



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

**INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y
APLICADAS**

CENTRO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS

**Diseño, preparación, caracterización y evaluación
citotóxica de complejos de cobre (II) con β -aminoacidatos
como ligantes (Casiopeínas® de tercera generación)**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

**M. en C. JONATHAN ROMAN VALDEZ
CAMACHO**

Directores de la Tesis:

Dr. Jaime Escalante García

Dr. Minhuy Hô

CUERNAVACA, MORELOS

SEPTIEMBRE 2019

El presente trabajo original se desarrolló en los Laboratorios 219 de Síntesis Asimétrica y Cómputo Avanzado del Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, bajo la dirección de los Profesores-Investigadores Dr. Jaime Escalante García y Dr. Minhuy Hô, con apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través del proyecto 256653 y la beca de posgrado 293909. Paralelamente, se desarrollaron cálculos teóricos en el Laboratorio de Supercómputo Científico del Centro de Investigación en Ciencias con el apoyo del proyecto 253973.

DEDICATORIA:

La FELICIDAD no es la ausencia de los problemas sino la habilidad de salir adelante con ellos.

Quise iniciar con esta frase, porque en este momento de dicha me gustaría resaltar que mi paso por el doctorado fue significativamente aligerado pues en cada una de las experiencias que algunos llaman problemas, siempre existieron personas llenas de amor y sabiduría que me acompañaron y aconsejaron. A ellas, quiero dedicar este trabajo que es símbolo de nuestros esfuerzos; quiero que al igual que yo compartan esta alegría, este triunfo. Esto es de ustedes y para ustedes...

Familia, profesores y amigos.

Con todo mi respeto, amor y admiración.

Su amigo, su hermano, su hijo.

Jonhy

AGRADECIMIENTOS

A mi FAMILIA, para quien soy, para quien existo, para quien también está; a ustedes, este y todos mis triunfos.

A mis asesores de Tesis, los Doctores Jaime Escalante García y Minhuy Hô, a quienes aspiro como seres humanos y que son mi camino a seguir en lo profesional.

A los miembros de mi Comité Tutorial, que siempre tuvieron tiempo en sus apretadas agendas para dedicarme. A ellos que no solo compartieron su tiempo, sino también su saber, su aprecio y amistad: Dra. Lena Ruiz-Azuara, Dra. Virginia Montiel-Palma, Dr. Jaime Escalante y Dr. Minhuy Hô.

A los miembros de mi Comité revisor de tesis, por darme la oportunidad de mejorar significativamente este documento: Dra. Lena Ruiz-Azuara, Dra. Laura Patricia Álvarez-Berber, Dr. Ramón Hernández-Lamoneda, Dr. Eusebio Juaristi, Dr. Herbert Höpfl, Dr. Alfredo Vázquez, Dr. Gabriel Navarrete.

A la Facultad de Química de la UNAM, por las facilidades otorgadas en el préstamo de servicios analíticos, indispensables para la continuación y conclusión del presente proyecto.

A la Dra. Lena Ruiz-Azuara, quien accedió a asesorarnos y de esta manera poder llegar a la conclusión de este trabajo. Mi muy querida Dra. Ruiz, no lo habría logrado sin usted. Muchas gracias.

Al Dr. Alejandro Ramírez-Solís, quien desinteresadamente accedió a ofrecernos todas las facilidades en el uso de su supercomputadora y de este modo no únicamente poder completar los estudios teóricos planteados, sino incluso extenderlos, tanto como para dar lugar a una futura publicación.

A la Dra. Angélica Meneses de la Facultad de Farmacia-UAEM. Por brindarnos su apoyo y recursos económicos, de infraestructura y humanos para de determinación de la capacidad antiproliferativa de mis compuestos.

Al Dr. Herbert Höpfl, quien me apoyó en el proceso de refinamiento y discusión de las estructuras de rayos-X de monocristal de los compuestos que se difractaron en el presente trabajo.

Al M. en F. Carlos Tavira, quien dedicaba días enteros para que pudiéramos desarrollar las pruebas de actividad biológica de los compuestos. De verdad, muchas gracias amiguito.

A la Dra. María Vásquez, pieza clave muchos de los resultados que se presentan en el trabajo. Lupita, agradezco tanto tu paciencia.

Al CINVESTAV, por las facilidades otorgadas en la difracción de rayos-X de las muestras presentadas en este trabajo.

A mis compañeros de laboratorio 219 del CIQ: Gabriel, Letty, Adrián, Nuñez, Neri, Karen, Mitzi, Yaqui; por brindarme su amistad y su apoyo constante. Por regalarme momentos llenos de dicha y alegría.

A mis compañeros del laboratorio de la Facultad de Química de la UNAM: Adrián, Jess, Cyn, Zenaida. Quienes con los brazos abiertos me recibían en mis visitas constantes.

A los técnicos académicos del CIQ: Blanquita, Ángeles, Cris, Raúl, Mary, Gaby, Perlita y Roberto; quienes nunca se aturdieron con mis constantes visitas a solicitar de su apoyo y quienes fueron pieza clave en la elucidación de mis estructuras, pilar de este trabajo.

A mis queridos maestros de la Facultad de Ciencias, quienes siempre supieron soportar mi a veces pesado humor y que me recompensaron con la riqueza más grande, el SABER.

Al Centro de Investigaciones Químicas, por todas las facilidades brindadas.

A CONACyT, por brindarme su apoyo económico con número de becario 293909.

ÍNDICE GENERAL

Abreviaturas y Símbolos.....	v
Glosario.....	ix
Índice de Compuestos.....	xi
Índice de Tablas.....	xiii
Índice de Esquemas.....	xiv
Índice de Figuras.....	xvi
Resumen.....	xxi
Abstract.....	xxv

PREPARACIÓN, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN CITOTÓXICA DE QUELATOS DE COBRE(II) CON β^2 - Y β^3 -AMINOACIDATOS (CASIOPEÍNAS® DE TERCERA GENERACIÓN).

1. Introducción.....	3
2. Antecedentes.....	7
2.1 Química Bioinorgánica.....	9
2.2 Importancia del indol y sus derivados.....	12
2.3 Ácido 3-indolacético y sus derivados: una posible alternativa para el tratamiento del cáncer...	14
2.4 Los β -amino ácidos: importancia y síntesis.....	17
2.4.1 Síntesis de β -amino ácidos <i>vía</i> adiciones de Michael.....	20
2.4.2 Síntesis de β -amino ácidos <i>vía</i> aminometilación.....	24
2.5 Casiopeínas®.....	26
3. Planteamiento del proyecto.....	31
4. Hipótesis.....	35
5. Objetivos.....	39
6. Metodología.....	43
6.1 Información General.....	45
6.2 Reactivos, disolventes y líneas celulares.....	45
6.3 Instrumental.....	45
6.4 Análisis de difracción de rayos-X de polvos (PXRD) y de monocristal (SCXRD).....	46
6.5 Análisis de superficie de Hishfeld.....	48
6.6 Mediciones de voltamperometría cíclica.....	49
6.7 Mediciones de la capacidad inhibitoria de los complejos frente a líneas celulares cancerígenas (MCF-7 y A549) y normales (HEK293 y HaCAT).....	49
6.8 Preparación de las sales de <i>N</i> -aciliminio. Procedimiento General 1	50

6.9 Preparación de los β^2 -amino ésteres <i>N</i> -, <i>N,N</i> - o <i>N,N'</i> -protegidos. Procedimiento General 2....	50
6.10 Síntesis del éster bencílico derivado de la Indometacina (2a).....	51
6.11 Síntesis del éster metílico derivado de la Indometacina (2b).....	51
6.12 Síntesis del <i>N,N</i> -acetal (4a).....	52
6.13 Síntesis del <i>N,O</i> -acetal (4b).....	52
6.14 Síntesis del <i>N,O</i> -acetal quiral (4c).....	53
6.15 Síntesis del (\pm)- β^2 -amino éster bencílico <i>N,N</i> -protegido (5a).....	53
6.16 Síntesis del (\pm)- β^2 -amino éster bencílico <i>N</i> -Cbz protegido (5b).....	54
6.17 Síntesis del (\pm)- β^2 -amino éster metílico <i>N</i> -Cbz protegido (5c).....	55
6.18 Síntesis del (\pm)- β^2 -amino éster metílico <i>N,N</i> -protegido (5d).....	55
6.19 Síntesis del éster bencílico derivado de la Indometacina α -metilado (6).....	56
6.20 Síntesis del (\pm)- β^2 -amino ácido derivado de la Indometacina (7).....	56
6.21 Síntesis de los complejos de Cu(II).....	57
6.21.1 [Cu(Phen)(β -Ala)(H ₂ O)]NO ₃ ·0.5H ₂ O (9a).....	57
6.21.2 [Cu(phen)(β^3 -MeAla)(H ₂ O)]NO ₃ ·0.5H ₂ O (9b).....	57
6.21.3 [Cu(phen)(β^3 -CyAla)(H ₂ O)]NO ₃ (9c).....	58
6.21.4 [Cu(phen)(β^3 -PhAla)(H ₂ O)]NO ₃ (9c).....	58
7. Resultados y Discusión	59
7.1 Síntesis del éster bencílico derivado de la Indometacina (2a).....	61
7.2 Aminometilación.....	63
7.2.1 Aminometilación: Síntesis de β^2 -amino ésteres bencílicos <i>N</i> -Cbz y <i>N,N</i> -dibencil protegidos.....	64
7.2.2 Aminometilación: Síntesis diastereoselectiva de β^2 -amino ésteres bencílicos <i>N,N</i> -protegidos.....	71
7.3 Hidrogenólisis de los derivados 5a y 5b	72
7.4 Caracterización.....	78
7.4.1 Espectrofotometría de infrarrojo.....	78
7.4.2 Análisis por difracción de rayos X de Polvos (PXRD) y de monocristal (SCXRD).....	79
7.4.2.1 Estructura cristalina del complejo [Cu(<i>phen</i>)(β -Ala)(MeOH)](NO ₃)·0.5MeOH·0.5H ₂ O (9a').....	80
7.4.2.2 Estructura cristalina del complejo [Cu(<i>phen</i>)(β -3MeAla)(H ₂ O)]NO ₃ ·1.32H ₂ O (9b').....	84
7.4.2.3 Estructura cristalina del complejo [Cu(<i>phen</i>)(β -3CyAla)(H ₂ O)]NO ₃ ·0.5MeOH·0.5H ₂ O, (9c').....	86
7.4.2.4 Estructura cristalina del complejo [Cu(<i>phen</i>)(β -3PhAla)(H ₂ O)]NO ₃ (9d').....	89
7.4.2.5 Análisis por difracción de rayos-X de polvos (PXD) de los compuestos 9a , 9b y 9c	90
7.4.3 Análisis termogravimétrico.....	92

7.4.4	Caracterización electrónica. Espectroscopia de EPR y UV-vis, y mediciones de momento magnético efectivo.....	94
7.4.5	Mediciones conductimétricas y de voltamperometría cíclica.....	96
7.5	Medición del efecto en la inhibición del crecimiento (IC_{50}) de los compuestos 9a-9c	97
8.	Conclusiones	99

PARTE TEÓRICA: DETERMINACIÓN TEÓRICA DE POTENCIALES DE MEDIA ONDA ($E_{1/2}$) PARA CASIOPEÍNAS® CON DIFERENTES PATRONES DE SUSTITUCIÓN.

9.	Introducción	123
10.	Fundamentación teórica. Marco Teórico	129
10.1	Una revisión breve del Método de Hartree-Fock.....	131
10.2	Conjuntos de Base.....	134
10.2.1	Consideraciones Generales.....	134
10.2.2	Tipos de Orbitales.....	135
10.3	Comentarios breves de los Métodos Post-Hartree-Fock.....	138
10.3.1	El método de CC.....	139
10.3.2	Métodos Perturbativos. Möller-Plesset.....	143
10.4	Teoría de los Funcionales de la Densidad.....	146
10.5	Modelos implícitos y explícitos para fases condensadas.....	154
11.	Fundamentación teórica. Antecedentes	161
11.1	Consideraciones para los cálculos DFT en compuestos de coordinación.....	163
11.2	Casiopeínas®: Posibles mecanismos de acción, una perspectiva teórica.....	163
11.3	Cálculo de potenciales de media onda ($E_{1/2}$).....	166
12.	Objetivos	171
13.	Resultados y Discusión	175
13.1	Determinación teórica del potencial de media onda ($E_{1/2}$) en Casiopeínas®: Calibración del método.....	177
13.2	Determinación teórica del potencial de media onda ($E_{1/2}$) en Casiopeínas®: Evaluación del efecto de los ligantes en su valor y del contraíón en su precisión de la predicción.....	180
13.3	Determinación teórica del potencial de media onda ($E_{1/2}$) en Casiopeínas®: Puesta a prueba del protocolo desarrollado en Casiopeínas® recién sintetizadas.....	185
14.	Conclusiones	187
15.	Metodología	191

Abreviaturas y Símbolos

DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (3-[4,5,dimetiltiazol-2-il]-5-[3-	h	Hora
MTS	carboximetoxi-fenil]-2-[4-sulfofenil]- 2H-tetrazolium, sal inerte)	FM	Fase móvil
phen	1,10-fenantrolina	IndxOH	Indometacina
bpy	2,2'-bipiridina	IR	Espectrofotometría de Infrarrojo
β-Ala	β -alanina	FM	Fase móvil
AcOEt	Acetato de Etilo	IndxOH	Indometacina
acac	Acetilacetato	IR	Espectrofotometría de Infrarrojo
CH₃CN	Acetonitrilo	UV-Vis	Espectrofotometría de ultravioleta- visible
β^3-MeAla	Ácido (<i>rac</i>)-3-aminobutanóico	COSY	Espectroscopia correlacionada ¹ H- ¹ H
β^3-CyAla	Ácido (<i>rac</i>)-3-amino-3- ciclohexilpropanóico	EPR	Espectroscopia de Resonancia Paramagnética Electrónica
β^3-PhAla	Ácido (<i>rac</i>)-3-amino-3-fenilpropanóico	HSQC	Espectroscopia heteronuclear de coherencia cuántica única ¹ H- ¹³ C
AcOH	Ácido acético	HRMS	Espectrometría de masas de alta resolución (High Resolution Mass Spectroscopy, en inglés)
IAA	Ácido 3-indolacético	Rf	Factor de Retención
ADN	Ácido desoxirribonucleico	NaOH	Hidróxido de sodio
TsOH	Ácido <i>p</i> -toluensulfónico	NaH	Hidruro de sodio
LA	Ácido de Lewis	UV ó hv	Luz ultravioleta
FDA	Administración de alimentos y medicamentos (Food and Drug Administration, en inglés)	M.P.	Materia prima
ACS	American Cancer Society	MHz	Mega Hertz
ATCC	American Type Culture Collection	MeOH	Metanol
EA	Análisis Elemental	CD₃OD	Metanol deuterado
TGA	Análisis termogravimétrico (Thermogravimetric analysis, en inglés)	Me	Metilo
AINE	Antiinflamatorio no esteroideo	mmol	Milimol
<i>a</i>	Ancha (señal)	mV	Milivoltios
Bn	Bencilo (grupo protector)	min	Minutos
NaHCO₃	Bicarbonato de sodio		

BnBr	Bromuro de bencilo	M	Molar
Bn	Bencilo (grupo protector)	m	Múltiple (señal)
<i>t</i>-BuOK	<i>t</i> -Butóxido de potasio	NP	No procedió
PBS	Buffer fosfato salino (phosphate buffered saline, en inglés)	DIPEA	<i>N,N'</i> -Diisopropietilamina
DSC	Calorimetría diferencial de barrido (Differential scanning calorimetry, en inglés)	DIC	<i>N,N'</i> -Diisopropilcarbodiimida
Cbz	Carbobenciloxi	NaNO₃	Nitrato de sodio
K₂CO₃	Carbonato de potasio	GTO	Orbital tipo Gaussian (Gaussian-type orbital, en inglés)
COX	Ciclooxigenasa	STO	Orbital tipo Slater (Slater-type orbital, en inglés)
CDCl₃	Cloroformo deuterado	<i>p</i>-ClBz	<i>p</i> -Cloro benzoílo (grupo protector).
TMSCI	Clorotrimetilsilano	Pd/C	Paladio sobre carbono
CH₂Cl₂	Cloruro de metileno o doclorometano	ppm	Partes por millón
SOCl₂	Cloruro de tionilo	PM	Peso molecular
ZnCl₂	Cloruro de zinc	H₂O₂	Peróxido de hidrógeno
<i>J</i>	Constante de acoplamiento	Piv	Pivaloílo
TLC	Cromatografía en capa fina	pH	Potencial de hidrógeno
CC	Cromatografía en columna	<i>E</i>_{1/2}	Potencial de reducción de media onda
CIF	Crystallographic information file	PG	Procedimiento General
<i>c</i>	Cuarteto (señal)	MRP-1	Proteína-1 multirresistente
LDA	Diisopropialamiduero de litio	p.f.	Punto de fusión
DIAD	Diisopropil azodicarboxilato	QSAR	Quantitative Structure-Activity relationship
DMAP	Dimetilaminopiridina	RMN ¹H	Resonancia Magnética Nuclear de ¹ H
δ	Desplazamiento químico	RMN ¹³C	Resonancia Magnética Nuclear de ¹³ C
PXRD	Difracción de rayos-X de polvos (Powder x-ray diffraction, en inglés)	salal	Salicilaldehidato
SCXRD	Difracción de rayos-x de monocristal (Single crystal x-ray diffraction, en inglés)	<i>s</i>	Simple (señal)
<i>d</i>	Doble (señal)	FBS	Suero fetal bovino (Fetal Bovine Serum, en inglés)
<i>dd</i>	Doble de dobles (señal)	Na₂SO₄	Sulfato de sodio anhidro
DMEM	Dulbecco modified Eagles minimal	T	Temperatura

	essential medium		
EdS	Ecuación de Schrödinger	t.a.	Temperatura ambiente
HRP	Enzima peroxidasa de rábano (horseradish peroxidase, en inglés)		
eq.	Equivalentes	t	Tiempo
Et₂O	Éter dietílico o dietiléter	DFT	Teoría de funcionales de la densidad (Density Functional Theory, en inglés)
ROS	Especies reactivas de oxígeno	THF	Tetrahidrofurano
EMAR	Espectrometría de masas de alta resolución	TMS	Tetrametilsilano
Fc	Ferroceno	Tol	Tolueno
Fc⁺	Ferrocinio ión	Ph₃P	Trifenilfosfina
gly	Glicinato	BF₃·OEt₂	Trifluoruro de boro eterato
GSH	Glutación	TMSOTf	Triflato del trimetilsilano
Hz	Hertz	t	triple (señal)
HMDALi	Hexametildisililazuro de litio	TDA-1	Tris[2-(2-metoxietoxi)etil]amina
Hex	Hexano	W	Watts
HMDALi	Hexametildisililazuro de litio		
Hex	Hexano		

Glosario

A continuación se presentan las definiciones simplificadas para algunos de los términos y acrónimos teóricos empleados o comentados por su relevancia en esta tesis. Cabe mencionar que si bien sería preferible emplear los acrónimos traducidos al idioma español, el continuo uso en su forma original en el medio académico nos da una excusa para seguirlos empleando en esa forma.

6-311+G*	Conjunto de base perteneciente a la familia conjuntos de base de Pople
ω-BP97XD	Se refiere al funcional DFT que pertenece a las métodos separados por rango. DF parametrizado que incluye el 100% de intercambio exacto de largo alcance.
A549	Línea celular de cáncer de pulmón.
BP86	Se refiere al funcional GGA DFT. Este funcional contiene del funcional de intercambio desarrollado por Becke en 1988 y el funcional de correlación Perdew 86.
B3LYP	Se refiere al funcional híbrido-GGA DFT. Es un funcional ampliamente usado en química cuántica. Este método es compuesto del funcional de intercambio B88 y de correlación de Lee-Yang-Parr.
CC	“Coupled Cluster”. Se refiere al método de variacional post Hartree-Fock.
CI	“Configuration Interaction, por sus siglas en inglés”. Se refiere al método variacional posHartree-Fock.
CPCM	Modelo de solvatación implícita tipo conductor PCM.
DFT	Se refiere al método que emplea la Teoría de los Funcionales de la Densidad.
<i>E</i>	Potencial de reducción
<i>E</i>_{1/2}	Potencial de reducción de media onda
HaCAT	Queratinocitos de la piel histológicamente normal.
HEK293	Células embrionarias normales de riñón humano 293
HF	Hartree-Fock, aproximación/método aplicado para resolver la ecuación de Schrödinger de manera aproximada.
M06-2X	Se refiere al funcional doblehíbrido-GGA DFT. Este funcional es compuesto del funcional de intercambio y correlación de Minnesota.
MCF-7	Línea celular de cáncer de mama.
MP2	Se refiere al método de perturbación posHartree-Fock derivado de la teoría propuesta por Møller y Plesset (MP). El número 2 indica la inclusión de

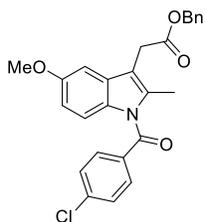
términos de segundo orden.

PBE Se refiere al funcional GGA DFT. Este funcional es compuesto del funcional de intercambio y de correlación de Perdew-Burke-Ernzerhof.

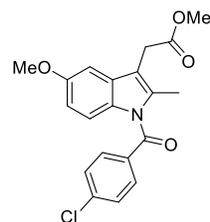
PBE0 Se refiere al funcional DFT híbrido que usa una mezcla de 25% de intercambio y 75% de correlación

SCF Self-consistent field, por sus siglas en inglés. Método de campo autoconsistente.

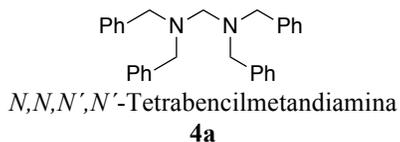
Índice de Compuestos



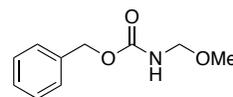
1-(4-Clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1*H*-indol-3-il)
acetato de bencilo
2a



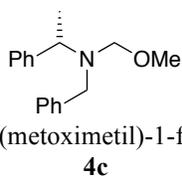
1-(4-Clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1*H*-indol-3-il)
acetato de metilo
2b



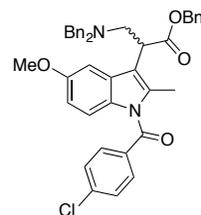
N,N,N',N'-Tetrabencilmetandiamina
4a



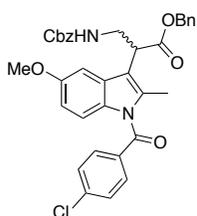
N-(Metoximetil)carbamato de bencilo
4b



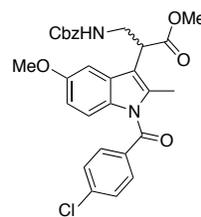
(*S*)-*N*-Bencil-*N*-(metoximetil)-1-feniletan-1-amina
4c



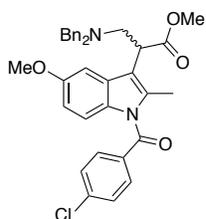
(±)-2-(1-(4-Clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1*H*-
indol-3-il)-3 -(dibencilamino)propanoato de bencilo
5a



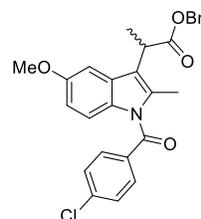
(±)-3-(((Benciloxi)carbonil)amino)-2-(1-(4-
clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1*H*-indol-3-
il)propanoato de bencilo
5b



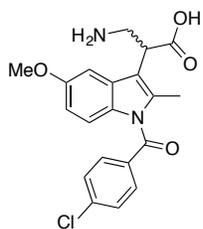
(±)-3-(((Benciloxi)carbonil)amino)-2-(1-(4-
clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1*H*-indol-3-
il)propanoato de metilo
5c



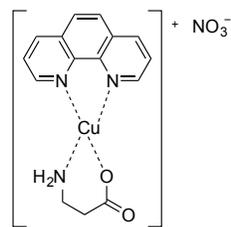
(±)-2-(1-(4-Clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1*H*-
indol-3-il)-3-(dibencilamino)propanoato de metilo
5d



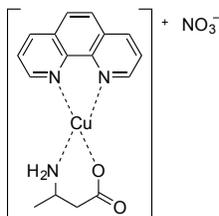
(±)-2-(1-(4-Clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1*H*-
indol-3-il) propanoato de bencilo
6



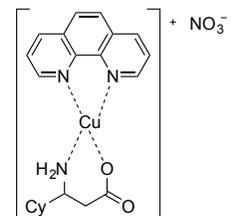
Ácido (±)-3-amino-2-(1-(4-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1*H*-indol-3-il)propanóico
7



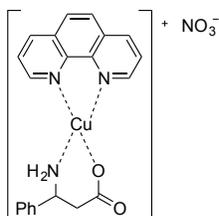
Nitrato de (1,10-fenantrolin)(β-alaninato)cobre(II).
9a



Nitrato de (1,10-fenantrolin)(3-metilalaninato)cobre(II).
9b



Nitrato de (1,10-fenantrolin)(3-ciclohexilalaninato)cobre(II).
9c



Nitrato de (1,10-fenantrolin)(3-fenilalaninato)cobre(II).
9d

Índice de Tablas

Tabla 1. Ejemplos de moléculas sintéticas o naturales que poseen en su estructura, núcleos de anillo(s) indólico(s).....	13
Tabla 2. Datos cristalográficos y de refinamiento para los complejos 9a'-9d'	48
Tabla 3. Condiciones de reacción para la preparación del éster bencílico.....	62
Tabla 4. Modificaciones a las condiciones de reacción para la preparación del éster bencílico.....	62
Tabla 5. Condiciones para la reacción de aminometilación de 2a y 2b	65
Tabla 6. Condiciones para la reacción de hidrogenólisis del sustrato 5b	73
Tabla 7. Condiciones para la reacción de hidrogenólisis del sustrato 5a	74
Tabla 8. Bandas de IR seleccionadas para los complejos 9a-9d (en KBr, cm ⁻¹).....	78
Tabla 9. Longitudes [Å] y ángulos [°] seleccionados para los complejos 9a'-9d'	80
Tabla 10 . Parámetros geométricos para las interacciones por puentes de hidrógeno intermoleculares en las estructuras cristalinas de los complejos 9a'-9d'	84
Tabla 11. Datos del análisis termogravimétrico del compuesto 9a	94
Tabla 12. Caracterización estructural de las Casiopeínas® 9a-9d	96
Tabla 13. Datos conductimétricos, de potencial de media onda ($E_{1/2}$) y concentración inhibitoria media (IC50) de los compuestos 9a-9d	97
Tabla 14. Principales Parámetros geométricos de Fc^0	150
Tabla 15. Principales Parámetros geométricos de 1	150
Tabla 16. Potenciales de Reducción de Media Onda ($E_{1/2}$) para el modelo 1	151
Tabla 17. Potenciales de Reducción de Media Onda ($E_{1/2}$) para el sistema $[Cu(phen)(gly)]^0 \cdot 9 H_2O_{(g)}/[Cu(phen)(gly)]^+ \cdot 9 H_2O_{(g)}$	152
Tabla 18. Potenciales de media onda, $E_{1/2}$, teóricos y experimentales (mV).....	153
Tabla 19. Potenciales de media onda, $E_{1/2}$, en mV para todos los complejos que contiene <i>phen</i>	157

Índice de Esquemas

Esquema 1. Reactivos y condiciones: (a) DIC, THF/CH ₂ Cl ₂ seguido de resina y DMAP; (b) Anclado, mezcla y apartado de resina; (c) Aril hidracina, ZnCl ₂ , AcOH; (d) Alcohol de pentafluorobencilo, Ph ₃ P, DIAD, THF; (e) R ₂ R ₃ NH; (f) Resina de isotiocinato de poliestirilo; (g) BMS, dioxano, 50 °C; (h) HCl/MeOH, 50 °C después azeótropo.....	14
Esquema 2. Mecanismo de acción del proceso de peroxidación lipídica del IAA en presencia de la enzima HRP.....	15
Esquema 3. Rutas de síntesis de β -amino ácidos. A) Adición de Michael, B) Aminación reductiva, C) Rearreglos (Curtius y Hofmann), D) Apertura de anillos β -lactámicos, E) Reacción de Mannich, F) Adición de enolatos a <i>tert</i> -butilsulfiniliminas, G) Cicloadiciones, H) Condensación de Knoevenagel modificada, I) Aminometilación, J) Oxidación de β -amino alcoholes, K) Hidrogenación del ácido aminoacrílico, L) Homologación de Arndt-Eistert, M) Hidrólisis de nitrilos, N) Reducción de nitrilos, O) Método de Juaristi.....	19
Esquema 4. Estrategias de síntesis típicas para la obtención de acrilatos α -sustituídos. A. α -Metilación/oxidación, B. Condensación aldólica, C. Acoplamiento catalítico, D. Wittig-Horner, E. Baylis-Hillman, F. Mannich, G. Carbonilación oxidativa.....	22
Esquema 5. Estrategia de síntesis explorada por nuestro grupo de investigación para la síntesis de acrilatos α -aril sustituido.....	22
Esquema 6. Síntesis de acrilatos metílicos y bencílicos derivados de la Indometacina.....	23
Esquema 7. Estrategias de activación de <i>N</i> -acilaminas y formación de iones <i>N</i> -aciliminio	25
Esquema 8. Estrategia de síntesis para la preparación de α -aril- β^2 -amino ácidos.....	61
Esquema 9. Estrategia de síntesis del éster bencílico 2a	61
Esquema 10. Estrategia de síntesis de aminometilación para la preparación de los derivados 5	63
Esquema 11. Estrategia para la estabilización de enolatos.....	64
Esquema 12. Condiciones de reacción para la α -metilación de 2a	65
Esquema 13. Estrategia de síntesis de aminometilación para la preparación del derivado 5e	71

Esquema 14. Hidrogenólisis del sustrato 5b	72
Esquema 15. Hidrogenólisis del sustrato 5a	74
Esquema 16. Procedimiento general para la preparación de Casiopeínas® con β -alanina (8a) y β^3 -amino ácidos (8b-8d).....	77
Esquema 17. Procedimiento general para la preparación de Casiopeínas® con el β^2 -amino ácido 7	77
Esquema 18. Proceso de descomposición térmica para el compuesto 9a	93
Esquema 19. Diagrama de Flujo de un cálculo <i>SCF</i>	114
Esquema 20. Ciclo redox propuesto para la actividad de Casiopeínas®.....	130
Esquema 21. Resultados teóricos para la actividad de Casiopeínas®.....	130
Esquema 22. Ciclo termodinámico empleado para los cálculos teóricos de $E_{1/2}$, adaptado de la ref.(3)..	131
Esquema 23. Geometría optimizada para $[\text{Cu}(\textit{phen})(\textit{gly})]_{(\text{g})}^+$ (izquierda) y $[\text{Cu}(\textit{phen})(\textit{gly})]_{(\text{g})}^0$ (derecha).....	151
Esquema 23. Geometrías optimizadas para $[\text{Cu}(4,4'\text{-diMe bpy})\text{acac}]^+\text{NO}_3^-$ (izquierda) y $[\text{Cu}(4,4'\text{-diMe bpy})\text{acac}]^0\text{NO}_3^-$ (derecha) en el ciclo termodinámico redox. Nota que $[\text{Cu}(4,4'\text{-diMe bpy})\text{acac}]^0\text{NO}_3^-$ en fase gas no mantiene completamente la disposición tetraédrica encontrada cuando los efectos del solvente son considerados.....	153

Índice de Figuras

Figura 1. Ubicación de los bioelementos en la tabla periódica.....	9
Figura 2. Molécula cuadrado plana de cisplatino.....	11
Figura 3. (a) Ácido indol-3-acético Ia , Ácido 2-(indol-3)-propiónico (\pm)- If y algunos de sus respectivos derivados, ²² y (b) Indometacina IIa y sus derivados IIb-f	15
Figura 4. Efecto del sustituyente en las posiciones 2 y 7 de la Indometacina y derivados.....	17
Figura 5. (a) β -Amino ácidos lineales y (b) β -cicloamino ácidos.....	17
Figura 6. Clasificación de β -amino ácidos lineales y β -cicloamino ácidos propuesta por Seebach.....	18
Figura 7. Productos naturales con propiedades anticancerígenas [(a) Taxol y (b) Bleomicina] y citotóxicas [(c) Microcistina].....	18
Figura 8. Estructura General de Casiopeínas [®] y los ligantes empleados para su preparación (se muestran únicamente los componentes catiónicos).....	27
Figura 9. Espectro de RMN ¹ H (200 MHz) del derivado 2a	63
Figura 10. Espectro de RMN ¹ H (400 MHz) del derivado 5a	67
Figura 11. Experimento COSY (400 MHz) del derivado 5a	68
Figura 12. Experimento HSQC (400 MHz) del derivado 5a	68
Figura 13. Espectro de RMN ¹ H (400 MHz) del derivado 5b	69
Figura 14. Experimento COSY (400 MHz) del derivado 5b	70
Figura 15. Experimento HSQC (400 MHz) del derivado 5b	70
Figura 16. Espectro de RMN ¹ H (400 MHz) del derivado 5e	72
Figura 17. Espectro de RMN ¹ H (700 MHz) del derivado 7	75
Figura 18. Experimento HSQC del derivado 7	75
Figura 19. Vistas en perspectiva de las estructuras moleculares y poliedros de coordinación de los dos complejos catiónicos independientes A y B en la estructura cristalina del compuesto 9a' . Nota: los contraiones nitrato y moléculas de solvatación fueron omitidas para tener mejor claridad. Las elipsoides fueron dibujadas con un 50% de probabilidad.....	81

<p>Figura 20. Fragmentos de la estructura cristalina del compuesto 9a' donde se muestran los agregados supramoleculares de los cationes complejos formados a través de interacciones por puentes de hidrógeno. a) Agregados diméricos formados entre las moléculas A vecinas. b) Las cadenas 1D a lo largo de [0 1 1] que resultan de interacciones por puente de hidrógeno con una molécula de nitrato y una de agua. Operadores de simetría: (i) 2-x, 1-y, 1-z; (ii) 1-x, 1-y, 1-z. Nota: los átomos de hidrógeno que no participan en las interacciones por puente de hidrógeno se omiten para mayor claridad.....</p>	82
<p>Figura 21. Mapas de superficie de Hirshfeld de los complejos catiónicos de cobre (II) de los compuestos 9a'-9d', que ilustran los puentes de hidrógeno e interacciones de apilamiento π-π. Nota: los átomos de hidrógeno que no participan en las interacciones por puente de hidrógeno se omiten para mayor claridad. Para el compuesto 9a' únicamente se muestra la molécula A (ver Figura 19).....</p>	83
<p>Figura 22. Además de las interacciones por puente de hidrógeno mostradas en la Figura 18, la estructura cristalina del compuesto 9a' es estabilizada por interacciones de apilamiento π-π entre los ligantes 1,10-fenantrolina. Nota: los átomos de hidrógeno que no participan en las interacciones por puente de hidrógeno se omiten para mayor claridad.....</p>	83
<p>Figura 23. Estructura molecular y poliedro de coordinación del catión complejo en la estructura cristalina del compuesto 9b'. Nota: El contraión nitrato y las moléculas de disolvente fueron omitidas para mayor claridad. Las elipsoides fueron dibujadas con un 50% de probabilidad.....</p>	85
<p>Figura 24. Fragmento de la estructura cristalina del compuesto 9b', donde se muestran las capas 2D formadas a través de interacciones por puente de hidrógeno O/N-H\cdotsO (líneas punteadas). Operadores de simetría: (i) 1+x, y, z; (ii) 1-x, 1-y, -z; (iii) -x, 1-y, -z; (iv) 1-x, 2-y, 1-z. Nota: Los átomos de hidrógeno que no están involucrados en interacciones por puente de hidrógeno fueron omitidos para mayor claridad. El desorden de la estructura cristalina es mostrado.....</p>	86
<p>Figura 25. Fragmento de la estructura cristalina del compuesto 9b', donde se muestran interacciones de apilamiento π-π infinitas entre las dos capas en 2D mostradas en la Figura 24. Nota: Los átomos de hidrógeno que no están involucrados en interacciones por puente de hidrógeno fueron omitidos para mayor claridad.....</p>	86

Figura 26. Estructura molecular y poliedro de coordinación del catión complejo en la estructura cristalina del compuesto 9c' . Nota: Las moléculas de disolvente fueron omitidas para mayor claridad. Las elipsoides fueron dibujadas con un 30% de probabilidad.....	87
Figura 27. Fragmento de la estructura cristalina del compuesto 9c' , donde se muestran las interacciones por puente de hidrógeno $O_W-H\cdots O$ y $N-H\cdots O_{\text{nitrato}}$ entre las moléculas de agua coordinadas al centro de coordinación y los iones nitrato. Operadores de simetría: (i) $x, 1+y, z$; (ii) $1-x, 2-y, 1-z$. Nota: Los átomos de hidrógeno que no están involucrados en interacciones por puente de hidrógeno fueron omitidos para mayor claridad.....	88
Figura 28. Fragmento de la estructura cristalina del compuesto 9c' , donde se muestran las capas 2D formadas a través de apilamientos $\pi-\pi$ entre las cadenas 1D adyacentes mostradas en la Figura 27 . Nota: Los grupos ciclohexilo y átomos de hidrógeno que no están involucrados en interacciones por puente de hidrógeno fueron omitidos para mayor claridad.....	88
Figura 29. Estructura molecular y poliedro de coordinación del catión complejo en la estructura cristalina del compuesto 9d' . Nota: Las moléculas de disolvente fueron omitidas para mayor claridad. Las elipsoides fueron dibujadas con un 30% de probabilidad.....	89
Figura 30. a) Fragmento de la estructura cristalina del compuesto 9d' , donde a) se muestran las cadenas en 1D que se unen a través interacciones de puente de hidrógeno $O_W-H\cdots O_{\beta-3\text{PhAla}}$, $O_W-H\cdots O_{\text{nitrato}}$, $N-H\cdots O_{\text{nitrato}}$ y $O_W-H\cdots O_W$ (líneas punteadas) y b) interacciones de apilamiento-deplazado $\pi-\pi$. Operadores de simetría: (i) $x, 1-y, 0.5+z$; (ii) $0.5-x, 0.5-y, 1-z$. Nota: Los átomos de hidrógeno que no están involucrados en interacciones por puente de hidrógeno fueron omitidos para mayor claridad.....	90
Figura 31. Serie de difractogramas para el compuesto 9a	91
Figura 32. Análisis (a) TGA y (b) DSC del compuesto 9a	92
Figura 33. Espectro de EPR del compuesto 9a en una solución metanólica 2 mM ($T=77\text{ K}$).....	95
Figura 34. Comportamiento de e^x donde $x = r$ (línea sólida, STO) y $x = r^2$ (línea punteada, GTO).....	121
Figura 35. Representación de un orbital 1s-STO y su descripción empleando una combinación lineal de tres orbitales GTO (STO-3G).....	122

Figura 36. Representación de un modelo continuo.....	124
Figura 37. SAS trazada por un una molécula de prueba.....	126
Figura 38. Interacción de Casiopeína® con bases nitrogenadas.....	129
Figura 39. Interacción de Casiopeína® con ADN.....	129
Figura 40. Derivados de Casiopeínas® seleccionados para este estudio teórico.....	149
Figura 41. Geometría optimizada para el ferroceno (Fc).....	149
Figura 42. Potenciales de media onda, $E_{1/2}$, teóricos y experimentales (tomados de las referencias (45) y (83e)) para los compuestos 1-8 con (círculos azules, $R^2 = 0.783$) y sin (cuadros amarillos, $R^2 = 0.479$) el contraión NO_3^-	154
Figura 43. Potenciales de media onda, $E_{1/2}$, teóricos y experimentales (tomados de las referencias (45) y (83e)) para el grupo <i>A</i> (círculos azules, $R^2 = 0.994$) y el grupo <i>B</i> (cuadros amarillos, $R^2 = 0.987$).....	155
Figura 44. Geometrías optimizadas para la pareja de Casiopeínas® reducidas que comparten el mismo ligante secundario <i>acac</i> . 3 (izquierda) y 8 (derecha). Notar que el ligante phen (a) es más rígido que bpy (b).....	156
Figura 45. Conjunto completo de doce complejos mixtos de Cu(II) con <i>phen</i>	156
Figura 46. Conjunto de cuatro complejos mixtos de Cu(II) 9a-9d , preparadas en el apartado experimental de este trabajo.....	157

RESUMEN

Se reporta la síntesis del β^2 -amino ácido derivado de la Indometacina en rendimientos moderados. La síntesis se logró al aplicar la estrategia de aminometilación en los ésteres bencílico y metílico. Para la aminometilación, los mejores resultados se consiguieron con tolueno como disolvente y la preparación del carbanión a baja temperatura. La síntesis de sales de iminio de *N,O*- y *N,N*-acetales con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ como ácido de Lewis. Para la reacción de hidrogenólisis, los mejores resultados se obtuvieron cuando se empleó metanol como disolvente y al β^2 -amino éster bencílico Cbz protegido, así como Pd/C como catalizador. El producto y sus intermediarios fueron caracterizados por diferentes técnicas espectroscópicas, tales como RMN ^1H , RMN ^{13}C y Espectrometría de Masas de Alta Resolución (EMAR). Adicionalmente, se reprodujeron las síntesis de los β^3 -amino ácidos: el ácido (\pm)-3-aminobutanóico (β^3 -MeAla), el ácido (\pm)-3-amino-ciclohexilpropanóico (β^3 -CyAla) y el ácido (\pm)-3-amino-3-fenilpropanóico (β^3 -PhAla).

También se reporta la síntesis de cuatro complejos mixtos de Cu(II) como sales de nitrato de fórmula general $\{[\text{CuL}^1\text{L}^2]\text{NO}_3 \cdot x(\text{solv})\}$, donde L^1 es 1,10-fenantrolina (phen), L^2 un β^3 -aminoácido y el solvente (solv) H_2O o MeOH. Los complejos fueron caracterizados por análisis elemental, espectrofotometría de IR y UV-Vis, espectroscopia de EPR y momento magnético efectivo, mediciones conductimétricas y voltamperométricas. Para fines comparativos, la Casiopeína® $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\beta\text{-alaninato})]\text{NO}_3 \cdot 0.5(\text{solv})\}$ se preparó y caracterizó física y fisicoquímicamente. Los cuatro cristales de los complejos de composición $\text{C}_{33}\text{H}_{42}\text{Cu}_2\text{N}_8\text{O}_{14}$ (**9a**), $\text{C}_{16}\text{H}_{19.66}\text{CuN}_4\text{O}_{7.32}$ (**9b**), $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{CuN}_4\text{O}_6$ (**9c**), y $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{CuN}_4\text{O}_7$ (**9d**) se hicieron crecer en soluciones de metanol y fueron examinadas por análisis de difracción de rayos-X de monocristal. Todos los complejos de Cu(II) son de configuración d^9 y son mononucleares. En solución, todos los complejos son electrolitos 1:1 y exhiben un poliedro de coordinación piramidal de base cuadrada. La geometría de coordinación en el estado sólido para los compuestos **9a**, **9b** y **9d** es piramidal de base cuadrada y para el compuesto **9c** octaédrica distorsionada. Estudios *in vitro* revelan que los compuestos **9a**, **9b** y **9c** tienen actividad inhibitoria similar frente a líneas tumorales MCF-7 y A549 respecto de las previamente reportadas. Los valores experimentales de Potencial de Media Onda ($E_{1/2}$) pudieron correlacionarse con sus actividades anticancerígenas.

Adicionalmente, se reporta un protocolo para la evaluación teórica del $E_{1/2}$ para un conjunto de 16 complejos mixtos de Cu(II) que contienen 1,10-fenantrolinas (phen) y 2,2'-birididinas (bpy) con diferentes patrones de sustitución como ligantes primarios, y acetilacetato (acac) o glicina (gly) como ligantes secundarios, para los cuales valores experimentales precisos han sido determinados en una mezcla etanol/agua. El cálculo de las energías libres para las especies redox en cada caso ha sido reportado a un nivel de teoría DFT evaluando la efectividad de varios funcionales

tales como BP86, PBE, PBE0, B3LYP, M06-2X y ω -B97XD. Los cálculos en fase condensada se desarrollaron explícita- (incorporando 9 moléculas de agua en el modelo) e implícitamente (usando el modelo de solvatación CPCM con una constante dieléctrica ($\epsilon=64.9121$) para la mezcla etanol/agua). Las bases LANL2DZ ECP y SDD ECP fueron usadas para los átomos de hierro (en el par redox Ferroceno/ferrocinio) y cobre (en los complejos mixtos de cobre), mientras que para el resto de los átomos se usó el conjunto de base 6-311+G*. Se encontraron excelentes correlaciones entre los valores de $E_{1/2}$ teóricos y experimentales para los derivados con phen ($R^2 = 0.913$, error absoluto (MAE) = 68mV) y bpy ($R^2=0.987$, MAE = 86mV) cuando se emplea un nivel de teoría PBE/LANL2DZ/6-311+G*/CPCM. Las tendencias de correlación han sido explicadas en términos de la habilidad del átomo de cobre para ser reducido en presencia de los ligantes. Las energías libres de Gibbs obtenidas a 298 K para las reacciones redox de los complejos con el ligante secundario más flexible (metilos en el acac) generaron contribuciones entrópicas mayores, lo que incrementó el error MAE comparado con aquel más rígido (gly). El presente protocolo provee valores de MAEs menores al comparar con algunas aproximaciones en compuestos de Cu(II) con ligantes similares.

ABSTRACT

The synthesis of the β^2 -amino acid derivative from the Indomethacin is reported in moderate yields. The synthetic approach relies on the aminomethylation of benzyl and methyl esters. For the aminomethylation, the best results were achieved by using toluene as the solvent and the preparation of the carbanion at low temperatures. The preparation of iminium salts from both *N,O*- and *N,N*-acetals and $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ as Lewis acid. On the other hand, the hydrogenolysis showed the best results when methanol and the β^2 -amino acid Cbz protected benzyl ester were used as solvent and substrate respectively, while Pd/C was used as the catalyst. The intermediates and product were characterized by different spectroscopic technics such as ^1H NMR, ^{13}C NMR and HRMS. Additionally, the synthesis of the (\pm)-3-aminobutanoic acid (β^3 -MeAla), the (\pm)-3-amino-3-cyclohexylpropanoic acid (β^3 -CyAla), as well as the (\pm)-3-amino-3-phenylpropanoic acid (β^3 -PhAla) was reproduced.

The synthesis of four mixed chelate Cu(II) complexes as nitrate salts of the general formula $\{[\text{CuL}^1\text{L}^2]\text{NO}_3 \cdot x(\text{solv})\}$ is also reported, where L^1 is 1,10-phenanthroline (*phen*) and L^2 is an β^3 -aminoacidate, and solvent (*solv*) H_2O or MeOH . The complexes were characterized by elemental analysis, IR and UV-Vis spectrophotometry, EPR spectroscopy and effective magnetic moment, conductimetric and voltamperometry measurements. For comparison purposes and further physical and physicochemical characterization, the related Casiopeína® $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\beta\text{-alanine})]\text{NO}_3 \cdot 0.5(\text{solv})\}$ was also prepared. For all four complexes crystals of composition $\text{C}_{33}\text{H}_{42}\text{Cu}_2\text{N}_8\text{O}_{14}$ (**9a**), $\text{C}_{16}\text{H}_{19.66}\text{CuN}_4\text{O}_{7.32}$ (**9b**), $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{CuN}_4\text{O}_6$ (**9c**), and $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{CuN}_4\text{O}_7$ (**9d**) grown from solutions in methanol were examined by SCXRD analysis. All complexes are mononuclear single unpaired electron Cu(II) complexes with d^9 configuration. In solution all the complexes are 1:1 electrolytes and exhibit square-based pyramidal coordination polyhedra. The coordination geometries in the solid state are square-based pyramidal for compounds **9a**, **9b**, and **9d** and distorted octahedral for compounds **9c**. *In vitro* studies revealed that compounds **9a**, **9b** and **9c** have similar cytotoxic activity against MCF-7 and A549 tumor cell lines than previously reported. The experimental half-wave potential ($E_{1/2}$) values for the complexes **9a**, **9b** and **9c** could be correlated with their anticancer activities.

Additionally, a protocol for the evaluation of $E_{1/2}$ from 16 mixed chelate Cu(II) complexes containing 1,10-phenanthroline (*phen*) and 2,2'-bipyridine (*bpy*) derivatives as primary ligands, and acetylacetonate (*acac*) or glycine (*gly*) as secondary ligands for which accurate experimental values were previously determined in a mixture of ethanol/water is reported. Calculations of free-energies for the redox species in each case have been performed at the DFT level of theory using some different functionals such as BP86, PBE, PBE0, B3LYP, M06-2X and ω -B97XD. The calculations

in the condensed phase were performed explicitly (by introducing nine molecules of water on the model) and implicitly (by using the CPCM implicit solvent scheme with an effective dielectric constant ($\epsilon=64.9121$) for the 2/5 mixture of ethanol/water). The Los Alamos and Stuttgart effective-core potential and its basis set have been used for the copper and iron atoms along with the 6-311+G* basis sets for all other atoms. We found excellent correlations between the theoretical and experimental half-wave potential values for the phen derivatives ($R^2 = 0.913$, MAE = 68mV) and bpy derivatives ($R^2=0.987$, MAE = 86mV) when a PBE/LANL2DZ/6-311+G*/CPCM level of theory is employed. The correlation trends have been explained in terms of the copper atom's ability to be reduced in the presence of the ligands. The Gibbs free energy differences at 298K obtained for the redox reactions show that the more flexible secondary ligands (methyl groups in acac) lead to larger entropic contributions which increase the average MAE values compared to the more rigid ligands (gly). The present protocol yields lower MAEs compared with previous approaches for similar mixed and flexible Cu(II) complexes.

**PREPARACIÓN, CARACTERIZACIÓN
Y EVALUACIÓN CITOTÓXICA DE
QUELATOS DE COBRE(II) CON β^2 - Y
 β^3 -AMINOACIDATOS (CASIOPEÍNAS®
DE TERCERA GENERACIÓN)**

INTRODUCCIÓN

En la actualidad hay un número importante de compuestos quimioterapéuticos aprobados por la FDA, los cuales pueden ser de origen orgánico e inorgánico. Los agentes quimioterapéuticos pueden ser clasificados como naturales o sintéticos, y según su mecanismo son clasificados como agentes antimetabólicos, alquilantes, intercalantes o aquellos que rompen la cadena de ADN, agentes epigenéticos, entre otros. De entre los fármacos de carácter orgánico que se administran con alta frecuencia en el tratamiento de diversos tipos de cáncer podemos encontrar a la Doxorrubicina, la cual cuenta con la desventaja de presentar multirresistencia al fármaco luego de algún tiempo de su administración; de este hecho se suscita la necesidad de aumentar la dosis para conseguir el efecto terapéutico, o incluso puede fallar el tratamiento. Se ha observado que el acompañamiento con algunos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)¹ en tratamientos quimioterapéuticos contra el cáncer sinergizan el efecto citotóxico de los fármacos anticancerígenos, presumiblemente por la inhibición de la expresión de la glicoproteína-P para el caso específico de la Indometacina.² También, algunos derivados del ácido 3-indolacético, han demostrado su capacidad de combatir algunos tipos de cáncer por la vía de la peroxidación lipídica.³

Aunque poco abundantes en comparación con sus homólogos inferiores de α -amino ácidos, los β -amino ácidos han demostrado poseer múltiples aplicaciones, principalmente de carácter farmacológico y como agroquímicos.⁴ Cabe destacar sus propiedades como hipoglucemiantes,

¹ a) Weder, J. E.; Dillo, C. T.; Hambley, T. W.; Kennedy, B. J.; Lay, P. A.; Biffin, J. R.; Regtop, H. L.; Davies, N. M. Copper complexes of non-steroidal anti-inflammatory drugs: an opportunity yet to be realized. *Coord. Chem. Rev.*, **2002**, 232, 95–126. (b) Tamasi, G. Metal-Oximan Coordination Compounds: Structure, Biological Activity and Strategies for Administration. *The Open Crystallography Journal*, **2010**, 3, 41–53. (c) Roller, A.; Bähr, O. R.; Streffer, J.; Winter, S.; Heneka, M.; Deininger, M.; Meyermann, R.; Naumann, U.; Gulbins, E.; Weller, M. Selective Potentiation of Drug Cytotoxicity by NSAID in Human Glioma Cells: The Role of COX-1 and MRP. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1999**, 259, 600–605.

² a) Hull, M. A.; Gardner, S. H.; Hawcroft, G. Activity of the non-steroidal anti-inflammatory drug indomethacin against colorectal cancer. *Cancer Treat. Rev.*, **2003**, 29, 309–320. (b) Touhey, S.; O'Connor, R.; Plunkett, S.; Maguire, A.; Clynes, M.; Structure-activity relationship of indomethacin analogues for MRP-1, COX-1 and COX-2 inhibition: identification of novel chemotherapeutic drug resistance modulator. *Eur. J. Cancer*, **2002**, 38, 1661–1670.

³ Miura, T.; Muraoka, S.; Fujimoto, Y.; Inactivation of creatine kinase during the interaction of indomethacin with horseradish peroxidase and hydrogen peroxide: involvement of indomethacin radicals. *Chem.-Biol. Interact.*, **2001**, 134, 13–25.

anticetogénicos, antibacterianos, antifúngicos y como potentes insecticidas.⁴ Adicionalmente a las propiedades antes mencionadas, los β -amino ácidos han mostrado tener propiedades anticancerígenas.⁵

Por lo anterior, como parte de este proyecto de tesis y aunque se desconoce actualmente si las Casiopeínas® presentan la desventaja de la multirresistencia, hemos decidido antelarnos y sintetizar un derivado de la Indometacina tipo β -amino ácido que funcione como ligante secundario. Una vez que se optimizada la ruta de síntesis, este y otros β -amino ácidos fueron empleados como agentes quelantes secundarios en la síntesis de una nueva generación de Casiopeínas®.

⁴ Fazal-ur-Rehman, M. Biological Scope of β -Amino Acids and its Derivatives in Medical Fields and Biochemistry: A Review. *Med. Chem. (Los Angeles)*, **2018**, *8*, 95–99.

⁵ Kudo, F.; Miyanaga, A.; Eguchi, T. Biosynthesis of natural products containing β -amino acids. *Nat. Prod. Rep.*, **2014**, *31*, 1056–1073.

ANTECEDENTES

2.1 Química Bioinorgánica

La tabla periódica es la representación ordenada de los elementos químicos conocidos hasta el momento. A la fecha, en ella se reportan 119 elementos, de los cuales algunos son sintéticos y el resto los encontramos en la naturaleza. Sin embargo, sólo un puñado de ellos se consideran vitales para la vida; en conjunto, dichos elementos reciben el nombre de bioelementos o elementos biogénicos. Es común resumir a los bioelementos en el típico acrónimo “**CHONSP**”, que representa los símbolos químicos de los elementos carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, azufre y fósforo, respectivamente. Sin embargo, esta es una aproximación simplista, ya que no son estos todos los elementos indispensables para la vida. Se dice que son indispensables por su abundancia (**Figura 1**), además de que son estos los elementos que estructuran a las biomoléculas, y es quizás esta la razón de su importancia. Pero aun cuando la abundancia del resto de los bioelementos se limita a apenas un 3%,⁶ no debemos menospreciarlos ya que estos llevan a cabo funciones igualmente indispensables para la vida en sinergia con las biomoléculas, tales como el transporte de oxígeno en la molécula de hemoglobina, y muchos otros procesos enzimáticos que, no se efectuarían sin la presencia de dichos “elementos traza”.⁷

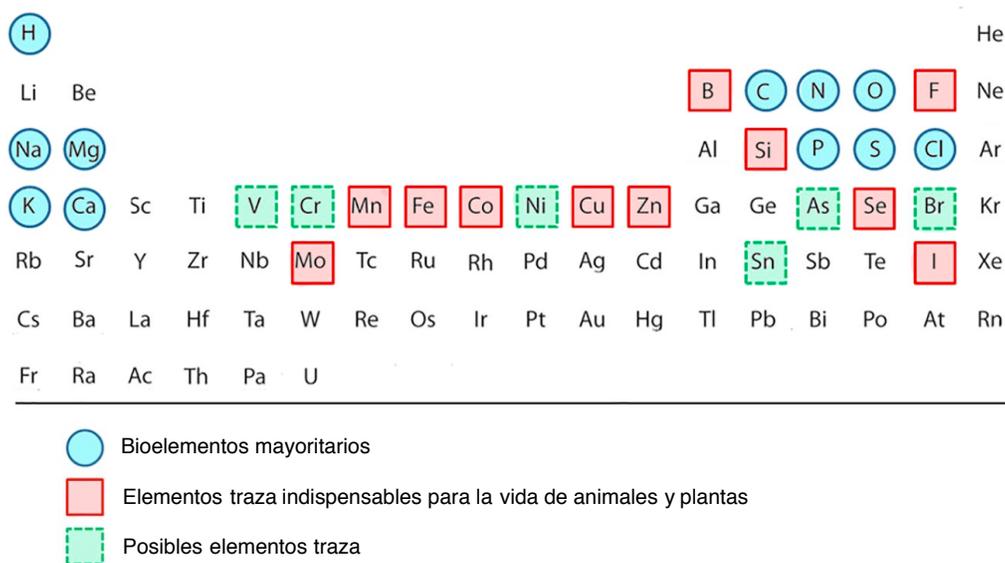


Figura 1. Ubicación de los bioelementos en la tabla periódica.⁷

⁶ Williams, D. R. Metals, ligands, and cancer. *Chem. Rev.*, **1972**, 72, 203–213.

⁷ (a) Zoroddu, M. A.; Aaseth, J.; Crisponi, G.; Medici, S.; Peana, M.; Nurchi, V. M. The essential metals in humans: a brief overview. *J. Inorg. Chem.*, **2019**, 195, 120–129. (b) Maret, W. The metals in the biological periodic system of the elements: Concepts and conjectures. *Int. J. Mol. Sci.*, **2016**, 17, 66.

Dada su implicación en procesos tan importantes para el adecuado funcionamiento de los organismos vivos, las denominadas “ciencias de la vida” han reconocido la importancia de los iones metálicos y sus complejos, y los han integrado en el campo de la “metalómica” (ciencias de los biometales, ver **Figura 1**).⁸ Dentro de los objetivos de esta ciencia multidisciplinar se encuentra el desarrollo de nuevos metalofármacos para la diagnosis o el tratamiento de diversas enfermedades (Química Inorgánica Medicinal).⁹ Sin embargo, el uso de compuestos metálicos como agentes terapéuticos tiene su origen desde tiempos ancestrales.¹⁰ El uso de metales como tratamientos médicos se remonta alrededor del año 1500 a.C., cuando se usaba el óxido de hierro suministrado como suspensión acuoso-etanólica para el tratamiento de la impotencia, lo mismo que algunas sales de hierro para el tratamiento de anemias.⁶

Los fármacos de base metálica exhiben algunas ventajas respecto de los fármacos de naturaleza orgánica a base de carbono. Así por ejemplo, la presencia de carga afecta las propiedades de solubilidad, la ocurrencia de diferentes estados de oxidación permite su participación en procesos biológicos redox, una capa *d* parcialmente llena genera propiedades electrónicas y magnéticas particulares y diferentes geometrías de coordinación permiten modificaciones estructurales. Adicionalmente, las propiedades termodinámicas y cinéticas en complejos metálicos pueden variar en función de los ligantes coordinados, y los iones metálicos pueden actuar como ácidos de Lewis.¹¹

Los complejos de metales de transición han encontrado una importante aplicación en el tratamiento de diversas enfermedades, actuando como agentes anticancerígenos, antiinflamatorios,

⁸ (a) Haraguchi, H. Metallomics as integrated biomedical science. *J. Anal. At. Spectrom.*, **2004**, *19*, 5–14. (b) Haraguchi, H. Metallomics: the history over the last decade and a future Outlook. *Metallomics*, **2017**, *9*, 1001–1013. (c) Mounicou, S.; Szpunar J.; Lobinski, R. Metallomics: the concept and methodology. *Chem. Soc. Rev.*, **2009**, *38*, 1119–1138.

⁹ Warad, I.; Eftaiha, A. F.; Al-Nuri, M. A.; Husein, A. I.; Assal, M.; Abu-Obaid, A.; Al-Zaqri, N.; Ben Hadda, T.; Hammouuti, B. Metal ions as Antitumor Complexes-Review. *J. Mater. Environ. Sci.*, **2013**, *4*, 542–557.

¹⁰ Bradford, S. S.; Cowan, J. A. From Traditional Drug Design to Catalytic Metallodrugs: A Brief History of the Use of Metals in Medicine. *Metallodrugs*, **2014**, *1*, 10–23.

¹¹ (a) Haas, K. L.; Franz, K. J. Application of metal coordination chemistry to explore and manipulate cell biology. *Chem. Rev.*, **2009**, *109*, 4921–4960. (b) Ndagi, U.; Mhlongo, N.; Soliman, M. E. Metal complexes in cancer therapy-an update from drug design perspective. *Drug Des. Dev. Ther.*, **2017**, *11*, 599–616. (c) Dralle, K.; Orvig, C. Metallodrugs in medicinal inorganic chemistry. *Chem. Rev.*, **2014**, *114*, 4540–4563. (d) Ronconi, L.; Sadler, P. J. Using coordination chemistry to design new medicines. *Coordin. Chem. Rev.*, **2007**, *251*, 1633–1648.

para el control de la diabetes, de algunas infecciones por microorganismos y algunos desordenes gástricos y neurológicos.¹² También, complejos a base de metales como arsénico, antimonio, bismuto, oro, vanadio, hierro, rodio, titanio, galio, níquel, zinc, cromo, cobre y platino, han sido probados como agentes terapéuticos contra el cáncer.¹³

El cisplatino (**Figura 2**) y sus derivados son quizás los compuestos inorgánicos más usados hoy en día para la terapia del cáncer; su actividad antitumoral fue descubierta por casualidad, y para 1874 se tenía la información de que el compuesto funcionaba contra el cáncer testicular y de ovario. Sin embargo, algunos efectos secundarios importantes que presentan esta serie de compuestos son nefrotoxicidad y ototoxicidad (daño en riñones y oído, respectivamente).¹⁴ El efecto de la nefrotoxicidad fue reducido más tarde tras la adición del fármaco junto con grandes volúmenes de fluidos, forzando así la diuresis.

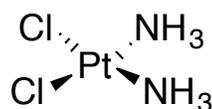


Figura 2. Molécula cuadrado plana de cisplatino.

Los metales aplicados en la clínica pueden actuar como agentes de transporte de ligantes que actuarán como fármacos, ser los metales los principales implicados en el mecanismo de acción, o bien ambos actuar en simbiosis para sinergizar el efecto terapéutico de la molécula; así por ejemplo, existen algunos complejos metálicos en donde los ligantes pueden no solo controlar la reactividad del metal, sino además jugar un papel crítico en la capacidad de reconocimiento de estos por receptores biológicos tales como el ADN, algunas enzimas o proteínas.¹⁵ Por lo tanto, el diseño racional de metalofármacos requiere una elección juiciosa de las moléculas objetivo, el metal propio y sus ligantes a fin de combinar una alta efectividad y baja toxicidad. Una innovadora aproximación

¹² Rafique, S.; Idrees, M.; Nasim, A.; Akbar, H.; Athar, A. Transition metal complexes as potential therapeutic agents. *Biotechnol. Mol. Biol. Rev.*, **2010**, *2*, 38–45.

¹³ (a) Desoize, B. Metals and Metal Compounds in Cancer Treatment. *Anticancer Res.*, *24*, **2004**, 1529-1544.
(b) Frezza, M.; Hindo, S.; Chen, D.; Davenport, A.; Schmitt, S.; Tomco, D.; Dou, Q. P. Novel metals and metal complexes as platforms for cancer therapy. *Curr. Pharm. Des.*, **2010**, *16*, 1813-1825.

¹⁴ Oun, R.; Moussa, Y. E.; Wheate, N. J. The side effects of platinum-based chemotherapy drugs: a review for chemists. *Dalton Trans.*, **2018**, *47*, 6645–6653.

¹⁵ Kumar, D.; Kumar-Singh, Dr V.; Srivastava, A.; A Review on Biologically Important Mixed Ligand Complexes and Their Application. *Asian J. Biochem. Pharm. Res.*, **2014**, *1*, 193–201.

es el uso de compuestos basados en metales esenciales¹⁶ bajo la hipótesis de que los metales esenciales pueden ser menos tóxicos. En este contexto, los complejos de cobre han sido ampliamente estudiados en términos de su capacidad para ser usados en la terapia del cáncer.¹⁷ Además, cabe mencionar que el ambiente del ligante puede tener un marcado efecto en la reactividad de todo el complejo, afectando como consecuencia tanto la farmacocinética como la farmacodinámica de los metalofármacos.¹⁸

2.2 Importancia del indol y sus derivados

Las moléculas orgánicas pequeñas pueden ser poderosas herramientas por impactar en biología y medicina, funcionando tanto en la terapéutica y en pruebas que ayudan a elucidar los procesos de regulación biológica de macromoléculas.

Evans considera como “estructura privilegiada” a toda aquella molécula con capacidad para enlazar a múltiples dianas biológicas. Sin embargo, para Stockwell y colaboradores,¹⁹ el que varias moléculas contengan la misma estructura y posean bioactividad es una expansión razonable, ya que permite una evaluación igualmente completa de la idea.

Entre las moléculas contempladas por Stockwell, debido a sus múltiples funciones biológicas y farmacológicas, encontramos a los derivados del anillo indólico (**Tabla 1**).

¹⁶ (a) Lena Ruiz-Azuara. Procedimiento para la obtención de complejos metálicos como agentes anticancerígenos. Tipo I. Patente de invención en trámite, SECOFI 18801. P. I. (1990). Patente, 26/01/1994 no. 172967. (b) Lena Ruiz-Azuara. Procedimiento para la obtención de complejos metálicos como agentes anticancerígenos. Tipo II. Patente de invención en trámite, SECOFI 18802. P. I. (1990). Patente, 09/12/1993 no. 172248. (c) Goyer, R.-A. Toxic and essential metal interactions. *Ann. Rev. Nut.*, **1997**, *17*, 37-50.

¹⁷ Santini, C.; Pellei, M.; Gandin, V.; Porchia, M.; Tisato, F.; Marzano, C. Advances in copper complexes as anticancer agents. *Chem. Rev.*, **2014**, *114*, 815–862.

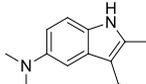
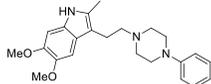
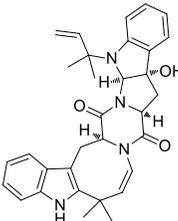
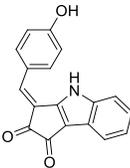
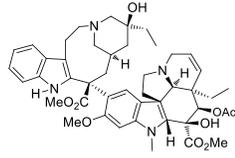
¹⁸ Bravo-Gómez, M. E.; Hernández-de la Paz, A. L.; Gracia-Mora, I.; Antineoplastic Evaluation of Two Mixed Chelate Copper Complexes (Casiopéinas®) in HCT-15 Xenograft Model. *J. Mex. Chem. Soc.*, **2013**, *57*, 207–211.

¹⁹ Welsch, M. E.; Snyder, S. A.; Stockwell B. R.; Privileged scaffolds for library design and drug discovery. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2010**, *14*, 347–361.

El anillo indólico está presente en diversas moléculas con actividad biológica.²⁰ Ejemplos de ello son las hormonas de los vegetales denominadas auxinas, pigmentos, alcaloides y el triptófano, amino ácido esencial para promover la liberación del neurotransmisor serotonina, involucrado en la regulación del placer y el sueño. Entre otras aplicaciones, desde el punto de vista terapéutico, algunas moléculas que contienen al anillo indólico, han sido empleadas como agonistas, antagonistas o inhibidores enzimáticos.²¹

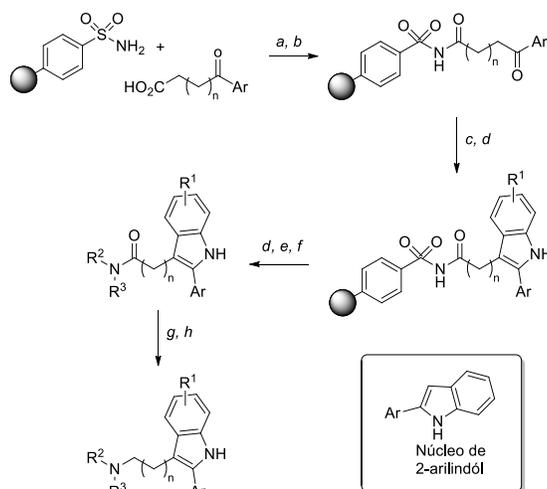
El hecho de que el indol contenido en el α -amino ácido triptófano sirve como un precursor biosintético de la serotonina es una explicación plausible para la afinidad por el receptor de serotonina. De ahí que científicos de Merck han sintetizado núcleos de 2-arilindol para la búsqueda de ligantes receptores acoplados a proteínas G (**Esquema 1**).¹⁹

Tabla 1. Ejemplos de moléculas sintéticas o de origen natural que poseen en su estructura núcleos de anillo indólico.¹⁹

Andamio Privilegiado	Estructuras		
<u>Fármacos</u>			
Indol	Medmaína Cat. Terapéutico: Inhibidor de Serotonina	Oxipertina Cat. Terapéutico: Antidepresivo	Psilocibina Cat. Terapéutico: Psicomimético
<u>Productos Naturales</u>			
	Okaramina N Fuente: <i>Penicillium simplicissium</i> Actividad Biológica: Insecticida	Nostodiona A Fuente: Alga verde-azul terrestre <i>Nostoccommune</i> Actividad Biológica: Poción de uso mitótico	Vinblastina Fuente: Hojas de planta <i>Cantharanthus roseus</i> Actividad biológica: Agente anticancerígeno; causa apoptosis por frenar la formación del huso durante la mitosis.

²⁰ Sharma, V.; Kumar, P.; Pathak, D. Biological Importance of the Indole Nucleus in Recent Years: A Comprehensive Review. *J. Heterocycl. Chem.*, **2010**, *47*, 491–502.

²¹ Fraga C. A. M.; Barreiro E. J.; de Sa Alves F. R. From nature to drug discovery: the indole scaffold as a ‘privileged structure’. *Mini-Rev. Med. Chem.*, **2009**, *9*, 782–793.



Esquema 1. (a) DIC, THF/CH₂Cl₂ seguido de resina y DMAP; (b) Anclado, mezcla y apartado de resina; (c) Arilhidrazina, ZnCl₂, AcOH; (d) Alcohol de pentafluorobencilo, Ph₃P, DIAD, THF; (e) R²R³NH; (f) Resina de isotiocinato de poliestirilo; (g) BMS, dioxano, 50 °C; (h) HCl/MeOH, 50 °C después azeótropo.¹⁹

2.3 Ácido 3-indolacético y sus derivados: una posible alternativa para el tratamiento del cáncer

El ácido 3-indolacético (IAA, por sus siglas en inglés) **Ia**, el ácido 2-(indol-3)-propiónico **If**, y sus derivados **Ib-e** y **Ig-h** son reguladores del crecimiento de las plantas (auxinas), algunos de los cuales tienen actividad antiauxina (**Figura 3a**). Dentro de estas auxinas, los α -metoxi derivados **Ic** y **Ie** incrementan la actividad fisiológica y sorprendentemente translocan en plantas (Traslación: Transporte de sustancias en tejidos vegetales), mientras que la actividad biológica de auxinas cloradas tales como **Ig** se debe predominantemente a la presencia de átomos de cloro en el anillo indólico.²²

Se ha demostrado que el IAA posee una baja toxicidad y es bien tolerado en mamíferos, mostrando citotoxicidad únicamente después de una decarboxilación oxidativa, la cual es activada por la enzima peroxidasa de rábano HRP (horseradish peroxidase) o bien por radiación.²³ Un posible mecanismo de acción del proceso de peroxidación lipídica se ilustra en el **Esquema 2**.

²² Vázquez-Arredondo, R. M.; Suárez-Castillo, O. R.; Meléndez-Rodríguez, M.; Sánchez-Zavala, M.; Cano-Escudero, I. C.; Bautista-Hernández, C. I.; Cruz-Borbolla, J.; Morales-Ríos M. S.; Joseph-Nathan P. Absolute configuration assignment of 3-indolylacetate esters. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2012**, *23*, 1279–1293.

²³ Folkes, L.-K.; Wardman, P.; Oxidative activation of indole-3-acetic acids to cytotoxic species—a potential new role for plant auxins in cancer therapy. *Biochem. Pharmacol.*, **2001**, *61*, 129–136.

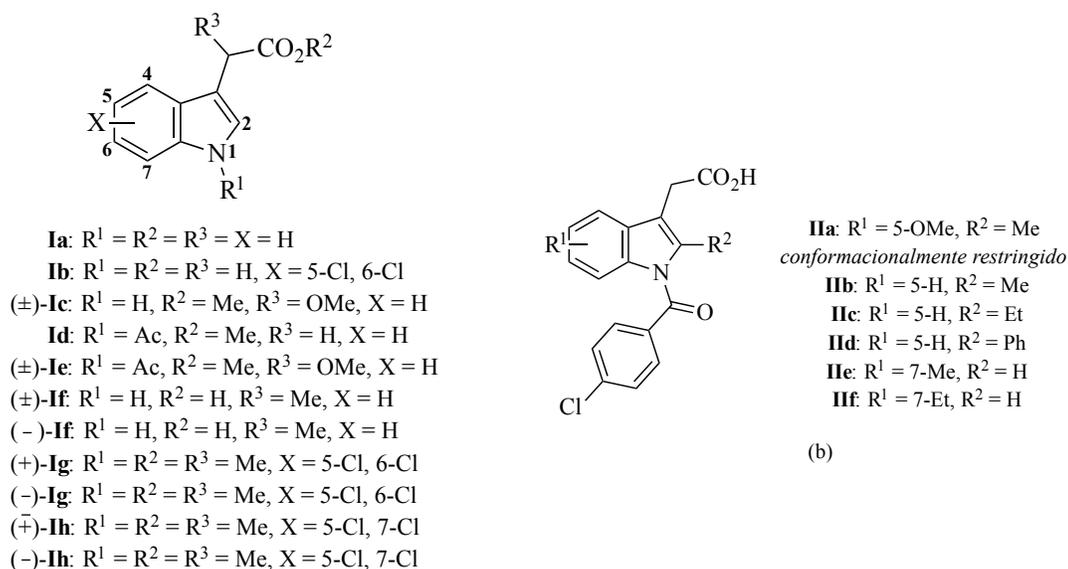
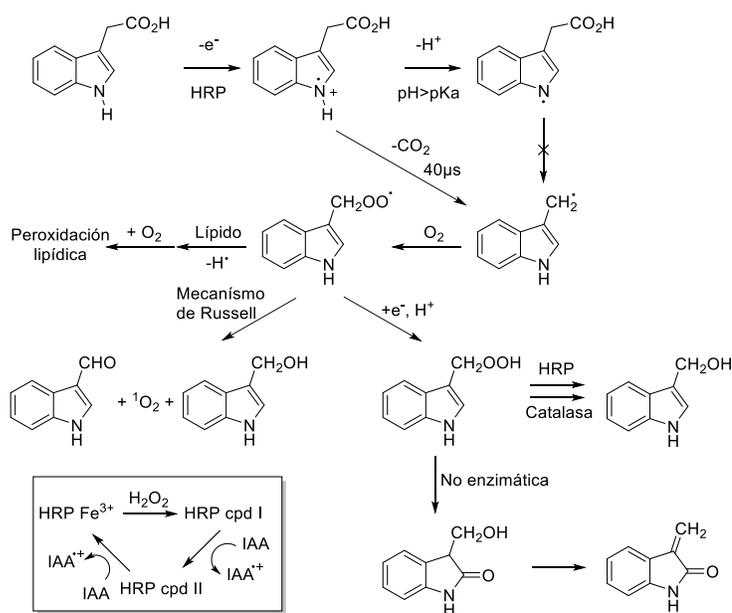


Figura 3. (a) Ácido indol-3-acético **Ia**, Ácido 2-(indol-3)-propiónico (±)-**If** y algunos de sus respectivos derivados,²² y (b) Indometacina **IIa** y sus derivados **IIb-f**.²⁵



Esquema 2. Mecanismo de acción del proceso de peroxidación lipídica del IAA en presencia de la enzima HRP.²⁴

Además del IAA, se han estudiado algunos otros derivados para tratar de elucidar el mecanismo y evaluar sus actividades biológicas en función de su habilidad de formar a los radicales

reactivos, siendo aquellos sustituidos en el anillo de indol los que muestran las mejores actividades,²⁴ entre ellos la Indometacina.³

Por su parte, la Indometacina (**Figura 3b**) además de su capacidad inhibitoria frente a la ciclooxigenasa (COX) ha mostrado que en combinación con Doxorubicina (fármaco quimioterapéutico contra el cáncer) encuentra una potencial aplicación clínica, ya que junto a sus derivados elevan la citotoxicidad del agente quimioterapéutico, al mismo tiempo que son un importante punto de partida para el desarrollo de inhibidores de la Proteína-1 multirresistentes (MRP-1).²⁵ La conformación de los compuestos es uno de los factores determinantes de su actividad biológica. Los conformeros bioactivos de la Indometacina en complejos con COX-1 y COX-2 son las formas *s-trans* y *s-cis*, respectivamente.²⁶ Una conformación puede ser dominante respecto de la otra tras la introducción de grupos alquilo en las posiciones 2 ó 7 de la Indometacina y sus derivados. Esta preferencia se debe a repulsiones entre el sustituyente en el átomo de nitrógeno y el resto de la molécula. Cálculos de mecánica molecular y de la teoría de funcionales de la densidad (DFT) revelan que la introducción de un sustituyente en la posición 2 favorece la conformación *s-cis* respecto la conformación *s-trans*, mientras que para los análogos sustituidos en la posición 7 se observa un efecto opuesto en el que la conformación *s-trans* es favorecida (**Figura 4**).²⁵

²⁴ Candeias, L. P.; Folkes, L. K.; Porssa, M.; Parrick, J.; Wardman, P. Enhancement of lipid Peroxidation by indole-3-acetic acid and derivatives: substituent effects. *Free Radic. Res.*, **1995**, *23*, 403–418.

²⁵ Arisawa, M.; Kasaya, Y.; Obata, T.; Sasaki, T.; Tomonori N., T.; Araki, T.; Yamamoto, K.; Sasaki, A.; Yamano, A.; Ito, M.; Abe, H.; Ito, Y.; Shuto, S. Design and Synthesis of Indomethacin Analogues That Inhibit P-Glycoprotein and/or Multidrug Resistant Protein without Cox Inhibitory Activity. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 8152–8163.

²⁶ (a) Loll, P. J.; Picot, D.; Ekabo, O.; Garavito, R. M. Synthesis and Use of Iodinated Nonsteroidal Antiinflammatory Drug Analogues as Crystallographic Probes of the Prostaglandin H2 Synthase Cyclooxygenase Active Site. *Biochemistry*, **1996**, *35*, 7330–7340. (b) Kurumbail, R. G.; Stevens, A. M.; Gierse, J. K.; McDonald, J. J.; Stegeman, R. A.; Pak, D.; Gildehaus, J. Y.; Miyashiro, J. M.; Penning, T. D.; Seibert, K.; Isakson, P. C.; Stallings, W. C. Structural Basis for Selective Inhibition of Cyclooxygenase-2 by Anti-inflammatory Agents. *Nature*, **1996**, *3*, 644–648.

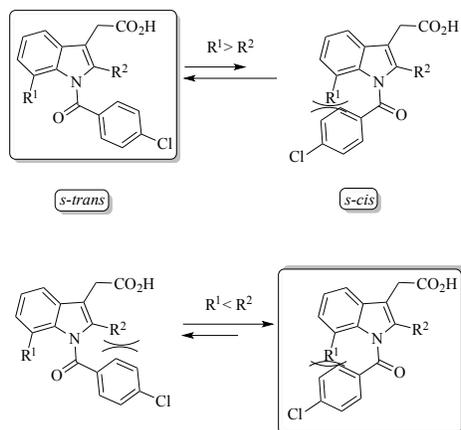


Figura 4. Efecto del sustituyente en las posiciones 2 y 7 de la Indometacina y derivados.²⁵

2.4 Los β -amino ácidos: importancia y síntesis

Hay tres tipos generales de β -amino ácidos de cadena abierta, dependiendo de si la sustitución toma lugar en el carbono adyacente al grupo carboxilo (posición α), adyacente al grupo amino (posición β), o ambas posiciones (α,β -disustitución) (**Figura 5a**). Además, los β -cicloamino ácidos podrían presentar al grupo amino y al grupo carboxilo como sustituyentes de un anillo carbocíclico o podría incorporarse al grupo amino en un anillo heterocíclico (**Figura 5b**).²⁷

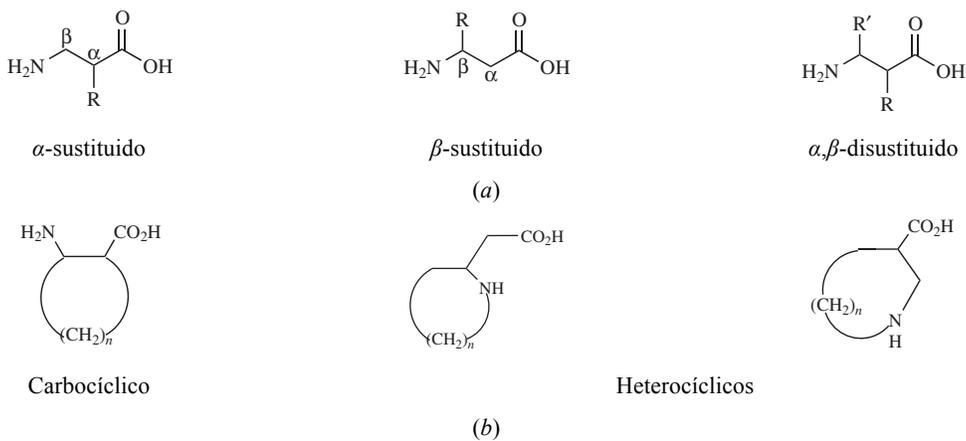
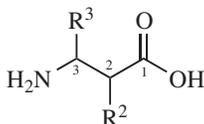


Figura 5. (a) β -Amino ácidos lineales y (b) β -cicloamino ácidos.²⁷

Por otro lado, Seebach y colaboradores propusieron la notación β^2 - y β^3 -amino ácidos, en donde los números indican la posición del grupo R como sustituyente, a fin de distinguir isómeros posicionales (**Figura 6**).²⁷



β^2 -amino ácido, $R^2 \neq H$ y $R^3 = H$

β^3 -amino ácido, $R^2 = H$ y $R^3 \neq H$

β -cicloamino ácido, $R^2-R^3 = (CH_2)_n$

Figura 6. Notación de β -amino ácidos lineales y β -cicloamino ácidos propuesta por Seebach.²⁷

Como ya se ha mencionado, algunos derivados naturales de β -amino ácidos exhiben propiedades anticancerígenas o citotóxicas tales como el Paclitaxel (Taxol, producto natural extraído de la corteza del árbol *Taxus brevifolia*), Bleomicina producido por *Streptomyces* y Microcistina producido por una cianobacteria (**Figura 7**).⁵ Los ejemplos citados corresponden a derivados de β^3 - y $\beta^{2,3}$ -amino ácidos.

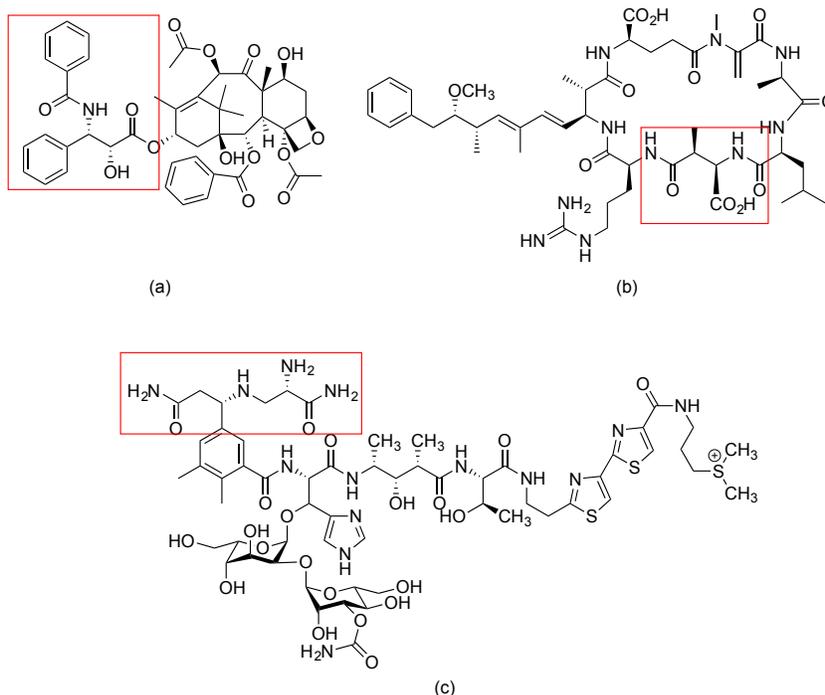
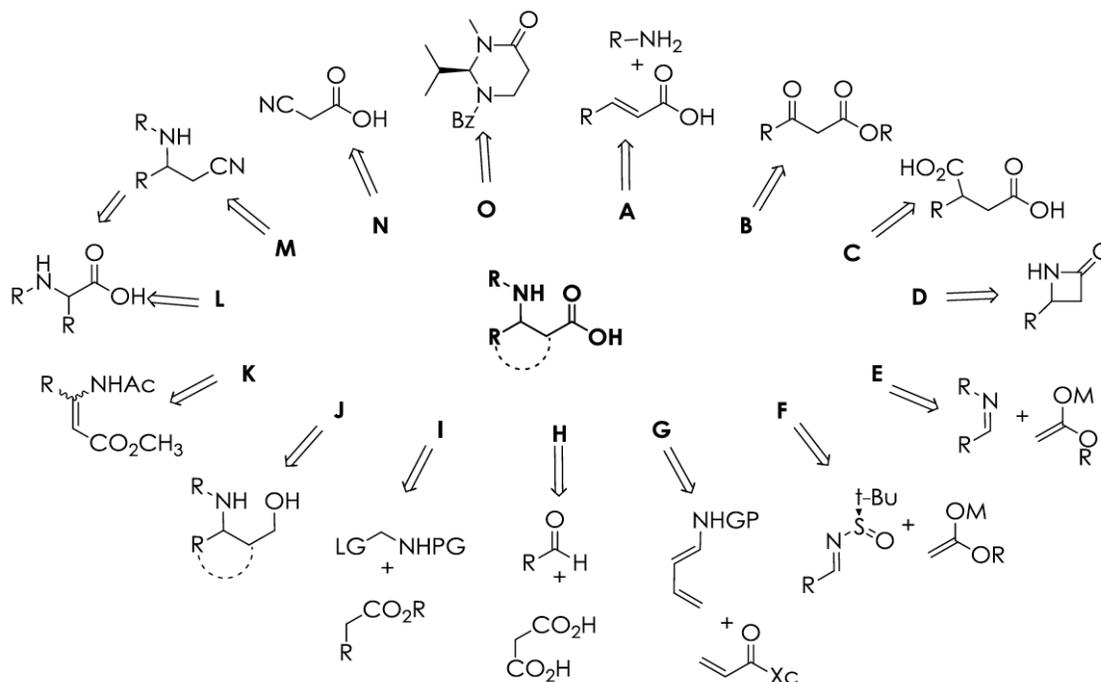


Figura 7. Productos naturales con propiedades anticancerígenas [(a) Taxol y (b) Bleomicina] y citotóxicas [(c) Microcistina].⁵

²⁷ Juaristi, E. Chapter 1. Structural Types of Relevant β -Amino Acid Targets. In Juaristi, E.; Soloshonok, V. A. Enantioselective synthesis of β -amino acids; Wiley-Interscience. Second Edition, New Jersey, **2005**.

Dada la significancia de los β -amino ácidos, no es sorprendente que el desarrollo de síntesis para obtenerlos en forma enantioméricamente pura ha llegado a ser un esfuerzo importante y desafiante para los químicos orgánicos en los últimos años. Diversas estrategias de síntesis se han diseñado para la preparación de estos compuestos (**Esquema 3**).²⁸



Esquema 3. Rutas de síntesis de β -amino ácidos. **A)** Adición de Michael, **B)** Aminación reductiva, **C)** Transposiciones (Curtius y Hofmann), **D)** Apertura de anillos β -lactámicos, **E)** Reacción de Mannich, **F)** Adición de enolatos a *tert*-butilsulfonilimas, **G)** Cicloadiciones, **H)** Condensación de Knoevenagel modificada, **I)** Aminometilación, **J)** Oxidación de β -amino alcoholes, **K)** Hidrogenación del ácido aminoacrílico, **L)** Homologación de Arndt-Eistert, **M)** Hidrólisis de nitrilos, **N)** Reducción de nitrilos, **O)** Método de Juaristi.²⁸

²⁸ (a) Rivera-Ramírez, J.-D.; Tesis Doctoral, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Centro de Investigaciones Químicas, 2015. (b) Ashfaq, M.; Tabassum, R.; Ahmad, M. M.; Hassan, N. A.; Oku, H.; Rivera, G. Enantioselective Synthesis of β -amino acids: A review. *Med. Chem.*, **2015**, *5*, 295–309. (c) Liu, M.; Sibi, M. P. Recent advances in the stereoselective synthesis of β -amino acids. *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 7991–8035. (d) Liljeblad, A.; Kanera, L. T. Biocatalysis as profound tool in the preparation of highly enantiopure β -amino acids. *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 5831–5854. (e) Weiner, B.; Szymánski, W.; Janssen, D. B.; Minnaard, A. J.; Feringa, B. L. Recent advances in the catalytic asymmetric synthesis of β -amino acids. *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, *39*, 1656–1691. (f) Rudat, J.; Brucher, B. R.; Syldatj, C. Transaminases for the synthesis of enantiopure beta-amino acids. *AMB Express*, **2012**, *2*, 1–11.

De ellas, las principales aproximaciones disponibles hasta la fecha para la síntesis estereoselectiva de β -amino ácidos son la homologación de α -amino ácidos, adición de enolatos (o equivalentes) a iminas, transposiciones, adición de nitrógeno nucleofílico a ésteres o amidas α,β -insaturadas, hidrogenación del ácido aminoacrílico y apertura de β -lactamas (**Esquema 3**).

2.4.1 Síntesis de β -amino ácidos vía adiciones de Michael

Los oligómeros de los β -amino ácidos son compuestos reportados como excelentes peptidomiméticos.²⁹ De hecho, residuos de β^2 -amino ácidos son esenciales para la formación específica de estructuras secundarias en β -péptidos³⁰ que han mostrado actuar como mimetizadores de la señalización de somatostatina³¹ y como inhibidores de infecciones virales.³⁰ Los α -alquil, α -

²⁹ (a) Seebach, D.; Beck, A. K.; Bierbaum, D. J. The World of β - and γ -Peptides Comprised of Homologated Proteinogenic Amino Acids and Other Components. *Chem. Biodivers.*, **2004**, *1*, 1111–1239. (b) Seebach, D.; Hook, D. F.; Glättli, A. Helices and the secondary structures of β - and γ -Peptides. *Biopolymers (Peptide Science)*, **2005**, *84*, 23–37. (c) English, E. P.; Chumanov, R. S.; Gellman, S. H.; Compton, T. Rational Development of β -Peptide Inhibitors of Human Cytomegalovirus Entry. *J. Biol. Chem.*, **2006**, *281*, 2661–2667. (d) Kritzer, J. A.; Stephens, O. M.; Guarracino, D. A.; Reznick, S. K.; Schepartz, A. β -Peptides as inhibitors of protein–protein interactions. *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, *13*, 11–16. (e) Stephens, O. M.; Kim, S.; Welch, B. D.; Hodsdon, M. E.; Kay, M. S.; Schepartz, A. Inhibiting HIV Fusion with a β -Peptide Foldamer. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 13126–13127. (f) Qiu, J. X.; Petersson, E. J.; Matthews, E. E.; Schepartz, A. Toward β -Amino Acid Proteins: A Cooperatively Folded β -Peptide Quaternary Structure. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11338–11339.

³⁰ (a) Lelais, G.; Seebach, D. β^2 -Amino Acids-Syntheses, Occurrence in Natural Products, and Components of β -Peptides^{1,2}. *Biopolymers (Peptide Science)*, **2004**, *76*, 206–243. (b) Cheng, R. P.; Gellman, S. H.; DeGrado, W. F. β -Peptides: From Structure to Function. *Chem. Rev.*, **2001**, *101*, 3219–3232. (c) Gellman, S. H. Foldamers: A Manifesto. *Acc. Chem. Res.*, **1998**, *31*, 173–180. (d) Cheng, R. P. Beyond *de novo* protein design - *de novo* design of non-natural folded oligomers. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2004**, *14*, 512–520. (e) Hintermann, T.; Seebach, D. Synthesis of a β -Hexapeptide from (*R*)-2-Aminomethyl-alkanoic Acids and Structural Investigations. *Synlett.* **1997**, 437–438. (f) Seebach, D.; Abele, S.; Gademann, K.; Jaun, B. Pleated Sheets and Turns of β -Peptides with Proteinogenic Side Chains. *Angew. Chem.-Int. Edit.*, **1999**, *38*, 1595–1597.

³¹ Gademann, K.; Kimmerlin, T.; Hoyer, D.; Seebach, D. Peptide Folding Induces High and Selective Affinity of a Linear and Small β -Peptide to the Human Somatostatin Receptor 4. *J. Med. Chem.*, **2001**, *44*, 2460–2468.

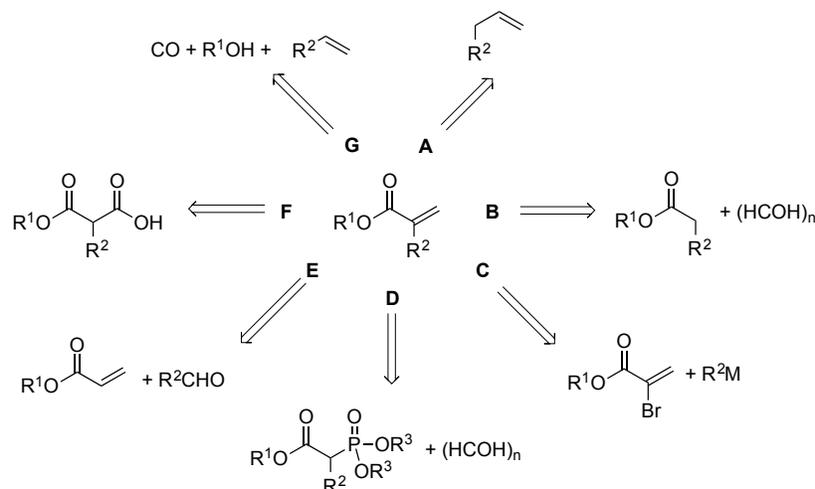
aril y α -hidroxi- β -amino ácidos han llamado significativamente la atención dada su presencia en múltiples moléculas extraídas de fuentes naturales con diferentes aplicaciones, mayormente biológicas.³² Fijando especial importancia en la síntesis de β^2 -amino ácidos, las adiciones de Michael a acrilatos resultan ser una buena alternativa.³³ Sin embargo, según la naturaleza del sustituyente en la posición alfa al carbonilo, el aislamiento de los acrilatos puede dificultarse (**Esquema 4**).³⁴ Así por ejemplo, hasta donde sabemos, no existen muchos reportes sobre la síntesis de acrilatos α -aril sustituidos. Seguramente eso sería una posible explicación de los escasos reportes de α -aril o heteroaril β -amino ácidos.³⁵

³² Cardillo, G.; Tomasini, C. Asymmetric Synthesis of β -amino acids and α -substituted β -amino acids. *Chem. Soc. Rev.*, **1996**, *25*, 117–128.

³³ (a) Escalante, J.; Carrillo-Morales, M.; Linzaga, I. Michael Additions of Amines to Methyl Acrylates Promoted by Microwave Irradiation. *Molecules*, **2008**, *13*, 340–347. (b) Díaz-Coutiño, F. D., Escalante, J. Efficient ‘One Pot’ Nitro Reduction-Protection of γ -Nitro Aliphatic Methyl Esters. *J. Mex. Chem. Soc.*, **2009**, *53*, 92–94. (c) Rangel, H.; Carrillo-Morales, M.; Galindo, J. M.; Castillo, E.; Obregón-Zúñiga, A.; Juaristi, E.; Escalante, J. Structural features of N-benzylated- β -amino acid methyl esters essential for enantiodifferentiation by lipase B from *Candida antarctica* in hydrolytic reactions. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2015**, *26*, 325–332. (d) Rivera-Ramírez, J. D.; Escalante, J.; López-Munguía, A.; Marty, A.; Castillo, E. Thermodynamically controlled chemoselectivity in lipase-catalyzed aza-Michael additions. *J. Mol. Catal. B-Enzym.* **2015**, *112*, 76–82.

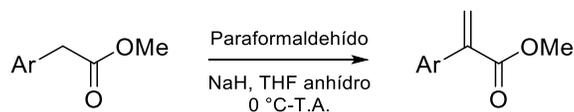
³⁴ (a) Frost, C. G.; Penrose, S. D.; Gleave, R. A Practical Synthesis of α -Substituted tert-Butyl Acrylates from Meldrum’s Acid and Aldehydes. *Synthesis*, **2009**, *4*, 627–635. (b) Sarkar, B. R.; Chaudhari, R. V. Carbonylation of alkynes, alkenes and alcohols using metal complex catalysts. *Catal. Surv. Asia*, **2005**, *9*, 193–205. (c) Hon, Y. S.; Liu, Y. W.; Hsieh, C. H. Dibromomethane as one-carbon source in organic synthesis: a versatile methodology to prepare the cyclic and acyclic α -methylene or α -keto acid derivatives from the corresponding terminal alkenes. *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 4837–4860. (d) Giguère, D.; Cloutier, P.; Roy, R. Domino Heck/Lactonization-Catalyzed Synthesis of 3-C-Linked Mannopyranosyl Coumarins. *J. Org. Chem.*, **2009**, *74*, 8480–8483. (e) Samarat, A.; Fargeas, V.; Villiéras, J.; Lebreton, J.; Amri, H.; A new synthesis of (\pm)-homo sarkomycinethyl ester. *Tetrahedron Lett.*, **2001**, *42*, 1273–1274. (f) Sui, Y.; Liu, L.; Zhao, J. L.; Wang, D.; Chen, Y. J. An efficient one-pot reaction of indoles, nitroacetate, and paraformaldehyde for the synthesis of tryptophan derivatives. *Tetrahedron Lett.*, **2007**, *48*, 3779–3782.

³⁵ (a) Ding, X.; Ye, D.; Liu, F.; Deng, G.; Liu, G.; Luo, X.; Jiang, H.; Liu, H. Efficient Synthesis of α -aryl/heteroaryl-substituted β -Amino Acids via Ni(II) Complex through the Suzuki Coupling Reaction. *J. Org. Chem.*, **2009**, *74*, 5656–5659. (b) Martin, N. J. A.; Cheng, X.; List, B. Organocatalytic Asymmetric Transferehydrogenation of β -Nitroacrylates: Accessing β^2 -Amino Acids. *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 13862–13863. (c) Beddow, J. E.; Davies, S. G.; Ling, K. B.; Roberts, P. M.; Russell, A. J.; Smith, A. D.;



Esquema 4. Estrategias de síntesis típicas para la obtención de acrilatos α -sustituídos. **A)** α -Metilenación/oxidación, **B)** Condensación aldólica, **C)** Acoplamiento catalítico, **D)** Wittig-Horner, **E)** Baylis-Hillman, **F)** Mannich, **G)** Carbonilación oxidativa.³⁶

Nuestro grupo de investigación desarrolló la síntesis de acrilatos donde el paraformaldehído fue empleado como una de las materias primas.³⁶ Se han encontrado evidencias mecánicas muy interesantes,³⁶ pues se demostró que la adición del carbono proveniente del paraformaldehído da lugar a un grupo vinilo a través de una serie de sustituciones nucleofílicas catalizadas por iones hidruro sobre carbonos acetálicos del polímero. Además, esta estrategia resultó ser rápida y económica para la síntesis de α -aril o heteroaril β -amino ácidos (**Esquema 5**).

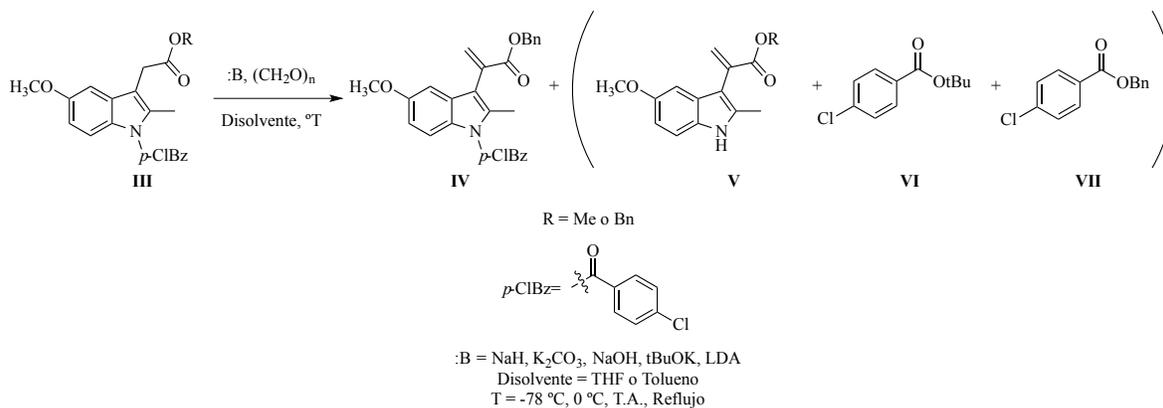


Esquema 5. Estrategia de síntesis explorada por nuestro grupo de investigación para la síntesis de acrilatos α -aril sustituídos.³⁶

Thomson, J. Asymmetric synthesis of β^2 -Amino Acids: 2-substituted-3-aminopropanoic acids from *N*-acryloyl SuperQuat derivatives. *Org. Biomol. Chem.*, **2007**, *5*, 2812–2825. (d) Akkari, R.; Calmes, M.; Di Malta, D.; Escalé, F.; Martínez, J. (*S*)-(3-Hydroxy-4,4-dimethyl-2-oxopyrrolidin-1-yl) acetic acid as a solid supported chiral auxiliary in the asymmetric synthesis of β^2 -homoarylglycines. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2003**, *14*, 1223–1228. (e) Huw, M. L. D.; Chandrasekar, V. Catalytic Enantioselective Synthesis of β^2 -Amino Acids. *Angew. Chem.-Int. Edit.*, **2002**, *41*, 2197–2199.

³⁶ Valdéz-Camacho, J. R.; Rivera-Ramírez, J. D.; Escalante, J. Studies and Mechanism of Olefination Reaction in Aryl-Enolates with Paraformaldehyde. *Int. J. Org. Chem. (Irvine)*, **2019**, *9*, 10–22.

Este procedimiento se aplicó a los ésteres metílico y bencílico derivados de la Indometacina, **III**;³⁷ sin embargo, no se obtuvieron los resultados esperados, toda vez que el grupo protector, *p*-clorobenzoilo (*p*-ClBz), resultó ser lábil y exhibe propiedades altamente electrofílicas reaccionando con todas las especies de carácter básico/nucleofílico adicionadas. Cuando se usó al hidróxido de sodio (NaOH) o carbonato de potasio (K₂CO₃) como base la reacción no procedió, pues del crudo de reacción se aisló principalmente materia prima **III** (**Esquema 6**). Con el uso de un exceso de *t*-butóxido de potasio (*t*BuOK) o hidruro de sodio (NaH) se aisló en mayor proporción el acrilato desprotegido **V** respecto al acrilato esperado **IV**, del cual solo se obtuvieron trazas y en mezcla con **III**. También, bajo estas condiciones se aisló a los subproductos **VI** y **VII**, respectivamente. Con diisopropil amiduro de litio (LDA) como base, se esperaba observar una mayor selectividad y preferente abstracción de los protones alfa al carbonilo; sin embargo, la cromatografía en capa fina (TLC) mostró una serie de subproductos; ninguno de ellos correspondiente a los derivados **IV** ó **V**.



Esquema 6. Síntesis de acrilatos metílicos y bencílicos derivados de la Indometacina.

³⁷ (a) Lazcano-Días, P. J.; Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Facultad de Farmacia, **2017**. (b) Valdéz-Camacho, J. R.; Tesis de Maestría, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Instituto de Investigación en Ciencias Básicas y Aplicadas, Centro de investigaciones Químicas, **2015**.

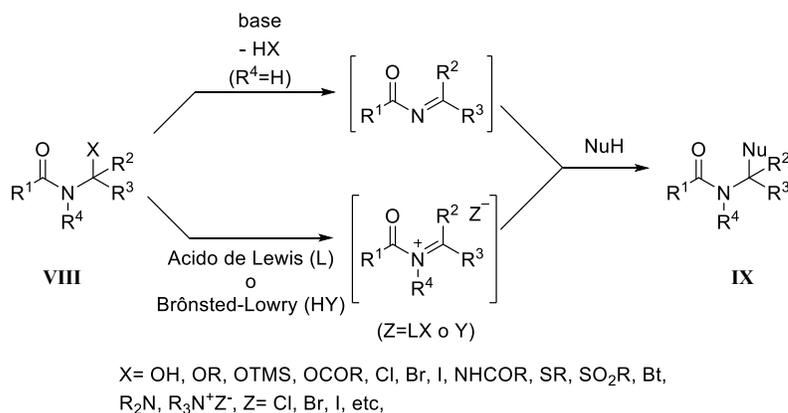
2.4.2 Síntesis de β -amino ácidos vía Aminometilación

Aunque Seebach *et al.*³⁸ han reportado exitosamente la síntesis de los β^2 -amino ácidos con cadenas laterales proteínogénicas, la síntesis de algunos otros no ha sido sencilla. Como antes se ha comentado, una estrategia para la síntesis de β -amino ácidos es la reacción de Mannich. Sin embargo, dicho procedimiento no puede ser aplicado fácilmente a compuestos no sustituidos en la posición 3, por lo que difícilmente se puede usar formaldehído como agente metilante. Es decir, el método tradicional de Mannich no es una estrategia apropiada para la síntesis de β^2 -amino ácidos. Una alternativa y extensión de la reacción de Mannich para la preparación de β^2 -amino ácidos es la α -amidometilación, α -aminometilación o simplemente aminometilación³⁹ que consiste en la adición de enolatos a equivalentes reactivos de formilamina (iones formiliminio), mejor conocidas como especies reactivas de *N*-acilaminas (iones *N*-aciliminio). Los sustratos para la preparación de estos intermediarios incluyen *N,O*-, *N,N*- y *N,S*-acetales, lo mismo que α -halo-, α -hidroxi- y α -

³⁸ (a) Hintermann, T.; Seebach, D. A Useful Modification of the *Evans* Auxiliary: 4-Isopropyl-5,5-diphenyloxazolidin-2-one. *Helv. Chim. Acta.*, **1998**, *81*, 2093–2126. (b) Sebesta, R.; Seebach, D. Preparation of (*S,S*)-Fmoc- β^2 hIle-OH, (*S*)-Fmoc- β^2 hMet-OH, and (*S*)-Fmoc- β^2 hTyr(tBu)-OH for Solid-Phase Syntheses of β^2 - and β^2/β^3 -Peptides. *Helv. Chim. Acta.* **2003**, *86*, 4061–4072. (c) Seebach, D.; Namoto, K.; Mahajan, Y. R.; Bindschädler, P. Chemical and Biological Investigations of β -Oligoarginines. *Chem. Biodivers.*, **2004**, *1*, 65–97. (d) Seebach, D.; Shaeffer, L.; Gessier, F.; Bindschädler, P.; Jäger, C.; Josien, D.; Kopp, S.; Lelair, G.; Mahajam, Y.; Micuch, P.; Sebesta, R.; Schweizer, B. W. Enantioselective Preparation of 2-Aminomethyl Carboxylic Acid Derivatives: Solving the β^2 -Amino Acid Problem with the Chiral Auxiliary 4-Isopropyl-5,5-diphenyloxazolidin-2-one (DIOZ). *Helv. Chim. Acta.*, **2003**, *86*, 1852–1861.

³⁹ (a) Chi, Y.; English, E. P.; Pomerantz, W. C.; Seth-Horne, W.; Joyce, L. A.; Alexander, L. R.; Fleming, W. S.; Hopkins, E. A.; Gellman, S. H. Practical Synthesis of Enantiomerically Pure β^2 -Amino Acids via Proline-Catalyzed Diastereoselective Aminomethylation of Aldehydes. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6050–6055. (b) Moumé, R.; Denise, B.; Parlier, A.; Lavielle, S.; Rudler, H.; Karoyan, P. One-pot synthesis of β -amino acid derivatives via addition of bis(O-silyl) ketene acetals on iminium salts. *Tetrahedron Lett.*, **2007**, *48*, 8277–8280. (c) Moumé, R.; Denise, B.; Guitot, K.; Rudler, H.; Lavielle, S.; Karoyan, P. New Scalable Asymmetric Aminomethylation Reaction for the Synthesis of β^2 -Amino Acids. *Eur. J. Org. Chem.*, **2007**, *12*, 1912–1920. (d) Moumé, R.; Larregola, M.; Boutadla, Y.; Lavielle, S.; Karoyan, P. Aminomethylation of chiral silyl enol ethers: access to β^2 -homotryptophane and β^2 -homolysine derivatives. *Tetrahedron Lett.*, **2008**, *49*, 4704–4707. (e) Hartman, A. E.; Brophy, C. L.; Cupp, J. A.; Hodge, D. K.; Peelen, T. J. Addition of Carbon-Based Nucleophiles to Fmoc-Protected Acyl Iminium Ions. *J. Org. Chem.*, **2009**, *74*, 3952–3954.

acetoxi amidas, lactamas, carbamatos, etcétera (**Esquema 7**).⁴⁰ Los *N,O*-, *N,N*-acetales, también conocidos como *N,O*-, *N,N*-hemiaminales o *N,O*-, *N,N*-aminales (los *N,O*-acetales son también conocidos como carbinoalminas), corresponden a una serie de compuestos interesantes que poseen un centro de carbono sustituido geminalmente por un grupo amino sustituido y un buen grupo saliente $-X$.⁴¹ Los *N,O*-, *N,N*-acetales son más estables y fáciles de manipular comparados con sus respectivas iminas. Esta estabilidad se incrementa si la funcionalidad amina es sustituida por grupos alquílicos o arilo (grupos electrodonadores), imposibilitando o volviendo más complicada su reacción con nucleófilos débiles tales como los enolatos, aún en su forma activada (iones *N*-aciliminio); de ahí que se prefiera la introducción de grupos de naturaleza electroattractora. La manera en que tradicionalmente se activan estas especies (preparación de sales de iminio) es a través del uso de ácidos de Lewis, y menos común con ácidos de Brønsted-Lowry o bases (**Esquema 7**). Alternativamente al uso de enolatos, los sililenol éteres y sililcetona acetales han sido reportados,⁴² cuya reacción de aminometilación procede igualmente en tolueno, acetonitrilo y cloruro de metileno como disolventes.



Esquema 7. Estrategias de activación de *N*-acilaminas y formación de iones *N*-aciliminio.

⁴⁰ (a) Nico-Speckamp, W.; Moolenaar, M. J.; New Developments in the Chemistry of *N*-Acyliminium Ions and Related Intermediates. *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 3817–3856. (b) Mazurkiewicz, R.; Październiak-Holewa, A.; Adamek, J.; Zielińska, K. α -Aminoalkylating Agents: Structure, Synthesis, Reactivity and Application, in *Advances in Heterocyclic Chemistry*. Elsevier Inc., **2014**, *111*, 43–94. (c) Marcantoni, E.; Petrini, M. Recent Developments in the Stereoselective Synthesis of Nitrogen-Containing Heterocycles using *N*-Acylimines as Reactive Substrates. *Adv. Synth. Catal.*, **2016**, *358*, 3657–3682.

⁴¹ Huang, Y. Y.; Cai, C.; Yang, X.; Lv, Z. C.; Schneider, U. Catalytic Asymmetric Reactions with *N,O*-Aminals. *ACS Catal.*, **2016**, *6*, 5747–5763.

⁴² Arend, M; Westermann, B; Risch, N. Modern Variants of the Mannich Reaction. *Angew. Chem.-Int. Ed.*, **1998**, *37*, 1044–1070.

2.5 Casiopeínas®

Como se ha dicho, el cáncer es un tema de impacto mundial y de interés para toda la sociedad, no sólo para la comunidad científica. Sus altos índices de mortandad han llamado la atención y han motivado a muchos grupos de investigación a buscar alternativas de prevención, detección oportuna y tratamientos adecuados de bajo costo, poco tóxicos y altamente eficientes. En México el grupo de la Dra. Lena Ruiz-Azuara ha podido sintetizar moléculas de base metálica que cumplen con las especificaciones anteriores y que han demostrado actividad anticancerígena aún frente a líneas resistentes al cisplatino, denominadas Casiopeínas®.^{16,43} Las Casiopeínas® (**Figura 8**), son un conjunto de complejos mixtos de Cu(II) con fórmula general $[\text{Cu(II)-L}^1\text{L}^2]\text{NO}_3$, donde L^1 es el ligante primario y corresponde a un ligante de tipo diimina aromática (*N-N*), mientras que L^2 es el ligante secundario de tipo α -aminoacido (*N-O*) o donador (*O-O*). 2,2'-Bipiridinas (bpy) y 1,10-fenantrolinas (phen) sustituidas son donadores nitrogenados bidentados que actúan como ligantes y que presentan una relativa afinidad hacia el cobre; la característica de poseer un sistema extendido de anillos aromáticos, les permite enlazarse a la molécula de ADN por interacciones intercalativas o no intercalativas tanto como moléculas libres o en complejos metálicos.⁴⁴ Los α -L-aminoácidos fueron escogidos como segundo ligante debido a su afinidad hacia complejos de (bpy) y (phen)Cu(II), y su baja toxicidad.⁴⁵ Finalmente, acetilacetatos (acac) y salicilaldehidos (salal) además de poseer una buena afinidad a complejos (phen)Cu(II), podrían modular las propiedades redox del centro metálico.

⁴³ (a) Lena Ruiz-Azuara. Process to obtain new mixed copper aminoacidoate complexes from phenylate phenanthroline to be used as anticancerigenic agents. U.S. Patent application serial No. 07/628,843., 21/04/1992 Number 5, 107, 005. Re35, 458, Feb. 18 (1997). (b) Lena Ruiz-Azuara. Process to obtain new mixed copper aminoacidoate from methylate phenanthroline complexes to be used as anticancerigenic agents. U. S. Patent application serial No. 07/628,628., (1992), Pat. No. 5,576,326. 19/11/1996.

⁴⁴ (a) Hirohama, T.; Kuranuki, Y.; Ebina, E.; Sugizaki, T.; Arii, H.; Chikira, M.; Tamil-Selvi, P.; Palaniandavar, M. Copper(II) complexes of 1,10-phenantrolines-derived ligands: Studies on DNA binding properties and nuclease activity. *J.Inorg. Chem.*, **2005**, *99*, 1205–1219. (b) Robertazzi, A.; Magistrato, A.; de Hoog, P.; Carloni, P.; Reedijk, J. Density Functional Theory Studies on Copper Phenanthroline Complexes. *Inorg. Chem.*, **2007**, *46*, 5873–5881.

⁴⁵ (a) Türkel, N.; Şahin, Ç. Stability of binary and ternary copper(II) complexes with 1,10-phenanthroline, 2,2'-bipyridyl and some α -amino acids in aqueous medium. *Chem. Pharm. Bull.* **2009**, *57*, 694-699. (b) Hakimi, M.; Saberi-Aliabadi, T. Coordination chemistry of copper α -amino acids complexes. *World Appl. Program.* **2012**, *2*, 431–443.

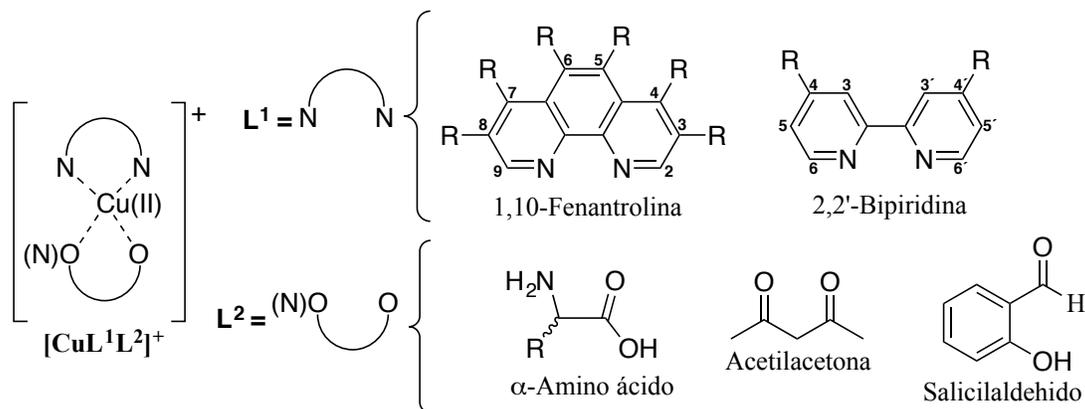


Figura 8. Estructura General de Casiopeínas[®] y los ligandos empleados para su preparación (se muestra únicamente la componente catiónica).

Ahora bien, el diseño de la molécula se basó en seis aspectos principales:

1. En primer lugar el cobre fue usado debido a que es un metal esencial, lo cual podría disminuir los efectos tóxicos del fármaco.
2. Este tipo de compuestos están reportados en la literatura particularmente como estables cuando uno de los ligandos es una diimina aromática y el segundo contiene un oxígeno donador. Esta estabilidad se ha explicado de dos formas. La primera por el fenómeno de retrodonación,⁴⁶ el cual consiste en que el ligante diimina actúa como base formando un enlace σ , y después el centro metálico, *via* orbitales d , retrozona densidad electrónica a los orbitales de antienlace del ligante que es π aceptor. Este proceso hace que el ión cúprico en el complejo $[Cu(N-N)]^{2+}$ quede deficiente electrónicamente, dando como resultado un ácido más fuerte (que el ión cúprico hidratado) que será preferido por bases duras (ligandos donadores de oxígeno, por ejemplo).⁴⁷ Recientemente, la estabilidad de estas especies se ha explicado con estudios DFT que concluyeron que el fenómeno de estabilidad de estos compuestos

⁴⁶ García-Ramos, J. C.; Galindo-Murillo, R.; Tovar-Tovar, A.; Alonso-Saenz, A. L.; Gómez-Vidales, V.; Flores-Álamo, M.; Ortiz-Frade, L.; Cortes-Guzmán, F.; Moreno-Esparza, R.; Campero, A.; Ruiz-Azuara, L. The π -back-bonding modulation and its impact in the electronic properties of CuII antineoplastic compounds: An experimental and theoretical study. *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 13730–13741.

⁴⁷ Gasque, L.; Medina, G.; Ruiz-Ramírez, L.; Moreno-Esparza, R. Cu-O stretching frequency correlation with phenanthroline pK_a values in mixed copper complexes. *Inorg. Chim. Acta*, **1999**, *288*, 106–111.

se debe más a la afinidad electrónica de las especies y a la dureza y blandura locales.⁴⁸

- Los ligantes diimina, phen y bpy funcionan como intercaladores. Estudios de QSAR⁴⁹ concluyen que la presencia de un anillo aromático extra en phen es necesario para incrementar la actividad antiproliferativa. Chikira⁵⁰ ha demostrado que en este tipo de compuestos el ligante diimina con un mayor efecto intercalante es la 5,6-dimetil-1,10-fenantrolina. Lo anterior bien puede ser justificado por una posible interacción de los hidrógenos de los metilos en C4 y C7 en la 4,7-dimetil-1,10-fenantrolina que están demasiado próximos a los pares de bases en el ADN luego del intercalamiento y a la interacción desestabilizante que se genera, lo cual se ve reflejado en la disminución de su actividad biológica.⁴⁹ Este efecto isomérico impacta incluso las propiedades farmacocinéticas de estos compuestos de coordinación.⁵¹ Además, es posible que los grupos metilo interactúen con los grupos fosfodiéster medulares en una de las hebras de la doble hélice.^{52,53,54}

⁴⁸ Martínez, A.; Salcedo, R.; Sansores, L. E. A Density Functional Study of the reactivity and Stability of Mixed Copper Complexes. Is the Hardness the reason? *Inorg. Chem.*, **2001**, *40*, 301–306.

⁴⁹ Bravo-Gómez, M. E.; García-Ramos, J. C.; García-Mora, I.; Ruiz-Azuara, L.; Antiproliferative activity and QSAR study of copper(II) mixed chelate [Cu(N-N)(acetylacetonato)]NO₃ and [Cu(N-N)(glycinato)]NO₃ complexes. *J. Inorg. Biochem.*, **2009**, *103*, 299-309.

⁵⁰ Chikira, M.; Tomisawa, Y.; Fukita, D.; Sugizaki, T.; Sugawara, N.; Yamazaki, T.; Sasano, A.; Shindo, H.; Palaniandavar, M.; Antholine, W. DNA-fiber EPR study of the orientation of Cu(II) complexes of 1,10-phenanthroline and its derivatives bound to DNA: mono(phenanthroline)-copper(II) and its ternary complexes with amino acids. *J. Inorg. Biochem.*, **2002**, *89*, 163–173.

⁵¹ (a) García-Ramos, J. C.; Vértiz-Serrano, G.; Macías-Rosales, L.; Galindo-Murillo, R.; Toledano-Magaña, Y.; Bernal, J. P.; Cortés-Guzmán, F.; Ruiz-Azuara, L. Isomeric effect on the pharmacokinetic behavior of anticancer CuII mixed chelate complexes: experimental and theoretical approach. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2017**, *2017*, 1728–1736. (b) Vértiz, G.; García-Ortuño, L. E.; Bernal, J. P.; Bravo-Gómez, M. E.; Lounejeva, E.; Huerta, A.; Ruiz-Azuara, L. Pharmacokinetics and hematotoxicity of a novel copper-based anticancer agent: Casiopeina III-Ea, after a single intravenous dose in rats. *Fundam. Clin. Pharmacol.* **2012**, *28*, 78–87.

⁵² Brodie, C. R.; Collins, J. G.; Aldrich-Wright, J. R.; DNA binding and biological activity of some platinum(II) intercalating compounds containing methyl-substituted 1,10-phenanthrolines. *Dalton Trans.*, **2004**, *0*, 1145–1152.

⁵³ García-Ramos, J. C.; Galindo-Murillo, R.; Cortés-Guzmán, F.; Ruiz-Azuara, L.; Metal-Based Drug-DNA Interactions. *J. Mex. Chem. Soc.*, **2013**, *57*, 245–259.

4. Se seleccionó el número de oxidación 2+ para el cobre, dado que se deseaba mimetizar estructuralmente al cisplatino, con ello una geometría cuadrada plana para los complejos de cobre. Lo anterior se consiguió tras coordinar al ión Cu(II) con dos ligantes bidentados. En los complejos de Cu(II), el número de coordinación varía de cuatro a seis, incluidos complejos tritracoordinados de geometría cuadrada plana (cp), pentacoordinados de geometrías trigonal bipyramidal (tbp) y piramidal de base cuadrada (pbc) y hexacoordinados octaédricos (oc).¹¹
5. El núcleo central de cobre de estos compuestos puede participar en ciclos redox, generando especies reactivas de oxígeno (ROS) que dañan al ADN.⁵⁵
6. El último aspecto del diseño de las Casiopeínas[®] se refiere al ligante (*N-O*) o (*O-O*); la actividad biológica y propiedades físicoquímicas se ven menos influenciadas tras el cambio de cualquiera de estos, a diferencia del cambio de bpy y phen.⁴² Por tal razón, el ligante diimina por ahora se le reconocerá como primario, mientras que a los (*N-O*) y (*O-O*), secundarios. Tal parece que el efecto de este ligante secundario tiene que ver con el transporte del compuesto a través de las membranas celulares debido al incremento de la hidrofobicidad. Además de que complejos con anillos aromáticos o heterocíclicos son más activos que aquellos con amino ácidos alifáticos; sin embargo, estos últimos suelen ser más solubles en agua. Estudios recientes al respecto del ligante secundario sugieren que estos podrían ser pieza clave en estudios *in vivo* de la estabilidad del complejo ternario y la hidrofobicidad requeridos para dirigir la molécula al objetivo final.⁵⁶

Las evidencias sugieren como principales mecanismos de acción de las Casiopeínas[®] a: a) La generación de ROS (la cual es quizá la más aceptada), que pueden dañar directamente el ADN o

⁵⁴ García-Ramos, J. C.; Tovar-Tovar, A.; Hernández-Lima, J.; Cortés-Guzmán, F.; Moreno-Esparza, R.; Ruiz-Azuara, L. A new kind of intermolecular stacking interaction between copper (II) mixed chelate complex (Casiopeína III-ia) and adenine. *Polyhedron*, **2011**, *30*, 2697–2703.

⁵⁵ Denoyer, D.; Masaldan, S.; La Fontaine, S.; Cater, M.-A. Targeting copper in cancer therapy: 'Copper that Cancer'. *Metallomics*. **2015**, *7*, 1459–1476.

⁵⁶ Bravo-Gómez, M. E., Dávila-Manzanilla, S., Flood-Garibay, J. A., Muciño-Hernández, M. Á., Mendoza, Á., García-Ramos, J. C., Moreno-Esparza, R., Ruiz-Azuara, L., Secondary Ligand Effects on the Cytotoxicity of Several Casiopeína's Group II Compounds. *J. Mex. Chem. Soc.*, **2012**, *56*, 85–92.

inducir la muerte celular por la *vía* de la apoptosis,^{57,58,59} con oxidación y degradación del ADN^{57,60} más agotamiento de defensas antioxidantes como glutatión (GSH) como consecuencia.^{58,61,62} b) toxicidad mitocondrial^{63,64} o c) daño a la molécula de ADN a través de la interacción con el complejo de manera directa por un mecanismo intercalativo o no intercalativo.^{58,65,66,67}

⁵⁷ Alemón-Medina, R.; Brena-Valle, M.; Muñoz-Sánchez, J. L.; Gracia-Mora, M. I. Induction of oxidative damage by copper-based antineoplastic drugs (Casiopéinas®). *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **2007**, *60*, 219–228.

⁵⁸ Rivero-Muller, A.; De Vizcaya-Ruiz, A.; Plant, N.; Ruiz, L.; Dobrota, M. Mixed chelate copper complex, Casiopéina IIgly®, binds and degrades nucleic acids: A mechanism of cytotoxicity. *Chem.-Biol. Interact.*, **2007**, *165*, 189–199.

⁵⁹ Alemón-Medina, R.; Muñoz-Sánchez, J. L.; Ruiz-Azuara, L.; Gracia-Mora, M. I. Casiopéina IIgly induced cytotoxicity to HeLa cells depletes the levels of reduced glutathione and is prevented by dimethyl sulfoxide. *Toxicol. Vitro*, **2008**, *22*, 710–715.

⁶⁰ Serment-Guerrero, J.; Cano-Sánchez, P.; Reyes-Perez, L. Genotoxicity of the copper antineoplastic coordination complexes casiopéinas®. *Toxicol. Vitro*, **2011**, *25*, 1376–1384.

⁶¹ Alemón-Medina, R.; Bravo-Gómez, M. E.; Gracia-Mora, M. I.; Ruiz-Azuara, L. Comparison between the antiproliferative effect and intracellular glutathione depletion induced by Casiopéina IIgly and cisplatin in murine melanoma B16 cells. *Toxicol. Vitro*, **2011**, *25*, 868–873.

⁶² Kachadourian, R.; Brechbuhl, H. M.; Ruiz-Azuara, L.; Gracia-Mora, I.; Day, B. J. Casiopéina IIgly-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction in human lung cancer A549 and H157 cells. *Toxicology*, **2010**, *268*, 176–183.

⁶³ Hernández-Esquível, L.; Marín-Hernández, A.; Pavón, N.; Carvajal, K.; Moreno-Sánchez, R. Cardiotoxicity of copper-based antineoplastic drugs casiopéinas is related to inhibition of energy metabolism. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **2006**, *212*, 79–88.

⁶⁴ Marín-Hernández, A.; Gracia-Mora, I.; Ruiz-Ramírez, L.; Moreno-Sánchez, R. Toxic effects of copper-based antineoplastic drugs (Casiopéinas®) on mitochondrial functions. *Biochem. Pharmacol.*, **2003**, *65*, 1979–1989.

⁶⁵ Chikira, M.; Tomizawa, Y.; Fukita, D.; Suguizaki, T.; Sugawara, N.; Yamazaki, T.; Sasano, A.; Shindo, H.; Palaniandavar, M.; Antholine, W. E. DNA-fiber EPR study of the orientation of Cu(II) complexes of 1,10-phenanthroline and its derivatives bound to DNA: mono(phenanthroline)-copper(II) and its ternary complexes with amino acids. *J. Inorg. Biochem.*, **2002**, *89*, 163–173.

⁶⁶ Ruili Huang, A. W.; Covell, D. G. Anticancer metal compounds in NCI's tumor-screening database: putative mode of action. *Biochem. Pharmacol.*, **2005**, *69*, 1009–1039.

⁶⁷ Sigman, D. S.; Mazumber, A.; Perrin, S. M. Chemical nucleases. *Chem Rev.*, **1993**, *93*, 2295–2316.

PLANTEAMIENTO DEL PROYECTO

Una de las enfermedades que provoca los mayores índices de mortalidad a nivel mundial es el cáncer. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), sólo para el 2012 el número de muertes a causa de estas enfermedades fue de 8.2 millones, mientras que para 2015, las cifras se elevaron hasta 8.8 millones.⁶⁸ Cada año se diagnostican nuevos casos de individuos con cáncer y al menos el 60% de éstos ocurren en África, Asia y América Central y del Sur. En México, aunque las defunciones por cáncer en órganos digestivos predominan en ambos sexos, el cáncer de mama y cérvico-uterino son los más frecuentes en mujeres, mientras que para la comunidad masculina lo son el cáncer de próstata y el cáncer de pulmón.⁶⁹ Una de las causas principales del fallo en el tratamiento contra el cáncer es la multirresistencia al fármaco.

En el presente proyecto se propone la síntesis de una serie de compuestos de coordinación con cobre (II) como centro metálico denominados Casiopeínas®, $[\text{Cu(II)-L}^1\text{L}^2]\text{NO}_3$, donde L^1 es 1,10-fenantrolina, mientras que L^2 es un β -aminoacidato; de particular interés es el β^2 -amino ácido derivado de la Indometacina, pues se espera un efecto sinergizante con el resto de la molécula. La síntesis del β^2 -amino ácido derivado de la Indometacina no está reportada, por lo que se trata del primer reto del presente trabajo, pues el grupo protector *p*-ClBz presente en ésta molécula, es lábil frente una variedad amplia de condiciones.

Una vez que se lleve a cabo la síntesis del ligante y de los compuestos de coordinación, estos se caracterizarán a través de diferentes técnicas físicas, fisicoquímicas y espectrométricas. Una vez caracterizados, la actividad antiproliferativa de las Casiopeínas® será probada frente a dos líneas celulares de cáncer de mama (MCF-7) y cáncer de pulmón (A549). Paralelamente será medida su especificidad hacia líneas cancerígenas empleando para ello líneas celulares normales tales como células de tejido epidérmico humano no tumoral inmortalizado (HaCaT) y células de riñón de embrión humano 293 (Hek293).

También, se comprobará la relación de la actividad antiproliferativa de esta serie de compuestos de cobre (II) con su potencial de reducción de media onda ($E_{1/2}$), pues cuanto más negativo sea su valor de $E_{1/2}$ una mejor actividad biológica es esperada.

Finalmente, se desarrollará un protocolo teórico eficiente, preciso y de bajos costos computacionales para la predicción de $E_{1/2}$ de los complejos sintetizados, que se comparará con los datos experimentales obtenidos.

⁶⁸ Organización Mundial de la Salud, Cáncer (2018). Tomado de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>

⁶⁹ Instituto Nacional de Estadística y Geografía, Estadísticas a Propósito del día Mundial Contra el Cáncer (2013). <http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/Contenidos/estadisticas/2014/cancer0.pdf>

HIPÓTESIS

Dado que el intercambio del ligante secundario en las moléculas denominadas Casiopeínas® parece no alterar de manera significativa la actividad de estas en modelos *in vitro*, siendo su función más importante la de transporte a través de membranas celulares, es posible realizar el intercambio de esta porción de la molécula por una cuya posible actividad se involucre en procesos de peroxidación lipídica (agente anticancerígeno), como regulador o inhibidor de la expresión la glicoproteína-P que es responsable de generar multirresistencia a fármacos a nivel celular; sinergizando así la actividad anticancerígena de este grupo de compuestos, para lo cual fueron concebidas. Al igual que las actividades antiproliferativas, un cambio pequeño en los valores de potencial de media onda ($E_{1/2}$) es esperado y se demostrará experimental y teóricamente.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Sintetizar y caracterizar el ligante secundario tipo β^2 -amino ácido derivado de la Indometacina y una serie de complejos mixtos de Cu(II) derivados de ligantes β^2 - y β^3 -aminoácidos, $[\text{Cu}(N-N)(\beta\text{-aminoácido})]\text{NO}_3$ (**Casiopeínas®**), así como evaluar la actividad antiproliferativa de dichos complejos.

Objetivos Específicos

- Encontrar una estrategia de síntesis corta y eficiente para la preparación del β^2 -amino ácido derivado de la Indometacina en forma racémica.
- Mejorar el rendimiento para la síntesis del éster bencílico derivado de la Indometacina.
- Evaluar la pertinencia del empleo de la aminometilación como estrategia de síntesis de α -aril o heteroaril β^2 -amino ácidos, con miras a reducir la estrategia de síntesis de la molécula objetivo a solo tres pasos.
- Estudiar el efecto de la temperatura, la base, la fuente de iones *N*-aciliminio, el del ácido de Lewis y del disolvente en las reacciones de aminometilación.
- Llevar a cabo reacciones de hidrogenólisis para la remoción de los grupos protectores en la amina y el ácido carboxílico.
- Estudiar el efecto del catalizador, disolvente, temperatura y presión en las condiciones de reacción para la hidrogenólisis de los β^2 -amino ésteres bencílicos *N*- o *N,N*-protegidos.
- Estudiar un proceso diastereoselectivo a través de la reacción de aminometilación *vía* un agente *N*-aciliminio quiral para tener una primera aproximación a un proceso de resolución de enantiómeros.
- Sintetizar en forma racémica, una serie de cuatro complejos mixtos de Cu(II) empleando 1,10-fenantrolina como ligante primario, y β -Alanina, β^3 -amino ácidos (β^3 -MeAla, β^3 -CyAla), lo mismo que el β^2 -amino ácido derivado de la Indometacina como ligantes secundarios.
- Determinar la geometría, número de coordinación y estado de oxidación de los complejos en estado sólido y en solución por diferentes técnicas físicas, fisicoquímicas y espectroscópicas.
- Conocer la estabilidad térmica de los complejos sintetizados mediante análisis por difracción de rayos-X de polvos (PXRD) y análisis termogravimétrico.

- Realizar pruebas *in vitro* para evaluar la actividad citotóxica de los complejos preparados en dos líneas tumorales, MCF-7 (cáncer de mama) y A549 (cáncer de pulmón).
- Realizar pruebas *in vitro* para evaluar la selectividad de los complejos preparados en dos líneas celulares normales, HEK293 y HaCAT.

METODOLOGÍA

6.1 Información General

El material de vidrio que se empleó para las reacciones se secó en una estufa a 100 °C y todos los disolventes fueron destilados.

Las reacciones fueron monitoreadas a través de la técnica de cromatografía en capa fina (TLC, por sus siglas en inglés), empleando como fase estacionaria gel de sílice 60 F₂₅₄ y como agentes reveladores luz ultravioleta (físico), vapores de yodo, sulfato cérico amoniacal y ninhidrina (químicos).

6.2 Reactivos, disolventes y líneas celulares

El tetrahidrofurano (THF) y el tolueno (Tol.) fueron secados empleando sodio metálico y benzofenona como indicador, a reflujo y bajo atmósfera de nitrógeno. La β -Alanina (β -Ala, Aldrich), Cu(NO₃)₂·H₂O (Aldrich), KBr (Aldrich), 1,10-fenantrolina (Merck), lo mismo que los solventes orgánicos fueron adquiridos de los proveedores comerciales indicados en paréntesis y usados sin ninguna purificación. El ácido (\pm)-3-aminobutanóico (β^3 -MeAla) fue preparado a través del procedimiento modificado reportado por Juaristi *et al.*,^{70,71} mientras que el ácido (\pm)-3-amino-ciclohexilpropanóico (β^3 -CyAla) y el ácido (\pm)-3-amino-3-fenilpropanóico (β^3 -PhAla) se obtuvieron de acuerdo con la síntesis de Rodionov.⁷² Las líneas celulares MCF-7 (adenocarcinoma de mama: HBT-22), A549 (cáncer de pulmón de humano: CCL-185), HEK293 (células embrionarias de riñón humano: CRL-1571) y HaCAT (células de tejido epidérmico humano no tumoral inmortalizado: CLS-300493) fueron adquiridas del American Type Culture Collection (ATCC).

6.3 Instrumental

Los puntos de fusión se detectaron en un aparato Melt-temp Electrothermal en tubos capilares abiertos con temperaturas no corregidas. Los espectros de RMN ¹H, RMN ¹³C, COSY y HSQC se

⁷⁰ Juaristi, E.; Escalante, J.; Lamatsch, B.; Seebach, D. Enantioselective synthesis of β -amino acids. 2. Preparation of the like stereoisomers of 2-methyl- and 2-benzyl-3-aminobutanoic acid. *J. Org. Chem.*, **1992**, *57*, 2396–2398.

⁷¹ Se usó bencilamina en lugar de (*S*)- o (*R*)-1-feniletilamina.

⁷² Lázár, L.; Martinek, T.; Bernáth, G.; Fülöp, F. A Simple Synthesis of β -Alkyl-Substituted β -Amino Acids. *Synth. Commun.*, **1998**, *28*, 219.

obtuvieron en equipos Varian Mercury a 200 MHz (4.7 T), Varian Inova a 400 MHz (9.4 T), Varian Mercury a 400 MHz (9.39 T) y Bruker AVANCE III HD 500 MHz empleando como disolvente cloroformo deuterado (CDCl_3), metanol deuterado (CD_3OD) y trimetilsilano como referencia interna. Los desplazamientos químicos (δ) están reportados en partes por millón (ppm) a partir del TMS; las constantes de acoplamiento (J) están reportadas en Hz y para indicar la multiplicidad de las señales se utilizaron las siguientes abreviaturas: (*a*) ancha, (*d*) doble o doblete, (*dd*) doble de dobles, (*dt*) doble de triples, (*t*) triplete, (*td*) triple de dobles, (*c*) cuarteto y (*m*) multiplete. En los casos en los que no se consiguió determinar la multiplicidad de la señal se reporta el intervalo de desplazamiento químico en el que aparecen. Los análisis espectrométricos de masas de alta resolución (HRMS) fueron realizados en un equipo JEOL MStation JMS-700 (FAB+) y UPLC Agilent 1290 acoplado a un detector de masas QTOF 6545 (ESI+). Los análisis elementales se desarrollaron en un instrumento Thermo Scientific Flash 2000. Los espectros de absorción electrónica se leyeron a 25 °C en un espectrofotómetro de arreglo de diodos Hewlett–Packard 8452A. Los espectros de infrarrojo se obtuvieron en un espectrofotómetro FT-IR NICOLET 6700 Thermo Scientific en un rango de 4000-500 cm^{-1} usando pastillas de KBr. Los datos de susceptibilidad magnética fueron colectados con una balanza de susceptibilidad magnética Sherwood Scientific MK-1. Las mediciones de conductividad fueron hechas usando un instrumento de conductividad YSI 3100 en soluciones acuosas a una concentración 1.0 mM. Los espectros de EPR se midieron a 77 K en sendas soluciones metanólicas de concentración 2.0 mM depositadas en tubos quartz con un espectrómetro Jeol JES-TE300 operado en la banda X. La frecuencia de microondas fue de 9.1 GHz. Los análisis termogravimétricos (TGA) y de colorimetría de barrido diferencial (DSC) se realizaron con un instrumento SDT Q600 TA, empleando para las mediciones bandejas de aluminio donde se colectaban las muestras (3 mg), las cuales se analizaron en el intervalo de temperaturas 25-600 °C con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min y usando una corriente de 50 mL/min de nitrógeno gas inerte.

6.4 Análisis por difracción de rayos-X de polvos (PXRD) y de monocristal (SCXRD)

Los difractogramas de rayos-X de polvos se procesaron en un difractómetro BRUKER D8-ADVANCE equipado con un detector LynxEye ($\lambda_{\text{CuK}\alpha 1} = 1.5406 \text{ \AA}$, monocromador: germanio). El equipo fue operado a 40 kV y 40 mA y los datos se procesaron a temperatura ambiente en el intervalo de $2\theta = 5\text{-}60^\circ$. Monocristales adecuados para el análisis por difracción de rayos-X (XRD) de los compuestos **9a-9d** fueron tomados de las aguas madres e inmediatamente fueron enfriados y

mantenidos a 100 o 120 K durante la colección de datos. Los datos de difracción fueron adquiridos en los difractómetros Agilent Technologies Super Nova y Bruker D8 VENTURE, equipados con un detector de área CCD (EosS2), y un detector PHOTON 100, respectivamente. Se usaron como fuentes de rayos-X las radiaciones Mo- $K\alpha$ ($\lambda = 0.7107 \text{ \AA}$) y Cu- $K\alpha$ ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$) y para enfriar un instrumento Oxford Cryojet. Las estructuras fueron resueltas usando el paquete de programas OLEX2⁷³ y SHELXL,⁷⁴ y SHELXL-2014⁷⁵ para su refinamiento. Los átomos de hidrógeno fueron generados en posiciones calculadas y restringidos con el uso de un modelo.

La unidad asimétrica de la estructura cristalina de [Cu(phen)(β -Ala)(MeOH)]NO₃·0.5H₂O·0.5MeOH (**9a'**) contiene dos moléculas de complejos de Cu(II) cristalográficamente independientes, dos moléculas de nitrato como contraiones y una molécula de agua y metanol no coordinadas ocupando la esfera de solvatación. En la estructura cristalina de [Cu(phen)(β^3 -MeAla)(H₂O)]NO₃·1.32H₂O (**9b'**), se observa un desorden en el ligante β^3 -MeAla debido a la presencia de ambos enantiómeros en el mismo sitio (occ. = 0.83 y 0.17). El desorden se refinó usando la instrucción SAME y restricciones U_{ij} (SIMU y EADP) implementadas en el programa SHELXL-2014.⁸³ Adicionalmente, el contraión nitrato exhibe desorden en las tres posiciones (occ. = 0.47, 0.36 y 0.17), que se solucionó con la ayuda de SAME, FLAT y SIMU. La estructura cristalina de la sal **9b'** se completó con moléculas de agua no coordinadas con desorden (O7A / O7B y O8A / O8B), de las cuales estas últimas están ubicadas alrededor de sitios con simetría de inversión cristalográfica. Los átomos de oxígeno de estas moléculas de agua se refinaron con ocupaciones de 0.83, 0.17, 0.17 y 0.14, respectivamente. Para las moléculas de agua etiquetadas como O7B, O8A y O8B, el refinamiento de los átomos de hidrógeno calculados no convergió en posiciones geoméricamente razonables y, por lo tanto, se omitieron. La estructura cristalina de [Cu(phen)(β^3 -CyAla)(H₂O)]NO₃·0.5H₂O·0.5MeOH (**9c'**) contiene canales que se extienden a lo largo de [0 1 0], que están ocupados por moléculas de disolvente desordenadas (H₂O y MeOH). En los ciclos finales de refinamiento, la metodología de enmascaramiento de solvente⁷⁶ implementada en OLEX2 se usó para analizar y manejar la densidad electrónica correspondiente. El

⁷³ Dolomanov, O. V.; Bourhis, L. J.; Gildea, R. J.; Howard, J. A. K.; Puschmann, H. *OLEX2: a complete structure solution, refinement and analysis program. J. Appl. Crystallogr.*, **2009**, *42*, 339–341.

⁷⁴ Sheldrick, G. M. *SHELXT – Integrated space-group and crystal-structure determination. Acta Crystallogr. Sect. A: Found. Adv.*, **2015**, *71*, 3–8.

⁷⁵ Sheldrick, G. M. Crystal structure refinement with *SHELXL*. *Acta Cryst. Sect. C*, **2015**, *71*, 3-8.

⁷⁶ B. Rees, L. Jenner and M. Yusupov, *Acta Crystallogr. D*, Bulk-solvent correction in large macromolecular structures. **2005**, *61*, 1299–1301.

recuento de electrones indica la presencia de 0.5 equivalentes de H₂O y MeOH en los canales (recuento total de electrones / celda = 53; Z = 4). El programa DIAMOND se utilizó para la creación de figuras.⁷⁷

Los datos cristalográficos fueron depositados en Cambridge Crystallographic Data Center (CCDC).⁷⁸ Los parámetros de celda, lo mismo que los datos de colección y detalles del refinamiento para esta serie de complejos se lista en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Datos cristalográficos y de refinamiento para los complejos **9a'**-**9d'**.

	9a'	9b'	9c'	9d'
Fórmula empírica	C ₃₃ H ₄₂ Cu ₂ N ₈ O ₁₄	C ₁₆ H _{19.65} CuN ₄ O _{7.32}	C ₂₁ H ₂₆ CuN ₄ O ₆	C ₂₁ H ₂₂ CuN ₄ O ₇
Peso fórmula	901.82	443.93	520.02	505.96
Temperatura/K	100	100	120	298
Sistema cristalino	triclinic	triclinic	monoclinic	monoclinic
Grupo espacial	<i>P</i> -1	<i>P</i> -1	<i>P</i> 2 ₁ / <i>n</i>	<i>C</i> 2/ <i>c</i>
<i>a</i> /Å	7.7005(3)	8.2032(3)	11.948(2)	32.0329(17)
<i>b</i> /Å	10.6074(4)	10.2217(3)	6.7886(12)	6.8679(3)
<i>c</i> /Å	22.8471(9)	11.5994(5)	28.662(5)	21.3214(11)
<i>α</i> /°	94.981(3)	103.648(3)	90	90
<i>β</i> /°	95.052(3)	98.935(4)	101.973(5)	107.071(2)
<i>γ</i> /°	100.804(3)	98.493(3)	90	90
Volumen/Å ³	1815.79(12)	916.31(6)	2274.3(8)	4484.0(4)
<i>Z</i>	2	2	4	8
<i>μ</i> /mm ⁻¹	1.253	1.240	1.034	1.024
F(000)	932.0	458.0	1080.0	2088.0
Reflexiones colectadas	15415	13469	45159	52897
Reflexiones Independientes	8363 [<i>R</i> _{int} = 0.0247]	4346 [<i>R</i> _{int} = 0.0327]	5881 [<i>R</i> _{int} = 0.1513]	3941 [<i>R</i> _{int} = 0.029]
Datos/restricciones/parámetros	8363/6/527	4346/313/317	5881/4/323	3941/4/322
Mejor ajuste en F ²	1.053	1.057	1.000	1.000
Índice de <i>R</i> Final [<i>I</i> ≥ 2σ (<i>I</i>)]	<i>R</i> ₁ = 0.0373, <i>wR</i> ₂ = 0.0859	<i>R</i> ₁ = 0.0449, <i>wR</i> ₂ = 0.1144	<i>R</i> ₁ = 0.0687, <i>wR</i> ₂ = 0.1287	<i>R</i> ₁ = 0.0687, <i>wR</i> ₂ = 0.1287
Índice de <i>R</i> Final [all data]	<i>R</i> ₁ = 0.0479, <i>wR</i> ₂ = 0.0927	<i>R</i> ₁ = 0.0490, <i>wR</i> ₂ = 0.1176	<i>R</i> ₁ = 0.1828, <i>wR</i> ₂ = 0.1644	<i>R</i> ₁ = 0.041, <i>wR</i> ₂ = 0.097

6.5 Análisis de superficie de Hirshfeld

Los mapas de superficie de Hirshfeld de **9a**, **9b** y **9c** se generaron con base en los archivos de información cristalográfica (CIFs) utilizando Crystal Explorer 2.1.^{79,80} Las superficies de Hirshfeld (*d*_{norm}) se mapearon en un rango de -0.6 a +2.6.

⁷⁷ K. Brandenburg, Diamond, Version 4.3.2, Crystal Impact GbR, Bonn, Germany, 2017.

⁷⁸ Los datos cristalográficos fueron depositados en Cambridge Crystallographic Data Center (CCDC): No. 1944847-1944849.

⁷⁹ (a) Hirshfeld, F. L. Bonded-atom fragments for describing molecular charge densities. *Theor. Chim. Acta.* **1977**, *44*, 129–138; (b) Spackman, M. A.; McKinnon, J. J. Fingerprinting intermolecular interactions in molecular crystals. *CrystEngComm.* **2002**, *4*, 378–392.

⁸⁰ Wolff, S. K.; Grimwood, D. J.; McKinnon, J. J.; Jayatilaka, D.; Spackman, M. A. *Crystal Explorer 2.1*, University of Western Australia, Perth, Australia, **2007**.

6.6 Mediciones de voltamperometría cíclica

Los valores experimentales de potencial de media onda ($E_{1/2}$) para los complejos **9a-9d** fueron adquiridos a través de la técnica de voltamperometría cíclica. Las mediciones electroquímicas se realizaron usando un sistema abierto de tres electrodos con una celda de 10 mL, que contenía una solución de concentración 2.0 mM del correspondiente complejo ternario de Cu(II) y una solución 50.0 mM de NaNO₃ como electrolito de soporte en una mezcla de etanol y agua (2:5, v/v). Previo a las mediciones, cada solución fue desoxigenada por burbujeo de nitrógeno al 99.999% de pureza. Un electrodo de carbono vítreo de diámetro 4 mm fue usado como electrodo de trabajo, el cual previo a cada medición se limpió y pulió usando alúmina y un paño suave. Los electrodos de platino y plata fueron seleccionados como electrodo auxiliar y de referencia, respectivamente. Los voltamperogramas fueron adquiridos en la dirección de reducción a 50, 100, 200, 500 y 1000 mVs⁻¹. De acuerdo con las recomendaciones de la IUPAC para mediciones voltamperométricas en sistemas no acuosos, el par redox de referencia ferroceno/ferrocinio (Fc/Fc⁺) fue usado.

6.7 Mediciones de la capacidad inhibitoria de los complejos frente a las líneas celulares cancerígenas (MCF-7 y A549) y normales (HEK293 y HaCAT)

Las líneas celulares humanas se mantuvieron a no menos del 90% de viabilidad utilizando métodos estándar al 5% de CO₂ y 37 °C en una incubadora de células hasta su uso para determinar la inhibición del crecimiento.

Brevemente, previo al experimento, un total de 1×10^4 células viables de cada una de las líneas celulares fueron depositadas en placas independientes de 96 pozos que contenía medio DMEM advanced suplementado con suero fetal bovino al 5% (FBS) y una solución 4.0 mM de glutamina. Las células se mantuvieron durante 24 h en una incubadora a una temperatura controlada de 37 °C y una atmósfera CO₂ para permitir la adherencia de las células a los pozos y así obtener un 65% de confluencia. Dicha concentración celular fue suficiente para medir el efecto sobre la inhibición del crecimiento, considerando que: las células sin ningún compuesto siguen creciendo, mientras que la presencia de cualquiera de los nuevos compuestos sintetizados disminuye dicho crecimiento, y este efecto se reflejará en el análisis estadístico para IC₅₀. Luego de 24 h se retiró el medio, las células fueron lavadas con 100 μL de PBS e inmediatamente fueron tratadas con medio fresco que contenía los compuestos en cinco concentraciones diferentes (0.4, 0.8, 4.0, 8.0 y 20 μM).

Las muestras fueron después incubadas por 24 h. El compuesto CasII-Gly {[Cu(4,7dimetil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO₃·0.5H₂O} fue usado como fármaco control usando las mismas concentraciones previamente probadas. Luego de la incubación de las muestras bajo las condiciones comentadas anteriormente durante 24 h, se agregaron 10 μ L de MTS a cada pozo y la placa con las muestras es incubada nuevamente durante 3 h bajo las mismas condiciones. La absorbancia en UV-Vis de las muestras tratadas fue medida 490 nm en un equipo de ELISA. Los datos fueron expresados como porcentaje de viabilidad: %viabilidad = 100% · [T/U]; donde 100% corresponde a las muestras no tratadas, *T* es la viabilidad de los pozos tratados y *U* es la viabilidad de los pozos no tratados. Los datos de inhibición del crecimiento (expresados como el 50% de inhibición del crecimiento, IC₅₀) de las líneas celulares MCF-7, A549, HEK293 y HaCAT se obtuvieron de experimentos independientes por triplicado, usando células de días diferentes.

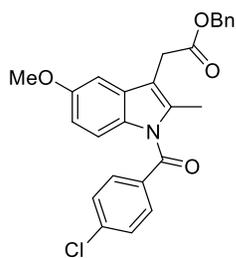
6.8 Preparación de las sales de *N*-aciliminio. Procedimiento General 1

En un matraz redondo de 25 mL provisto de agitación magnética y atmósfera inerte fue colocado el *N,N*- o *N,O*-acetal (**4**) y 10 mL de tolueno para disolverlo. La solución se sumergió en un baño frío a -15 °C por 15 minutos y se agregaron 3.5 equivalentes de BF₃·OEt₂. La mezcla permaneció en agitación por 1 h a -15 °C.

6.9 Preparación de los β^2 -amino ésteres *N*-, *N,N*- o *N,N'*-protegidos. Procedimiento General 2

En un matraz redondo de 250 mL provisto de agitación magnética y atmósfera inerte fue colocado el éster bencílico o metílico (**2**) y 40 mL de tolueno seco. La solución se depositó en un baño a -78 °C por 10 minutos, para luego adicionar gota a gota el HMDALi. La mezcla de reacción permaneció en agitación por 15 minutos y entonces fue adicionado el TMSCl. La solución se agitó a -78 °C por 60 minutos y luego a -15 °C por 60 minutos más. Enseguida fue adicionada la sal de iminio (previamente preparada) a -15 °C. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación por 4 h a 60 °C. El solvente fue removido a presión reducida y al residuo se le agregó H₂O. La fase acuosa se extrajo con AcOEt (3 X 30 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro; la solución fue filtrada y el disolvente se evaporó a presión reducida obteniéndose un residuo aceitoso de tonalidad variada. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC) por gradiente. El producto fue caracterizado por diferentes técnicas espectroscópicas.

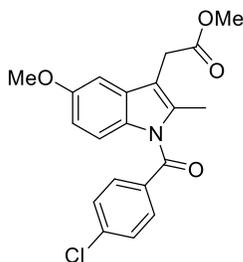
6.10 Síntesis del éster bencílico derivado de la Indometacina (2a)



1-(4-Clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1*H*-indol-3-il) acetato de bencilo (2a). En un matraz redondo de 250 mL provisto de agitación magnética se colocaron 2 g (5.6 mmol) de Indometacina (**1**) y 1.70 g (12.3 mmol) de K_2CO_3 y 110 mL de Tolueno. Posteriormente fueron adicionados 0.179 mL (0.18 g, 0.56 mmol) de TDA-1 y 0.73 mL (1.05 g, 6.16 mmol) de BrBn. La mezcla de reacción permaneció a reflujo por 4 h.

Posteriormente, el disolvente fue removido por evaporación a presión reducida. La fase acuosa se extrajo con AcOEt (3 X 30 mL) y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro. La solución fue filtrada y el disolvente evaporado a presión reducida obteniéndose un sólido blanco. El crudo de reacción fue purificado por CC por gradiente de 95:5 a 80:20 (Hex:AcOEt). El producto fue caracterizado por RMN 1H , RMN ^{13}C y EMAR. Sólido blanco-amarillo en rendimiento del 65 %. p.f. 87-91 °C. **RMN 1H** (200 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 2.35 (s, 3H, NHC^2HCH_3); 3.70 (s, 2H, CH_2COOCH_2Ph); 3.75 (s, 3H, C^5OCH_3); 5.13 (s, 2H, CH_2COOCH_2Ph); 6.66 (dd, $J=2.8$, $J=9.0$, H, C^6H); 6.88 (d, $J=8.8$, H, C^7H); 6.92 (d, $J=2.8$, H, C^4H); 7.30 (m, 5H, CH_2COOCH_2Ph); 7.44 (d, $J=8.4$, 2H, ClCCH); 7.63 (d, $J=8.4$, 2H, $NHCOOCH$). **RMN ^{13}C** (50 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 13.4 (NHC^2HCH_3); 30.4 (CH_2COOCH_2Ph); 55.6 (C^5HOCH_3); 66.8 (CH_2COOCH_2Ph); 101.2-156.0 ($C_{aromáticos}$ indol y Ph) 168.3 (NC(O)C); 170.7 (CH_2COOCH_2Ph). HR-FAB-MS: Masa exacta calculada para $C_{26}H_{22}ClNO_4$ ($[M^+]$) 447.1237. Encontrado: $C_{26}H_{23}ClNO_4$ ($[M + H^+]$) 448.1319.

6.11 Síntesis del éster metílico derivado de la Indometacina (2b)

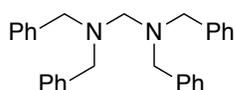


1-(4-Clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1*H*-indol-3-il) acetato de metilo (2b). En un matraz redondo de 100 mL provisto de agitación magnética, se colocaron 0.35 g (1.0 mmol) de Indometacina (**1**) y 25 mL de MeOH. El matraz fue colocado en un baño frío a 0 °C durante 5 minutos. Después fueron adicionados gota a gota 0.9 mL de $SOCl_2$ (1.2 mmol). La mezcla de reacción permaneció en agitación a 0 °C durante 60 minutos.

Posteriormente se adicionó una solución saturada de $NaHCO_3$, hasta conseguir un pH entre 8-9. El MeOH fue evaporado a presión reducida y se adicionaron 10 mL de agua destilada. La fase acuosa se extrajo con AcOEt (3 X 10 mL), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, la solución fue filtrada y el disolvente evaporado a presión reducida obteniéndose un sólido blanco-verde. El crudo de reacción fue purificado por CC por gradiente de 95:5 a 8:2 (Hex:AcOEt). El producto fue caracterizado por RMN 1H , RMN ^{13}C , COSY, HETCOR y EMAR. Sólido blanco-verde en rendimiento del 83 %. p.f. 97-97.5 °C. **RMN 1H** (400 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 2.39 (s, 3H, NHC^2HCH_3); 3.67 (s, 2H, CH_2COOCH_3); 3.70 (s, 3H,

CH₂COOCH₃); 3.84 (*s*, 3H, C⁵OCH₃); 6.67 (*dd*, *J*=2.0, *J*=9.0, H, C⁶H); 6.86 (*d*, *J*=8.8, H, C⁷H); 6.96 (*d*, *J*=2.4, H, C⁴H); 7.47 (*d*, *J*=8.4, 2H, ClCCH); 7.67 (*d*, *J*=8.4, 2H, NHCOOCCH). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 13.6 (NHC²HCH₃); 30.4 (CH₂COOCH₃); 52.4 (CH₂COOCH₃); 56.0 (C⁵HOCH₃); 101.6 (C-7); 111.9 (C-4); 115.2 (C-6); 129.4 (ClCCH); 131.4 (NHCOOCCH); 112.7, 130.9, 131.1, 134.2, 136.2, 139.5, 156.3 (C_{aromáticos} Ph); 168.5 (NHC(O)C); 171.6 (CH₂COOCH₃). HR-FAB-MS: Masa exacta calculada para C₂₀H₁₈NO₄Cl ([M⁺]) 371.8170. Encontrado: C₂₀H₁₉NO₄Cl ([M + H⁺]) 372.1021.

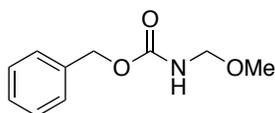
6.12 Síntesis del *N,N*-acetal (4a)



N,N,N',N'-Tetrabencilmetidiamina (4a). La síntesis del presente sustrato se desarrolló empleando la metodología propuesta por Millot *et al.*⁷⁹

En un matraz redondo de 50 mL provisto de agitación magnética se colocaron 4.3 g (21.8 mmol) de dibencilamina y 0.81 mL (0.33 g, 12 mmol) de una solución acuosa de formaldehído al 37 %. La mezcla de reacción permaneció en agitación y reflujo durante 3.5 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente, el crudo de reacción fue cristalizado usando una cantidad mínima de CH₂Cl₂ para disolverlo y 50 mL de Hexano. Se aislaron 3.0 g (7.4 mmol, 68%) de producto puro. El espectro de ¹H es consistente con el reportado.⁸¹ Cristales blancos en rendimiento del 68 %. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 3.10 (*s*, 2H, NCH₂N); 3.61 (*s*, 8H, NCH₂Ph); 7.19-7.29 (*m*, 20H, NCH₂Ph).

6.13 Síntesis del *N,O*-acetal (4b)



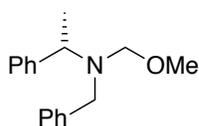
N-(Metoximetil)carbamato de bencilo (4b). La síntesis del presente sustrato se desarrolló empleando la metodología propuesta por Seebach *et al.*^{38a}

En un matraz redondo de 250 mL provisto de agitación magnética se colocaron 7.55 g (50 mmol) de bencilcarbamato, 50 mL de agua, 5.3 mL (30.03 g, 70 mmol) de formaldehído acuoso al 37% y 1.06 g (10 mmol) de Na₂CO₃. La mezcla de reacción permaneció en agitación a 60 °C durante 30 min. La fase acuosa se extrajo con AcOEt (3 X 30 mL). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, la solución fue filtrada y el disolvente evaporado a presión reducida obteniéndose un sólido blanco. El crudo de reacción fue purificado por CC por gradiente, comenzando por un sistema 9:1 (Hex:AcOEt), hasta llegar a 65:35 (Hex:AcOEt) para aislar el bencil *N*-(hidroximetil)carbamato (4.70 g, 52 %). Del bencil *N*-(hidroximetil)carbamato fueron tomados 2.0 g (11.0 mmol) y se colocaron en un matraz redondo de

⁸¹ Millot, N.; Piazza, C.; Avolio, S.; Knochel, P. Aminomethylation of Functionalized Organozinc Reagents and Grignard Reagents Using Immonium Trifluoroacetates. *Synthesis*, **2000**, 7, 941–948.

100 mL provisto de agitación magnética; además fueron adicionados 30 mL de Et₂O, 6 mL de MeOH, 0.21 g (1.1 mmol) de TsOH y 1.6 g de mallas moleculares 4 Å. La mezcla de reacción permanece en agitación y temperatura ambiente durante 2 h, después fue filtrada sobre SiO₂, y el solvente removido a presión reducida. El producto puro fue aislado en un 79% de rendimiento como un aceite incoloro que al enfriarse solidifica. El espectro de RMN ¹H es consistente con el reportado.⁸² Aceite incoloro en 79% de rendimiento. **RMN ¹H** (200 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 3.32 (*s*, 3H, NHCH₂OCH₃); 4.61 (*d*, 2H, *J*=8.8, NHCH₂OCH₃); 5.13 (*s*, 2H, PhCH₂OCO); 5.68 (*a*, H, NHCH₂OCH₃); 7.34 (*m*, 5H, PhCH₂OCO).

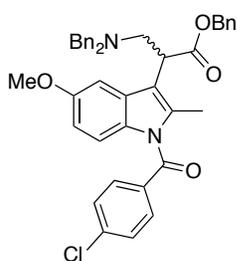
6.14 Síntesis del *N,O*-acetal quiral (**4c**)



(*S*)-*N*-Bencil-*N*-(metoximetil)-1-feniletan-1-amina (4c**).** La síntesis se desarrolló empleando la metodología propuesta por Chi *et al.*^{39a} con ligeras modificaciones. En un matraz redondo de 100 mL provisto de agitación magnética se colocaron 50 mL de MeOH seco y 1.0 g/1.0 g de K₂CO₃/Na₂SO₄ anhidro.

La mezcla se agitó durante 10 minutos y enseguida se adicionaron 0.5 mL (0.5 g, 2.3 mmol) de (*S*)-*N*-bencil- α -methylbencilamina y 0.18 g (6.0 mmol) de paraformaldehído. La mezcla de reacción permaneció en agitación por 19 h. La reacción fue filtrada sobre SiO₂ y se realizaron lavados con Et₂O frío. Finalmente, el crudo de reacción se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, la solución fue filtrada y el disolvente evaporado a presión reducida para aislar 0.6 g (2.3 mmol, > 99%) como un aceite claro. Aceite incoloro-cristales en de rendimiento > 99%. **RMN ¹H** (200 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 1.46 (*d*, ³*J*=6.6, 3H, PhCH(CH₃)N); 3.17 (*s*, 3H, NCHH'CH₃); 3.70-3.78 (*m*, 2H, PhCH₂N); 3.93 y 3.97 (*s*, H, NCHH'CH₃); 4.08 (*c*, *J*=6.6, H, PhCH(CH₃)N); 4.18 y 4.21 (*s*, H, NCHH'CH₃); 7.22-7.45 (*m*, 10H, PhCH(CH₃)N y PhCH₂N).

6.15 Síntesis del (\pm)- β^2 -amino éster bencílico *N,N*-protegido (**5a**)



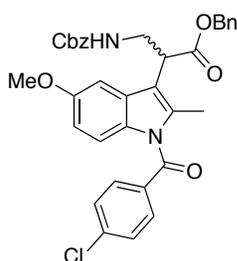
(\pm)-2-(1-(4-Chlorobenzoyl)-5-metoxi-2-metil-1*H*-indol-3-il)-3-(dibencilamino) propanoato de bencilo (5a**).** Siguiendo los Procedimientos Generales 1 y 2, se utilizaron 0.5 g (1.1 mmol) de **2a**, 1.33 mL (0.22 g, 1.3 mmol) de HMDALi, 0.28 mL (0.24 g, 2.2 mmol) de TMSCl, 0.50 g (1.1 mmol) de **4a** y 0.50 mL (0.55 g, 3.9 mmol) de BF₃·OEt₂. Se obtuvo un sólido blanco en 67% de rendimiento.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 2.20 (*s*, H, NC²HCH₃); 2.93 (*dd*, *J*=4.0, *J*=8.0, H,

⁸² Barnett, C. J.; Wilson, T. M.; Evans, D. A.; Somers, T. C. Asymmetric synthesis of dideazafolate antitumor agents via amidomethylation of nonracemic oxazolindione imidates. Synthesis of LY309887, a cytotoxic dideazafolate analog related to lometrexol. *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *38*, 735–738.

NCHH'CHCOOCH₂Ph); 3.54 (*dd*, $J=4.0$, $J=8.0$, H, NCHH'CHCOOCH₂Ph); 3.57 (*s*, 3H, C⁵OCH₃); 3.62 (*dd*, 4H, $J=8.0$, $J=30.6$, NCH₂Ph); 4.06 (*dd*, $J=4.0$, $J=8.0$, H, NCHH'CHCOOCH₂Ph); 5.132 (*dd*, 2H, $J=7.0$, $J=62.4$, CH₂COOCH₂Ph); 6.60 (*dd*, $J=1.6$, $J_2=5.2$, H, C⁶H); 6.85 (*d*, $J=5.2$, H, C⁷H); 6.88 (*d*, $J=1.6$, H, C⁴H); 7.23 (*m*, 15H, CH₂COOCH₂Ph y NCHH'Ph); 7.43 (*d*, $J=5.2$, 2H, ClCCCH); 7.59 (*d*, $J=4.8$, 2H, NHCOOCCH). RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 13.5 (NHC²HCH₃); 42.5 (NCHHCHCOOCH₂Ph); 54.9 (NCHHCHCOOCH₂Ph); 55.6 (C⁵HOCH₃); 59.3 (CH₂COOCH₂Ph); 66.7 (NCHH'Ph); 102.6 (C⁴H); 112.1 (C⁶H); 114.8 (C⁷H); 129.3 (ClCCCH); 131.4 (NHCOOCCH); 115.6-155.8 (C_{aromáticos} Ph) 168.5 (NC(O)C); 172.5 (CH₂COOCH₂Ph). HR-ESI-MS: Masa exacta calculada para C₄₁H₃₇ClN₂O₄ ([M⁺]) 656.2442. Encontrado: C₄₁H₃₈ClN₂O₄ ([M + H⁺]) 657.2538.

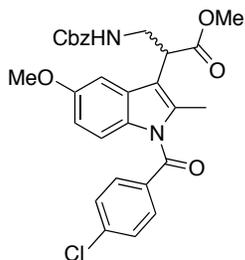
6.16 Síntesis del (±)-β²-amino éster bencílico N-Cbz protegido (5b)



(±)-3-(((Benciloxi)carbonil)amino)-2-(1-(4-clorobenzoyl)-5-metoxi-2-metil-1H-indol-3-il) propanoato de bencilo (5b). Siguiendo los Procedimientos Generales 1 y 2, se utilizaron 1.0 g (2.2 mmol) de **2a**, 2.68 mL (0.45 g, 2.7 mmol) de HMDALi, 0.56 mL (0.48 g, 4.5 mmol) de TMSCl, 0.22 g (1.1 mmol) de **4b** y 0.96 mL (1.1 g, 7.8 mmol) de BF₃·OEt₂.

Se obtuvo un sólido blanco en 58% de rendimiento. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 2.30 (*s*, H, NC²HCH₃); 3.61 (*m*, H, NHCHH'CHCOOCH₂Ph); 3.71 (*s*, 3H, C⁵OCH₃); 3.90 (*m*, H, NHCHH'CHCOOCH₂Ph); 4.20 (*m*, H, NHCHH'CHCOOCH₂Ph); 5.07 (*dd*, 4H, $J=12.0$, $J=24.0$, NCH₂Ph); 5.14 (*dd*, 4H, $J=12.0$, $J=16.0$, CH₂COOCH₂Ph); 5.24 (*a*, H, NHCHH'CHCOOCH₂Ph); 6.66 (*dd*, $J=2.4$, $J=8.0$, H, C⁶H); 6.89 (*d*, $J=8.0$, H, C⁷H); 6.92 (*d*, $J=2.4$, H, C⁴H); 7.26 (*m*, 10H, CH₂COOCH₂Ph y NCHH'Ph); 7.43 (*d*, $J=8.4$, 2H, ClCCCH); 7.61 (*d*, $J=8.4$, 2H, NHCOOCCH). RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 13.5 (NHC²HCH₃); 42.5 (NCHHCHCOOCH₂Ph); 54.9 (NCHHCHCOOCH₂Ph); 55.6 (C⁵HOCH₃); 59.3 (CH₂COOCH₂Ph); 66.7 (NCHH'Ph); 102.6 (C⁴H); 112.1 (C⁶H); 114.8 (C⁷H); 129.3 (ClCCCH); 131.4 (NHCOOCCH); 115.6-155.8 (C_{aromáticos} Ph) 168.5 (NC(O)C); 172.5 (CH₂COOCH₂Ph). HR-ESI-MS: Masa exacta calculada para C₃₅H₃₁ClN₂O₆ ([M⁺]) 610.1871. Encontrado: C₃₅H₃₂ClN₂O₆ ([M + H⁺]) 611.1956.

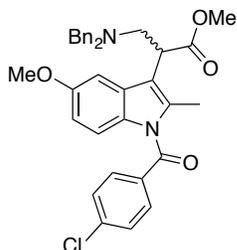
6.17 Síntesis del (\pm)- β^2 -amino éster metílico *N*-Cbz protegido (**5c**)



(\pm)-3-(((Benciloxi)carbonil)amino)-2-(1-(4-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1*H*-indol-3-il) propanoato de metilo (**5c**). Siguiendo los Procedimientos Generales 1 y 2, se utilizaron 0.5 g (1.3 mmol) de **2b**, 1.61 mL (0.27 g, 1.6 mmol) de HMDALi, 0.34 mL (0.29 g, 2.7 mmol) de TMSCl, 0.13 g (0.7 mmol) de **4b** y 0.59 mL (0.67 g, 4.8 mmol) de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$. Se obtuvo un sólido blanco en 6% de rendimiento.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 2.39 (*s*, 3H, NHC^2HCH_3); 3.67 (*s*, 2H, $\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 3.70 (*s*, 3H, $\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 3.84 (*s*, 3H, C^5OCH_3); 6.67 (*dd*, $J=2.0$, $J=9.0$, H, C^6H); 6.86 (*d*, $J=8.8$, H, C^7H); 6.96 (*d*, $J=2.4$, H, C^4H); 7.47 (*d*, $J=6.4$, 2H, ClCCH); 7.67 (*d*, $J=6.8$, 2H, NHCOOCCH). **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 13.6 (NHC^2HCH_3); 30.4 ($\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 52.4 ($\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 56.0 (C^5HOCH_3); 101.6 (**C-7**); 111.9 (**C-4**); 115.2 (**C-6**); 129.4 (ClCCH); 131.4 (NHCOOCCH); 112.7, 130.9, 131.1, 134.2, 136.2, 139.5, 156.3 (**C_{aromáticos Ph}**); 168.5 (NHC(O)C); 171.6 ($\text{CH}_2\text{COOCH}_3$). **HR-ESI-MS**: Masa exacta calculada para $\text{C}_{29}\text{H}_{27}\text{ClN}_2\text{O}_6$ ($[\text{M}^+]$) 534.1558. Encontrado: $\text{C}_{29}\text{H}_{27}\text{ClN}_2\text{O}_6$ ($[\text{M} + \text{H}^+]$) 534.1558.

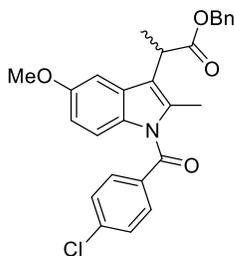
6.18 Síntesis del (\pm)- β^2 -amino éster metílico *N,N*-protegido (**5d**)



(\pm)-2-(1-(4-Clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1*H*-indol-3-il)-3-(dibencilamino) propanoato de metilo (**5d**). Siguiendo los Procedimientos Generales 1 y 2, se utilizaron 0.5 g (1.3 mmol) de **2b**, 1.61 mL (0.27 g, 1.6 mmol) de HMDALi, 0.34 mL (0.29 g, 2.7 mmol) de TMSCl, 0.60 g (1.5 mmol) de **4a** y 0.59 mL (0.67 g, 4.8 mmol) de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$. Se obtuvo un sólido blanco en 61% de rendimiento.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 2.39 (*s*, 3H, NHC^2HCH_3); 3.67 (*s*, 2H, $\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 3.70 (*s*, 3H, $\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 3.84 (*s*, 3H, C^5OCH_3); 6.67 (*dd*, $J=2.0$, $J=9.0$, H, C^6H); 6.86 (*d*, $J=8.8$, H, C^7H); 6.96 (*d*, $J=2.4$, H, C^4H); 7.47 (*d*, $J=6.4$, 2H, ClCCH); 7.67 (*d*, $J=6.8$, 2H, NHCOOCCH). **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 13.6 (NHC^2HCH_3); 30.4 ($\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 52.4 ($\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 56.0 (C^5HOCH_3); 101.6 (**C-7**); 111.9 (**C-4**); 115.2 (**C-6**); 129.4 (ClCCH); 131.4 (NHCOOCCH); 112.7, 130.9, 131.1, 134.2, 136.2, 139.5, 156.3 (**C_{aromáticos Ph}**); 168.5 (NHC(O)C); 171.6 ($\text{CH}_2\text{COOCH}_3$). **HR-ESI-MS**: Masa exacta calculada para $\text{C}_{35}\text{H}_{33}\text{ClN}_2\text{O}_4$ ($[\text{M}^+]$) 580,.2129. Encontrado: $\text{C}_{35}\text{H}_{34}\text{ClN}_2\text{O}_4$ ($[\text{M} + \text{H}^+]$) 581,.2208.

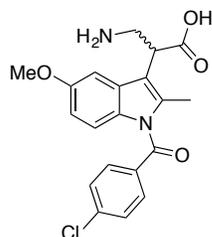
6.19 Síntesis del éster bencílico derivado de la Indometacina α -metilado (6)



(±)-2-(1-(4-Clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1*H*-indol-3-il) propanoato de bencilo (6). En un matraz redondo de 100 mL provisto de agitación magnética y atmósfera inerte se colocaron 0.20 g (0.45 mmol) del derivado **2a** y 50 mL de THF anhidro. La solución se depositó en un baño a -78 °C por 10 minutos para luego adicionar 0.27 mL (0.58 g, 0.54 mmol) de HMDALi 1.0 M. La mezcla de reacción permaneció en agitación por 1 h.

Enseguida fueron adicionados 0.031 mL (0.07 g, 0.5 mmol) de MeI. La reacción se agitó por 1 h a -78 °C y 1 h más fuera del baño helado. Posteriormente, se adicionan 10 mL de agua destilada. La fase acuosa se extrajo con Et₂O (3 X 10 mL) y saturando la fase acuosa con NaCl, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro en exceso, la solución se filtró y el disolvente se evaporó a presión reducida obteniéndose aceites y/o sólidos de tonalidades variadas. El crudo de reacción fue purificado por columna. El producto fue caracterizado por RMN ¹H, RMN ¹³C, COSY, HETCOR y EMAR. Líquido verde de textura chiclosa en 35%. **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 1.59 (*d*, *J*=7.2, 3H, CH₃CHCOOCH₂Ph); 2.34 (*s*, 3H, NHC²HCH₃); 3.73 (*s*, 3H, C⁵HOCH₃); 3.99 (*c*, *J*=7.2, *J*=14.4, H, CH₃CHCOOCH₂Ph); 5.13 (*c*, 2H, *J*=12.4, *J*=17.6, CHCOOCH₂Ph); 6.65 (*dd*, *J*=2.4, *J*=9.2, H, C⁶H); 6.87 (*d*, *J*=8.8, H, C⁴H); 6.98 (*d*, *J*=2.4, H, C⁷H); 7.23 (*m*, 5H, CH₂COOCH₂Ph); 7.45 (*d*, *J*=6.8, H, NHCOOCH₂Ph); 7.64 (*d*, *J*=6.4, H, ClCCCH). **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 13.3 (NHC²HCH₃); 16.4 (CH₃CHCOOCH₂Ph); 36.4 (CH₂COOCH₂Ph); 55.6 (C⁵HOCH₃); 66.6 (CH₂COOCH₂Ph); 101.9-155.7 (C_{aromáticos} indol y Ph) 168.3 (NC(O)C); 173.9 (CH₂COOCH₂Ph). HR-FAB-MS: Masa exacta calculada para C₂₇H₂₄ClNO₄ ([M⁺]) 461.1394. Encontrado: C₂₇H₂₅ClNO₄ ([M + H⁺]) 462.1476.

6.20 Síntesis del (±)- β^2 -amino ácido derivado de la Indometacina (7)



Ácido (±)-3-amino-2-(1-(4-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1*H*-indol-3-il)propanoico (7). En un matraz redondo de 100 mL provisto de agitación magnética y atmósfera de hidrógeno se colocaron 0.23 g (0.38 mmol) de **4b**, 0.023 g (10% p/p) de catalizador Pd/C y 20 mL de MeOH. La mezcla de reacción permaneció en agitación por 2 h.

La mezcla fue filtrada sobre Solka-Floc y concentrada a presión reducida. Se obtuvo un sólido blanco en 97% de rendimiento. **RMN ¹H** (700 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 2.39 (*s*, 3H, NHC²HCH₃); 3.29 (*dd*, H, *J*=6.3, *J*=12.9, NHCHH'CHCOOH); 3.72 (*dd*, H, *J*=8.4, *J*=12.9, NHCHH'CHCOOH); 3.79 (*s*, 3H, C⁵HOCH₃); 4.28 (*dd*, H, *J*=6.3, *J*=8.7, NHCHH'CHCOOH); 6.67 (*dd*, *J*=2.8, *J*=9.1, H, C⁶H); 6.87 (*d*,

$J=9.1$, H, C^4H); 7.03 (*d*, $J=2.8$, H, C^7H); 7.56 (*dd*, $J=2.0$, $J=6.4$, H, $NHCOOCCH$); 7.71 (*dd*, $J_1=2.0$, $J_2=6.8$, H, $CICCCCH$). RMN ^{13}C (175 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 14.6 (NHC^2HCH_3); 42.3 ($NHCHH'CHCOOH$); 57.4 (C^5HOCH_3); $103.7-158.7$ ($C_{aromáticos}$ **indol y Ph**) 172.3 ($NC(O)C$); 175.6 (CH_2COOCH_2Ph). HR-ESI-MS: Masa exacta calculada para $C_{20}H_{19}ClN_2O_4$ ($[M^+]$) 386.1033 . Encontrado: $C_{20}H_{19}ClN_2O_4$ ($[M + H^+]$) 387.1128 .

6.21 Síntesis de los complejos de Cu(II)

Los complejos de cobre fueron sintetizados de acuerdo a los procedimientos previamente reportados.^{16,43} 100 mg de β -Alanina (β -Ala) o β^3 -amino ácido (β^3 -MeAla, β^3 -CyAla y β^3 -PhAla) se disolvieron en metanol y fueron desprotonados con 1 eq. de NaOH. La mezcla anterior fue después adicionada a una solución provista de agitación magnética que contiene nitrato de cobre(II) monohidratado y 1,10-fenantrolina, cada uno en una proporción equimolar, también en metanol como disolvente. Las soluciones fueron filtradas y se permitió la evaporación lenta del disolvente a temperatura ambiente, dando cristales azules, los cuales fueron examinados a través de un análisis por difracción de rayos-X de monocristal (SCXRD). Las mediciones de análisis elemental (EA), espectrofotometría de infrarrojo (IR), espectrofotometría de UV-Vis (Uv-Vis), resonancia paramagnética electrónica (EPR), momento magnético efectivo (μ_{eff}), espectrometría de masas de alta resolución (HRMS-ESI), lo mismo mediciones de conductimetría (A) y voltametría cíclica (potenciales de media onda, $E_{1/2}$) se llevaron a cabo usando muestras finamente pulverizadas de los cristales.

En los siguientes párrafos se describe la caracterización general de los complejos y las condiciones para el crecimiento de cristales de los compuestos de coordinación.

[Cu(Phen)(β -Ala)(H₂O)]NO₃·0.5H₂O (9a). Rendimiento del 89 %. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu = 3422, 3254, 1604, 1521, 1424, 1384$ (NO_3^-), $863, 723, 649$ cm^{-1} ; UV/Vis (MeOH): λ_{max} (ϵ) = 634 nm (47 $M^{-1}cm^{-1}$); Momento magnético efectivo: $\mu_{eff} = 1.67$ BM; Conductividad: $A(H_2O) = 137.95$ Scm^2mol^{-1} ; Análisis elemental calcd. (%) para $C_{15}H_{14}CuN_4O_5 \cdot 0.5H_2O$ (402.9): %C 44.72; %H 3.75; %N 13.91; encontrado: %C 44.55; %H 3.56; %N 13.76. Evaporación lenta de la disolución de MeOH da lugar a monocristales adecuados para el análisis por difracción de rayos-X del compuesto **9a**.

[Cu(phen)(β^3 -MeAla)(H₂O)]NO₃·0.5H₂O (9b). Rendimiento del 53 %. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu = 3428, 3250, 1591, 1522, 1433, 1385$ (NO_3^-), $873, 724, 650$ cm^{-1} ; UV/Vis (MeOH): λ_{max} (ϵ) = 633

nm ($61 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$); Momento magnético efectivo: $\mu_{\text{eff}} = 1.77 \text{ BM}$; Conductividad: $\Lambda(\text{H}_2\text{O}) = 126.15 \text{ Scm}^2\text{mol}^{-1}$; Análisis elemental calcd. (%) para $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{CuN}_4\text{O}_5 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$ (416.9): %C 46.10; %H 4.11; %N 13.44; encontrado: %C 46.22; %H 3.51; %N 13.17. Monocristales adecuados para su análisis por difracción de rayos-X se consiguieron luego de la evaporación lenta de la disolución.

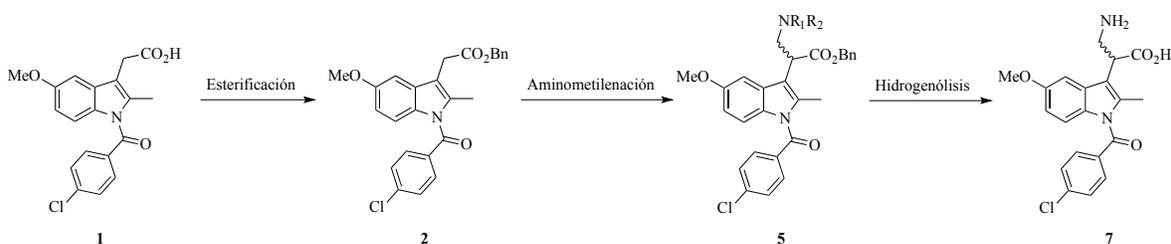
[Cu(phen)(β^3 -CyAla)(H₂O)]NO₃ (9c). El compuesto fue aislado como polvo cristalino azul en un 75 % de rendimiento. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu = 3448, 3284, 1608, 1519, 1428, 1384 (\text{NO}_3^-), 851, 723, 649 \text{ cm}^{-1}$; UV/Vis (MeOH): $\lambda_{\text{max}} (\epsilon) = 636 \text{ nm} (58 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1})$; Momento magnético efectivo: $\mu_{\text{eff}} = 1.56 \text{ BM}$; Conductivity: $\Lambda(\text{H}_2\text{O}) = 130.55 \text{ Scm}^2\text{mol}^{-1}$; HRMS (ESI): calcd. Para $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{CuN}_4\text{O}_5[\text{M}]^+$: 475.9925; encontrado: $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{CuN}_4\text{O}_5[\text{M}+\text{Na}]^+$: 498.0924 y por fórmula $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{CuN}_4\text{O}_5[\text{M}]^+$: 475.1032. Monocristales adecuados para su análisis por difracción de rayos-X se consiguieron luego de la evaporación lenta de la disolución.

[Cu(phen)(β^3 -PhAla)(H₂O)]NO₃ (9d). Rendimiento del 53 %. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu = 3428, 3250, 1591, 1522, 1433, 1385 (\text{NO}_3^-), 873, 724, 650 \text{ cm}^{-1}$; UV/Vis (MeOH): $\lambda_{\text{max}} (\epsilon) = 633 \text{ nm} (61 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1})$; Momento magnético efectivo: $\mu_{\text{eff}} = 1.77 \text{ BM}$; Conductividad: $\Lambda(\text{H}_2\text{O}) = 126.15 \text{ Scm}^2\text{mol}^{-1}$; Análisis elemental calcd. (%) para $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{CuN}_4\text{O}_5 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$ (416.9): %C 46.10; %H 4.11; %N 13.44; encontrado: %C 46.22; %H 3.51; %N 13.17. Monocristales adecuados para su análisis por difracción de rayos-X se consiguieron luego de la evaporación lenta de la disolución.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

SÍNTESIS RACÉMICA DEL β^2 -AMINO ÁCIDO DERIVADO DE LA INDOMETACINA

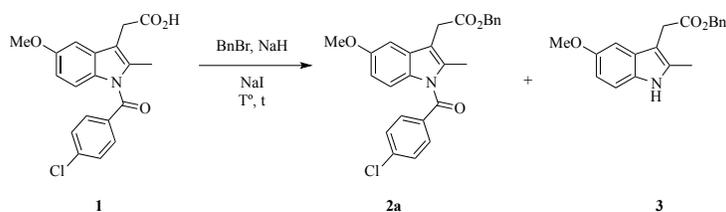
Con base en la experiencia tomada respecto de la labilidad del grupo protector *p*-ClBz en medios ácido y básico a temperatura ambiente,³⁷ se decidió cambiar la estrategia tradicional del grupo de investigación para la síntesis de β^2 -amino ácidos que consiste en adiciones de Michael a acrilatos α -sustituídos, por la aminometilación propuesta por Seebach *et al.*^{38b,83} Algunas modificaciones fueron propuestas y estas se discutirán más adelante. La estrategia general para el acceso a los α -aryl- β^2 -amino ácidos se muestra en el **Esquema 8**.



Esquema 8. Estrategia de síntesis para la preparación de α -aryl- β^2 -amino ácidos.

7.1 Síntesis del éster bencílico derivado de la Indometacina (2a)

La selección de un éster bencílico en el presente trabajo obedece a la necesidad de evitar procesos de hidrólisis ácida o alcalina lo que podría traer como consecuencia la pérdida del grupo protector, *p*-ClBz. Para el acceso a este derivado **2a**, inicialmente se probaron las condiciones de reacción que se muestran en el **Esquema 9** (**Tabla 3**).



Esquema 9. Estrategia de síntesis del éster bencílico **2a**.

⁸³ Brocklehurst, C. E.; Furegati, M.; Müller-Hartwig, J. C. D.; Ossola, F.; La Vecchia, L. Benzyl *N*-[(Benzyloxy)methyl]carbamate: An Improved Aminomethylation Electrophile for the Synthesis of (Benzyloxy)carbonyl (Cbz)-Protected Chiral β^2 -Amino Acids. *Helv. Chim. Acta*, **2010**, *93*, 314–320.

Tabla 3. Condiciones de reacción para la preparación del éster bencílico.^{37a}

Entrada	1 (g)	BnBr (eq)	NaH (eq)	Disolv.	NaI (eq)	T	t	2a (%)	3 (%)
1	1.0	1.2 1.2	1.0 1.0	THF	----	0 °C T.A.	2 h 1 h	31	
2	1.0	1.2	1.0	CH ₃ CN (7): Tolueno (3)	1.5	T.A.	96 h	37	----
3	5.6	1.2	1.5 1.5	CH ₃ CN (7): Tolueno (3)	2.0	T.A. Reflujo	6 días 24 h 3 h	40	44
4	5.6	1.2	1.5 1.5	CH ₃ CN (7): Tolueno (3)	2.0	T.A. Reflujo	3 días 3 h	56	27

Como se puede apreciar en la **Tabla 3**, los mejores resultados son los correspondientes a las **Entrada 4** en donde se emplearon 1.5 eq de NaH y una mezcla de acetonitrilo/tolueno 7:3 por un tiempo de 3 días. Ese resultado se consiguió tras someter la mezcla de reacción a una agitación más vigorosa y protegiéndola de la luz. De este resultado, es importante destacar que también se aisló como subproducto de reacción al derivado desprotegido (**3**). Los bajos rendimientos pudieron deberse a la baja solubilidad del carboxilato luego de la desprotonación.

Con la finalidad mejorar los resultados previamente alcanzados, se exploró una nueva estrategia que particularmente considera la incorporación de un agente de intercambio de fase (TDA-1), y el cambio del NaH por K₂CO₃ (**Tabla 4**). Estas modificaciones en la reacción, mejoraron hasta en un 65% el rendimiento en tan solo 2 horas de reacción.

Tabla 4. Modificaciones a las condiciones de reacción para la preparación del éster bencílico.

Entrada	1 (g)	BnBr (eq)	NaH (eq)	Disolv.	TDA-1 (eq)	T	t	2a (%)
1	5.6	1.1	1.0	Tolueno	0.1	Reflujo	2 h	65

El espectro de RMN ¹H del derivado **2a** se muestra a continuación (**Figura 9**). Es importante resaltar las señales con desplazamientos químicos de 3.70 (s) y en 5.13 (s) ppm, correspondientes a los hidrógenos del metileno alfa al grupo carbonilo y al metileno bencílico, respectivamente.

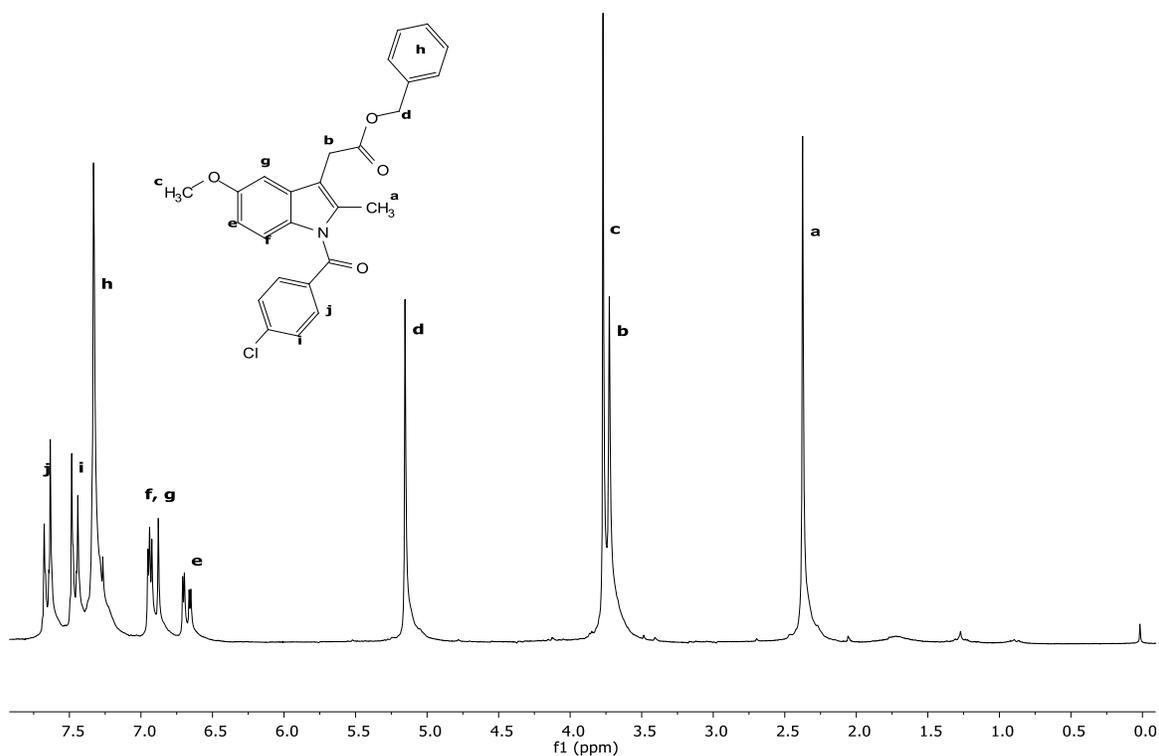
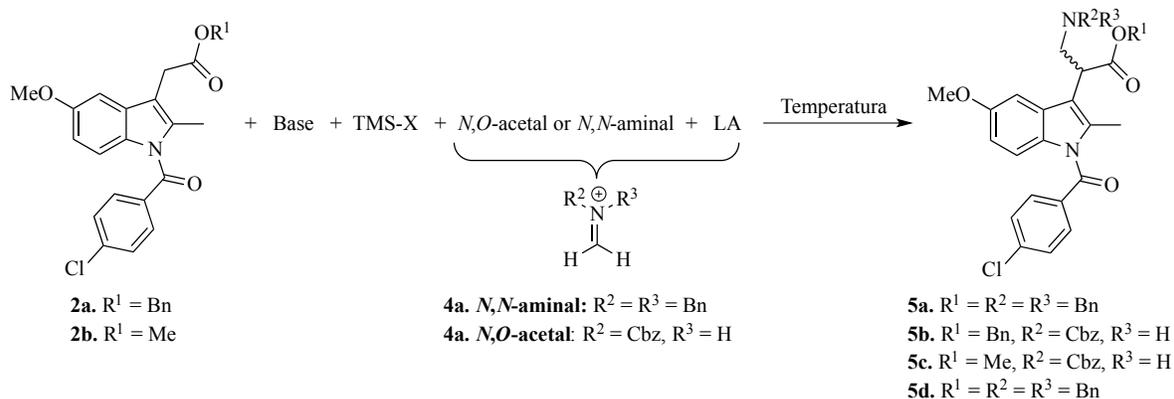


Figura 9. Espectro de RMN ^1H (200 MHz) del derivado **2a**.

7.2 Aminometilación

El siguiente paso de reacción consistió en la preparación de β^2 -amino ésteres *N*- o *N,N*-protegidos (**5**), mediante la estrategia de la aminometilación de ésteres. Para ello se exploraron las siguientes condiciones de reacción: a) el efecto de la base y la temperatura (T) en la formación del enolato, b) la fuente de iones *N*-aciliminio, c) el efecto del ácido de Lewis (LA) y d) el efecto del disolvente (**Esquema 10**).



Esquema 10. Estrategia de síntesis de aminometilación para la preparación de los derivados **5**.

7.2.1 Aminometilación: Síntesis de β^2 -amino ésteres bencílicos *N*-Cbz y *N,N*-dibencil protegidos

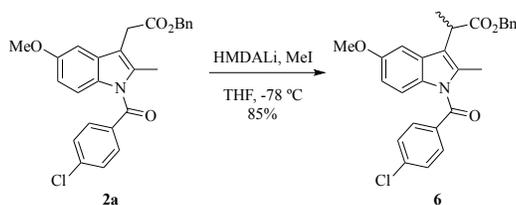
Con miras a reducir o inhibir la posible desprotección de la indometacina, se decidió explorar una ruta de aminometilación que usa condiciones escalables, bases comerciales suaves y de fácil acceso, temperatura ambiente, y un *N,N*-acetal.^{39b-d} Una fascinación adicional que se encontró en esta metodología, es el uso de *N,N*-acetales quirales,^{39a} con los que se puede conseguir el aislamiento de diastereoisómeros fáciles de separar y que luego de un tratamiento químico nos dan acceso a β -amino ácidos ópticamente puros, además de usar como intermediarios sales de *N*-aciliminio estables.⁸¹ De los trabajos estudiados notamos que para la síntesis de algunos derivados, mediada por un proceso de aminometilación, era preciso la estabilización del carbanión como silileno éter o sililcetona acetal, empleando triflato o cloruro de trimetilsilano (TMSOTf o TMSCl, respectivamente) para atraparlos (**Esquema 11**).



Esquema 11. Estrategia para la estabilización de enolatos.

El abordaje consistió en usar al éster bencílico **2a** como sustrato modelo, la trietilamina (Et_3N) como base, el *N,N*-aminal **4a** como fuente de iones *N*-aciliminio, anhídrido trifluoroacético ($(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$) como LA y diclorometano (CH_2Cl_2) como disolvente. El procedimiento se llevó a temperatura ambiente como los reportes lo sugieren.³⁸ Con esta metodología se consiguió aislar apenas un 10% del derivado **5a** (**Tabla 5, Entrada 1**). Al hacer una revisión de la literatura y de las apreciaciones físicas que se debieron haber observado, notamos que nunca se obtuvo la coloración rojiza característica de la formación del carbanión. Para resolver esto, se consideró cambiar a una base más fuerte como DBU o la DIPEA (**Tabla 5, Entradas 2 y 3**). Pese a estas modificaciones, no fue posible aislar el producto en mayor rendimiento (3% para la **Entrada 3**). Nuevamente, nunca se observó la tonalidad rojiza.

Ante este resultado, se decidió probar bases más fuertes y tiempos de reacción cortos, pero a temperaturas bajas. Así, para verificar la formación del enolato, se decidió hacer una prueba estándar para este propósito: una α -metilación. Para ello, se probaron las siguientes condiciones de reacción (**Esquema 12**).³⁷



Esquema 12. Condiciones de reacción para la α -metilación de **2a**.

Después de la adición del hexametildisililamiduro de litio (HMDALi) a la materia prima disuelta en THF y a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, se dejó reaccionar a la mezcla por 20 minutos, previo a la adición del yodometano (MeI). Luego de concluida la reacción, el producto **6** se aisló en un 85% de rendimiento. Cabe mencionar que por TLC no se evidenció la formación del derivado desprotegido **3** y también que luego de una hora de reacción a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, la materia prima **2a** no se consumió por completo. Con estos antecedentes podemos asegurar que el HMDALi es una base adecuada para la formación del carbanión derivado de la indometacina sin que ocurra un proceso de desprotección.

Tabla 5. Condiciones para la reacción de aminometilación de **2a** y **2b** (ver Esquema 10 para comprensión de la tabla).

Entrada	M.P. ^a	Solv.	Base	R ₁	R ₂	R ₃	X	T ₁ ^b	T ₂	T ₃ ^c	T ₄	5 (%)
1 ^d	1.03	CH ₂ Cl ₂	Et ₃ N	Bn	Bn	Bn	OTf	t.a.	t.a.	t.a.	t.a.	10
2 ^d	1.03	CH ₂ Cl ₂	DBU	Bn	Bn	Bn	OTf	t.a.	t.a.	t.a.	t.a.	---
3 ^d	1.03	CH ₂ Cl ₂	DIPEA	Bn	Bn	Bn	OTf	t.a.	t.a.	t.a.	t.a.	3
4 ^e	1.03	THF	HMDALi	Bn	Cbz	H	Cl	$-78\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	t.a.	---
5 ^e	1.03	Tolueno	HMDALi	Bn	Cbz	H	Cl	$-78\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	t.a.	11
6 ^e	2.06	Tolueno	HMDALi	Bn	Cbz	H	Cl	$-78\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	t.a.	58
7 ^{e,f}	2.06	Tolueno	HMDALi	Bn	Cbz	H	Cl	$-78\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	t.a.	---
8 ^e	2.06	Et ₂ O	HMDALi	Bn	Cbz	H	Cl	$-78\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	t.a.	31
9 ^e	2.06	Hexano	HMDALi	Bn	Cbz	H	Cl	$-78\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	t.a.	8.5
10 ^e	1.34	Tolueno	HMDALi	Me	Cbz	H	Cl	$-78\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	t.a.	---
11 ^e	1.34	Tolueno	HMDALi	Me	Cbz	H	Cl	$-78\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	$60\text{ }^{\circ}\text{C}$	6
12 ^{e,g}	1.34	Tolueno	HMDALi	Me	Bn	Bn	Cl	$-78\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	$60\text{ }^{\circ}\text{C}$	62
13 ^{e,g}	1.03	Tolueno	HMDALi	Bn	Bn	Bn	Cl	$-78\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	$60\text{ }^{\circ}\text{C}$	67

a. mmol **b.** Formación y estabilización del carbanión. **c.** Adición del agente activante y *N,N*-acetal o *N,O*-acetal. **d.** 1.1 eq de base, 1.1 eq de **4a**, 1.1 eq (CF₃CO)₂O y 1.5 de TMSOTf. **e.** 1.2 eq de base, 0.5 eq de **4b**, 2.0 eq TMSCl y 3.5 BF₃·OEt₂. **f.** Prueba en que las proporciones de éster y **4b** son equimolares. **g.** 1.2 eq de base, 1.1 eq de **4a**, 2.0 eq TMSCl y 3.5 BF₃·OEt₂.

Una vez que se demostró la formación del enolato, se decidió combinar estos conocimientos con las estrategias propuestas por Boto⁸⁴ para la aminometilación. De manera general, se puede comentar que la primera temperatura (T_1), corresponde a la temperatura de adición de la base y TMSCl a la solución que contiene al éster. Transcurrida una hora se permite elevar la temperatura (T_2) de la disolución para terminar de consumir el carbanión formado y consecuentemente realizar las adiciones (T_3) del trifluoruro de boro eterato ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$) y del *N,N*-acetal (**4a**) o el *N,O*-acetal (**4b**). Finalmente, se permite reaccionar a toda la mezcla por alrededor de 4 horas a t.a. (T_4). En una primera aproximación, se decidió emplear THF como disolvente (**Entrada 4**) dado su uso cotidiano como disolvente para la preparación de carbaniones. Sin embargo, y dado que no hubo evidencias de la formación del derivado **5b**, suponemos que el THF pudo coordinarse al átomo de boro y reducir su actividad, de allí que se optara por el uso de tolueno (**Entrada 5**). Sin embargo, solo se consiguió obtener un 11% de rendimiento. Cabe hacer mención que las proporciones de **2a** y *N,O*-acetal **4b** son de 2:1, respectivamente. Cuando se duplicó la cantidad de la materia prima, fue posible mejorar el rendimiento a 58% (**Entrada 6**). Es importante resaltar que la purificación del producto se logró con un sistema de elución 70:25:5 Hex/ CH_2Cl_2 /AcOEt. Finalmente se decidió probar con cantidades equimolares de **2a** y **4b**, pero curiosamente no fue posible obtener al producto deseado (**Entrada 7**).

A fin de conseguir mejores resultados, se decidió extender nuestro estudio a un par de disolventes no próticos, uno coordinante como el éter dietílico (Et_2O) y otro no coordinante como el hexano. Para lo cual, se seleccionaron las condiciones de la **Entrada 6** y como puede notarse, parece haber un efecto coordinante del disolvente toda vez que el rendimiento observado para la reacción con Et_2O fue menor (31%, **Entrada 8**). Para el caso de la reacción con hexano el producto deseado se aisló en apenas el 8.5% (**Entrada 9**); para este último caso, un factor que seguramente impactó fue que tanto el derivado **2a** como **4b** no se integraron completamente a la reacción. Con los resultados anteriores se asumió que el tolueno es el disolvente más adecuado y se demostró que para la preparación de las sales de *N*-aciliminio se requiere de disolventes no coordinantes y donde las materias primas seas solubles.

⁸⁴ (a) Boto A.; Hernández, R.; de León, Y.; Murguía, J. R.; Rodríguez-Afonso, A. Synthesis of Functionalized Nitrogen Heterocycles by Radical Decarboxylation of β - and γ -Amino Acids. *Eur. J. Org. Chem.*, **2005**, *4*, 673–682. (b) Saavedra, C. J.; Hernández, R.; Boto, A.; Álvarez, E. One-pot synthesis of β -amino acid derivatives from α -amino acids. *Tetrahedron Lett.*, **2006**, *47*, 8757–8760. (c) Saavedra, C.; Hernández, R.; Boto, A.; Álvarez, E. Catalytic, One-Pot Synthesis of β -Amino Acids from α -Amino Acids. Preparation of α,β -Peptide Derivatives. *J. Org. Chem.*, **2009**, *74*, 4655–4665.

Para verificar la universalidad de esta estrategia sintética, se decidió aplicarla para la preparación del derivado **5c** donde intercambiamos al éster bencílico (**2a**) por el éster metílico (**2b**). Lamentablemente, apenas se pudieron aislar trazas del derivado **5c** (**Entrada 10**). Fue posible notar que la integración del material no fue completo; por ello se decidió elevar la última temperatura a 60°C, consiguiendo un rendimiento de apenas el 6% (**Entrada 11**). Restaba finalmente evaluar las condiciones evaluadas con el *N,N*-aminal **4a**; así los ésteres **2b** y **2a** se hicieron reaccionar para formar los β^2 -amino ésteres *N,N*-protegidos **5d** y **5a**, respectivamente, en rendimientos moderados (62% de **5d** y 67% de **5a** en las **Entradas 12** y **13** respectivamente).

El espectro de RMN ^1H para **5a** se muestra a continuación (**Figura 10**). La asignación de los hidrógenos que conforman este compuesto se consiguió con apoyo de las constantes de acoplamiento y sus integrales; triplete para la señal **f** en 4.06 ppm y doble de dobles para las señales **b** (2.93 ppm) y **c** (3.54 ppm). El acoplamiento y la multiplicidad de las señales **b** y **c**, es debida a su naturaleza diasterotópica. Esta misma característica se aprecia en los hidrógenos bencílicos de la amina y del éster **e** en 3.62 ppm y **g** en 5.10 ppm). Adicional a los elementos previamente inspeccionados en el espectro de RMN ^1H para el derivado **5a**, los experimentos de COSY y HSQC (**Figuras 11** y **12**, respectivamente) confirman las asignaciones propuestas. Finalmente, la integración de las señales en la zona aromática confirma la presencia de la inclusión de un par de sistemas anulares de los fenilos.

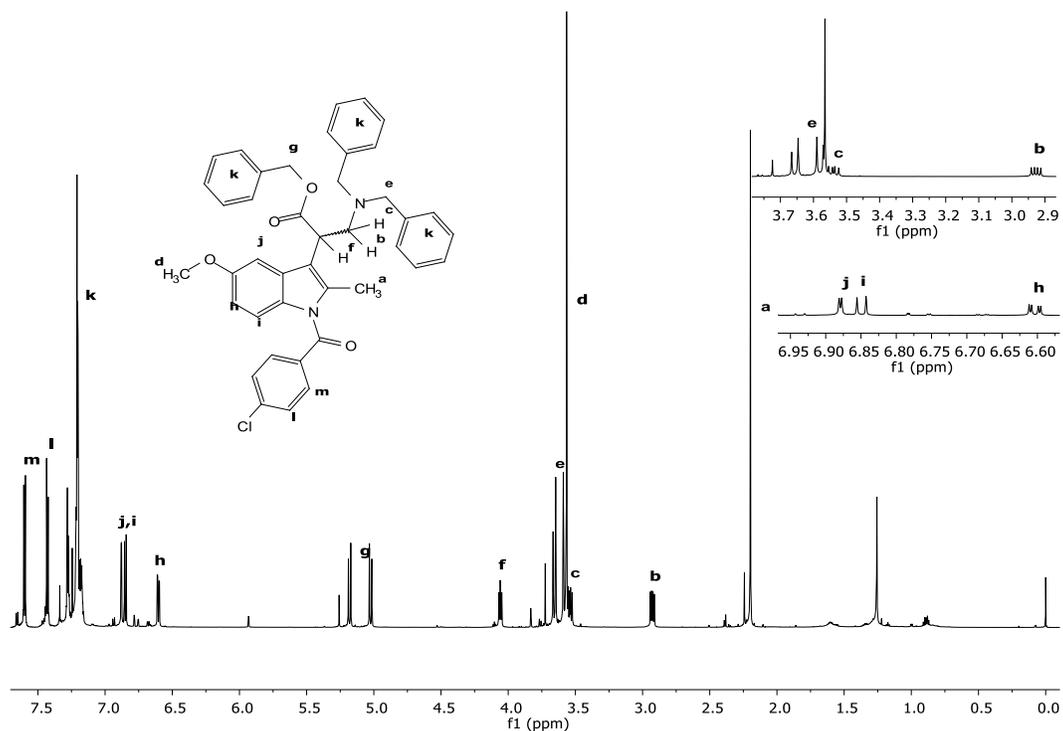


Figura 10. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) del derivado **5a**.

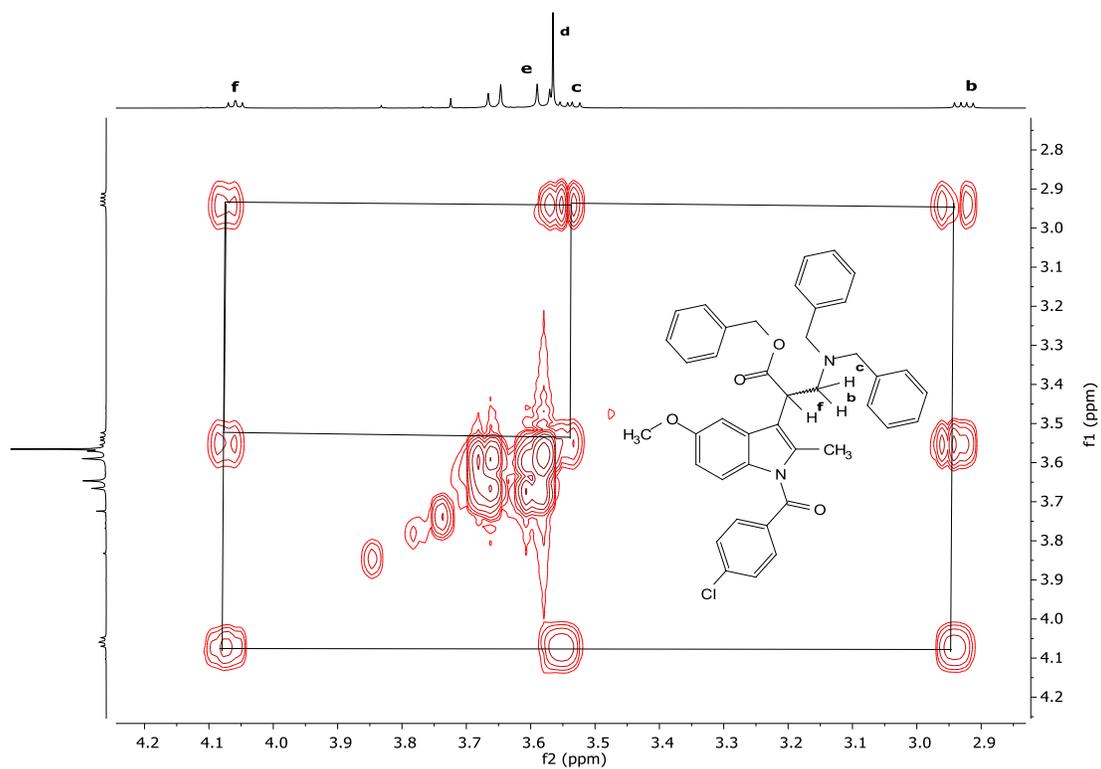


Figura 11. Experimento COSY (400 MHz) del derivado 5a.

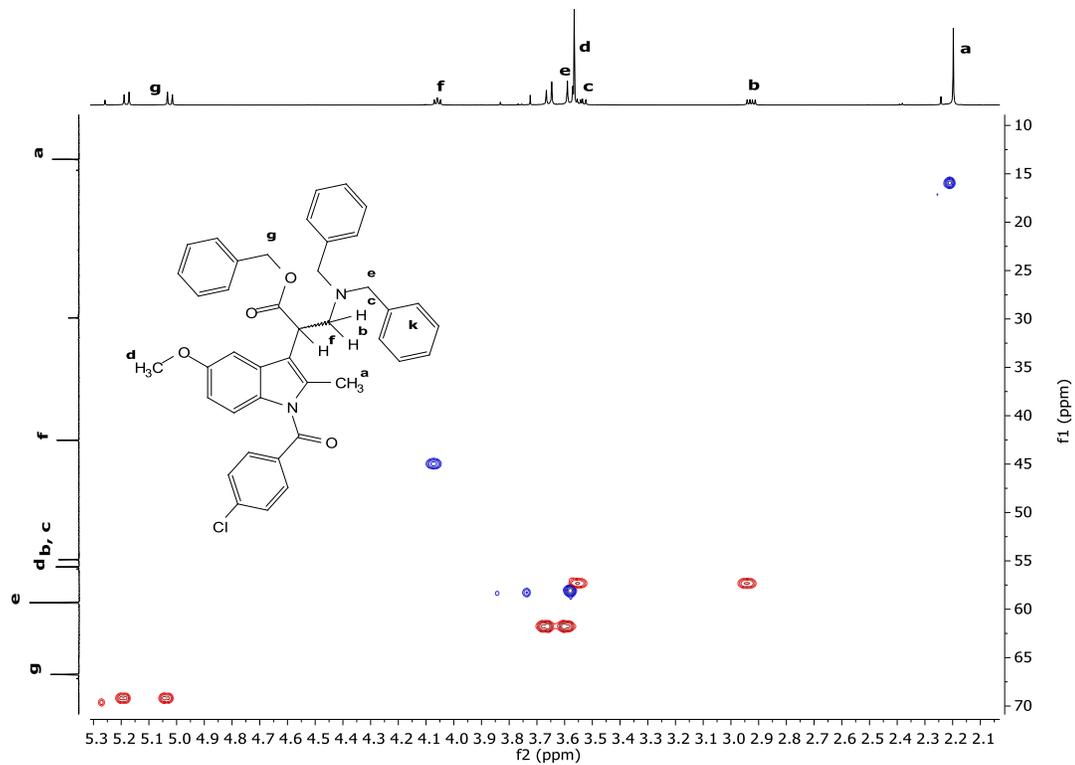


Figura 12. Experimento HSQC (400 MHz) del derivado 5a.

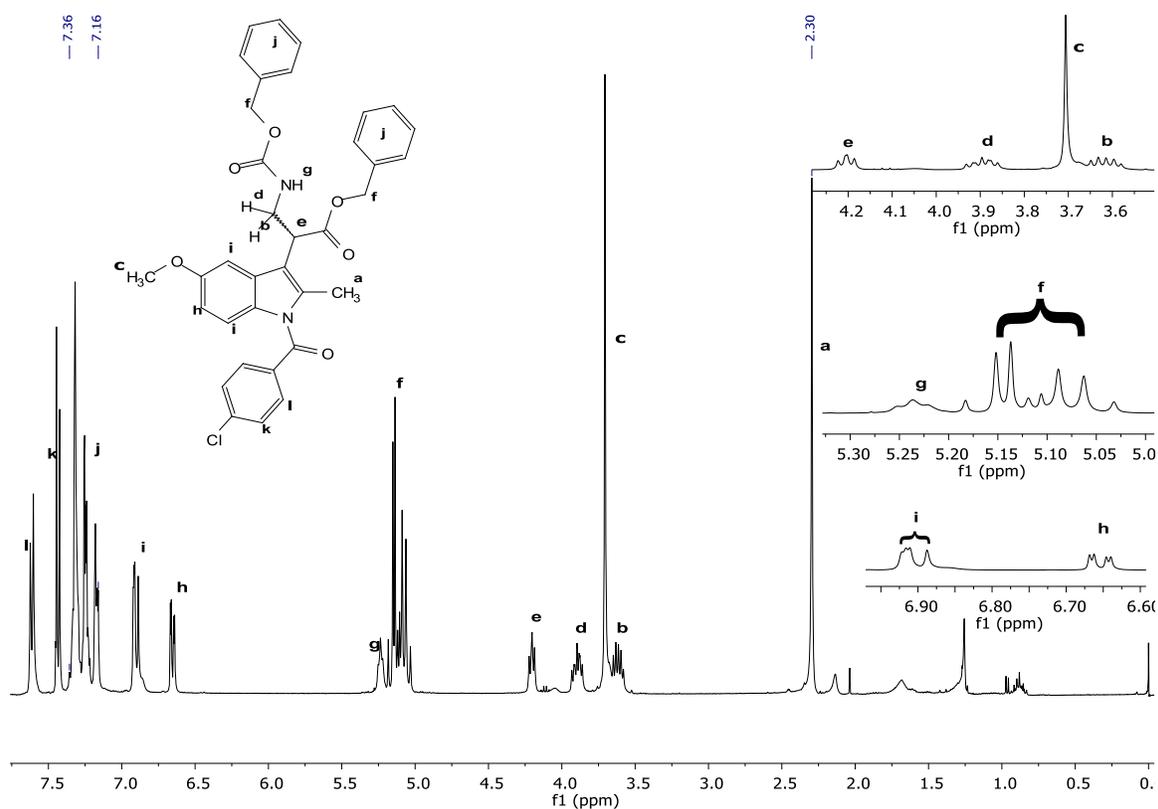


Figura 13. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) del derivado **5b**.

Por su parte, el espectro RMN ^1H de **5b** muestra el mismo patrón de acoplamiento del hidrógeno metínico alfa al carbonilo (Figura 13, señal **e** en 4.20 ppm), con los hidrógenos metilénicos beta (Figura 13, señales **b** en 3.62 ppm y **d** en 3.90 ppm). Sin embargo, la multiplicidad de los hidrógenos beta es ahora superior por un acoplamiento adicional con el hidrógeno del nitrógeno (Figura 13, señal **e** en 5.24 ppm). Adicionalmente, aunque existe un desdoblamiento de las señales del metileno bencílico del éster, este se traslapa con las señales correspondientes del metileno del carbamato (Figura 13, señal **f** en 5.18-5.03 ppm). Al igual que el derivado anterior, la zona aromática aumentó su proporción en términos de integrales, tal y como era de esperarse luego de la incorporación del grupo protector carbobenciloxi (Cbz). Para confirmar estas asignaciones, experimentos COSY y HSQC fueron desarrollados para el derivado **5b** (Figuras 14 y 15, respectivamente).

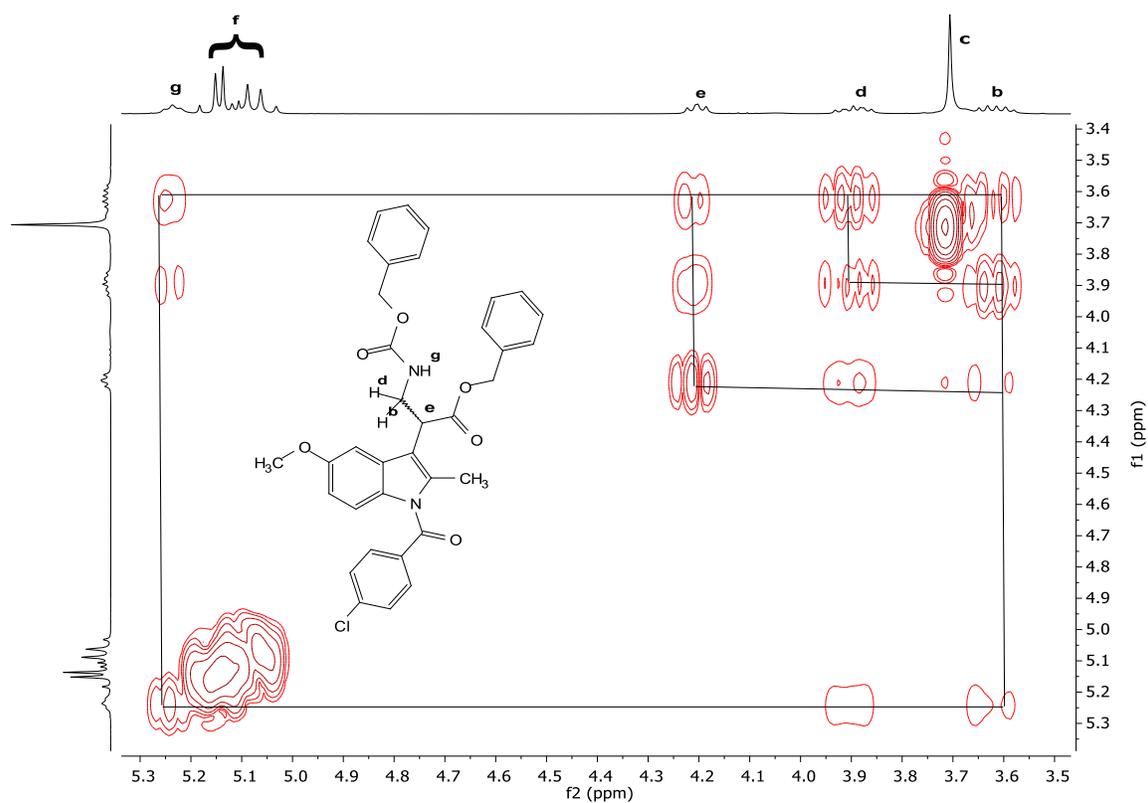


Figura 14. Experimento COSY (400 MHz) del derivado 5b.

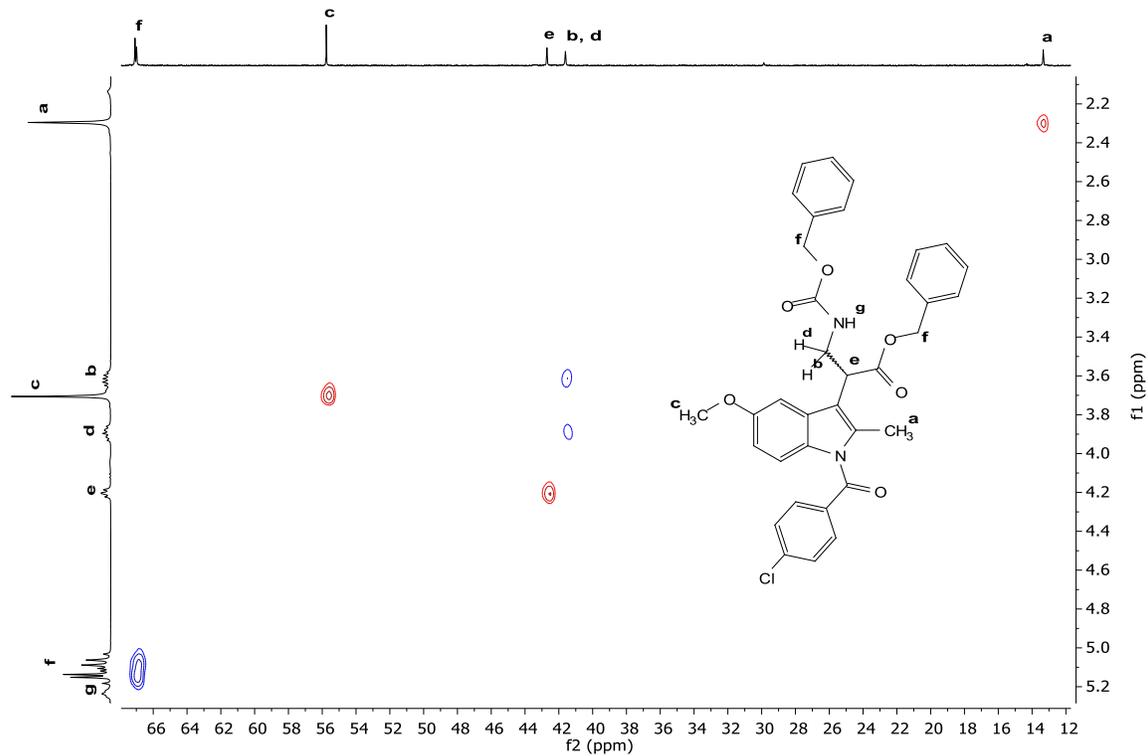
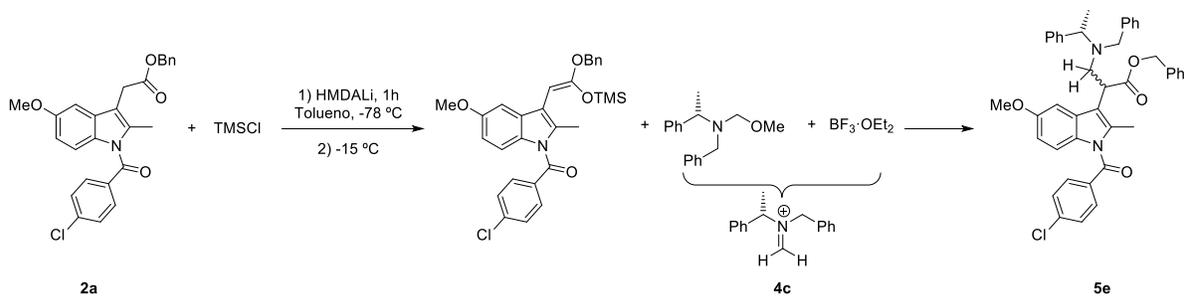


Figura 15. Experimento HSQC (400 MHz) del derivado 5b.

7.2.2 Aminometilación: Síntesis diastereoselectiva de β^2 -amino ésteres bencílicos *N,N*-protegidos

De la experiencia tomada en los experimentos de aminometilación racémicos del apartado anterior, se decidió explorar el uso de fuentes de iones *N*-acilimino quirales, considerando como únicas condiciones las expuestas en la **Entrada 14** de la **Tabla 5** (**Esquema 13**).



Esquema 13. Estrategia de síntesis de aminometilación para la preparación del derivado 5e.

Después de efectuar la reacción y con base en el análisis del espectro de RMN ^1H del producto aislado (**Figura 16**), fue posible aseverar que se aisló la mezcla de diastereoisómeros en una proporción 2:1. Lo anterior se justifica luego de comparar el valor de las integrales de las señales características que se observan entre 2.5 y 3.0 ppm para los hidrógenos asignados como **c** en el espectro. Es importante resaltar que no fue posible la separación de la mezcla de diastereoisómeros por CC convencional, pues la mezcla diastereoisomérica se observa como un único spot por TLC (lo que hacía creer que se tenía un único producto). Varios sistemas de elusión fueron probados sin éxito en la separación del par de diastereoisómeros.

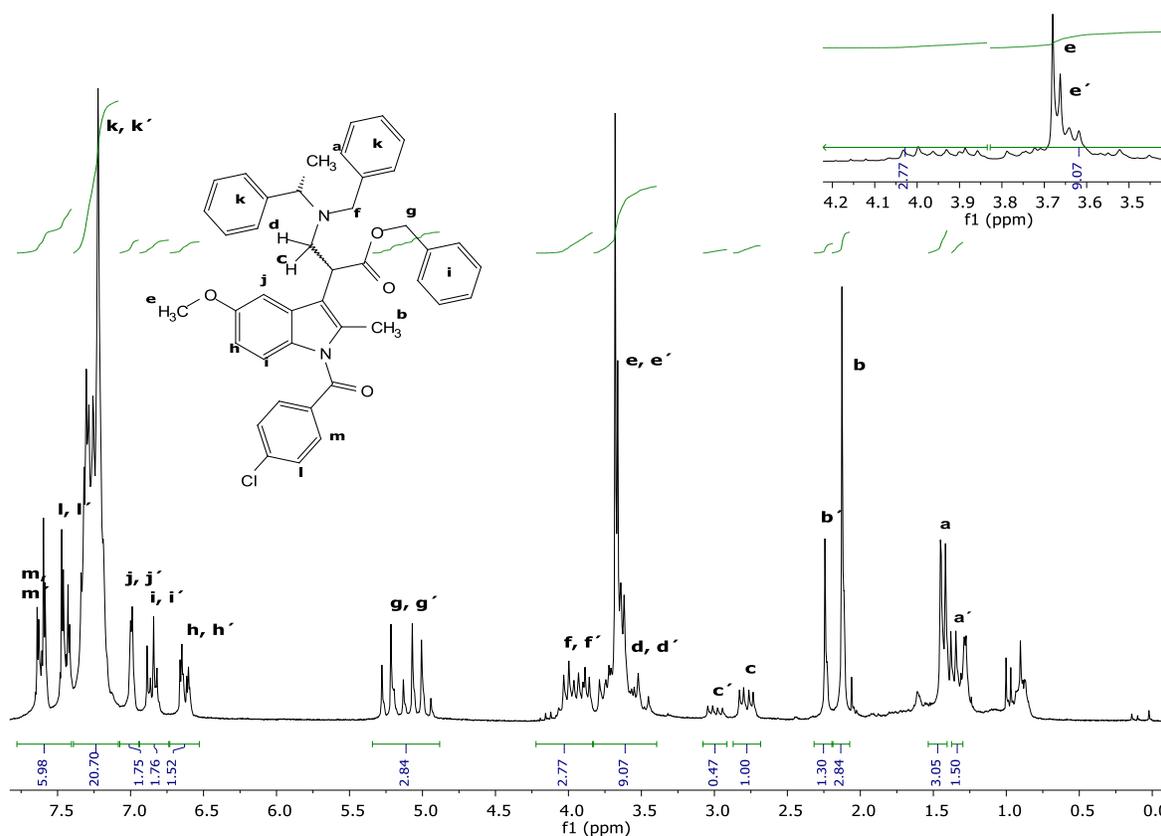
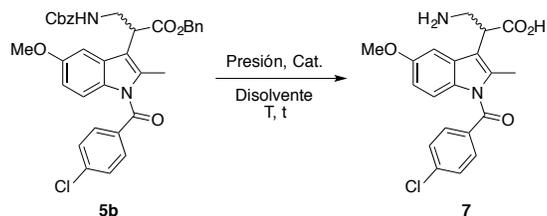


Figura 16. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) del derivado **5e**.

7.3 Hidrogenólisis de los derivados **5a** y **5b**

Una vez que se aisló el β^2 -amino éster bencílico *N*-Cbz protegido **5b**, se decidió tomar a este sustrato como modelo para realizar la reacción de hidrogenólisis de los grupos bencilo del éster y del grupo protector Cbz en un solo paso, para así llegar al β -amino ácido **7** en su forma racémica. Para conseguir dicho propósito se inspeccionaron seis condiciones de reacción (**Esquema 14**, **Tabla 6**).



Esquema 14. Hidrogenólisis del sustrato **5b**.

Tabla 6. Condiciones para la reacción de hidrogenólisis del sustrato **5b**.

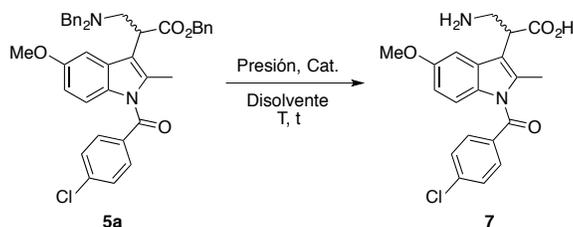
Entrada	M.P. ^a	Presión	Catalizador	Disolvente	T	Tiempo (h)	7 (%)
1	0.16	15 psi	Pd/C (10%)	AcOEt	-15 °C	1	---
2	0.16	20 psi	Pd/C (10%)	AcOEt	t.a.	13	---
3	0.16	40 psi	Pd/C (10%)	AcOEt	t.a.	1	---
4	0.16	40 psi	Pd/C (20%)	AcOEt	t.a.	15	---
5^b	0.16	15 psi	Pd/C (20%)	AcOEt/MeOH (1:2)	t.a.	3	---
6	0.16	15 psi	Pd/C (10%)	MeOH	t.a.	1	Cuantitativo
7	0.38	15 psi	Pd/C (10%)	MeOH	t.a.	1	97

a. mmol. b. No se purificó ni cuantificó.

Los dos primeros ensayos se realizaron usando la metodología propuesta por Shuto y colaboradores para la debencilación del éster bencílico (**Tabla 6, Entradas 1 y 2**).⁸⁵ Sin embargo, después de una hora de reacción, observamos por TLC solo a la materia prima. Se creyó en un principio que la presión, la cantidad de catalizador o el tiempo pudieron ser un factor determinante, por lo cual se realizaron las pruebas descritas en las **Entradas 3 y 4**, en las que se elevó la presión y la proporción del catalizador, respectivamente. Sin embargo, no fue posible observar la transformación de la materia prima. Así fue que se decidió inspeccionar el efecto del disolvente, ya que tradicionalmente las desprotecciones del grupo protector Cbz se llevan a cabo en MeOH, por lo que a la mezcla de reacción de la **Entrada 4** le fueron adicionadas dos partes en volumen de MeOH. Luego de una hora de reacción finalmente se observó un avance sustancial en la reacción (**Entrada 5**). Con este último ensayo, se demostró que el disolvente tenía mayor influencia en el avance de la reacción. Debido a la alta polaridad del producto a sintetizar, el equilibrio de la reacción podría desplazarse a la derecha (y así obtener un mejor rendimiento) en presencia de disolventes polares como el MeOH. Por lo tanto, se decidió llevar a cabo la reacción, con nueva materia prima y únicamente con MeOH como disolvente; de esta manera se pudo obtener en forma cuantitativa el β^2 -amino ácido racémico **7** en tan solo una hora de reacción (**Entrada 6**). Finalmente, se decidió evaluar la posibilidad de escalar al doble este último procedimiento encontrando resultados similares (**Entrada 7**).

⁸⁵ Arisawa, M.; Kasaya, Y.; Obata, T.; Sasaki, T.; Tomonori N., T.; Araki, T.; Yamamoto, K.; Sasaki, A.; Yamano, A.; Ito, M.; Abe, H.; Ito, Y.; Shuto, S. Design and Synthesis of Indomethacin Analogues That Inhibit P-Glycoprotein and/or Multidrug Resistant Protein without Cox Inhibitory Activity. *J. Med. Chem.*, **2012**, *55*, 8152–8163.

De igual manera, se evaluó la posibilidad de acceder al β^2 -amino ácido **7** empleando ahora al sustrato **5a** (Esquema 15).



Esquema 15. Hidrogenólisis del sustrato **5a**.

Como condiciones de partida se usaron aquellas que arrojaron los mejores rendimientos para el sustrato **5b** (Tabla 6, Entrada 6). Sin embargo, después de 1 y 5 horas de reacción únicamente se observó a la materia prima por TLC (Tabla 7 en Entradas 1 y 2, respectivamente). Ante este resultado se decidió incrementar las presión a 50 psi por 18 h y nuevamente se observó mucha materia prima (Entrada 3). Finalmente, se cambió a hidróxido de paladio ($\text{Pd}(\text{OH})_2$) como catalizador, y luego de 1 h de reacción a 50 psi de presión fue posible aislar al derivado **7** en un 63% de rendimiento.

Tabla 7. Condiciones para la reacción de hidrogenólisis del sustrato **5a**.

Entrada	M.P. ^a	Presión	Catalizador	Disolvente	T	Tiempo (h)	7 (%)
1	0.75	15 psi	Pd/C (10%)	MeOH	t.a.	1	---
2	0.75	15 psi	Pd/C (10%)	MeOH	t.a.	5	---
3	0.75	50 psi	Pd/C (10%)	MeOH	t.a.	18	---
4	0.75	50 psi	$\text{Pd}(\text{OH})_2$ (10%)	MeOH	t.a.	1	63

a. mmol.

El β^2 -amino ácido **7** se caracterizó por RMN ^1H (Figura 17). La multiplicidad, integración y constantes de acoplamiento, además del experimento de HSQC (Figura 18), permitieron asignar inequívocamente las señales del hidrógeno correspondientes al metino alfa al carbonilo (una señal doble de dobles en 4.27 ppm) y del par de hidrógenos del metileno de la posición beta (dos señales doble de dobles en 3.72 y 3.29 ppm).

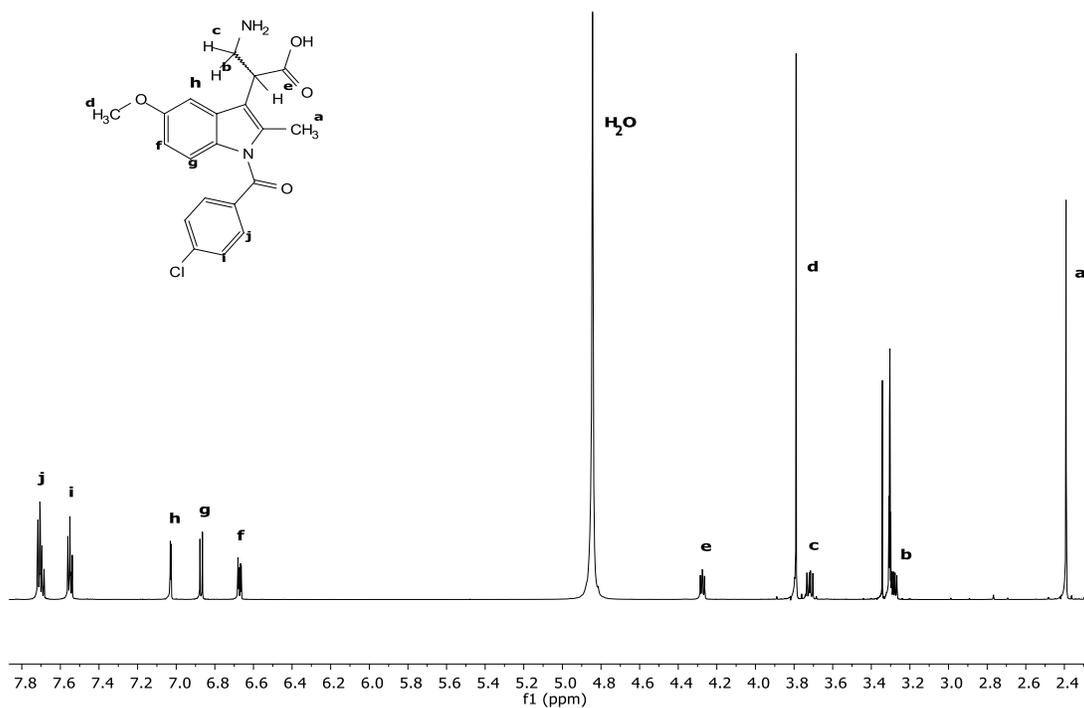


Figura 17. Espectro de RMN ^1H (700 MHz) del derivado 7.

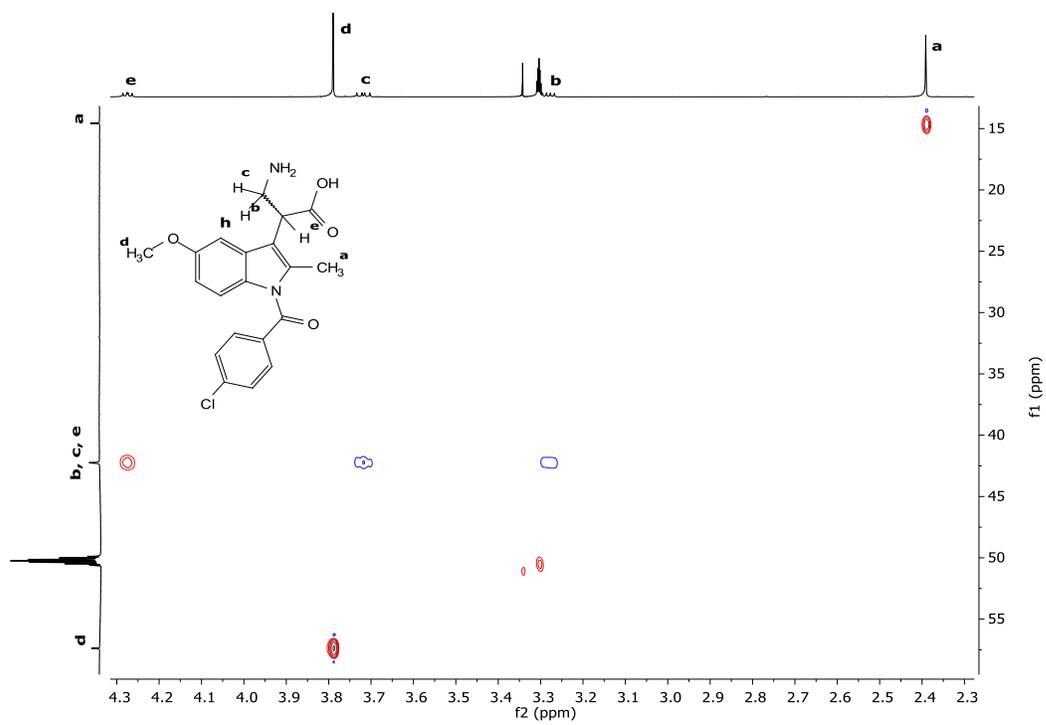
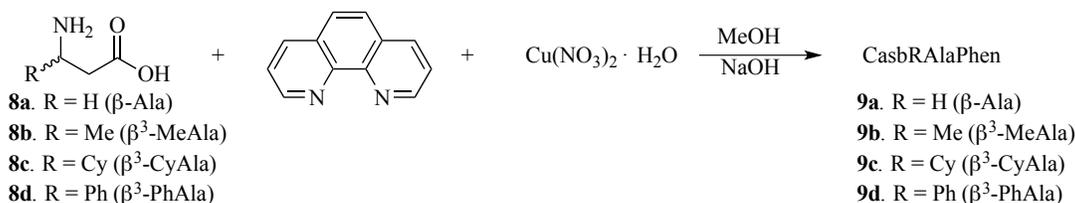


Figura 18. Experimento HSQC del derivado 7.

PREPARACIÓN, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN INHIBITORIA DE QUELATOS DE COBRE (II) CON β -AMINOACIDATOS

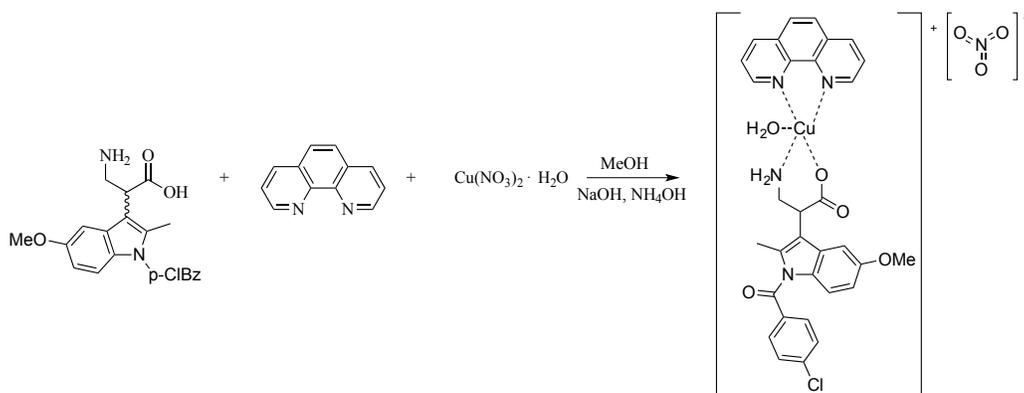
La síntesis de las sales de complejos mixtos de Cu(II) de composición $[\text{Cu(II)-L}^1\text{L}^2]\text{NO}_3$ (Casiopeínas®), ha sido previamente reportada por el grupo de la Dra. L. Ruiz-Azuara,⁴⁸ usando bpy y phen como ligantes primarios y ligantes tales como α -L-aminoácidos, acac y salal como ligantes secundarios. Mientras que α -L-amino ácidos naturales y no naturales se han explorado ampliamente en la preparación y evaluación citotóxica de Casiopeínas®,⁴⁶ la síntesis de complejos mixtos de cobre con β -amino ácidos es escasa⁸⁶ y hasta donde sabemos, existe solo la evidencia de su preparación de un análogo de fórmula $\{[\text{Cu(phen)(}\beta\text{-ala)(H}_2\text{O)}]\text{NO}_3\cdot\text{H}_2\text{O}\}$ más no así de su aplicación como agentes con propiedades biológicas. De ahí que sea interesante explorar la estructura y actividad inhibitoria de derivados que contengan ligantes β -aminoácido. El presente trabajo se limitó a estudiar complejos con β -alanina (**8a**), ácido (\pm)-3-aminobutanoico (**8b**, β^3 -MeAla), ácido (\pm)-3-amino-3-ciclohexilpropanoico (**8c**, β^3 -CyAla), ácido (\pm)-3-amino-3-fenilpropanoico (**8d**, β^3 -PhAla) como ligantes secundarios. La síntesis de los complejos $[\text{Cu(phen)(}\beta\text{-ala)(MeOH)}]\text{NO}_3$ (**9a**), $[\text{Cu(phen)(}\beta^3\text{-MeAla)(H}_2\text{O)}]\text{NO}_3$ (**9b**), $[\text{Cu(phen)(}\beta^3\text{-CyAla)(H}_2\text{O)}]\text{NO}_3$ (**9c**) y $[\text{Cu(phen)(}\beta^3\text{-CyAla)(H}_2\text{O)}]\text{NO}_3$ (**9d**) se consiguió mezclando cantidades estequiométricas del β -amino ácido, NaOH, phen y $\text{Cu(NO}_3)_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ en metanol como disolvente (**Esquema 16**). Los compuestos **9a-9d** fueron aislados como sólidos cristalinos de color azul en rendimientos de moderados a buenos (53-89%). Además, luego de triturarse en condiciones ambientales los complejos fueron caracterizados usando diferentes técnicas tales como análisis elemental (EA), espectrofotometría de infrarrojo y UV-Vis, análisis por difracción de rayos-X de polvos (PXRD), espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica (EPR), mediciones de momento magnético efectivo, de voltametría cíclica (potencial de reducción de media onda, $E_{1/2}$) y conductimétricas. Adicionalmente, cristales de composición **9a** \cdot 0.5H₂O \cdot 0.5MeOH, **9b** \cdot 1.32H₂O, **9c** \cdot 0.5H₂O \cdot 0.5MeOH y **9d** \cdot H₂O fueron analizados por difracción de rayos-X de monocristal (SXRD).

⁸⁶ (a) L. F. Ma, F. P. Liang and Z. L. Chen, Synthesis and Crystal Structure of $[\text{Cu}(\beta\text{-ala})(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})]\cdot\text{NO}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$. *Chin. J. Synth. Chem.*, **2005**, 3, 241–243.



Esquema 16. Procedimiento general para la preparación de Casiopeínas® con β -alanina (**8a**) y β^3 -amino ácidos (**8b-8d**).

Adicionalmente, y con la experiencia tomada para la síntesis de complejos de cobre (II) usando β -alanina y el resto de los β^3 -amino ácidos se decidió explorar la síntesis del complejo ternario de cobre (II) con ligante primario phen y ligante secundario el ácido (\pm)-3-amino-2-(1-(4-clorobenzoyl)-5-metoxi-2-metil-1*H*-indol-3-il)propanóico (**7**, β^2 -IndxAla). Inicialmente, se exploró la efectividad de las condiciones previamente descritas en este trabajo (*vide supra*) y para derivados con indometacina en el trabajo reportado por Godinez;⁸⁷ se aislaron trazas de un sólido verde, sin embargo, no fue posible aislar al compuesto de forma pura y en cantidad suficiente para ser caracterizado. Así, se decidió explorar el uso de hidróxido amonio (NH₄OH) que en otros estudios también ha sido probada con efectividad⁸⁸ mostrando ligeras mejoras (**Esquema 17**). Las trazas puras que fueron posibles de aislar, se han intentado cristalizar sin éxito, empleando para este propósito diferentes técnicas tales como evaporación lenta del disolvente (MeOH, CH₃CN, DMSO), difusión de disolventes (MeOH/Tolueno, MeOH/Benceno, MeOH/Hexano, MeOH/EtEt) e intercambio de contraiones más voluminosas como tetrafenilborato (BPh₄⁻) y hexafluorofosfato (PF₆⁻), sin ningún éxito a la fecha.



Esquema 17. Procedimiento general para la preparación de Casiopeínas® con el β^2 -amino ácido **7**.

⁸⁷ Godinez-Loyola, Y.; Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, 2018.

⁸⁸ Bravo-Gómez, M.-E.; Tesis de Doctorado, Universidad Nacional Autónoma de México, 2009.

7.4 Caracterización

7.4.1 Espectrofotometría de infrarrojo

Todos los complejos mostraron bandas de absorción características en IR para este tipo de compuestos.⁴⁹ Las bandas de absorción en el intervalo de 3448-3250 cm^{-1} se atribuyen a las vibraciones de estiramiento $\nu(\text{N-H})$ y $\nu(\text{O-H})$ del residuo β -aminoacido y las moléculas de agua o metanol. Los grupos carboxilato coordinados generan bandas de vibración asimétricas y simétricas intensas $\nu(\text{OCO})$ en aproximadamente 1600 y 1400 cm^{-1} ,⁸⁹ las cuales para los compuestos **9a-9d** ocurren en el intervalo de 1608-1591 cm^{-1} y 1384-1385 cm^{-1} . La banda de vibración simétrica $\nu(\text{OCO})$ se traslapa con la banda de absorción característica del contraión NO_3^- , la cual es intensa y se encuentra alrededor de 1384 cm^{-1} . Por otro lado, las bandas de absorción observadas a 1521-1518 cm^{-1} , 1433-1423 cm^{-1} y 724-723 cm^{-1} fueron asignadas a las vibraciones de estiramiento de $\nu(\text{C=N})$, $\nu(\text{C=C})$, y dentro y fuera del plano de los enlaces C-H, confirmando la presencia del ligante phen en la esfera de coordinación de los complejos. (**Tabla 8**).

Tabla 8. Bandas de IR seleccionadas para los complejos **9a-9d** (en KBr, cm^{-1}).

Compuesto	$\nu(\text{N-H})$	$\nu(\text{C=O})$	$\nu(\text{C=N})$	$\nu(\text{C=C})$	$\nu(\text{NO}_3)$	$\delta(\text{C-H})$
9a	3422	1604	1521	1424	1384	723
	3254					
9b	3428	1591	1522	1433	1385	724
	3251					
9c	3448	1608	1519	1428	1384	723
	3284					
9d	3416	1588	1521	1429	1384	723
	3249					

⁸⁹ (a) A. Tarushi, C. P. Raptopoulou, V. Psycharis, D. P. Kessissoglou, A. N. Papadopoulou and G. Psomas. Structure and biological perspectives of Cu(II)-indomethacin complexes. *J. Inorg. Chem.* **2014**, *140*, 185–198. (b) S. Perontsis, A. Dimitriou, P. Fotiadou, A. G. Hatzidimitriou, A. N. Papadopoulos and G. Psomas, Cobalt(II) complexes with the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac and nitrogen-donor ligands. *J. Inorg. Chem.* **2019**, *196*, 1110688. (c) K. Nakamoto, Infrared spectra of inorganic and coordination compounds. 2nd Edition. Vol. 1970.

7.4.2 Análisis por difracción de rayos X de Polvos (PXRD) y de monocristal (SCXRD)

Estudios previos han demostrado que las Casiopeínas® corresponden a complejos ternarios con geometrías cuadrado planas, piramidal de base cuadrada u octaédrica elongada.⁹⁰

Monocristales adecuados de los complejos **9a'**-**9d'** para el análisis XRD se hicieron crecer en soluciones de metanol, dando en todos los casos estructuras cristalinas que contienen tanto

⁹⁰ (a) Gutiérrez, A.-G.; Vázquez-Aguirre, A.; García-Ramos, J.-C.; Flores-Alamo, M.; Hernández-Lemus, E.; Ruiz-Azuara, L.; Mejía, C. Copper(II) mixed chelate compounds induce apoptosis through reactive oxygen species in neuroblastoma cell line CHP-212. *J. Inorg. Biochem.*, **2013**, *126*, 17-25. (b) Onawumi, O.-O.-E.; Faboya, O.-O.-P.; Odunola, O.-A.; Prasad, T.-K.; Rajasekharan, M.-V. Synthesis, structure and spectral studies on mixed ligand copper(II) complexes of diimines and acetylacetonate. *Polyhedron*, **2008**, *27*, 113-117. (c) Tovar-Tovar, A.; Ruiz-Ramírez, L.; Campero, A.; Romerosa, A.; Moreno-Esparza, R.; Rosales-Hoz, M. J. Interaction of copper with cysteine: stability of cuprous complexes and catalytic role of cupric ions in anaerobic thiol oxidation. *J. Inorg. Biochem.*, **2004**, *98*, 1045–1053. (d) Solans, X.; Ruiz-Ramírez, L.; Martínez, A.; Gasque, L.; Briansó, Structures of chloro(glycinato)(1,10-phenanthroline)copper(II) monohydrate (I) and aqua(1,10-phenanthroline)(L-phenylalaninato)copper(II) nitrate monohydrate (II). *Acta Crystallogr. Sect. C*, **1988**, *44*, 628-631. (e) García-Ramos, J. C.; Galindo-Murillo, R.; Tovar-Tovar, A.; Alonso-Saenz, A. L.; Gómez-Vidales, V.; Flores-Álamo, M.-L.; Ortiz-Frade, L.; Cortes-Guzmán, F.; Moreno-Esparza, R.; Campero, A.; Ruiz-Azuara, L. The π -Back-Bonding Modulation and Its Impact in the Electronic Properties of CuII Antineoplastic Compounds: An Experimental and Theoretical Study. *Chem. Eur. J.*, **2014**, *20*, 13730-13741. (f) Solans, X.; Ruiz-Ramírez, L.; Martínez, A.; Gasque, L.; Moreno-Esparza, R. Mixed chelate complexes. II. Structures of L-alaninato(aqua)(4,7-di-phenyl-1,10-phenanthroline)copper(II) nitrite monohydrate and aqua(4,7-di-methyl-1,10-phenanthroline)(glycinato)(nitrate)copper(II) monohydrate. *Acta Crystallogr. Sect. C*, **1993**, *49*, 890–893. (g) Alvarez-Larena, A.; Briansó-Penalva, J.-L.; Piniella, J.-F.; Moreno-Esparza, R.; Ruiz-Ramírez, L.; Ferrer-Sueta, G. Aqua(glycinato)(3,4,7,8-tetramethyl-1,10-phenanthroline)copper(II) Nitrate. *Acta Crystallogr. Sect. C*, **1995**, *51*, 852–854. (h) Solans, X.; Ruiz-Ramírez, L.; Martínez, A.; Gasque, L.; Moreno-Esparza, R. Mixed chelate complexes. III. Structures of (L-alaninato)(aqua)(2,2'-bipyridine)copper(II) nitrate monohydrate and aqua(2,2'-bipyridine)(L-tyrosinato)copper(II) chloride trihydrate. *Acta Crystallogr. Sect. C*, **1992**, *48*, 1785–1788. (i) Solans, X.; Ruiz-Ramírez, L.; Gasque, L.; Briansó, J.-L. Structure of (1,10-phenanthroline)(salicylaldehydato)copper(II) nitrate. *Acta Crystallogr. Sect. C*, **1987**, *43*, 428–430. (j) Moreno-Esparza, R.; Molins, E.; Briansó-Penalva, J.-L.; Ruiz-Ramírez, L.; Redón, R. Aqua(1,10-phenanthroline)(L-serinato)copper(II) Nitrate. *Acta Crystallogr. Sect. C*, **1995**, *51*, 1505–1508. (k) Gasque, L.; Moreno-Esparza, R.; Ruiz-Ramírez, L.; Medina-Dickinson, G. Aqua(4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline)(salicylaldehydato)copper(II) nitrate monohydrate. *Acta Crystallogr. Sect. C*, **1999**, *55*, 1065–1067. (l) Gasque, L.; Moreno-Esparza, R.; Ruiz-Ramírez, L.; Medina-Dickinson, G. (5,6-Dimethyl-1,10-phenanthroline)(nitrate)(salicylaldehydato)copper(II). *Acta Crystallogr. Sect. C*, **1999**, *55*, 1063–1065.

moléculas de disolvente coordinadas como no coordinadas, por ejemplo, [Cu(phen)(β -Ala)(MeOH)]NO₃·0.5H₂O·0.5MeOH (**9a'**), [Cu(phen)(β^3 -MeAla)(H₂O)]NO₃·1.32H₂O (**9b'**), [Cu(phen)(β^3 -CyAla)(H₂O)]NO₃·0.5H₂O·0.5MeOH (**9c'**) y [Cu(phen)(β^3 -CyAla)(H₂O)]NO₃·H₂O (**9d'**). La variación del disolvente coordinado al centro metálico de cobre (II) en **9a'** (MeOH) al compararlo con **9b'**, **9c'** y **9d'** (H₂O) es posiblemente consecuencia de la optimización en la energía de red cristalina durante el proceso de cristalización. En este contexto, los efectos de empaquetamiento y estabilización de la estructura cristalina se dan a través de interacciones intermoleculares no covalentes, en particular puentes de hidrógeno O/N-H...O (*vide infra*), son factores relevantes. Los datos cristalográficos más representativos y de refinamiento se resumen en la **Tabla 2**. Las longitudes de enlace seleccionadas lo mismo que ángulos de enlace se proporcionan en la **Tabla 9**.

Tabla 9. Longitudes [Å] y ángulos [°] seleccionados para los complejos **9a'-9d'**.

	9a^a		9b^{b,c}	9c^b	9d^b
	Molecule A	Molecule B			
Cu-O _{AA}	1.9388(16)	1.9373(16)	1.940(4)	1.926(3)	1.929(2)
Cu-O _{solv.}	2.2478(15)	2.2573(16)	2.2328(13)	2.283(4)	2.307(2)
Cu-N _{phen}	2.0162(18)	2.0231(18)	2.0135(15)	2.005(4)	2.014(2)
Cu-N _{phen}	2.0436(19)	2.038(2)	2.0532(15)	2.045(3)	2.062(2)
Cu-N _{AA}	1.9842(18)	1.9910(18)	1.982(5)	1.982(3)	1.981(3)
Cu-O _{nitrate}				2.764(4)	
O _{solv.} -Cu-O _{AA}	91.14(7)	90.58(7)	94.12(11)	92.18(14)	98.08(10)
O _{AA} -Cu-N _{phen}	88.89(7)	88.40(7)	87.37(12)	89.20(14)	88.00(10)
O _{AA} -Cu-N _{phen}	167.81(7)	164.35(7)	166.21(13)	165.70(15)	163.25(11)
O _{AA} -Cu-N _{AA}	93.91(7)	94.47(7)	94.10(14)	95.76(13)	94.39(10)
N _{phen} -Cu-O _{solv.}	95.16(6)	90.98(6)	94.26(6)	92.20(14)	91.67(9)
N _{phen} -Cu-N _{phen}	81.41(7)	81.28(7)	81.33(6)	81.68(14)	80.99(10)
N _{phen} -Cu-O _{solv.}	97.05(7)	101.26(7)	94.56(5)	99.12(14)	94.85(9)
N _{AA} -Cu-O _{solv.}	97.88(7)	97.87(7)	95.20(19)	90.92(15)	91.20(12)
N _{AA} -Cu-N _{phen}	166.60(8)	170.65(8)	170.30(19)	174.04(14)	175.97(12)
N _{AA} -Cu-N _{phen}	93.90(8)	93.99(8)	95.76(11)	92.81(13)	95.96(10)
O _{nitrate} -Cu-O _{AA}				86.0(1)	
O _{solv.} -Cu-O _{nitrate}				171.4(1)	
N _{phen} -Cu-O _{nitrate}				96.2(1)	
N _{phen} -Cu-O _{nitrate}				84.0(1)	
N _{AA} -Cu-O _{nitrate}				80.9(1)	

^{a)} solv.=MeOH; ^{b)} solv.=H₂O; ^{c)} Datos únicamente para el isómero del ligante mayoritario (ver parte experimental)

7.4.2.1 Estructura cristalina del complejo [Cu(phen)(β -Ala)(MeOH)]NO₃·0.5H₂O·0.5MeOH (**9a'**)

El compuesto **9a'** cristalizó en un grupo espacial triclinico *P*-1 con centros de inversión. La unidad asimétrica contiene dos cationes complejos [Cu(phen)(β -ala)(MeOH)]⁺ cristalográficamente independientes (β -ala es alaninato), dos aniones NO₃⁻ y dos moléculas de disolvente, de las cuales una es agua y la otra es metanol. Los átomos de Cu(II) están pentacoordinados y poseen geometría piramidal de base cuadrada (**Figura 19**).

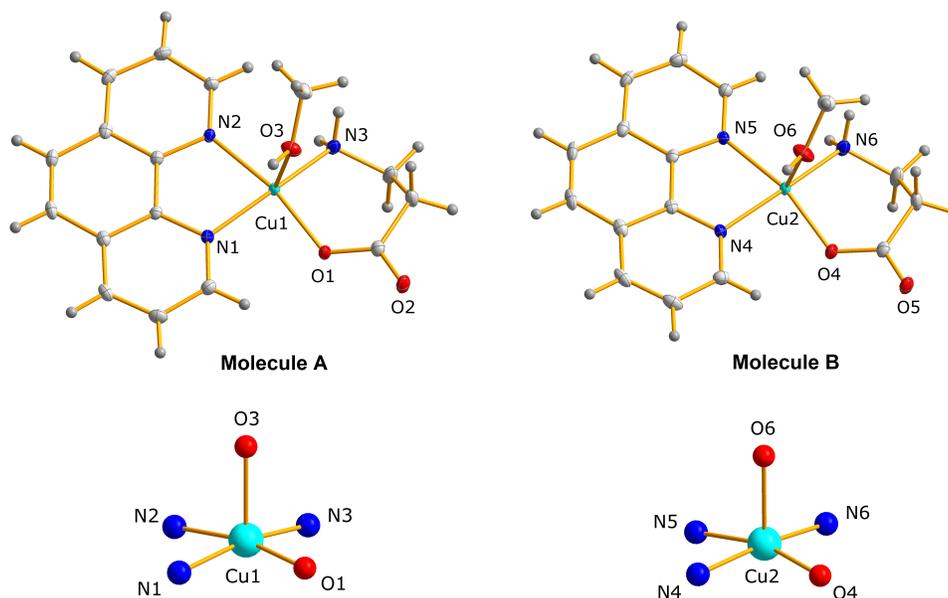


Figura 19. Vistas en perspectiva de las estructuras moleculares y poliedros de coordinación de los dos complejos catiónicos independientes **A** y **B** en la estructura cristalina del compuesto **9a'**. Nota: los contraiones nitrato y moléculas de solvatación fueron omitidas para tener mejor claridad. Las elipsoides fueron dibujadas con un 50% de probabilidad.

La base de la pirámide está formada por los átomos de nitrógeno del ligante fenantrolina y los átomos de oxígeno y nitrógeno del residuo de β -alaninato. Las distancias Cu-N con los ligantes phen de las moléculas **A** y **B** del compuesto **9a'** oscilan entre 2.0162(18) Å y 2.0436(19) Å. Las distancias Cu-O_{AA} y Cu-N con el β -alaninato son 1.9388(16)/1.9373(16) Å y 1.9842(18)/1.9910(18) Å, respectivamente. Los anillos quelato de cinco y seis miembros con phen y β -alaninato adoptan conformaciones aproximadamente planas y de tipo bote, respectivamente. Las posiciones apicales están ocupadas por una molécula de metanol con distancias de enlace Cu-O_{MeOH} 2.2478(15) Å y 2.2573(16) Å. Los ángulos de enlace de la base cuadrada plana distorsionada están en el intervalo de 81.28(7)° a 94.47(7)°; mientras, que los ángulos de enlace con el sustituyente de la posición apical varía de 90.58(7)° a 101.26(7)°. En un reporte previo, se describe la estructura cristalina del compuesto [Cu(phen)(β -Ala)(H₂O)]NO₃·H₂O, mostrando una geometría de coordinación bastante similar.⁸³

La estructura cristalina del compuesto **9a'** está estabilizada por una extensa red de interacciones por puente de hidrógeno que involucran grupos donadores y aceptores O/N de las moléculas de β -alaninato, nitrato, agua y metanol. Los cationes complejos adyacentes **A** están unidos a través enlaces de hidrógeno O_{MeOH}-H \cdots O_{OCO} para dar lugar a agregados diméricos (**Figura 20a** y **Tabla 10**). Estas entidades diméricas formadas por puentes de hidrógeno están conectadas a

los complejos catiónicos **B** a través de interacciones $N_{\beta\text{-alaninato}}\text{-H}\cdots\text{O}_w$ y $N_{\beta\text{-alaninato}}\text{-H}\cdots\text{O}_{\text{nitrato}}$ (Figura 20b y Tabla 10). La conectividad mostrada en las Figuras 20a y 20b genera cadenas que se extienden a lo largo de $[0\ 1\ 1]$. El enlazamiento a través de interacciones por puente de hidrógeno adicionales $\text{O}_w\text{-H}\cdots\text{O}_{\text{nitrato}}$ da redes 2D que se propagan paralelamente hacia $[0\ 1\ 1]$. El conjunto de interacciones por puentes de hidrógeno pueden ser apreciadas en el mapa de superficie de potencial electrostático (Mapa de Hirshfeld)⁹¹ ilustrado en la Figura 21. Las zonas en rojo indican zonas de contacto para interacciones donador-aceptor fuertes y se observan manchas intensas cerca de los átomos de nitrógeno y oxígeno que contribuyen a la formación de las cadenas 1D y las redes 2D unidas por puentes hidrógeno. Las extensas áreas blancas representadas a cada lado de los ligantes phen representan las interacciones de apilamiento π - π .

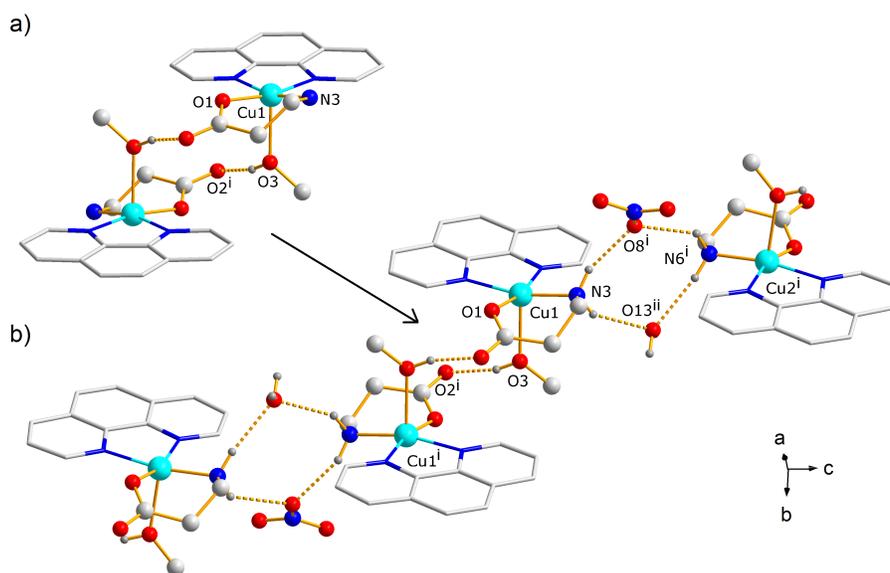


Figura 20. Fragmentos de la estructura cristalina del compuesto **9a'** donde se muestran los agregados supramoleculares de los cationes complejos formados a través de interacciones por puentes de hidrógeno. a) Agregados dimericos formados entre las moléculas **A** vecinas. b) Las cadenas 1D a lo largo de $[0\ 1\ 1]$ que resultan de interacciones por puente de hidrógeno con una molécula de nitrato y una de agua. Operadores de simetría: (i) 2-x, 1-y, 1-z; (ii) 1-x, 1-y, 1-z. Nota: los átomos de hidrógeno que no participan en las interacciones por puente de hidrógeno se omiten para mayor claridad.

⁹¹ (a) J. J. McKinnon, D. Jayatilaka and M. A. Spackman, Towards quantitative analysis of intermolecular interactions with Hirshfeld surfaces. *Chem. Commun.* **2007**, 3814–3816; (b) P. A. Wood, J. J. McKinnon, S. Parsons, E. Pidcock and M. A. Spackman, Analysis of the compression of molecular crystal structures using Hirshfeld surfaces. *CrystEngComm.* **2008**, *10*, 368–376; (c) M. A. Spackman and D. Jayatilaka, Hirshfeld surface analysis. *CrystEngComm* **2009**, *11*, 19–32.

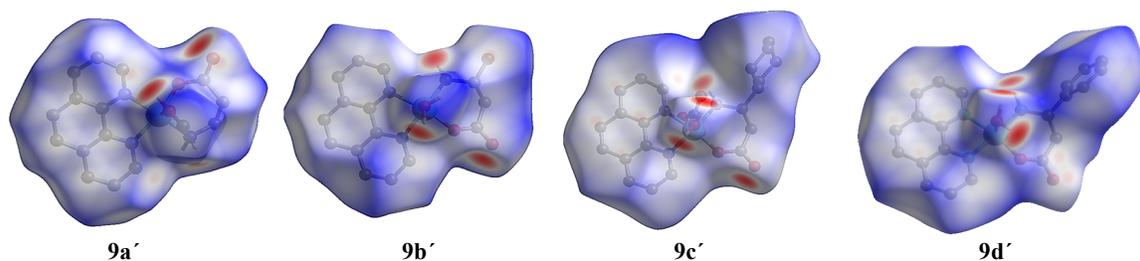


Figura 21. Mapas de superficie de Hirshfeld de los complejos catiónicos de cobre (II) de los compuestos **9a'**-**9d'**, que ilustran los puentes de hidrógeno e interacciones de apilamiento π - π . Nota: los átomos de hidrógeno que no participan en las interacciones por puente de hidrógeno se omiten para mayor claridad. Para el compuesto **9a'** únicamente se muestra la molécula A (ver **Figura 19**)

En la tercera dimensión, la estructura cristalográfica está estabilizada también por interacciones de apilamiento π - π a lo largo de [1 0 0] formadas entre los anillos de phen de las moléculas de los complejos de hojas 2D vecinas, con distancias interplanares en el intervalo de 3.34-3.35 Å [$\text{Cg1}\cdots\text{Cg1}^{\text{i}} = 3.34$ Å; $\text{Cg1}\cdots\text{Cg1}^{\text{iii}} = 3.35$ Å; $\text{Cg2}\cdots\text{Cg2}^{\text{iii}} = 3.34$ Å y $\text{Cg2}\cdots\text{Cg2}^{\text{iv}} = 3.35$ Å con $\text{Cg1} = \text{N1}, \text{N2}, \text{C1-C12}$ y $\text{Cg2} = \text{N3}, \text{N4}, \text{C17-C26}$; operadores de simetría:(i) 2-x, -y, 1-z; (ii) 1-x, -y, 1-z; (iii) 1-x, 1-y, -z; (iv) 2-x, 1-y, -z] (**Figura 22**).

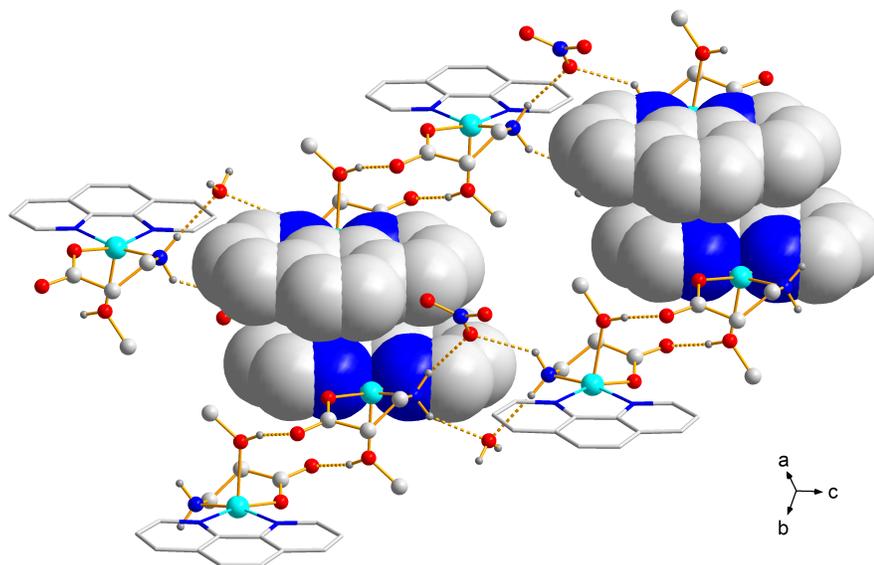


Figura 22. Además de las interacciones por puente de hidrógeno mostradas en la **Figura 18**, la estructura cristalina del compuesto **9a'** es estabilizada por interacciones de apilamiento π - π entre los ligantes 1,10-fenantrolina. Nota: los átomos de hidrógeno que no participan en las interacciones por puente de hidrógeno se omiten para mayor claridad.

Tabla 10. Parámetros geométricos para las interacciones por puentes de hidrógeno intermoleculares en las estructuras cristalinas de los complejos **9a'**-**9d'**.

Compuesto	Interacciones intermoleculares	D-H/[Å]	H...A/[Å]	D...A/[Å]	∠DHA[°]	Código de simetría
9a'	O3-H3...O2	0.85	1.82	2.654(2)	164	2-x, 1-y, 1-z
	N3-H3A...O13	0.91	2.17	2.982(3)	149	1-x, 1-y, 1-z
	N3-H3B...O8	0.91	2.09	2.917(3)	150	2-x, 1-y, 1-z
	O6-H6A...O5	0.85	1.81	2.656(2)	172	2-x, 2-y, z
	N6-H6C...O13	0.91	2.15	3.031(3)	164	1+x, y, z
	N6-H6B...O8	0.91	2.31	3.040(2)	137	x, y, z
	O13-H13A...O11	0.85	2.02	2.866(3)	174	x, y, z
	O13-H13B...O7	0.85	2.05	2.868(2)	162	x, y, z
	O14-H14...O11	0.84	2.09	2.905(3)	165	-x, 1-y, 1-z
9b'	O3-H3C...O7	0.89	1.98	2.840(5)	163	-1+x, y, z
	O3-H3D...O2	0.89	1.91	2.749(5)	156	1-x, 2-y, 1-z
	N3-H3A...O4A	0.91	2.29	3.15(2)	158	x, y, z
	N3-H3B...O6A	0.91	2.14	3.04(1)	173	-x, 1-y, -z
	O7-H7A...O2	0.87	1.87	2.736(7)	174	x, y, z
	O7-H7B...O6A	0.87	2.19	2.91(1)	140	1-x, 1-y, -z
9c'	O3-H3A...O2	0.89	1.90	2.757(5)	161	1-x, 1-y, 1-z
	O3-H3B...O5	0.89	1.94	2.807(5)	166	x, -1+y, z
	N3-H3C...O6	0.91	2.12	2.978(6)	158	x, y, z
	N3-H3D...O4	0.91	2.24	3.129(6)	167	x, -1+y, z
9d'	O3-H3WA...O1W	0.97	1.74	2.706(2)	175	x, y, z
	O3-H3WB...O5	0.97	1.90	2.851(4)	168	x, 1-y, 0.5+z
	N3-H3A...O6	0.82	2.24	3.058(5)	177	x, 1-y, 0.5+z
	N3-H3B...O4	0.80	2.21	2.998(4)	165	x, -y, 0.5+z
	O1W-H1W...O2	0.97	1.82	2.755(4)	162	x, 1+y, z
	O1W-H2W...O2	0.97	1.83	2.776(4)	167	0.5-x, 0.5-y, 1-z

7.4.2.2 Estructura cristalina del complejo [Cu(phen)(β³-MeAla)(H₂O)]NO₃·1.32H₂O (**9b'**)

Como **9a'**, el compuesto **9b'** cristalizó en el grupo espacial triclinico *P*-1. La unidad asimétrica contiene un catión [Cu(phen)(β-3MeAla)(H₂O)]⁺ (β-3MeAla es el ácido 3-aminobutírico), un ión NO₃⁻, y una molécula agua. Los iones Cu(II) exhiben una geometría piramidal de base cuadrada como en **9a'**, pero ahora la posición apical es ocupada por una molécula de agua con una distancia de enlace Cu-O_W de 2.2328(13) Å (**Figura 23**). Las distancias Cu-O_{AA} y

Cu-N con el β -3MeAla son 1.940(4) Å y 1.982(5) Å, respectivamente. Las distancias Cu-N con los ligantes phen son 2.0135(15) Å y 2.0532(15) Å. Los anillos quelato de cinco y seis miembros con phen y β -aminoacidato adoptan conformaciones aproximadamente planas y de tipo bote, respectivamente.

Las estructuras moleculares de **9a'** y **9b'** son consistentes con las estructuras de una serie de complejos pentacoordinados de Cu(II) similares que contienen 1,10-fenantrolina o 2,2'-bipiridina como ligantes primarios, y acetilacetonato o glicina como ligantes secundarios.⁸⁴

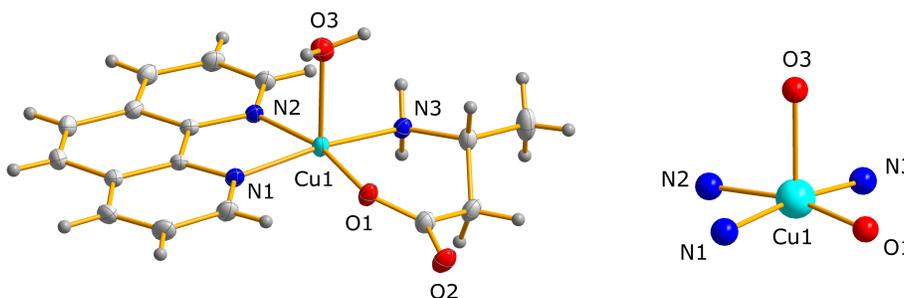


Figura 23. Estructura molecular y poliedro de coordinación del catión complejo en la estructura cristalina del compuesto **9b'**. Nota: El contraión nitrato y las moléculas de disolvente fueron omitidas para mayor claridad. Las elipsoides fueron dibujadas con un 50% de probabilidad.

Así como la estructura cristalina del compuesto **9a'**, las interacciones supramoleculares para este compuesto son dominadas por interacciones por puente de hidrógeno O/N-H \cdots O y apilamientos π - π entre los residuos del ligante phen adyacentes. En lugar de cadenas en 1D como en los dímeros para los cationes complejos del compuesto **9a'** enlazadas a través de interacciones por puente de hidrógeno entre los iones nitrato y las moléculas de agua (*vide supra*), en este caso dímeros análogos (fragmento I, **Figura 24**) se enlazan solamente a través de moléculas de agua (fragmento II, **Figura 24**). Las cadenas resultantes en 1D están interconectadas a través de interacciones por puentes de hidrógeno O_w-H \cdots O_{nitrato} y N-H \cdots O_{nitrato} (**Tabla 9**) y dentro de capas en 2D dispuestas paralelamente [0 -1 1]. En la tercera dimensión, capas 2D adyacentes se unen a través de interacciones por puente de hidrógeno adicionales O_w-H \cdots O_w and O_w-H \cdots O_{nitrato} y apilamientos π_{phen} - π_{phen} con una distancia interplanar en el intervalo de 3.36-3.40 Å [Cg1 \cdots Cg1ⁱ = 3.36 Å y Cg1 \cdots Cg1ⁱⁱ = 3.40 Å con Cg1 = N1, N2, C1-C12; operadores de simetría: (i) -x, 1-y, 1-z; (ii) 1-x, 1-y, 1-z] (**Figura 25**).

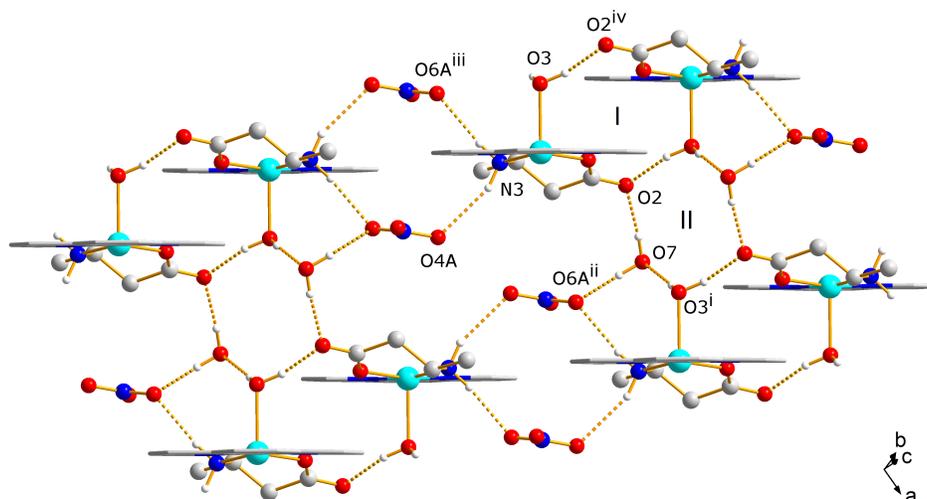


Figura 24. Fragmento de la estructura cristalina del compuesto **9b'**, donde se muestran las capas 2D formadas a través de interacciones por puente de hidrógeno O/N-H...O (líneas punteadas). Operadores de simetría: (i) $1+x, y, z$; (ii) $1-x, 1-y, -z$; (iii) $-x, 1-y, -z$; (iv) $1-x, 2-y, 1-z$. Nota: Los átomos de hidrógeno que no están involucrados en interacciones por puente de hidrógeno fueron omitidos para mayor claridad. El desorden de la estructura cristalina no es mostrado.

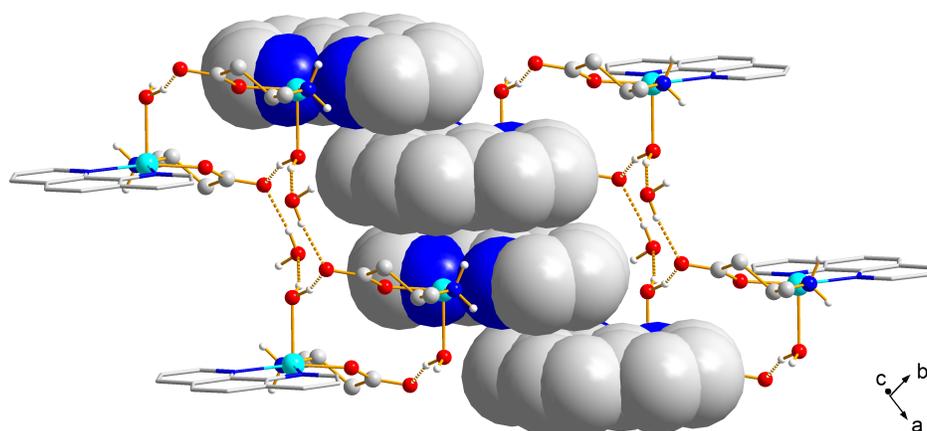


Figura 25. Fragmento de la estructura cristalina del compuesto **9b'**, donde se muestran interacciones de apilamiento π - π infinitas entre las dos capas en 2D mostradas en la **Figura 24**. Nota: Los átomos de hidrógeno que no están involucrados en interacciones por puente de hidrógeno fueron omitidos para mayor claridad.

7.4.2.3 Estructura cristalina del complejo $[\text{Cu}(\text{phen})(\beta^3\text{-CyAla})(\text{H}_2\text{O})]\text{NO}_3 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O} \cdot 0.5\text{MeOH}$ (**9c'**)

El compuesto **9c'** cristalizó en un grupo espacial monoclinico $P 2_1/n$. La unidad asimétrica consiste en un catión complejo $[\text{Cu}(\text{phen})(\beta\text{-3CyAla})(\text{H}_2\text{O})]^+$ ($\beta\text{-3CyAla}$ es el ácido 3-amino-3-ciclohexilpropanóico), un ión NO_3^- , y moléculas de disolvente desordenadas (ver parte experimental). Contrario a los complejos **9a'** y **9b'**, en este caso el centro metálico de Cu(II) está

hexacoordinado debido a la interacción complementaria con el contraión nitrato, dando lugar a un poliedro con una geometría octaédrica distorsionada (**Figura 26**). Las posiciones ecuatoriales están ocupadas por los átomos de nitrógeno N1 y N2 de phen (con distancias de enlace Cu-N 2.005(4) Å y 2.045(3) Å, respectivamente), átomos N3 y O1 del residuo β -3CyAla (con longitudes de enlace Cu-N y Cu-O de 1.982(3) Å y 1.926(3) Å, respectivamente). Las posiciones axiales están ocupadas por una molécula de agua y otra del contraión nitrato. La longitud del enlace Cu-O_w es 2.283(4) Å es mayor comparada con la longitud de enlace que exhibe el compuesto **9b**. La distancia Cu-O_{nitrato} es relativamente mayor, 2.764(4) Å, correspondiente a una interacción electrostática débil de acuerdo con Halcrow; por lo tanto, es posible esperar disociación en disolución.⁹² La distorsión de una simetría octaédrica ideal puede apreciarse a través de la desviación significativa de los ángulos de enlace N/O–Cu–N/O entre los sustituyentes en una disposición *trans* de 180°, comparada con 165.70(15)–174.04(14)°.

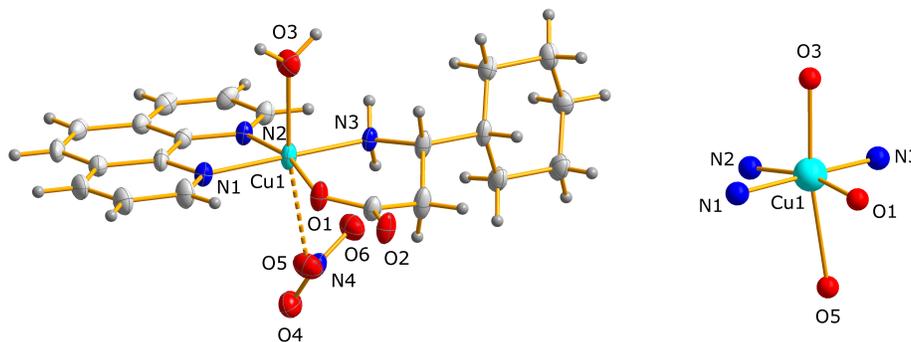


Figura 26. Estructura molecular y poliedro de coordinación del catión complejo en la estructura cristalina del compuesto **9c'**. Nota: Las moléculas de disolvente fueron omitidas para mayor claridad. Las elipsoides fueron dibujadas con un 30% de probabilidad.

En la estructura cristalina de **9c'**, al igual que para los complejos catiónicos **9a'** y **9b'** es posible observar dimeros (fragmento I, **Figura 27**), indicando que este fragmento es constante. Opuesto a **9a'** y **9b'** los dimeros están interconectados ahora por interacciones por puente de hidrógeno O_w–H···O_{nitrato} and N–H···O_{nitrato} (**Tabla 9**) formadas entre las moléculas de agua coordinadas al centro metálico y las moléculas del ión nitrato, dando lugar a cadenas 1D a lo largo de [0 1 0] (Fragmento III, **Figura 27**). Estas cadenas están interconectadas a través de interacciones de apilamiento π - π entre los residuos adyacentes del ligante phen con distancias interplanares en el intervalo de 3.28–3.29 Å [Cg1···Cg1ⁱ = 3.29 Å y Cg1···Cg1ⁱⁱ = 3.28 Å con Cg1 = N1, N2, C1–C12;

⁹² Halcrow, M.-A. Jahn-Teller distortions in transition metal compounds, and their importance in functional molecular and inorganic materials. *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, *42*, 1784–1795.

operadores de simetría: (i) $-x, 1-y, 1-z$; (ii) $1-x, 2-y, 1-z$, dando lugar a capas en 2D que se propagan paralelamente a $[0\ 0\ 1]$ (**Figura 28**). En la tercera dimensión, existen solo interacciones de van der Waals entre las cadenas 2D; sin embargo, hay canales de disolvente que se extienden a lo largo de $[0\ 1\ 0]$, los cuales están ocupados con moléculas de disolvente desordenadas (H_2O y MeOH).

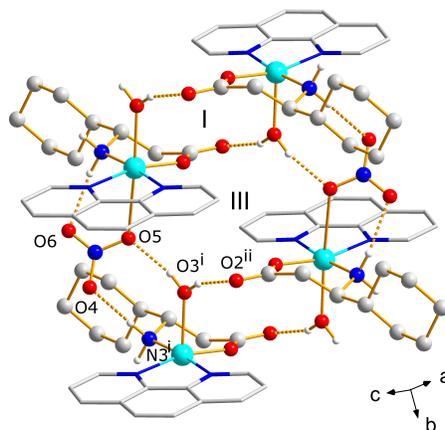


Figura 27. Fragmento de la estructura cristalina del compuesto **9c'**, donde se muestran las interacciones por puente de hidrógeno $O_W-H\cdots O$ y $N-H\cdots O_{nitrato}$ entre las moléculas de agua coordinadas al centro de coordinación y los iones nitrato.

Operadores de simetría: (i) $x, 1+y, z$; (ii) $1-x, 2-y, 1-z$. Nota: Los átomos de hidrógeno que no están involucrados en interacciones por puente de hidrógeno fueron omitidos para mayor claridad.

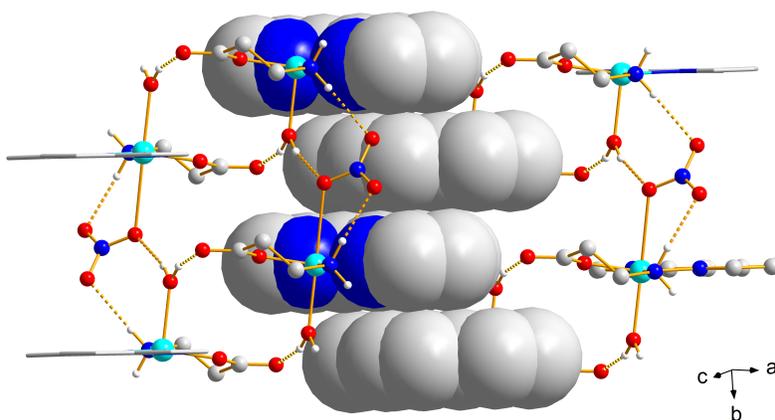


Figura 28. Fragmento de la estructura cristalina del compuesto **9c'**, donde se muestran las capas 2D formadas a través de apilamientos $\pi-\pi$ entre las cadenas 1D adyacentes mostradas en la **Figura 27**. Nota: Los grupos ciclohexilo y átomos de hidrógeno que no están involucrados en interacciones por puente de hidrógeno fueron omitidos para mayor claridad.

7.4.2.4 Estructura cristalina del complejo $[\text{Cu}(\text{phen})(\beta\text{-3PhAla})(\text{H}_2\text{O})]\text{NO}_3$ (**9d'**)

El compuesto **9d'** cristalizó en un grupo espacial monoclinico $C2/c$. La unidad asimétrica contiene un catión complejo $[\text{Cu}(\text{phen})(\beta\text{-3PhAla})(\text{H}_2\text{O})]^+$ ($\beta\text{-3PhAla}$ es el ácido 3-amino-3-fenilpropanóico), un ión NO_3^- , y una molécula de agua. Los iones $\text{Cu}(\text{II})$ exhiben una geometría piramidal de base cuadrada como en **9b'**, donde la posición apical es ocupada por una molécula de agua con una distancia de enlace $\text{Cu}-\text{O}_\text{W}$ de 2.307(2) Å (**Figura 29**). Las distancias $\text{Cu}-\text{O}_\text{AA}$ y $\text{Cu}-\text{N}$ con el $\beta\text{-3PhAla}$ son 1.929(2) Å y 1.981(3) Å, respectivamente. Las distancias $\text{Cu}-\text{N}$ con los ligantes *phen* oscilan entre 2.014(2) Å y 2.062(2) Å. Los anillos quelato de cinco y seis miembros con *phen* y β -alaninato adoptan conformaciones de sobre abierto y bote torcido, respectivamente.

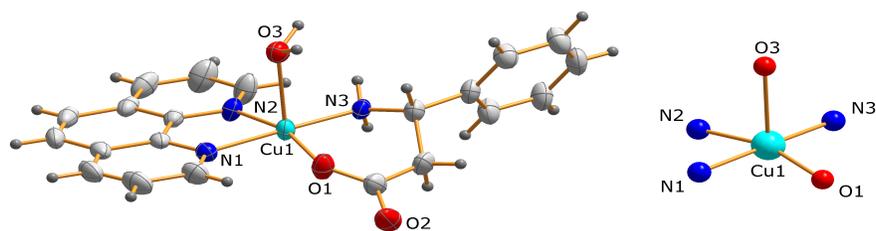


Figura 29. Estructura molecular y poliedro de coordinación del catión complejo en la estructura cristalina del compuesto **9d'**. Nota: Las moléculas de disolvente fueron omitidas para mayor claridad. Las elipsoides fueron dibujadas con un 30% de probabilidad.

En la estructura cristalina de **9d'**, las principales interacciones intermoleculares son interacciones por puente de hidrógeno $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}$ formadas entre las moléculas de agua coordinadas al centro metálico, y las moléculas del ión nitrato y de moléculas de solvatación, dando lugar a cadenas 1D. Estas cadenas están interconectadas a través de interacciones de apilamiento π - π entre los residuos del ligante *phen* adyacentes con una distancia de centroide de 6.879 Å (**Figura 30a**).

Las cadenas 1D ilustradas en la **Figura 30** están además conectadas a través de interacciones por puente de hidrógeno adicionales $\text{O}_\text{W}-\text{H}\cdots\text{O}_{\beta\text{-3PhAla}}$ y $\text{O}_\text{W}-\text{H}\cdots\text{O}_\text{W}$, y contactos $\pi_{\text{phen}}-\pi_{\text{phen}}$ con una distancia de centroide de 4.107 Å, para dar lugar a capas 2D (**Figura 30b**).

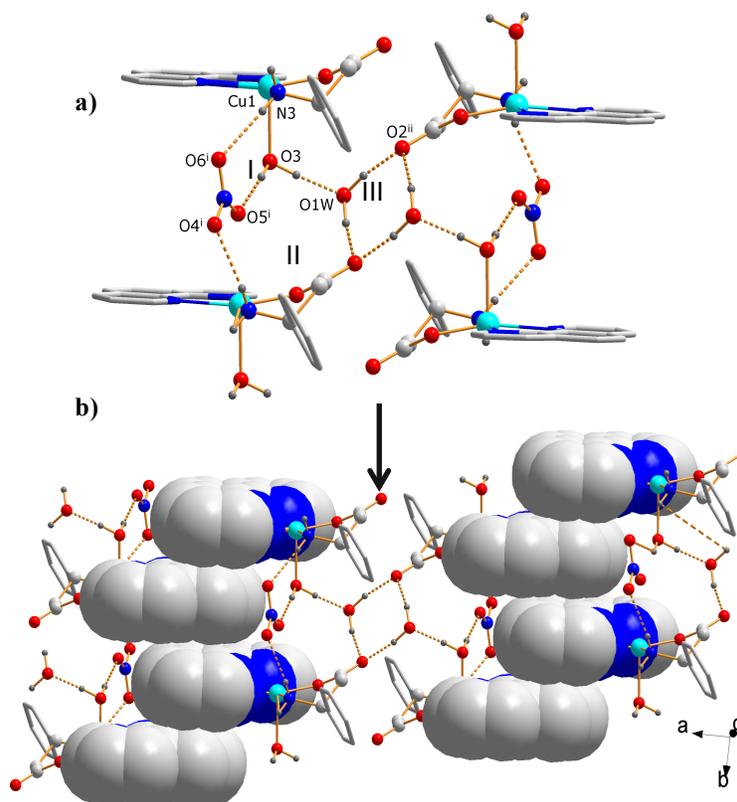


Figura 30. a) Fragmento de la estructura cristalina del compuesto **9d'**, donde a) se muestran las cadenas en 1D que se unen a través interacciones de puente de hidrógeno $O_W-H \cdots O_{\beta-3PhAla}$, $O_W-H \cdots O_{nitrato}$, $N-H \cdots O_{nitrato}$ y $O_W-H \cdots O_W$ (líneas punteadas) y b) interacciones de apilamiento-deplazado $\pi-\pi$. Operadores de simetría: (i) $x, 1-y, 0.5+z$; (ii) $0.5-x, 0.5-y, 1-z$. Nota: Los átomos de hidrógeno que no están involucrados en interacciones por puente de hidrógeno fueron omitidos para mayor claridad.

7.4.2.5 Análisis por difracción de rayos-X de polvos (PXD) de los compuestos **9a**, **9b** y **9c**

Entre otras, el análisis por difracción de rayos-X de polvos es útil para monitorear la estabilidad y el posible polimorfismo de una especie en estado sólido cristalino. Particularmente, era de nuestro interés conocer la estabilidad de los complejos de Cu(II) una vez que eran removidos de las aguas madres y pasaban de un estado cristalino a un estado sólido fino. Para ello se compararon el difractograma teórico, el difractograma del cristal recién removido de las aguas madres y el difractograma del polvo finamente molido (mismo que posteriormente se usó para realizar los ensayos biológicos).

Toda vez que el difractograma teórico se calculó a partir de la estructura refinada de rayos-X de monocristal, este corresponde a un patrón de difracción que consiste en una serie de picos bien

definidos, estrechos, agudos y significativos. Como es posible notar en la **Figura 31**, desde el primer instante en que el cristal dejó las aguas madres su estructura cristalina se modificó, es decir, cambió de fase. Lo anterior es posible afirmarlo ya que los patrones de difracción calculado y el correspondiente al cristal son completamente diferentes (comparar difractogramas en negro y rojo). Esto puede deberse a que la colección de datos de rayos-X de monocristal se llevaron a cabo a bajas temperaturas (100 K), mientras que los estudios de rayos-X de polvos alrededor de 318.15 K. Es importante resaltar que aún cuando ocurrió un cambio de fase, no se perdió la cristalinidad pues la nitidez de los picos se conserva y no se observan bandas o ruido. También, fue posible corroborar que se conservan ciertos picos del difractograma calculado en el experimental (se podrían apreciar ligeramente desplazados debido a la diferencia de temperaturas de colección), lo que podría significar que se tiene una mezcla de especies cristalinas. Al comparar los difractogramas de la fase cristalina y el difractograma del polvo, es posible notar que nuevamente se tratan de fases diferentes, lo cual sugiere que la estructura cristalina colapsa con el paso del tiempo y la temperatura (comparar difractogramas en rojo y azul). Sin embargo, la cristalinidad en el polvo es igualmente alta. Además, algunas señales de la fase pulverulenta aparecen también en la fase cristalina.

Se sugirió que estos cambios pueden deberse a la pérdida parcial o total de las moléculas de disolvente presentes en la estructura cristalina original.

Este mismo comportamiento en términos de la estabilidad de la estructura cristalina se observó en los complejos **9b** y **9c**.

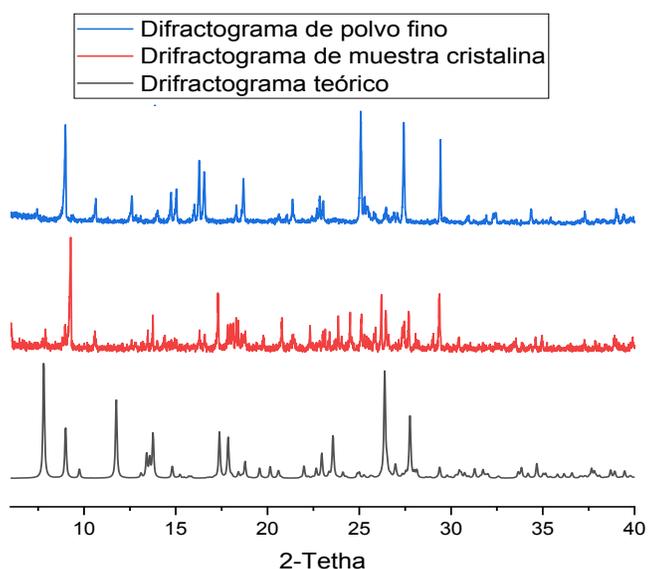


Figura 31. Serie de difractogramas para el compuesto **9a**.

7.4.3 Análisis termogravimétrico

El comportamiento térmico del complejo **9a** fue previamente discutido en términos de análisis PXRD y ahora se complementará mediante análisis TGA-DSC. La estabilidad del compuesto **9a** fue estudiada a fin de conocer su posible aplicación como agente terapéutico; se ha considerado que la presencia de MeOH como molécula de solvatación y coordinación puede incrementar la toxicidad del compuesto. El estudio TGA-DSC se realizó en un intervalo de temperaturas que fueron desde la t.a. hasta 600 °C y sus curvas son representadas en la **Figura 32**.

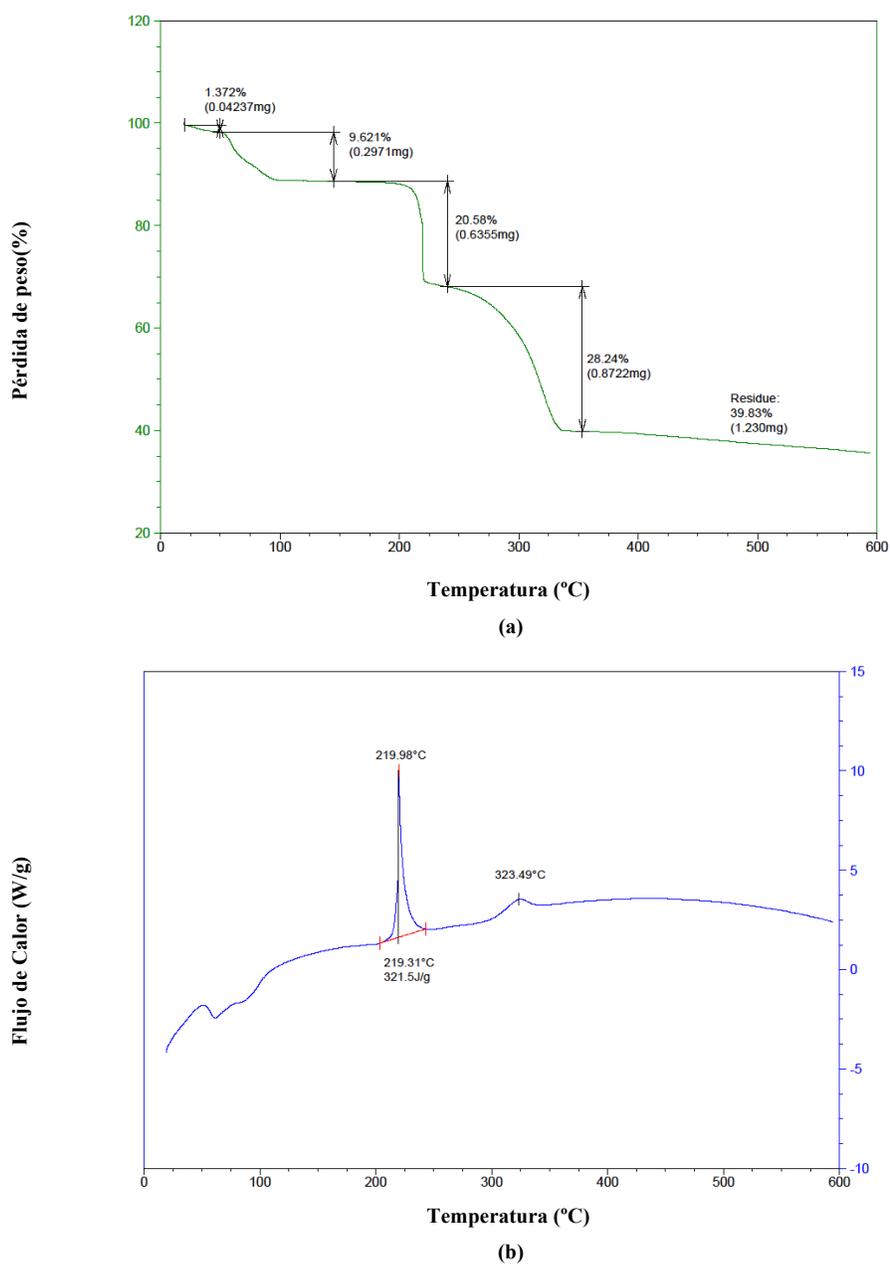
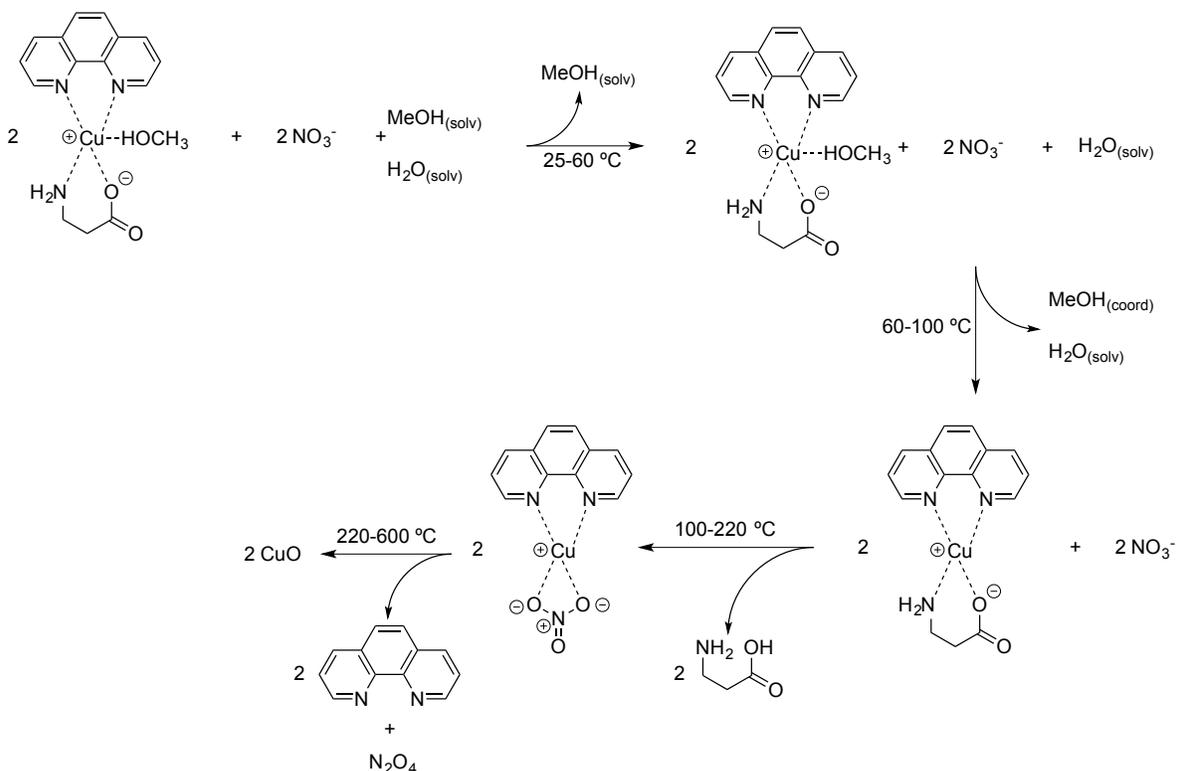


Figura 32. Análisis (a) TGA y (b) DSC del compuesto **9a**.

Como puede apreciarse, la descomposición térmica del complejo $[\text{Cu}(\text{phen})(\beta\text{-Ala})(\text{MeOH})]_2(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{MeOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ tiene lugar en cuatro etapas. En la primera etapa, se considera que la pérdida del 1.372% de masa corresponde a la molécula de MeOH que forma parte de la esfera de solvatación, o bien tratarse de solvente adherido a la superficie del cristal, cuya pérdida es consistente en el intervalo de temperaturas que se registró (25-60 °C) (**Tabla 11**). Es importante resaltar que inmediatamente que la muestra se ha retirado de las aguas madres, esta inicia un proceso de descomposición térmica, lo cual es consistente con el análisis PXRD. La pérdida de la de la molécula de agua de la esfera de solvatación y la molécula de MeOH coordinada al centro metálico de Cu(II) ocurrieron en la segunda etapa (60-100 °C). En el intervalo de temperatura de 100-220 °C se sugiere que ocurre un proceso drástico de descomposición del compuesto **9a**, dando un cambio en la composición de la esfera de coordinación y la pérdida de β -alaninato. El cambio en la esfera de coordinación corresponde al intercambio del ligante β -ala por el contraión nitrato. Esta descomposición se evidencia no solo en el porcentaje de material perdido, sino también por el proceso endotérmico registrado en el análisis DSC a 219.98 °C. Finalmente, el material remanente (68.07%) corresponde a un intermediario de fórmula $2[\text{Cu}(\text{phen})](\text{NO}_3)$, que sugerimos se descompondrá paulatinamente en 2 phen, N_2O_4 y como residuo 2 CuO.. Todo lo descrito anteriormente puede apreciarse de una manera más detallada en el **Esquema 18**.



Esquema 18. Proceso de descomposición térmica para el compuesto **9a**.

Tabla 11. Datos del análisis termogravimétrico del compuesto **9a**.

Complejo	Etapa	Intervalo de temperatura/°C	% de peso perdido obs. (calc)	Probable composición del grupo expulsado
[Cu(phen)(β -Ala)(MeOH)] ₂ (NO ₃) ₂ ·MeOH·H ₂ O	1	25-60	1.37% (3.55%)	MeOH _(solv) o moléculas de disolvente adheridas a la superficie del cristal.
	2	60-100	9.62% (9.10%)	H ₂ O _(solv) + MeOH _(coord.)
	3	100-220	20.58% (19.75%)	β -Alaninato
	4	220-600	68.07% (67.80%)	2 phen + N ₂ O ₄ + CuO(residuo)

Patrones de descomposición térmica similares se observan para los complejos **9b**, **9c** y **9d**.

7.4.4 Caracterización electrónica. Espectroscopia de EPR y UV-Vis, y mediciones de momento magnético efectivo

Los espectros de UV-Vis para los complejos **9a-9d** revelan la presencia de una única banda de absorción en aproximadamente 635 nm. Con base en la literatura,^{93,94} las absorciones observadas en esta región corresponden a transiciones electrónicas $d_z^2 \rightarrow d_{x^2-y^2}$ y $d_{xy} \rightarrow d_{x^2-y^2}$, las cuales son responsables del color azul típico de complejos de Cu(II) con geometrías tipo pirámide de base cuadrada distorsionadas. Conforme a la Teoría del Campo Cristalino, el orden energético para el sistema de orbitales d en complejos de Cu(II) que poseen un grupo puntual de simetría C_{4v} es $d_{x^2-y^2} > d_z^2 > d_{xy} > d_{xz}, d_{yz}$. Las mediciones de EPR se realizaron en soluciones de metanol (T=77 K) y muestras microcristalinas que se aislaron durante su preparación. Los espectros son similares en todos los casos, mostrando dos picos anchos consistentes con las dos transiciones esperadas de los

⁹³ Vyas, K. M.; Jadeja, R. N.; Patel, D.; Devkar, R. V.; Gupta, V. K. A new pyrazolone based ternary Cu(II) complex: Synthesis, characterization, crystal structure, DNA binding, protein binding and anti-cancer activity towards A549 human lung carcinoma cells with a minimum cytotoxicity to non-cancerous cells. *Polyhedron*. **2013**, *65*, 262–274.

⁹⁴ Allali, M.; Ichou, Y.; Allali, N.; Zarrouk, A.; Habbadi, N. Synthesis and full characterization of new symmetric bis-triazol ligand and complexes with divalent Nickel, Copper and Zinc. *J. Mater. Environ. Sci.*, **2016**, *7*, 2042–2050.

resultados provenientes de UV-Vis. La banda de baja energía corresponde a la transición $d_z^2 \rightarrow d_{x^2-y^2}$, mientras que la banda de alta energía a una transición $d_{xy} \rightarrow d_{x^2-y^2}$ (**Figura 33**).⁹⁵

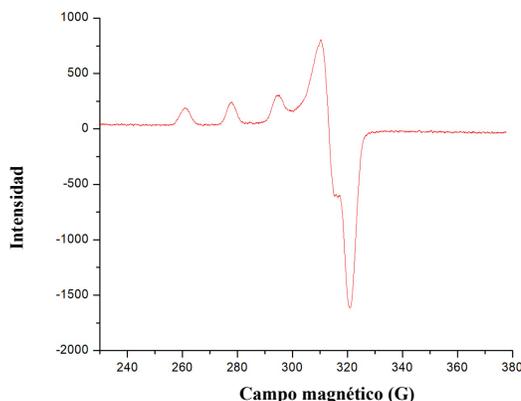


Figura 33. Espectro de EPR del compuesto **9a** en una solución metanólica 2 mM (T=77 K)

Los valores de spin Hamiltoniano extraídos del espectro de EPR de los compuestos **9a-9d** en solución de metanol a 77 K se resumen en la **Tabla 12**, demostrando que $g_{\parallel} > g_{\perp}$. Esto implica que los complejos poseen una simetría axial en el estado basal $d_{x^2-y^2}$. Los valores de los parámetros A_{iso} y g_{iso} en el intervalo $66-69 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ y 2.09-2.13, respectivamente, corresponden a complejos con geometrías piramidal de base cuadrada en su estado basal $d_{x^2-y^2}$.^{84c} Un valor de 2.3 o mayor para el parámetro g_{\parallel} se observa cuando la coordinación metal-ligante corresponde principalmente a un enlace con carácter iónico; mientras que, valores menores a 2.3 indican un ambiente mayormente covalente en torno al centro metálico de Cu(II), lo cual se encontró en nuestro caso.^{84c}

Finalmente, los momentos magnéticos efectivos adquiridos para las muestras finamente pulverizadas de los compuestos **9a-9c** empleando la balanza de susceptibilidad magnética, están en el intervalo de $\mu_{\text{eff}}=1.56-1.77 \text{ BM}$, muy cercanos al valor teórico esperado, $\mu_{\text{eff}}=1.73 \text{ BM}$, lo cual confirma la presencia de un complejo mononuclear de Cu(II) con un electrón desapareado (configuración d^9).

⁹⁵ Onawumi, O. O. E.; Faboya, O. O. P.; Odunola, O. A.; Prasad, T. K. Synthesis, structure and spectral studies on mixed ligand copper (II) complexes of diimines and acetylacetonate. *Polyhedron*, **2008**, *27*, 113–117.

Tabla 12. Caracterización estructural de las Casiopeínas® **9a-9d**.

Compuesto	UV-Vis abs ^a	Parámetros EPR ^b						$\mu_{\text{eff}}^{\text{d}}$ (BM)
	λ_{max} (nm) ϵ (M ⁻¹ cm ⁻¹)	g_{H}	g_{L}	g_{iso}	A_{H}^{c} (G)	A_{L}^{c} (G)	$A_{\text{iso}}^{\text{c}}$ (G)	
9a	634 48	2.252	2.059	2.123	183.3	7.5	66.1	1.67
9b	633 61	2.251	2.059	2.122	183.2	9.5	67.4	1.77
9c	636 58	2.256	2.060	2.125	183.5	9.0	67.2	1.56
9d	---	2.254	2.058	2.131	183.4			---

^a Absorciones en UV-Vis en soluciones de MeOH 2.5×10⁻⁵ M. ^b Parámetros experimentales de EPR en soluciones metanólicas 2 mM a 77 K. ^c Las constantes de acoplamiento hiperfinas están expresadas en unidades 1×10⁻⁴. ^d Momentos magnéticos efectivos.

7.4.5 Mediciones conductimétricas y de voltametría cíclica

El análisis elemental, las bandas de absorción cercanas alrededor de 1380 cm⁻¹ lo mismo que el análisis SCXRD establecen la presencia del ión nitrato como contraión en los complejos mixtos de Cu(II) aquí examinados. Mediciones conductimétricas de los compuestos **9a-9d** en soluciones de agua dieron valores en el intervalo de 126-138 μS como se espera para un electrolito de proporción 1:1 (**Tabla 13**).

Para la determinación experimental de los valores de potencial de media onda ($E_{1/2}$), se realizó la semisuma de los picos anódicos y catódicos de la correspondiente curva voltamperométrica. La reversibilidad de las reacciones redox y los valores de $E_{1/2}$ en Casiopeínas® son primordialmente influenciados por el patrón de sustitución en el ligante primario (phen o bpy).⁴⁹ Por lo contrario, los valores de $E_{1/2}$ son menos afectados por cambios en el ligante secundario (*N-O* o *O-O*).⁴⁹ Dado que en este trabajo el ligante primario se mantuvo constante y solo el ligante secundario es el que cambia (particularmente el patrón de sustitución en el carbono de la posición beta al grupo carbonilo), pequeñas variaciones en los valores de $E_{1/2}$ se esperaban. Esta hipótesis fue corroborada por los datos experimentales obtenidos para los compuestos **9a-9d** con un intervalo de diferencias de 10 mV que están igualmente en el intervalo de lo que se esperaba (**Tabla 13**).⁴⁹

Tabla 13. Datos conductimétricos, de potencial de media onda ($E_{1/2}$) y concentración inhibitoria media (IC_{50}) de los compuestos **9a-9d**.

Compuestos	Cond. (μS)	$E_{1/2}$ (mV)	IC_{50} (μM)			
			MCF7	A549	HEK293	HaCAT
9a	137.95	-242	26.23 \pm 1.7	36.85 \pm 2.6	10.01 \pm 1.0	10.65 \pm 0.0
9b	126.15	-251	12.89 \pm 4.3	25.17 \pm 5.9	11.26 \pm 1.0	10.3 \pm 1.2
9c	130.55	-240	27.85 \pm 7.5	25.02 \pm 2.6	15.83 \pm 1.3	25.06 \pm 1.5
9d	124.20	-247	---	---	---	---
CasIIGly	---	-310	7.66 \pm 1.6	8.86 \pm 4.6	5.34 \pm 0.5	2.79 \pm 1.3
Cisplatino	---	---	14.1 \pm 1.2 ⁹⁶	22.8 \pm 1.2 ⁹⁶	>50 ⁹⁶	---

7.5 Medición del efecto en la inhibición del crecimiento (IC_{50}) de los compuestos **9a-9c**

Las mediciones del crecimiento celular para los compuestos **9a-9c** en las líneas tumorales MCF-7 y A549, y en células normales HEK293 y HaCAT, determinadas como valores IC_{50} se reportan en la **Tabla 12**. Como se observa, los tres compuestos sintetizados mostraron inhibición del crecimiento en el intervalo de 36.85-12.89 μM sobre las cuatro líneas celulares probadas. Estos resultados son comparables con los previamente reportados (para la línea celular MCF7, por ejemplo, se reporta un intervalo de actividades de 103.7 μM -2.2 μM para un conjunto de 21 complejos mixtos de Cu(II)).⁴⁹ Como se muestra, la mejor actividad antiproliferativa es la exhibida por el compuesto **9b** en la línea tumoral MCF-7 (IC_{50} =12.89 μM), y esta actividad es comparable a las obtenidas para las líneas celulares no carcinogénicas. La actividad reducida de nuestros compuestos respecto de nuestro modelo de prueba (CasIIGly) bien podría razonarse debido a la menor estabilidad que exhiben los complejos cíclicos de seis miembros en comparación con los de cinco miembros. Los valores de IC_{50} para los ensayos *in vitro* con las líneas celulares normales HEK293 y HaCAT comparados con aquellos obtenidos para las líneas celulares MCF-7 y A549, indican una baja selectividad de los compuestos **9a-9c** hacia las líneas tumorales, pero considerando que las dosis están en un intervalo cercano, se podría considerar su posible aplicación en otros modelos para el cáncer. En todos los casos, los compuestos **9a-9c** tienen valores de IC_{50} mayores al compuesto control (CasIIGly), lo cual demuestra que este tampoco es altamente selectivo hacia las

⁹⁶ Karmakar, S.; Purkait, K.; Chatterjee, S.; Mukherjee, A. Anticancer activity of cis-dichloridoplatinum(II) complex of a chelating nitrogen mustard: insight into unusual guanine binding mode and low deactivation by glutathione. *Dalton Trans.* **2016**, *45*, 3599–3615.

líneas tumorales estudiadas, observando incluso valores menores IC_{50} para las células HEK293 y HaCAT que para las el caso de MCF-7 y A549. Es importante señalar que la relación previamente comentada entre los valores $E_{1/2}$ y IC_{50} fue observada en este trabajo, donde las Casiopeínas® con los valores más negativos de $E_{1/2}$ son aquellas que exhiben mejores actividades biológicas.^{49,97} Sin embargo, las Casiopeínas® reportadas en este trabajo muestran valores de $E_{1/2}$ más positivos que los valores reportados para otras Casiopeínas® que contienen phen, así podemos justificar que la actividad biológica observada sea ligeramente menor a las Casiopeínas® más activas.

⁹⁷ Tabbi, G.; Giuffrida, A.; Bonomo, R. P.; Determination of formal redox potentials in aqueous solution of copper(II) complexes with ligands having nitrogen and oxygen donor atoms and comparison with their EPR and UV-Vis spectral features. *J. Inor. Biochem.*, **2013**, *128*, 137–145.

CONCLUSIONES

Se mostró una estrategia de síntesis corta para la preparación en forma racémica del β^2 -amino ácido derivado de la indometacina. Los rendimientos reportados para el producto final e intermediarios van de buenos a excelentes (58% a cuantitativos). El diseño consistió en la preparación de β^2 -amino ésteres bencílicos *via* aminometilación y su posterior hidrogenólisis. El rendimiento del éster bencílico derivado de la indometacina (**2a**) se mejoró ligeramente empleando una estrategia de síntesis en la que se incluía el uso de un agente de intercambio de fase. Se demostró que los mejores rendimientos para la aminometilación fueron el uso de bases fuertes, a bajas temperaturas, tolueno como disolvente, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ como ácido de Lewis y la preparación previa de la sal de *N*-aciliminio; lo anterior, principalmente se debe a la necesidad de formar el enolato y hacerlo en un disolvente no coordinante que inactive al ácido de Lewis. También, se pudo demostrar que esta estrategia puede ser extendida a ésteres metílicos. Se lograron sintetizar un total de cuatro β^2 -amino ésteres (**5a-5d**), en rendimientos de bajos a moderados. Cabe resaltar que los rendimientos para los derivados bencílicos fueron siempre mejores y nos condujeron de una manera más directa a la síntesis del β^2 -amino ácido **7**. Para las hidrogenólisis, en los derivados *N*-Cbz protegidos se necesitaron condiciones suaves de reacción: 15 psi de presión de hidrógeno, metanol como disolvente, temperatura ambiente y Pd/C como catalizador (0.1 eq.), con rendimientos excelentes. Sin embargo, para los derivados *N,N*-dibencil protegidos, fueron necesarias condiciones de reacción más severas para su hidrogenólisis: presión elevada, metanol como disolvente y $\text{Pd}(\text{OH})_2$ como catalizador, con rendimientos moderados. La ventaja de los derivados *N,N*-protegidos es la posibilidad de incluir estrategias de síntesis diastereoselectivas, mismas que sucintamente se exploraron, demostrándose la complicada separación de los β^2 -amino ésteres bencílicos *N,N*-dibencil protegidos diastereoisoméricos debido a que poseen R_f 's similares frente a una variedad amplia de mezclas de disolventes.

Adicionalmente, cuatro complejos mixtos de Cu(II) de una serie de compuestos registrados como Casiopeínas® fueron sintetizados en rendimientos de moderados a buenos. Los complejos de Cu(II) contienen 1,10-fenantrolina y residuos de β -amino ácidos dando lugar a complejos catiónicos mononucleares con nitrato (NO_3^-) como contraión. Los compuestos **9a-9d** fueron caracterizados usando diferentes técnicas físicas, fisicoquímicas y espectroscópicas. El color azul típico de los compuestos es debido a absorciones en el UV-Vis en el intervalo de 635 nm, lo cual corresponde a transiciones $d_z^2 \rightarrow d_{x^2-y^2}$ y $d_{xy} \rightarrow d_{x^2-y^2}$. En solución, todos los complejos se comportan como electrolitos 1:1 y exhiben una geometría de coordinación piramidal de base cuadrada, como se establece en el análisis de EPR. En estado sólido, los análisis por difracción de rayos-X de monocristal revelaron ambientes pentacoordinados para los compuestos **9a**, **9b** y **9d**, debido a una

coordinación con la molécula de disolvente al centro metálico (MeOH para el compuesto **9a**, H₂O para los compuestos **9b** y **9d**). Sin embargo, contrario a la geometría observada en solución, para el compuesto **9c** se encontró una geometría hexacoordinada debido a una coordinación monodentada con el ión NO₃⁻. Ensayos biológicos demostraron una actividad inhibitoria de los complejos **9a-9c** similar a los compuestos similares previamente reportados frente a líneas tumorales MCF-7 y A549, siendo el compuesto **9b** aquel que ofrece la mejor actividad. Lamentablemente, todos los compuestos muestran una baja selectividad lo que significa una baja discriminación entre células sanas/normales y cancerígenas. Similar a trabajos previamente reportados, fue posible apreciar una correlación de la capacidad inhibitoria de los compuestos con su potencial de media onda ($E_{1/2}$).

**DETERMINACIÓN TEÓRICA DE
POTENCIALES DE MEDIA ONDA
($E_{1/2}$) PARA CASIOPEÍNAS CON
DIFERENTES PATRONES DE
SUSTITUCIÓN**

INTRODUCCIÓN

Siempre que un método teórico excluya el uso de parámetros experimentales y haga uso únicamente de consideraciones teóricas, se le denominará método *ab initio*. Ejemplo de ello son los métodos *HF* (*Hartree-Fock*), *MP* (Möller-Pleset), *CI* (Interacción de las configuraciones) y *CC* (Cúmulos acoplados), etc. Los métodos semiempíricos, ofrecen un menor costo computacional tras introducir algunas simplificaciones: Considerar únicamente a los electrones de valencia, usar únicamente conjuntos de base mínima lo mismo que realizar ciertas aproximaciones para simplificar el número de integrales de traslape y de repulsión interelectrónica por resolver, además de introducir ciertos parámetros obtenidos de mediciones experimentales. Se puede mencionar a los métodos *MNDO*, *PM3*, *AMI* como ejemplos de métodos semiempíricos. Los métodos *ab initio* y semiempíricos, ambos se derivan de los formalismos de la mecánica cuántica.

Una alternativa a los métodos *ab initio* convencionales en el tratamiento de los efectos de correlación electrónica para la solución de la ecuación de Schrödinger electrónica, son los métodos DFT (Teoría de los Funcionales de la Densidad), cuya base fundacional consiste en sustituir la función de onda por la densidad electrónica.

Actualmente, los métodos DFT han ganado terreno en el campo de la química computacional por ofrecer un gasto de ordenador menor con resultados equiparables a los obtenidos por métodos más sofisticados y costosos como CCSD, MP2, etc.

Los Funcionales que han mostrado un mayor grado de precisión para cálculos de potenciales de media onda ($E_{1/2}$) en complejos metálicos son PBE y BP86,⁹⁸ habiendo reportes que aproximan los resultados teóricos con los experimentales, aún mejor que el funcional de mayor uso por la comunidad científica, B3LYP.

⁹⁸ Roy, L. E.; Jakubikoba, E.; Guthrie, G.; Batista, E. R. Calculation of One-Electron Redox Potentials Revisited. Is it Possible to Calculate Accurate Potentials with Density Functional Theory? *J. Phys. Chem. A.*, **2009**, *113*, 6745–6750.

ANTECEDENTES

10.1 Ecuación de Schrödinger (independiente del tiempo y no relativista)

En las últimas décadas se ha observado un avance tremendo en el empleo de la química computacional en varios aspectos de la química. De manera simple, se puede decir que la química computacional es la aplicación de los métodos numéricos a la química teórica. Por su parte, la química teórica, históricamente empezó con el trabajo de L. Pauling, que está basado en la mecánica cuántica. La piedra angular de la mecánica cuántica es la función de onda ψ que se obtiene a través de la ecuación de Schrödinger (EdS):

$$\hat{H}\psi = E\psi \quad \text{Ec. 1}$$

donde \hat{H} es el hamiltoniano, E es la energía del sistema descrito por ψ , que es función de las coordenadas \mathbf{r} , los espines σ de los electrones y de los núcleos en el tiempo t .

El operador hamiltoniano, grosso modo describe las aportaciones cinética (\hat{T}) y potencial (\hat{V}) a la energía total del sistema; la energía potencial proviene de una expresión clásica donde se pone de manifiesto las interacciones atractivas y repulsivas de las partículas cargadas (núcleos y electrones) del sistema. El hamiltoniano no relativista e independiente del tiempo de un sistema molecular puede expresarse como sigue:

$$\hat{H} = -\frac{\hbar^2}{2} \sum_{\alpha} \frac{1}{m_{\alpha}} \nabla_{\alpha}^2 - \frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_i \nabla_i^2 + \sum_{\alpha} \sum_{\beta > \alpha} \frac{Z_{\alpha} Z_{\beta} e^2}{r_{\alpha\beta}} - \sum_{\alpha} \sum_i \frac{Z_{\alpha} e^2}{r_{i\alpha}} + \sum_i \sum_{j > i} \frac{e^2}{r_{ij}} \quad \text{Ec. 2}$$

donde $\nabla^2 = \left(\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + \frac{\partial^2}{\partial z^2} \right)$, $\hbar = \frac{h}{2\pi}$, h es la constante de Planck, los índices α y β se refieren a los núcleos, mientras que i y j a los electrones, m_{α} y m_e las masas del núcleo α y del electrón respectivamente, Z es el número atómico de los núcleos y e la carga del electrón; $r_{\alpha\beta}$ y r_{ij} es la distancia entre los núcleos y los electrones, respectivamente, $r_{i\alpha}$ la distancia entre el núcleo α y el electrón i .⁹⁹ Los dos primeros términos de la ecuación se refieren a los operadores de energía cinética de los núcleos y electrones, respectivamente; el tercero y último, operadores de energía potencial de repulsión de núcleos y electrones, respectivamente; finalmente el cuarto término, el operador de energía potencial de atracción entre núcleos y electrones.

La EdS tiene solución exacta solo para pocos sistemas muy simples; para sistemas más complejos se tiene que recurrir a ciertas aproximaciones.

⁹⁹ Cuevas, G.; Cortés, F.; *INTRODUCCIÓN A LA QUÍMICA COMPUTACIONAL*; Fondo de Cultura Económica, México, 2003.

Una de las primeras aproximaciones encaminadas a la solución de la EdS es la aproximación de Born-Oppenheimer, la cual asume que, dado que el peso de los núcleos es mucho mayor respecto de los electrones, entonces la velocidad con la que se mueven estos últimos es mucho mayor que la de los núcleos y por tanto se puede considerar que los núcleos se encuentran fijos en el espacio mientras que los electrones llevan a cabo su movimiento.

$$\psi(\mathbf{r}, \mathbf{R}) = \psi(\mathbf{r}; \mathbf{R}). \quad \text{Ec. 3}$$

Como consecuencia, la energía cinética nuclear del hamiltoniano es cero y la repulsión nuclear es una constante para una configuración molecular dada.

$$(H_{el} + V_{NN})\psi_{el} = E\psi_{el} \quad \text{Ec. 4}$$

donde el hamiltoniano electrónico H_{el} tiene la forma:

$$H_{el} = -\frac{\hbar^2}{2} \sum_i \nabla_i^2 - \sum_\alpha \sum_i \frac{Z_\alpha e^2}{r_{i\alpha}} + \sum_i \sum_{j>i} \frac{e^2}{r_{ij}} \quad \text{Ec. 5}$$

y el término para la energía de repulsión nuclear V_{NN} es constante para la condición donde $r_{\alpha\beta}$ es invariable:

$$V_{NN} = \sum_\alpha \sum_{\beta>\alpha} \frac{Z_\alpha Z_\beta e^2}{r_{\alpha\beta}} \quad \text{Ec. 6}$$

10.2 Una revisión breve del Método de Hartree-Fock

Como las variables a resolver en la EdS son las coordenadas electrónicas y para una configuración nuclear dada la cantidad V_{NN} es independiente de esas coordenadas, entonces este último término se puede omitir de la **Ec. 3**, resultando la expresión siguiente:

$$H_{el}\psi_{el} = E_{el}\psi_{el} \quad \text{Ec. 7}$$

donde E_{el} es la energía puramente electrónica. Si se considera además un sistema de electrones no interactuantes, entonces se puede representar a la función de onda $\psi_{el}(\mathbf{r}; \mathbf{R})$ que contiene $4N$ coordenadas ($\mathbf{r} = x, y, z, \sigma$ para cada electrón) como un producto de funciones $\phi(\mathbf{r})$ que describan de forma particular a cada uno de los electrones que conforman al sistema (**Ec. 8**). Lo anterior se denomina el *producto de Hartree*:

$$\psi_{el}(r_1, r_2, \dots, r_n) = \phi_1(r) \phi_2(r) \dots \phi_n(r) \quad \text{Ec. 8}$$

Además la función de onda debe de ser antisimétrica, es decir, cambia de signo cuando se intercambian las coordenadas de dos electrones cualesquiera:

$$\psi(r_1 r_2 \dots r_i r_j \dots r_n) = -\psi(r_1 r_2 \dots r_j r_i \dots r_n) \quad \text{Ec. 9}$$

El determinante de Slater satisface la antisimetría de la función de onda:

$$\psi(r_1 r_2 \dots r_n) = \begin{vmatrix} \phi_1(r_1) & \phi_2(r_1) & \dots & \phi_n(r_1) \\ \phi_1(r_2) & \phi_2(r_2) & \dots & \phi_n(r_2) \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ \phi_1(r_n) & \phi_2(r_n) & \dots & \phi_n(r_n) \end{vmatrix} \quad \text{Ec. 10}$$

Cuando se aplica el hamiltoniano al determinante de Slater, se puede encontrar la función de onda que minimice la energía a través de el método de los multiplicadores de Lagrange y tendremos el método de Hartree-Fock:

$$F(1)\psi(1) = E\psi(1) \quad \text{Ec. 11}$$

donde F es el operador de Fock, el cual supone que todos los electrones mantienen una interacción promedio con todos los electrones del sistema.

$$F(1)\phi_i(1) = \varepsilon_i \phi_i(1) \quad \text{Ec. 12}$$

donde ε_i es la energía del orbital y el operador de Fock ($F(1)$), tiene la forma:

$$F(1) = h(1) + \sum_{j=1}^{N/2} [2J_j(1) - K_j(1)] \quad \text{Ec. 13}$$

El primero de los términos $h(1)$ representa la suma de la energía cinética para un electrón, más la energía potencial de la atracción entre el electrón y los núcleos. Los términos restantes son el operador coulombico J_j y el operador de intercambio K_j . La integral de coulomb representa la interacción clásica de repulsión electrónica.¹⁰⁰

$$J_{ij} = \langle ij | ij \rangle = \iint \phi_i^2(r_1) \frac{1}{r_{12}} \phi_j^2(r_2) dr_1 dr_2 \quad \text{Ec. 14}$$

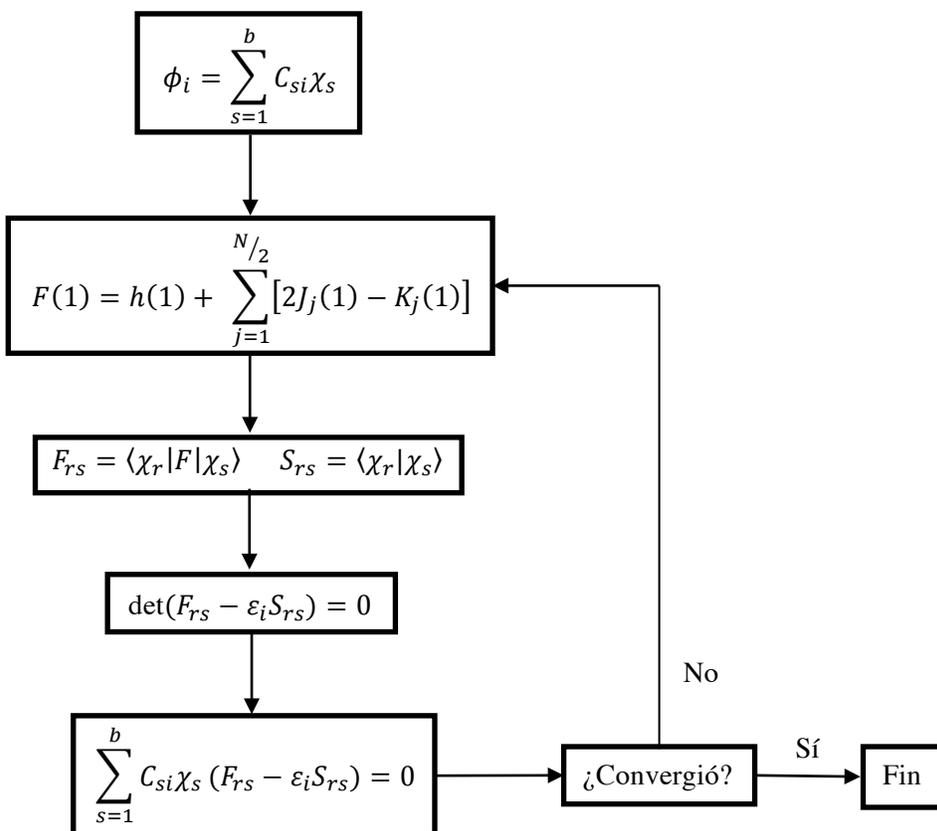
donde r_{12} es la distancia entre electrón 1 colocado en r_1 y electrón 2 en r_2 .

¹⁰⁰ Szabo, A. and Ostlund, N. S. MODERN QUANTUM CHEMISTRY. Introduction to Advanced Electronic Structure Theory. DOVER PUBLICATIONS, INC. Mineola, New York, 1996.

La integral de intercambio no tiene una interpretación clásica, pero se origina del requerimiento de que la función de onda debe ser antisimétrica con respecto al intercambio de electrones:

$$K_{ij} = \langle ij|ji \rangle = \iint \phi_i(r_1)\phi_j(r_1)\frac{1}{r_{12}}\phi_j(r_2)\phi_i(r_2)dr_1dr_2 \quad \text{Ec. 15}$$

Como puede notarse en la **Ec. 12**, se obtienen los orbitales ϕ_i desde la diagonalización de la matriz de Fock. Sin embargo, se necesitan los mismos orbitales para construir la matriz. Como consecuencia, las ecuaciones de HF deben ser resueltas por procesos iterativos según el **Esquema 19**. Este procedimiento es conocido con el nombre de “*método de campo autoconsistente*” o “*autocoherente*” (*SCF*, por sus siglas en inglés) y tiene por objeto obtener un valor para las incógnitas C_{si} , que no cambie después de dos interacciones más allá de un cierto límite establecido, denominado parámetro de convergencia.



Esquema 19. Diagrama de Flujo de un cálculo *SCF*.

10.3 Comentarios breves de los Métodos PosHartree-Fock (PosHF)

El método de HF supone que cada electrón se mueve en un campo eléctrico promedio creado por el resto de los electrones del sistema. Esto es, obviamente, una aproximación, ya que el movimiento de los electrones depende de la posición instantánea de los otros electrones, es decir, su movimiento está correlacionado. El efecto es conocido como correlación electrónica y se puede clasificar en 2 categorías:

- a) Correlación radial- en la que los electrones poseen distancias distintas respecto al núcleo, por ello se considera que poseen funciones del mismo tipo pero con diferente exponente.
- b) Correlación angular- dos electrones que se ubican en lados opuestos del núcleo, es decir pertenece a una función del mismo tipo e igual exponente, pero con momento angular diferente.

La energía de correlación E_{corr} se define como la diferencia entre la energía exacta E_{excata} no relativista y la energía límite HF E_{HF} :

$$E_{corr} = E_{excata} - E_{HF} \quad \text{Ec. 16}$$

Existen diferentes métodos para la recuperación de la energía de correlación a partir del método de HF. De forma general, la incorporación del efecto de la correlación electrónica puede llevarse a cabo mediante procedimientos variacionales, como el método de Interacción de Configuraciones (CI) o perturbativos, como la aplicación de la Teoría de Perturbaciones de Möller-Plesset (MP). El método de agregados acoplados (CC, por sus siglas en inglés) es un método no variacional que provee de resultados precisos. Hasta ahora, el método de CC se considera como el método de referencia estándar cuando valores experimentales no están disponibles. Los métodos mencionados anteriormente son conocidos como métodos *ab initio* (o función de onda). Existe la familia de la Teoría de los Funcionales de la Densidad que se presenta como una alternativa atractiva para recuperar la E_{corr} .

10.4 Teoría de los Funcionales de la Densidad

La Teoría de los Funcionales de la Densidad (DFT) difiere de los métodos basados en la función de onda tras usar la densidad electrónica ρ como cantidad central. Una ventaja importante del uso de la densidad electrónica sobre la función de onda es la significativa reducción respecto de la dimensionalidad. Sin importar cuantos electrones están contenidos en el sistema, la densidad es siempre tridimensional. Esto posibilita el uso de los métodos DFT para ser aplicados en sistemas grandes y de mayor complejidad; en gran medida con un costo comparable al método de HF y

resultados comparables a métodos posHF, esta es la razón por la cual los métodos DFT han llegado a ser los de mayor popularidad hoy en día en estudios de la estructura electrónica.

En 1964, Hohenberg y Kohn¹⁰¹ demostraron en su teorema que la densidad electrónica en el estado basal no degenerado, determina el potencial externo. En otras palabras, se puede decir que la densidad electrónica ρ_0 contiene toda la información para describir al sistema y por ello se considera que la energía del estado basal E_0 es funcional (función de una función) de la densidad electrónica $E_0 = E_0[\rho_0]$ (Primer Teorema). Por ello, para el hamiltoniano puramente electrónico es posible escribirlo de la siguiente manera:

$$E_0 = E_v[\rho_0] = \bar{T}[\rho_0] + \bar{V}_{ne}[\rho_0] + \bar{V}_{ee}[\rho_0] \quad \text{Ec. 17}$$

donde E_v es la energía que depende del potencial externo. El operador de la energía potencial \bar{V}_{ne} es producto de la atracción núcleo-electrón, por tanto, representa la suma de todos los electrones con todos los núcleos, y si se aplica el operador $\bar{V}_{ne} = \sum_{i=1}^n v(r_i)$ (donde $v(r_i) = -\sum_{\alpha} \frac{Z_{\alpha}}{r_{i,\alpha}}$) a la densidad electrónica que es un continuo se tiene:

$$\bar{V}_{ne} = \int \rho_0(r) v(r) dr = -\sum_{\alpha} Z_{\alpha} \int \frac{\rho_0(r)}{r_{i,\alpha}} dr \quad \text{Ec. 18}$$

El segundo teorema proporciona el principio variacional para $E_v[\rho_0]$ y se puede expresar como:

“La densidad electrónica del estado fundamental no degenerado se puede calcular, en teoría de forma exacta, a través una densidad electrónica de prueba, ρ_s , que minimiza la energía del estado fundamental”

$$E_v[\rho_s] \geq E_0 \quad \text{Ec. 19}$$

De la Ec. 17 únicamente la cantidad $\bar{V}_{ne}[\rho_0]$ se conoce, no así el resto de los términos. Con ello, no es posible conocer el valor de E_0 . De este hecho en 1965, Kohn y Sham¹⁰² desarrollaron un método para conocer la densidad, ρ_0 , y a partir de ella la energía E_0 . Los resultados derivados de este procedimiento no son exactos sino aproximados ya que para su resolución se emplean funcionales que son desconocidos. Como consecuencia, en la práctica la DFT no es variacional.

Primeramente Kohn y Sham consideran un sistema de referencia ficticio (descrito en este

¹⁰¹ Hohenberg, P.; Kohn, W. Inhomogeneous electron gas. *Phys. Rev. B*, **1964**, *136*, 864–971.

¹⁰² Kohn, W.; Sham, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Phys. Rev.* **1965**, *140*, A1133–A1138.

texto por la letra S) donde los electrones no interactúan entre ellos y que experimentan el mismo potencial externo $v_s(r_i)$, que es una cantidad elegida de tal manera que la densidad sea igual a la densidad electrónica exacta de la molécula en estudio:

$$\rho_s = \rho_0 \quad \text{Ec. 20}$$

Considerando el sistema de referencia, es posible definir:

$$\Delta T[\rho] = T[\rho] - T_s[\rho] \quad \text{Ec. 21}$$

como la diferencia entre la energía cinética electrónica de la molécula real y la del sistema de referencia de electrones no interactuantes, con densidad electrónica igual a la de la molécula real.

De la misma manera se establece la diferencia siguiente:

$$\Delta V_{ee}[\rho] = V_{ee}[\rho] - \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{12}} dr_1 dr_2 \quad \text{Ec. 22}$$

La cantidad $\frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{12}} dr_1 dr_2$ es la expresión clásica para la energía potencial de repulsión entre los electrones si se les considera sumergidos en distribución de carga continua con densidad electrónica ρ .

Una vez consideradas las aproximaciones dadas en las **Ec. 21** y **Ec. 22**, y despejar los términos necesarios se puede reescribir la **Ec. 17**, como sigue:

$$E_v[\rho] = \int \rho(r)v(r)dr + T_s[\rho] + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{12}} dr_1 dr_2 + \Delta T[\rho] + \Delta V_{ee}[\rho] \quad \text{Ec. 23}$$

De la ecuación anterior siguen sin conocerse los últimos dos términos. Es por ello, que este par de cantidades se incluyen en la definición de un nuevo funcional; el funcional de intercambio y correlación:

$$E_{XC}[\rho] = \Delta T[\rho] + \Delta V_{ee}[\rho] \quad \text{Ec. 24}$$

En la práctica, ψ_s se puede escribir como un determinante de Slater de espín orbitales de Kohn-Sham u_i^{KS} , donde la parte espacial $\theta_i^{KS}(r_i)$ de cada espín orbital es función propia del hamiltoniano h_i^{KS} , que depende sólo de un electrón. Así se tiene que: $\psi_s = [u_1, u_2, \dots, u]$, donde $u_i = \theta_i^{KS}(r_i)\sigma_i$. Aquí σ_i es la función de espín (α o β). Con estos antecedentes, es posible evaluar $T_s[\rho] = -\frac{1}{2} \sum_i \langle \theta_i^{KS}(1) | \nabla^2 | \theta_i^{KS}(1) \rangle$. Finalmente, podemos reescribir la **Ec. 23** de la manera siguiente:

$$E_0 = - \sum_{\alpha} Z_{\alpha} \int \frac{\rho(r_1)}{r_{1,\alpha}} dr_1 - \frac{1}{2} \sum_i \langle \theta_i^{KS}(1) | \nabla^2 | \theta_i^{KS}(1) \rangle + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{1,2}} dr_1 dr_2 + E_{XC}[\rho]$$

Ec. 25

Ahora sí es posible determinar E_0 , siempre y cuando se puedan conocer los orbitales de Kohn-Sham θ_i^{KS} y se conozca el funcional E_{XC} . Los orbitales de Kohn-Sham se obtienen resolviendo la **Ec. 26**, la cual propone que es posible hallar la energía del estado basal variacionalmente, es decir, cambiando la densidad con el fin de minimizar $E_v[\rho]$, lo que equivale a variar los orbitales θ_i^{KS} para determinar la densidad y satisfacer la expresión siguiente:

$$h^{KS}(1)\theta_i^{KS}(1) = \varepsilon_i^{KS}\theta_i^{KS}(1)$$

Ec. 26

donde $h^{KS}(1)$ es el operador de Kohn-Sham para un electrón, el cual es similar al de Fock (**Ec. 13**), excepto que el operador de intercambio K_j es reemplazado por el potencial V_{XC} :

$$h^{KS}(1) = -\frac{1}{2}\nabla^2 - \sum_{\alpha} \frac{Z_{\alpha}}{r_{i\alpha}} + \int \frac{\rho(r_2)}{r_{1,2}} dr_2 + V_{XC}$$

Ec. 27

El potencial de intercambio y correlación V_{XC} es la derivada del funcional de la energía de intercambio y correlación $E_{XC}[\rho]$ que no se conoce:

$$V_{XC} = \frac{\delta E_{XC}[\rho(r)]}{\delta \rho(r)}$$

Ec. 28

Aun cuando el planteamiento de Kohn y Sham es exacto, hasta el momento el funcional de intercambio y correlación, es desconocido y por lo tanto son necesarias aproximaciones a este funcional. La clasificación a estas aproximaciones se puede encontrar en la escalera de Jacob definida por John. P. Perdew.¹⁰³ Son cinco los peldaños de mejora de los funcionales de intercambio y correlación hasta alcanzar al funcional universal.

I) La Aproximación Local de la Densidad (LDA).

Es la manera más sencilla posible para calcular E_{XC} . Se basa en la suposición de que la densidad $\rho(r)$ casi no varía con la posición (de un gas homogéneo).

$$E_{xc}^{LDA}[\rho(r)] = \int f[\rho(r)] dr$$

Ec. 29

¹⁰³ Perdew, J. P.; Schmidt, K. Jacob's Ladder of Density Functional Approximations for the Exchange-Correlation Energy. *AIP Conf. Proc.*, **2001**, *1*, 1–20.

Matemáticamente hablando, la derivada de $\rho(r)$ con respecto a la posición es aproximadamente cero. Se puede igualar esta a la densidad de un sistema de un gas de electrones uniforme e ideal (sistema altamente deslocalizado).

A pesar de la simplicidad del LDA, este puede dar buenos resultados para ciertos sistemas. Por ejemplo, sistemas que contienen metales que son más similares al sistema ideal. En particular la constante de red, la distancia de enlace son reproducidos adecuadamente cuando estos se comparan con los valores adquiridos de manera experimental. La razón principal de éste éxito es que el LDA describe los efectos de intercambio y correlación mediante un sistema físico real, el gas de electrones uniforme, y por lo tanto cumple con ciertas relaciones universales. Sin embargo, el funcional LDA sobreestima el enlace y carece en la descripción de sistemas con alta correlación.

II) El Método de Aproximación del Gradiente Generalizado (GGA).

En contraste con el funcional LDA, supone que el funcional de intercambio y correlación no corresponde a un efecto meramente local; con ello se puede introducir en la expresión del funcional la variación de la ρ con respecto en la posición, el gradiente de la densidad:

$$E_{xc}^{GGA}[\rho(r)] = \int f[\rho(r), |\nabla\rho(r)|] dr \quad \text{Ec. 30}$$

En general los funcionales GGA sobreestiman la distancia de enlace aún más que los LDA aunque a cambio dan la energía de enlace similar a la experimental.

Ambos funcionales, LDA y GGA sufren el problema de autointeracción (es decir, la interacción de un electrón consigo mismo).

III) Los funcionales meta-GGA

Si continuamos con la serie de Taylor, el próximo término es la segunda derivada (el Laplaciano) del orbital o la densidad de la energía cinética:

$$\tau(r) = \frac{1}{2} \sum_i |\nabla\psi(r)|^2 \quad \text{Ec. 31}$$

Entonces, la energía de intercambio y correlación para el escalón de meta-GGA es:

$$E_{xc}^{MGGA} = \int g[\rho, \nabla\rho, \nabla^2\rho, |\nabla\psi^2|] dr \quad \text{Ec. 32}$$

En general, éstos no presentan una gran mejora con respecto a los GGA, incluso fallan al tratar con sistemas extendidos.

IV) Los funcionales híbridos.

La idea básica es tener una combinación lineal de las contribuciones de correlación e intercambio de los funcionales LDA y GGA conocidos, con partes que vienen de la función de onda, como la integral de intercambio de HF, etc. La técnica es posible a través de la teoría de conexión adiabática.

$$E_{xc}^{HGGA} = \int \varepsilon_x^{MGGGA}[\rho, \nabla\rho,] dr + \alpha_x E_{HF-x} + \int \varepsilon_c^{HGGA}[\rho, \nabla\rho,] dr \quad \text{Ec. 33}$$

V) Los funcionales doble híbridos

Se trata de funcionales que introducen efectos de correlación no local y que se encuentran sustituidos en el funcional de intercambio con energía de correlación que es calculada por métodos ab initio (ejemplo, MP2); es decir, los funcionales doble-híbridos combinan los funcionales híbridos-GGA con un método perturbativo de segundo orden.

$$E_{xc}^{HGGA} = \int \varepsilon_x^{MGGGA}[\rho, \nabla\rho,] dr + \alpha_x E_{HF-x} + (1 - \alpha_c) + \int \varepsilon_c^{HGGA}[\rho, \nabla\rho,] dr + \alpha_c E_{MP2} \quad \text{Ec. 34}$$

VI) Funcionales de intervalos separados.

Los DF separados por intervalos se basan en la separación de la interacción electrón-electrón en dos partes, una de largo alcance y otra de corto alcance, y el tratamiento de las dos partes con diferentes funciones.

Pese a las indiscutibles mejoras realizadas a la teoría de los funcionales de la densidad, es importante señalar que todavía no se cuenta con el funcional perfecto y es por ello que todavía existen algunos retos por resolver. Yang y colaboradores¹⁰⁴ comentan de manera muy detallada cuáles son los retos más importantes para esta teoría, de entre los que resaltan algunos tan básicos como tener funcionales que puedan dar una descripción razonable tanto de las geometrías como de las energías de disociación en moléculas. También, uno de los retos más significativos es contar con funcionales capaces de predecir con una alta precisión barreras energéticas de reacción, con miras a poder determinar la cinética de las reacciones químicas. Otro reto importantísimo, sobre todo por la necesidad de comprender algunos procesos biológicos, es poder predecir con una alta precisión, diferencias de energías muy pequeñas asociadas con las interacciones de van der Waals las cuales

¹⁰⁴ Cohen, A. J.; Mori-Sánchez, P.; Yang, W. Challenges for Density Functional Theory, *Chem. Rev.*, **2012**, 112, 289–320.

están inmersas en interacciones tales como las fármaco-proteína, proteína-proteína, etc. Otro problema donde los funcionales de mayor uso fallan es la predicción de errores de delocalización y error de correlación estática.

10.5 Conjuntos de Base

De cierta forma, se puede decir que cuando se elige un método en particular, él especifica el hamiltoniano. Lo que falta es la especificación de la forma de la función de onda, es decir, el determinante de Slater. Para ello, se empieza con un orbital atómico, sinónimo de *función de base o zeta* que se expresa por una combinación de las *primitivas*: los *Orbitales Tipo Slater (STO)* o los *Orbitales Tipo Gaussian (GTO)*. Los primeros vienen de la solución exacta de la EdS para el átomo de hidrógeno. Ellos tienen la forma:

$$\chi_{\zeta,n,l,m}(r, \theta, \varphi) = NY_{l,m}(\theta, \varphi)r^{n-1}e^{-\zeta r} \quad \text{Ec. 35}$$

donde N es una constante de normalización, $Y_{l,m}$ son las funciones conocidas como armónicos esféricos, mientras que ζ (zeta) es el exponente orbital. Los índices n , m y l determinan el tipo de orbitales (s , p , d , etc.). A pesar de que los STO tienen la forma correcta, su uso en la química teórica es limitado a causa de la dificultad numérica, en particular en la evaluación de las integrales que involucran dos o más electrones. La integral Coulómbica, por ejemplo representa un cuello de botella. Por otro lado, los *GTOs*¹⁰⁵ pueden ser representados en coordenadas polares según la siguiente expresión:

$$\chi_{\zeta,n,l,m}(r, \theta, \varphi) = NY_{l,m}(\theta, \varphi)r^{2n-2-l}e^{-\zeta r^2} \quad \text{Ec. 36}$$

donde notemos que la diferencia principal es que el exponente de los *GTOs* dependen en la distancia al cuadrado mientras que el de los *STOs* depende en r .

La dependencia con la distancia al cuadrado r^2 de los *GTOs* en su porción exponencial los hace inferiores respecto de los *STOs* debido a:

¹⁰⁵ Grant-Hill, J. Gaussian Basis Sets for Molecular Applications. *Int. J. Quantum Chem.*, **2013**, *113*, 21–34.

1. En la región cercana al núcleo un *GTO* tiene problemas para describirla ya que rápidamente converge a un valor máximo, a diferencia de un *STO* que en esta zona es descrita por una “cúspide” o singularidad.
2. En la zona lejana del núcleo el *GTO* decae demasiado rápido a diferencia de un *STO*, entonces la “cola” de la función de onda es descrita pobremente (**Figura 34**).

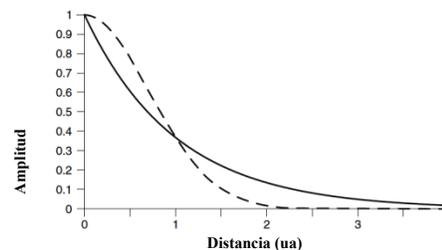


Figura 34. Comportamiento de e^x donde $x = r$ (línea sólida, STO) y $x = r^2$ (línea punteada, GTO)

Sin embargo, el producto de funciones gaussianas corresponde a una gaussiana. Esta característica ha sido aventajada para conseguir hacer combinaciones lineales de varios *GTOs* a fin de modelar el comportamiento de un *STO* (**Figura 35**). Además, el uso de un mayor número de *GTOs* es compensado con la sencillez de las integrales a resolver.¹⁰⁶

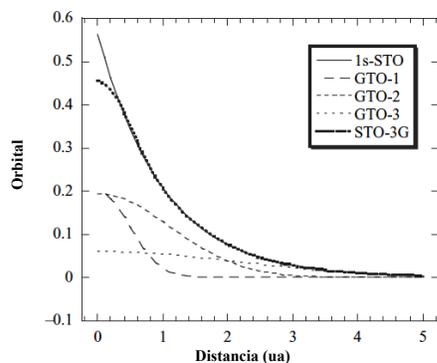


Figura 35. Representación de un orbital 1s-STO y su descripción empleando una combinación lineal de tres orbitales GTO (STO-3G).

La combinación lineal de funciones de base *GTOs* se denomina *función de base “contraída”*, por ejemplo, STO-NG; donde N es el número de *GTOs* que se combinan. El menor número de funciones posible que contengan a los electrones de un sistema neutro es denominado como *conjunto de base mínimo*; o “single- ζ ”. El término ζ (zeta) entonces indica el número de función de base que representa un orbital atómico. Para una mejor descripción, se puede usar “doble- ζ ”, (DZ), “triple- ζ ”, (TZ), etc., para los orbitales atómicos.

Dado que los fenómenos químicos involucran a los orbitales de valencia, una descripción de mayor flexibilidad debería de tenerse en consideración para con ellos respecto de los orbitales del core. Esta es la concepción de las “*funciones de base de valencia dividida (NZV)*”, que consideran aplicar únicamente el efecto de duplicar, triplicar, etc., a los orbitales de valencia, mientras que para los orbitales internos (core) se les representa por un función “single- ζ ”. El grupo de Pople introdujo un sistema de bases que se describen de la manera *k-nlmG*, donde el término *k* indica el número de funciones gaussianas primitivas para representar a los orbitales internos, mientras que los números *nlm* expresan tanto el número de funciones en que fueron divididos los orbitales de valencia como

¹⁰⁶ Jensen, F. Introduction to Computational Chemistry; Wiley; 2nd Edition; 2007.

el número de funciones gaussianas primitivas que son empleadas para su representación. Algunos ejemplos de este tipo de conjunto de bases son 3-21G, 6-21G, 6-31G y 6-311G.

En algunas ocasiones, para hacer una descripción más adecuada del enlace hay que tener en consideración que para los orbitales moleculares (que son funciones propias de la EdS) están asociados múltiples núcleos en diversas posiciones en el espacio. Con ello, debemos sospechar de una mayor flexibilidad matemática para los átomos, pudiendo ubicar a los electrones en orbitales fuera de su estado basal. Este requerimiento lo introducen las *bases polarizadas*, que adicionan orbitales con mayor momento angular de cada átomo con intención de no únicamente cambiar el tamaño del orbital, sino su forma también. Pople y colaboradores¹⁰⁷ introdujeron un sistema de nomenclatura sencillo para indicar el empleo de este tipo de funciones el cual consiste en adicionar al final del sistema de funciones de base el signo (*), pronunciado “estrella”. Una sola estrella al final del conjunto de base significa que los orbitales *p* de los átomos pesados se polarizaron adicionando un sistema de orbitales *d*; una segunda estrella significa que la polarización se efectuó también sobre los orbitales *s* de los átomos de hidrógeno, específicamente con la adición de un conjunto de orbitales *p* (ejemplos los conjuntos de base 6-31G* y 6-311G**).

Si se desea hacer una adecuada descripción de, por ejemplo, aniones, moléculas con pares de electrones no compartidos, estados excitados, moléculas con elevada carga negativa, sistemas con potenciales de ionización bajos, etc. se precisa ocupar conjuntos de base que describan mejor la parte final de la función de onda, para ello es requerida una función con pequeño valor de coeficiente exponente que resulta en una función más deslocalizada. Estas características las cumplen las *funciones de base difusas*, que para Pople son indicadas por la adición de signo (+) en el conjunto de base. Así por ejemplo tenemos al conjunto de base descrito de la siguiente manera 6-31+G* indica que un átomo pesado ha sido aumentado con un conjunto de bases *s* y *p* adicionales teniendo pequeños exponentes. Un segundo signo (+) significa la adición de una segunda función difusa *s* para los átomos de hidrógeno (ejemplo, 6-311++G**).

Otro tipo de conjuntos de bases son las desarrolladas por Dunning¹⁰⁸ y colaboradores,¹⁰⁹ que

¹⁰⁷ Krishnan, R.; Frisch, M. J.; Pople, J. A. Contribution of Triple Substitutions to the Electron Correlation Energy in Fourth Order Perturbation Theory, *J. Chem. Phys.*, **1980**, 72, 4244–4245.

¹⁰⁸ Dunning, T. H. Gaussian Basis Sets for Use in Correlated Molecular Calculations. I. The Atoms Boron through Neon and Hydrogen, *J. Chem. Phys.* **1989**, 90, 1007–1023.

¹⁰⁹ Wilson, A. K. van Mourik, T.; Dunning, T.-H. Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. VI. Sextuple-zeta correlation-consistent sets for boron through neon, *Theochem-J. Mol. Struct.*, **1996**, 388, 339–349.

fueron optimizadas para recuperar la correlación para los métodos posHF. En general, al introducir un mayor número de bases para la contracción hace que estas den una mejor descripción/representación de los orbitales; sin embargo, debe pensarse en problemas asociados como la dependencia lineal y el BSSE de las bases. Las bases polarizadas de este tipo incorporan efectos de *consistencia en la correlación* (*cc*, en minúscula) lo cual significa que los coeficientes de contracción fueron variacionalmente optimizados no únicamente por cálculos HF, sino también por cálculos que incluyen correlación electrónica (los cuales se mencionaron sucintamente con anterioridad). Así por ejemplo, tenemos las bases *cc-pVnZ*, “correlation-consistent polarized valence (Doble/Triple/etc.) Zeta”. Para indicar la introducción de funciones de base difusas a los conjuntos de base *cc-pVnZ*, se adiciona el prefijo “aug” (*augmented* en inglés), así tenemos, por ejemplo, los conjuntos de base *aug-cc-pVnZ*.

Cuando se intenta hacer una descripción adecuada de átomos con un número significativo de electrones habrá que tenerse en consideración los problemas de repulsión-repulsión entre los electrones internos y de valencia; también los efectos relativistas a partir de los elementos de la segunda mitad de la tabla periódica.

Para los átomos pesados, el tamaño de la base hace el costo computacional prohibido. Además para $Z > 40$, el efecto relativista se convierte a un problema significativo. Por este fin, se crean los potenciales efectivos. Las bases que incorporan potenciales efectivos o pseudopotenciales, mantienen el espíritu de los métodos semiempíricos donde únicamente los electrones de valencia son tratados de manera explícita, mientras que los electrones internos y el núcleo son modelados como una función de energía potencial adecuada. En otras palabras los electrones de valencia se mueven en el potencial generado por el núcleo y los electrones del core. En la actualidad, uno de los conjuntos de base que introducen pseudopotenciales ampliamente usados incluyen aquellos desarrollados por Hay y Wadt,¹¹⁰ conocidos como Los Alamos National Laboratory (o LANL). Cabe mencionar que este tipo de conjuntos de base, no introduce efectos relativistas para los elementos del primer periodo de transición, debido a que estos efectos no son significativos en esta región.

10.6 Modelos implícitos y explícitos para fases condensadas

Los métodos para evaluar el efecto del disolvente bien podrían dividirse en dos categorías: aquellos que describen de manera explícita a las moléculas del disolvente y aquellas que tratan al

¹¹⁰ Hay, P. J.; Wadt, W. R. Ab initio effective core potentials for molecular calculations. Potentials for the transition metal atoms Sc to Hg. *J. Chem. Phys.*, **1985**, *82*, 270–283.

disolvente como un medio continuo (modelos implícitos). Los primeros, representan un mayor gasto computacional en virtud de que hay que describir una a una las moléculas que componen al sistema (soluto-disolvente) y son principalmente útiles para describir algunos efectos de solvatación, tales como puentes de hidrógeno, interacciones de van der Waals, estructura de la jaula generada por el disolvente, la dinámica entre el soluto y el disolvente, efectos de transferencia de carga, efectos hidrofóbicos. Sin embargo, si ninguno de estos efectos es el objeto de estudio en fase condensada, esta puede ser modelada considerando al disolvente como un medio homogéneo con una constante dieléctrica (modelos continuos, **Figura 36**).

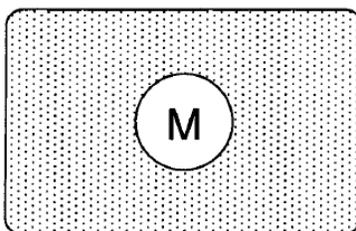


Figura 36. Representación de un modelo continuo.

Los modelos de campo de reacción difieren en cinco aspectos principales:

- 1) Cómo es definido el tamaño y forma de la cavidad.
- 2) Cómo es calculada la contribución cavidad/dispersión.
- 3) Cómo es representada la distribución de carga de **M**.
- 4) Cómo se describe el soluto **M**, de manera clásica (campo de fuerza) o cuántica (métodos semiempíricos o *ab initio*).
- 5) Cómo es descrita la constante dieléctrica.

La manera más sencilla para describir la forma del hueco es suponer que tiene forma esférica o elipsoidal. Sin embargo, un modelo más realista es aquel que se obtiene de suponer que los núcleos son esferas conectadas y tomando como parámetro el radio atómico (típicamente 1.2 veces el radio de van der Waals). Lo anteriormente descrito es conocido como la superficie de van der Waals. Es importante considerar que existirán regiones de dicha superficie donde por su tamaño no sea posible incorporar moléculas de disolvente, para identificar estas zonas se simula una partícula esférica de un cierto radio (típicamente 1.4 Å para modelar la molécula de agua) que rueda alrededor la superficie de van der Waals. Esta nueva descripción de la cavidad se conoce como Superficie Accesible al Disolvente (SAS por sus siglas en inglés, **Figura 37**). Cabe señalar que hacer esta última representación tiene un mayor costo computacional asociado y la diferencia con la superficie de van der Waals es pequeña, por lo que en la práctica es común observar el uso de esta última.

Cuando una descripción cuántica de **M** es empleada, los momentos electrónicos calculados

inducen cargas en el medio dieléctrico, el cual a su vez invierte el efecto en la molécula, causando una perturbación en la función de onda y cambiando los momentos eléctricos, etc. La interacción con el campo de reacción puede por lo tanto ser calculado de manera iterativa, generando varios modelos del Campo de Reacción Autoconsistente (*SCRF*, por sus siglas en inglés).

El Modelo Continuo Polarizable (*PCM*, por sus siglas en inglés) emplea la superficie de van der Waals en la descripción del soluto, una descripción detallada del potencial electrostático y que parametriza las contribuciones cavidad/dispersión basado en el área de la superficie.

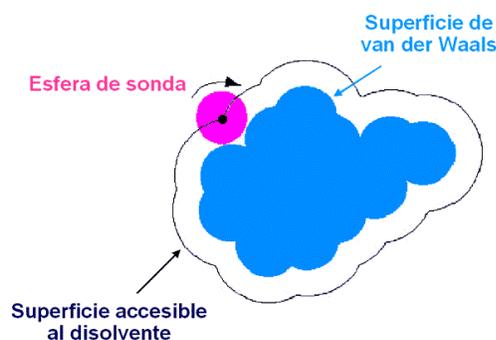


Figura 37. SAS trazada por un una molécula de prueba.¹¹¹

La formulación básica de los modelos continuos requiere de una solución al problema electrostático básico (problema de Poisson):¹¹²

$$-\vec{\nabla} \times [\varepsilon(\vec{r}) \vec{\nabla} V(\vec{r})] = 4\pi \rho_M(\vec{r}) \quad \text{Ec. 37}$$

donde $\rho_M(\vec{r})$ es la distribución de carga del soluto y $\varepsilon(\vec{r})$ es la permitividad general dependiente de Poisson.

Recientemente, una definición alternativa de la distribución de carga de PCM, fue derivada siguiendo la misma estrategia metodológica usada por Klamt y colaboradores¹¹³ para así definir el modelo COSMO. Dentro de este modelo, la constante dieléctrica constante para el solvente es cambiada por un valor finito, ε , característico del disolvente seleccionado, a un valor infinito. Este

¹¹¹ Tomasi, J.; Mennucci, B.; Cammi, R. Quantum Mechanical Continuum Solvation Models. *Chem. Rev.*, **2005**, *105*, 2999–3093.

¹¹² Mennucci, B. Polarizable continuum model, *Comp. Mol. Sci.*, **2012**, *2*, 386–404.

¹¹³ (a) Klamt A, Schuurmann G. COSMO—a new approach to dielectric screening in solvents with explicit expressions for the screening energy and its gradient. *J Chem. Soc-Perkin Trans*, **1993**, *2*, 799–805. (b) Klamt A. The COSMO and COSMO-RS solvation models. *Comp. Mol. Sci.*, **2011**, *1*, 699–709.

valor corresponde a un medio con las características de un conductor. De esta concepción, la distribución de carga del modelo PCM llega a ser:

$$S\sigma(\vec{s}) = -f(\varepsilon)V_M(\vec{s}) \quad \text{Ec. 38}$$

$$S\sigma(\vec{s}) = \int_{\Gamma} \frac{1}{|\vec{s}-\vec{s}'|} \sigma(\vec{s}') d^2s' \quad \text{Ec. 39}$$

donde $f(\varepsilon)$ es una función artificial de la constante dieléctrica, la cual asegura que se está modelando un dieléctrico y no un conductor:

$$f(\varepsilon) = \frac{\varepsilon-1}{\varepsilon+x} \quad \text{Ec. 40}$$

donde x es un factor numérico. En la literatura, diferentes propuestas han sido dadas para x ; en el artículo original del modelo COSMO, Klamt y Schuurmann sugieren un valor de $x = 0.5$, mientras que para el modelo PCM, el valor seleccionado es $x = 0$, este modelo es conocido como CPCM.¹¹⁴

Es apropiado en este momento mencionar que los cálculos de energía libre de moléculas en fase condensada son en ocasiones combinados con ciclos termodinámicos para calcular propiedades que de otra manera podrían requerir tiempos de simulación imposibles de conseguir. La fortaleza de los métodos para calcular la energía libre es que las diferencias de estas pueden ser obtenidas con una alta precisión estadística y apenas unos cuantos kJ/mol de diferencia con los medidos experimentalmente a costos computacionales razonables. Lo anterior dependerá fuertemente de la calidad del campo de fuerza con que sean medidos y para ello existen dos modelos para muchos disolventes que son capaces de aproximar los resultados en términos de valores absolutos.

10.7 Consideraciones para los cálculos DFT en compuestos de coordinación.

Para obtener resultados con un grado de precisión significativamente bueno respecto de las propiedades que se desean evaluar, Tsipis¹¹⁵ en su artículo publicado en 2014 propone una serie de consideraciones de las cuales se comentaran solo las concernientes al presente trabajo:

¹¹⁴ Barone V, Cossi M. Quantum calculation of molecular energies and energy gradients in solution by a conductor solvent model. *J Phys. Chem. A*, **1998**, 102,1995–2001.

¹¹⁵ Tsipis, A. C., DFT flavor of coordination chemistry, *Coord. Chem. Rev.*, **2014**, 272, 1–20.

- 1) Buscar en la literatura cálculos que evalúen propiedades y compuestos de coordinación similares y seleccionar el o los funcionales de la densidad (DFs) que arrojen los mejores resultados para la aplicación que se está estudiando.
- 2) Evaluar debilidades y fortalezas de los DFs candidatos en las publicaciones que describen su desarrollo, especialmente las relacionadas con el tipo de cálculos que se desean desarrollar.
- 3) DFs con correcciones de dispersión empíricas son frecuentemente esenciales para una química correcta.
- 4) Averiguar el desempeño de los DFs con diferentes conjuntos de base. Para ello realizar una serie de cálculos de calibración y evaluar el grado de precisión que se obtiene de la combinación.
- 5) Seleccionar con mucho cuidado el conjunto de base con la mayor calidad para el sistema de interés. Para metales pesados usar Potenciales Efectivos de Core relativistas (ECP, por sus siglas en inglés), tales como LANL2DZ o SDD, mientras que para el resto de los átomos usar por lo menos el conjunto de base 6-31G*.
- 6) Usar modelos de solvatación implícita (PCM, COSMO, SMD), cuando se estudien sistemas en solución.

Se pueden usar las recomendaciones de arriba como guía. Sin embargo, hay que tener presente un punto que es indispensable en la modelación molecular: la calibración de los funcionales, métodos, las bases y los parámetros pertinentes de la simulación. De manera sucinta, los datos experimentales tienen la última palabra.

10.8 Casiopeínas®: Posibles mecanismos de acción, una perspectiva teórica

Ruiz-Azuara y colaboradores,¹¹⁶ en el entendido que la capacidad citotóxica en complejos metálicos es función tanto del centro metálico como de los ligantes o ambos, han realizado estudios al respecto, con la intención de evaluar la actividad de cada uno. Aunque el mecanismo de acción no ha sido completamente elucidado, existe la posibilidad de que estos compuestos interactúen por intercalación de la porción aromática del metolofármaco y las bases nitrogenadas del ADN. A este respecto, estudios teóricos revelan la posibilidad de intercalación al modelar las interacciones de las

¹¹⁶ Galindo-Murillo, R.; Hernández-Lima, J.; González-Rendón, M.; Cortés-Guzmán, F.; Ruiz-Azuara, L.; Moreno-Esparza, R. π -Stacking between Casiopeínas® and DNA bases. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2011**, *13*, 14510–14515.

bases nitrogenadas con diferentes Casiopeínas®; es importante señalar, que el efecto de donación del ligante aromático al centro metálico genera una deficiencia electrónica, que es compensada por interacciones π - π entre las bases nitrogenadas y el ligante tipo de diimina y una interacción axial tipo coordinativa de la base con el centro metálico (**Figura 38**). Este último acontecimiento, podría originar el deformamiento estructural del ADN impidiendo la replicación del material genético y por ende la replicación celular.

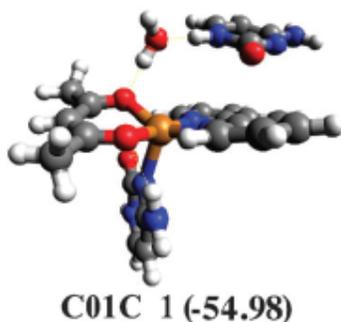


Figura 38. Interacción de Casiopeína® con bases nitrogenadas.

Además, en un segundo estudio,¹¹⁷ fue posible caracterizar la zona de incorporación de la Casiopeína®, siendo este el surco menor de la estructura del ADN, demostrándose de esta manera la posibilidad de ser este grupo de compuestos buenos candidatos para interactuar con la biomacromolécula. Sin embargo, a diferencia de lo que anteriormente se creía, dada la deficiencia electrónica del centro metálico en la Casiopeína® en estos modelados dinámicos se demostró la plausible interacción con una

zona de mayor carga negativa, la porción lateral constituida por grupos fosfato; mientras que el ligante tipo diimina interactúa con las desoxirribosas vía interacciones tipo $C-H \cdots \pi$, $O \cdots \pi(C)$ y $O \cdots \pi(N)$ (**Figura 39**). Esto pone en cuestión, si verdaderamente este grupo de compuestos inhibe la replicación del ADN vía un mecanismo intercalativo o: (1) actúan como catalizadores que faciliten el ataque de nucleófilos (como enzimas hidrolíticas) a los grupos fosfato por la disminución de su

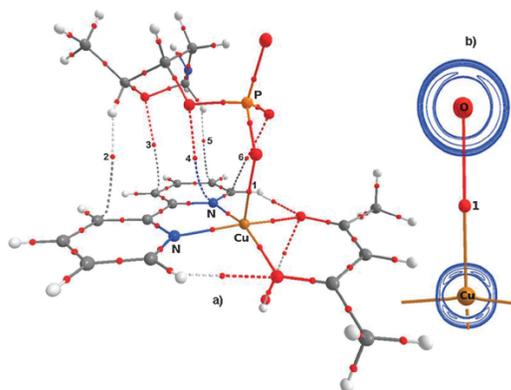
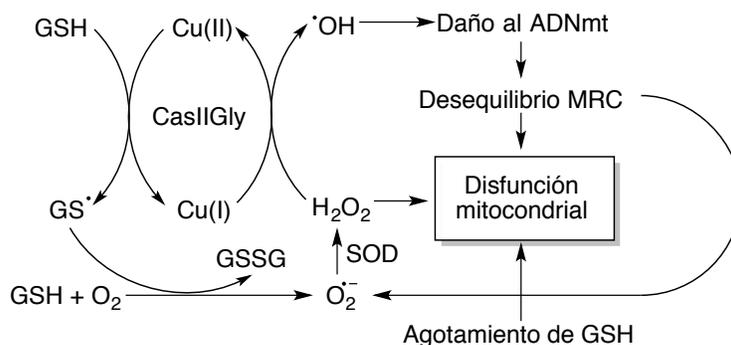


Figura 39. Interacción de Casiopeína® con ADN.

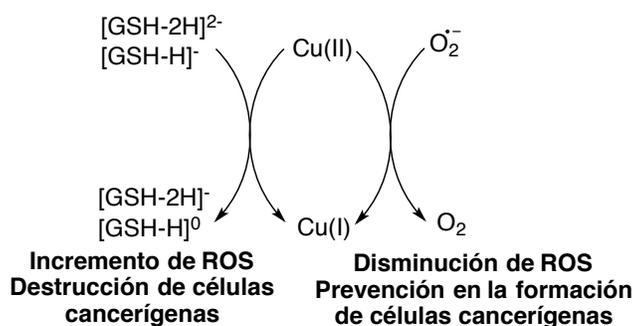
¹¹⁷ Galindo-Murillo, R.; Ruiz-Azuara, L.; Moreno-Esparza, R.; Cortés-Guzmán, F.; Molecular recognition between DNA and a copper-based anticancer complex. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2012**, 14, 15539–15546.

densidad electrónica luego de interactuar con el centro metálico, o (2) por la proximidad con los hidrógenos axiales de las desoxirribosas, la posibilidad de participar en ciclos redox, que den origen a especies reactivas de oxígeno tales como $\cdot\text{OH}$ (**Esquema 20**).



Esquema 20. Ciclo redox propuesto para la actividad de Casiopeínas^{®85}

Estudios teóricos recientes,¹¹⁸ a propósito de demostrar la capacidad de las Casiopeínas[®] de actuar como antiradicales, asociando a la capacidad electrodonadora o electroaceptora de las mismas, encontraron resultados concordantes con lo observado experimentalmente. Lo anterior, ya que los resultados suponen un efecto de agotamiento de las defensas antioxidantes como el GSH. Un dato aún más sorprendente, además de su capacidad como “inductor de muerte celular” de células cancerosas por elevar los niveles de estrés oxidativo, su posible actuar como “agente de prevención” de nuevas células dañadas, a través de la disminución del radical-anión superóxido (**Esquema 21**).



Esquema 21. Resultados teóricos para la actividad de Casiopeínas[®].

Como se ha comentado, experimental y teóricamente se encontró que la actividad biológica

¹¹⁸ Avelar, M., Martínez, A., Do Casiopeínas[®] Prevent Cancer Disease by Acting as Antiradicals? A chemical Reactivity Study Applying Density Functional Theory. *J. Mex. Chem. Soc.*, **2012**, 56, 250–256.

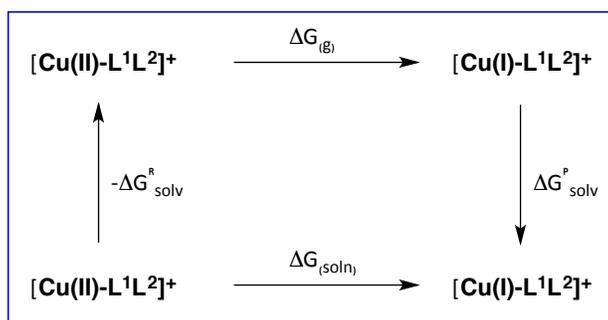
de los compuestos esta directamente ligada a su capacidad oxido-reductora, siendo mejores candidatos aquellos que actuaran con agentes oxidantes débiles. También, se observó un mayor impacto respecto de sus propiedades oxido-reductoras (y por ende la actividad biológica de los compuestos), tras el cambio del ligante tipo diimina (*N-N*) que el cambio del ligante tipo α -aminoaciato (*N-O*) o donador (*O-O*), siendo los de mayor actividad aquellos derivados con 1,10-fenantrolina, y de ellos los sustituidos en las posiciones 4 y 7. En este sentido, es de gran relevancia poder ser capaces, antes de sintetizar cualquier nuevo análogo, poder predecir si será un mejor candidato que los ya existentes a través del cálculo de sus potenciales de media onda. Por ello es importante poder tener herramientas y métodos teóricos que nos permitan conseguir dicha meta, asociando propiedades electrónicas y geométricas con propiedades biológicas.

10.9 Cálculo de potenciales de media onda ($E_{1/2}$)

El potencial de reducción es una medida directa de la capacidad termodinámica de una semireacción redox. Un cálculo teórico puede ayudarnos a estimar algunos parámetros termodinámicos, y es a través de estos que podemos inferir algunos otros; tal es el caso de los potenciales de reducción (E), relacionado con la energía libre de Gibbs de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$E_{calc} = -\frac{\Delta G(soln)}{nF} \quad \text{Ec. 41}$$

donde F es la cte. de Faraday, n es el número de moles de electrones involucrados en la reacción redox. El $\Delta G(soln)$ es la energía libre de reacción de reducción en solución y es calculado empleando el ciclo termodinámico mostrado en la **Esquema 22** y la **Ecuación 42**¹¹⁹



Esquema 22. Ciclo termodinámico empleado para los cálculos teóricos de $E_{1/2}$.¹²⁰

¹¹⁹ Arumugam, K.; Becker, U.; Computational Redox Potential Predictions: Applications to Inorganic and Organic Aqueous Complexes, and Complexes Adsorbed to Mineral Surfaces. *Minerals*, **2014**, *4*, 345–387.

$$\Delta G(soln) = \Delta G(g) + \Delta \Delta G(solv) + \Delta ZPE + \Delta FEc \quad \text{Ec. 42}$$

donde

$$\Delta \Delta G(solv) = \Delta G_{solv}^P - \Delta G_{solv}^R \quad \text{Ec. 43}$$

donde $\Delta G(g)$ es la energía libre de reducción en fase gaseosa, ΔG_{solv}^P es la energía libre de solvatación para las especies reducidas, ΔG_{solv}^R es la energía libre de solvatación para las especies oxidadas, ΔZPE es la corrección de la energía del punto cero obtenida del cálculo de frecuencias de la geometría en equilibrio y ΔFEc es la corrección a la energía libre de las contribuciones térmicas.

El potencial estándar de reducción es aquel que es determinado experimentalmente bajo ciertas condiciones bastante específicas de pH, temperatura, presión y siempre referenciado respecto a el electrodo estándar de hidrógeno (E_{exp}) (*SHE*, por sus siglas en inglés). Siempre que algún otro electrodo de referencia (*RE*) se emplee, el valor obtenido, de común es ajustado respecto a la escala del *SHE*:

$$E_{calc}^0(V \text{ vs } RE) = E_{calc}^{abs}(V) - E_{exp,RE}^{abs}(V) \quad \text{Ec. 44}$$

Experimentalmente ha tomado un gran auge el uso de los pares redox como materiales de referencia sobre los electrodos; ello debido a que estos últimos tienden a generar potenciales de unión líquida o de baja reproducibilidad por la química de la superficie. Libres de estas discrepancias, los potenciales adquiridos empleando pares redox de referencia se piensa pueden ser más consistentes sobre un mayor rango de condiciones experimentales. Actualmente, para determinaciones potenciométricas en solventes no acuosos la IUPAC, recomienda ampliamente usar al par redox (*RC*) ferroceno/ferrocenio como sistema de referencia, pues muestra un comportamiento independiente respecto al solvente.

$$E_{exp}^0(V \text{ vs } RC) = E_{exp}^0(V \text{ vs } RE) - E_{exp,RC}^0(V \text{ vs } RE) \quad \text{Ec. 45}$$

¹²⁰ Konezny, S. J., Doherty, M. D., Luca, O. R., Crabtree, R. H., Soloveichik, G. I., Batista, V. S., Reduction of Systematic Uncertainty in DFT Redox Potentials of Transition-Metal Complexes. *J. Phys. Chem. C* **2012**, 116, 6349–6356.

De una manera similar, es posible determinar el $E_{1/2}$ de forma teórica, determinando primero el potencial de reducción para el RC y el sistema en estudio de manera aislada, de acuerdo con la **Ec. 41** y el **Esquema 18**; finalmente introducir los valores individuales obtenidos en la **Ec. 46**:

$$E_{calc}^0(V \text{ vs } RC) = E_{calc}^{abs}(V) - E_{exp,RC}^{abs}(V) \quad \text{Ec. 46}$$

Se han establecido protocolos computacionales para la evaluación de potenciales de reducción en moléculas orgánicas. Truhlar *et al.*¹²¹ ha sugerido que para conseguir una alta precisión en los cálculos (valores de error menores a 220 mV), se necesita un nivel de teoría elevado (métodos post-Hartree Fock para moléculas de tamaño pequeño y para moléculas de tamaño mediano) combinado con modelos de solvente cuyos errores asociados al modelado de la cavidad pueden ser minimizados ajustando los términos electrostáticos. Por su parte, Tazhigulov and Bravaya¹²² enfatizan la importancia del efecto de largo alcance y proponen un esquema QM/MM, el cual ha mostrado buenos resultados al compararlo con los datos experimentales.

Sin embargo, existen muy pocos reportes de protocolos que permitan aproximar los valores teóricos de potencial de reducción con los experimentales en complejos de base metálica, particularmente para cobre que es de nuestro interés. Rulíšek¹²³ calculó el potencial de reducción de una serie de diecisiete complejos de Fe(II/II), Ru(II/II) y Os(II,III) a un nivel de teoría DFT(PBE)/def2-TZVP//DFT(PBE)/def2-SVP, usando tanto modelos de solvatación implícitos (SMD y COSMO), como explícitos donde se agregaron por arriba de 27 moléculas de agua en la esfera de solvatación. Los resultados obtenidos tuvieron una aproximación significativamente buena, al tener errores cercanos a los 100 mV. Por su parte, Amador-Bedolla¹²⁴ calculó de manera casi exacta el potencial de media onda (valor teórico 68.5 mV vs. valor experimental 62.4-65.0 mV)

¹²¹ Ho, J.; Coote, M. L.; Cramer, C. J.; Truhlar, D. G. Theoretical Calculation of Reduction Potentials, in *Organic Electrochemistry: Revised and Expanded* Ole Hammerich, Bernd Speiser, Ed., p. 229, CRC Press (2016).

¹²² Tazhigulov, R. N.; Bravaya, K. B. Free Energies of Redox Half-Reactions from First-Principles Calculations. *J. Phys. Chem. Lett.*, **2016**, 7, 2490–2495.

¹²³ Rulíšek, L. On the Accuracy of Calculated Reduction Potentials of Selected Group 8 (Fe, Ru, and Os) Octahedral Complexes. *J. Phys. Chem. C*, **2013**, 117, 16871–16877.

¹²⁴ Flores-Leonar, M. M.; Moreno-Esparza, R.; Ugalde-Saldívar, V. M.; Amador-Bedolla, C. Further insights in DFT calculations of redox potential for iron complexes: The ferrocenium/ferrocene system. *Comp. Theor. Chem.*, **2017**, 1099, 167–173.

para el par ferroceno/ferrocenio en acetonitrilo como disolvente. Su estudio consistió en calibrar seis diferentes DFs con diferentes conjuntos de base, encontrando que una mejor descripción del sistema en términos de sus propiedades estructurales y fisicoquímicas se consigue a un nivel de teoría ω -B97XD/SSD/PCM. Lee y colaboradores¹²⁵ evaluaron un conjunto más extenso de complejos metálicos de Cr, Mn, Fe, Co y Ni a un nivel de teoría UB3LYP*/6-311++G(3fd). También, Dos Santos y colaboradores¹²⁶ recientemente reportaron la determinación del potencial de media onda para un conjunto de nueve complejos organometálicos de Au(III) con capacidad anticancerígena a un nivel de teoría CAM-B3LYP/Def2-TZVP/631G(2df)/SMD, obteniendo un error absoluto menor a 170 mV.

Respecto de los complejos de cobre, Robertazzi *et al.*¹²⁷ recientemente estimaron el potencial de media onda de un conjunto de tres complejos de Cu(II) coordinados a *phen* a un nivel de teoría B3LYP/SDD/631G(d)/PCM encontrando valores muy próximos a los reportados experimentalmente con un error aproximado de 500 mV. Yan *et al.*¹²⁸ han propuesto un protocolo para evaluar el potencial de media onda de complejos de Cu(II) donde fueron estudiados trece complejos a un nivel de teoría CAM-B3LYP/631+G(d,p) consiguiendo un error absoluto (MAE) de 114 mV. Por otro lado, Chaparro y Ali-Torres¹²⁹ obtuvieron un MAE de 80 mV en un conjunto de 64 complejos de cobre(II) utilizando el funcional M062X con la base LANL2DZ para el átomo de cobre y el conjunto de base 6-311++G** para el resto de los átomos. En ambos estudios se empleó SMD como modelo de solvente implícito. Es preciso hacer notar que, complejos con ligantes flexibles (como algunos que se considerarán en el presente estudio), presentan un reto adicional y

¹²⁵ Bokingo-Burnea, F. K.; Shi, H.; Ko, K. C.; Lee, J. Y. Reduction potential tuning of first row transition metal MIII/MII (M = Cr, Mn, Fe, Co, Ni) hexadentate complexes for viable aqueous redox flow battery catholytes: A DFT study. *Electrochim. Acta*, **2017**, *246*, 156–164.

¹²⁶ Sánchez-Delgado, G. Y.; Paschoal, D.; Dos Santos, H. F. Predicting standard reduction potential for anticancer Au(III)-complexes: ADFT study. *Comp. Theor. Chem.*, **2017**, *1108*, 86–92.

¹²⁷ Robertazzi, A.; Magistrato, A.; de Hoog, P.; Carloni, P.; Reedijk, J. Density functional theory studies on copper phenanthroline complexes. *Inorg. Chem.*, **2007**, *46*, 5873–5881.

¹²⁸ Yan, L.; Lu, Y.; Li, X. A density functional theory protocol for the calculation of redox potentials of copper complexes. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2016**, *18*, 5529–5536.

¹²⁹ Chaparro, D.; Ali-Torres, J. Assessment of the isodesmic method in the calculation of standard reduction potential of copper complexes. *J. Mol. Model.*, **2017**, *23*, 283.

en general tienden a incrementar los valores de MAE. Miao y colaboradores,¹³⁰ también han reportado la determinación teórica de potenciales de media onda para un conjunto de cuatro complejos metálicos de cobre con fenantrolina y derivados de *phen* como ligantes, a un nivel de teoría UB3LYP/G-31G(d)/CPCM; los resultados obtenidos estuvieron muy cercanos a los experimentales. Adicionalmente, demostraron que la capacidad de este tipo de complejos de Cu(II) para romper la cadena de ADN está relacionado con su capacidad reductora. Su conclusión es similar a la previamente expuesta por Ruiz-Azuara y colaboradores, donde se sugiere evaluar el potencial de media onda de los complejos de Cu(II) a fin de diseñar compuestos con potenciales aplicaciones anticancerígenas.

Konezny, Batista y colaboradores¹²⁰ han sugerido una serie de recomendaciones para obtener valores teóricos de $E_{1/2}$ precisos, los cuales pueden ser usados como herramienta predictiva de la capacidad citotóxica de nuevos complejos sintetizados o que se desean preparar. Ellos usaron el método isodésmico como se muestra en el **Esquema 22**, donde los valores de energía libre de Gibbs se obtienen de dicho ciclo termodinámico en diferentes estados de oxidación de los complejos y en diferentes fases (gas y solución). Dichas recomendaciones se comentan a continuación:

- i) Las simulaciones, deben ejecutarse bajo condiciones que se asemejen a las condiciones experimentales.
- ii) Ambos, la especie o especies en estudio, lo mismo que el RC, deben ser calculados a un mismo nivel de teoría.
- iii) Los centros metálicos de la especie o especies en estudio, lo mismo que el RC deben pertenecer al mismo periodo.

¹³⁰ Miao, T.; Deng, Q.; Gao, H.; Fu, X.; Li, S. Theoretical Studies on DNA-Cleavage Mechanism of Copper(II) Complexes: Probing Generation of Reactive Oxygen Species. *J. Chem. Inf. Model.*, **2018**, *58*, 859–866.

PLANTEAMIENTO DEL PROYECTO

Como trabajos previos lo han demostrado,⁴⁹ existe una relación entre la capacidad citotóxica y el potencial de media onda ($E_{1/2}$) de una serie de compuestos denominados Casiopeínas®.

Aunque en la actualidad existe una amplia gama de protocolos que ofrecen aproximaciones bastante precisas para la predicción teórica de los $E_{1/2}$, su capacidad esta limitada a compuestos de naturaleza orgánica (valores de error menores a 220 mV),¹²¹ o inorgánica con estructuras rígidas (errores cercanos o incluso por debajo de los 100 mV).^{123,128,129} Sin embargo, si estos protocolos son aplicados a sistemas inorgánicos flexibles, esta precisión es reducida (100 mV).¹²⁹

Por lo anterior, y dado que las Casiopeínas® son sistemas flexibles se desarrollará un protocolo teórico eficiente, de bajos costos computacionales, preciso y con errores menores a los reportados¹²⁹ para la predicción de $E_{1/2}$ de los complejos ya descritos en la literatura,^{49, 90e} que se compararán con los datos experimentales obtenidos en este proyecto.

HIPÓTESIS

Dado que el intercambio del ligante secundario en las moléculas denominadas Casiopeínas® parece no alterar de manera significativa la actividad de estas en modelos *in vitro*, siendo su función más importante la de transporte a través de membranas celulares, es posible realizar el intercambio de esta porción de la molécula por una cuya posible actividad se involucre en procesos de peroxidación lipídica (agente anticancerígeno), como regulador o inhibidor de la expresión la glicoproteína-P que es responsable de generar multirresistencia a fármacos a nivel celular; sinergizando así la actividad anticancerígena de este grupo de compuestos para lo cual fueron concebidas. Al igual las actividades antiproliferativas, un cambio pequeño en los valores de potencial de media onda ($E_{1/2}$) es esperado y se demostrará teóricamente tras la aplicación de un protocolo desarrollado para estos fines.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Desarrollar un protocolo eficiente, preciso y de bajos costos computacionales para la predicción de Potenciales de Media Onda ($E_{1/2}$) en complejos metálicos denominados Casiopeínas® para su aplicación como posible herramienta de predicción de la actividad biológica de esta serie de compuestos.

Objetivos Específicos

- Calibrar seis diferentes funcionales de la densidad (PBE, BP86, PBE0, B3LYP, M06-2X, WB97XD) de intercambio-correlación (XC), y evaluarlos desde una perspectiva estructural y termodinámica ($E_{1/2}$).
- Calibrar dos bases (LANL2DZ y SDDALL) con pseudopotenciales (ECP) en combinación con diferentes funcionales de la densidad para los átomos de cobre y hierro, y evaluarlos desde una perspectiva estructural y termodinámica ($E_{1/2}$).
- Calibrar y comparar un modelo explícito vs. un modelo implícito y su capacidad en la predicción de $E_{1/2}$.
- Seleccionar el nivel de teoría adecuado proveniente del estudio de calibración y completar el ciclo termodinámico del **Esquema 19** para:
 - a) Casiopeínas® con ligantes primarios conformacionalmente restringidos y no restringidos.
 - b) Casiopeínas® con diferentes ligantes secundarios.
 - c) El par redox de referencia ferroceno/ferrocinio (Fc/Fc^+)
 - d) Los cuatro complejos mixtos de Cu(II) preparados en este trabajo.

METODOLOGÍA

Todos los cálculos fueron ejecutados usando métodos DFT implementados en el programa Gaussian 09.¹³¹ Las optimizaciones de la geometría se realizaron empleando los funcionales PBE¹³², BP86¹³³, PBE0¹³⁴, B3LYP¹³⁵, M06-2X¹³⁶ y ω -BP97XD¹³⁷, y el conjunto de base 6-311+G* para los átomos de C, H, O y N; los átomos de hierro y cobre fueron representados empleando la base Los

¹³¹ Gaussian 09, Revision A.02, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, and D. J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.

¹³² (a) Perdew, J. P.; Burke, K.; Ernzerhof, M. Generalized gradient approximation made simple. *Phys. Rev. Lett.*, **1996**, *77*, 3865–3868. (b) Perdew, J. P.; Burke, K.; Ernzerhof, M. Errata: Generalized gradient approximation made simple. *Phys. Rev. Lett.*, **1997**, *78*, 1396.

¹³³ (a) Perdew, J. P. Density-functional approximation for the correlation energy of the inhomogeneous electron gas. *Phys. Rev. B*, **1986**, *33*, 8822–8824. (b) Perdew, J. P.; Wang, Y. Accurate and simple density functional for the electronic exchange energy: Generalized gradient approximation. *Phys. Rev. B*, **1986**, *33*, 8800–8802.

¹³⁴ (a) Adamo, C.; Barone, V. Toward reliable density functional methods without adjustable parameters: The PBE0 model. *J. Chem. Phys.*, **1999**, *110*, 6158–6169. (b) Ernzerhof, M.; Scuseria, G. E. Assessment of the Perdew-Burke-Ernzerhof exchange-correlation functional. *J. Chem. Phys.*, **1999**, *110*, 5029–5036.

¹³⁵ (a) Becke, A. D. Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. *Phys. Rev. A*, **1988**, *38*, 3098–3100. (b) Becke, A. D. Density-functional thermochemistry. IV. A new dynamical correlation functional and implications for exact-exchange mixing. *J. Chem. Phys.*, **1996**, *104*, 1040–1046. (c) Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Phys. Rev. B*, **1988**, *37*, 785–789.

¹³⁶ Zhao, Y.; Truhlar, D. G. The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals. *Theor. Chem. Acc.* **2008**, *120*, 215–241.

¹³⁷ Chai, J. D.; Head-Gordon, M. Long-range corrected hybrid density functionals with damped atom-atom dispersion corrections. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2008**, *10*, 6615–6620.

Alamos LANL2DZ¹³⁸ y Stuttgart-Köln SDDall¹³⁹ que incluyen pseudopotenciales. Para confirmar la adecuada convergencia al punto local mínimo y derivar las correcciones en la energía del punto cero (ZPE) a temperatura ambiente se realizaron los cálculos de frecuencia correspondientes al mismo nivel de teoría que para las optimizaciones de la geometría.

Las energías de solvatación fueron evaluadas explícita e implícitamente. Implícitamente se empleó la aproximación del Campo de Reacción Autoconsistente (SCRF, por sus siglas en inglés), usando el Modelo Continuo Polarizable como Conductor (CPCM,¹⁴⁰ por sus siglas en inglés) y la cavidad del soluto fue modelada empleando la geometría optimizada en fase gas y un conjunto de parámetros empíricos de los radios atómicos (Bondi) usados para modelar la superficie del soluto. La constante dieléctrica $\epsilon = 64.9121$ para la mezcla 2/5 (v/v) etanol/agua. Cabe hacer mención que este dato no se extrajo de fuente bibliográfica alguna, ya que para esta concentración de etanol no existe según nuestra búsqueda, ningún dato experimental. Sin embargo Katzee y colaboradores¹⁴¹ cuentan con una colección de datos de diferentes permitividades de mezclas etanol/agua con diferentes fracciones molares a temperaturas distintas. Así, empleando sus datos y apoyados en una interpolación fue que conseguimos llegar al dato aquí reportado. El modelo explícito se construyó con la adición gradual de moléculas de agua hasta que la última ya no estableciera interacción con el catión complejo, luego la parte más externa se describe nuevamente por el modelo CPCM.

Dado que la concentración del ión NO_3^- en el experimento es mucho mayor que la de los compuestos $[\text{Cu(II)-L}_1\text{L}_2]^+$ (50 mM de KNO_3 y 2.0 mM del complejo ternario, respectivamente), se consideró la posibilidad de la formación de un par iónico,¹⁴² por lo que la inclusión del ión nitrato para el cálculo de las energías libres en los modelos en estudio fue importante.

¹³⁸ Chiodo, S.; Russo, N.; Sicilia, E. LANL2DZ basis sets recontracted in the framework of density functional theory. *J. Chem. Phys.*, **2006**, *125*, 104107.

¹³⁹ Bergner, A.; Dolg, M.; Kuechle, W.; Stoll, H.; Preuss, H. Ab Initio Calculation of the Electronic States of ScTe Molecule below 19,500 cm^{-1} . *Mol. Phys.* **1993**, *80*, 1431–1441.

¹⁴⁰ (a) Barone, V.; Cossi, M. Quantum calculation of molecular energies and energy gradients in solution by a conductor solvent model. *J. Phys. Chem. A*, **1998**, *102*, 1995–2001. (b) Cossi, M.; Rega, N.; Scalmani, G.; Barone, V. Energies, structures, and electronic properties of molecules in solution with the C-PCM solvation model. *J. Comp. Chem.*, **2003**, *24*, 669–681.

¹⁴¹ Petong, P.; Pottel, R.; Kaatze, U. Water-Ethanol Mixtures at Different Compositions and Temperatures. A dielectric Relaxation Study. *J. Phys. Chem. A*, **2000**, *104*, 7420–7428.

¹⁴² Qu, X.; Persson, K. P. Toward Accurate Modeling of the Effect of Ion-Pair Formation on Solute Redox Potential. *J. Chem. Theory Comput.*, **2016**, *12*, 4501–4508.

Los potenciales experimentales fueron reportados como potenciales de media onda relativos referenciados al par redox ferroceno/Ferrocinio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A fin de conocer el efecto del ligante primario y secundario en el valor del potencial de media onda ($E_{1/2}$), se seleccionaron un conjunto de ocho complejos mixtos de Cu(II) de fórmula general $[\text{Cu(II)-L}^1\text{L}^2]^+$, con ligantes L^1 fenantrolina (*phen*) y bipyridina (*bpy*) que se muestran en la **Figura 40**. Es importante notar que los primeros cuatro complejos poseen *phen* como ligante primario y difieren en el ligante secundario, α -aminoacidato (*gly*) y acetilacetato (*acac*). De manera similar, las últimas cuatro comparten *bpy* como ligante primario. Por otro lado, los conjuntos [1, 2, 5 y 6] y [3, 4, 7 and 8] tienen el mismo ligante secundario pero difieren en su ligante primario. La utilidad de estas distinciones tendrá claridad más adelante cuando se expliquen el efecto de la diferente naturaleza de los ligantes en los valores de $E_{1/2}$.

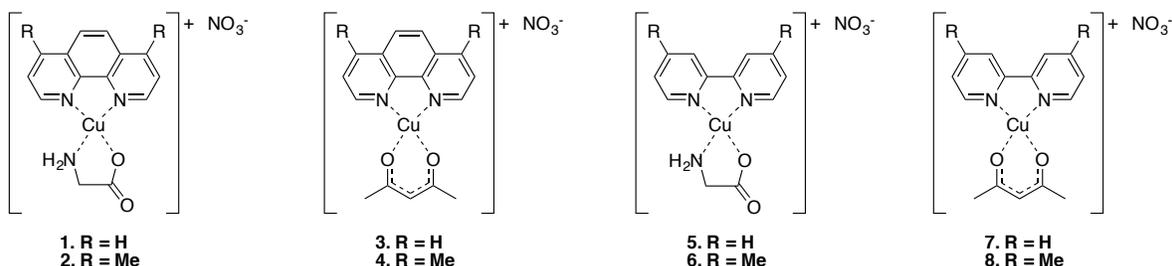


Figura 40. Derivados de Casiopeínas® seleccionados para este estudio teórico.

15.1 Determinación teórica del potencial de media onda ($E_{1/2}$) en Casiopeínas®: Calibración del método

A fin de calibrar los funcionales de intercambio-correlación (XC) y los conjuntos de bases que incluyen pseudopotenciales, se optimizó la geometría del Fc^0 (**Figura 41**).

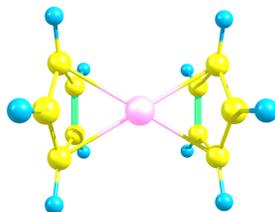


Figura 41. Geometría optimizada para el ferroceno (Fc)

La **Tabla 14** muestra las longitudes de enlace optimizadas para los enlaces Fe-C, C-C y C-H usando diferentes funcionales XC. Todas las optimizaciones fueron caracterizadas a través de cálculos de frecuencias. Como puede notarse, todos los funcionales predicen razonablemente bien

las longitudes de enlace seleccionadas al compararse con los datos cristalográficos y valores tomados de cálculos ab initio CCSD(T)/DZP.

Tabla 14. Principales Parámetros geométricos de Fc^0 .

Enlace	Longitud de enlace (\AA) ¹⁴³											
	PBE ^a		BP86 ^a		PBE0 ^a		B3LYP ^a		M06-2X ^a		ω B97XD ^a	
	LANL2DZ	SDDALL	LANL2DZ	SDDALL	LANL2DZ	SDDALL	LANL2DZ	SDDALL	LANL2DZ	SDDALL	LANL2DZ	SDDALL
Fe-C												
(2.05) ^b	2.04	2.05	2.05	2.08	2.04	2.05	2.08	2.08	2.13	2.13	2.06	2.06
(2.05) ^c												
C-C												
(1.43) ^b	1.44	1.44	1.44	1.43	1.42	1.42	1.43	1.43	1.42	1.42	1.42	1.42
(1.43) ^c												
C-H												
(1.07) ^b	1.09	1.08	1.08	1.08	1.08	1.08	1.08	1.08	1.08	1.08	1.08	1.08
(1.07) ^c												

^a El conjunto de base empleado para todos los átomos de H y C fue 6-311+g*. ^b Valores determinados experimentalmente. ^c Parámetros determinados a un nivel de teoría CCSD(T)/DZP.

Adicionalmente, se procedió a usar **1** como modelo para completar los estudios de calibración estructural. Ahora se compararon parámetros geométricos (**Tabla 15**) y termodinámicos ($E_{1/2}$, **Tabla 16**) a diferentes niveles de teoría. Luego de la optimización, se obtuvo una disposición geométrica cercana a la cuadra plana del cobre con sus ligantes, lo cual es consistente con la configuración $3d^9$ de acuerdo con la Teoría del Campo de Ligantes. Los parámetros experimentales fueron tomados de la estructura proveniente del análisis de difracción de rayos-X de monocristal (SCXRD) de **1** (ref. 90d), la cual exhibe una geometría piramidal de base cuadrada con un ión cloruro en la posición apical.

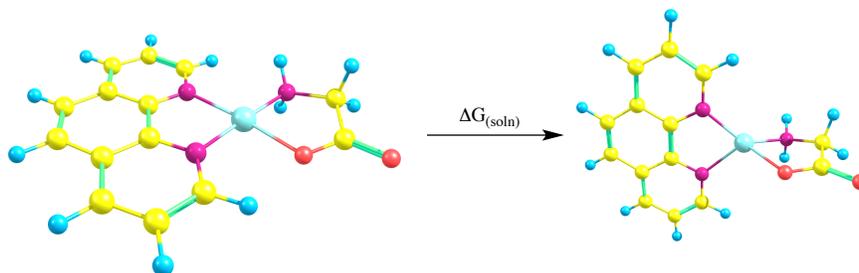
Tabla 15. Principales Parámetros geométricos de **1**.

Enlace	Longitud de enlace (\AA) ^a											
	PBE		BP86		PBE0		B3LYP		M06-2X		ω B97XD	
	LANL2DZ	SDDALL	LANL2DZ	SDDALL	LANL2DZ	SDDALL	LANL2DZ	SDDALL	LANL2DZ	SDDALL	LANL2DZ	SDDALL
Cu-O(1)												
(1.95)	1.95	1.92	1.95	1.96	1.90	1.88	1.91	1.89	1.89	1.89	1.89	1.87
Cu-N(1)												
(2.03)	2.08	2.06	2.08	2.06	2.06	2.04	2.08	2.07	2.07	2.07	2.05	2.04
Cu-N(2)												
(2.01)	2.03	2.02	2.03	2.01	2.01	1.99	2.03	2.01	2.02	2.02	2.01	2.00
Cu-N(3)												
(2.01)	2.07	2.06	2.07	2.06	2.04	2.03	2.06	2.05	2.06	2.06	2.04	2.03

^a El conjunto de base empleado para todos los átomos de H, C, N y O fue 6-311+g*.

¹⁴³ Coriani, S.; Haaland, A.; Helgaker, T.; Jørgensen, P. The equilibrium structure of ferrocene. *ChemPhysChem*. **2006**, *7*, 245–249.

Una vez que el átomo de cobre se ha reducido, este adopta una configuración $3d^{10}$ (**Esquema 22**), lo cual corresponde a una geometría tetraédrica.¹⁴⁴ En promedio, las longitudes de enlace de Cu-O(1), Cu-N(1), Cu-N(2) y Cu-N(3)son reproducidos con un 95%.



Esquema 23. Geometría optimizada para $[Cu(phen)(gly)]^+_{(g)}$ (izquierda) y $[Cu(phen)(gly)]^0_{(g)}$ (derecha).

La **Tabla 16**, sin embargo, muestra una variación mucho mayor para los valores de $E_{1/2}$ predichos (de las **Ec. 40, 41, 42 y 45**), los cuales fueron calculados usando las mismas geometrías optimizadas. Junto al efecto de par iónico mencionado anteriormente, la coordinación del contraión cloruro al catión complejo sugiere fuertemente la necesidad de incluir el contraión nitrato en la descripción del sistema teórico. Así, se realizó la determinación del $E_{1/2}$ usando al catión complejo con y sin contraión empleando el modelo CPCM como modelo de solvatación implícita con una constante dieléctrica apropiada de la mezcla de disolventes para el cálculo de ΔG_{Solv}^P y ΔG_{Solv}^R . El funcional híbrido-GGA B3LYP exhibe los errores más pronunciados mientras que las combinaciones PBE/LANL2DZ, PB86/SDDAll y PBE0/SDDAll reproducen mejor los valores experimentales. La presencia del contraión parece mejorar solo los resultados del funcional PBE.

Tabla 16. Potenciales de Reducción de Media Onda ($E_{1/2}$) para el modelo **1**.^a

$E_{1/2}^a$ (-259±3) ^b											
Catión complejo 1 sin contraión. ^c											
PBE		BP86		PBE0		B3LYP		M06-2X		ωB97XD	
LANL2DZ	SDDALL	LANL2DZ	SDDALL	LANL2DZ	SDDALL	LANL2DZ	SDDALL	LANL2DZ	SDDALL	LANL2DZ	SDDALL
-223.95	-307.7	-183.3	-246.4	-42.7	-293.2	-692.6	-129.7	-526.05	-743.7	-708.4	-358.3
Catión complejo 1 con contraión. ^d											
-195.5	-605.8	-402.4	-287.2 ^e	-141.8	-270.3	-616.9	-75.97 ^e	-688.50	-638.9	-758.0	-492.4

^a Se empleó CPCM como modelo de solvatación implícita y el conjunto de base para todos los átomos de H, C, O y N fue 6-311+g*. ^b Expresado en milivolts (mV), datos tomados del artículo de la Dra. Ruíz. ^c Sistema $[Cu(phen)(gly)]^0/[Cu(phen)(gly)]^+$. ^d Sistema $[Cu(phen)(gly)]^0(NO_3)_{(soln)}/[Cu(phen)(gly)]^+(NO_3)_{(soln)}$. ^e Al menos un cálculo del ciclo termodinámico presenta frecuencias imaginarias (menos de 14 cm^{-1})

¹⁴⁴ Solomon, E.-I.; Happner, D. E.; Johnston, E. M.; Ginsbach, J. W.; Cirera, J.; Qayyum, M.; Kieber-Emmons, M. T.; Kjaergaard, C. H.; Hadt, R. G.; Tian, L. Copper Active Sites in Biology. *Chem. Rev.*, **2014**, *114*, 3659–3853.

En la tercera fase de calibración se exploró el efecto del disolvente explícito. Al modelo **1** sin contraión le fueron agregadas gradualmente moléculas de agua una a una hasta completar nueve moléculas de agua, que fue el número de moléculas de disolvente más uno, en el que las moléculas de agua ya no exhibían una interacción directa con el catión complejo. Estas interacciones se midieron a través de parámetros geométricos asociados con las interacciones por puente de hidrógeno y la suma de los radios de van der Waals. Debido a las diferencias en las concentraciones entre las moléculas de contraión, metanol y agua se decidió incluir únicamente moléculas de agua en este paso de la calibración. Los alrededores de este sistema catión complejo-agua fue nuevamente descrito por el modelo de solvatación implícita CPCM. Como puede notarse (**Tabla 17**), la inclusión de moléculas explícitas de disolvente no mejoraron al compararlos con los valores reportados en la **Tabla 16**, pese al mayor gasto computacional. Los funcionales BP86 y B3LYP muestran las diferencias más grandes incluso exhibiendo valores positivos sugiriendo una tendencia a recibir electrones espontáneamente opuesta a la que se observa experimentalmente. Se podría argumentar que rodeando el catión complejo con moléculas de agua, estas protegen el átomo de cobre de ser reducido. Dado que esto es lo que realmente ocurre en el sistema, se podría especular que a este nivel de modelado, las moléculas solventes explícitas no compensan el efecto de combinación del funcional y el modelo implícito resultando en valores más pobres con el modelo explícito. Una excepción destacada son los resultados consistentemente equilibrados de la combinación PBE/LANL2DZ. Por lo tanto, utilizaremos esta combinación con el modelo implícito de CPCM para el resto del estudio.

Tabla 17. Potenciales de Reducción de Media Onda ($E_{1/2}$) para el sistema



$E_{1/2}^{\text{a}} (-259 \pm 3)^{\text{b}}$											
PBE		BP86		PBE0		B3LYP		M06-2X		ωB97XD	
LANL2DZ	SDDALL	LANL2DZ	SDDALL	LANL2DZ	SDDALL	LANL2DZ	SDDALL	LANL2DZ	SDDALL	LANL2DZ	SDDALL
-304.6	-388.5	78.8	-87.2	-111.40	-220.7	-495.3	143.4	-855.7	-1088.5	-1043.2	-220.7

^a Se empleó CPCM como modelo de solvatación implícita y el conjunto de base para todos los átomos de H, C, O y N fue 6-311+g*. ^b Expresado en milivolts (mV), datos tomados del artículo de la Dra. Ruíz.

15.2 Determinación teórica del potencial de media onda ($E_{1/2}$) en Casiopeínas®: Evaluación del efecto de los ligantes y del contraión

Consistentemente, tal y como se había expuesto en el apartado de INTRODUCCIÓN uno de los funcionales de los que se esperaba observar valores más aproximados y precisos era el funcional GGA PBE que ha ofrecido los resultados con el menor grado de desviación junto con la base LANL2DZ ECP. De este hecho se procedió a realizar la evaluación del efecto del ligante.

Dado que la inclusión de nueve moléculas de agua al sistema introduce un mayor gasto computacional sin obtener un beneficio en términos de precisión, se decidió explorar únicamente al resto de los cationes complejos **2-8** en presencia y ausencia del contraión NO_3^- .

Los resultados termodinámicos se resumen en la **Tabla 18** y se comparan con los datos experimentales.^{49, 90e} Los valores reportados en la **Tabla 18** se obtuvieron usando el funcional PBE, la base LANL2DZ ECP para el átomo de cobre y el conjunto de base 6-311+G* para el resto de los átomos. En la misma tabla y bajo el mismo nivel de teoría, se incluyen los valores teóricos de $E_{1/2}$ para los ocho compuestos donde se incluyen el contraión NO_3^- ; estos muestran una mejor correlación con los datos experimentales ($R^2 = 0.358$ vs. 0.994 y 0.800 vs. 0.987 para los grupos *A* and *B*, respectivamente).

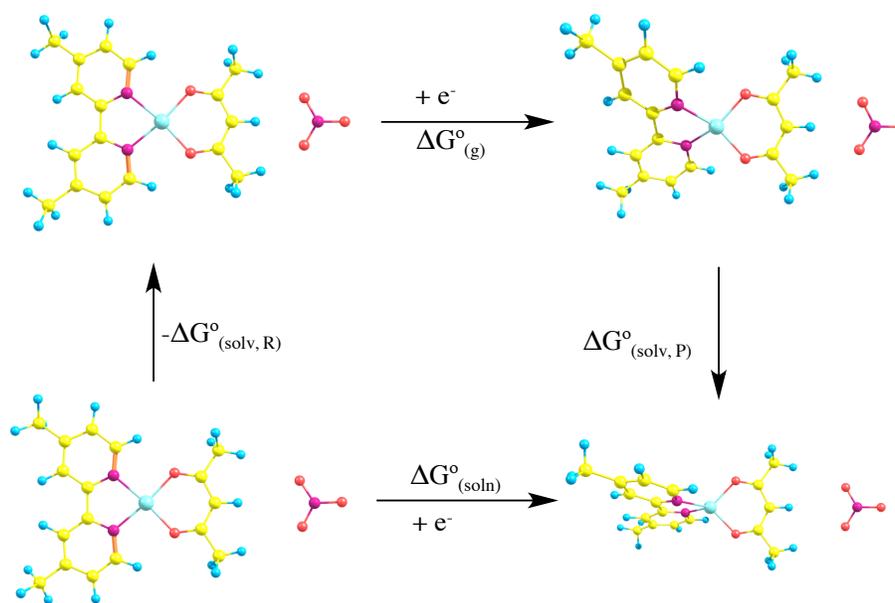
Tabla 18. Potenciales de media onda, $E_{1/2}$, teóricos y experimentales (mV)

Compuesto	Ligante primario	Ligante secundario	$E_{1/2}$		
			Experimental	Teórico	
				sin NO_3^-	con NO_3^-
1	<i>phen</i>	<i>gly</i>	-259 ^a	-224	-195
2	4,7-diMephen	<i>gly</i>	-310 ^a	-209	-410
3	<i>phen</i>	<i>acac</i>	-271 ^a	-239	-225
4	4,7-diMephen	<i>acac</i>	-318 ^a	-475	-450
Error RMS				96.3	91.7
MAE				81.3	85.5
Linear fit R^2				0.358	0.994
5	<i>bpy</i>	<i>gly</i>	-295 ^b	-263	-309
6	4,4'-diMebpy	<i>gly</i>	-316 ^b	-274	-350
7	<i>bpy</i>	<i>acac</i>	-318 ^a	-353	-347
8	4,4'-diMebpy	<i>acac</i>	-338 ^a	-466	-394
Error RMS				71.4	36.5
MAE				59.3	33.2
Linear fit R^2				0.800	0.987

^a Datos tomados de ref. [49]. ^b Datos tomados de ref. [90e].

El **Esquema 24** muestra el ciclo termodinámico y los cambios geométricos del compuesto

8.



Esquema 24. Geometrías optimizadas para $[\text{Cu}(4,4'\text{-diMebpy})\text{acac}]^{\text{+}}\text{NO}_3^{-}$ (izquierda) y $[\text{Cu}(4,4'\text{-diMebpy})\text{acac}]^{\text{0}}\text{NO}_3^{-}$ (derecha) en el ciclo termodinámico redox. Nota que $[\text{Cu}(4,4'\text{-diMebpy})\text{acac}]^{\text{0}}\text{NO}_3^{-}$ en fase gas no mantiene completamente la disposición tetraédrica encontrada cuando los efectos del solvente son considerados.

La **Figura 42** muestra el gráfico de los valores de $E_{1/2}$ teóricos vs. experimentales para los ocho compuestos con y sin contraión NO_3^{-} . Es preciso hacer notar que los valores de R^2 para las regresiones lineales respecto de los datos experimentales es bajo en ambos casos, 0.783 y 0.479 con y sin contraión, respectivamente. Sin embargo, como previamente se comentó, es posible particionar a los ocho compuestos en dos grupos dependiendo de la naturaleza de su ligante primario y pertenecer al Grupo *A* o *B*: En el Grupo *A* están los compuestos que contienen *phen* como ligante primario (compuestos **1**, **2**, **3** y **4**), mientras que en el grupo *B* se hayan las moléculas que contienen al ligante *bpy* (compuestos **5**, **6**, **7** y **8**).

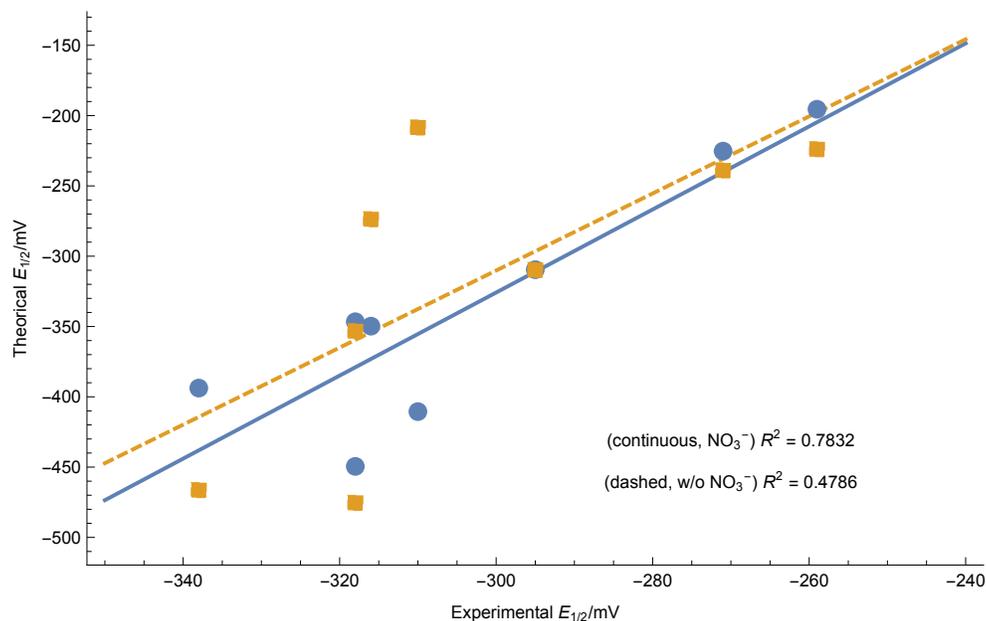


Figura 42. Potenciales de media onda, $E_{1/2}$, teóricos y experimentales (tomados de las referencias (45) y (83e)) para los compuestos **1-8** con (círculos azules, $R^2 = 0.783$) y sin (cuadros amarillos, $R^2 = 0.479$) el contraión NO_3^- .

La **Figura 43** muestra el gráfico de los valores de $E_{1/2}$ teóricos vs. experimentales para los grupos *A* y *B* por separado para los modelos donde se incluyen el contraión NO_3^- . De esta manera, se encontraron excelentes valores de correlación con valores de R^2 de 0.994 y 0.987, respectivamente.

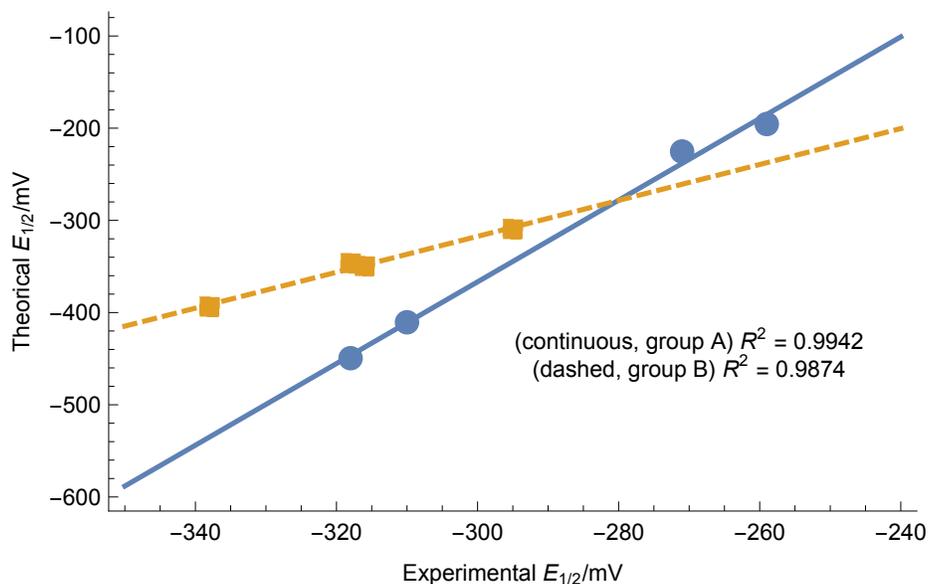


Figura 43. Potenciales de media onda, $E_{1/2}$, teóricos y experimentales (tomados de las referencias (45) y (83e)) para el grupo *A* (círculos azules, $R^2 = 0.994$) y el grupo *B* (cuadros amarillos, $R^2 = 0.987$).

En un estudio reciente donde Pandith *et al.*¹⁴⁵ realizaron cálculos DFT para estudiar la capacidad donadora- σ y aceptora- π en ligantes aromáticos tipo diimina ($N-N$), donde demostraron que *bpy* es, de hecho, un mejor ligante que *phen*. Un mejor ligante volverá al átomo de cobre más negativo, lo que desplazará el equilibrio (mostrado en la **Esquema 22**) a la izquierda y obteniéndose valores más positivos de ΔG^0 . Como consecuencia, la **Ec. 40** dicta que se obtendrá un valor más negativo de $E_{1/2}$. Los resultados expuestos en la **Tabla 17**, confirman la conclusión de Pandith *et al.* Además, el anillo aromático extra en *phen*, lo vuelve un ligante mucho más rígido, a diferencia de *bpy*, lo cual facilita el cambio a una geometría tetraédrica asociada con el cambio en estado de oxidación del ión cobre.¹⁴⁶ Este fenómeno se aprecia también para los derivados con ligante secundario *acac* (**Figura 44**), los cuales muestran valores de $E_{1/2}$ más negativos.

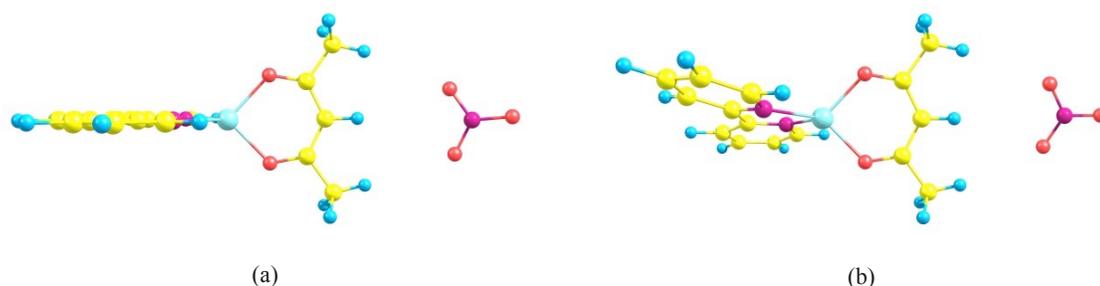


Figura 44. Geometrías optimizadas para la pareja de Casiopeínas® reducidas que comparten el mismo ligante secundario *acac*. **3** (izquierda) y **8** (derecha). Notar que el ligante *phen* (a) es más rígido que *bpy* (b).

A fin de demostrar que la metodología aplicada en los estudios preliminares puede considerarse de uso universal para la predicción de $E_{1/2}$, esta fue aplicada en un conjunto de ocho Casiopeínas® más (**2, 3, 5-7, 9, 10 y 12** en la **Figura 45**).

¹⁴⁵ Maqsood, S. R.; Islam, N.; Bashir, S.; Khan, B.; Pandith, A. H. Sigma donor and pi acceptor characteristics of certain NN-bidentate ligands: a DFT Study. *J. Coord. Chem.*, **2013**, *66*, 2308–2315.

¹⁴⁶ James, B. R.; Williams, R. J. P. The Oxidation-Reduction Potentials of Some Copper Complexes. *J. Chem. Soc.* **1961**, *0*, 2007–2019.

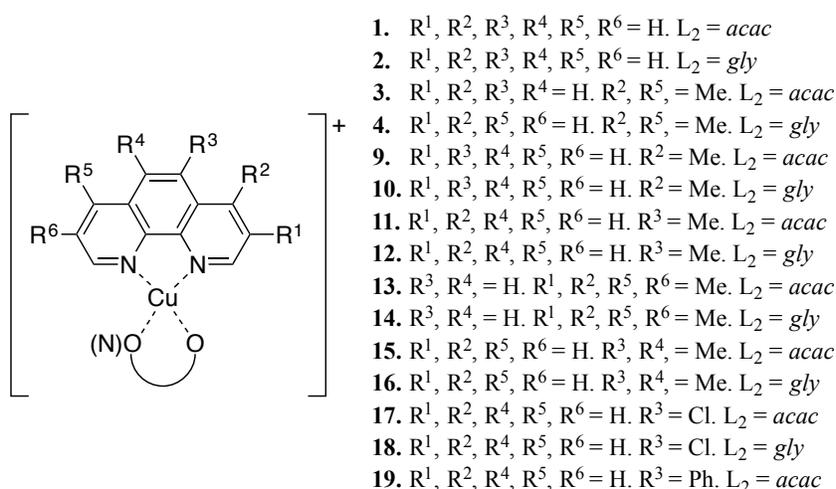


Figura 45. Conjunto completo de doce complejos mixtos de Cu(II) con *phen*.

Los resultados combinados con los primeros cuatro compuestos del Grupo A, se presentan en la **Tabla 19** y se comparan con los datos experimentales previamente reportados. El valor de $R^2=0.913$ muestra una muy buena correlación considerando la diversidad y el número de compuestos estudiados.

Tabla 19. Potenciales de media onda, $E_{1/2}$, en mV para todos los complejos que contiene *phen*.

Compuesto	X	Ligante Secundario	$E_{1/2}$	
			Experimental	Teórico (con contraión)
1	H	<i>acac</i>	-271	-225
2	H	<i>gly</i>	-259	-195
3	4,7-diMe	<i>acac</i>	-318	-449
4	4,7-diMe	<i>gly</i>	-310	-410
9	4-Me	<i>acac</i>	-290	-317
10	4-Me	<i>gly</i>	-281	-323
11	5-Me	<i>acac</i>	-282	-297
12	5-Me	<i>gly</i>	-273	-204
13	3,4,7,8-tetraMe	<i>acac</i>	-307	-418
14	3,4,7,8-tetraMe	<i>gly</i>	-302	-336
15	5,6-diMe	<i>acac</i>	-298	-391
16	5,6-diMe	<i>gly</i>	-292	-390
17	5-Cl	<i>acac</i>	-236	-146
18	5-Cl	<i>gly</i>	-221	-179
19	5-Ph	<i>acac</i>	-248	-244
20	H	β -Ala	-242	-268
21	H	β^3 -MeAla	-251	-197
22	H	β^3 -CyAla	-240	-212
23	H	β^3 -PhAla	-247	-129
RMS Error				68.7
MAE				58.4
Linear fit R^2				80.2

^a Datos tomados de ref. [49].

15.3 Determinación teórica del potencial de media onda ($E_{1/2}$) en Casiopeínas®: Puesta a prueba del protocolo desarrollado en Casiopeínas® recién sintetizadas y por sintetizar.

La metodología teórica desarrollada (PBE/LANL2DZ/6-311+G*/CPCM) se aplicó para la determinación del $E_{1/2}$ para las cuatro Casiopeínas® reportadas en la sección anterior (**Figura 46**).

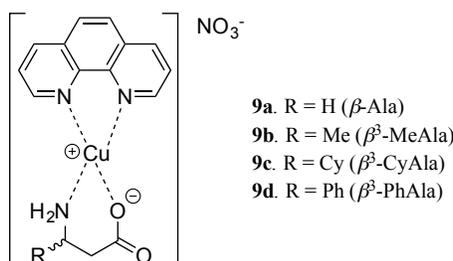


Figura 46. Conjunto de cuatro complejos mixtos de Cu(II) **9a-9d** (en esta sección **20-23**), preparadas en el apartado experimental de este trabajo.

Los resultados de este apartado se resumen en la **Tabla 18**, donde es posible observar que aun con la incorporación de residuos de β -amino ácidos, ligantes secundarios más flexibles que *acac* y *gly*, los resultados obtenidos son de una precisión considerablemente buena.

Una vez que se ha demostrado la efectividad del protocolo desarrollado en el presente trabajo para la predicción de $E_{1/2}$, se decidió aplicarlo a la molécula del complejo mixto de cobre(II) con ligante secundario el β^2 -amino ácido derivado de la indometacina que no fue posible preparar (compuesto **24** en esta sección, **Figura 47**). Lo anterior con la intención de establecer si esta tendrá nueva molécula una vez preparada tenga una actividad comparable a las ya reportadas. Teóricamente, se estableció un valor de -272 mV y con ello una actividad similar a las Casiopeínas® sintetizadas en este trabajo es esperada. Adicionalmente, se calculó el $E_{1/2}$ de la Casiopeína® análoga **25**; dado su patrón de sustitución en el anillo de *phen* era de esperarse un valor más negativo (-300 mV) y con ello un leve aumento en su actividad citotóxica.

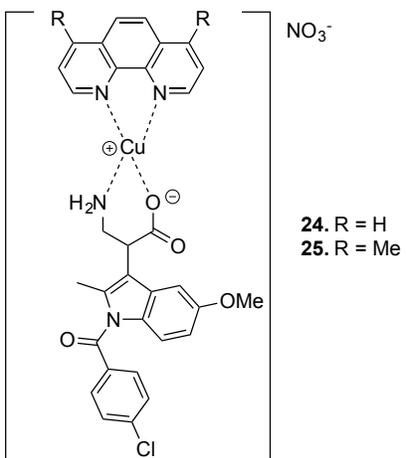


Figura 47. Casiopeínas® 24 y 25 que se prepararán en un futuro próximo

CONCLUSIONES

Se realizó un estudio de calibración usando la Teoría de los Funcionales de la Densidad (DFT) para evaluación de la efectividad del funcional de intercambio-correlación (XC), la base que incluye pseudopotenciales (ECP) y el uso de modelos explícitos e implícitos, lo mismo que su combinación. En todos los casos estudiados el funcional XC GGA PBE fue el que mostró las menores desviaciones respecto del valor reportado experimentalmente en conjunto con la base LANL2DZ ECP. Adicionalmente, no se observó una mejoría significativa en los resultados con la inclusión de un nueve moléculas de agua, aún con el aumento en el consto computacional. De los resultados del estudio de calibración se desarrolló una metodología eficiente, precisa y de bajo costo computacional para la predicción del potencial de media onda ($E_{1/2}$) en un conjunto de 16 complejos mixtos de Cu(II) (Casiopéinas) usando el funcional XC GGA PBE, la base LANL2DZ ECP para los átomos de cobre y hierro y el conjunto de base 6-311+G* para el resto de los átomos y usando el modelo de solvatación implícita CPCM. Los dieciséis complejos mixtos de Cu(II) estudiados pueden ser divididos en dos grupos de acuerdo a su ligante primario (L^1): fenantrolina (*phen*, grupo *A*) y bipyridina (*bpy*, grupo *B*). Los valores teóricos obtenidos mostraron una excelente correlación con los datos experimentales cuando el contraión NO_3^- es incluido en los modelos moleculares: $R^2 = 0.913$ y 0.987 para los dos grupos, respectivamente.

Los resultados confirman además que el $E_{1/2}$ de estos complejos depende de la naturaleza del ligante bidentado primario *N-N*. Un mejor ligante (*bpy* en este caso), el cual es caracterizado por considerarse un mejor donador σ y baja capacidad aceptora π , resulta en valores de $E_{1/2}$ más negativos. Además, un ligante más flexible podría adoptar fácilmente la configuración tetraédrica necesaria para la reducción del cobre y, por lo tanto, se observan valores más positivos de $E_{1/2}$. Así, los complejos que poseen el ligante acetilacetato (*acac*) que es más rígido, exhiben valores de $E_{1/2}$ más negativos que aquellos con glicina (*gly*). Los presentes resultados pueden ser útiles en el diseño de nuevos complejos de Cu(II) en general, y de manera particular en el diseño de nuevas Casiopéinas®.

Los valores de error (MAE) fueron 68 mV y 86 mV para los grupos *A* y *B* respectivamente, que son más pequeños que los reportados por Yan et al. y Chaparro y Alí-Torres, aunque los últimos reportan un conjunto mayor de moléculas estudiadas. Como previamente se comentó Pandith, la flexibilidad del ligante-por ejemplo, la rotación de los grupos metilo- agrega complejidad a los sistemas estudiados y conseguir aproximaciones de mayor precisión en el cálculo de los $E_{1/2}$ se dificulta. Para complejos de Cu(II) con ligantes mixtos y flexibles como en nuestro caso, Chaparro y Alí-Torres reportan el valor de $E_{1/2}$ de 64 compuestos, diecinueve de los cuales son moléculas quelatadas con complejos mixtos y flexibles como en este trabajo; vale la pena

destacar que el MAE reportado para estos 19 complejos es de 100 mV, lo que resalta la utilidad/validez del enfoque actual.

A fin de demostrar la efectividad del protocolo desarrollado junto con el modelo matemático construido, este se aplicó para predecir los valores de $E_{1/2}$ de los cuatro complejos mixtos de Cu(II) (**9a-9d**) preparados en este trabajo. El valor de MAE (13.5 mV) nos permite evidenciar la potencial aplicación con la que cuenta el modelo en la predicción esta propiedad en complejos similares que se desearan preparar a futuro, pues como antes se ha mencionado las Casiopeínas® con los valores más negativos de $E_{1/2}$ son aquellas que exhiben mejores actividades biológicas.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS

Coordinación de Programas Educativos

Posgrado en Ciencias



**DR. VICTOR BARBA LÓPEZ
COORDINADOR DEL POSGRADO EN CIENCIAS
PRESENTE**

Atendiendo a la solicitud para emitir DICTAMEN sobre la revisión de la TESIS titulada "Diseño, preparación, caracterización y evaluación citotóxica de complejos de cobre (II) con β -aminoácidos como ligantes (Casiopéinas® de tercera generación)" que presenta el alumno Jonathan Román Valdéz Camacho (5620131208) para obtener el título de **Doctor en Ciencias**.

Nos permitimos informarle que nuestro voto es:

NOMBRE	DICTAMEN	FIRMA
Dra. Lena Ruíz Azuara FQ-UNAM	Aprobado	
Dra. Laura Patricia Álvarez Berber CIQ-UAEM	APROBADO	
Dr. Eusebio Juaristi Cosío CINVESTAV	Aprobado	
Dr. Ramón Hernández Lamonedá CIQ-UAEM		
Dr. José Alfredo Vázquez-Martínez FQ-UNAM	Aprobado	
Dr. Herbert Höpfl Bachner CIQ-UAEM	Aprobado	
Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez FF-UAEM	Aprobado	