDH=benzimidazole and 5,6-DMBZDH=5,6-dimethylbenzimidazole), *Polyhedron.* 26 (2007) 4073–4084. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2007.05.006>.
- [222] A. Haleel, D. Mahendiran, V. Veena, N. Sakthivel, A.K. Rahiman, Antioxidant, DNA interaction, VEGFR2 kinase, topoisomerase I and in vitro cytotoxic activities of heteroleptic copper(II) complexes of tetrazolo[1,5-a]pyrimidines and diimines, *Mater. Sci. Eng. C.* 68 (2016) 366–382. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.05.120>.
- [223] S.-L. Tang, D.-J. Li, F.-J. Ma, L.-L. Zhang, B. Lian, Y.-Z. Cheng, L.-P. Zhang, Synthesis, structure, and biological properties of Cu(II) complexes based on diimine ligands, *J. Mol. Struct.* 1272 (2023) 134229. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.134229>.
- [224] S. Karpagam, A. Mamindla, V. Kumar Sali, R.S. Niranjana, V.S. Periasamy, A.A. Alshatwi, M.A. Akbarsha, V. Rajendiran, Folic acid-conjugated mixed-ligand copper(II) complexes as promising cytotoxic agents for triple-negative breast cancers: A case study using MDA-MB-231 cell, *Inorganica Chim. Acta.* 531 (2022) 120729. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2021.120729>.
- [225] A. Aliabadi, M. Hakimi, F. Hosseinabadi, E. Motieyan, V.H.N. Rodrigues, M. Ghadermazi, D. Marabello, S. Abdolmaleki, Investigation of X-ray crystal structure and in vitro cytotoxicity of two Ga(III) complexes containing pyridine dicarboxylic acid derivatives and 2-aminobenzimidazole, *J. Mol. Struct.* 1223 (2021) 129005. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129005>.
- [226] G. dos S.S. Firmino, S.C. André, Z. Hastenreiter, V.K. Campos, M.A.L. Abdel-Salam, E.M. de Souza-Fagundes, J.A. Lessa, In vitro assessment of the cytotoxicity of Gallium(III) complexes with Isoniazid-Derived Hydrazones: Effects on clonogenic survival of HCT-116 cells, *Inorganica Chim. Acta.* 497 (2019) 119079. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2019.119079>.

ANEXOS CAPÍTULO 3

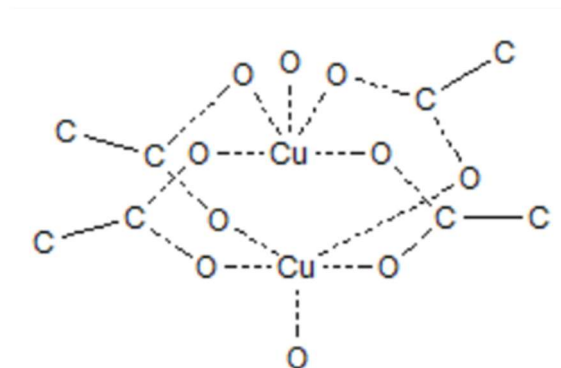


Figura A.3.0. Esquema de la búsqueda realizada en CSD por el programa Conquest.

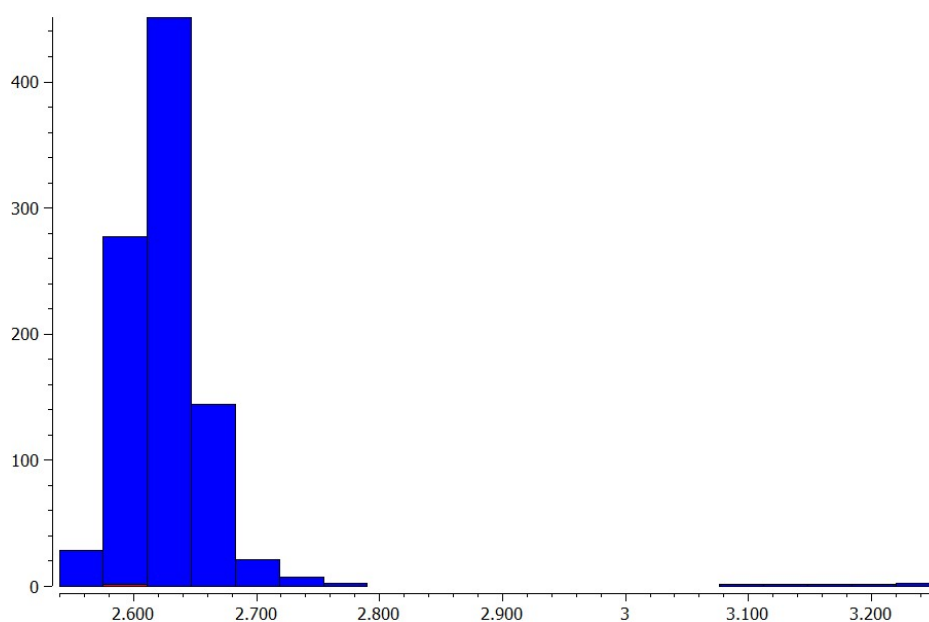


Figura A.3.1. Rango de las distancias Cu...Cu de los complejos con estructuras relacionadas al complejo **CuL1**.

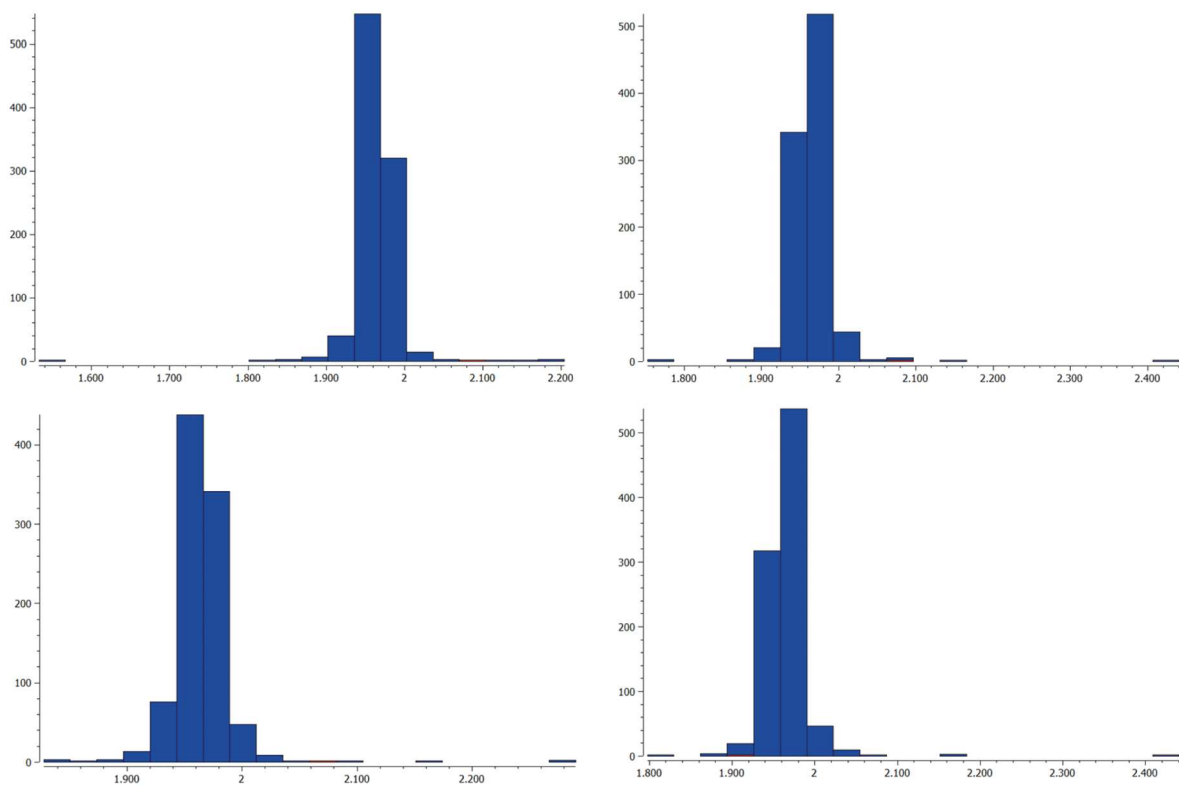


Figura A.3.2. Rango de las distancias Cu-O de los complejos con estructuras relacionadas al complejo **CuL1**.

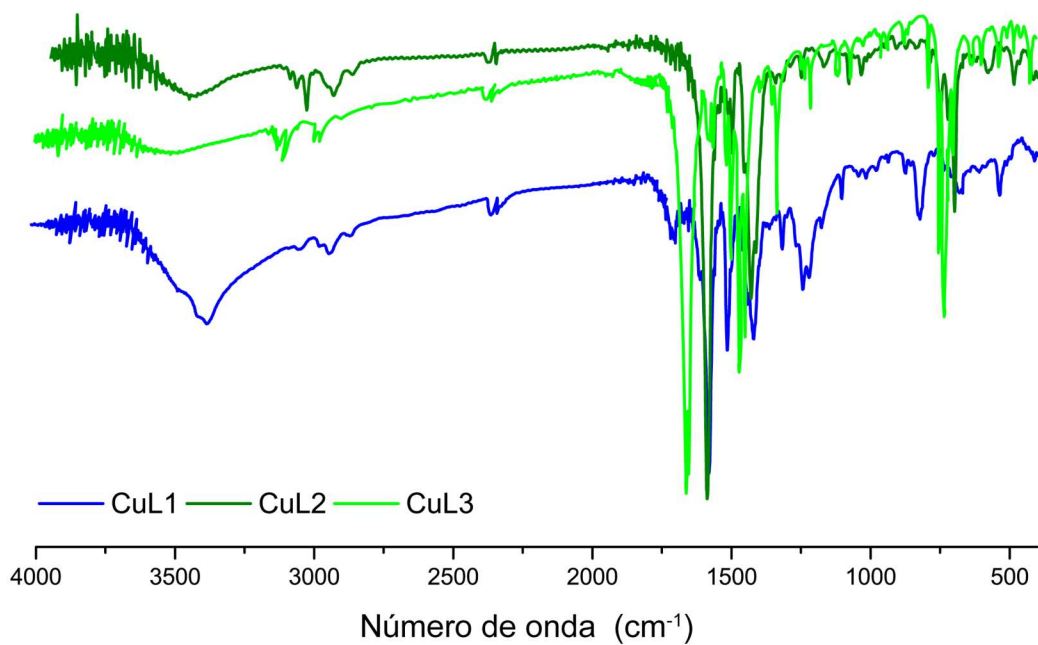


Figura A.3.3. FT-IR de los complejos homoléticos con los ligandos fenilcarboxílicos

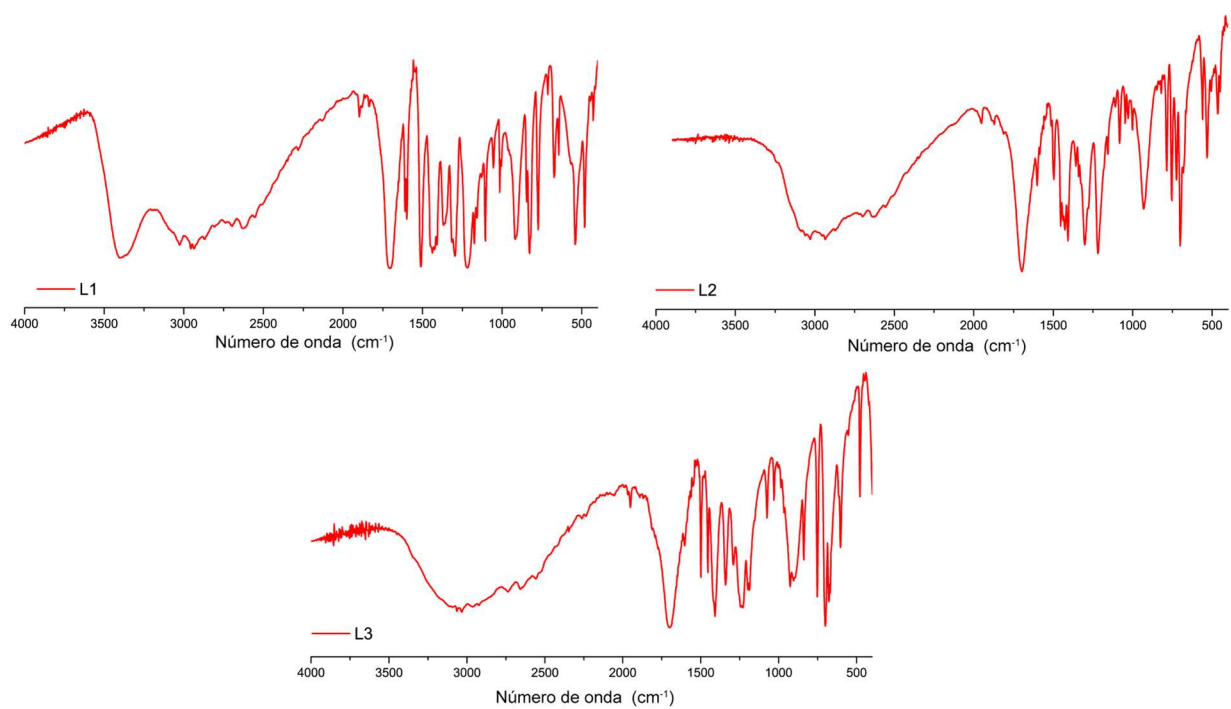


Figura A.3.4. FT-IR de los ligandos fenilcarboxílicos.

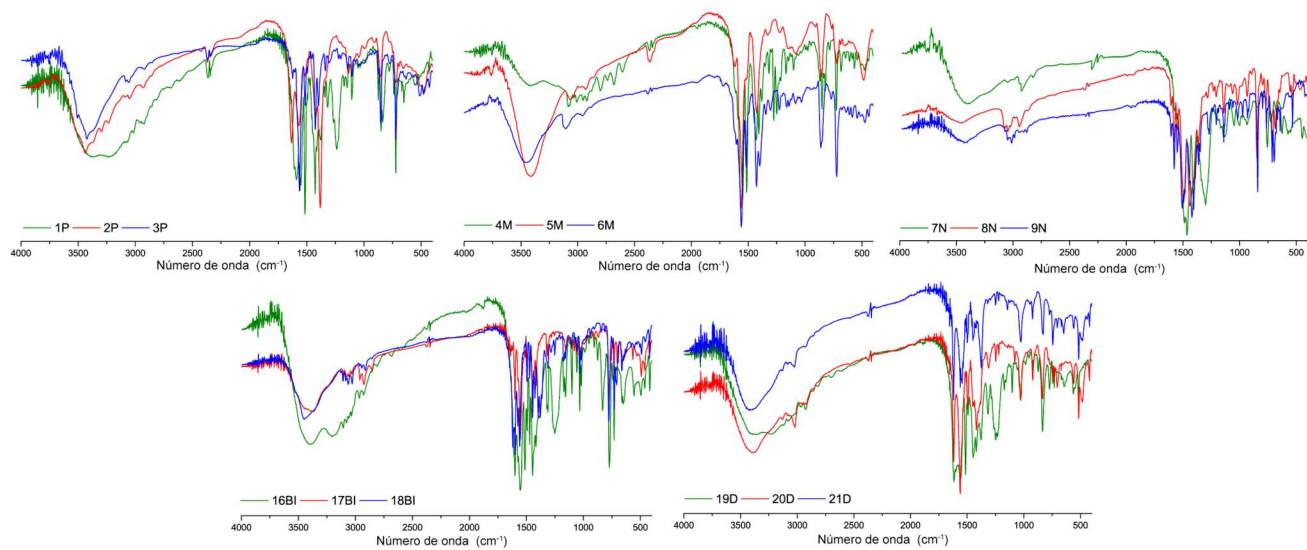


Figura A.3.5. FT-IR de los complejos heterolépticos de Cu(II).

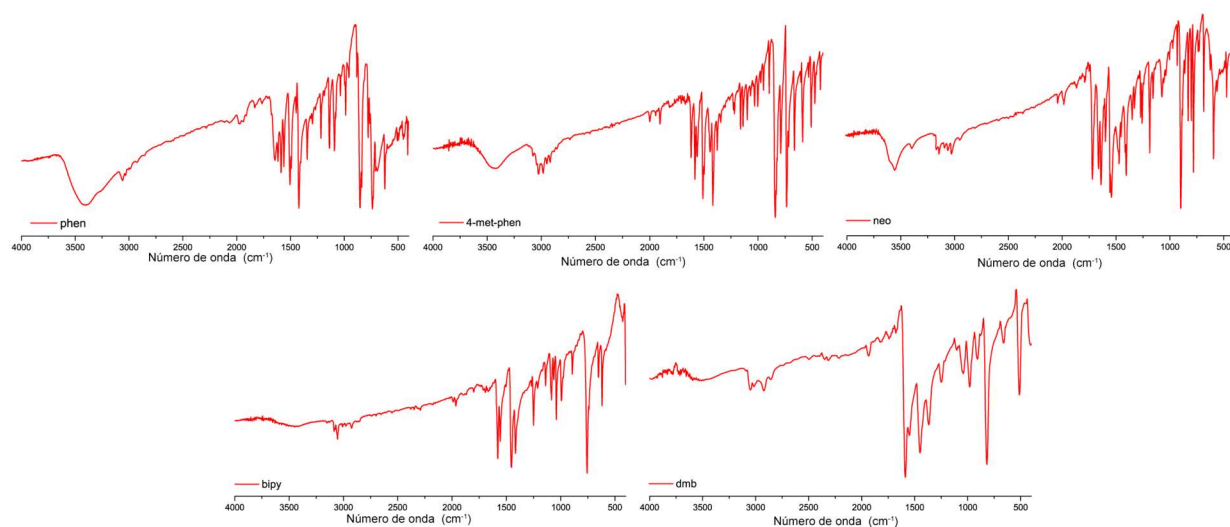


Figura A.3.6. FT-IR de las diiminas usadas en este trabajo.

Tabla A.3.1. Principales bandas vibracionales de las diiminas y su asignación tentativa

Banda	phen	4met-phen	neo	bipy	dmb
$\nu(\text{C}=\text{C})$	1587	1589	1587	1572	1590
$\nu(\text{C}=\text{N})$	1424	1417	1496	1453	1453
$\rho(\text{C-H})$	858	850	849	759	820
$\rho(\text{C-H})$	733	731	725	617	665

ANEXOS CAPÍTULO 4

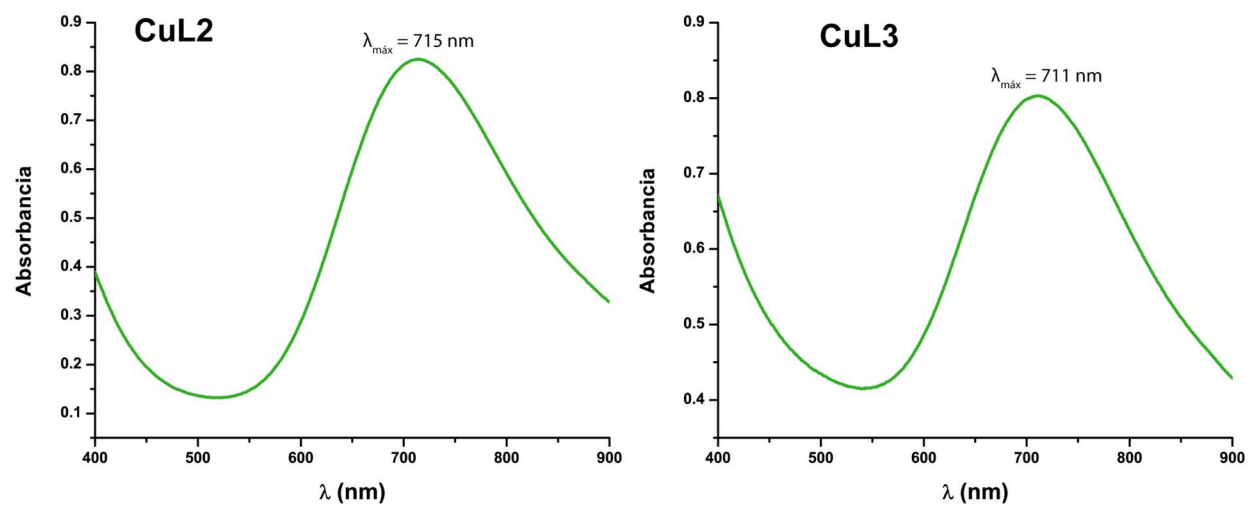


Figura A.4.0. Espectros electrónicos de los complejos homolépticos **CuL2** y **CuL3** en el rango visible.

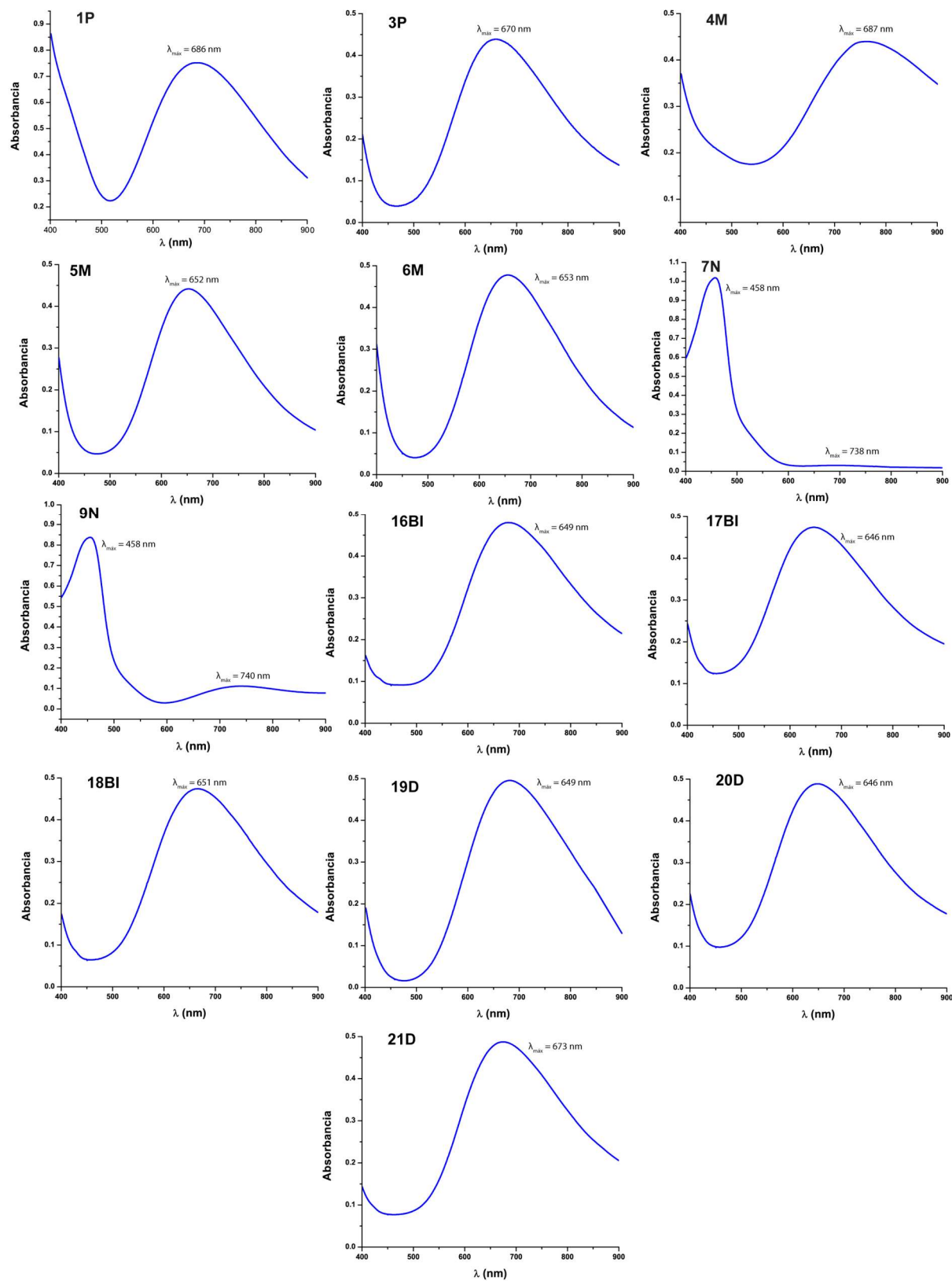


Figura A.4.1. Espectros electrónicos de los complejos heterolépticos en el rango visible.

ANEXOS CAPÍTULO 5

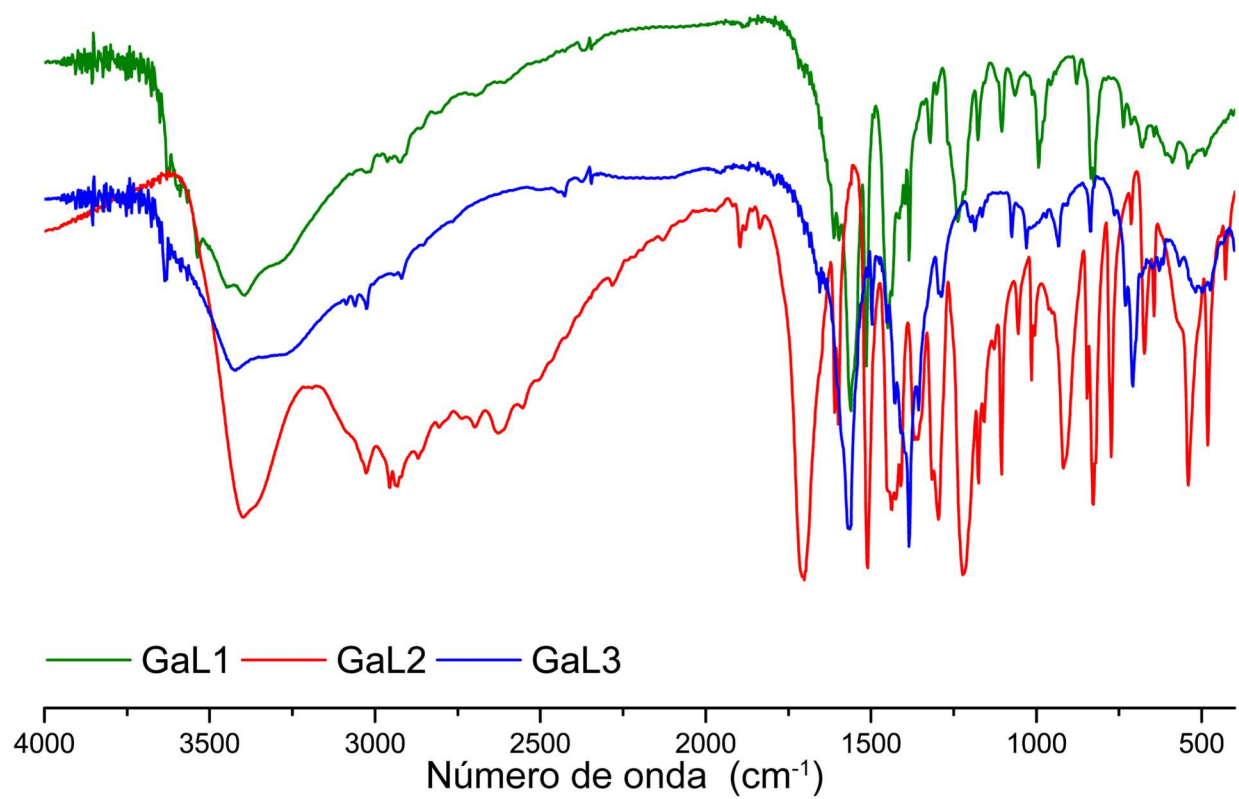


Figura A.5.0. FT-IR de los complejos homolépticos de Ga(III) **GaL1**, **GaL2** y **GaL3**.

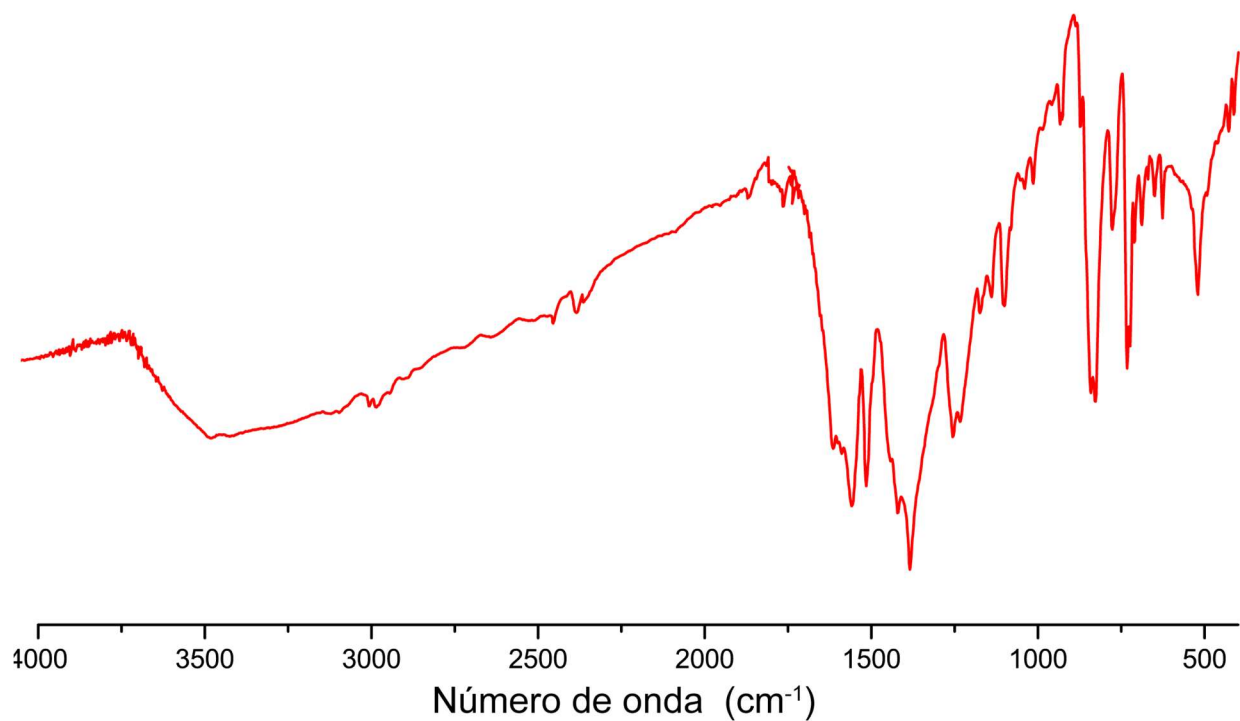


Figura A.5.1. FT-IR del complejo heteroléptico **GaP**.

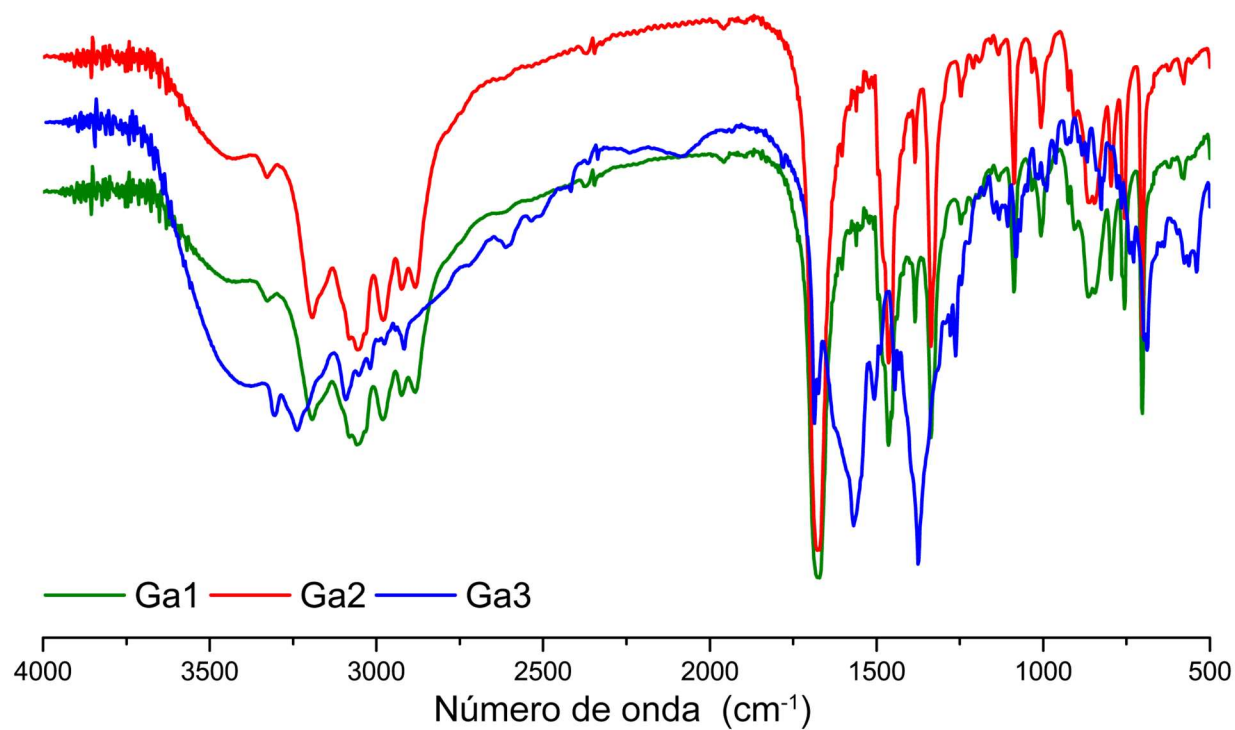


Figura A.5.2. FT-IR de los complejos homolépticos de Ga(III) **Ga1**, **Ga2** y **Ga3**.

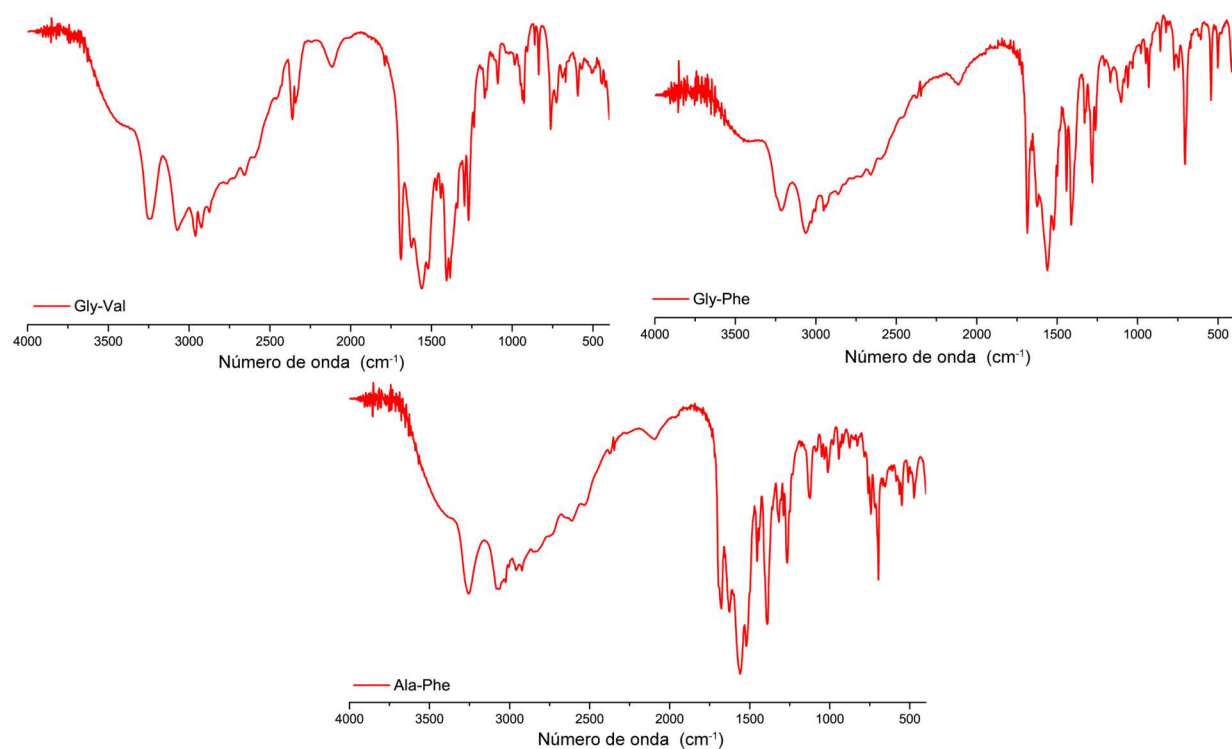


Figura A.5.3. FT-IR de los ligandos dipéptidos usados en este trabajo.