

37  
2ej



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA**

**DETERMINACION DE LAS CONSTANTES DE ESTABILIDAD DE  
COMPUESTOS HETEROQUELATOS DE Cu (II)**

T E S I S  
que para obtener el título de  
Q U I M I C A  
p r e s e n t a  
Norma Angélica Ortega Villar



México, D.F.

1996

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

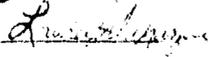
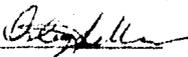
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente	Prof. Ruiz Azuara Lena
Vocal	Prof. Moreno Esparza Rafael
Secretario	Prof. Gasque Silva Laura Maria
1er. Suplente	Prof. González Chavez José Luz
2do. Suplente:	Prof. Sosa Torres Martha Elena

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA

Departamento de Química Inorgánica  
División de Estudios de Posgrado  
Facultad de Química, UNAM

Asesor:	Dr. Rafael Moreno Esparza 
Supervisor Técnico:	Dra. Laura María Gasque Silva 
Sustentante:	Norma Angélica Ortega Villar 

Antes que nada este trabajo (y todos mis logros) se lo dedico a las personas con las que he contado y contare *siempre*, con la confianza de que ellos y ella sepan que cuentan y contarán conmigo para todo, es decir, a mi familia: mis papás, María de Lourdes Beatriz Villar Cuevas y Luis Ortega Rueda y a mi hermano César Octavio.

A mis papás, porque no los quiero únicamente por la situación natural que nos relaciona, los quiero porque como seres humanos merecen mi amor, respeto, admiración y confianza. Porque ellos son la única prueba (y con ella me basta) de que se puede vivir con honradez, honestidad y dignidad. Porque los principios que nos inculcaron (siendo ellos veinteañeros) aun los mantienen, y no han servido de excusa ni el paso de los años, ni la necesidad de mantener un trabajo o de acceder a otro nivel social, ni sus hijos, (vaya, ni el "nuevo orden mundial") para que los abandonen. Aun mantienen sus utopías, su generosidad, su solidaridad y su odio a todo lo injusto, siguen siendo fieles "seguidores de causas perdidas". Nunca los he visto agachar la cabeza, es algo que no se les da, su calidad de hedonistas les impide siquiera pensarlo. Los quiero además porque las únicas veces que se molestan conmigo es cuando atento contra la libertad que tanto me han procurado. Los quiero porque sé que lo único que esperan de mí es que me sienta plena, feliz y libre y que lo logre por mis medios, sin pisotear a nadie, ya que ellos, en una extraña mezcla de canciones de José Alfredo Jiménez y películas de Ingmar Bergman me dieron las armas necesarias para lograrlo, no los defraudaré. Gracias, papás.

A mi hermano César porque es la persona más noble que he conocido, porque es mi compañero de toda la vida, mi cómplice, porque es incapaz de engañarme, porque se enfurece cuando me agreden y llora cuando sufro, también rie y se enorgullece cuando tengo algún triunfo y se pone muy triste cuando me peleo con él. Lo quiero porque difícilmente encontraré a un hombre tan respetuoso y amoroso como él lo es. Por su incorregible ingenuidad y su excepcional inteligencia. Además, por su gran sentido del humor, con el cual le hacemos bromas a mis padres que ellos no entienden, solamente él y yo, bromas construidas por años, bromas que son parte de nuestra vida y convivencia juntos, que son muestra de nuestra gran complicidad. Gracias, hermano. Y gracias Gaby, por quererlo.

A mis tíos Leticia Villar Cuevas y Leopoldo Cuevas Cuevas y mis primas Citlalli, Fabiola y Rosaura, por su inagotable amor y apoyo, porque tengo muy presente que ustedes

han estado cerca en todos los sucesos de mi vida, acompañándome en los alegres y consolándome en los tristes

A mi abuelita Josefita Rueda de Ortega, por su capacidad de trabajo y de lucha. Salud, abuelita!

A Demetrio David, Laura Vargas, Zamir y Nadim Elhazib, porque siempre han querido a mi familia y siempre se han preocupado por ella. Les dedico esta tesis como la hija y la hermana que no tuvieron

A mis mejores amigos desde la infancia, casi hermanos de toda la vida: Penelope Patricia Atristain y Jorge Gidi. Porque sé que aunque haya temporadas en las que no nos veamos (nos dedicamos a cosas tan distintas) siempre estamos cerca el uno de las otras, o la una de los otros, o la otra de los unos, como quieran. Porque los quiero siempre

A mi mejor amiga desde la juventud: Pilar Aranda, la más solidaria, la más amorosa. Porque con una sola mirada podemos comunicarnos. Porque a ella nunca he tenido que explicarle lo que he necesitado, ella lo intuye y lo proporciona sin pedir nada. Así es Pilar.

A mis inagotables tristezas, a los que siempre extrañare: Nadim David<sup>2</sup>, Germán Velázquez<sup>2</sup>, Rolando Montemayor<sup>2</sup>, Octavio Juárez<sup>2</sup> y Luis Alberto Alvarado<sup>2</sup>.

Al consejo estudiantil universitario (ceu), porque de plano es lo mejor que me ha tocado vivir como universitaria. Muchos de los que participamos en el ceu ahora somos buenos amigos, convencidos, por cierto, de que la vida política no es lo nuestro

A Enrique Ruiz, porque él es el amigo que más me conoce. Porque a él me unen muchas aventuras y muchos sueños. Porque entre nosotros hay un sentimiento particular que solo él y yo entendemos, porque él es mi otro cómplice.

A Norma Quiroz y Alfredo Linares, porque ellos sí se tomaron en serio la idea de sacrificarlo todo por amor a su gente, de luchar por lograr una Latinoamérica mejor. Porque deseo con todo el corazón volver a verlos y besarlos, para después tomarnos unos tequilas a la salud de un mundo menos injusto. Aquí sí vale decir: hasta siempre, compañeros!

A Gabriel Elias y Cecilia Clausen, por sus corazones siempre abiertos a dar cariño, porque siempre están atentos para acudir a dar una caricia alentadora, una frase dulce al amigo que lo necesite. Por que se que ahí están

A Monica Juárez y Marcela Díaz, porque pocas personas como ellas anteponen a todo el valor de la amistad, para ellas es lo único que cuenta más allá de sus intereses personales. Gracias por dejarme entrar a su mundo, amigas

A Gerardo Medina, por su ternura, por su capacidad de entrega, por su lealtad, porque no le teme al compromiso del amor. ¡Qué fortuna la mía habernos conocido!

A Carlos Amador, porque llegó, se presentó y se quedó ahí como el más tiel de los amigos, el más generoso, el más espléndido. Porque desde que lo conozco ha estado justo a tiempo para no dejarme caer, levantarme y hasta mimarme. Basta con sentirlo cerca para saber que no estoy sola

A Rafael Moreno, porque él no solamente es mi asesor o tutor, es un amigocho con el que juego, cotorreo, me peleo, me reconcilio, me hace enojar, lo hago enojar, me apapacha, lo apapacho, en fin, porque es un gran compañero. Por su calidad humana, por su nobleza, por su comprensión. Porque me cae mejor cuando habla de la vida que cuando me habla de Química. Gracias güero, por todo lo que me has dado y porque no ocultas tu cariño

A la Compañía Orlando, Hortensia, Rosario y las Chillys Willys (Salvador, Gloria y Adela). De todo corazón, gracias por invitarme a la aventura de hacer teatro a nuestra manera. Les dedico esta tesis como muestra de mi admiración y cariño porque saben vivir como quieren vivir. Porque son una alternativa de libertad

A Gustavo Espino, por ser la leyenda viviente, porque es una persona que se arriesga, que se presenta tal como es, sin máscaras, sin defensas, porque se expone a los demás en carne viva. Porque es un artista. Por haber aceptado ser mi Henry Miller.

A Alejandro Baeza. Porque me permitió entrar a su intimidad, por considerarme su amiga. Porque me hizo sentir la alegría de estar viva, porque está aquí con los que lo queremos

A Hector García, por los momentos felices que pasamos, por lo que vivimos juntos, por lo que solamente él y yo sabemos

A Rubén, Julio César, Antonio, Claudia y Julia, mis compañeros de generación, porque he contado siempre con su compañía y sus consejos. Porque saben escuchar, por su apoyo mudo, porque han sido cariñosos, porque me han dado mucho sin yo darles algo.

A Alerka, Armando, Gina, Rodolfo y Gilberto, con especial cariño, porque han defendido y mantenido su amistad hacia mí. Eso no lo olvidaré, amigos.

Al Cine Club Química, "mis hijos" porque esos muchachos son un ejemplo de entusiasmo y compromiso con lo que les rodea, porque son las únicas personas que constantemente me han inyectado vida y alegría. Porque con gente como ellos tengo la esperanza de que se pueden lograr los sueños, los proyectos locos, los necesarios para sentirnos vivos, ellos no se rinden. Gracias por dejarme ser "su mami" a Mariano, Emuliano, Alfonso, Víctor, Guillermo, Pablo, Estela, a los nuevos: Javier, Irving, Andreina y por supuesto, con el todo amor de siempre, a Luis Olguín (el de la hermosa mirada).

A los "anexos" del CCQ, por su compañerismo y apoyo a mis hijos. Porque cuando se comprometen lo hacen en serio: Acely, Ricardo, Andrés, Carolina, Liliana y Ana.

A Manuel y Felipe del Cine Club de Ingeniería, porque son compañeros de viejas batallas. Porque sé que cuento con ellos y ellos saben que cuentan conmigo cuando trabajemos para cambiar "nuestra casa".

A Fernando Cortés, por su fidelidad y congruencia a sus ideales.

A los chavos de Orgánica, con los que pasé muy buenos ratos: Blas, Margarita, Federico, Charly, Martín, Angeles, Marco, George y Johnny.

A los amigos de Teórica: Eduardo, José Luis, Sergio, Gustavo T. y Karl.

A los amigos y compañeros de Inorgánica: Lena, Isabel, Gerardo F., Ma. Esther, Mabel, Héctor, Tere, Alejandro, Luz María, Mary, Roxana, Laura, Sigfrido, Armando M., Angel, Jorge, Gaby, Aracely, Víctor, Rocío, Jorge T. y Erika.

A los maestros de los cuales me impresionó su compromiso con la docencia y su respeto a los alumnos: Gisela Hernández, Vicente Talanquer, Mayo Martínez y José Manuel Méndez Stivalet.

Todos ellos, de una u otra forma me han motivado y apoyado para (¡por fin!) acabar la licenciatura; además estuvieron conmigo en alguna de las experiencias que tuve durante ese periodo (fueron tantas que por poco y no terminé la carrera), así que no me quedé con las ganas de dedicarles la tesis.

GRACIAS, A TODOS.

## AGRADECIMIENTOS

Agracezco a la Dra. Laura Gasque por su supervisión y recomendaciones a lo largo de todo el desarrollo de este trabajo. Al Dr. José Luz Chávez González por las oportunas observaciones sobre la escritura de esta tesis. Y a la Dra. Lena Ruiz Azuara por su constante asesoría y apoyo desde mi ingreso a su equipo en el Departamento de Química Inorgánica y Nuclear de la División de Estudios de Posgrado.

## INDICE

ABREVIATURAS.....	1
PRÓLOGO.....	2
CAPITULO 1 ANTECEDENTES	
1.1 INTRODUCCIÓN	
1.1.1. Presencia de los metales en los sistemas biológicos.....	4
1.1.2. El Cu en el metabolismo humano.....	9
1.1.2.1. Complejos ternarios de Cu (II).....	10
1.1.3. Casiopeínas.....	12
1.2. CRITERIOS DE ESTABILIDAD DE COMPLEJOS TERNARIOS EN SOLUCIÓN	
1.2.1. La homeostasis y la especiación química.....	14
1.2.2. Constante de estabilidad.....	14
1.2.3. Determinación de constantes de estabilidad.....	15
1.2.4. Estabilidad de los compuestos de coordinación mixtos.....	19
1.2.5. Objetivos.....	26
CAPITULO 2. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	
2.1 DESCRIPCIÓN DE LOS EQUILIBRIOS.....	27
2.2 DESARROLLO EXPERIMENTAL	
2.2.1. Calibración.....	31
2.2.2. Reactivos y equipo.....	32
2.2.3. Procedimiento experimental.....	32

CAPÍTULO 3 RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN	36
CAPÍTULO 4 CONCLUSIONES	47
BIBLIOGRAFÍA	49
APÉNDICE I	52
APÉNDICE II	57

## ABREVIATURAS

1,10 fen : 1,10 - fenantrolina

gli : L - glicina

ala : L - alanina

ser : L - serina

leu : L - leucina

ileu : L - isoleucina

pro : L - prolina

tir : L - tirosina

fal : L - fenilalanina

$\beta$  : constante de formación global

$\log K_{M(II)-ATP}$  : logaritmo de la constante de formación del aducto de M(II) y ATP

$$K_{M(II)-ATP} = \frac{[M(ATP)]}{[M][ATP]}$$

$\log K_{MA}^M$  : logaritmo de la constante de formación de MA:

$$K_{MA}^M = \frac{[MA]}{[M][A]}$$

$\log K_{MAB}^{MA}$  : logaritmo de la constante de formación de MAB a partir de MA y B:

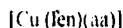
$$K_{MAB}^{MA} = \frac{[MAB]}{[MA][B]}$$

$\log K_{MAB}^M$  : logaritmo de la constante de formación de MAB a partir de M, A y B:

$$K_{MAB}^M = \frac{[MAB]}{[M][A][B]}$$

## PROLOGO

La presente tesis se refiere al estudio de la estabilidad de complejos heteroquelatos de Cu(II) del tipo



donde fen es 1, 10 fenantrolina (aceptor  $\pi$  y donador N-N) y aa es un aminoácido (donador O-N), algunos de los cuales han presentado actividad antineoplásica

Este estudio se llevo a cabo por medio de la determinación de sus constantes de formación en medio acuoso, empleando el método potenciométrico. El tratamiento de datos se hizo con el programa SUPERQUAD. Con base en los resultados y en las estructuras de rayos X se ha caracterizado la estabilidad y definido el comportamiento de estos compuestos en medios similares al intracelular.

En el primer capítulo se presenta una revisión de los antecedentes. En una primera parte se describe la importancia de los metales en los sistemas biológicos y la forma en la que interactúan con las biomoléculas. Se particulariza sobre el caso del Cu(II), describiendo los procesos enzimáticos más importantes en los que participa, se muestran algunas investigaciones recientes sobre complejos ternarios de Cu(II) y su actividad en sistemas biológicos y finalmente se describe la estructura de los complejos ternarios mixtos de Cu(II) con los que se trabajó, haciendo hincapié en los factores que favorecen su estabilidad. En la segunda parte se explica la manera en la que se define una constante de estabilidad, así como una breve descripción de los métodos experimentales y computacionales que se emplean en la actualidad para calcular el valor de dichas constantes. Finalmente se detallan las conclusiones a las que se han llegado en el estudio de la estabilidad de los compuestos ternarios en la Química Bioinorgánica, así como los parámetros que determinan esa estabilidad.

En el segundo capítulo se detalla el método experimental. Se describen primero los equilibrios que sirvieron de base para el desarrollo de la técnica experimental y el posterior tratamiento de datos. Se hace además una relación del trabajo experimental, donde se

enumeran tanto el material como los reactivos empleados, se describe la calibración del método, la preparación de disoluciones y la manera en la que se desarrollaron los experimentos.

En el tercer capítulo se presenta la tabla de resultados, así como dos estructuras relacionadas a este estudio, con base en estos elementos se desarrolla el análisis y la discusión sobre la estabilidad de los compuestos ternarios estudiados.

En el cuarto capítulo se plantean las conclusiones con base en el análisis de los resultados del capítulo tres.

En la parte final se proporciona la bibliografía consultada para el desarrollo de esta tesis y se anexan dos apéndices con las gráficas que resultaron de las titulaciones y con la descripción de los modelos y datos empleados para el desarrollo de los cálculos.

## CAPITULO I

### ANTECEDENTES

“Si piensas que la bioquímica es la química orgánica  
de los sistemas vivos, estas en un error,  
la bioquímica es la química de coordinación de los sistemas vivos”

Woods

### 1.1 INTRODUCCIÓN

#### 1.1.1 PRESENCIA DE LOS METALES EN SISTEMAS BIOLÓGICOS.

Podemos decir que la química bioinorgánica constituye la disciplina ubicada entre las áreas de la química inorgánica y la biología. ya que, “aunque la biología está asociada generalmente a la química orgánica, los elementos inorgánicos son de importancia primordial para los procesos de la vida” [1].

La bioinorgánica clasifica a los iones metálicos por su efecto en los seres vivos en tres categorías:

a) Esenciales: Aquéllos cuya presencia es determinante para el buen funcionamiento de funciones biológicas y por ello para el óptimo desarrollo del organismo.

b) No esenciales: Aquéllos cuya presencia no es primordial para que se lleven a cabo las reacciones presentes en el metabolismo pero que en caso de encontrarse presentes si favorecen esas reacciones

c) Tóxicos: Aquéllos cuya acción es dañina para el desarrollo del ser vivo ya que su presencia inhibe reacciones biológicas

La figura 1 muestra una tabla periódica en la que se especifican los metales y su importancia en bioinorgánica [1].



interactúan, esto hace que su función este íntimamente ligada a la naturaleza de los ligantes que los rodean y a las características de las fuerzas que los unen. De aquí se deriva el concepto de *simo de unio* posible entre los metales y los ligantes. ¿Cómo llegan los iones a los sitios de unión? Generalmente el ser humano adquiere los iones metálicos por medio de la comida o bien por el suministro de fármacos o medicamentos complementarios. La ruta principal de absorción es la vía gastrointestinal, donde hay tres zonas en las que tienen lugar la formación de los aductos metal-macromolécula, las cuales son: boca ( $\text{pH} \approx 7.4$ ), estómago ( $\text{pH} \approx 1.6$ ) y en el intestino delgado, el duodeno ( $\text{pH} \approx 6.0-6.5$ ) y el yeyuno ( $\text{pH} \approx 6.5-7.0$ ). Ahora bien, para que se dé un transporte óptimo en la mucosa intestinal de los metales o los aductos que los acarrean, se necesita que haya una proporción alta de sus formas no ionizadas, que tengan un coeficiente de partición lipido-agua grande y que tengan un radio molecular pequeño (menor a 3 nm y mayor a 6000 Da), de esta manera, las especies metálicas pueden llegar a los sitios donde llevarán a cabo su función específica. Estos sitios son frecuentemente partes estructurales de las proteínas, de los ácidos nucleicos y de los polisacáridos [4].

En el caso de las proteínas, el sitio normalmente está determinado tanto por los nitrógenos de la cadena polipeptídica como por los residuos de cada aminoácido (R en la figura 2), la tabla 1 muestra algunos ejemplos [5].

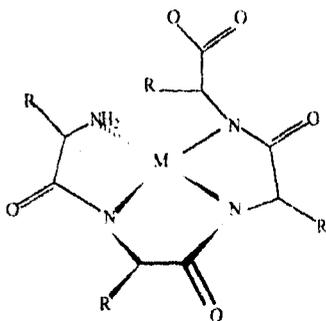


Figura 2 Complejo de un metal con un péptido

METALOPROTEINA	METAL	SITIO DE UNION
Carboxipeptidasa	Zn	2 his, 1 glu, 1 agua
Alcohol deshidrogenasa	Zn	sitio A = 4 cis sitio B = 2 cis, 1 his, 1 agua
Superoxido dismutasa	Cu - Zn	3 his, 1 asp
Plastocianina	Cu	2 his, 1 cis, 1 met
Ferredoxina	Fe	2 S, 2 cis
Hemoglobina	Fe	4 n-porfina, 1 his, 1 met
Xantina oxidasa	2 Mo	2 S, 2 cis
Nitrogenasa	2 Mo	2 s, 2 cis

Tabla 1. Ejemplos de metaloproteinas o enzimas en cuyo sitio catalítico hay un metal.

En los nucleótidos y ácidos nucleicos los sitios de coordinación son los fosfatos y las bases nitrogenadas, de tal manera que es posible la incorporación de iones metálicos en la estructura helicoidal del ácido nucleico, estabilizándola (cuando se unen a los fosfatos) o bien, desestabilizándola (al unirse a las bases) (Figura 3).

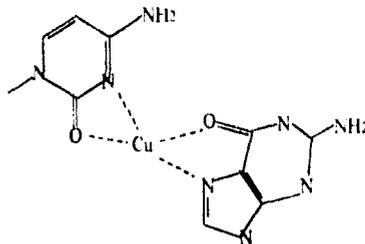


Figura 3. Los metales pueden unirse a las bases nitrogenadas del DNA, alterando su arreglo helicoidal.

La fuerza de estas interacciones, representada aquí con la constante de formación de cada metal con el ATP, se ejemplifica a continuación:

Metal	Mg	Ca	Sr	Ba	Mn	Co	Ni	Cu	Zn
$\log K_{MII-ATP}$	4.2	4.0	3.5	3.3	4.8	4.7	5.0	6.1	4.9

En el caso de los polisacáridos, éstos ofrecen grupos de coordinación muy variados, a saber, los carboxilos, los hidroxilos o los grupos fosfatos [4] Figura 4

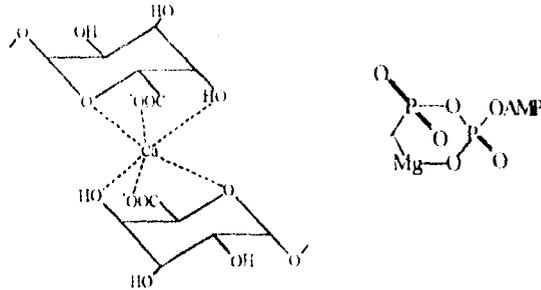


Figura 4. En los azúcares los metales pueden coordinarse a los oxígenos o bien formar parte del ciclo

Ligantes de otra naturaleza los constituyen los macrociclos, derivados de la porfirina y de la corrina:

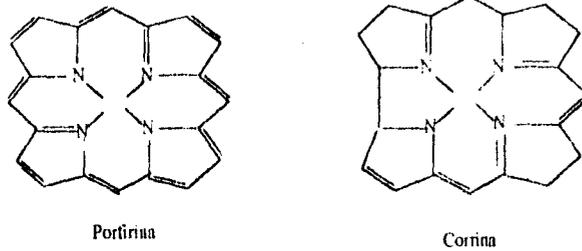


Figura 5. Ligantes macrocíclicos, que como puede observarse, son donadoras por nitrógeno

Los derivados azufrados, la cisteína en las proteínas y el azufre mismo, también constituyen un tipo de ligante importante, ya que se ha encontrado que son capaces de coordinarse al Fe constituyendo cumulos, los cuales juegan un papel esencial en el transporte de electrones en las proteínas. (Figura 6).

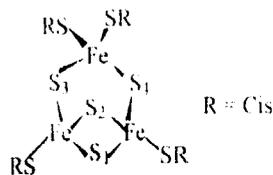


Figura 6 El Fe puede coordinarse al azufre de varias cisteínas y generar cúmulos

Finalmente, existen ligantes de origen microbiológico que sirven como agentes secuestrantes y transportadores de iones metálicos que pueden ser derivados del fenol o del ácido hidroxámico, o ligantes utilizados como antibióticos ionofóricos que atrapan molibdeno por medio de átomos de azufre [4].

La naturaleza del sitio de coordinación es determinante en la estabilidad de la especie generada por el metal y el ligante con el que se acompleja en el organismo, estudiando la naturaleza de esas interacciones así como de compuestos sintéticos que buscan emular los procesos naturales de interacción, se han encontrado los factores químicos que intervienen en la generación de esas uniones, de los cuales hablaremos más adelante para el caso particular de los complejos mixtos (es decir, de los complejos con dos ligantes diferentes unidos al mismo metal), con ligantes por nitrógeno como primer ligante y donadores por oxígeno o mixtos como segundo ligante.

### 1.1.2 EL Cu EN EL METABOLISMO HUMANO

En un adulto humano sano se encuentran alrededor de 50-120 mg de cobre, distribuidos en todo el cuerpo, principalmente en el hígado, el cerebro, el corazón y el riñón. Los niveles de cobre en la sangre son de 100 µg aproximadamente. Una de las principales características de este metal en el organismo vivo es que no puede existir en cantidades apreciables en forma de ion libre (a excepción del estómago en donde el pH ácido si lo permite), de tal manera que casi la totalidad del Cu se encuentra formando parte de complejos con proteínas, péptidos y aminoácidos, principalmente. También se encuentra como parte esencial de algunas proteínas, formando parte de su estructura molecular. Este

tipo de entidades son conocidas como metaloproteínas. Muchas de estas macromoléculas son enzimas y el Cu es parte de su sitio activo [6]. Las principales proteínas con Cu que se encuentran en el hombre son:

- la ceruloplasmina, la cual juega un papel importante en la conservación de la concentración de Cu en el organismo, además de intervenir en los procesos de oxidación del Fe (II) a Fe (III),

- la citocromo oxidasa, que es la oxidasa terminal en el sistema de oxidación respiratoria, proporcionándole energía a la célula acoplando el transporte electrónico con el proceso de fosforilación oxidativa, esta enzima es esencial para el metabolismo celular,

- la superóxido dismutasa, con un papel primordial en la protección de la célula de los efectos dañinos del radical superóxido, que es generado en varios procesos enzimáticos. Uno de esos efectos es la reducción de la citocromo oxidasa, por lo cual es importante la remoción de ese radical para prevenir la fijación de esta enzima en su estado reducido.

- la metalotioneína, es necesaria para controlar la cantidad de Cu en el hígado, y de Zn y Cd en el organismo,

- la dopamina-β-hidroxilasa, interviene en la biosíntesis de noradrenalina, neurotransmisores y adrenalina y

- la tirosinasa, esencial en el proceso de pigmentación [6].

Como podemos apreciar, las proteínas que contienen cobre están involucradas en una gran variedad de procesos biológicos los cuales incluyen procesos de transporte de electrones, de almacenamiento de Cu y procesos de oxidación [7].

#### 1.1.2.1 COMPLEJOS TERNARIOS DE Cu.

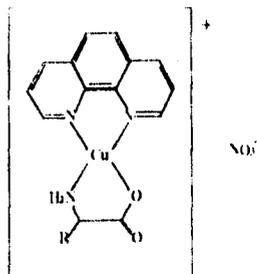
Ahora bien, podemos considerar a los complejos ternarios de Cu, es decir, los formados por un ion de Cu y dos ligandos diferentes, como modelos de complejos enzima-Cu-sustrato. Con base en esta idea y en lo que se ha venido estudiando en cuanto a estabilidad de este tipo de compuestos, se ha desarrollado un área de investigación dedicada a la síntesis, caracterización y estudio de estabilidad de complejos de Cu(II) con ligandos donadores por oxígeno y nitrógeno, como los aminoácidos, los péptidos o los ácidos nucleicos. De ello se han derivado una serie de conclusiones que guían a los químicos

sintéticos en la búsqueda de moléculas de Cu con potencial actividad biológica. Por ejemplo, se ha observado que los compuestos binarios de Cu(II) con un donador (N-N) tienen una estabilidad alta y ésta aumenta si un segundo ligante donador por oxígeno entra para generar un compuesto ternario [2,35]. Cuando el segundo ligante tiene grupos donadores tanto por oxígeno como por nitrógeno el complejo demuestra una estabilidad intermedia. Bajo esta idea varios grupos se han abocado a la síntesis y caracterización de compuestos ternarios con Cu(II) como centro metálico, y la extensión de sus resultados a la explicación de algunas reacciones bioquímicas. Por ejemplo, Uchida y Kawakishi [8] han estudiado la formación de 2-imidazolona a partir de un tripeptido que contiene histidina, catalizada con un sistema de Cu(II)/ascorbato, el cual, favorece la oxidación selectiva del fragmento de imidazol del residuo de histidina en el tripeptido, generando la imidazolona. Esta reacción es análoga a la que sucede en los sistemas biológicos, en donde trazas de Cu(II) y ascorbato oxidan macromoléculas, como los polisacáridos. Con afán de entender el mecanismo de la superóxido dismutasa, la cual dismuta el radical  $O_2^-$ , principalmente en presencia de iones metálicos como el Cu(II), Goldstein, Czapski y Meyerstein [9] han encontrado que cuando el Cu(II) está complejado a péptidos, su acción catalizadora es mayor. Por otra parte, Masuda [10] y colaboradores, estudian el apilamiento, interacciones no covalentes y transferencia de carga entre complejos ternarios de Cu(II), (con una diamina como 2,2'-bipiridina o 1,10-fenantrolina y aminoácidos aromáticos, como fenilalanina, tirosina o triptófano) con anillos indólicos, por medio de sus espectros y sus estructuras de rayos X. En sus últimas investigaciones continúan con compuestos de la misma naturaleza pero en lugar de fenantrolina emplean ahora fenilalanina halogenada [11]. Este mismo grupo ha estudiado también, complejos de Cu(II) con aminoácidos no modificados y con aminoácidos fosforilados, en los cuales se ha observado que se presenta una conversión de la interacción hidrofóbica entre anillos aromáticos de los ligantes en enlaces electrostáticos generados por el grupo fosforilado y las especies cargadas cercanas [12]. Los resultados de este fenómeno pueden correlacionarse con el comportamiento de los residuos de tirosina que se fosforilan en las proteínas y que se ha visto tienen mucha relación con el crecimiento de células tumorales. Sigman, Mazumder y Perrin [13] estudian la actividad de nucleasa de complejos de Cu(I) con 1,10-fenantrolina, en una reciente revisión describen el mecanismo de acción, el

cual a grandes rasgos consiste en dos pasos: el primero consiste en la generación de un complejo ternario con el  $\text{Cu(I, II fen)}$  y el DNA y el segundo paso en la oxidación de este por medio de peróxido de hidrógeno, generando especies oxo-cobre las cuales atacan la estructura del DNA, dando lugar a una serie de reacciones que finalmente la rompen, se hace hincapié, además de la importancia de las interacciones no covalentes entre la fenantrolina y el DNA. En la actualidad, se sintetizan complejos de  $\text{Cu(II)}$  con péptidos de tres o más aminoácidos y se busca la correlación de su estructura y comportamiento químico con sitios activos de macromoléculas biológicas homologas a esos complejos, grupos en Polonia y en Italia son ejemplos de ello [14, 15]

### 1.1.3 CASIOPEÍNAS [49]

Con base en lo anterior, desde hace aproximadamente 18 años un grupo de investigación del Departamento de Química Inorgánica de la Facultad de Química de la UNAM dirigido por la Dra. Lena Ruiz Azuara ha diseñado, caracterizado y estudiado las propiedades de compuestos de coordinación con potencial actividad antineoplásica para su posterior sometimiento a pruebas biológicas, tanto de actividad como de toxicidad. De esta manera se ha generado un proyecto de colaboración multidisciplinaria dedicado al estudio de compuestos de la forma



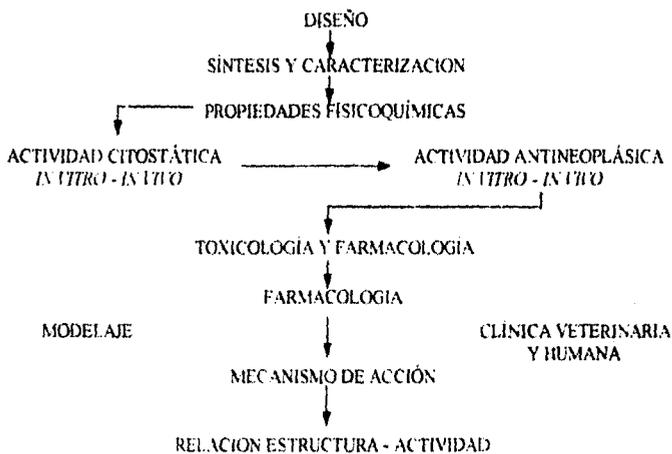
Donde el cobre se encuentra en estado de oxidación (II), con una configuración  $d^9$  y una geometría cuadrada (octaédrica muy distorsionada por efecto de Jahn-Teller) [16].

Analizando la estructura de la casiopeína, observamos que el efecto quelato tanto del aminoácido, como de la fenantrolina favorecen la estabilidad de la molécula, además, la dureza del aceptor metálico aumenta al estar coordinado a un ligante buen aceptor  $\pi$ , como

lo es la fenantrolina. (con el cual establece retrodonación) de tal manera que ligantes duros (O-donadores) presentan una mayor afinidad por la especie Cu(acceptor- $\pi$ ) que por el metal sin coordinar [17]. Ahora bien, siendo el segundo ligante un aminoácido, si además del sitio de unión por oxígeno posee sistemas aromáticos en su estructura o cadenas de carbono lineales largas puede presentar interacciones hidrofóbicas y apilamientos con la fenantrolina. Es decir, esta molécula puede presentar varios de los factores que favorecen la estabilidad de un compuesto ternario.

A las casiopeinas® (como se les llamo a esta clase de compuestos) con 4,7-dimetilfenantrolina y glicina (casiopeina I) y con batofenantrolina y glicina (casiopeina II) como ligantes se les han realizado pruebas biológicas en las que demostraron actividad antineoplásica y una toxicidad menor hacia las células sanas que la del *cis*-platino [18, 19, 20]. Además, también se está estudiando a las casiopeinas como fármacos con actividad tipo SOD y los resultados hasta ahora obtenidos son prometedores al respecto [21, 22].

Lo anterior, hace indispensable la caracterización fisicoquímica lo más completa posible de dichos compuestos, para que de esta forma sea posible elucidar cuál es su mecanismo de acción, optimizar sus síntesis o diseñar nuevas moléculas. Una de esas propiedades fisicoquímicas es la Constante de Estabilidad, propósito del presente trabajo. Con ello se da una colaboración al proyecto multidisciplinario abocado al estudio de estos compuestos, cuyas etapas pueden esquematizarse de la siguiente manera:



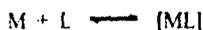
## 1.2. CRITERIOS DE ESTABILIDAD DE COMPLEJOS TERNARIOS EN SOLUCION

### 1.2.1 LA HOMEOSTASIS Y LA ESPECIACIÓN QUIMICA

Los iones metálicos son solubles en medios acuosos neutros (como el fisiológico) y por consiguiente biodisponibles ya sea en bajos estados de oxidación (I, II), como los cationes hidratados o en estados de oxidación altos (V, VI, VII), como por ejemplo los oxoaniones hidratados ( $MO_4^n$ ). Pero la disponibilidad y posible acción de los metales en el organismo humano están regidas por mecanismos más o menos complicados de regulación en los cuales se emplea energía para mantener los gradientes de concentración correctos en los compartimentos diferenciados por membranas en los fluidos orgánicos. Así pues, los metales son excretados o absorbidos con el fin de mantener su concentración constante, a este equilibrio se le llama *homeostasis*. La velocidad de intercambio es dependiente en gran medida del tipo de compuesto involucrado, de su concentración y de las condiciones de pH, la concentración de las demás especies, la temperatura, polaridad del medio, etc. es decir, de qué clase de compuestos puede formar en ciertas condiciones. A esta distribución se le conoce como *especiación*. El estudio de esos mecanismos de intercambio y de distribución implica conocer con qué especies del organismo los iones metálicos interactúan, o mejor dicho, reaccionan preferentemente y con ello definen su distribución [23]. Cada una de esas reacciones se caracterizan por medio de su *constante de estabilidad*, cuyos valores determinan hacia dónde se desplazan los equilibrios presentes en un mecanismo ya sea de regulación natural o de acción farmacológica. Todos estos factores deben tomarse en cuenta también cuando se estudia un compuesto que se espera pueda ser utilizado como fármaco.

### 1.2.2 CONSTANTE DE ESTABILIDAD

Para la reacción:



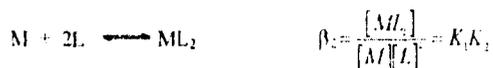
su constante de estabilidad se puede expresar de la siguiente manera:

$$K_1 = \frac{[ML]}{[M][L]}$$

de la misma forma, para la reacción



Para expresar constantes de estabilidad de equilibrios que implican la formación de más de un complejo es mejor trabajar con constantes globales  $\beta$ , en cuya expresión están implícitas todas las  $K_i$  involucradas en el equilibrio total. Por ejemplo, si tenemos una serie de reacciones sucesivas, las  $\beta$  globales se expresan, a saber



generalizando:



Esta constante, cuando presenta un valor mucho mayor que 1, significa que el equilibrio está desplazado a la derecha, es decir, la formación del complejo se da preferentemente.

Generalmente,  $K_1 > K_2 > K_3$  ya que a medida que el metal está coordinado a más ligantes la entrada de uno adicional se ve más impedida (factor estadístico) [24] pero como ya hemos mencionado, en el caso de complejos ternarios, no siempre sucede así, por ello, es conveniente calcular el término:

$$\Delta \log K = \log K_{MAB}^M - \log K_{MA}^M = \log K_{MAB}^{M^2} - \log K_{MA}^M$$

$$\Delta \log K = \log K_{MAB}^M - (\log K_{MA}^M + \log K_{AB}^M)$$

el cual, nos indica qué tan estable es el compuesto ternario respecto al binario, cuando dicho valor, comúnmente negativo, toma un valor positivo, el complejo ternario es más estable que el binario.

### 1.2.3 DETERMINACIÓN DE CONSTANTES DE ESTABILIDAD

Son varios los métodos que se emplean para la determinación de las constantes de estabilidad [25]. entre los más importantes se tienen los siguientes:

a) Espectroscopia UV-Vis, RMN y EPR Después del método potenciométrico, es el más empleado para el estudio de constantes. Para utilizarlo se requiere que ocurra un cambio espectrofotométrico significativo como consecuencia de la generación o destrucción del complejo, como por ejemplo, el seguimiento de la absorbancia de la solución en donde se está llevando a cabo el equilibrio de formación, o bien, la observación de una señal vibracional que vaya bien desapareciendo o apareciendo, que nos indique el cambio de concentración de una de las especies involucradas

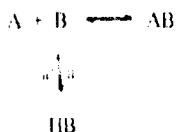
b) Métodos cinéticos Hay veces en las que una propiedad química de alguna de las especies en disolución se ve alterada por la formación del complejo y ello puede servir como base para la determinación de la constante de estabilidad. Si esa propiedad es la reactividad, la constante de velocidad es el parámetro que podemos relacionar con la constante de formación

c) Medidas de solubilidad Este método aprovecha que a la constante de equilibrio podemos expresarla en términos del coeficiente de actividad de las especies involucradas, y a su vez, la estimación de esos coeficientes puede hacerse por medio de la medida de solubilidad de esas especies. Es decir, el comportamiento de la solubilidad de las sustancias reaccionantes (involucradas en el equilibrio de formación) puede correlacionarse con la constante de estabilidad del complejo.

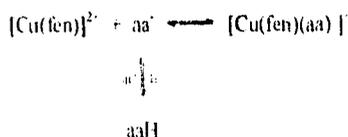
e) Isotermas de partición En este método se utiliza la expresión del coeficiente de reparto de una sustancia involucrada en una reacción en medios inmiscibles. Se grafica la concentración de la especie en la una fase contra su concentración en la otra fase, la pendiente de esa gráfica es el coeficiente de reparto. Ese valor se iguala a la expresión que relaciona las actividades (o concentraciones) de la especie en estudio con su coeficiente de reparto. Pero en lugar de poner la concentración total de la especie de manera numérica, se expresa de manera desglosada en términos de sus constantes de estabilidad y sus concentraciones parciales. De aquí puede despejarse la constante de estabilidad y calcularse su valor numérico.

d) Potenciométrico Es posible aplicar este método cuando una de las especies que generan el complejo presenta equilibrios paralelos de acidez, de tal manera que a medida que

se modifica el pH (retirando ácido de la solución), el equilibrio de formación del compuesto se ve favorecido, hasta su producción total



Con mucho éste es el método más empleado y es el que se utilizó en la determinación de las constantes de estabilidad de las casiopeínas, ya que el aminoácido presenta equilibrios de acidez cuantitativos, de manera que compiten con el equilibrio de formación del complejo



#### SUPERQUAD

Para la determinación de constantes de estabilidad actualmente se emplea el programa SUPERQUAD [26], el cual es "capaz de manejar información sobre mezclas de virtualmente cualquier número de reactivos que participen en prácticamente cualquier tipo de equilibrio ácido-base o de complejación" [24], de tal manera, que encuentra el valor de la constante de formación de un equilibrio determinado dado que: *i)* las constantes globales de cualquier equilibrio están constituidas de las constantes de reacciones parciales que en su conjunto conforman ese equilibrio total y que, *ii)* esas constantes dependen de la concentración de cada uno de los reactivos involucrados. Así pues, los datos que el programa requiere para que genere resultados confiables, son

- todas las especies que se encuentren en la disolución,
- todos los equilibrios paralelos que esas especies presenten entre si y el valor de su constante global,
- la cantidad de milimoles exacta de las especies,
- la concentración exacta de la sustancia titulante y
- el volumen inicial de la solución titulada.

Cuando el equilibrio que compete con la formación del complejo es de acidez, se requiere que el electrodo tenga comportamiento pseudo-nernstiano, es decir, que cumpla con la siguiente ecuación

$$E = E^0 + S_L \log [H^+]$$

donde E es el potencial medido y E<sup>0</sup> es el potencial estándar del electrodo. El valor ideal para la pendiente S<sub>L</sub> es, por supuesto RT/nF, pero se asume que es un valor propio de cada electrodo. Comúnmente, los valores de E<sup>0</sup> y S<sub>L</sub> se obtienen de las calibraciones precedentes a la titulación, donde se emplean reactivos primarios

Con los datos correctos y habiendo realizado una buena calibración, a partir de los puntos generados por la titulación, el programa es capaz de calcular las constantes y concentraciones que se le pidan, a excepción de la concentración de la sustancia titulante, usualmente H<sup>+</sup> u OH<sup>-</sup>.

El algoritmo de refinamiento de datos que el SUPERQUAD utiliza es el siguiente:

$$\sigma^2 = \sigma_E^2 + (\partial E / \partial V)^2 + \sigma_V^2$$

donde σ<sup>2</sup> es la varianza calculada de las medidas, σ<sub>E</sub><sup>2</sup> y σ<sub>V</sub><sup>2</sup> son las varianzas estimadas de las lecturas del electrodo y el volumen y ∂E/∂V es la pendiente de la curva de titulación. Se asigna un peso a cada uno de los puntos de la titulación proporcionalmente inverso a la varianza en ese punto, de esta manera, los datos cercanos al punto final de la valoración, donde la ∂E/∂V es muy grande, proporcionan un peso menor que el resto de los datos [26]

Para tener a la mano criterios estadísticos que nos permitan evaluar qué tan bien estamos trabajando los datos, el archivo de salida proporciona dos parámetros estadísticos:

$$\chi^2 = \sum \frac{[Nf(n) - F(n)]^2}{Nf(n)}$$

donde: N = número total de eventos

f(n) = distribución de probabilidad del evento n

F(n) = la frecuencia del evento n o número de veces que se da n en N.

Con este parámetro se calcula la diferencia fraccional entre la frecuencia de una distribución de probabilidad (Nf(n)) establecida y la frecuencia de un evento n particular, es decir, evalúa qué tanto un evento obedece o se desvía de la distribución de probabilidad total del experimento [27]. Dado el número de datos que se manejan en el SUPERQUAD, el valor de

$\chi^2$  que se recomienda en tablas es que sea menor de 12.6 para que el resultado tenga un 95% de confiabilidad. El segundo parámetro es la desviación estándar ( $\sigma$ ), el cual indica que tan amplia es la dispersión de una serie de datos [26]

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}$$

donde:  $x_i$  = dato *i*-ésimo

$\bar{x}$  = promedio de los datos

Un valor óptimo de  $\sigma$  debe ser menor que 1.

#### 1.2.4 ESTABILIDAD DE LOS COMPUESTOS DE COORDINACION

En sus investigaciones de compuestos de coordinación mixtos, Sigel [24,27] y sus colaboradores han concluido que los principales factores que afectan la estabilidad de éstos, son:

- a) Factores estadísticos
- b) Factores estéricos
- c) Basicidad del ligante
- d) Formación de enlaces  $\pi$
- e) Neutralización de la carga
- f) Efecto quelato
- g) Alta denticidad
- h) Formación de puentes de hidrógeno entre los ligantes
- i) Transferencia de carga entre los ligantes
- j) Interacciones hidrofóbicas y apilamiento de sistemas aromáticos (stacking)

#### FACTOR ESTADÍSTICO

Para el caso de ligantes polidentados existe la restricción de que en su mayoría entran en la posición *cis* de la esfera de coordinación no así en el caso de los ligantes monodentados, los cuales tienen acceso a cualquier sitio de coordinación. Si además existen sitios de coordinación ya ocupados, la entrada de un segundo ligante bidentado se verá teóricamente

menos favorecida [29], por lo que la constante de estabilidad del complejo ternario tendria que ser menor que la del complejo binario, ya que el primer ligante tiene acceso a mas sitios de coordinaci3n en el metal que el segundo ligante [28].

Geometria de partida	sitios del primer ligante	sitios del segundo ligante
Oh	12	5
Td	4	1
Oh <sub>n</sub> (*D <sub>3h</sub> )	1	8 (*12)

Para tener un criterio comparativo, Sigel propuso el c3lculo de el  $\Delta \log K$  que relaciona la estabilidad de los complejos binarios con respecto a la de los ternarios, de la siguiente manera:

$$\Delta \log K = \log K_{MLB}^{MLL} - \log K_{MLB}^M = \log K_{MLB}^{MB} - \log K_{MLL}^M$$

Calculando este valor para los complejos en donde el Cu se encuentra unido a un donador por nitr3genos y despu3s a otro ligante se observ3 que en la mayoria de los casos esos valores son negativos, evidenciando la mayor estabilidad del complejo binario que la del ternario por las razones estadisticas ya descritas. Sin embargo, se observ3 que esta tendencia no se cumple en los casos en donde el primer ligante es un donador por nitr3genos buen aceptor  $\pi$  y el segundo es por ox3geno, en este caso la constante de estabilidad del complejo ternario es mayor y su  $\Delta \log K$  es positivo [28,29,30,31,32], con este hecho se hizo necesario abordar la discusi3n de la estabilidad de complejos ternarios considerando otros factores, como por ejemplo interacciones hidrof3bicas.

## FACTORES EST3RICOS

En caso que el segundo ligante sea muy voluminoso, su entrada a la esfera de coordinaci3n estar3 condicionada a que haya suficiente espacio para que energ3ticamente sea favorable la formaci3n del complejo mixto. De manera que, debe tomarse en cuenta tambi3n el arreglo espacial del ligante (estereoqu3mica), ya que la forma en que se acomode en el espacio puede hacer que las estructuras que lo conforman interaccionen con los otros

ligantes a los que el metal ya este coordinado, favoreciendo o no el enlace. Sigel [28] observo además que estructuras con ligantes que forman anillos de cinco o de seis miembros presentan una estabilidad adicional, siendo las mas estables las que generan dos anillos de seis miembros cada uno

#### BASICIDAD DEL LIGANTE

Se ha observado tambien que el pKa de los ligantes guarda una relación lineal con el valor de la constante de estabilidad tanto de los complejos binarios como de los ternarios [33, 34], observandose que a mayor pKa mayor estabilidad, es decir mientras más basico es el ligante más estable es el complejo

#### FORMACION DE ENLACES $\pi$

Si el ligante posee sistemas  $\pi$ , el enlace tiene una estabilidad adicional, ya que se presenta el fenómeno de *retrodonación*. El cual consiste en la donación de densidad electrónica por parte del centro metálico via sus orbitales  $d$  (HOMO) a los orbitales de anti enlace ( $\pi^*$ ) (LUMO) del sistema aromático del ligante además del enlace  $\sigma$  antes generado. Es decir, al enlace producido por la donación de densidad electrónica del ligante hacia el metal se le añade otro factor enlazante en sentido contrario, por ello el nombre de retrodonación [2] (Figura 7).

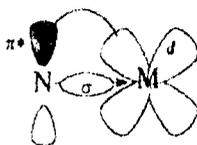


Figura 7

Esto hará que la entrada de un segundo ligante con estructuras aromaticas unidas al punto de coordinación se ve favorecida por el efecto de la retrodonacion entre todos las especies que conforman el complejo.

Además, la presencia de sistemas  $\pi$  en el primer ligante le confiere a la entidad generada una dureza mayor que la del metal desnudo o la del ligante aislado, haciéndola

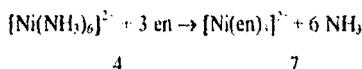
proclive a enlazarse con otro ligante de naturaleza dura, como un donador por oxígeno, por ejemplo [2,35]

#### NEUTRALIZACION DE LA CARGA

La presencia de cargas en el ligante incrementa la estabilidad, como es de esperarse por el hecho de que se neutralizan cargas presentes en la disolución [24]

#### EFEECTO QUELATO

Cuando se tiene un ligante bidentado, este ofrece dos sitios de coordinación a un metal, aumentando con esto la probabilidad de estar unido al centro metálico sobre la que tiene un ligante monodentado, el cual sólo ofrece una posibilidad de coordinación. Por ejemplo, si el  $[\text{Ni}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$  pierde un amino, éste se desliga del níquel y la probabilidad de que se vuelva a asociar es muy poca, en cambio, si se disocia un grupo amino de una etilendiamina del  $[\text{Ni}(\text{en})_3]^{2+}$  esa etilendiamina está todavía asociada al metal por el otro grupo amino, lo cual aumenta la probabilidad de que se regenere la estructura original [36]. Viéndolo desde un punto de vista entrópico, la generación de un complejo quelato por medio de la sustitución de dos ligantes monodentados por uno bidentado es muy favorecida, ya que aumenta el número de especies en solución [36]



#### ALTA DENTICIDAD

La formación de bases de Schiff en la esfera de coordinación del ion metálico, por ejemplo entre un aminoácido y piruvato, genera un ligante de alta denticidad y con ello una especie con mayor tendencia a coordinarse comparada con la de los de ligantes sencillos [28].

#### FORMACION DE PUENTES DE HIDROGENO ENTRE LOS LIGANTES

Si en la estructura de un ligante presente en un complejo se encuentran grupos terminales que establezcan puentes de hidrógeno con la estructura del otro ligante, la interacción entre ellos favorece la estabilidad del complejo

## TRANSFERENCIA DE CARGA ENTRE LOS LIGANTES

En espectros de compuestos mixtos con ligantes que poseen sistemas aromáticos se han identificado bandas correspondientes a la transferencia de carga entre esos sistemas  $\pi$ . Estos compuestos demostraron ser más estables que los complejos ternarios análogos pero que carecen de estructuras aromáticas, la transferencia de carga sugiere una estructura como la demostrada en la figura 8, en donde se observa que los anillos aromáticos de un ligante interactúan con las bases nitrogenadas del otro ligante [28]

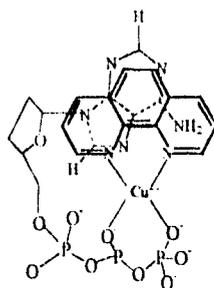


Figura 8. Estructura propuesta del complejo  $[\text{Cu}(\text{L10 fen})(\text{ATP})]^{2+}$  [37]

## INTERACCIONES HIDROFÓBICAS Y APILAMIENTO

Este es uno de los factores más importantes e interesantes que pueden presentarse en los complejos ternarios que contienen como primer ligante un compuesto donador por nitrógenos con sistemas aromáticos (como las fenantrolinas) y como segundo ligante uno que tenga una cadena de carbonos entre el punto de coordinación y un anillo aromático también presente en la estructura (como podrían ser el benzoato, el fenil acetato, el fenil propionato, y las demás bases análogas), ya que estas características hacen posible que los ligantes interactúen entre sí, acercándose y cerrando la estructura del complejo para posibilitar una interacción entre los sistemas  $\pi$  y la cadena hidrocarbonada (hidrofóbica) [38]. Cuando es la cadena de carbonos la que interactúa con el otro ligante, se conoce como *interacción hidrofóbica*, cuando los anillos aromáticos se acomodan uno debajo del otro de tal forma que quedan en forma paralela se dice que se presenta el *apilamiento* ("stacking") (Figura 8) Todo ello le confiere al complejo una estabilidad adicional, no sólo

por promover interacciones intramoleculares, sino porque también favorece las interacciones intermoleculares, es decir hace posible la generación de estructuras poliméricas cuya unidad es el complejo ternario [37,38]

Se ha observado que el  $\Delta \log K$  es mayor en los casos en los que la cadena hidrocarbonada del segundo ligante es de  $n \geq 3$ , es decir, la interacción hidrofóbica se ve favorecida hasta ese largo de la cadena. Cuando el segundo ligante tiene más de tres metilenos entre el punto de coordinación y el anillo aromático, (como son el caso del fenilbutirato o del fenilvalerato), tal interacción y por lo tanto el apilamiento se ven desfavorecidos, atribuido a dobleces de la cadena que separan los anillos aromáticos [34,35].

Ahora bien, analizando el apilamiento entre los anillos aromáticos de los complejos ternarios, y con base en los estudios de resonancia magnética nuclear y de rayos X, se ha visto que existen tres tipos de apilamiento en un complejo del tipo  $M(A)(B)$ : 1) un apilamiento intermolecular entre A y B, 2) un apilamiento intermolecular "homo" entre A y A (o entre B y B) y 3) apilamiento intramolecular entre A y B [33]. Todos ellos se pueden estar presentes en la estructura cristalina de los complejos, sin embargo, en solución se tiene un fenómeno adicional, se ha observado que el tercer tipo de apilamiento, el intramolecular, presenta un equilibrio dinámico, simulado en la figura 9:

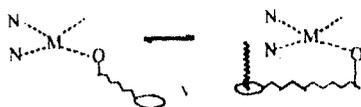


Figura 9

donde se puede observar que el complejo puede estar "abierto" o con el apilamiento, "cerrado", aunque en solución acuosa, lo más probable es que predomine la forma cerrada. Este equilibrio, caracterizado por un  $K_1$ , se ve influido, por el número de metilenos que constituyen la cadena hidrofóbica como se explica arriba, o bien, por la polaridad del disolvente. Es importante mencionar que hasta este momento la influencia del disolvente se hace notar, ya que es aquí donde mayor relevancia tiene y por ende, es donde afecta el valor de la constante de estabilidad [37]. Se ha visto que, la mezcla del agua con un disolvente que disminuya su polaridad hasta una composición determinada favorece la estructura cerrada, por ejemplo, si tenemos una mezcla de etanol-agua, al llegar a la fracción mol de 0.2 se

alcanza un porcentaje máximo del complejo en su forma cerrada, a partir de este punto ese porcentaje comienza a disminuir y la estructura en su forma abierta comienza a dominar.

Con base en lo anterior, se tiene la hipótesis que este equilibrio simula en buena manera los equilibrios que se establecen entre los sitios catalíticos y sustratos así como los equilibrios entre macromoléculas y metales con nucleótidos y ácidos nucleicos [39, 40]. Ya que estas moléculas presentan varios sistemas  $\pi$  en sus estructuras, cadenas hidrofóbicas y el medio que los rodea no es tan polar como el del agua, se sugiere que en los procesos catalíticos las interacciones hidrofóbicas y el apilamiento dan lugar a aductos cuya estabilidad depende además de la presencia del ion metálico. Por lo que ahora se estudia la interacción de compuestos complejos binarios y ternarios con fosfatos, nucleosidos, nucleótidos y ácidos nucleicos como ligantes. De tal manera que las investigaciones sobre este tipo de interacciones, constituyen ahora uno de temas de mayor interés en el área de la bioinorgánica, ya que construyen el camino para elucidar el papel de los metales en los mecanismos de acción enzimática y entender qué determina su selectividad y las condiciones en las que se da su coordinación a las moléculas orgánicas.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Describir los parámetros de estabilidad presentes en compuestos ternarios mixtos de Cu(II) mediante el cálculo de su constante de estabilidad y el análisis de sus estructuras

### OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar la constante de estabilidad de los complejos:



2. Comparar la estabilidad de los complejos ternarios enumerados con la estabilidad de sus análogos binarios, por medio del cálculo del parámetro  $\Delta \log K$ .

3. Correlacionar los parámetros numéricos con las gráficas de titulación de cada uno de los compuestos.

4. Construir los diagramas de predominio de especies con el valor de las constantes de los compuestos ternarios.

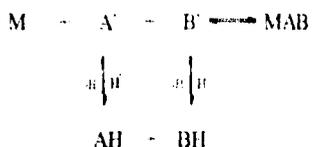
5. Correlacionar los resultados experimentales, tanto cualitativos como cuantitativos con dos estructuras tipo de los complejos con aminoácidos alifáticos y con aminoácidos aromáticos.

## CAPITULO 2

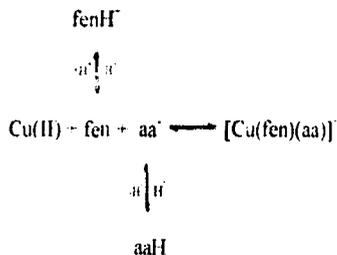
### ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

#### 2.1 DESCRIPCION DE LOS EQUILIBRIOS

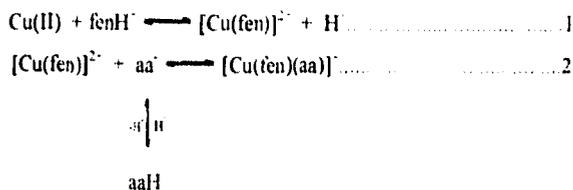
En primer lugar, es necesario caracterizar el sistema y conocer cuales son los equilibrios que se encuentran en competencia durante la formación del complejo. En el caso de los complejos de este estudio, del tipo MAB donde A y B son bases de Brønsted, los equilibrios que debemos considerar son



Es decir, los equilibrios implicados en la determinación de nuestra constante de equilibrio pueden expresarse así:



El equilibrio principal puede considerarse de dos maneras, la primera, simplifica el problema de la siguiente forma:



Es decir, se considera la especie  $[Cu(fen)]^{2+}$  como una entidad no disociada, lo cual, implica que el equilibrio (1) se encuentra totalmente desplazado a la derecha. La figura 10 corrobora este hecho, demostrando que la 1,10 fenantrolina está completamente acomplejada con el Cu(II) ya que la acidez libre en el intervalo de  $x=0$  a  $x=1$  de la solución de fenantrolina en presencia del metal es prácticamente igual a la de un ácido fuerte [24].

Un argumento adicional, lo podemos tener en el valor de la constante de equilibrio del equilibrio 1, el cual puede calcularse considerando que la expresión del equilibrio 1 es una relación de las constantes de acidez de la fenantrolina ( $\beta_1$ ) y de complejación con el Cu ( $\beta_c$ ):

Si  $K_{eq} < 1$  El equilibrio está desplazado a la izquierda

Si  $K_{eq} > 1$  El equilibrio está desplazado a la derecha

$$K_{eq} = \frac{[Cu(fen)][H]}{[Cu][fenH]} = \beta_c \beta_1$$

$$K_{eq} = 10^{1.76} / 10^{4.96} = 10^{3.20}$$

Por lo tanto, el complejo  $[Cu(fen)]^{2+}$  está de hecho totalmente formado [24].

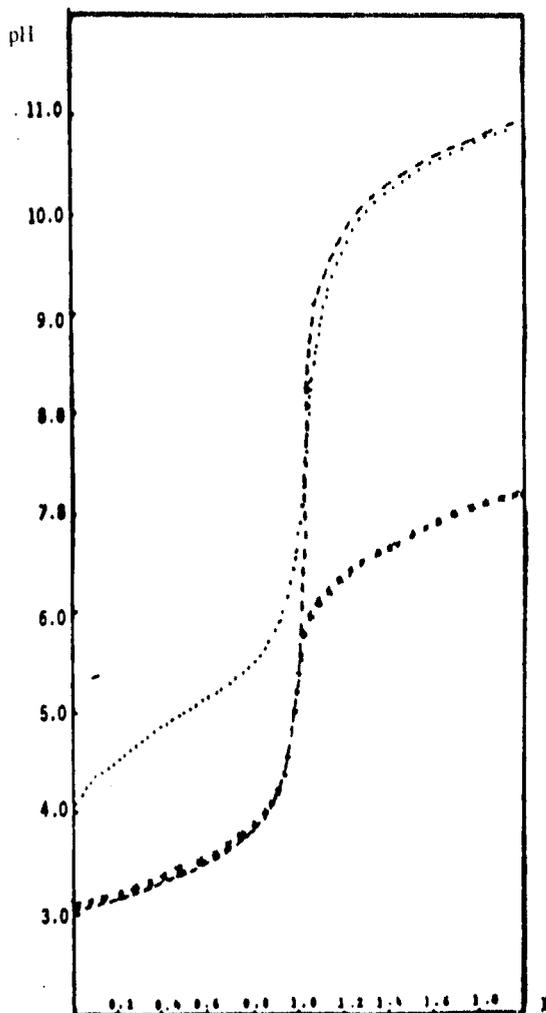
Lo anterior simplifica bastante el modelo, de tal manera que el complejo  $[Cu(fen)]^{2+}$  puede considerarse como si el metal estuviera solo. Así pues, el equilibrio se convierte en



en competencia con:



Esta condición de competencia es la indispensable para la determinación de constantes de estabilidad con el método potenciométrico, el cual para estudios de compuestos de esta naturaleza resulta ser más exacto, en comparación con otros métodos aplicados con anterioridad. Así pues, si se desea usar mediciones de pH para seguir la formación de un complejo, es necesario en primer lugar, que el ligante participe en un equilibrio del tipo 3, es decir, que tenga comportamiento de base de Bronsted.



--- Titulación de HCl 0.001 M con NaOH 0.01 M  
 ..... Titulación de fenH 0.001 M con NaOH 0.01 M  
 -.-.- Titulación de Cu(II) y fenH 0.001 M con NaOH 0.01 M

Figura 10. El complejo  $[Cu(fen)]^{2+}$  se encuentra formado de manera cuantitativa, de tal manera que la fenH se porta como ácido fuerte [24].

En segundo lugar, es importante que la afinidad del ligante por el protón y por el ion metálico sean semejantes, pues si el ligante tiene una afinidad mucho mayor por el ion metálico que por el protón, el complejo se encontrará formado casi totalmente aún a muy bajos valores de pH [24]. En la figura 11 puede observarse que la fuerza de acidez del aminoácido aumenta al coordinarse con el Cu, pero sin llegar a convertirse en un ácido fuerte como sucedió con la fenantrolina, por lo tanto, este sistema sí se puede estudiar potenciométricamente, ya que el equilibrio 4 no se encuentra desplazado totalmente hacia la derecha, y el complejo se irá formando a medida que se eliminan los H<sup>+</sup> de la disolución, es decir, durante la valoración de una disolución que contenga todas las especies en juego, a saber: [Cu(fen)]<sup>2+</sup>, al aminoácido y el ácido en concentraciones equimolares

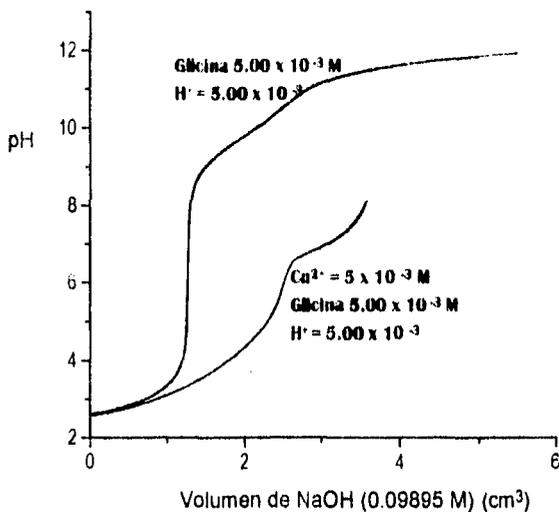


Figura 11. La glicina en presencia de Cu(II) libera su protón comportándose como ácido de fuerza media

El control riguroso de que la relación de las concentraciones de las especies que dan lugar al complejo sea exactamente 1:1 es esencial para que los resultados que arroje este modelo sean verídicos, de no cumplirse este requisito y aplicar dicho modelo da lugar a resultados poco confiables

El segundo modelo considera al Cu y a la fenantrolina por separado y toma en cuenta también el equilibrio de acidez de esta, de complejación entre ellos y el de complejación del metal con los aminoácidos. Los dos modelos explicitos así como el valor de las constantes empleadas pueden consultarse en el apéndice II. La estadística resultante de cada uno de los modelos nos indicará cuál de los modelos es más conveniente emplear.

## 2.2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 2.2.1 CALIBRACIÓN

La primera etapa de la calibración consistió en preparar las disoluciones patrón con las que se iba a trabajar y calibrar el material y el equipo a utilizar. El agua utilizada como disolvente fue bidestilada cuya conductividad era de 0.9-1  $\mu$ mhos. Se prepararon las disoluciones buffer con las que se calibró el electrodo cada día que se utilizó. Los buffer requeridos para este fin son de pH 4.005, 6.180 y 9.680 los cuales se obtienen con disoluciones de biftalato de potasio 0.05 M,  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0.25 M y tetraborato de sodio 0.01 M respectivamente [41]. La concentración de las disoluciones de la fenantrolina y las de los aminoácidos depende del peso medido y la pureza de estas sustancias, de tal manera que bastó con controlar este factor y el aforo al que se llevaron con agua destilada para lograr la concentración deseada. Las disoluciones correspondientes al NaOH y el  $\text{HNO}_3$  se valoraron con biftalato de potasio 0.1 M y tetraborato de sodio 0.05 M (sustancias patrón) recién preparados. El NaOH se valoraba cada semana para controlar que la concentración de trabajo fuera la correcta. En el caso del Cu(II) se utilizó una solución patrón Merck de 1g y se llevó a un aforo de 100 ml, para dar lugar a una disolución 0.15738 M. Todo el material con el que se trabajó fue de vidrio, aforado y volumétrico. Las titulaciones se llevaron a cabo controlando la temperatura a 24.9 - 25.1 °C con un baño automático. En todas las titulaciones se burbujeó nitrógeno.

La segunda fase consistió en corroborar que el electrodo de trabajo presentara un comportamiento Nernstiano, para lo cual se realizaron curvas de Gran [42], con esto también se verificó que la solución de NaOH no tuviera  $\text{CO}_2$  [43] (figura 12).

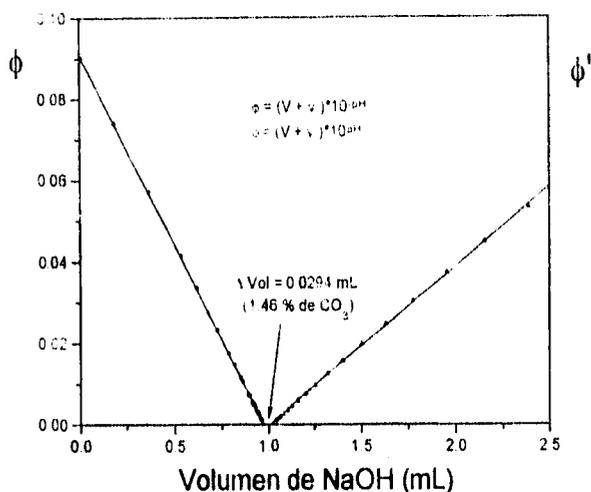


Figura 12. Curva de Gran El carbonato debe ser menor del 2%

### 2.2.2 REACTIVOS Y EQUIPO

Los reactivos utilizados fueron: 1. 10 fenantrolina de Aldrich, reactivo analítico (A.C.S.), Cu (II) de una ampolleta Merck, Nitrato de potasio de Merck con 99 % de pureza, aminoácidos de Sigma, grado Sigma: glicina, serina, prolina, leucina, isoleucina, alanina, fenilalanina y tirosina, ácido Nítrico de Mallinckrodt, reactivo analítico e hidróxido de sodio de Merck calidad tipo primario.

El equipo empleado en cada valoración fue: Titulador Metrohm modelo Titrino 716 DMS, electrodo de vidrio combinado Metrohm AG CH-9101 HERISAU, baño termostático Forma Scientific, Inc. modelo 2095 S/N 20380-1867

### 2.2.3 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Se llevaron a cabo tres tipos de titulaciones:

- 1) Aminoácido + NaOH
- 2) Complejo binario de Cu(II) con el aminoácido + NaOH
- 3) Complejo ternario + NaOH

todas ellas a una fuerza iónica de 0.15 y a una temperatura de  $25 \pm 0.1$ . A lo largo de todos los experimentos se empleó agua bidestilada (con 1 g de  $\text{KMnO}_4$ ) cuya conductividad era menor a 1 umho.

Se prepararon disoluciones de 50 ml 0.1 M de glicina, alanina, serina y prolina. Para los casos de leucina, isoleucina y fenilalanina se hicieron disoluciones de 25 ml 0.1 M a las cuales fue necesario añadirles 0.05 mmol de ácido para lograr su disolución completa. La tirosina es muy poco soluble en agua, de tal manera que se prepararon directamente las disoluciones de 100 ml finales (disoluciones 2) a una concentración 0.002 M de tirosina. De la disolución 0.15738 M se prepararon dos disoluciones de 100 ml 0.1 de  $\text{Cu(II)}$  y para el caso de la fenantrolina se prepararon dos disoluciones de 100 ml pesando para cada una de ellas 0.9912 g y añadiéndoles 13.5 ml de etanol a cada una. Del ácido nítrico se preparó también una disolución 0.1 N. A partir de estas disoluciones -todas 0.1 M - (disoluciones 1) se hicieron las disoluciones finales (disoluciones 2) de cuales se sacaban los 25 ml para titularlos. Mas adelante se detalla su preparación.

Para la primera titulación (aminoácido +  $\text{NaOH}$ ) se pusieron 5 ml de la disolución de aminoácido 0.1 M, 5 ml del ácido y 37.5 ml de una disolución de  $\text{KNO}_3$  0.4 M en un matraz aforado de 100 ml y se completó al aforo con agua bidestilada. De esta disolución se tomaron 25 ml y se colocaron en la celda de titulación. Se realizaron tres titulaciones de cada uno de los aminoácidos.

Para la titulación del complejo binario se tomaron 5 ml de la disolución preparada de  $\text{Cu(II)}$ , 5 ml de la disolución del aminoácido, 5 ml de la disolución de  $\text{HNO}_3$  y 37.5 ml de la solución de  $\text{KNO}_3$  en un matraz de 100 ml y se completó al aforo con agua bidestilada. De esta disolución se tomaron 25 ml y se vaciaron en la celda de titulación. Se hicieron tres titulaciones de cada uno de los complejos binarios.

Para la titulación del compuesto ternario se tomaron 5 ml de la disolución del  $\text{Cu(II)}$  y 5 ml de la disolución de la fenantrolina y se vertieron en un matraz de 100 ml, para generar

el  $[\text{Cu}(\text{fen})]^{2+}$  antes que cualquier especie. Posteriormente, al matraz se le añadieron 5 ml de la disolución del aminoácido, 5 ml de la disolución de  $\text{HNO}_3$  y 37.5 ml de la disolución de  $\text{KNO}_3$ , finalmente se completó al aforo con agua bidestilada. De esta disolución se tomaron 25 ml para vaciarlos en la celda de titulación. Se realizaron tres titulaciones de cada uno de los complejos mixtos.

En todos los casos las cantidades utilizadas daban un total en los últimos 25 ml de 0.125 mmol de cobre, aminoácido y fenantrolina y 0.25 mmol de ácido en el caso de la gli. ala, pro y ser y 0.2525 mmol de ácido en el de la leu, ileu y fal, en un medio 0.15 de fuerza iónica. Antes de iniciar cada titulación se burbujeó nitrógeno durante 10 minutos y éste se mantuvo durante toda la valoración.

En el caso de la tirosina no se preparó una disolución 0.1 M debido a su solubilidad en agua, así que se pesó la cantidad de tirosina equivalente a 0.0002 mol para cada una de las disoluciones de 100 ml. Para la primera titulación los  $2 \times 10^{-4}$  mol se disolvieron en 5 ml de la solución de ácido nítrico y se vertió en el matraz, se añadieron los 37.5 ml del  $\text{KNO}_3$  y se completó al aforo con agua bidestilada, de aquí se tomaron los 25 ml necesarios para cada titulación. Para la titulación del compuesto binario se pesó la misma cantidad de tirosina (0.0002 mol), se disolvió en 5 ml de la solución del ácido nítrico y se vertieron en el matraz de 100 ml al cual se le añadieron 2 ml de la disolución de  $\text{Cu}(\text{II})$  0.1 M, 37.5 ml de la disolución del  $\text{KNO}_3$  y se completó al aforo con agua bidestilada, para finalmente tomar los 25 ml de cada una de las tres titulaciones. Para la titulación del complejo mixto se colocaron 2 ml de la solución de fenantrolina 0.1 y 2 ml de la disolución de  $\text{Cu}(\text{II})$  en un matraz de 100 ml, por otro lado se disolvieron los 0.0002 mol de tirosina en 5 ml del  $\text{HNO}_3$ , los cuales se vertieron en el matraz que contenía  $x\text{Cu} + y\text{fen}$  ( $x \neq y$ ) y se completó al aforo con agua bidestilada. De esta solución se tomaron 25 ml para proceder a titularlos, procedimiento que se hizo tres veces también.

Las cantidades totales en la celda en este caso fueron 0.05 mmol de tirosina, de cobre y fenantrolina y 0.175 mmol de ácido. En la tabla 2 se especifican los gramos de aminoácidos que se pesaron.

AA	g pesados	Conc. (mol/l) solución 1 (50 ml)	Conc. (mol/l) solución 2 (100 ml)	mmol finales en celda
Glicina	0.3754	0.100	0.005	0.125
Serina	0.5255	0.100	0.005	0.125
Alanina	0.4455	0.100	0.005	0.125
Prolina	0.5755	0.100	0.005	0.125
		(25 ml)		
Leucina	0.3281	0.100	0.005	0.125
Isoleu	0.3282	0.100	0.005	0.125
Fenilala	0.4132	0.100	0.005	0.125
Tirosina	0.0363	-	0.002	0.050

Tabla 2. Cantidades exactas pesadas de aminoácidos

## CAPÍTULO 3

### RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Las gráficas resultantes de las titulaciones se muestran en el apéndice I. Para el análisis se presentan las gráficas de las figuras 13 y 14 las cuales son representativas de las titulaciones de complejos con aminoácidos alifáticos y de los complejos con aminoácidos aromáticos respectivamente. En primer lugar, se observa que en presencia de  $\text{Cu(II)}$  o  $\text{Cu(fen)}^{2+}$  el aminoácido (aaH) se hace más ácido y pierde el protón que cuando se encuentra puro en disolución acuosa no libera. Perdiendo ese protón se genera aa<sup>-</sup> y se produce el complejo binario o ternario según sea el caso, de manera cuantitativa. Ahora bien, analizando cualitativamente el caso de los complejos con aminoácidos alifáticos (vease la figura 13), en el intervalo de pH de 3.0 a 7.0 puede apreciarse que hay mayor acidez libre cuando se titulan los complejos binarios que cuando se titulan los ternarios, lo que indica que el complejo binario  $[\text{Cu(aa)}]^{+}$  se forma más cuantitativamente que el ternario  $[\text{Cu(fen)(aa)}]^{+}$

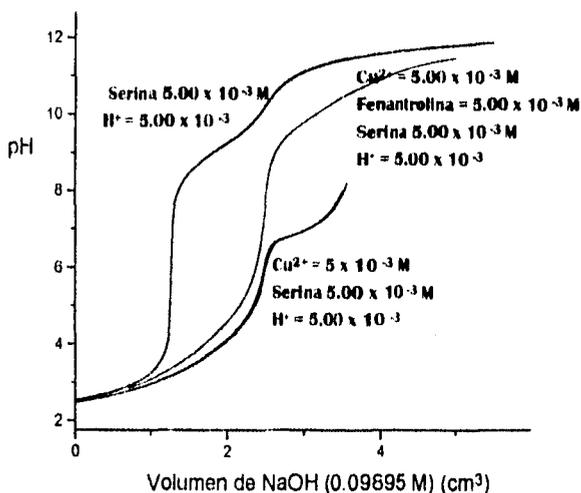


Fig 13 Valoraciones de complejos con aminoácido alifático

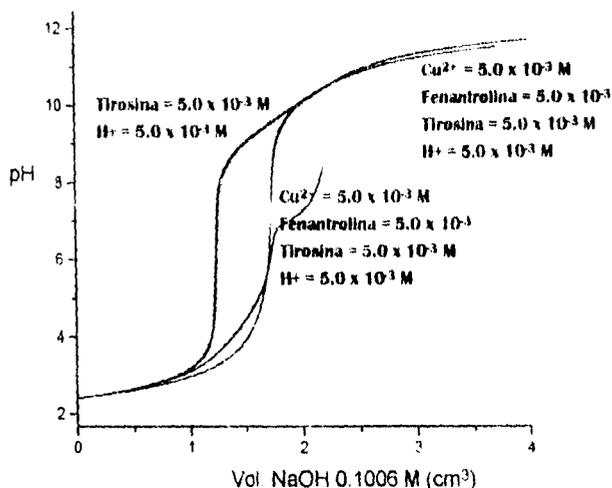


Fig. 14. Valoraciones de complejos con aminoácido aromático

Por otra parte, los complejos con aminoácidos aromáticos (ver figura 4) muestran un cambio, que en ese intervalo la acidez libre es mayor cuando se titula el complejo mixto que cuando tenemos el binario, esto demuestra que en el caso de la tiroxina y la fenilalanina el complejo ternario es más estable que el binario. Podemos entonces agrupar la discusión en dos rubros: los complejos de aminoácidos alifáticos por un lado y los complejos de aminoácidos aromáticos por otro.

El análisis anterior es puramente cualitativo, los resultados numéricos pueden verse en la tabla 3. Observamos que todos los complejos mixtos tienen una constante de estabilidad parcial (reacción 2 en el capítulo 2) desde  $10^7$  a  $10^8$ , lo que significa que son compuestos termodinámicamente estables en las condiciones de trabajo.

El intervalo de pH que se utilizó para los cálculos es el comprendido entre pH 3 y pH 6-7, ya que, como puede apreciarse en la figura 15 es el intervalo en el cual se alcanza el 90% del complejo binario  $[\text{Cu}(\text{fen})]^{2+}$  y prácticamente no se encuentran presentes los otros complejos, incluyendo el dimer del hidróxido

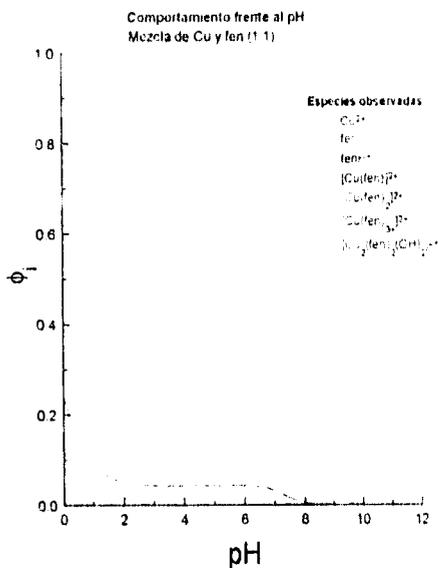
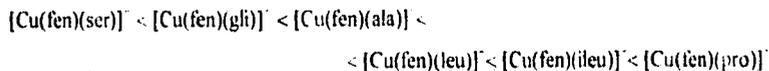


Figura 15. En el intervalo de pH de 2 a 7 predomina el  $[\text{Cu}(\text{fen})]^{2+}$

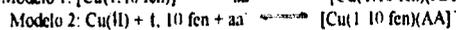
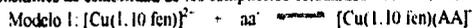
Analizando primero los aminoácidos alifáticos basándonos en los datos correspondientes al modelo 2, que presentan una mejor estadística, ya que simulan de una forma más correcta al sistema y por lo tanto es un mejor modelo observamos que la tendencia de estabilidad tiene el siguiente orden:



Podemos adjudicar la menor estabilidad del complejo de serina a la presencia de un grupo OH en la cadena de la serina, el cual puede jalar densidad electrónica y favorecer menos la coordinación de los grupos amino y carboxilo al  $[\text{Cu}(\text{fen})]^{2+}$ . Además, es posible que se presenten puentes de hidrógeno entre ese grupo OH y el agua, dificultando en alguna medida la interacción de la serina con el  $[\text{Cu}(\text{fen})]^{2+}$ . En cambio, las cadenas alifáticas de la alanina, la leucina, la isoleucina y la prolina, al tener interacciones hidrofóbicas con el agua, favorecen su complejación al  $[\text{Cu}(\text{fen})]^{2+}$  respecto a los casos en los que el aminoácido tiene grupos hidrofílicos, como la serina.

AA	intervalo pH	log K <sub>1(10 fen)</sub> <sup>a</sup>	log K <sub>1(10 fen)</sub> <sup>b</sup>	χ <sup>2</sup>	σ	Δ log K
SER (1)	3 - 6	7.89 <sup>a</sup>	<b>7.471(1)</b>	27.33	0.1727	-0.42
SER (2)	3 - 6	7.89 <sup>a</sup>	<b>7.424(1)</b>	9.07	0.2383	-0.47
GLI (1)	3 - 6	8.20 <sup>a</sup>	<b>7.712(5)</b>	18.88	0.4520	-0.49
GLI (2)	3 - 6	8.20 <sup>a</sup>	<b>7.733(3)</b>	8.47	0.2123	-0.47
ALA(1)	3 - 6	8.14 <sup>a</sup>	<b>7.739(3)</b>	13.92	0.2910	-0.40
ALA(2)	3 - 6	8.14 <sup>a</sup>	<b>7.794(3)</b>	9.68	0.3017	-0.35
LEU(1)	3 - 6	8.26 <sup>a</sup>	<b>7.801(5)</b>	12.53	0.2798	-0.46
LEU(2)	3 - 6	8.26 <sup>a</sup>	<b>7.799(4)</b>	8.92	0.2239	-0.46
ILE(1)	3 - 6	8.27 <sup>a</sup>	<b>7.776(6)</b>	27.60	0.7124	-0.50
ILE(2)	3 - 6	8.27 <sup>a</sup>	<b>7.835(5)</b>	23.69	0.5927	-0.43
PRO(1)	3 - 6	8.84 <sup>a</sup>	<b>8.153(3)</b>	20.67	0.4364	-0.69
PRO(2)	3 - 6	8.84 <sup>a</sup>	<b>8.044(6)</b>	18.71	0.5032	-0.80
FAL(1)	3 - 6	7.80 <sup>b</sup>	<b>8.093(1)</b>	11.37	0.2964	0.29
FAL(2)	3 - 6	7.80 <sup>b</sup>	<b>8.134(1)</b>	13.15	0.2976	0.33
TIR(1)	3 - 7	7.85 <sup>b</sup>	<b>8.436(4)</b>	11.63	0.5537	0.59
TIR(2)	3 - 7	7.85 <sup>b</sup>	<b>8.483(4)</b>	10.94	0.5498	0.63

Tabla 3 Constantes de estabilidad de los compuestos estudiados <sup>a</sup>ref. 44, <sup>b</sup>ref. 45, <sup>c</sup>ref. 46.

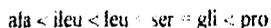


El complejo de glicina se encuentra entre estas dos situaciones: es mas estable que el de serina y menos estable que los demas, esto puede atribuirse a que la glicina carece de cadena alifática. Es importante hacer notar que estamos comparando los valores relativos de estabilidad de compuestos que como grupo son menos estables que su correspondiente binario, así que los factores que determinan el orden de estabilidad de los compuestos

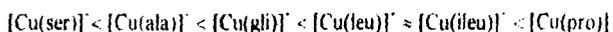
ternarios, difícilmente pueden aplicarse en el caso de sus analogos binarios, ya que las especies  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$  y  $[\text{Cu}(\text{fen})(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$  son diferentes

Analizando ahora los valores de  $\Delta \log K$  que presentan, vemos en primer lugar que todos presentan un valor negativo, como predicen los argumentos estadísticos. Sin embargo el valor absoluto no es muy alto, lo cual nos indica una estabilidad intermedia en comparación con las estabilidades de otros compuestos ternarios de estructura análoga, (que tienen un  $\Delta \log K$  más negativo cuando el segundo ligante es donador por nitrógeno y uno positivo cuando el segundo ligante es donador por oxigenos). Esto se atribuye a que el aminoácido es donador mixto (N-O) factor que lo pone en una tendencia de complejación intermedia con el  $[\text{Cu}(\text{fen})]^{2+}$ .

Al comparar ahora los valores de  $\Delta \log K$  entre ellos, observamos que en valor absoluto los compuestos con aminoácidos alifáticos siguen este orden:



lo que nos habla del cambio que le confiere la 1,10 fenantrolina al Cu(II) en sus propiedades de coordinación, por ejemplo, el orden de estabilidad de los complejos binarios es el siguiente:

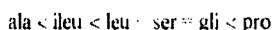


comparando los complejos de serina, alanina y glicina, observamos que el complejo ternario más estable es el de la alanina, y su complejo binario es de una estabilidad media, lo que origina un  $\Delta \log K$  bajo. Si nos fijamos ahora en los complejos de glicina, sucede lo contrario: el complejo binario es el de mayor estabilidad y el ternario de una estabilidad media, ello conlleva a un  $\Delta \log K$  relativamente alto. En resumen: el trabajo que le cuesta a la alanina coordinarse al  $[\text{Cu}(\text{fen})]^{2+}$  es menor que el que le cuesta a la glicina, pero sucede lo contrario cuando el Cu(II) está sin coordinarse. Es decir, la presencia de la fenantrolina en la esfera de coordinación del Cu(II) implica cambios en sus propiedades de complejación (o mejor dicho: genera una especie diferente) y según sea el caso, los factores que determinarán la estabilidad de las especies formadas son distintas. Otra prueba la observamos en los complejos de leucina y los de isoleucina, ya que la estabilidad de sus complejos binarios es prácticamente la misma, en cambio, cuando forman el complejo ternario respectivo, el de isoleucina resulta ser más estable que el de leucina. Los casos extremos de los complejos de

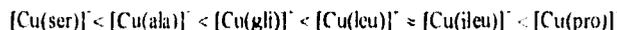
ternarios, difícilmente pueden aplicarse en el caso de sus analogos binarios, ya que las especies  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$  y  $[\text{Cu}(\text{fen})(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$  son diferentes

Analizando ahora los valores de  $\Delta \log K$  que presentan, vemos en primer lugar que todos presentan un valor negativo, como predicen los argumentos estadísticos. Sin embargo el valor absoluto no es muy alto, lo cual nos indica una estabilidad intermedia en comparación con las estabilidades de otros compuestos ternarios de estructura análoga. (que tienen un  $\Delta \log K$  más negativo cuando el segundo ligante es donador por nitrógeno y uno positivo cuando el segundo ligante es donador por oxigenos) Esto se atribuye a que el aminoácido es donador mixto (N-O) factor que lo pone en una tendencia de complejación intermedia con el  $[\text{Cu}(\text{fen})]^{2+}$ .

Al comparar ahora los valores de  $\Delta \log K$  entre ellas, observamos que en valor absoluto los compuestos con aminoácidos alifáticos siguen este orden:



lo que nos habla del cambio que le confiere la 1,10 fenatrolina al Cu(II) en sus propiedades de coordinación, por ejemplo, el orden de estabilidad de los complejos binarios es el siguiente:



comparando los complejos de serina, alanina y glicina, observamos que el complejo ternario más estable es el de la alanina, y su complejo binario es de una estabilidad media, lo que origina un  $\Delta \log K$  bajo. Si nos fijamos ahora en los complejos de glicina, sucede lo contrario: el complejo binario es el de mayor estabilidad y el ternario de una estabilidad media, ello conlleva a un  $\Delta \log K$  relativamente alto. En resumen: el trabajo que le cuesta a la alanina coordinarse al  $[\text{Cu}(\text{fen})]^{2+}$  es menor que el que le cuesta a la glicina, pero sucede lo contrario cuando el Cu(II) está sin coordinarse. Es decir, la presencia de la fenatrolina en la esfera de coordinación del Cu(II) implica cambios en sus propiedades de complejación (o mejor dicho: genera una especie diferente) y según sea el caso, los factores que determinarán la estabilidad de las especies formadas son distintas. Otra prueba la observamos en los complejos de leucina y los de isoleucina, ya que la estabilidad de sus complejos binarios es prácticamente la misma, en cambio, cuando forman el complejo ternario respectivo, el de isoleucina resulta ser más estable que el de leucina. Los casos extremos de los complejos de

la prolina y la serina, los cuales tienen igual tendencia en los dos casos, nos indican que en este caso predominan las características de sus propias estructuras y son los que determinan su coordinación tanto al  $\text{Cu(II)}$  como al  $[\text{Cu}(\text{fen})]^{2+}$ .

Sobre el complejo de leucina hay algo más que comentar, y es que, con base en el valor de su constante, en el de su  $\Delta \log K$  y en su estructura  $\text{RX}$ , puede decirse que no se presenta interacción hidrofóbica, como pudiera pensarse por poseer la leucina una cadena hidrocarbonada. Este hecho va en contra de las predicciones que plantea Sigel [15], las cuales plantean la posibilidad de una interacción hidrofóbica y la consecuente torsión de la cadena de la leucina.

Ahora bien, analizando los diagramas de predominio de especies característicos de los compuestos con aminoácidos alifáticos y de los compuestos con aminoácidos aromáticos construidos con el valor de las constantes obtenidas y los de la literatura, se observa que en el caso de los compuestos con aminoácidos alifáticos el intervalo de pH en el que el complejo ternario es estable es de 4 - 10, alcanzando hasta un 90% de predominio en la disolución a pH 8 (figura 16).

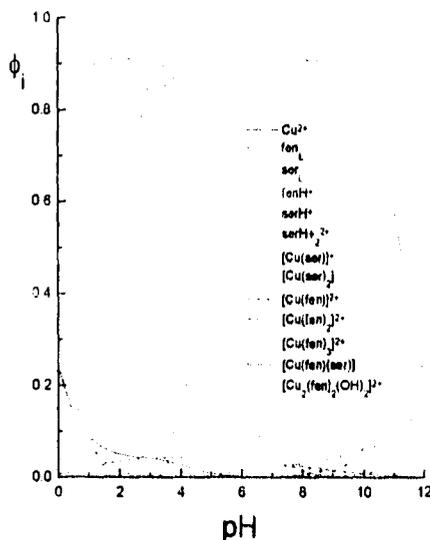


Figura 16. Diagrama de predominio de especies de los complejos de serina

En el caso de los compuestos con aminoácidos aromáticos el intervalo de estabilidad es mayor, a saber, pH 4 - 12, además, alcanzan un predominio del 99 % a pH 7, el cual se mantiene hasta pH 11 (figura 17). Lo anterior confirma nuevamente la mayor estabilidad de los complejos con aminoácidos aromáticos que la de los compuestos con aminoácidos alifáticos.

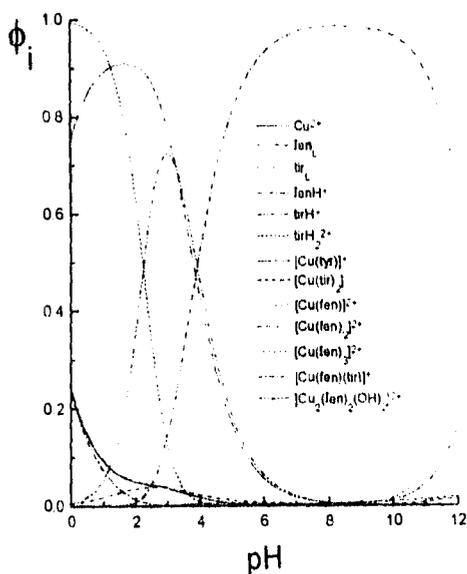


Figura 17. Diagrama de predominio de especies de los complejos de tirosina

Para dejar más en claro este comportamiento, en la figura 18 se comparan los diagramas de predominio de las casiopeínas de glicina y serina con el diagrama correspondiente a la casiopeína de la tirosina, donde se observa que el intervalo de estabilidad de este complejo es más amplio que el de aquéllos.

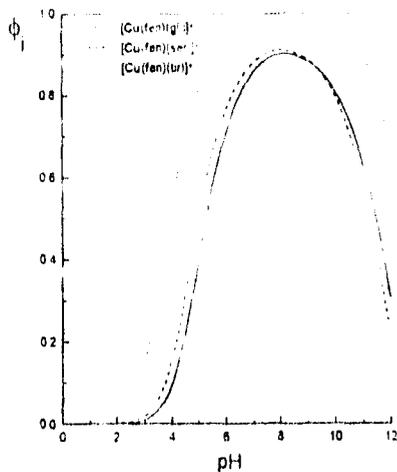


Figura 18 La castiopeina con aa aromático tiene una estabilidad mayor que las castiopeinas con aa alifático. Otro hecho interesante ocurre con el compuesto del hidróxido  $\text{Cu}_2(\text{fen})_2\text{OH}_2^+$  cuya formación se ve retardada a pH más altos debido a la presencia del complejo ternario (figura 19).

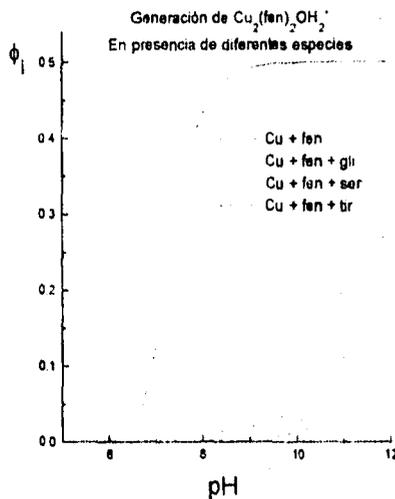
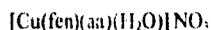


Figura 19. La generación del dímero del hidróxido se retarda en presencia del complejo ternario

Finalmente, podemos decir que las estructuras RX de los complejos con aminoácidos alifáticos (figura 20), corroboran la discusión precedente, ya que en todos estos casos no hay evidencias de algún factor adicional al de el efecto quelato y el aumento de la dureza del Cu(II) complejoado con la fenantrolina, que incrementa la estabilidad de esos complejos ternarios. Todos presentan un agua de hidratación en la posición axial y el contraión nitrato se encuentra fuera de la esfera de coordinación, de tal manera que en general presentan la siguiente estructura



con el aminoácido totalmente extendido de manera opuesta a la fenantrolina, como se puede apreciar en la figura 20.

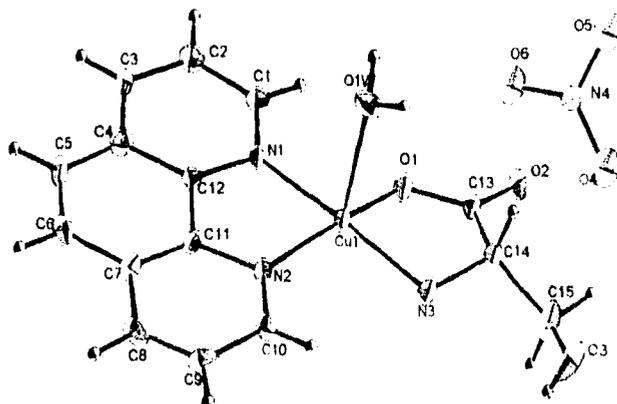


Figura 20 Estructura del  $[\text{Cu}(\text{fen})(\text{ser})(\text{H}_2\text{O})]\text{NO}_3$ .

Analícemos ahora los complejos de fenilalanina y tirosina. Observamos que las constantes de estabilidad de los ternarios son mayores que las de los binarios haciendo que su  $\Delta \log K$  sea positivo, ya que en estos casos son posibles apilamientos entre los anillos aromáticos presentes en el complejo ternario, apilamientos que, dada la concentración en las condiciones de trabajo,  $2 \times 10^{-3}$  M, únicamente pueden ser de carácter intramolecular, ya que las moléculas a esa concentración se encuentran muy separadas entre sí y tienen pocas

posibilidades de interactuar. Comparando tanto el valor de las constantes como los de  $\Delta \log K$  vemos que el complejo de tirosina es más estable que el de fenilalanina, esto quiere decir que el apilamiento del complejo con tirosina es más efectivo que el de la fenilalanina. Podemos decir que en el caso de la tirosina (figura 21) la interacción  $\pi$ - $\pi$  intramolecular es muy fuerte, de tal forma que la interacción del anillo de la tirosina con los de la fenantrolina de la misma molécula (que provoca una torsión de la cadena del aminoácido), se mantiene aun cuando el complejo se cristaliza, es decir, en el equilibrio que se plantea en la figura 9 de los antecedentes predomina la estructura cerrada tanto en solución diluida como en forma cristalina. Se genera entonces, una estructura monomérica con fuerzas de interacción adicionales entre sus constituyentes más fuertes que las interacciones que implicaría un apilamiento intermolecular, el cual sería posible al tener la forma cristalina del complejo debido a la cercanía de las moléculas. En la figura 21 observamos que, efectivamente el apilamiento intramolecular se mantiene sobre el intermolecular.

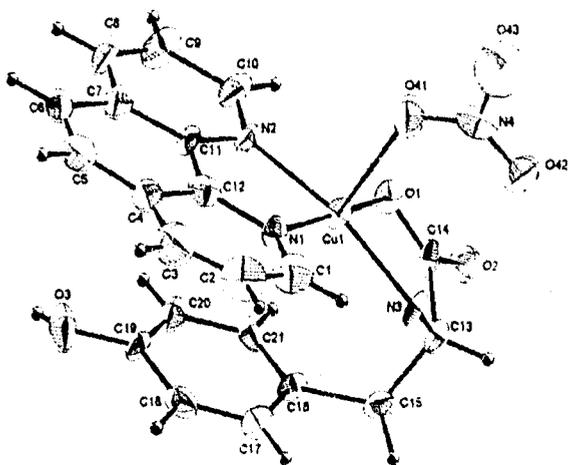


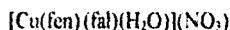
Figura 21. Estructura del  $[Cu(fen)(tir)(NO_3)]$

En cambio, en el caso del complejo de fenilalanina el apilamiento intramolecular se pierde al generar su estructura cristalina, de manera que se apilan el anillo de la fenilalanina

de una molécula con los anillos de fenantrolina de otra molécula y la estructura se abre. Estas interacciones favorecen la formación del complejo ternario, pero en menor medida, en comparación con el apilamiento intramolecular. Puede verse, por lo tanto, cómo las posibilidades de coordinación del Cu(II) en estos casos se ve favorecida por la presencia de la fenantrolina, pesando más la posibilidad de interacciones de apilamiento sobre el impedimento estérico y el factor estadístico. Otra diferencia que presenta el complejo con tirosina es que debido a la torsión que se da en la tirosina, la parte axial que ocupa el agua en el caso de los complejos con aminoácidos alifáticos ahora queda impedida y la celda unitaria resultante carece de agua de hidratación. Sin embargo, el contraion tiene oportunidad de coordinarse con el Cu por la parte de abajo, de tal manera que la celda unitaria de la tirosina es



En el caso de la fenilalanina, como el apilamiento es intermolecular en estado cristalino [47], las posiciones axiales no quedan impedidas y la celda queda de la siguiente manera

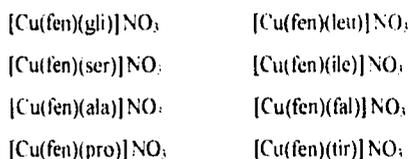


con la fenilalanina extendida en la dirección contraria a la fenantrolina de su misma molécula y apilándose con la fenantrolina de la molécula adjunta

## CAPÍTULO 4

### CONCLUSIONES

Se calcularon las constantes de estabilidad de los siguientes compuestos



Los valores de esas constantes indican que estos complejos son termodinámicamente estables a fuerza iónica 0.15 y 25°C.

El intervalo de pH de estabilidad de estos compuestos es de 4 - 10 en el caso de los complejos con aminoácidos alifáticos y de 4 - 12 para los complejos con aminoácidos aromáticos

La generación del dímero  $[\text{Cu}_2(\text{fen})_2(\text{OH})_2]$  se retarda por la aparición del complejo ternario

El modelo completo (2) para el tratamiento de datos genera resultados con una mejor estadística.

Los complejos ternarios de aminoácidos alifáticos son ligeramente menos estables que su correspondiente  $[\text{Cu}(\text{aa})]$ .

En estos complejos es notorio el aumento de estabilidad a medida que las cadenas de los aminoácidos se hace más larga, esto se atribuye a interacciones hidrofóbicas con el disolvente

El complejo de serina es la menos estable. esto se atribuye a la posibilidad del hidroxilo a establecer puentes de hidrógeno con el agua

Los complejos de leucina e isoleucina no presentan apilamientos hidrofóbicos.

Aunque de los complejos ternarios antiáticos el de la prolina resulto ser el más estable, su  $\Delta \log K$  es el más negativo también, de tal manera que de esta serie la prolina es el aminoácido que más prefiere generar su complejo binario que el ternario

Los complejos ternarios de los aminoácidos aromáticos son más estables que su correspondiente binario  $[Cu(aa)]^+$ , ya que en estos casos son posibles interacciones de apilamiento entre los anillos aromáticos de los ligantes

El apilamiento intramolecular es un factor estabilizante más poderoso en el caso del complejo de tirosina que en el de fenilalanina. Por ello el complejo de tirosina es más estable que el de la fenilalanina.

El apilamiento intramolecular en el caso del complejo de la tirosina es tan fuerte que aun en estado cristalino se mantiene

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Lippard, S. J. y Berg, J.M., "*Principles of Bioinorganic Chemistry*" University Science Books USA (1994).
- 2) Lehninger A., Nelson D. y Cox M., "*Principles of Biochemistry*". 2nd Edit. Worth Publishers, USA (1993).
- 3) Sigel, H., Fischer, B. Prijs, B., *J. Am. Chem. Soc.* **99**, 4489-4496 (1977).
- 4) Hughes, M. Poole, R., "*Metals and Micro-Organisms*". Edit Chapman and Hall Ltd USA (1980).
- 5) Eisi Toma H., "*Química Bioinorgânica*". Secretaria-Geral da Organização dos Estados Americanos, Washington, D.C. (1984).
- 6) Seiler H. y Sigel H., "*Handbook of Toxicity of Inorganic Compounds*". Marcel Dekker Inc. USA (1988).
- 7) Hay R. W., "*Bio-Inorganic Chemistry*". Ellis Horwood Limited Great Britain (1984).
- 8) Uchida K. y Kawakishi S., *J. Agric. Food Chem.* **38**, 1896-1899 (1990).
- 9) Goldstein S., Czapski G. y Meyerstein D., *J. Am. Chem. Soc.* **112**, 6489-6492 (1990).
- 10) Masuda H., Sugimori T., Odani A. y Yamauchi O., *Inorg. Chim. Acta.* **180**, 73-79 (1991).
- 11) Sugimori, T., Masuda, H., Yamauchi, O., *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **67**, 131-137 (1994).
- 12) Yamauchi, O., Odani A. y Masuda, H., *Inorg. Chim. Acta* **198-200**, 749-761 (1992).
- 13) Sigman, D., Mazumder, A. y Perrin D., *Am. Chem. Soc. Chem. Rev.* **93**, 2295-2316 (1993).
- 14) Daniele P., Prenesti, E., Aigotti, R. y Ostacoli G., *J. Inorg. Biochem.* **58**, 139-146 (1995).
- 15) Bal W., Jezowska-Bojczuk M., Kozłowski H., Chruscinski L., Kupryszewski G. y Witezuk, B., *J. Inorg. Biochem.* **57**, 235-247 (1995).
- 16) Martinez, A., "*Estudio Sintético y Cristalográfico de Compuestos quelatos mixtos de Cu(II)*" Tesis de Licenciatura. UNAM (1987).

ESTA TESIS NO DEBE  
SAIR DE LA BIBLIOTECA

- 17) Gasque, I., Moreno R. y Ruiz L., *J. Inorg. Biochem.* **48**, 121-127 (1992)
- 18) Gómez Ruiz C., *J. Inorg. Biochem.* **51**, 406 (1993)
- 19) Gracia, I., *J. Inorg. Biochem.* **43**, 6-16 (1991)
- 20) Tinoco, M., "Administración de Casiopeína®I por vía intraperitoneal. Estudio anatómo-histológico en ratones". Tesis de Licenciatura Fac. de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, (1994)
- 21) Sueta, G., Radi, R. y Ruiz, L., "Actividad SOD de Casiopeínas". Segunda Jornada de Trabajo en Casiopeínas. Memorias. Fac. de Química, UNAM (1996).
- 22) Sueta, G., Radi, R. y Ruiz, L., "Casiopeínas como catalizadores de la reacción con peroxinitrito. Otra actividad SOD-like". Segunda Jornada de Trabajo en Casiopeínas. Memorias. Fac. de Química, UNAM (1996).
- 23) Kaim W. y Schwederski B., "Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life. An Introduction and Guide". John Wiley & Sons Great Britain (1996)
- 24) Gasque Silva L., "Síntesis, caracterización y constantes de estabilidad de complejos mixtos de Cu(II)". Tesis de Maestría Fac. de Química, UNAM (1984)
- 25) Connors, K. A., "Binding Constants. The Measurement of molecular Complex Stability". John Wiley & Sons. USA (1987).
- 26) Gans P., Sabatini A. y Vacca A., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 1195-1200 (1985).
- 27) Young H. D., "Statistical Treatment of Experimental Data" McGraw-Hill Book Company, Inc USA (1962).
- 28) Sigel, H., *Angew. Chem. Internat. Edit.* **14**, 394-401 (1975).
- 29) Griesser R. y Sigel H., *Inorg. Chem.* **9**, 1238-1242 (1970).
- 30) Pasternack R. y Sigel H., *J. Am. Chem. Soc.* **92**, 6146-6151 (1970).
- 31) Hubber P., Griesser R. y Sigel H., *Inorg. Chem.* **10**, 945- 947 (1971).
- 32) Griesser R. y Sigel H., *Inorg. Chem.* **10**, 2229-2232 (1971).
- 33) Dubler E., Häring U., Scheller, K. y Baltzer, P. *Inorg. Chem.* **23**, 3785-3792 (1984).
- 34) Malini-Balakrishnan R., Scheller K., Häring U., Tribolet, R. y Sigel H., *Inorg. Chem.* **24**, 2067-2076 (1985)

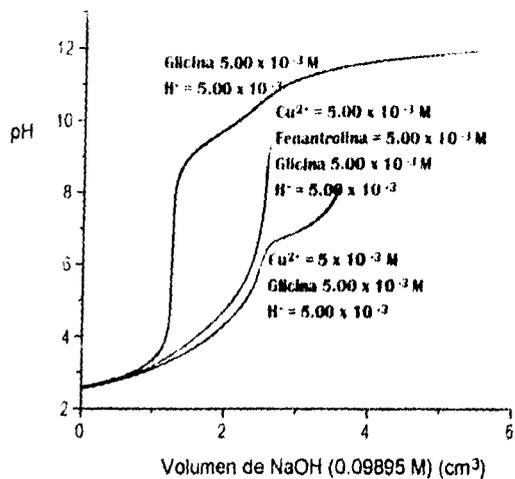
- 35) Sigel H., y McCormick D., "Discriminating Behavior of Metal Ions and Ligands" **3**, 201-208 (1970)
- 36) Huheey, J., Keiter, E. y Keiter, R., "Inorganic Chemistry. Principles of Structure and Reactivity" Fourth Edition. Harper Collins College Publishers USA (1993)
- 37) Sigel, H., *Pure & Appl. Chem.* **61**, 923-932 (1989)
- 38) Fischer B. y Sigel H., *J. Am. Chem. Soc.* **102**, 2998-2999 (1980)
- 39) Sigel H., *Chem. Soc. Rev.* 255-267 (1993).
- 40) Sigel H., Massoud S. y Corfú N., *J. Am. Chem. Soc.* **116**, 2958-2971 (1994)
- 41) Galster, H., "pH Measurement. Fundamentals, Methods, Applications, Instrumentation." VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim Federal Republic of Germany (1991).
- 42) Rossotti, F. J. y Rossotti H., *J. Chem. Educ.* **42**, 375-378 (1965)
- 43) Martell, A. y Motekaitis R., "Determination and Use of Stability Constants" VCH Publishers. USA (1992).
- 44) Martell, E. y Smith, R., "Critical Stability Constants" **5**. Plenum Press. New York, 1982.
- 45) Martell, E. y Smith, R., "Critical Stability Constants" **6**. Plenum Press. New York, 1989.
- 46) Sovagó, Y., et al. *Pure & Applied Chem.* **65**, 1029-1080 (1993)
- 47) Solans, X., Ruiz-Ramirez, Gasque L., *Acta Cryst.* **C44**, 628-631 (1988).
- 48) Gadea L. R., "Estabilidad de complejos mixtos de cobre" Tesis de licenciatura. Fac. de Química, UNAM (1984).
- 49) © Casiopeína- Reg. 407543, SECOFI, 1992.  
 1. USA Pat., Ap 21 (1992) 5,107,005, SECOFI, diciembre 9 (1993) No. 172248  
 2. USA Pat., (1992) 07,628,845, SECOFI, enero 26 (1994) No. 172248

## APENDICE I

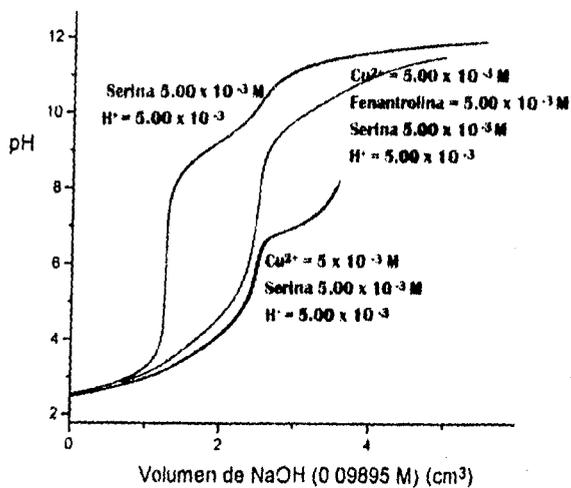
### GRÁFICAS RESULTANTES DE TODAS LAS TITULACIONES

Con el fin de dejar constancia de la reproducibilidad en los experimentos, por cada una de las tres especies se realizaron tres titulaciones en idénticas condiciones. En todas las gráficas están contenidas las curvas resultantes de cada una de esas repeticiones

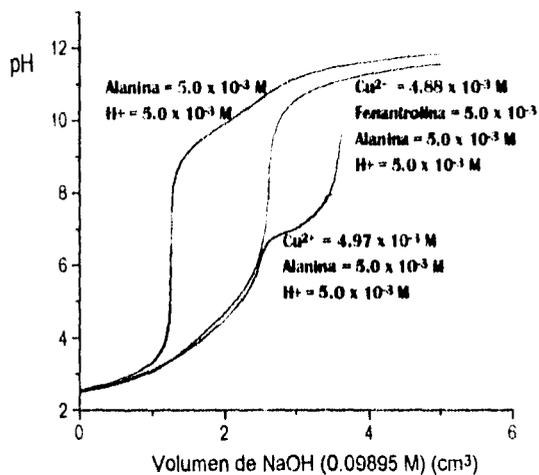
VALORACION DE COMPLEJOS DE GLICINA



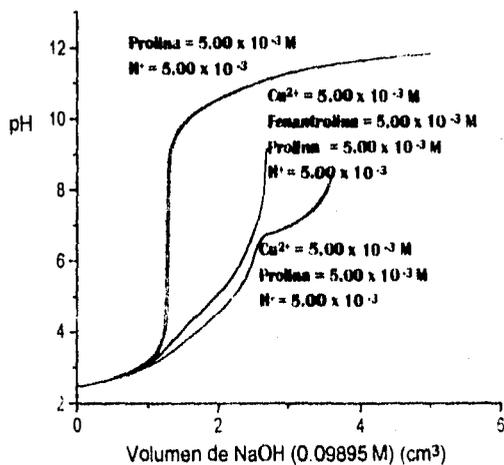
VALORACIÓN DE COMPLEJOS DE SERINA



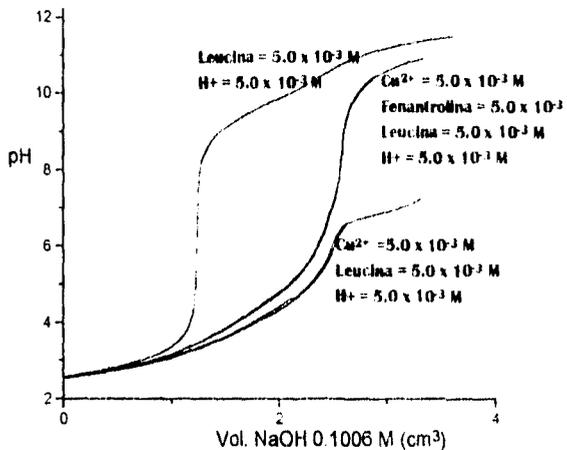
### VALORACION DE COMPLEJOS DE ALANINA



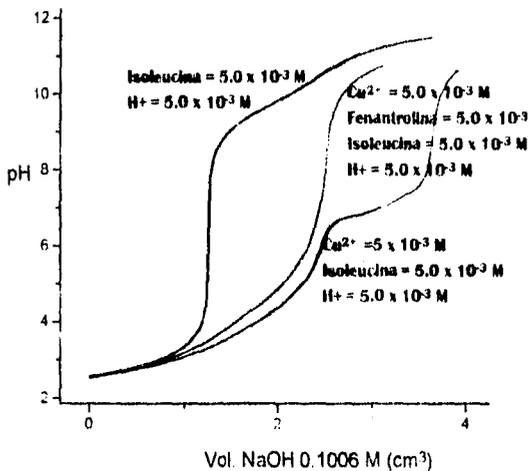
### VALORACIÓN DE LOS COMPLEJOS DE PROLINA



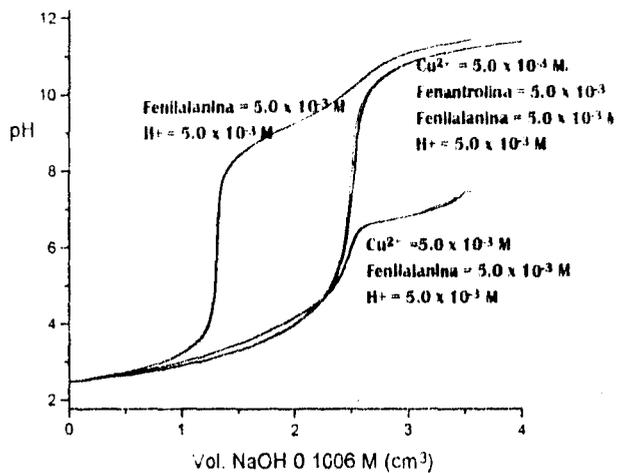
VALORACIÓN DE COMPLEJOS DE LEUCINA



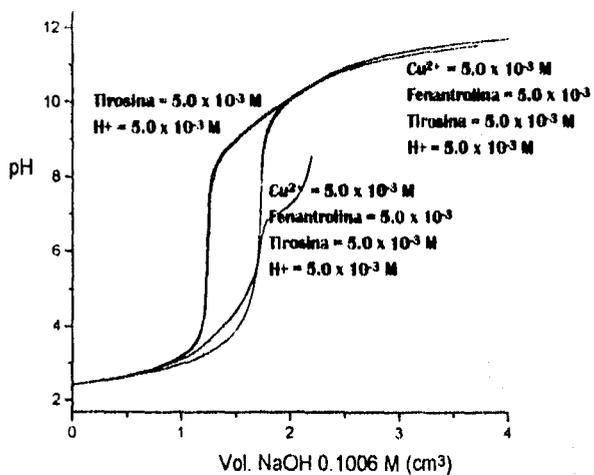
VALORACIÓN DE COMPLEJOS DE ISOLEUCINA



VALORACION DE LOS COMPLEJOS DE FENILALANINA



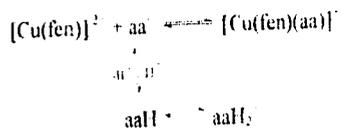
VALORACION DE COMPLEJOS TIROSINA



APENDICE II

MODELOS UTILIZADOS PARA EL TRATAMIENTO DE DATOS CON EL PROGRAMA SUPERQUAD

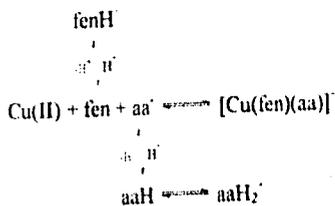
Modelo 1



$\beta_{\text{Cu}(\text{fen})(\text{aa})\text{H}}$  consideradas

Cu	fen	aa	H
0	0	1	1
0	0	1	2

Modelo 2:



$\beta_{\text{Cu}(\text{fen})(\text{aa})\text{H}}$  consideradas:

Cu	fen	aa	H
0	0	1	1
0	0	1	2
0	1	0	1
1	1	0	0
1	2	0	0
1	0	1	0
1	0	2	0

VALORES UTILIZADOS

Aminoácido	log $K_{III}$	log $K_{III}$	log $\beta_{MI}$	log $\beta_{MI}$
Glicina [46]	9.6	2.37	8.20	15.07
Alanina[46]	9.72	2.33	8.14	14.96
Serina[45]	9.05	2.13	7.89	14.50
Leucina[46]	9.66	2.32	8.26	15.20
Isoleu[46]	9.65	2.28	8.27	15.32
Prolina[45]	10.47	1.9	8.84	16.36
Fenilala[45]	9.09	2.19	7.80	14.70
Tirosina*[45]	9.04	2.24	7.85	14.70

\* No se consideró el tercer valor del pKa correspondiente al hidroxilo

Valores de las constantes globales de los complejos de Cu(II) y fenantrolina [45].

$$pK_a \text{ fenH} = 4.96$$

$$\log \beta \text{ Cu(fen)} / [\text{Cu}^{2+} \text{ fen}] = 9.08$$

$$\log \beta \text{ Cu(fen)}_2 / [\text{Cu}^{2+} \text{ fen}]^2 = 15.80$$