



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

**“Síntesis y caracterización de nuevas estibinas y bismutinas
conteniendo derivados de tiofeno y selenofeno C-heterociclo
sustituido y pruebas de actividad antioxidante, citotóxica y
toxicidad”**

T E S I S

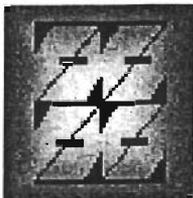
PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A:

MARÍA DE JESÚS HERNÁNDEZ SILVA

Director de Tesis: Dr. Pankaj Sharma



MÉXICO, D.F. 2005

m3 45540



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.

Índice

Sección	Página
Jurado	
Agradecimientos	i
Dedicatorias	iv
Lista de abreviaturas	v
RESUMEN	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. FUNDAMENTOS TEÓRICOS	
2.1. Generalidades de los elementos del grupo 15 o VA	3
2.1.2. Métodos de síntesis de estibinas y bismutinas terciarias	5
2.1.3. Metalación de compuestos heterocíclicos aromáticos con compuestos organolitados. (Sustitución Nucleofílica sobre Hidrógeno)	6
2.1.4. Intercambio de halógeno-metal entre halotiofenos y compuestos metalorgánicos (Sustitución Nucleofílica sobre halógeno)	7
2.2. Proceso oxidativo: definición y efecto de los radicales libres (RL) en el organismo	8
2.2.1. Patologías relacionadas con el efecto de los radicales libres y el antimonio	9
2.2.2. Antioxidantes	10
2.2.3. Lipoperoxidación espontánea	12
2.2.4. Tumor, cáncer y citotoxicidad	15
2.2.4.1. Tipos de cáncer	15
2.2.4.2. Agentes que causan cáncer	17
2.2.4.3. Citólisis y citotoxicidad	17
2.2.4.4. Evaluación de citotoxicidad	18
2.2.4.5. Citotoxicidad en compuestos estibínicos	19
2.2.5. Toxicidad aguda en <i>A. salina</i> .	19
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
IV OBJETIVOS	21
V HIPÓTESIS	21

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VI DISEÑO EXPERIMENTAL	
6.1. Diagrama de flujo	22
6.2. Línea mixta de vacío-gas inerte	23
6.2.1. Técnica Schlenk	24
6.3. Metodología	
6.3.1. Síntesis de estibinas y bismutinas terciarias	25
A. Material, equipo y reactivos	
B. Procedimiento	
C. Extracción y purificación	
6.3.2. Pruebas de actividad biológica en las estibinas	
6.3.2.1. Lipoperoxidación espontánea	28
A. Material, equipo y reactivos	
B. Procedimiento	
6.3.2.2. Reducción de radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo	30
A. Material, equipo y reactivos	
B. Procedimiento	
6.3.2.3. Citotoxicidad	31
A. Material, equipo y reactivos	
B. Procedimiento	
6.3.2.4. Toxicidad aguda en <i>A. salina</i>	33
A. Material, equipo y reactivos	
B. Procedimiento	
VII. RESULTADOS	
7.1. Compuestos sintetizados	35
7.2. Pruebas de actividad biológica	38
7.2.1. Lipoperoxidación espontánea: TBARS	38
7.2.2. Reducción de DPPH	39
7.2.3. Citotoxicidad	40
7.2.4. Toxicidad aguda en <i>A salina</i>	41
VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	42
IX. CONCLUSIONES	47
X. REFERENCIAS	49
ANEXO	



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES "ZARAGOZA"

JEFATURA DE LA CARRERA DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO BIÓLOGO

Jurado

Presidente Q.F.B. Araceli García del Valle
Vocal* Dr. Pankaj Sharma
Secretario Q.I. Ángel Pavón Lara
Suplente Dra. María Teresa Corona Ortega
Suplente I.B.Q. Víctor Alberto Corvera Pillado

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABALARA EL ESPÍRITU"
México , D.F., 2005

Agradecimientos

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Química Inorgánica I y en el Laboratorio de Pruebas Biológicas del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección del Dr. Pankaj Sharma y gracias a la asesoría técnica del Dr. Noé Rosas Espinosa.

El trabajo de investigación que se presenta para obtener el título de Químico Farmacéutico Biólogo fue realizado gracias al apoyo financiero otorgado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM (DGAPA, proyecto N° IN-218901) y por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT, proyecto N° 38761-E).

Gracias M. en C. Antonio Nieto Camacho por tu asesoría, paciencia y dedicación en la realización de este trabajo, por tus consejos, por esos momentos felices que compartiste conmigo, por tus divertidos gestos de enojo cuando algo salía mal y por ser esa persona tan especial, buena y terca que siempre me brindó su ayuda, y a la cual aprecio mucho (aunque ya no te funciona muy bien la neurona). Por cierto aunque insistas en negarlo yo se que me vas a extrañar.

De igual forma le agradezco a la M. en C. Ma. Teresa Ramírez Apan por sus muy acertados consejos, sugerencias y por ser una persona admirable y muy exigente.

Al Ing. Luis Velasco Ibarra y al M. en C. Javier Pérez Flores, como encargados de los equipos de Masas por su enorme apoyo técnico en la realización de los espectros de IE^+ , los cuales fueron fundamentales para cada uno de los compuestos sintetizados en el presente trabajo de investigación.

Gracias Profesor Pavón, Dra. Teresa, Profesora Araceli y Profesor Victor por su valiosa ayuda en la revisión de mi tesis y por ser parte del jurado en la presentación de mi examen profesional.

Dedicatoria

Esta tesis está dedicada al hombre que siempre confió en mí, que me enseñó a valorar cada momento de la vida, que fue mi Dios y mi inspiración en este duro camino, que llenó de luz mi existir y que se fue sin escucharme decir cuanto lo amaba, lo mucho que lo admiraba, lo valioso que era para mí. Hoy papito ya es tarde para decírtelo sin embargo yo se que desde donde estés alcanzarás a escuchar mis palabras, y desde aquí te doy las gracias por haber sido el padre más maravilloso del mundo y por haberme amado tanto.

Dicen que las personas no mueren cuando alguien los recuerda con afecto y yo te digo que tu no has muerto porque siempre has permanecido a mi lado y has protegido mi andar. Gracias por darme la vida y enseñarme a luchar por realizar mis sueños, gracias simplemente por haber existido. Mi tesis está dedicada a tu memoria.

De igual forma te agradezco a ti mamita por lo cariñosa y buena que eres, porque a pesar de nuestras diferencias de carácter respetas y me aceptas tal cual soy, por llenarme de alegría simplemente con tu presencia, por tus noches de desvelo, por tu mal genio y tus niñerías, porque aunque no te lo demuestre te amo y te admiro por no dejarte caer ante la adversidad por luchar por nosotros y por nuestro buen estar, sabes tu no eres una mamá normal porque eres una mamá genial.

A ti hermanito que te puedo decir, se te heredaron responsabilidades y obligaciones que no te concernían y a las cuales no estabas preparado, pero aún así saliste victorioso, sabes que te admiro y te amo, deseo que todo lo que has sufrido con nosotras, Dios y la vida te lo compensen, porque eres muy inteligente, trabajador y muy bueno. Gracias por ayudarme, por darme consejos e impulsarme siempre para lograr mis objetivos, gracias por ser mi amigo y por ser el mejor hermano que pude tener.

Por sobre todas las cosas agradezco a Dios por permitirme llegar hasta donde estoy. A toda mi familia y amigos con mucho cariño.

CHUY

Lista de abreviaturas

Á	Amstrong (longitud)
a	Afinada (descripción de una banda)
ADN	Ácido desoxirribonucleico
BHT	Butilhidroxitolueno
¹³ C	Isótopo del carbono
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
d	Débil (descripción de una banda)
<i>d</i>	Doblete
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidracilo
EM(IE+)	Espectrometría de Masas por Impacto Electrónico
f	Fuerte (descripción de una banda)
¹ H	Protón
m	Mediana (descripción de una banda)
<i>m</i>	Múltiplete
m/e	Relación masa/carga
[M ⁺]	Ión molecular
MHz	MegaHertz
PBS	Solución Buffer de Fosfatos
Rx	Rayos X
<i>s</i>	simple
SRB	Sulforrodamina B
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico
<i>t</i>	Triplete
THF	Tetrahidrofurano
TMS	Tetrametilsilano
uma	Unidades de masa atómica
δ(ppm)	Desplazamiento químico en partes por millón
μL	Micro litro (volumen)
μM	Micromolar (concentración)
<i>v</i>	Vibración de los enlaces expresados en cm ⁻¹

NOTA: En el trabajo las siglas están escritas en idioma Inglés.

Resumen

En el trabajo se realizó la síntesis, caracterización e identificación de nuevas estibinas y bismutinas conteniendo derivados de tiofeno y selenofeno heterocíclico sustituido y pruebas de actividad antioxidante, citotóxica y toxicidad. Estas estibinas y bismutinas fueron sintetizadas empleando como intermediarios reactivos de Grignard y litioselenofeno para posteriormente hacerlas reaccionar con trihalogenuros de antimonio y bismuto. Estas nuevas estibinas y bismutinas fueron caracterizadas por las técnicas espectroscópicas, espectrométricas y evaluando la actividad biológica de las estibinas sobre la peroxidación espontánea de lípidos en homogenizado de cerebro de rata, mediante la técnica de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), en el ensayo de reducción del radical libre 2,2-difenil-1-picril-hidracilo (DPPH), citotoxicidad en tres líneas celulares cancerígenas y en linfocitos normales, y en la prueba de toxicidad aguda empleando el modelo de *Artemia salina*.

“Síntesis y caracterización de nuevas estibinas y bismutinas conteniendo derivados de tiofeno y selenofeno C-heterociclo sustituido y pruebas de actividad antioxidante, citotóxica y toxicidad”.

I. Introducción

Los nuevos fármacos nacen de la necesidad de tratar enfermedades o síntomas de ellas con el fin de preservar la salud.

El usuario común está más familiarizado con el suministro de moléculas orgánicas para restablecer su salud, esto tal vez se deba al número reducido de fármacos inorgánicos. No es difícil pensar que un Químico dedicado al manejo de sustancias farmacológicas sea una excepción, lo anterior no es reflejo absoluto de lo que sucede en realidad, cada vez se utilizan más fármacos con metales y no metales integrados a la molécula.

De este modo, el amplio uso terapéutico de los compuestos de antimonio y bismuto, indican una gran relevancia biológica. Por lo que algunos principios activos de medicamentos usados en el tratamiento de enfermedades estomacales con compuestos de bismuto son: el subsalicilato de bismuto BSS (Pepto Bismol®), el subcitrate de bismuto coloidal CBS (De-Nol®) y derivados de CBS como el citrato de bismuto, RCB (Ranisen).¹

Por esta razón la investigación básica alrededor de los compuestos de bismuto se ha retomado intensamente desde 1970 y en particular han recibido una creciente atención debido a sus aplicaciones biológicas entre las cuales destaca el tratamiento contra la sífilis y una gran variedad de desórdenes gastrointestinales, actividad antitumoral, antibacteriana y en la reducción de la toxicidad renal del cisplatino.²⁻¹⁷

Por otro lado los fármacos estibínicos pentavalentes usados como primera línea para el tratamiento de enfermedades parasitarias, principalmente Leishmaniasis y Tripanosomiasis; son el antimonio de N-metilglucamina (Glucantime®) y el estibogluconato de sodio (Pentostam®). También se ha encontrado información de compuestos antimónicos que tienen actividad antitumoral, antifúngica y antibacteriana¹, pero debido a que estos compuestos provocan alteraciones en la función cardíaca, inducción de estrés oxidativo, daños neurodegenerativos, apoptosis y genotoxicidad en animales y humanos; el interés en el uso farmacológico de los compuestos organoantimónicos decreció con el advenimiento de antibióticos más poderosos y menos tóxicos.

Recientemente se han sintetizado estibinas y bismutinas con anillos heterocíclicos aromáticos con fórmula general $(2-C_4H_3X)_3 Sb / Bi$ donde $X = S, O, NCH_3$, caracterizados por IR, RMN y difracción de rayos X y de los cuales solo para las bismutinas se realizó la evaluación de la actividad biológica en algunos ensayos de toxicidad en *Artemia salina* y su inhibición frente a semillas de *Lactuca sativa* y *Lolium multiflorum*.¹⁸⁻¹⁹

Por otro lado no hay información sobre la síntesis ni la actividad biológica de compuestos donde el antimonio o bismuto está directamente unido a carbono de heterociclos aromáticos.

Con la finalidad de obtener compuestos antimónicos y bismutínicos menos tóxicos con una posible aplicación terapéutica, la química inorgánica encaminó este trabajo a la síntesis de nuevos compuestos estibínicos y bismutinas terciarias conteniendo anillo heterocíclico aromático de fórmula general $(2-C_4H_3X)_3 Sb / Bi$, donde $X = S, Se$; mediante la reacción de metátesis que emplea reactivos de Grignard y la evaluación de la actividad de las estibinas en cuatro modelos que son: peroxidación espontánea de lípidos de cerebro de rata, reducción del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), citotoxicidad en líneas celulares de cáncer humano y en toxicidad aguda en *Artemia salina*.

II. Fundamentos teóricos

2.1. Generalidades de los elementos del grupo 15 o VA.

El grupo 15 de la tabla periódica constituye la tercera columna del bloque p y comprende a los elementos: nitrógeno, fósforo, arsénico, antimonio y bismuto. Para estos elementos la configuración electrónica del estado basal es de forma general ns^2np^3 y sus estados de oxidación comunes son III y V.¹

A pesar de estar en el mismo grupo, las propiedades de los elementos varían considerablemente al descender en este. Así, mientras el nitrógeno y el fósforo son típicos no-metales, el arsénico y el antimonio son metaloides o semimetales y el bismuto es considerado como metal. Por otra parte, los ángulos de enlace decrecen conforme se descende en el grupo, fenómeno basado en el efecto del par inerte¹. El par de electrones s se encuentra menos disponible al descender en el grupo, por lo tanto, los enlaces que se forman ocurren principalmente a través de orbitales p , con el resultado de que los ángulos de enlace se acercan más a 90°. Por lo anterior, los elementos del grupo 15 muestran diferentes características metálicas.

Otra tendencia es la disminución en la energía de enlace conforme se descende en el grupo, debido al incremento de tamaño de los átomos y al correspondiente bajo traslapamiento entre los orbitales los cuales son de mayor tamaño. Esto produce que los enlaces sean más débiles.

En la tabla 1 se muestran las propiedades más importantes de los elementos de nuestro interés.

Tabla 1. Propiedades relevantes del antimonio y bismuto.¹

PROPIEDADES	ANTIMONIO	BISMUTO
Símbolo	Sb	Bi
Número atómico	51	83
Masa atómica (g/mol)	121.76	208.98
Estado de agregación	sólido	sólido
Radio covalente(Å)	1.38	1.46
Radio atómico(Å)	1.59	1.70
Radio iónico(Å)	0.89 y 0.62 para Sb ^{III} y Sb ^V	1.20
Radio de Van Der Waals (Å)	2.20	Sin datos
Electronegatividad	1.9	1.9
Densidad (g/mL)	6.62	9.8
Punto de ebullición (°C)	1380	1560
Punto de fusión (°C)	630.5	271.3
Configuración electrónica	[Kr] ³⁶ 4d ¹⁰ 5s ² 5p ³	[Xe] ⁵⁴ 4f ¹⁴ 5d ¹⁰ 6s ² 6p ³
1 ^{er} potencial de ionización (eV)	8.68	8.07
Isótopos (%) de abundancia	121 (57.25) y 123 (42.75)	209 (100)

Los compuestos triorganometálicos de As, Sb y Bi (III) normalmente actúan como bases de Lewis o donadores de pares electrónicos. Se observa que el arsénico y el bismuto exhiben una baja basicidad comparados con el fósforo y el antimonio.²⁰

Según el Modelo de Repulsión del Par Electrónico de la Capa de Valencia (MRPECV), para los compuestos con estado de oxidación +3 con fórmula general R_3ME (donde $M = N, P, As, Sb, o Bi$; $R =$ alquilo o arilo y $E =$ el par de electrones libre) toman la forma piramidal con un enlace de valencia promedio que disminuye de As a Bi, llegando a medir cerca de 90° , por ejemplo: $\langle CMC$ en $(p\text{-Cl } C_6H_4)_3M$ es de $102^\circ, 97^\circ$ y 93° para $M = As, Sb$ y Bi respectivamente, en la cual un par de electrones libre ocupa la posición apical. La geometría exacta y los ángulos de enlace entre los sustituyentes dependen del grado de repulsión producido por el par libre y por la actividad estereoquímica del mismo.²¹⁻²³

El número de coordinación del Sb es variable. La teoría predice que los compuestos de Sb con número de oxidación +3 tienen enlaces a través de los orbitales sp^3 híbridos del Sb y cuando están tricoordinados (N.C. = 3) tienen ángulos de enlace variables, normalmente $>90^\circ$, e indicando la existencia de un par de electrones activo en el átomo de Sb. Los compuestos de Sb con número de oxidación +5 generalmente utilizan orbitales sp^3d híbridos, los cuales dan por resultado una geometría de bipirámide trigonal en complejos pentacoordinados²⁴. (Fig. 1a)

Existe información reciente sobre estibinas terciarias alquilsustituídas (2,4,6-mesitil, p-tolil y p-fluorofenilestibinas) usadas como ligantes que aumentan sensiblemente el rendimiento y la selectividad en las reacciones de hidroformilación y amidocarbonilación homogénea de sustratos asimétricos no saturados cuando reemplazan a la trifenilfosfina en sistemas catalíticos a base de Rh y Co.²⁵⁻²⁷

Mientras que para los compuestos de Bi con número de oxidación +3 son similares a aquellas de los compuestos de As y Sb, pero más complicadas, puesto que el N.C. del Bi varía desde 3 hasta 10, debido principalmente a su potencial para formar tanto enlaces covalentes normales como de coordinación, éstos últimos como resultado de la acidez de Lewis del Bi.

Una característica general de las bismutinas terciarias del tipo R_3BiE y de los compuestos relacionados es la estructura pirámide trigonal del átomo central de Bi. (Fig. 1b) Esta estructura se puede describir como resultado de tres enlaces covalentes Bi-R logrados usando los orbitales p de la capa de valencia. El orbital en el cual se localiza el par electrónico remanente tiene básicamente contribución de orbital s .

Lo anterior está apoyado en la medición de los ángulos alrededor del átomo metálico central (generalmente cercanos a 90°) y en la reducida disponibilidad del par solitario en enlaces dativos, como por ejemplo en los complejos de metales de transición.²³

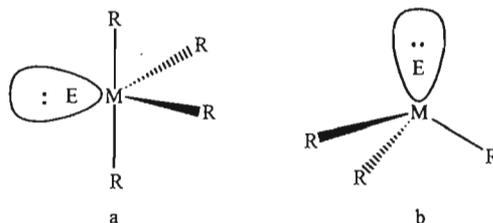


Fig 1 .Estructuras piramidales del antimonio (a) y bismuto (b).

2.1.2. Métodos de síntesis de estibinas y bismutinas terciarias.

El método más utilizado para sintetizar estibinas y bismutinas terciarias ha sido la reacción de metátesis empleando reactivos de Grignard con trihalogenuros de antimonio/bismuto, como se muestra en la siguiente reacción:



donde:

R = alquilo o arilo
M = Sb o Bi
X = Cl o Br
X' = Cl, Br o I

Las reacciones de metátesis (metalaciones) son aquellas en las cuales dos compuestos reaccionan para formar otros dos nuevos sin que se produzca cambio en el número de oxidación. Con frecuencia se describen como reacciones en las cuales los iones de dos compuestos simplemente "cambian de compañero".

De igual manera los reactivos de organolitio y organosodio reaccionan con trihalogenuros de antimonio / bismuto para producir estibinas y bismutinas terciarias, con rendimientos que se encuentran en el intervalo de 20-90%. Puede decirse que la reacción se realiza entre un ácido y la sal de un ácido débil, en las cuales se generan carbaniones por sustracción de un protón por medio del uso de una base fuerte, tal como el n-butilitio (n-BuLi).

La preparación de los compuestos de organolitio deseados se realiza empleando un compuesto organolitiado (generalmente, n-BuLi) y el sustrato precursor del compuesto organolitiado deseado, de acuerdo a la siguiente reacción:



Estas reacciones se llevan cabo debido a que el antimonio y el bismuto son menos electropositivos que el metal del reactivo organometálico. Es decir, su fuerza motriz es la formación de la sal (halogenuros de magnesio, litio o sodio).²⁸

2.1.3. Metalación de compuestos heterocíclicos aromáticos con compuestos organolitiados. (Sustitución Nucleofílica sobre Hidrógeno)

La metalación del tiofeno con n-BuLi, produce rápidamente 2-tienilitio con rendimiento cuantitativo. Gilman en el mecanismo de reacción propuso que después de la coordinación del agente metalante y el al anillo de azufre, el hidrógeno más ácido (posiblemente más polarizado) es atacado por el carbanión del agente metalante.

Este mecanismo está en concordancia con la exclusiva α -metalación de tiofenos, con la influencia orientadora de los sustituyentes en la posición 3- y con resultados del estudio de los efectos del isótopo de hidrógeno sobre la metalación del tiofeno.(Fig. 2) Cuando ambas posiciones α son bloqueadas, la alta selectividad de la reacción orienta hacia los compuestos organolitiados y la metalación depende de la susceptibilidad de los α -sustituyentes presentes. La metalación del 3-metiltiofeno predomina en la posición 5-, y es más lenta en comparación con la del tiofeno. Esto se debe al efecto +1 del grupo metilo que incrementa la densidad electrónica en la posición 2- ya que el hidrógeno en esta posición que es menos ácida que la 5- y ambas posiciones de hidrógeno son menos ácidas que en tiofeno.²⁹⁻³⁵

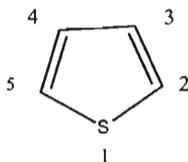


Fig 2. Numeración del tiofeno: posición 2 α , 5 α' , 3 β y 4 β' .

Los compuestos selenofénicos reaccionan cuatro veces más rápido que los correspondientes derivados del tiofeno.³⁶ Esto puede deberse a que el selenofeno tiene la capacidad de deslocalizar sus dos cargas (positiva y negativa) y a que el átomo es más grande y más polarizable que el átomo de azufre, y como consecuencia el selenofeno puede relacionarse con los electrones-*p* y aceptar electrones dentro de sus orbitales-*d* más rápidamente que el tiofeno. En cambio las estructuras contribuyentes de la resonancia del tiofeno son 1-1d, donde la distribución de los electrones π tienen un ligero exceso en la posición 2 y 5 sobre la posición 3 y 4. (Fig 3)

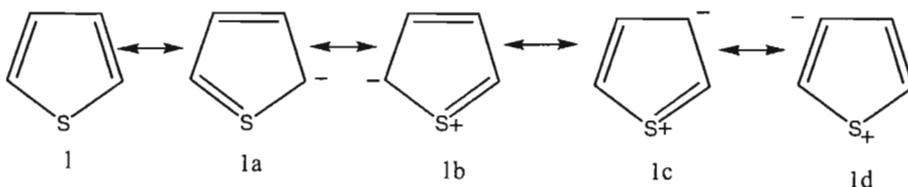


Fig. 3. Estructuras de resonancia del tiofeno.³⁶

2.1.4. Intercambio de halógeno-metal entre halotiofenos y compuestos metalorgánicos (Sustitución Nucleofílica sobre Halógeno)

El intercambio halógeno-metal entre bromotiofenos con *n*-butillitio a -70°C , ocurre casi instantáneamente y con muy alto rendimiento y es principalmente para derivados de tienil litio con bromuro de *n*-butilo.^{30,38,40} Esto es de gran importancia para las reacciones con reactivos de Grignard con tiofenos-3-bromosustituídos con dibromotiofeno que solo pueden obtenerse por este método y con bajo rendimiento.³⁸⁻⁴²

La interconversión halógeno-metal se conoce como un cambio entre el litio y el átomo de halógeno electropositivo y supone que el fácil intercambio es proporcional al grado de polarización positiva del halógeno. Por ejemplo: el 2-yodo con el 2-bromotiofeno mediante el intercambio halógeno-metal dan 2-tienil litio y el 2-clorotiofeno es metalado para dar 2-cloro-5-tieniltiofeno.⁴³⁻⁴⁴

2.2. Proceso oxidativo: definición y efecto de los Radicales Libres (RL) en el organismo

Un **radical libre (RL)** se define como aquella molécula o compuesto que en su estructura posee un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración espacial que genera una alta inestabilidad, extraordinaria reactividad y vida efímera, entre 1 nanosegundo a 10 segundos. Un radical libre, en un sistema biológico, para lograr su equilibrio químico sustrae un electrón a cualquier biomolécula vecina, provocando oxidación en la misma, perdiendo así su función específica en la célula. La mayoría de los componentes celulares pueden ser dañados por las sustancias reactivas de oxígeno (ROS) pero los principales blancos de las reacciones de estas especies son proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y carbohidratos.⁴⁵⁻⁴⁹

Proteínas: La oxidación de aminoácidos como fenilalanina, tirosina, triptofano, histidina y metionina dan lugar a la formación de entrecruzamientos de cadenas peptídicas, fragmentación de la proteína y producción de grupos carbonilos que impiden el cumplimiento de algunas funciones como el transporte iónico de membranas, receptores, mensajeros celulares y enzimas reguladoras del metabolismo.⁴⁸

Lípidos: Los RL hidroxilo, perhidroxilo y el oxígeno singulete reaccionan con los ácidos grasos de los fosfolípidos y otros componentes lipídicos de la membrana celular, para formar finalmente hidroperóxidos lipídicos. El proceso se inicia cuando la especie reactiva abstrae un átomo de hidrógeno de uno de los carbonos metileno de la cadena hidrocarbonada, dando origen a un radical libre lipídico (L°). La oxidación lipídica tiene la característica de ser una reacción en cadena, en la cual, el ácido graso oxidado se transforma en un radical de ácido graso capaz de oxidar otra molécula vecina. Los productos finales de la peroxidación lipídica como hidrocarburos volátiles, alcoholes o aldehídos pueden difundirse a sitios diferentes de donde se originaron y alterar la permeabilidad vascular, la respuesta inflamatoria o la quimiotaxis.⁴⁸⁻⁵⁰

Ácidos nucleicos: El daño sobre el ADN genera bases modificadas. Dichas modificaciones producen reacciones de entrecruzamiento y ruptura de la hebra del ADN. Cuando el daño es muy grande y no puede ser reparado por los sistemas biológicos produce una mutación o la muerte celular programada (apoptosis).⁴⁹

Carbohidratos: Estas moléculas son menos sensibles al ataque de los RL. Aún así, los monosacáridos pueden reaccionar con el radical hidroxilo y producir sustancias reactivas.⁴⁹

En la tabla 2 se resumen los principales RL y características químicas fundamentales.

Tabla2. Principales RL y sus características fundamentales.⁴⁷

Nombre	Fórmula	Características
Superóxido	O_2°	Radical centrado en el oxígeno con reactividad limitada
Hidroxilo	OH°	Radical centrado en el oxígeno muy reactivo, ataca a todas las moléculas del organismo humano; debido a que daña las membranas celulares (fosfolípidos poliinsaturados) incrementando su fluidez,, rompe enlaces en las proteínas y desequilibra las funciones celulares.
Peroxilo, alcoxilo	RO_2°, RO°	Radicales centrados en el oxígeno y formados durante la degradación de los peróxidos orgánicos.

2.2.1. Patologías relacionadas con el efecto de los radicales libres y el antimonio.

La estructura química de muchos compuestos antimoniales heterocíclicos trivalentes tienen configuración con efectos terapéuticos en el uso contra tripanosomiasis y leishmaniasis,¹ pero tienen mayores efectos colaterales en mamíferos que los del tipo pentavalente que son utilizados como primera línea para el tratamiento de éstas enfermedades; sin embargo estas últimas presentan efectos cardiotoxicos, observándose alteraciones en electrocardiogramas de los pacientes medicados y en experimentos con animales se ha observado un incremento de fibras y tejido conectivo del corazón.⁵¹⁻⁵³

En contraste con los compuestos de Sb V, los de Sb III son genotóxicos en ensayos con mamíferos, puesto que oxidan al DNA y proteínas; ya que el potencial genotóxico se ve influenciado por la valencia.⁵⁴

El cerebro de los mamíferos es extremadamente vulnerable al ataque de ROS, los cuales se han visto implicados en daños neurodegenerativos, epilepsia y enfermedades cardiovasculares, unos ejemplos de éstas incluyen Alzheimer, Huntington, Parkinson y esclerosis lateral amiotrópica; éstos daños se dan por la marcada reducción de los sistemas depuradores de radicales libres en algunas partes del cerebro, las sustancias implicadas son el ácido ascórbico (reducción) y glutatión (reducción de sus dos formas), esto en concordancia con el aumento de glutamato lo cual induce a estrés oxidativo.

Estudios recientes con Tartrato de Antimonio Potásico (PAT) demostraron su capacidad de inducir estrés oxidativo de la membrana celular acompañado de un incremento de la liberación de deshidrogenasa de lactato (LDH) y disminuyendo la contracción espontánea en cultivo de miocitos cardiacos; ya que el PAT consume al glutatión reducido (GSH) en la célula e induce peroxidación de lípidos, además de que a concentraciones micromolares el Sb III induce apoptosis en células leucémicas HL60 y en células de tumores linfáticos.

La apoptosis fue asociada con la pérdida del potencial mitocondrial y el ensanche celular produciendo ROS. La actividad apóptica se elimina en respuesta al antioxidante N-acetilcisteína, por lo que se concluye que la toxicidad del PAT es modulada por el estado redox de las células. Por otro lado estudios epidemiológicos realizados a obreros que laboran en una industria del arte del vidrio mostraron un incremento en riesgo de muerte por varios tipos de enfermedades cardiovasculares, cerebrovasculares y cáncer de colon; asociados a la exposición prolongada de gases de antimonio.⁵⁵⁻⁵⁸

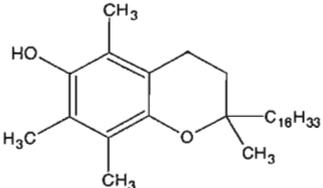
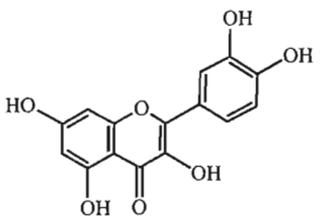
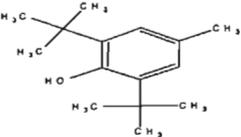
2.2.2. Antioxidantes

Un **antioxidante** es un compuesto químico que, a bajas concentraciones con respecto a las de un sustrato oxidable, retarda o previene la oxidación de dicho sustrato,⁴⁷ además que protege al sistema celular de efectos potencialmente perjudiciales en los procesos que puedan causar una oxidación excesiva.⁵⁹ El antioxidante al reaccionar con el radical libre le cede un electrón, oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre con menor reactividad y no tóxico, que en algunos casos como en la vitamina E puede regenerarse a su forma primitiva por la acción de otros antioxidantes.

La actividad antioxidante de muchas sustancias depende del metabolismo celular y son conocidos como antioxidantes endógenos, el sistema enzimático constituye la primera línea de defensa celular frente a los daños oxidativos. Su principal función es eliminar los radicales superóxido y peróxido de hidrógeno para evitar la formación del radical hidroxilo considerada la especie más reactiva de ROS.^{49,60} Las enzimas antioxidantes requieren la presencia de metales para ejercer su función; las más importantes son la catalasa que requiere de hierro, la dismutasa de superóxido que requiere zinc, cobre, y manganeso según su localización celular y la peroxidasa de glutatión dependiente de manganeso y selenio.⁶⁰⁻⁶¹

También existen factores nutricionales conocidos como antioxidantes exógenos, dentro de este grupo se encuentran el alfa-tocoferol (vitamina E), el ácido ascórbico, los carotenoides y los flavonoides. Además de la existencia de antioxidantes sintéticos como es el caso del butilhidroxitolueno (BHT) que es utilizado frecuentemente en alimentos.⁶²⁻⁶⁵ En la tabla 3 se resumen las características más relevantes de los antioxidantes de nuestro interés.

Tabla 3. Antioxidantes y sus características mas relevantes.

Antioxidante	Mecanismo de acción	Características	Fuentes de obtención
<p>α-tocoferol (vitamina E)</p> 	<p>Es donador de un átomo de hidrógeno, neutraliza el oxígeno singlete y los peróxidos, captura radicales libres hidroxilo y el anión superóxido</p>	<p>Detiene la peroxidación lipídica de la membrana celular, debido a su solubilidad y a su proximidad a los lípidos en las lipoproteínas de baja densidad(LDL).</p>	<p>Aceites de germen de trigo, de girasol, maíz, soya y oliva, el aguacate y las almendras.⁶²⁻⁶⁴</p>
<p>Quercetina</p> 	<p>Es donador de átomos de hidrógeno y atrapador de radicales libres hidroxilo y el anión superóxido.</p>	<p>Es un flavonide polifenólico que protege de la oxidación a las LDL, es quelador de iones de metal, protege al ADN del daño oxidativo y evita la oxidación de la vitamina E y C</p>	<p>Brócoli, cebolla, lechuga.⁶⁵⁻⁶⁷</p>
<p>Butilhidroxitolueno (BHT)</p> 	<p>Interrumpe la cadena de radicales cediendo un hidrógeno a un radical lipídico libre y quedando en ellos en forma de radical.</p>	<p>Es un antioxidante sintético, fenólico y liposoluble que disminuye el grado de oxidación de las LDL, retarda la rancidez.</p>	<p>Aditivo alimenticio autorizado para preservar alimentos, grasas, se encuentra en embutidos.</p>

Cuando existe un desbalance entre los sistemas prooxidantes y antioxidantes a favor de los primeros, hablamos de **estrés oxidativo**.⁶¹

Al comparar la peroxidación de diferentes órganos como son: hígado, riñón, músculo esquelético, cerebro y corazón; se observó que los dos últimos tienen una susceptibilidad mayor a ser peroxidados.

Los factores que influyen en la alta susceptibilidad por estrés oxidativo en el cerebro son los siguientes:

1. Alto contenido de ácidos grasos insaturados omega 3 y 6 que son fácilmente peroxidables.
2. Elevado contenido de oxígeno por unidad de peso (cerca del 20% de la cantidad total usada en humanos).
3. Alto contenido de hierro y ascorbato (que son ingredientes clave causantes de la lipoperoxidación).
4. Baja en defensas protectoras antioxidantes.
5. Tiene como única fuente de energía a los hidratos de carbono.⁶⁸

2.2.3. Lipoperoxidación espontánea

La lipoperoxidación espontánea es consecuencia del estrés oxidativo y ocurre cuando los radicales libres abstraen un hidrógeno de un ácido graso poliinsaturado de membranas celulares y organelos para formar radicales de ácidos grasos.⁶⁹⁻⁷²

Las reacciones generales de la cadena de lipoperoxidación consta de tres pasos:

1. Iniciación:



2. Propagación:



Los hidroperóxidos (ROOH) conllevan a cambios subsecuentes en la estructura, función, permeabilidad de la membrana, y por último la muerte celular.

3. Terminación:



En la etapa de propagación los dobles enlaces del radical lipídico sufren un rearrreglo para formar dienos conjugados. El ataque de un oxígeno molecular produce un radical lipídico peroxidado, el cual puede abstraer un átomo de hidrógeno de un lípido adyacente para formar un lípido hidroxiperoxidado, o un lípido endoxiperoxidado. La formación del lípido endoxiperoxidado en ácidos grasos poliinsaturados que contiene menos de tres dobles enlaces *cis* de metileno alílico (CH₂) interrumpidos lleva a la formación malonaldehído (MDA) producto citotóxico, el cual daña a las proteínas y al DNA.⁷³ (Fig. 4)

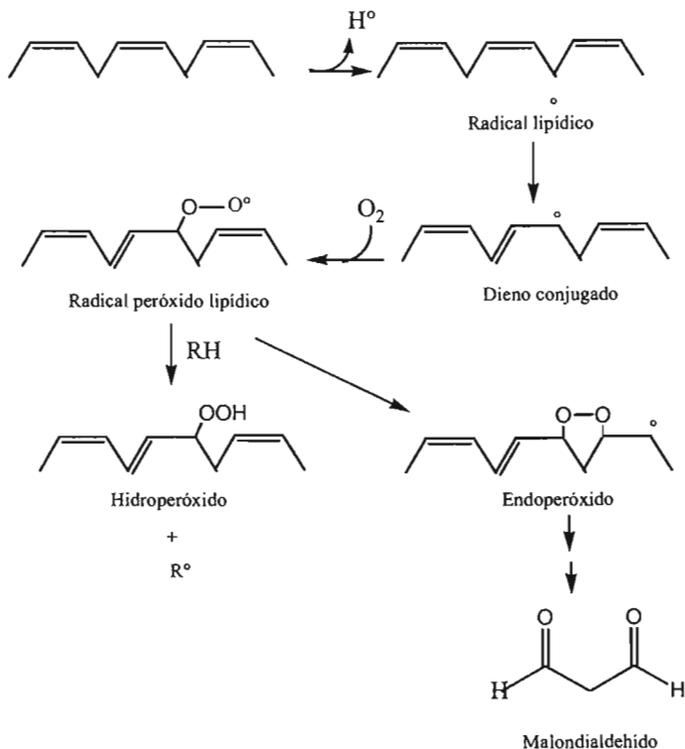


Fig. 4 . Formación de MDA a partir de la abstracción de un hidrógeno de un ácido graso poliinsaturado por el radical libre.

Un método muy sensible para medir la peroxidación de lípidos es el ensayo de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS). Este se basa en la reacción del MDA con ácido tiobarbitúrico (TBA) para generar un complejo de color rosa (TBA-MDA-TBA) con un máximo de absorción a 532 nm, como resultado de la condensación de dos moléculas de TBA con una molécula de MDA y la eliminación de dos moléculas de agua. La reacción con TBA ocurre por ataque de la forma monoenólica del MDA sobre los grupos metilenos activos de TBA. La intensidad del color es una medida de concentración de MDA y la velocidad de reacción depende de la concentración de la solución de TBA, la temperatura y del pH.⁷⁴ (Fig. 5)

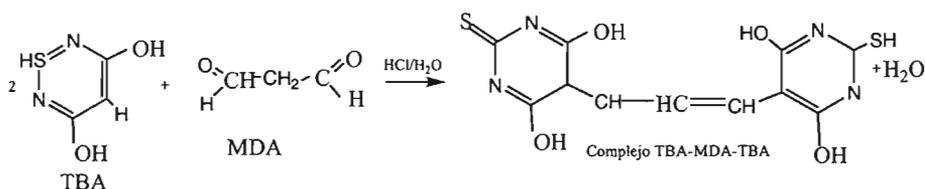


Fig. 5. Formación del complejo TBA-MDA-TBA color rosa.

Otro método para medir la actividad antioxidante es la reducción del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH[•]), el cual es comúnmente usado para probar la habilidad de los flavonoides para atrapar radicales libres. Si el compuesto tiene actividad antioxidante reduce al DPPH[•], la absorbancia a 515 nm decrece y el porcentaje de reducción se estima por el desvanecimiento de su color violeta intenso a amarillo claro.⁷⁵ (Fig. 6)

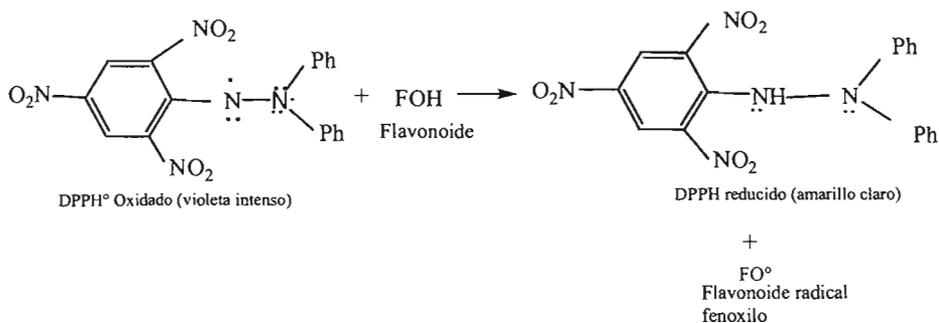


Fig. 6. Reducción del DPPH[•] por un flavonoide.

2.2.4. Tumor, cáncer y citotoxicidad

La hipótesis de que los radicales libres pueden estar involucrados en carcinogénesis está basada en que muchos carcinógenos son radicales libres, son convertidos *in vivo* a estas especies, o son productos de reacciones biológicas de radicales libres. Además, muchos antioxidantes han mostrado inhibir la carcinogénesis en diversos modelos animales. A partir de esta evidencia se piensa que los radicales libres juegan un papel importante en la iniciación de esta enfermedad.

Un **tumor o neoplasia** es el crecimiento sin control de un tejido para formar una masa. Una neoplasia crece a expensas del organismo sano y no cumple ninguna función útil.

Una característica común de los promotores de tumor (grasas insaturadas, peróxido de hidrógeno, ésteres de forbol, fenobarbital y radiación) puede ser su capacidad para producir radicales de oxígeno, por lo que estos pueden ser importantes en el desarrollo y/o progresión del tumor. Los mecanismos que pueden estar involucrados en la promoción, son desconocidos.

El **cáncer** es una enfermedad caracterizada por la multiplicación descontrolada de ciertas células en el organismo. Las células cancerosas tienen tres propiedades características: disminución o ausencia del control de crecimiento; proliferación de los tejidos locales; y dispersión o metástasis a otras partes del cuerpo.

2.2.4.1. Tipos de cáncer

Los tipos de cáncer se originan conformes con el órgano en que empiezan a desarrollarse, pero la aparición se hace principal en dos estadios muy distintos. En un primer estadio, una célula normal se transforma en célula cancerosa mediante una mutación favorecida por productos químicos, rayos electromagnéticos, etc.; y en un segundo estadio, ésta prolifera, si existen ciertos factores que la favorezcan y produce un tumor.

Se distinguen habitualmente **tres tipos de cánceres**: los llamados **sólidos**, las **leucemias** y los **hematosarcomas**.

- 1) **Cánceres sólidos**, en estos; las células cancerosas se desarrollan en un órgano, constituyendo un tumor que comprime, invade y destruye tejidos, incluso los que le rodean. En algunos casos las células cancerosas pueden pasar a sangre o a los vasos linfáticos para formar colonias de células cancerosas nuevas en otros órganos lejos del tumor de origen. Se habla entonces de metástasis.

2) En las **leucemias**, las células cancerosas no forman, al principio, un tumor localizado pero invaden uniformemente la sangre y todos los órganos hematopoyéticos (médula ósea, los ganglios linfáticos, etc.). Sin embargo, ocurre también que en las leucemias las células malignas pueden producir secundariamente tumores que comprimen e invaden otros órganos, diferentes de los que producen los glóbulos de la sangre, común el hígado, el cerebro. En las leucemias la invasión importante de la médula ósea provoca a menudo perturbaciones responsables de anemias, infecciones y hemorragias.

Una leucemia puede nacer a partir de cada una de las líneas celulares, pero las formas más frecuentes son las que nacen a partir de una de las variedades de glóbulos blancos. Una leucemia se llama linfocítica cuando se desarrolla a partir de los linfocitos, y mielocítica cuando se desarrolla a causa de los granulocitos. A estas leucemias se les llama agudas y son rápidamente mortales si no se les trata a tiempo. Las células son muy diferentes a las normales.

Las leucemias crónicas se caracterizan por su evolución más lenta. Las células que se acumulan en la médula ósea y en la sangre tienen generalmente un aspecto casi normal; solo su número es excesivo.

3) **Hematosarcomas**; representan una categoría intermedia. En el torrente sanguíneo existe un sistema cuyo cometido es también alimentar y eliminar los desechos celulares: el sistema linfático. Se presenta como finas canículas repartidas por casi todo el organismo, las cuales tienen por misión recuperar la linfa, líquido incoloro donde se bañan las células del cuerpo. El recorrido de los vasos linfáticos es interrumpido por abultamientos en forma de frijol que llamados ganglios linfáticos y que actúan como filtros para impedir el paso de ciertas partículas o células voluminosas (como las células cancerosas). Los ganglios están situados en diferentes partes del cuerpo; hay en la ingle, en la axila, a nivel del cuello, etc. (los ganglios del cuello pueden inflamarse y hacerse sensibles en el curso de ciertas anginas). Los ganglios pueden dar lugar al desarrollo de cáncer a partir de sus propias células: estos son los hematosarcomas. En el momento del diagnóstico están algunas veces localizados en un grupo en particular de ganglios (ejemplo: ganglio de la ingle, del cuello) o localizados inicialmente, de forma difusa, sobre el conjunto del sistema ganglionar. Se desarrollan como tumores sólidos y pueden invadir los tejidos de alrededor. Pueden también complicarse a leucemias sin infiltrar la médula ósea.⁷⁶

Es imposible determinar como nace un cáncer siendo las causas múltiples y los tipos diferentes (según el órgano en que empiezan a desarrollarse) pero parece ser que la aparición se hace principal y esquemáticamente en dos estadios muy distintos. En un primer estadio, una célula normal se transforma en célula cancerosa mediante una mutación favorecida por productos químicos, virus, rayos electromagnéticos, etc.; y en un segundo estadio, ésta prolifera, si existen ciertos factores que la favorezcan, y produce un tumor.

2.2.4.2. Agentes que causan cáncer

Los rayos ultravioleta, los X y los γ (considerados mutagénos y carcinogénos) lesionan el ADN de distintas formas y también provocan la formación de radicales libres en los tejidos. Los radicales resultantes: hidroxilo, peróxido y otros, pueden interactuar con el ADN y algunas otras macromoléculas provocando alteraciones moleculares que probablemente contribuyen a los efectos carcinogénos de la energía radiante.

Tanto las moléculas orgánicas como inorgánicas pueden ser carcinogénas, pero la diversidad de dichos compuestos indica que no poseen una característica estructural común que le confiera carcinogenicidad.

Los virus que causan cáncer contienen ADN y ARN como genoma y entre ellos se pueden mencionar el Papovavirus, Adenovirus, Herpesvirus y Hepadnavirus, entre otros.⁷⁷

2.2.4.3. Citólisis y citotoxicidad

En líneas generales, la respuesta del sistema inmunitario puede provocar la muerte de otras células por lisis (cuando se rompe la membrana y la célula blanco estalla) o por apoptosis (cuando la célula muere porque su citoplasma y su núcleo se fragmentan).

La muerte celular por citólisis se puede observar en el curso de la respuesta humoral de anticuerpos o en algunos casos de la respuesta celular citotóxica. En el primer caso, la unión de los anticuerpos a sus antígenos específicos provoca la formación de complejos que activan el sistema complemento y provocan la formación del complejo que ataca la membrana (MAC). En el segundo caso, la muerte celular por citólisis depende de las perforinas producidas por las células citotóxicas que provocan la formación de poros en la membrana de una célula blanco. Las dos clases de moléculas (las que forman el MAC y las perforinas) actúan en una forma similar y provocan el estallido de la célula blanco a causa de un desequilibrio osmótico.

La muerte celular por citotoxicidad, llamada apoptosis, generalmente se inicia por la inducción de un programa de muerte celular que está codificado genéticamente en todas las células del cuerpo. Como una consecuencia, ocurre la fragmentación de la célula a la que se le ha inducido el programa y se observa que el citoplasma se fragmenta y queda reducido a vesículas, sin que la membrana estalle, sin que los organelos o el contenido del citoplasma se liberen al espacio intersticial y sin que se inicie una reacción inflamatoria alrededor de la célula que muere. La muerte celular programada puede ocurrir espontáneamente o puede ser inducida por varios factores o por algunas células. Las principales células inductoras de la apoptosis son linfocitos T citotóxicos.

Uno y otro mecanismo (de citólisis o de apoptosis) pueden ser activados en una forma específica o inespecífica. En los dos casos, la muerte de las células blanco implica que, al final, otras células (fagocitos) se van a ocupar de la recolección de los restos o de los fragmentos. La extensión del daño tisular y el tiempo que dura la activación de los mecanismos, específicos e inespecíficos, de muerte celular dependen de varios factores, entre los cuales destaca la persistencia y la intensidad de la estimulación.⁷⁸

2.2.4.4. Evaluación de citotoxicidad

La **citotoxicidad o toxicidad en cultivos celulares**, se puede subdividir en actividad citostática (detener el crecimiento celular) o actividad citocida (muerte celular).⁷⁹

La muerte celular o citotoxicidad se puede evaluar mediante la cuantificación del daño en la membrana plasmática. Las enzimas Cinasa de Adenilato (AK) y Deshidrogenasa de lactato (LDH) se encuentran en todas partes, son estables y se liberan rápidamente al medio de cultivo cuando se producen daños en la membrana plasmática.

La citoinhibición es la inhibición del crecimiento celular. Los productos activos pueden evaluarse mediante ensayos *in vitro* de inhibición del crecimiento en cultivos de células.

Un ensayo rápido, sensible y barato para medir la citotoxicidad inducida por fármacos es el de Sulforodamina B; el cual se fundamenta en la medición del contenido de proteínas de las células cancerígenas que se adhieren a la base de una microplaca de 96 pozos utilizando sulforodamina B (SRB), un colorante aniónico que se une a residuos de aminoácidos básicos en células que han sido fijadas con ácido tricloroacético (TCA), así, entre mayor sea la Densidad Óptica a 515 nm, mayor será el contenido de proteínas y por ende menor la inhibición del crecimiento celular.⁸⁰

Los ensayos colorimétricos de citotoxicidad son indicativos de actividad sobre leucemia, hematosarcoma u otros tumores, aunque la eficacia de los productos encontrados con actividad contra el crecimiento de tumores sólidos de humanos (pulmón, colon, piel, riñón) es muy limitada.⁷⁷⁻⁸¹

2.2.4.5. Citotoxicidad en compuestos estibínicos.

Se ha demostrado que el $SbCl_3$ a concentraciones mayores a $50\mu M$ durante 4 horas induce citotoxicidad (apoptosis) en fibroblastos humanos (HF) y en células epiteliales de bronquio humano (BES-6) y en cultivos celulares de ovario de hamster Chino, (CHO-K1), donde la sensibilidad de la prueba se determinó con sulforodamina B (SRB); encontrándose daño celular y genotóxico. La apoptosis se asoció a la pérdida del potencial mitocondrial y al ensanche celular liberando especies reactivas de oxígeno.⁸²

Por otro lado el antimonio con estado de oxidación III como en el caso del $SbCl_3$ y del tartrato de antimonio potásico (PAT) afectan la reparación de la doble hélice provocada por radiación y en células (CHO-K1).⁸³

2.2.5. Toxicidad en *A. salina*

Otro ensayo comúnmente usado para evaluar la toxicidad en farmacología es el de la larva *A. salina* del phylum Artrópoda, clase crustácea y es utilizado como organismo sensor de sustancias tóxicas. En esta prueba la respuesta biológica que se monitorea es la mortalidad del crustáceo. Esta es una curva concentración-respuesta de tipo cuantal de una población ante la exposición a un agente químico.

La correlación de letalidad entre *A. salina* y *Leishmania* se ensayó como un método indirecto para la detección de actividad antiprotozoaria, particularmente contra malaria y tripanosomiasis en extractos crudos de plantas y de raíces para la purificación de productos naturales con actividad. Un experimento con diferentes extractos de *U. andrieuxii* mostraron una fuerte letalidad sobre el nauplio de *A. salina* y confirmaron los descubrimientos preliminares de la actividad contra *Leishmania*. Pero recientemente se ha demostrado que la opción de los ensayos con *A. salina* no pueden ser confiables para la detección de la actividad antileishmaniasis en estos mismos extractos.⁸⁴⁻⁸⁷

III. Planteamiento del problema

Los nuevos fármacos nacen de la necesidad de tratar las enfermedades o los síntomas de ellas con el fin de preservar la salud; por lo que una de las principales preocupaciones en la química inorgánica, es generar nuevas rutas de síntesis para la obtención de nuevos compuestos organometálicos con actividad farmacológica, que sean menos tóxicos que los ya existentes y además se obtengan con un rendimiento alto.

En algunos artículos se han mencionado compuestos que dentro de su estructura contienen antimonio, los cuales tienen una actividad biológica importante como antimicrobianos, antiparasitarios (antiLeishmanias y antiTripanosomas), antitumorales y antimicóticos.

Es por ello que los compuestos estibínicos obtenidos en la síntesis serán evaluados en pruebas de actividad antioxidante, citotoxicidad y toxicidad aguda en el modelo de *A. salina* para conocer su perfil de actividad biológica y dar una contribución importante en el área química y biológica sobre estos compuestos.

IV. Objetivos

Objetivo General:

*Realizar la síntesis y caracterización de nuevas estibinas y bismutinas terciarias con anillo tiofénico y selenofénico y evaluar la actividad de las estibinas en algunos modelos biológicos.

Objetivos Particulares:

*Sintetizar compuestos estibínicos y bismutinas con anillo tiofénico, mediante la reacción de Grignard.

*Purificar, caracterizar e identificar los productos obtenidos mediante las técnicas de Espectroscopia de Infrarrojo (IR), Resonancia Magnética Nuclear (RMN) ^1H , ^{13}C , HETCOR, COSY, Espectrometría de Masas por Impacto Electrónico (EM IE⁺), Difracción de Rayos X.

*Valorar el efecto de los compuestos estibínicos sobre la peroxidación espontánea de lípidos en cerebro de rata.

*Evaluar la actividad de las estibinas sobre el radical libre DPPH.

*Estimar la citotoxicidad de los compuestos estibínicos en tres líneas celulares de cáncer humano (U25, K562, HCT15) y linfocitos normales.

*Determinar la toxicidad aguda en el modelo de *A. salina*.

V. Hipótesis

La reacción de metátesis empleando reactivos de Grignard será la ruta más favorable en la obtención de estibinas y bismutinas terciarias con alto rendimiento; determinar la posibilidad de que las estibinas obtenidas posean actividad antioxidante, atrapen radicales libres y presenten actividad antitumoral inhibiendo el crecimiento en líneas celulares cancerígenas con la ventaja de que no serán tóxicas para los linfocitos normales ni para el modelo de *A. salina*; y sean considerados como buenos candidatos a fármacos.

IV. Objetivos

Objetivo General:

*Realizar la síntesis y caracterización de nuevas estibinas y bismutinas terciarias con anillo tiofénico y selenofénico y evaluar la actividad de las estibinas en algunos modelos biológicos.

Objetivos Particulares:

*Sintetizar compuestos estibínicos y bismutinas con anillo tiofénico, mediante la reacción de Grignard.

*Purificar, caracterizar e identificar los productos obtenidos mediante las técnicas de Espectroscopia de Infrarrojo (IR), Resonancia Magnética Nuclear (RMN) ^1H , ^{13}C , HETCOR, COSY, Espectrometría de Masas por Impacto Electrónico (EM IE⁺), Difracción de Rayos X.

*Valorar el efecto de los compuestos estibínicos sobre la peroxidación espontánea de lípidos en cerebro de rata.

*Evaluar la actividad de las estibinas sobre el radical libre DPPH.

*Estimar la citotoxicidad de los compuestos estibínicos en tres líneas celulares de cáncer humano (U25, K562, HCT15) y linfocitos normales.

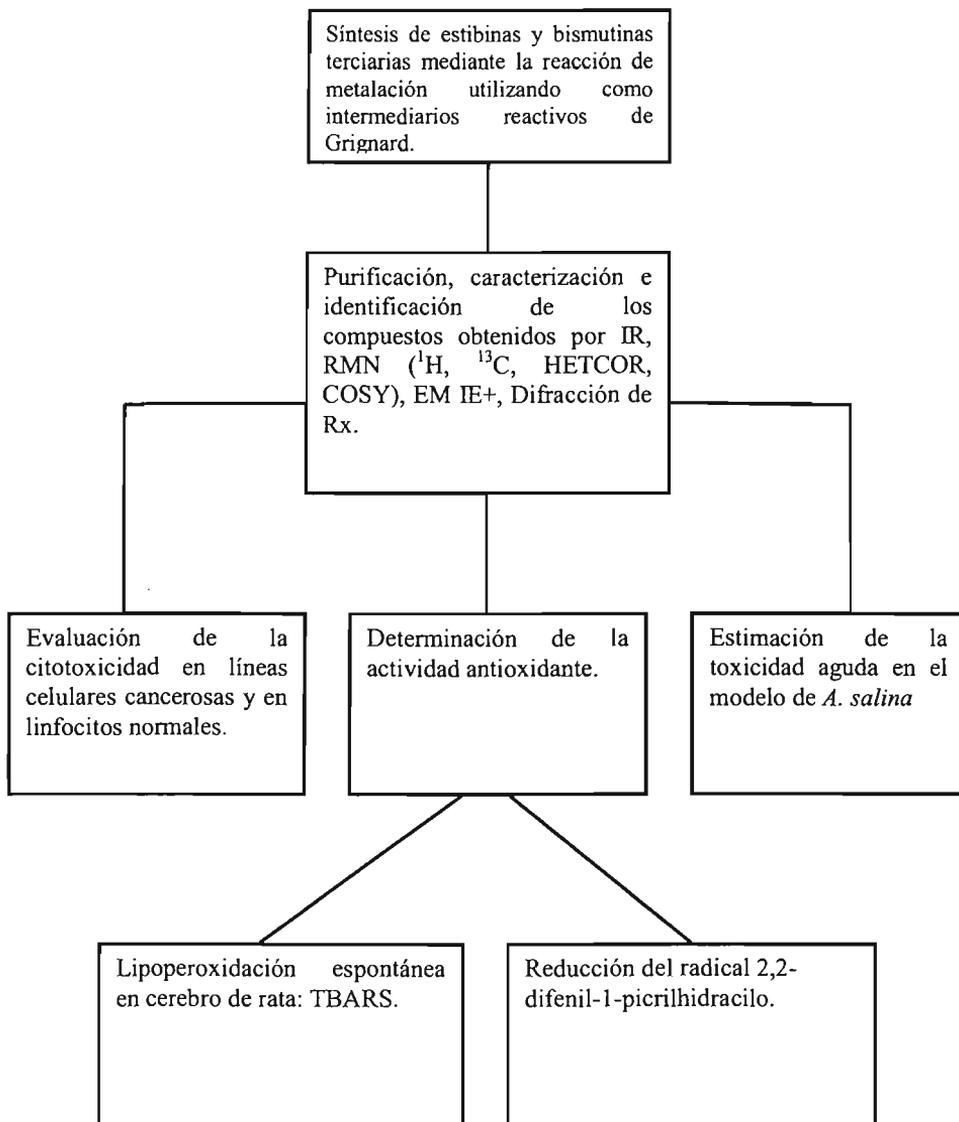
*Determinar la toxicidad aguda en el modelo de *A. salina*.

V. Hipótesis

La reacción de metátesis empleando reactivos de Grignard será la ruta más favorable en la obtención de estibinas y bismutinas terciarias con alto rendimiento; determinar la posibilidad de que las estibinas obtenidas posean actividad antioxidante, atrapen radicales libres y presenten actividad antitumoral inhibiendo el crecimiento en líneas celulares cancerígenas con la ventaja de que no serán tóxicas para los linfocitos normales ni para el modelo de *A. salina*; y sean considerados como buenos candidatos a fármacos.

VI. Diseño experimental

6.1. Diagrama de flujo.



6.2. Línea mixta de vacío-gas inerte

En la preparación de compuestos inorgánicos, orgánicos, organometálicos y bioquímicos sensibles al aire se emplea un equipo de vidrio del cual se excluyen los gases presentes en el aire atmosférico por medio del uso de un gas inerte y una bomba de vacío. Las técnicas se han adaptado para la manipulación de soluciones, sólidos y gases que reaccionan en presencia de alguno de los componentes atmosféricos. Uno de los métodos para la buena evacuación del equipo de vidrio y llenado con gas inerte consiste en efectuar varios ciclos de vaciado-llenado con gas inerte, lo cual evita la necesidad de emplear técnicas de alto vacío. Si f es la fracción de gas remanente después de la primera evacuación del equipo, y si no hay fugas o fracturas en el equipo de vidrio, n repeticiones del proceso de vaciado-llenado reducirán la fracción de gases atmosféricos:

$$Af = f^n$$

Un gas inerte puro, generalmente nitrógeno (pero también argón o helio), se requiere para las operaciones de vaciado-llenado. El equipo se llena con un gran volumen del gas o se vacía seguido de un llenado con gas. Para realizar en forma eficiente estas operaciones de purgado del equipo de vidrio que se empleará, es importante tener una línea mixta de vacío-gas inerte con varias mangueras gruesas de hule unidas (las cuales brindan mayor libertad de movimiento entre la línea mixta de vacío-gas inerte y el equipo Schlenk, el cual se describe más adelante). Además, es necesario que la línea mixta cuente con un burbujeador de mercurio (con el fin de proteger el equipo de vidrio contra presiones excesivas), un burbujeador de aceite mineral (como indicador visual del flujo del gas inerte), una bomba de vacío mecánica, una trampa de disolventes (en la cual se puede colocar hielo seco o, preferentemente, nitrógeno líquido) y llaves de paso con dos vías las cuales dan la oportunidad de escoger entre gas inerte o vacío en una misma manguera de hule. (Fig.7)⁸⁸

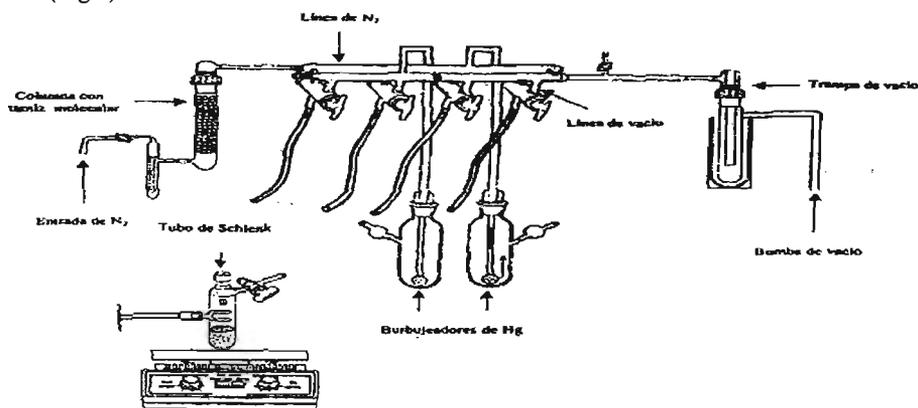


Fig. 7. Línea mixta de vacío-gas inerte: la columna con tamiz molecular tiene como fin asegurar que el flujo de nitrógeno se encuentre libre de H₂O.

6.2.1. Técnica Schlenk

La técnica Schlenk es empleada para la manipulación de sustancias sensibles al aire atmosférico. Para ello, se emplea un tubo Schlenk el cual consiste (originalmente) en un tubo de vidrio largo cerrado por uno de sus extremos, con un brazo con una llave cerca del otro extremo abierto el cual permite que el tubo sea purgado del aire atmosférico y se pueda llenar con un gas inerte.

Para purgar el equipo de vidrio Schlenk es necesario realizar ciclos de evacuación-llenado de gas inerte tal como se describió anteriormente. Para ello, el equipo de vidrio Schlenk se conecta a la línea mixta de vacío-gas inerte empleando las mangueras de hule.

Una vez purgado, las operaciones que se pueden realizar con dicho equipo de vidrio son distintas. Por ejemplo, es posible conectar el tubo de Schlenk (con el compuesto sensible a la atmósfera en el interior) a un embudo de adición manteniendo un flujo constante de gas inerte sin que el compuesto sensible reaccione con un componente atmosférico. Es decir, el equipo Schlenk nos permite abrir el sistema de reacción para adicionar otros reactivos o trasvasar un compuesto con un flujo de gas inerte que mantiene los compuestos sensibles aislados de la atmósfera. (Fig. 8)

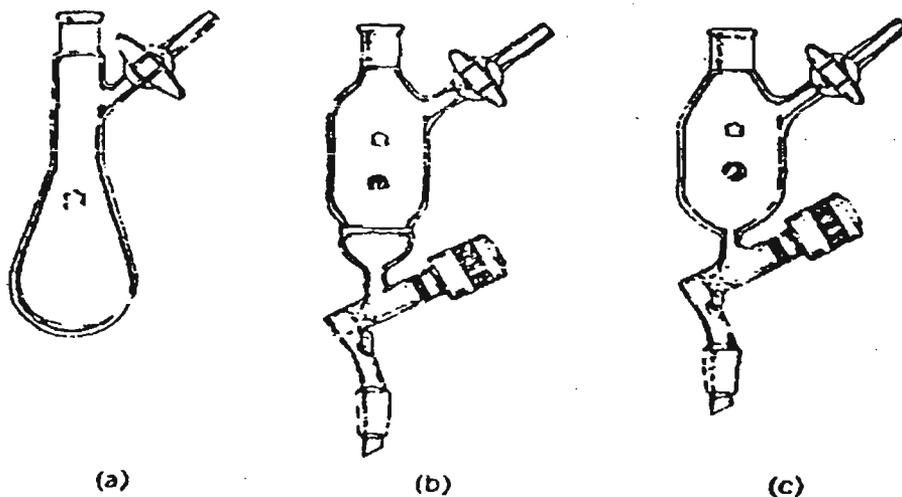


Fig. 8. Piezas básicas del equipo Schlenk: a) Matraz Schlenk, b) Embudo de filtración y c) Embudo de adición.

6.3. Metodología

6.3.1. Síntesis de estibinas y bismutinas terciarias

A. Material, equipo y reactivos

Material

Tubos Schlenck de 100 y 250 mL
Agitador magnético
Trampa para vacío
Embudo de separación de 250mL
Embudo Buchner
Embudo de talle largo
Matraz Erlenmeyer 250 mL
Matraz Kitazato 250 mL
Matraz balón de 100 mL
Vaso de precipitado de 500 mL
Soporte universal
Anillo metálico
Pinzas de tres dedos con nuez
Tapones de plástico
Jeringas de vidrio de 20, 30 y 50 mL
Agujas de acero inoxidable calibre 22
Espátula de acero inoxidable
Tubos para resonancia

Equipo

Balanza semianalítica OHAUS
Aparato Fisher Johns para punto de fusión
Linea mixta de vacío-gas inerte
Placa de agitación

Reactivos

Cloruro de antimonio III (SbCl_3) al 99.999%, Aldrich Chem. Co.
Cloruro de bismuto III (BiCl_3) al 99.999%, Aldrich Chem Co.
2-bromuro-3-metil tiofeno
3-yodo tiofeno
2-bromuro-5-cloro tiofeno
Magnesio metálico (Mg^0)
Éter anhídrido
Nitrógeno (N_2) g al 99.995 %
Cloroformo grado HPLC, Productos Químicos Monterrey, SA.

Pentano grado técnico
 Acetona grado HPLC, Burdick and Jackson
 H₂O Almacén Instituto de Química UNAM
 Sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄) Almacén Instituto de Química UNAM
 Hielo seco (CO₂) Almacén Instituto de Química UNAM

B. Procedimiento

Obtención de tris-(3-metil-2-tienil) estibina (I), tris-(3-tienil) estibina (II), tris-(5-cloro-2-tienil) estibina (III), tris-(3-metil-2-tienil) bismutina (IV), tris-(3-tienil) bismutina (V) y tris-(2-selenil) estibina (VI).

La preparación de los reactivos de Grignard se realiza mediante la adición oxidativa de Mg* activado disuelto en THF anhidro al tiofeno halosustituídos bajo atmósfera inerte de N₂, por 5 horas a temperatura ambiente y con agitación constante, este procedimiento se aplica a los compuestos (I-V). Se obtienen los reactivos: Bromuro de 3-metil-2-tienil magnesio (I y IV), Yoduro de 3-tienil-magnesio (II y V) y Bromuro de 5-cloro-2-tienil-magnesio (III).⁸⁹

Se hace una solución de SbCl₃ (2.5 mmol) en 30 mL de éter anhidro para (I-III) y de BiCl₃ (2.5 mmol) en 30 mL de THF anhidro para (IV y V), con flujo constante de nitrógeno.

Para la reacción de metalación se utilizan los reactivos de Grignard sintetizados anteriormente y se les adiciona por goteo la solución de SbCl₃ o BiCl₃ según corresponda, y en condiciones de atmósfera inerte con nitrógeno y a -70°C. La mezcla se mantiene en agitación por 1 hora a esta temperatura y 2 horas a temperatura ambiente.²⁸ (Fig. 9)

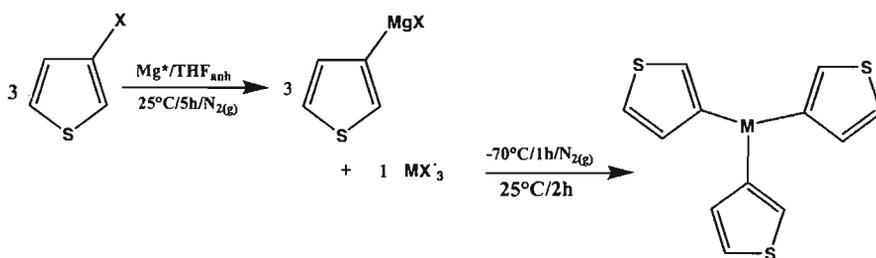


Fig. 9. Síntesis de las estibinas y bismutinas terciarias (II y V)

donde:

M = Sb, Bi
 X = I
 X' = Cl

En el caso del compuesto (VI) se adiciona 0.212 mL de selenofeno disuelto en 20 mL de THF y 4 mL de n-BuLi (solución 1.6M en hexano) bajo condiciones inertes y a -78°C por 45 minutos y posteriormente se le adiciona por goteo una solución de SbCl_3 en éter anhidro y se deja otra hora a esa temperatura y 1 a temperatura ambiente.³⁰⁻⁴⁴(Fig. 10)

Se adiciona H_2O para hidrolizar los reactivos que no reaccionaron.

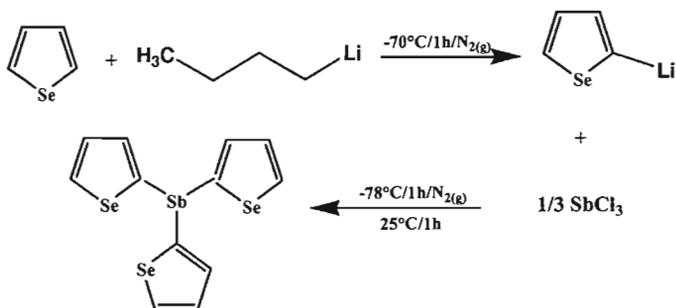


Fig. 10 Síntesis de tris-(2-selenil) estibina (VI)

C. Extracción y purificación.

El producto es colocado en un embudo de separación, se separa la fase orgánica y la fase acuosa se somete a tres extracciones con cloroformo (15 mL cada una).

La fase orgánica se colecta y trasvasa a un matraz Erlenmeyer donde se le adiciona sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) para secarla.

Una vez seco el producto, se filtra al vacío para separar el sulfato de sodio

Se concentra al vacío en la línea mixta.

El sólido obtenido se purifica por recristalizaciones con una mezcla de pentano: cloroformo (60:40).

6.3.2. Pruebas de actividad biológica en las estibinas sintetizadas

Antioxidante

6.3.2.1. Lipoperoxidación espontánea

A. Material, equipo y reactivos.

Material

Tijeras de disección
Pinzas
Bisturí
Micropipetas
Puntas para micropipetas
Tubos Eppendorf
Gradilla

Equipo

Incubadora
Balanza analítica METTLER AE100
Centrífuga clínica (3400 rpm)
Microcentrífuga refrigerada
Homogenizador
Sonicador
Baño térmico
Espectrofotómetro UV-VISIBLE Spectronic Génesis 5

Reactivos

Buffer de Fosfatos (PBS) 9.5Mm pH= 7.4
Ácido tricloroacético (TCA) al 30%
Hidróxido de Sodio (NaOH)
Ácido Tiobarbitúrico disuelto en NaOH 0.05N (TBA)

Dimetilsulfóxido (DMSO)
Etanol
Agua desionizada

Material biológico

Rata Wistar Macho (200-250gr) (cerebro)

B. Procedimiento.

Animal

Se emplean ratas Wistar macho (200-250g), se colocan en cajas de acrílico transparente, con un fotoperíodo 12 horas luz/ 12 horas oscuridad a una temperatura de 24-25°C con libre acceso a agua y alimento antes del experimento.

Disección y homogenizado del cerebro de rata

La rata es anestesiada con éter y sacrificada por dislocación cervical, el cerebro es disectado rápidamente, lavado con agua desionizada para eliminar los residuos de sangre. El cerebro se coloca en PBS y se almacena a -70°C hasta su uso.

El cerebro es descongelado, pesado y se agregan 10 mL de PBS frío por cada gramo de tejido, el órgano se rompe utilizando un hominizador con pistilo de teflón durante un minuto a 4°C.

El homogenizado se centrifuga a 3400 rpm durante 10 minutos a 4°C y se recupera el sobrenadante.

Cuantificación de proteínas

Se toman 30µL del sobrenadante y se agregan 2.97mL de agua desionizada. Se mide la densidad óptica a 280nm y 205nm y los valores se sustituyen en la fórmula:⁷⁴

$$\text{Proteína (mg/mL)} = A_{205} / [27 + 120 (A_{280} / A_{205})] \times 100$$

La concentración de proteínas se ajusta a 2.04 mg/mL

Lipoperoxidación espontánea

Se colocan 490µL de homogenizado (2.04mg/mL) en tubos Eppendorf de 2 mL.

Se agregan 10µL del compuesto a probar (50 veces más concentrado) disuelto en DMSO e incubar a 37°C por 4 horas con agitación.

Se agregan 500µL del reactivo TBA (mezcla de Ácido tiobarbitúrico 1% en solución de NaOH 0.05 N y ácido tricloroacético (TCA) 30% en proporción de 1:1), enfriar en hielo durante 5 minutos y centrifugar a 10000 rpm por 5 minutos.

Se calienta a 90°C durante 30 minutos, se enfría a temperatura ambiente y se destapan los tubos cuidadosamente para liberar la presión.

Se mide la densidad óptica a 532nm en un espectrofotómetro Espectronic (Genesis 5); la concentración de TBARS es calculada por interpolación en una curva estándar de tetrametoxipropano (TMP) como precursor de MDA.

El resultado final se expresa en nanomoles (nm) de TBARS por mg de proteína. El porcentaje de inhibición (%) se calcula usando la siguiente fórmula:⁷⁴

$$\text{Inhibición (\%)} = (A - A_1) / A \times 100\%$$

donde:

A = absorbencia del control

A₁ = absorbencia de la muestra.

Análisis de resultados

Los resultados obtenidos se someten a un análisis de varianza de una vía (ANOVA), seguida de una prueba de Dunnet para aislar los grupos con diferencia significativa con respecto al control ($p \leq 0.05$ y $p \leq 0.01$).

Se utiliza al butilhidroxitolueno (BHT), el (+)- α -Tocoferol y la Quercetina como controles positivos.

6.3.2.2. Reducción del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)

A. Material, equipo y reactivos.

Material

Microplacas de 96 pozos para ELISA de volumen variable

Micropipetas

Reservorios

Puntas para Micropipetas

Tubos eppendorf de 2 mL

Equipo

Lector de ELISA BIO-TEK (Modelo ELx808)

Reactivos

2,2,-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)

Etanol

Dimetilsulfóxido (DMSO)

B. Procedimiento.

La actividad antioxidante de los compuestos puros, se realiza midiendo de manera indirecta la reducción del radical libre DPPH mediante una técnica espectrofotométrica.

A cuatro pozos de la placa de ELISA se les adiciona 50µL de la solución problema a la concentración deseada.

Posteriormente se agregan 150 µL de solución etanólica de DPPH 133.33 µM (concentración final 100 µM)

La mezcla se protege de la luz y se agita durante 30 minutos a 37°C

Posteriormente se lee su densidad óptica (DO) a 515 nm en un lector de ELISA

La actividad sobre el DPPH se expresa como porcentaje de reducción y se calcula con la fórmula:⁷⁵

$$\% \text{ de reducción} = (C-E/C) * 100$$

donde:

C= DO del control (DPPH 100 µM)

E= DO del experimental (Mezcla de DPPH 100 µM + compuesto problema)

6.3.2.3. Citotoxicidad

A. Material, equipo y reactivos

Material

Placas de ELISA
Micropipetas
Pipetas multicanales
Puntas para pipetas
Reservorios

Material biológico

Células Glia del sistema nervioso central tumorales (U25), de leucemia (K562), de colon (HCT-15) y linfocitos normales (L)

Equipo

Incubadora

Lector de microplacas Bio Kinetics (EL 340 de BIO-TEK™)

Reactivos

DMSO

TCA (50%)

Ácido acético (1%)

Sulforrodamina B (SRB) al 0.4%

Tris-base

B. Procedimiento

Partiendo de los cultivos de células U25, K562, HCT-15 y L se hacen suspensiones conteniendo 5000 o 7500 células en 100 µL, que se depositaron en los pozos de una placa experimental y en otra placa blanco.

Ambas se incuban a 37°C.

Después de 24 horas, se adiciona a cada pozo de la placa experimental 100 µL de los compuestos a ensayar preparados con medio a concentración 50 µM y a la placa cero se le adiciona 100 µL de medio.

Se continua la incubación por 48 horas.

Se fijan las proteínas con TCA al 80 % durante 60 minutos a 4°C.

Se lavan los pozos con agua corriente y se dejan secar por 24 horas.

Se tiñen las células con SRB (0.4%) durante 30 minutos y se lavan con ácido acético al 1%.

Las placas se dejan secar a temperatura ambiente durante 24 horas.

Se solubiliza el colorante SRB con tris-base.

Se agitan las placas por 30 minutos.

Se dejan secar por 24 horas a temperatura ambiente.

Se lee en un lector de microplacas Bio Kinetics (EL 340 de BIO-TEK™) a 515 nm

Se procede a calcular la respuesta celular por inhibición del crecimiento (%GI).⁷⁷⁻⁸¹

$$\% \text{ GI} = 100 - (\text{tratamiento} / \text{contenido de proteínas}) \times 100$$

Cabe hacer notar que este ensayo lo realizó un técnico del laboratorio de pruebas biológicas y es la M. en C. María Teresa Ramírez Apan.

6.3.2.4. Toxicidad en *Artemia salina*

A. Material, equipo y reactivos

Material

Quistes de *Artemia salina* comerciales
Micropipetas Eppendorf
Puntas para micropipetas
Placas de 96 pozos para ELISA
Pipeta Multicanal
Microscopio Nikon DIAPHOT 300
Tubos eppendorf
Gradillas
Vasos de precipitados
Reservorios

Material biológico

Larvas de *Artemia salina*

Equipo

Incubadora
Sonicador Julabo (USR1)
Microscopio óptico Nikon DIAPHOT 300

Reactivos

Agua de mar artificial (38g/L) preparada con agua destilada, filtrada y conservada en refrigeración hasta su uso.
Etanol
Dimetilsulfóxido (DMSO)
H₂O desionizada

B. Procedimiento

Eclosión de larvas.

En un recipiente se colocan aproximadamente 100mL de la solución de agua de mar artificial y 5 mg de quistes de *Artemia salina*, el recipiente se cubre con papel aluminio para evitar la evaporación del agua y se incuba a 25-28°C durante 48 horas.

Con una micropipeta se colectan las larvas eclosionadas y se transfieren a una caja de Petri, la cual tendrá cubierto el fondo con papel negro para resaltar los crustáceos.

Con una micropipeta eppendorf se colectan 10 larvas en 100µL de agua de mar artificial y se depositan suavemente en cada uno de los pozos de la microplaca.

Medición de toxicidad.

Se prepara una solución Stock con el compuesto a una concentración de 20 mM (I y VI) o 40 mM (III) en DMSO, a partir de esta se preparan una serie de soluciones a las concentraciones de 11.24-112.46 µM (I), 20-2000 µM (III) y 200-2000µM (VI) en cuartos de logaritmos en solución de agua de mar, debido a que al adicionar 100µL al pozo, se diluye al 50% con los 100µL previamente depositados con las larvas, ajustando las concentraciones finales de 5.62-56.23 µM (I), 10-1000 µM (III) y 100-1000µM (VI). Cada muestra y cada concentración se realiza por triplicado.

El grupo control se prepara con 10 larvas en 200µL de solución salina. Para evaluar la toxicidad del DMSO sobre las *Artemias* se probaron soluciones con la misma proporción del DMSO que contenían las soluciones del compuesto.

Se incuba por 24 horas a 25-28°C.

Se procede a contar el número de larvas muertas en cada pozo empleando la lupa del microscopio, la *Artemia* se considera muerta al no observar ningún movimiento de sus apéndices (antenas, anténulas y mandíbulas) durante 20 segundos consecutivos.

Enseguida se fijan adicionando 100 µL de etanol en cada pozo, y se meten al congelador durante 2 horas; una vez muertas, se cuenta el total de larvas por pozo.

La evaluación del porcentaje de mortalidad de las larvas es una curva concentración-respuesta de tipo cuantil, analizada por el método Reed-Muench y la CL_{50} se obtiene por interpolación en la curva, este método utiliza la siguiente fórmula para estimar el error estándar:⁹⁰

$$ES CL_{50} = \sqrt{(0.79 h R/n)}$$

Donde:

h= promedio del intervalo entre las dosis (log dosis)

R= rango del intercuartil ($CL_{75} - CL_{25}$) para el porcentaje acumulativo.

n= número de animales (o el promedio).

El límite de 95% de de la CL_{50} confianza se obtiene de la relación:

$$\log CL_{50} \pm 2 ES CL_{50}$$

VII. Resultados

7.1. Compuestos sintetizados

Tris-(3-metil-2-tienil) estibina (I)

Cristales blancos

Fórmula molecular: $C_{15}H_{15}S_3Sb$

PM : 412g/mol

Pf: 56-58°C

Rendimiento: 41%

IR: ν C-H aromático 3094.59 a , ν C=C aromático 1507.91 a ,
 ν CH₃ 2947.01 a , ν C-C 1079.17 a , ν C-S tieneno 722.17 f ,
 ν C-Sb estibina 471.25 a . (Ver espectro 1)

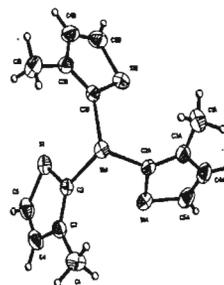
EM (IE+), m/z (%): R=2-C₄H₂S-3-CH₃ [M⁺] 412 (21),
[M-R]⁺ 314 (10), [M-2R]⁺ 218 (100), [R-R]⁺ 193 (38),
[R]⁺ 97 (79) (Ver espectro 2)

RMN: ¹Hδ (ppm) (CDCl₃): 2.39 (s) [H⁶], 7.00 (d) [H⁴], 7.50 (d) [H⁵]

¹³Cδ (ppm) (CDCl₃): 17.47 [C⁶], 126.46 [C³], 130.55 [C⁴], 132.32 [C⁵],

145.77 [C²] (Ver espectros 3-6)

Difracción RX: Sb-C= 2.133Å y C-Sb-C= 94.17° (Ver RX 7, celda unitaria 8 y tablas 4,5)



Tris-(3-tienil) estibina (II)

Cristales blancos

Fórmula molecular: $C_{12}H_9S_3Sb$

PM : 370g/mol

Pf: 56-60°C

Rendimiento: 48%

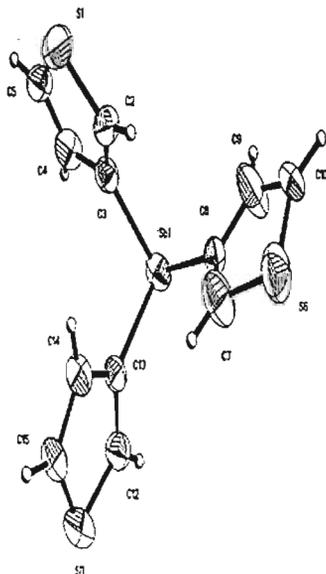
IR: ν C-H aromático 3087.49 a , ν C=C aromático
1567.75 m , ν C-C 1077.09 a , ν C-S tieneno 773.57 f ,
 ν C-Sb estibina 480.14 d (Ver espectro 9)

EM (IE+), m/z (%): R=3-C₄H₃S, [M⁺] 370 (11),
[M-R]⁺ 287 (7), [M-2R]⁺ 204 (100), [Sb]⁺ 121 (6),
[R-R]⁺ 166 (55), [R]⁺ 83 (6) (Ver espectro 10)

RMN: ¹Hδ (ppm) (CDCl₃): 7.10 (t) [H⁵], 7.33 (d)
[H²], 7.41 (t) [H⁴]

¹³Cδ (ppm) (CDCl₃): 126.42 [C⁵], 132.66 [C⁴],
133.00 [C²], 133.22 [C³] (Ver espectros 11-14)

Difracción RX: Sb-C= 2.131 Å y C-Sb-C= 96.18°
(Ver RX 15, celda unitaria 16 y tablas 6,7)



Tris-(5-cloro-2-tienil) estibina (III)

Cristales amarillo claro

Fórmula molecular: $C_{12}H_6Cl_3S_3Sb$

PM : 473g/mol

Pf: 31-33°C

Rendimiento: 46%

IR: ν C-H aromático 3086.03 d, ν C=C aromático 1502.72 m,

ν C-C 1060.84 a, ν C-S tiofeno 792.90 f, ν C-Cl 656.21 m,

ν C-Sb estibina 474.11 f (Ver espectro 17)

EM (IE+), m/z (%): R=2-C₄H₂S-5-Cl

[M⁺] 473 (3), [M-R]⁺ 357 (6), [M-2R]⁺ 240 (100)

(Ver espectro 18)

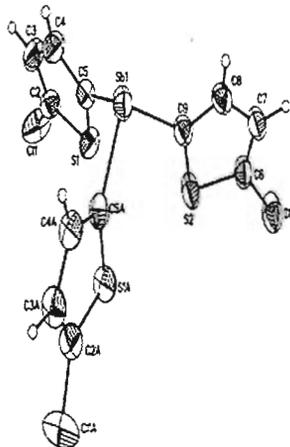
RMN: ¹Hδ (ppm) (CDCl₃): 6.96 (d) [H³], 7.08 (d) [H⁴].

¹³Cδ (ppm) (CDCl₃): 127.96 [C³], 131.21 [C²],

137.19 [C⁴], 137.36 [C⁵]. (Ver espectros 19-22)

Difracción RX: Sb-C= 2.121 Å y C-Sb-C= 98.02°

(Ver RX 23, celda unitaria 24 y tablas 8,9)



Tris-(3-metil-2-tienil) bismutina (IV)

Cristales blancos

Fórmula molecular: $C_{15}H_{15}BiS_3$

PM : 499g/mol

Pf: 145-148°C

Rendimiento: 57%

IR: ν C-H aromático 3093.94 a, ν C=C aromático 1508.6

a, ν CH₃ 2945.74 a, ν C-C 1076.59 a, ν C-S tiofeno 718.32 f,

ν C-Bi bismutina 468.88 a (Ver espectro 25)

EM (IE+), m/z (%): R=2-C₄H₂S-3-CH₃

[M⁺] 499 (0.7), [M-R]⁺ 403 (7.5),

[M-2R]⁺ 306 (100), [Bi]⁺ 209 (47), [R-R]⁺ 194 (59),

[R]⁺ 97 (88) (Ver espectro 26)

RMN: ¹Hδ (ppm) (CDCl₃): 2.37 (s) [H⁶], 6.93 [H⁴],

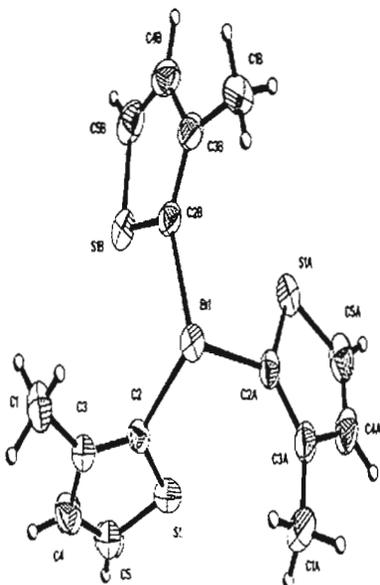
7.60 [H³]

¹³Cδ (ppm) (CDCl₃): 18.55 [C⁶], 130.39 [C⁴], 133.87

[C⁵], 145.29 [C²] (Ver espectros 27-29)

Difracción RX: Bi-C= 2.241 Å y C-Bi-C= 92.47°

(Ver RX 30, celda unitaria 31 y tablas 10,11)



Tris-(3-tienil) bismutina (V)

Cristales blancos

Fórmula molecular: $C_{12}H_9S_3Bi$

PM : 457g/mol

Pf: 72-75°C

Rendimiento: 40%

IR: ν C-H aromático 3077.66 a, ν C=C aromático

1562.58 m, ν C-C 1072.04 f, ν C-S tiofeno 767.10 f,

ν C-Bi bismutina 581.39 a (Ver espectro 32)

EM (IE+), m/z (%): R=3-C₄H₃S

[M-R]⁺ 375 (4), [M-2R]⁺ 292 (100), [Bi]⁺ 209 (42.5),

[R-R]⁺ 166 (8), [R]⁺ 84 (10) (Ver espectro 33)

RMN: ¹Hδ (ppm) (CDCl₃): 7.19 (d) [H⁵],

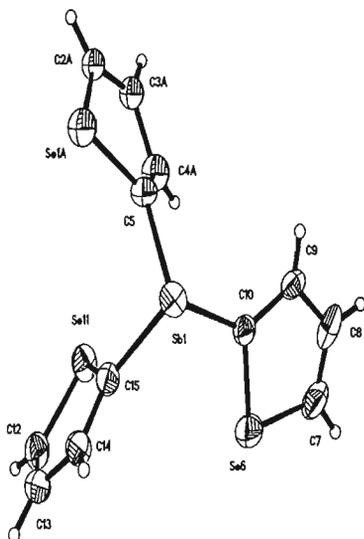
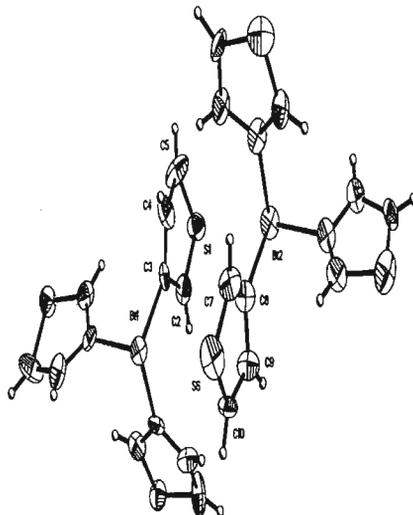
7.20 (d) [H²], 7.42 (m) [H⁴]

¹³Cδ (ppm) (CDCl₃): 127.88 [C⁵], 135.03 [C⁴],

136.21 [C²]. (Ver espectros 34-36)

Difracción RX: Bi-C= 2.26 Å y C-Bi-C= 90.4°

(Ver RX 37, celda unitaria 38 y tablas 12,13)



Tris-(2-selenil) estibina (VI)

Cristales amarillo claro

Fórmula molecular: $C_{12}H_9Se_3Sb$

PM : 511g/mol

Pf: 38-40°C

Rendimiento: 90%

IR: ν C-H aromático 3081 a, ν C=C aromático

1501.63 a, (Ver espectro 39) ν C-C 1074.44 a,

ν C-Sb estibina 476.07 a

EM (IE+), m/z (%): R=2-C₄H₃Se, [M⁺] 512 (4),

[M-R]⁺ 383 (3), [M-2R]⁺ 252 (100), [R-R]⁺ 262 (29),

[R]⁺ 130 (2.5) (Ver espectro 40)

RMN: ¹Hδ (ppm) (CDCl₃): 7.23 [H³], 7.39 (m) H⁵,

[8.83 [H⁴]

¹³Cδ (ppm) (CDCl₃): 130.98 [C⁴], 137.76 [C⁵],

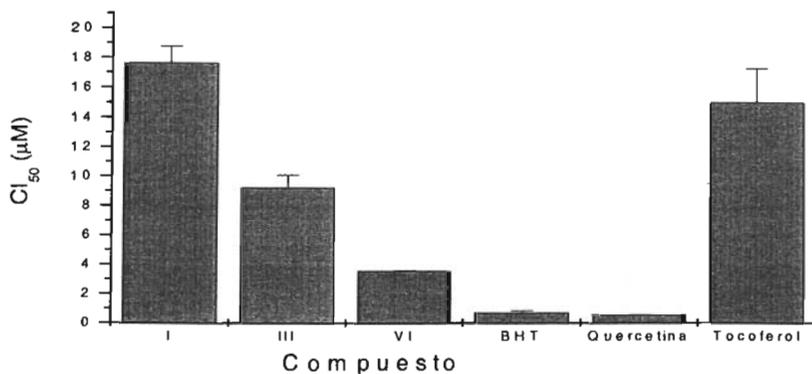
139.93 [C³]. (Ver espectros 41-44)

Difracción RX: Sb-C= 2.127 Å y C-Sb-C= 95.8°

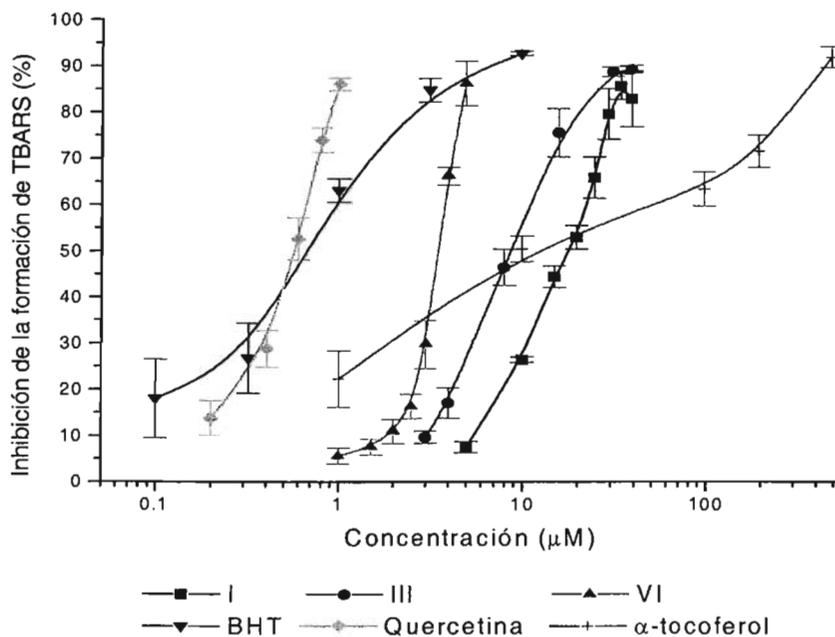
(Ver RX 45, celda unitaria 46 y tablas 14,15)

7.2. Pruebas de actividad biológica

7.2.1. Lipoperoxidación espontánea: TBARS

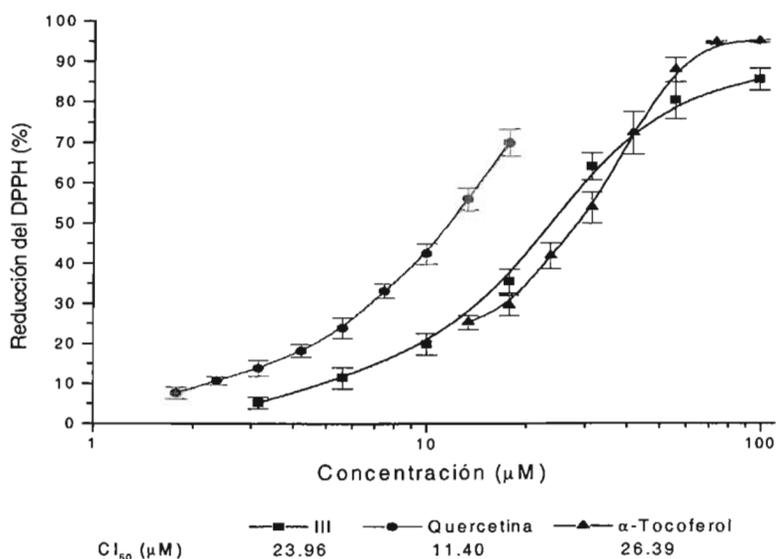


Gráfica 1. Comparación de las CI₅₀ de las estibinas y los fármacos de referencia en el homogenizado de cerebro de rata. (17.6, 9.22, 3.51, 0.7, 0.6 y 15 µM respectivamente)



Gráfica 2. Curva concentración-respuesta de las estibinas en homogenizado de cerebro de rata.

7.2.2. Reducción de DPPH



Gráfica 3. Curva concentración-respuesta en reducción del DPPH.

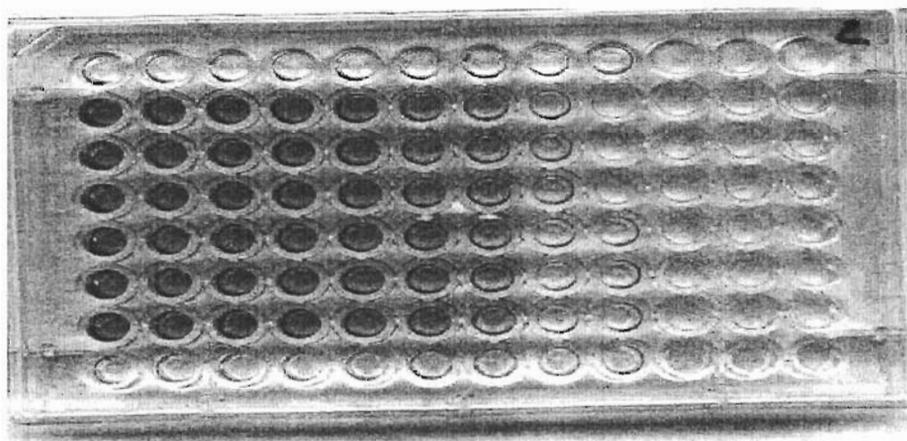
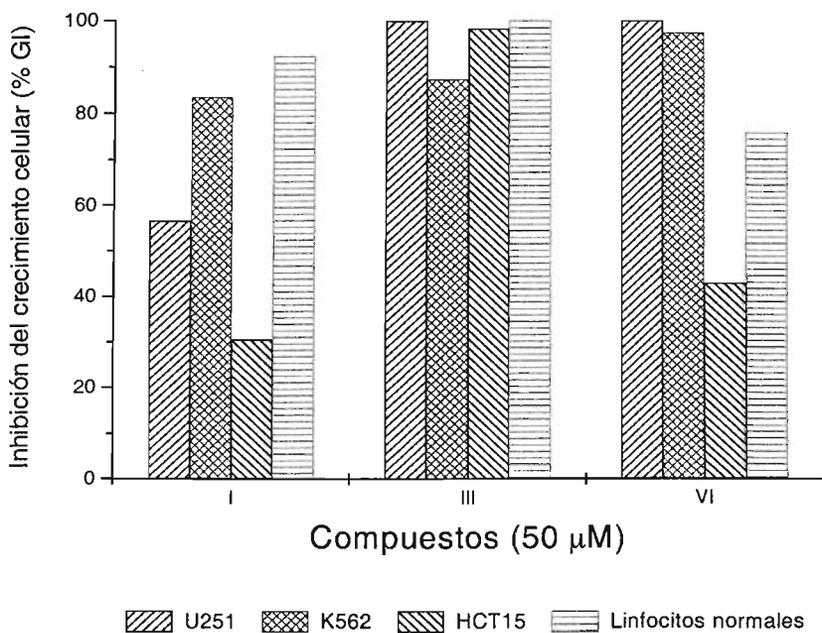


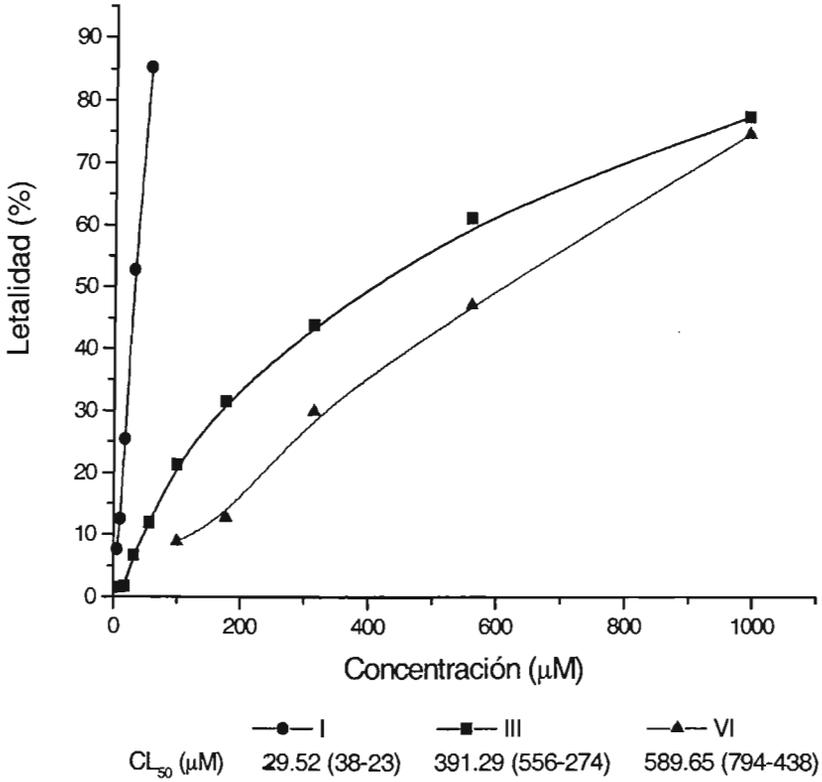
Figura 11. Estimación del desvanecimiento del color violeta intenso (DPPH° oxidado) a amarillo claro (DPPH reducido)

7.2.3. Citotoxicidad



Gráfica 4. Comparación del %GI de las estibinas en las líneas celulares de SNC (U251), leucemia (K562), colon (HCT15) y linfocitos normales.

7.2.4 Toxicidad aguda en *Artemia salina*



Gráfica 5. Curva concentración-respuesta en *A. Salina* producida por las estibinas. Los valores entre paréntesis corresponden al límite superior y al límite inferior con respecto a la concentración.

VIII. Discusión de resultados

La reacción de metátesis empleando reactivos de Grignard y cloruro de antimonio (III) en atmósfera inerte, con temperatura inferior a 0°C y con agitación constante; es una ruta ideal para la obtención de estibinas y bismutinas terciarias con anillo tiofénico y selenofénico; con un rendimiento aproximado de 40-90%.

Los seis compuestos sintetizados se caracterizan por ser cristalinos de color blanco a amarillo claro, solubles en CHCl₃, DMSO, parcialmente solubles en pentano y hexano.

Los estudios espectroscópicos en el IR se realizaron para localizar las frecuencias características de los modos de vibración de los compuestos sintetizados ya que es una técnica de caracterización e identificación de grupos funcionales presentes en una molécula, en la cual se presentaron frecuencias de 471.25, 480.14, 474.11 y 476.07 cm⁻¹ correspondientes a las bandas de νC-Sb de los compuestos I, II, III y VI respectivamente, mientras que para los compuestos IV y V los νC-Bi están en el intervalo de 468-582 cm⁻¹.

Con ayuda de la espectrometría de masas por IE⁺ se apreció el ión molecular correspondiente a su peso y mediante los fragmentos obtenidos en el espectro, se detectó en todos los compuestos que el pico base (100% de abundancia relativa) corresponde a [M-2R]⁺, también se observa un pico de dimerización del grupo R [R-R]⁺, la fragmentación es similar a la encontrada en la literatura para tiofeno y selenofeno, cabe mencionar que en el compuesto III no se apreció el fragmento correspondiente al grupo R y en el IV no se observó el ión molecular [M]⁺ por la técnica utilizada.

En el RMN la asignación de señales de cada protón se comprobó por espectroscopia de correlación bidimensional ¹H-¹H (COSY), en los desplazamientos químicos δ (ppm) aparecieron las señales de los protones según su corrimiento químico característico, y la asignación de la posición de protones fue de acuerdo a la figura 12.



Fig 12. Numeración del tiofeno y selenofeno: posición 2 α , 5 α' , 3 β y 4 β' .

Cabe recordar que el efecto de un sustituyente que atrae electrones disminuye al aumentar la distancia, y los efectos generalmente son despreciables sobre protones que están separados del grupo electronegativo por cuatro enlaces o más, es decir, un átomo electronegativo (Sb, Bi, S, Se, Cl) retira algo de la densidad electrónica del entorno del protón ejerciendo un efecto desprotector que decrece rápidamente con la distancia.

De lo anterior, se dedujo que en los compuestos I y IV está más desprotegido el H⁵ que el H⁴ debido a su cercanía con el S del tiofeno mientras que los hidrógenos del -CH₃ están más protegidos porque no tienen ninguna interacción con un átomo electronegativo. En el II y V el H⁴ y el H² están más desprotegidos que el H⁵ debido a su cercanía con el Sb/Bi que son más electronegativos que el S del tiofeno. En el III el H⁴ está más desprotegido que el H³ debido al efecto electronegativo del cloro en la posición 5- del tiofeno sustituido en la posición 2- por Sb. En el compuesto VI se esperaba que el H³ y H⁵ estuvieran más desprotegidos debido al efecto electronegativo del Sb y del Se pero se observó que el H⁴ y el H⁵ están más desprotegidos que el H³; por lo cual hay una inversión del orden de desplazamiento de los protones H⁴ y H³ siendo este último el que aparece a campo más bajo.

Los carbonos correspondientes a los enlaces del grupo aromáticos heterociclo y a los grupo metilo se comprobaron por el corrimiento de desplazamiento químico heteronuclear ¹H-¹³C (HETCOR), en donde los compuestos I y IV los C² y C⁵ se encuentran a campo más bajo que el C³ y C⁴ debido a la desprotección causada por el Sb/Bi y el S del tiofeno, el C⁶ del -CH₃ está a campo alto porque está más protegido. En los

compuestos II y V el C³ está en campo bajo debido a que está directamente unido al Sb (II), seguido del C², C⁴ y C⁵, donde se esperaba que el C⁵ estuviera a campo más abajo que el C⁴ debido a su cercanía con el S del tiofeno. En el compuesto III el C⁵ que está directamente unido al -Cl y el C⁴ que recibe indirectamente la influencia de este átomo electronegativo, se encuentran en el campo bajo debido a la desprotección ejercida le sigue el C² que recibe el efecto del Sb y el C³ es el más desprotegido. En el compuesto VI el C³ y C⁵ que está influenciado por el Sb y el Se están a campo bajo mientras que el C⁴ que no tiene ninguna influencia está a campo más alto. Cabe señalar que en los compuestos IV y V no se detectó la señal del C³ y en el VI la del C², que son las correspondientes al carbono cuaternario enlazado directamente al -CH₃ (IV), al Bi (V) y al Sb en el VI; ya que es relativamente difícil de ubicar, debido a la ausencia de la interacción con el protón y aunque se utilizó HETCOR no se obtuvo mayor información.

Todas las estructuras fueron confirmadas por su análisis a través de la técnica de difracción de Rayos X, de la cual se observó que todos los compuestos son monómeros, tetraédricos, con un par de electrones libre, con estructura piramidal, se observa que los compuestos III un plano de simetría, hay interacción intramolecular en todos los compuestos, en el II hay interacción intermolecular Sb...S del tiofeno, en el V hay interacción intermolecular Bi...S y en el compuesto VI el Se y el C-5 están desordenados, tienen interacción intermolecular Sb...Se. Los compuestos I, IV y V tienen un sistema cristalino rombohedral, monoclinico para II y III y triclinico para el VI, además de las características del cristal, el promedio de la longitud de enlace Sb-C es de 2.1284 Å, el ángulo de enlace C-Sb-C es de 96.12° en los compuestos I, II, y III, mientras que para el IV y V el Bi-C es de 2.2505 Å y el C-Bi-C es de 91.43°, en el caso del VI es de 2.1273 Å para la longitud del enlace Sb-C y de 95.8° para el ángulo C-Sb-C, por último, en el compuesto (I) se determinó la rotación óptica pero no se concluyó porque no se logró separar, debido a que el valor es muy pequeño (α : -0.011 a 589nm Na), pero sí tiene quiralidad helicoidal, ya que entre dos enantiómeros se anula la rotación óptica y es el cambio de posición en la molécula lo que se observó en solución.

Por lo que respecta a las pruebas de actividad biológica, se observa que al evaluar el efecto de los compuestos sobre la peroxidación espontánea de lípidos en homogenizado de cerebro de rata, el compuesto VI presentó mayor actividad antioxidante ya que es el que inhibe en mayor cantidad la formación de TBARS y tiene una CI_{50} de $3.51\mu M$, lo cual es resultado de que el Se en el anillo aromático le confiere mayor actividad a la molécula que el S. En el caso de los compuestos con anillo tiofénico se observa que la sustitución de un halógeno en la posición 5- (Fig. 2) le proporciona mayor actividad que la sustitución de un $-CH_3$ en la posición 3- lo cual se refleja en los valores de CI_{50} ($9.22\mu M$ para el III y de $17.6\mu M$ para el I). La comparación de los compuestos con los estándares de referencia muestra que ninguno de los tres son tan activos como el BHT o la Quercetina los cuales poseen una CI_{50} de $0.7\mu M$, $0.6\mu M$ y $15\mu M$ respectivamente. Pero si se utiliza el α -Tocoferol como referencia cuya CI_{50} es de $15\mu M$ los compuestos VI y III son más activos, puesto que su CI_{50} es de $3.5\mu M$ y $9.2\mu M$ respectivamente. (Ver gráfica 1)

En resumen los compuestos I y III presentan muy poca actividad si se comparan contra la actividad que tiene el BHT y la Quercetina, pero si se emplea el α -Tocoferol como referencia, el compuesto VI es cuatro veces más activo que éste, en tanto que el III es apenas 1.6 mayor y el I es menos activo que el α -Tocoferol, por lo cual se podría decir que si se emplea éste como estándar entonces los tres compuestos protegen a los lípidos del cerebro de rata contra la oxidación espontánea. (Ver gráfica 2)

La capacidad como atrapadores de radicales libres está dada por el cloro en la posición 5- del compuesto III ya que la presencia del par de electrones libre del halógeno y los enlaces del anillo aromático de tiofeno hacen posible su deslocalización originando el fenómeno de resonancia, permitiéndole la interacción con el radical DPPH generando así un radical estable. Este compuesto presentó una CI_{50} de $24\mu M$ que es la mitad de la actividad de la Quercetina (CI_{50} de $12\mu M$) y casi igual a la que presenta el α -Tocoferol (CI_{50} de $27\mu M$) que son los compuestos utilizados como referencia. Por lo que se considera que este compuesto tiene un buen efecto antioxidante; lo cual no se aplica al compuesto I que tiene un $-CH_3$ en la posición 3-, ni al compuesto VI que no tiene sustituyentes, que debido a su carencia de elementos electronegativos no presentaron un porcentaje de

reducción del DPPH significativo. Con estos resultados se comprueba que los compuestos pueden actuar de diferente manera en un medio químico y en uno biológico.

Mientras que en las pruebas de citotoxicidad las células cancerígenas de leucemia K562 (>80%) mostraron mayor sensibilidad al compuesto (I) que las de SNC U251 (>50%) y que las de colon HCT15 (30%), el (III) inhibe el crecimiento de todas las líneas celulares probadas (>85%), actividad citotóxica que le confiere su estructura clorada, y el VI fue selectivo para las U251 y las K562 (>95%), mostrando menor inhibición por las HCT15 (>40%), los tres compuestos son altamente tóxicos para los linfocitos normales con un porcentaje mayor al 80% de letalidad, por lo cual no podrán ser candidatos a fármacos en el tratamiento contra el cáncer.

En la prueba de toxicidad aguda sobre *A. salina* los tres compuestos presentaron una respuesta dependiente de la concentración. El compuesto I con CI_{50} de $29.52\mu M$ es 13 veces más tóxico que el III (CI_{50} de $391.29\mu M$) y 20 veces más que el VI. (CI_{50} de $589.65\mu M$). Dado que un compuesto se considera bioactivo cuando la CI_{50} de éste es inferior a $200\mu g/mL$, se infiere que el compuesto I es el único bioactivo⁹⁰. La presencia de Se en lugar de S en el anillo aromático produjo una considerable pérdida de toxicidad en la molécula, el cloro también la disminuye, y contrario a esto la presencia del metilo en la estibina aumenta notablemente la toxicidad sobre *A. salina*.

Con los datos obtenidos es muy difícil realizar un análisis de correlación ya que los compuestos mostraron una actividad biológica muy variada en cada ensayo. De este modo se recomienda la realización de pruebas biológicas con parásitos para evaluar su actividad antiLeishmanias, ya que los compuestos estibínicos tienen propiedades farmacológicas ya comprobadas como antiparasitarios.¹

IX. Conclusiones

- *Las tres estibinas con anillo tiofénico fueron sintetizadas exitosamente mediante reacción de metátesis, involucrando reactivos de Grignard.
- *Los compuestos se identificaron y caracterizaron por **IR**, donde se observaron los grupos funcionales presentes en las moléculas.
- ***RMN ¹H, ¹³C, COSY y HETCOR**, donde se registraron las interacciones entre los protones y carbonos alifáticos y aromáticos presentes.
- *En **EM** por **IE⁺** se determinó el ión molecular y los fragmentos de la estructura.
- *La estructura molecular de estos nuevos compuestos estibínicos y bismutínicos fueron determinados por cristalografía de Difracción de **RX**.
- *Mediante la técnica de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (**TBARS**); los tres compuestos protegieron a los lípidos del cerebro de rata contra la oxidación espontánea.
- *El compuesto VI presenta mayor actividad antioxidante ya que inhibe la formación de TBARS presentando CI_{50} de $3.51\mu M$, resultado de la presencia del Se en el anillo aromático.
- *En el modelo de TBARS la Quercetina es seis veces más activa que el compuesto VI, casi 16 veces mayor que el III y 30 veces más que el I.
- *El Cloro en la posición 5- del compuesto III le confiere actividad sobre el radical libre DPPH, con una CI_{50} de $23.96\mu M$.
- *Entre los modelos de TBARS y DPPH no existe ninguna correlación para estas moléculas.
- *Los tres compuestos estibínicos tuvieron actividad citotóxica sobre los cultivos de líneas celulares de células cancerosas, pero con variable selectividad y potencia, determinada por el sustituyente.
- *El compuesto I mostró cierta selectividad sobre la línea K562 (>80%), el III incrementó la toxicidad e inhibió el crecimiento de todas las líneas celulares probadas y el VI fue selectivo con las U251 y las K562.
- *Todos los compuestos probados resultaron altamente tóxicos para los linfocitos normales con un porcentaje mayor al 80%.

*La presencia del sustituyente metilo en el anillo tiofénico de la estibina proporciona mayor actividad tóxica sobre las larvas de *A. Salina*.

*No fue posible establecer correlación significativa entre los métodos para evaluar toxicidad *in vivo* con *A. salina* y citotoxicidad *in vitro* con las líneas celulares U251, K562 y HCT15.

*Los compuestos que son selectivos como inhibidores del crecimiento celular pueden no serlo en sistemas celulares más organizados como son las *Artemias* debido a los factores que presentan, como absorción y metabolismo.

X. REFERENCIAS

1. Norman, N. C. "Chemistry of As, Sb and Bi", 1a ed., Ed. Blackie Academic and Professional, Gran Bretaña, 1998
2. Kolmer, J. A.; Brown, H. *Am. J. Syph.*, 1939, 23, 7-40.
3. Lehman, R. A.; Fassett, D. W. *Am. J. Syph. Gonorrhoea, Vener. Dis.*, 1947, 31, 640-656.
4. Mignot, R. *Presse Med.* 1929, 37, 1545-1547; *Chem. Abstr.* 1930, 24, 4856.
5. Basu, U. P. *Indian J. Pharm.* 1939, 1, 157-162.
6. Clausen, N. M.; Longley, B. J. *J. Pharmacol.* 1942, 76, 338-342.
7. Baxter, C. F. *Chem Br*, 1992, 28, 445.
8. Sadler, P. J.; Sun, H. J. *Chem. Soc., Dalton Trans.* 1995, 1395.
9. Asato, E.; Katsura, K.; Mikuriya, M.; Turpeinen, U. *J. Inorg. Chem.* 1995, 34, 2447.
10. Burford, N.; Veldhuyzen Van Zamen, S. O. J.; Best, L.; *J. M. Gastroenterology* 1994, 106, A59.
11. LeBlanc, R.; Veldhuyzen Van Zamen, S. O. J.; Agocs, L.; Leddin, D. *J. Gastroenterology* 1995, 108, A860.
12. Köpf-Maier, P.; Klapötke, T. *Inorg. Chim. Acta* 1988, 152, 49.
13. Köpf-Maier, P. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 1994, 47, 1-16. Klapotke, T. *Biol. Met.* 1988, 169, 76; *Chem Abstr* 1989, 111, 8959e.
14. Van der Werff, J. *Th. Acta Radiol.* 1965, Suppl. 243, 3-87.
15. Klapötke, T. *J. Organomet. Chem.* 1987, 42, 940.
16. Zhou, M. S.; Tan, A. L.; Xu, Y.; T. S. A. *Polyhedron* 1987, 16, 2381.
17. Sasaki, T. *Igaku No Ayumi* 1993, 164, 367-37; *Chem. Abstr.* 1993, 118, 182569c.
18. Vela, J.; Sharma, P.; Cabrera A.; *J. Organomet. Chem.* 2001, 634, 5.
19. Lemus, A.; Sharma, P.; Cabrera A.; *Main Group Metal Chemistry*, 2001, 24, 835.17.
20. Pyykkö, P. *Chem. Rev.*, 1988, 88, 563; Pitzer, K. S. *Acc. Chem. Res.*, 1979, 12, 271; Pyykkö, P.; Desclaux, J. P. *Acc. Chem. Res.*, 1979, 12, 276.
21. Gillespie, R. J. *J. Chem.* 1963, 40, 295.
22. Gillespie, R. J. *J. Chem.* 1970, 47, 18.
23. Millington, P. L.; Sowerby, D. B. *J. Chem. Soc.; Dalton Trans.* 1981, 2011.
24. Claes, E. G.; Van der Kelen, G. P.; de Kelelaere, R. F. *J. Mol. Struct.*, 1977, 40, 89.
25. Sharma, P., Cabrera, A., Arias, J. L., Le Lagadec, R., Manzo, R. L., Sharma, M., *Main Group Met. Chem.* 22, 95, 1999.
26. Frias, M. L., Sharma, P., Cabrera, A., Hidroformilación de Alquenos en Fase Homogénea con compuestos de Rodio y Ligantes Estibínicos como Precursores Catalíticos. Presentación oral. XXXV Congreso Mexicano de Química. San Luis Potosí, S. L.P., México. Septiembre 2000.
27. Gómez, R. M. Sharma, P., Arias, J. L. Pérez, J., Velasco, L., Cabrera, A. Amidocarbonylation of Cyclohexene with CO₂(CO)₈ Modified Triarylstibines in Very Mild Conditions. *J. Mol. Catal.* 2001, 70, 271.
28. Gilman, H.; Morton, J. W., Jr. *Org. Reactions*, 1954, 8, 258.
29. Gilman, H and D. A. Shirley, *J. Am. Chem. Soc.* 1949, 71, 1870.
30. Gronowitz S., *Arkiv Kemi* 1954, 7, 361.
31. Gronowitz S., *Arkiv Kemi* 1958, 13, 295.
32. Gronowitz S. and Halvarson K., *Arkiv Kemi* 1955, 8, 343.
33. Sicé J. *J. Am. Chem. Soc.* 1953, 75, 3697.
34. Gronowitz, P. Moses, A-B. Hörnfeldt, and R. Hakansson, *Arkiv Kemi* 1961, 17, 165.
35. Sicé J. *J. Org. Chem* 1954, 19, 70.
36. Arcoria A., Maccarone E., and Mamo A., *J. C. S. Perkin II*, 1979, 1347.
37. Plas, Henrik Cornelis Varder, *Advances in Heterocyclic Chemistry*, Academic Press, London, 1982, 30, 2-124.
38. Lawesson S. O., *Arkiv Kemi* 1957, 11, 317.
39. Lawesson S. O., *Arkiv Kemi* 1957, 11, 325.

40. Moses P. and S. Gronowitz, *Arkiv Kemi* 1961, 18, 119.
41. Gronowitz S., *Arkiv Kemi* 1954, 7, 267.
42. Lawesson S. O., *Arkiv Kemi* 1957, 11, 337.
43. Jones R. G. And Gilman H, *Org. Reactions* 1951, 6, 339.
44. Bachman G. B. and Heisey, L. W. *J. Am. Chem. Soc.* 1948, 70, 2378.
45. Aruoma O. I. Free radicals, antioxidant and international nutrition. *Asia Pacific J. Clin. Nutr.* 1999; 8(1): 53-63.
46. Young I. S. Antioxidants in health and disease. *J. Clin Pathol.* 2001; 54: 176-186.
47. Halliwell B. Antioxidants. En: *Conocimientos actuales sobre nutrición.* 7ª ed. ILSI, OPS, OMS, Washington D. C., 1997, 636-644.
48. Rodríguez P. JM., Menéndez L. JR y Trujillo LY. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Rev Cubana Med Milit* 2001; 30 (1), 36-44
49. Martínez CM y Sánchez de MC F. Especies reactivas de oxígeno y defensa antioxidante. En: *Nutrición Clínica: Implicaciones del estrés oxidativo y de los alimentos funcionales.* 1ª ed. McGraw-Hill, Madrid, 2001; 91-111.
50. Nazlin K, Howell S, Suhur S. The effect of oxidants on the production of lipid oxidation products and transfer of free radicals in oxidized lipid-protein systems. In: *Antioxidants in human health and disease.* Cabi Publishing, Canada, 1999, 44-45.
51. Steck, E. A . (1972). The chemotherapy of protozo and diseases Walter Reed Army Institute of Research. Division of Medicinal Chemistry. TOMO II, 7.1-7.90.
52. Berman, J.D. , Gallalee, J F., and Gallalee, J V. Pharmacocinetic of pentavalent antimony in hamsters. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1988, 39, 41-45.
53. Bradley, W. R., and Fredrick, W. G. The toxicity of antimony. *Ind. Med.* 1941, 2, 15-22.
54. Marlies De Boeck, Micheline Kirsch-Volders, Dominique Lison. Cobalt and antimony: genotoxicity and carcinogenicity. *Mutation Research* , 2003, 533, 135-152.
55. Siesjo, B., Agardh, C. D ., ad Bengtsson, F. Free radicals and brain damage. *Cerebrovasc. Brain Metab. Rev.* 1989, 1, 165-211.
56. Taystman, R. J. Kirsch, J. R. And Koehler, R. C. Oxigen radical mechanisms of brain injury following ischaemia and reperfusion. 1991.
57. Leucureur, A. Le Thiec, A Le Meur, L. Amiot, B. Drenou, M. Bernard, T. Lamy, R. Fauchet, O.Fardel, Potassium antimonyl tartrate induces caspase- and reactive oxygen species-dependent apoptosis in lymphoid tumoral cells, *Br. J. Haematol.* 2002, 119 (3), 608-615.
58. M. A. Tirnenstein, P. I Plews, C. V. Walker, M. D. Woolery, H. E. Wey, and M. A. Toraason. Antimony-induced oxidative stress and toxicity in cultured cardiac myocytes. *Toxicology and applied pharmacology* 1995, 130, 41-47.
59. G. Wingren, O. Axelson, Epidemiologic studies of occupational cancer as related to complex mixtures of trace elements in the art glass industry, *Scand. J. Work Environ. Health* 19 (Suppl 1) 1993, 95-100.
60. Duthie G G, Duthie S. J. and Kyle J. A. M. Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. *Nutrition Research Reviews* 2000; 13, 79-106.
61. Urquiaga I, Urzúa U, Leighton F. Antioxidantes naturales y su impacto y su salud. <http://www.paginadigital.com.ar/articulos/2002rest/2002oct/tecnologia/atn26-11.html>. Página consultada en junio de 2003.
62. Thomas J. A. Estrés oxidativo y defensa oxidante. Em: *Nutrición en salud y enfermedad.* 9ª ed, McGraw-Hill, México, 2002. 1, 863-873.
63. Basu T. K. Potential role of antioxidant vitamins. In: *Antioxidants in human health and disease.* Cabi Publishing, Canada. 1999.
64. Venezuela A. Estrés oxidativo, una enfermedad de nuestro tiempo: El beneficio de la suplementación de la dieta con sustancias antioxidantes. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos-Universidad de Chile. Santiago de Chile. 1999.
65. Frei B. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: Mechanisms of action. *Am J. Med* 1994; 97 (3S), 3-13,
66. Takahama, U.). O₂° dependent and -independent photooxidation of quercetina in the presence and absence of rivo flavin and effect of ascorbate on the photooxidation. *Photochem. Photobiol.* 1985, 42, 89-91.

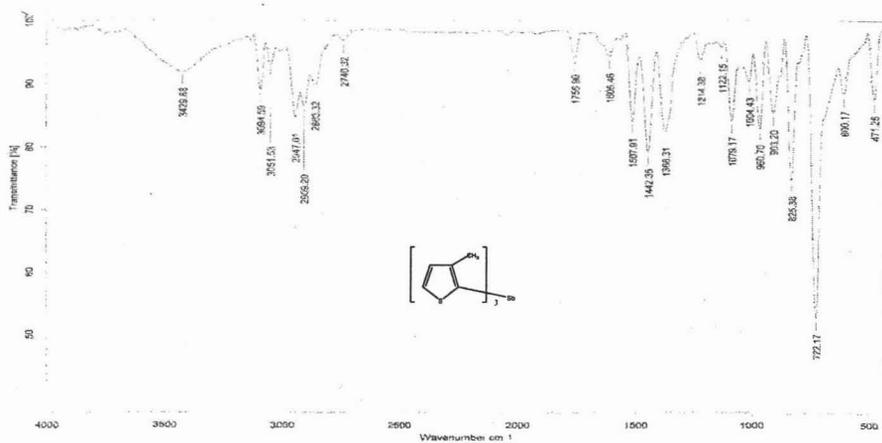
67. Pincemail, J., Deby, C., Lion, Y., Braquet, P., Hans, P., Drieu, K., and Goutier, R. Role of flavonoids in lipoperoxidation and radical reactions. In "Flavonoids and Bioflavonoids" (L. Parkas, M. Gabor, and F. Kallay, eds.), Elsevier, Amsterdam. 1986, 423-436.
68. Yuting, C., Rongliang, Z., Zhongjian, J., and Yong, J. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Free Radicals Biol. Med.* 1990, 9, 19-21.
69. Hu B, Sun S, Mei G, Chen L, Long E. Protective effects of Ginkgo biloba on rats during cerebral ischemia/ reperfusion. *Chin Med J. (Engl)* 2002; 115 (9): 1316-20.
70. Gray, J. I. Measurement of lipid oxidation: A review. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1978, 55, 539-546.
71. Allen, J. C. and Hamilton, R. JRancidity in Foods. Applied Science Publishers, London. 1983.
72. Raharjo, S. and Sofos, J. N. Methodology for measuring malonaldehyde as a product of lipid peroxidation in muscle tissues: A review. *Meat Sci.*, 1993, 35, 145-169.
73. Pearson, A. M. and Gray, J. I. Mechanismo responsible for warmed-over flavor in cooked meat. In The Maillard Reaction in Foods and Nutrition, ed. G. R. Waller and M. S. Feather. *Am. Chem. Soc. Symp.*, Washington, D. C., 1983, 215, 287-300.
74. W. A. Poyer and J. P. Stanley, *J. Org. Chem.* 1975, 40, 3615.
75. Sinnhuber, R. O. and Yu, T. C2.Thiobarbituric acid method for the measurement of rancidity in fishery products. II. The quantitative determination of malondheyde. *Food Tech.*, 1958, 12, 9-12.
76. W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, and C. Berset, *Lebensm. Wiss. Technol.* 1995, 28, 25-30.
77. Khoury, S. Claude Jazmín. *Cancer los grandes especialistas responden*, 1ª Ed. Aguilar, España., 1991.
78. Suffness, M., New approaches to the discovery of antitumor agents, in Proc. Phytochemical Society of Europe, *Biologically Active Natural Products*, Hostettmann, K, and Lea, P. J., Eds., Clarendon Press, Oxford, 1987, 27, 85.
79. Geran, R. T., Greenberg, M., M., MacDonald, A. M., Shumacher, A. M., and Abbott, B. J. Protocols for screening chemical agents and natural products againsts animal tumors and other biological systems, *Cancer Chemother. Rep. (Part 3)*, 1972, 3, 1.
80. Lee, K.-H., Lin, Y.-M., Wu, T.-S., Zhang, D.-C., Yamagishi, T., Hall, I. H., Chang, J. J., We, R.-Y., and Yang, T.-H., The cytotoxic principles of *Prunella vulgaris*, *Psychotria serpens* and *Hyptis capitata*: ursolic acid and related derivatives, *Planta Med.*, 1988, 54, 308.
81. Alley, M. C., Scudiero, D. A., Monks, A., Hursey, M. L., Czerwinski, M. J., Fine, D. L., Abbott, B. J., Mayo, J.G., Shoemaker, R, H., Boyd, M. R. Feasibility of Drug screening with Panels of Human Tumor Cell Lines Using a Microculture Tetrazolium Assay. *Cancer Research* .1988, 48, 589-601.
82. Cassady, J. M., Baird, W. M., and Chang, C.-J., Natural products as a source of potencial cancer chemotherapeutic and chemopreventive agents, *J. Nat. Prod.*, 1990, 53, 23.
83. H. Huang, S.C. Shu, J.H. Shih, C.J. Kuo, J.D. Chiu, Antimony trichloride induces DNA damage and apoptosis in mammalian cells, *Toxicology* 1998, 129 (2-3), 113-123.
84. S. Takahashi, H. Sato, Y. Kubota, H. Utsumi, J.S. Bedford, R. Okayasu, Inhibition of DNA-double strand break repair by antimony compounds, *Toxicology* . 2002, 180 (3), 249-256.
85. Levine, RR.; *Pharmacology: Drug actions.*; 4ª ed.; Little, Brown and Co .: Boston, USA.; 1990.
86. Viscencio de la Rosa, G., Tamay-Segovia, P., Isaac-Márquez, A. P., Lezama- Dávila, C. M., Toxicidad in vitro de extractos de *Urechites andrieuxii* Muell.-Arg. en contra de *L. mexicana*. *Memorias de la III Reunión de Investigación Química en el Sureste de México, Mérida, Yucatán*, 1995, 93.
87. Manuel Jesús Chan- Bacab, Elfride Balanza, Eric Deharo, Victoria Muñoz, Rafael Durán García, Luis Manuel Peña-Rodríguez.; Variation of leishmanicidal activity in four populations of *Urechites andrieuxii*.; *J. of Ethnopharmacology* 2003, 86, 243-247.
88. Shriver, D.F.; Drezdzon, M.A. "The Manipulation of Air-Sensitive Compounds", 2nd edition, ed. John Wiley and Sons, United States of America, 1986.
89. Reuben D. Rieke, Seung-Hoy Kim, and Xiaoming Wu; Direct Preparation of 3-Thienyl Organometallic Reagents: 3-Thienylzinc and 3-Thienylmagnesium Iodides and 3-Thienylmanganese Bromides and Their Coupling Reactions. *J. of Organic Chemistry*. 1997, 62 (20), 6921-6927.
90. Colegate, S. M., Molyneux, R. J. *Bioactive Natural Products*. CRC. Boca Raton, Florida, 1993.

ANEXO

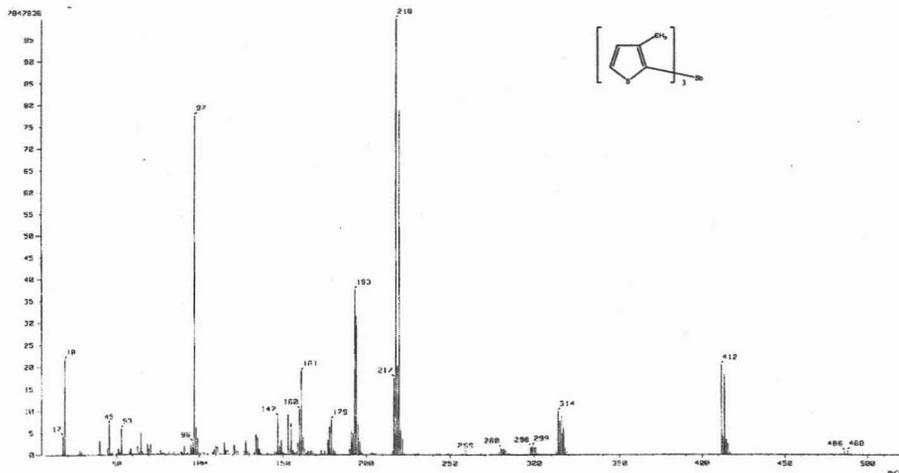
**ESPECTROS
Y TABLAS**

Espectros de la tris-(3-metil-2-tienil)estibina

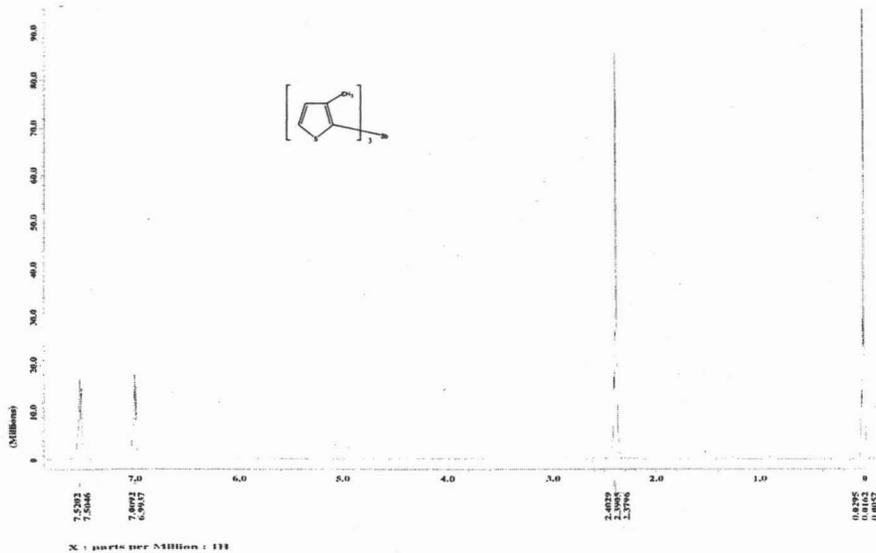
ESPECTRO 1: IR (PASTILLA-KBr)



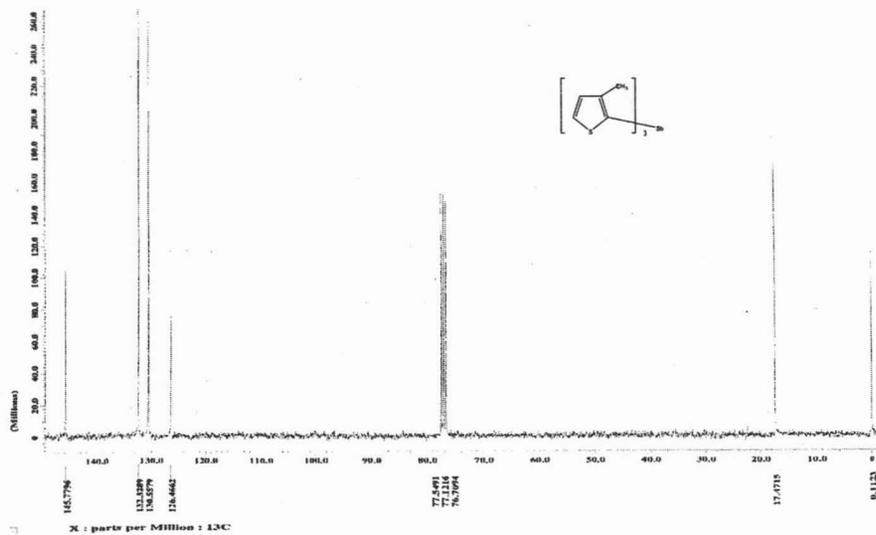
ESPECTRO 2: EM (IE+) (ION NORMAL [MF-LINEAL], 86.5°C)



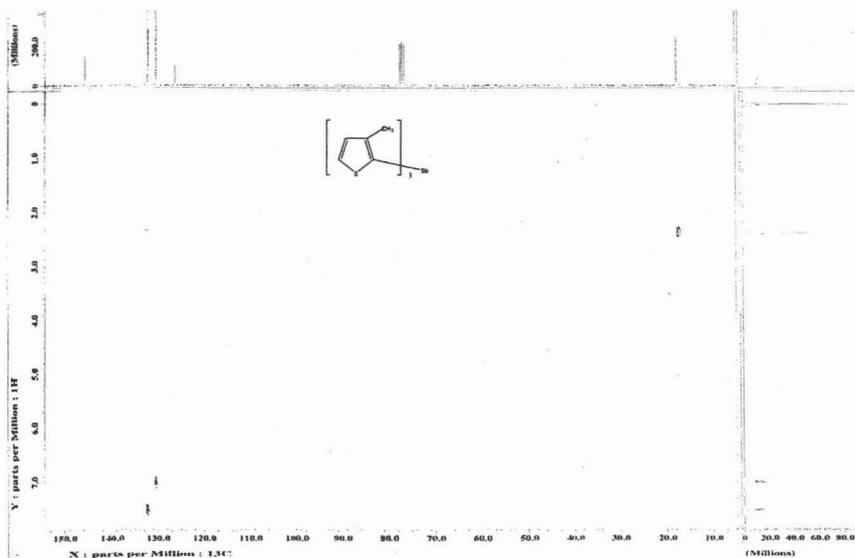
ESPECTRO 3: RMN ^1H (δppm): (CDCl_3 , 300 MHz, TMS)



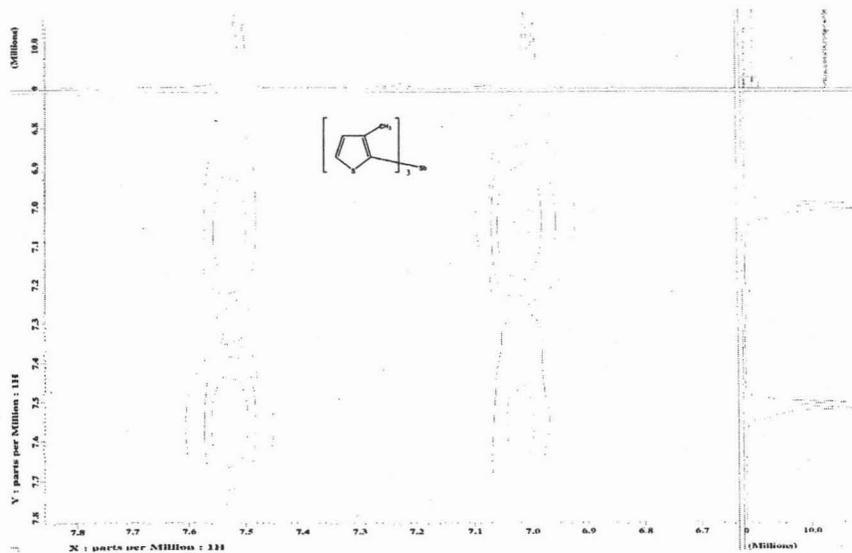
ESPECTRO 4: RMN ^{13}C (δppm): (CDCl_3 , 75 MHz, TMS)



ESPECTRO 5: RMN HETCOR (δ ppm): (CDCl_3 , TMS)



ESPECTRO 6: RMN COSY (δ ppm): (CDCl_3 , TMS)



DIFRACCIÓN DE RX

RX 7: ESTRUCTURA MOLECULAR

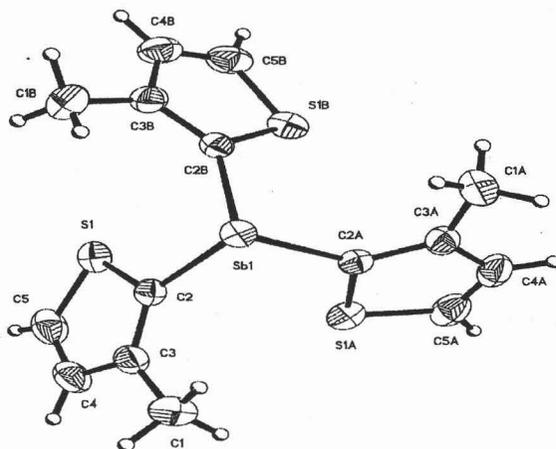


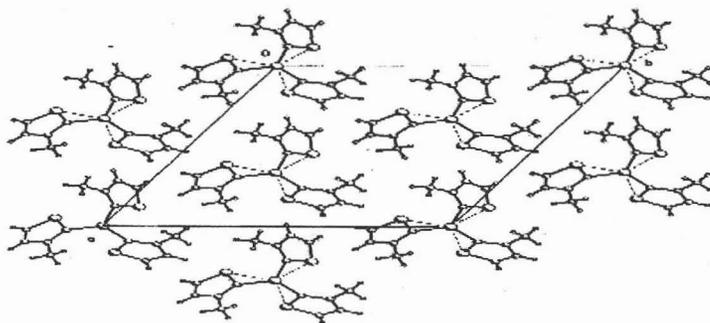
Tabla 4: Longitudes de enlace [Å] y ángulos [°] para tris-(3-metil-2-tienil) estibina

Sb (1)-C(2)	2.133(3)	C(2)-Sb(1)-S(1)	149.65(8)
Sb (1)-C(2)A	2.133(3)	C(2)-Sb(1)-S(1)	115.83(8)
Sb (1)-C(2)B	2.133(3)	C(2)-Sb(1)-S(1)	88.41(8)
Sb(1)...S(1)	3.8974(8)	C(5)-S(1)-C(2)	92.32(19)
S(1)-C(5)	1.701(4)	C(3)-C(2)-S(1)	110.9(2)
C(2)-Sb(1)-C(2)A	94.17(11)	S(1)-C(2)	1.717(3)
C(2)-Sb(1)-C(2)B	94.17(11)	C(3)-C(2)-Sb(1)	127.2(2)
C(2)-Sb(1)-C(2)	94.17(11)	S(1)-C(2)-Sb(1)	121.79(16)
C(2)A-Sb(1)-C(2)B	94.17(11)	C(4)-C(5)-S(1)	111.6(3)

Tabla 5: Parámetros cristalográficos y refinamiento estructural para la tris-(3-metil-2-tienil) estibina

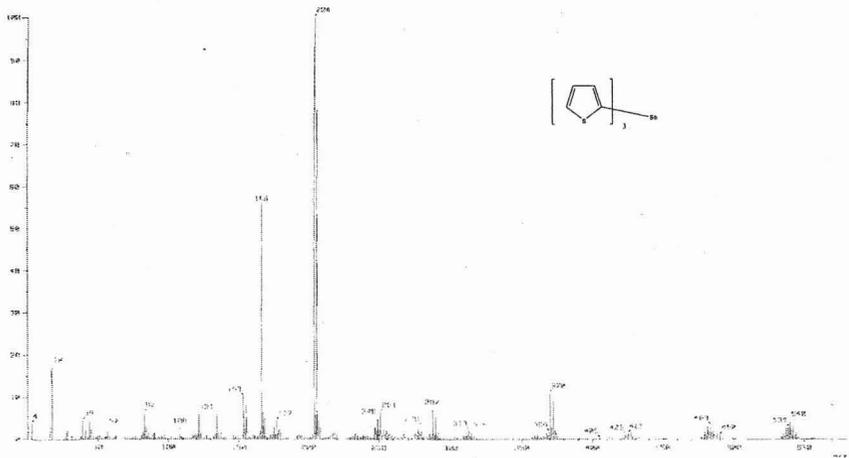
DATOS		DATOS	
Fórmula empírica	$C_{15}H_{15}S_3Sb$	Reflexiones colectadas	5741
Peso Molecular	413.20	Reflexiones independientes	2003 [R (int) = 0.0372]
Temperatura	293 (2) K	Complemento para $\theta = 32.47^\circ$	100.0%
Longitud de onda	0.71073	Mediciones trazadas por un difractómetro	Brucker Smart Apex CCD
Sistema cristalino	Rombohedral	Corrección de la Absorción	Índice analítico de superficie
Grupo espacial	R 3	Transmisión máx y min.	0.8254 y 0.4786
Dimensiones de la celda unitaria	$a = 16.162 (1)$ $b = 16.162 (1)$ $c = 5.4889 (4)$	Método de refinamiento	Matrices enteras de mínimos cuadrados F^2
Volumen	$1241.7 (1)$	$\alpha = 90^\circ$ $\beta = 90^\circ$ $\gamma = 120^\circ$	
Z	3	Dato	2003
Densidad teórica	1.658 Mg/m^3	Restricción	1
Coefficiente de Absorción	2.029 mm^{-1}	Parámetros	59
F (000)	612	Ajuste sobre F^2	1.005
Tamaño del cristal	$0.554 \times 0.172 \times 0.102$	Índice final R [$I > 2$]	R 1 = 0.0321
Color	mm	σ (I)	wR2 = 0.0567
Forma	sin color prisma	Índices de R	R1 = 0.0364 wR2 = 0.0576
Intervalo de (θ)	2.52 a 32.47°	Parámetro absoluto de la estructura	-0.02 (2)
		Largo de diff. Del pico y abertura	1.443 y -0.296 e.^{-3}
		Rango de índices	$-24 \leq h \leq 24$ $-24 \leq k \leq 24$ $-8 \leq l \leq 8$

RX 8: CELDA UNITARIA

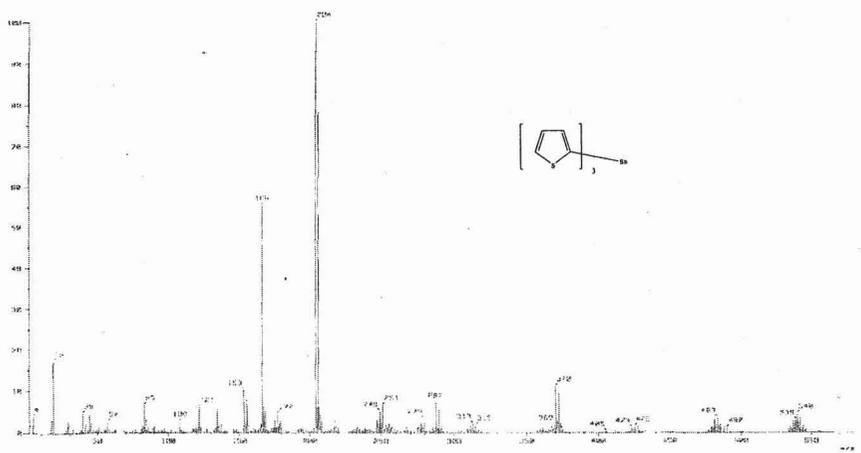


Espectros de la tris-(3-tienil)estibina

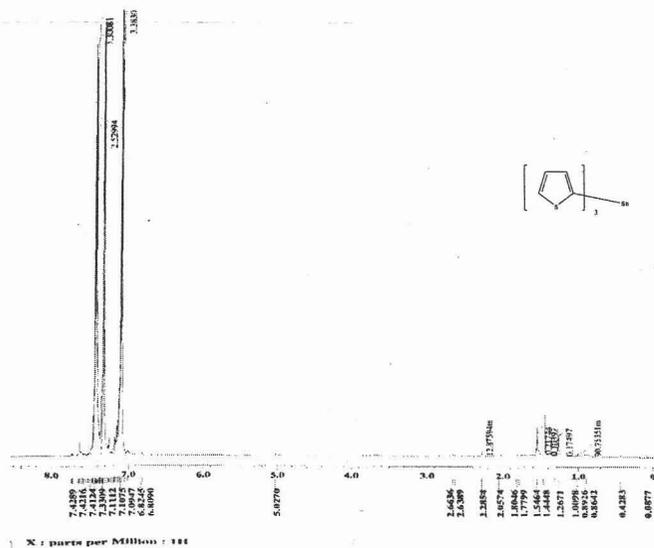
ESPECTRO 9: IR (PASTILLA-KBR)



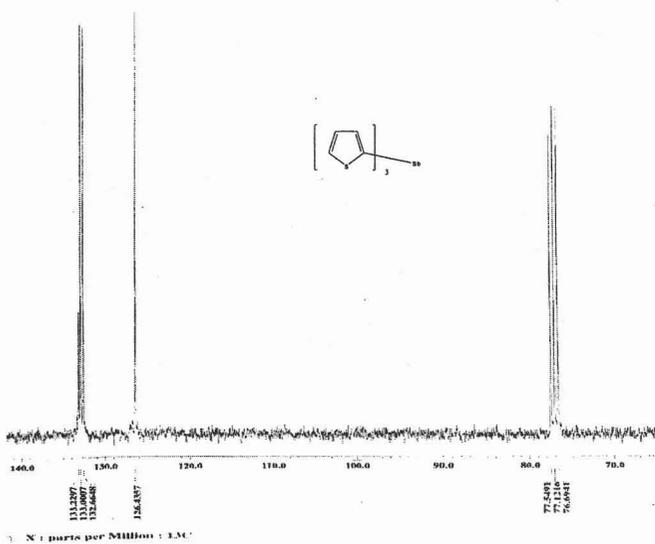
ESPECTRO 10: EM (IE+) (ION NORMAL [MF-LINEAL], 86.5°C)



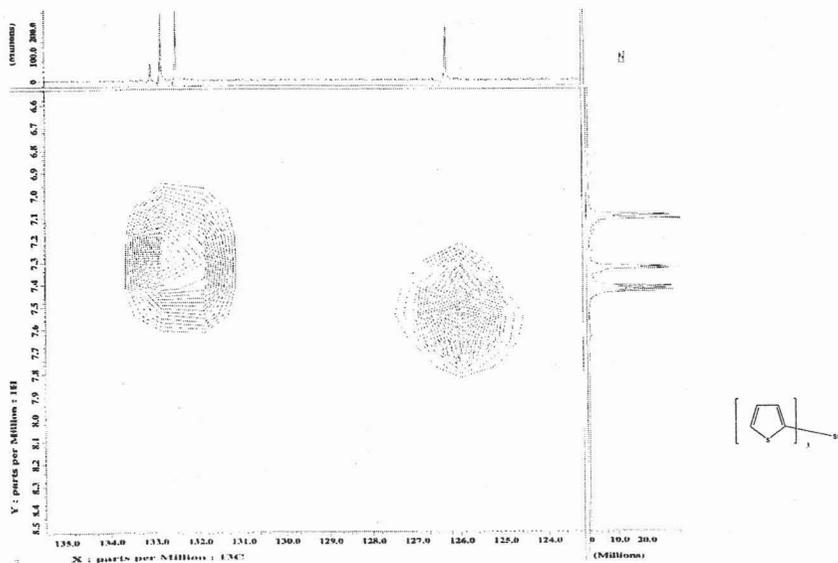
ESPECTRO 11: RMN ^1H (δppm): (CDCl_3 , 300 MHz, TMS)



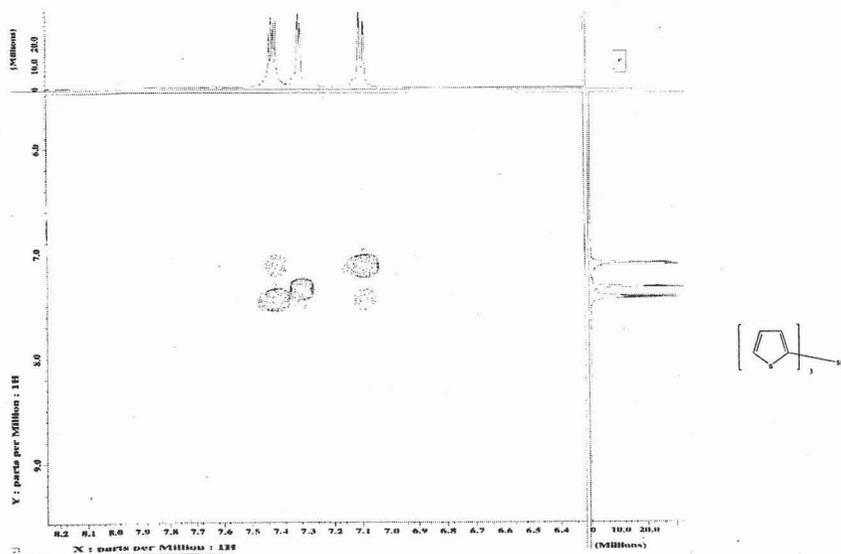
ESPECTRO 12: RMN ^{13}C (δppm): (CDCl_3 , 75 MHz, TMS)



ESPECTRO 13: RMN HETCOR(δ ppm): (CDCl₃, TMS)



ESPECTRO 14: RMN COSY (δ ppm): (CDCl₃, TMS)



DIFRACCIÓN DE RAYOS X

RX 15: ESTRUCTURA MOLECULAR

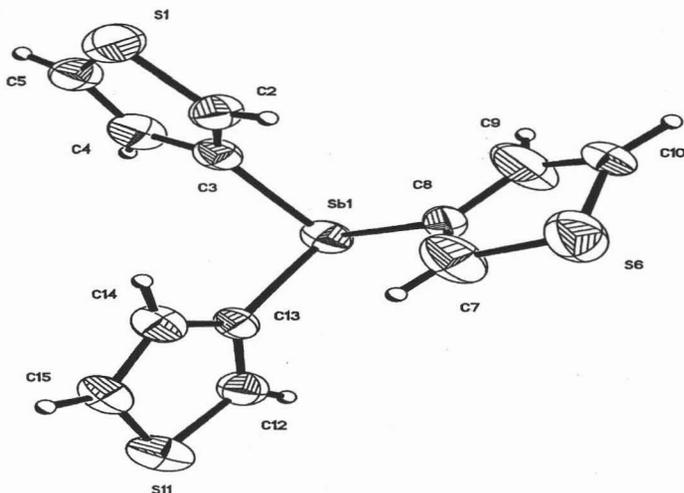


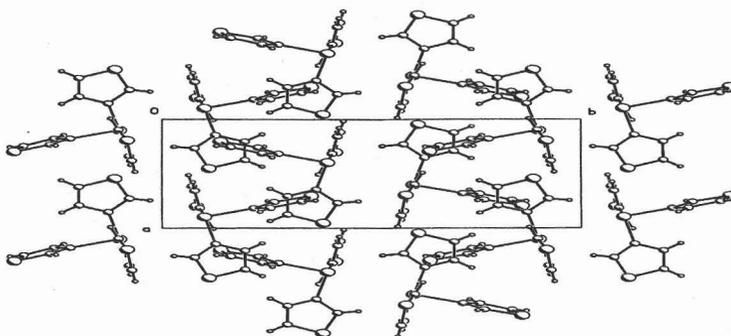
Tabla 6: Longitudes de enlace [Å] y ángulos [°] para tris-(3-tienil) estibina

Sb(1)-C(3)	2.125(5)	C(9)-C(10)-S(6)	104.4(12)
Sb(1)-C(8)	2.134(5)	C(10B)-S(6B)-C(9)	100.5(14)
Sb(1)-C(13)	2.135(4)	S(6B)-C810B)	1.53(4)
S(1)-C(5)	1.692(5)	S(6B)-C(9)	1.63(2)
S(1)-C(2)	1.699(5)	S(11)-C(15)	1.677(5)
S(6)-C(7)	1.63(2)	S(11)-C(12)	1.691(5)
S(6)-C(10)	1.75(3)	S(6B)-C(10B)-C(7B)	103(2)
C(3)-Sb(1)-C(8)	95.85(16)	C(7B)-C(8)-Sb(1)	121.5(14)
C(3)-Sb(1)-C(13)	96.85(16)	C(9)-C(8)-Sb(1)	123.9(5)
C(8)-Sb(1)-C(13)	95.86(16)	C(7)-C(8)-Sb(1)	129.1(9)
C(5)-S(1)-C(2)	92.8(2)	C(8)-C(9)-S(6B)	110.3(8)
C(3)-C(2)-S(1)	113.0(3)	C(15)-S(11)-C(12)	92.9(2)
C(2)-C(3)-Sb(1)	126.7(3)	C(13)-C(12)-S(11)	113.4(4)
C(4)-C(3)-Sb(1)	123.1(4)	C(12)-C(13)-Sb(1)	122.2(3)
C(4)-C(5)-S(1)	110.0(3)	C(14)-C(13)-Sb(1)	127.6(3)
C(7)-S(6)-C(10)	93.2(11)	C(14)-C(15)-S(11)	109.6(3)
C(8)-C(7)-S(6)	115.2(14)		

Tabla 7: Parámetros cristalográficos y refinamiento estructural para la tris-(3-tienil) estibina

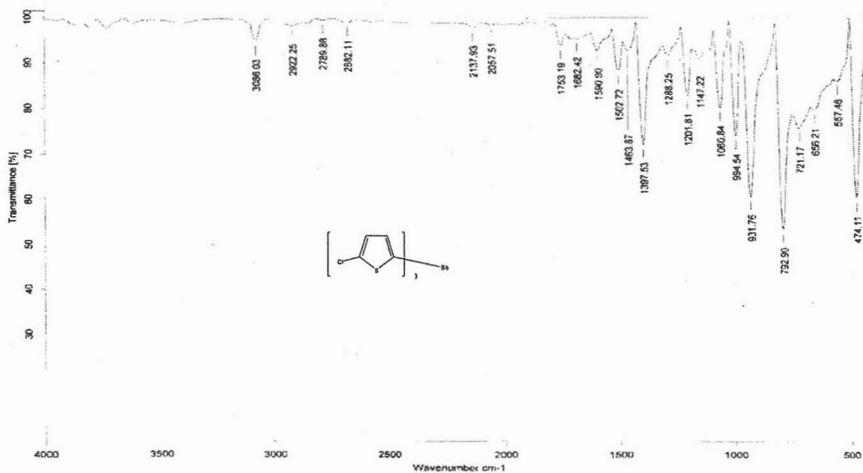
DATOS		DATOS	
Fórmula empírica	C ₁₂ H ₉ S ₃ Sb	Reflexiones colectadas	18457
Peso Molecular	371.12	Reflexiones independientes	4877 [R (int) = 0.0536]
Temperatura	293 (2) K	Complemento para $\theta = 32.47^\circ$	99.0%
Longitud de onda	0.71073	Mediciones trazadas por un difractómetro	Brucker Smart Apex CCD
Sistema cristalino	Monoclínico	Corrección de la Absorción	Índice analítico de superficie
Grupo espacial	P 2 ₁ /n	Transmisión máx y min.	0.8006 y 0.3814
Dimensiones de la celda unitaria	a= 8.749 (1) Å, $\alpha=90^\circ$ b= 16.923 (1) Å $\beta=110.267 (1)^\circ$ c= 9.723 (1) Å, $\gamma=90^\circ$	Método de refinamiento	Matrices enteras de mínimos cuadrados F ²
Volumen	1350.5 (2) Å ³	Dato	4877
Z	4	Restricción	0
Densidad teórica	1.825 Mg/m ³	Parámetros	173
Coefficiente de Absorción	2.476 mm ⁻¹	Ajuste sobre F ²	0.995
F (000)	720	Índice final R [I > 2 sigma (I)]	R 1 = 0.0578 wR2 = 0.1025
Tamaño del cristal	0.478 x 0.148 x 0.092 mm	Índices de R	R1 = 0.1236 wR2 = 0.1223
Color	sin color	Largo de diff. Del pico y abertura	0.940 y -0.464 e. ⁻³
Forma	paralelepípedo	Rango de índices	-13 <= h <= 13 -25 <= k <= 25 -14 <= l <= 14
Intervalo de θ	2.41 a 32.60°		

RX 16: CELDA UNITARIA

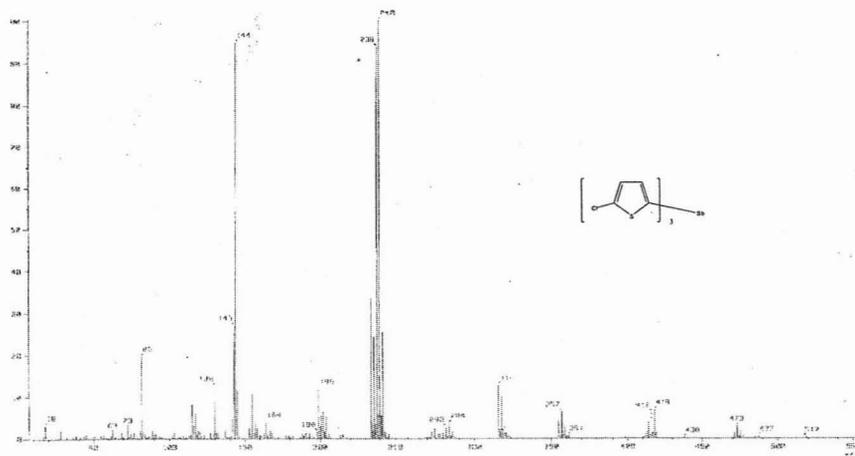


Espetros de tris-(5-cloro-2-tienil) estibina

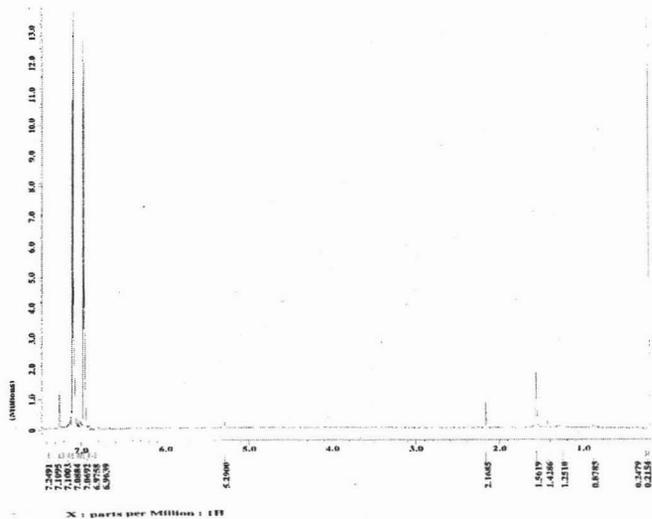
ESPECTRO 17: IR (PASTILLA-KBR)



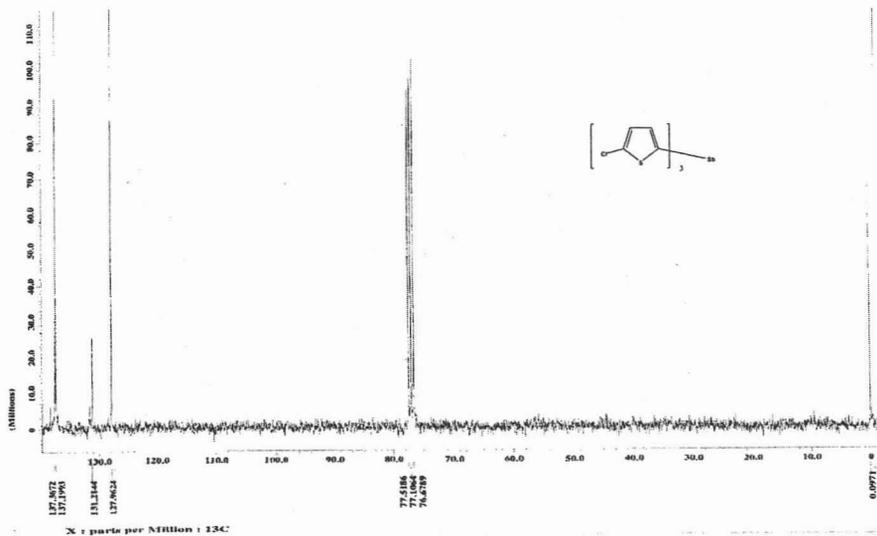
ESPECTRO 18: EM (IE+) (ION NORMAL [MF-LINEAL], 86.5°C)



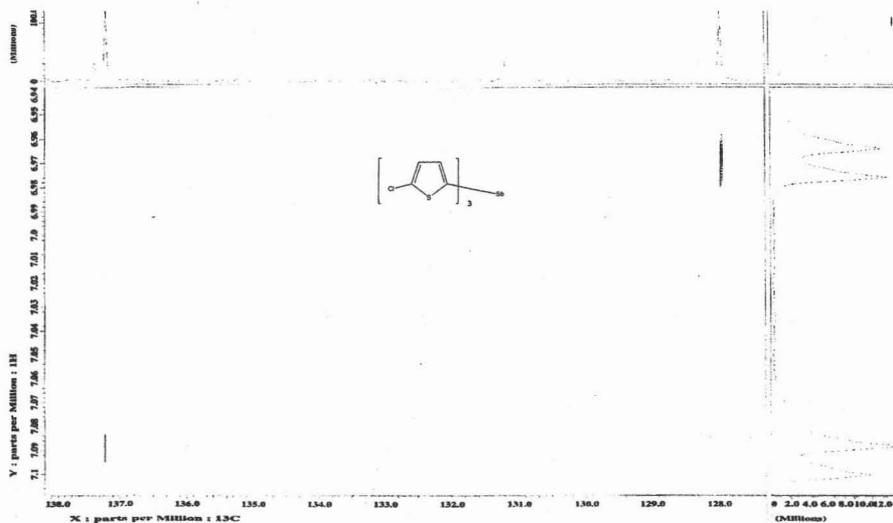
ESPECTRO 19: RMN ^1H (δppm): (CDCl_3 , 300 MHz, TMS)



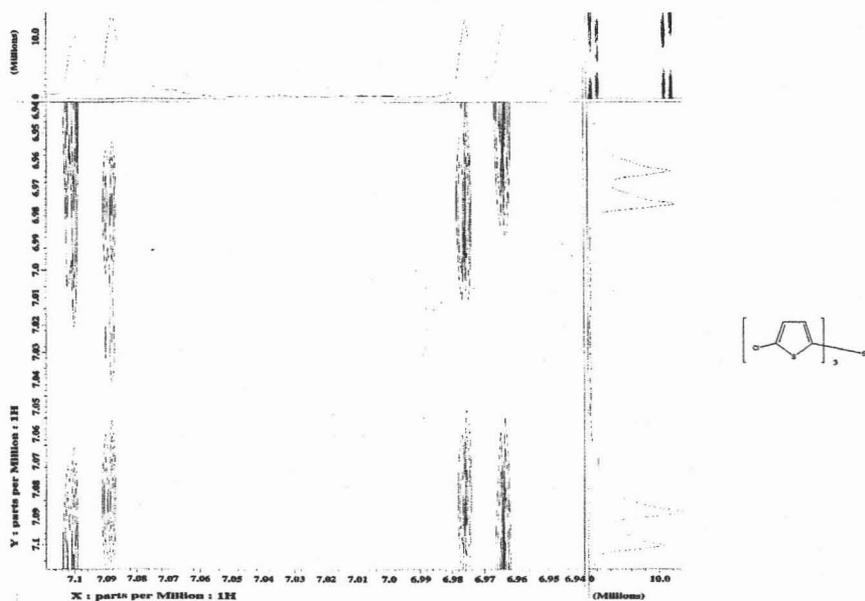
ESPECTRO 20: RMN ^{13}C (δppm): (CDCl_3 , 75 MHz, TMS)



ESPECTRO 21: RMN HETCOR (δ ppm): (CDCl_3 , TMS)



ESPECTRO 22: RMN COSY (δ ppm): (CDCl_3 , TMS)



DIFRACCIÓN DE RAYOS X

RX 23: ESTRUCTURA MOLECULAR

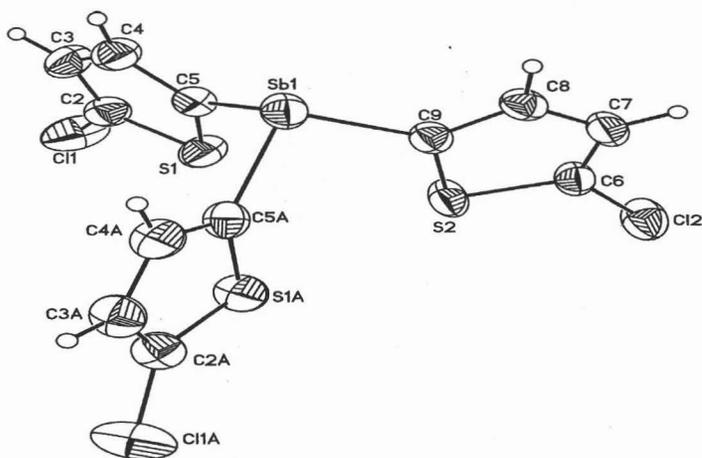


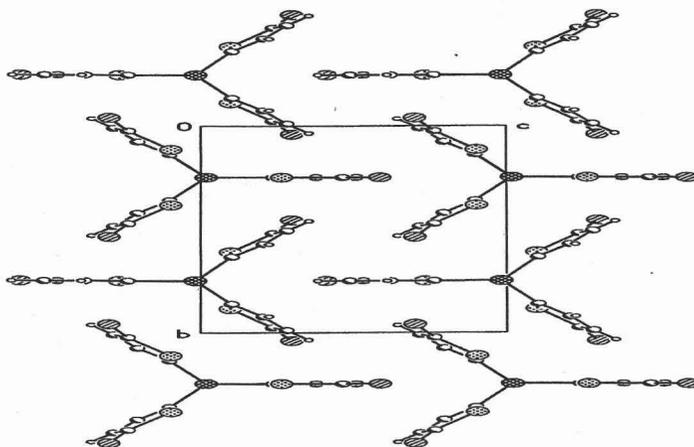
Tabla 8: Longitudes de enlace [Å] y ángulos [°] para tris-(5-cloro-2-tienil) estibina

Sb (1)-C(9)	2.119 (3)	C(3)-C(2)-Cl(1)	127.1 (2)
Sb (1)-C(5)	2.122 (3)	C(3)-C(2)-S(1)	112.0 (2)
Sb (1)-C(5)A	2.122 (3)	Cl(1)-C(2)-S(1)	120.84 (15)
Cl(1)-C(2)	1.712 (3)	C(4)-C(5)-S(1)	109.5 (2)
Cl(2)-C(6)	1.726 (4)	S(2)-C(9)	1.725 (3)
S(1)-C(2)	1.715 (3)	C(4)-C(5)-Sb(1)	122.80 (19)
S(2)-C(6)	1.716 (3)	S(1)-C(5)-Sb(1)	127.50 (13)
S(2)-C(6)	1.705 (3)	C(7)-C(6)-S(2)	112.4 (3)
C(9)-Sb(1)-C(5)	99.24 (9)	C(7)-C(6)-Cl(2)	127.3 (3)
C(9)-Sb(1)-C(5)A	99.24 (9)	S(2)-C(6)-Cl(2)	120.2 (2)
C(5)-Sb(1)-C(5)A	95.60 (13)	C(8)-C(9)-Sb(1)	122.9 (3)
C(2)-S(1)-C(5)	92.22 (12)	S(2)-C(9)-Sb(1)	127.64 (17)
C(6)-S(2)-C(9)	91.52 (17)		

Tabla 9: Parámetros cristalográficos y refinamiento estructural para la tris-(5-cloro-2-tienil) estibina

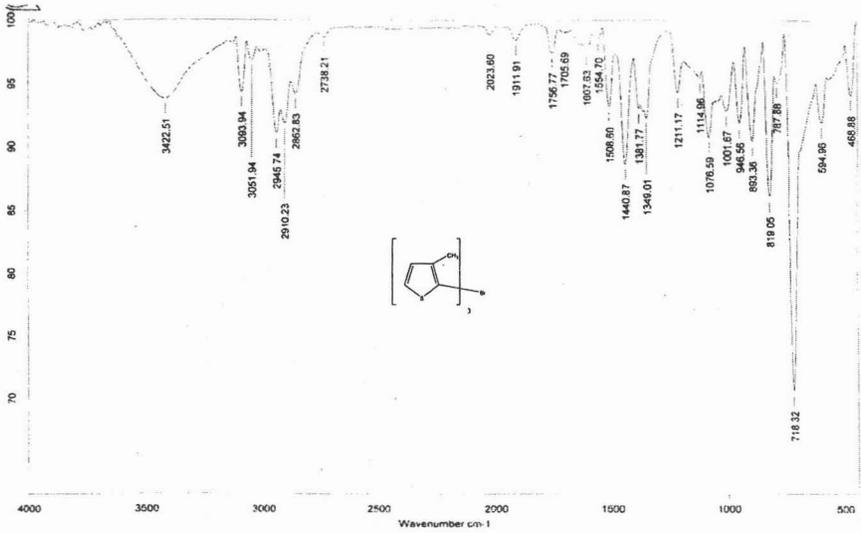
DATOS		DATOS	
Fórmula empírica	$C_6H_3Cl_{1.5}S_{1.5}Sb_{0.5}$	Reflexiones colectadas	11413
Peso Molecular	273.22	Reflexiones independientes	3119 [R (int) = 0.0450]
Temperatura	291 (2) K	Mediciones trazadas por un difractómetro	Brucker Smart Apex CCD
Longitud de onda	0.71073 Å	Corrección de la Absorción	Índice analítico de superficie
Sistema cristalino	Monoclínico	Transmisión máx y min.	0.8395 y 0.5205
Grupo espacial	$P 2_1/m$	Método de refinamiento	Matrices enteras de mínimos cuadrados F^2
Dimensiones de la celda unitaria	$a = 6.8851 (5) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$ $b = 13.900 (1) \text{ \AA}$ $\beta = 97.224(2)^\circ$ $c = 8.4535 (6) \text{ \AA}$ $\gamma = 90^\circ$	Ajuste sobre F^2	0.848
Volumen	$1241.7 (1) \text{ \AA}^3$	Índice final R [I > 2 sigma (I)]	R 1 = 0.0361 wR2 = 0.0628
Z	4	Índices de R	R1 = 0.0675 wR2 = 0.0676
Densidad teórica	1.963 g/m^3	Largo de diff. Del pico y abertura	$1.262 \text{ y } -0.408 \text{ e. \AA}^{-3}$
Coefficiente de Absorción	2.590 mm^{-1}	F (000)	456
Tamaño del cristal	$0.29 \times 0.09 \times 0.07 \text{ mm}$		
Color	sin color		
Forma	prisma		

RX 24: CELDA UNITARIA

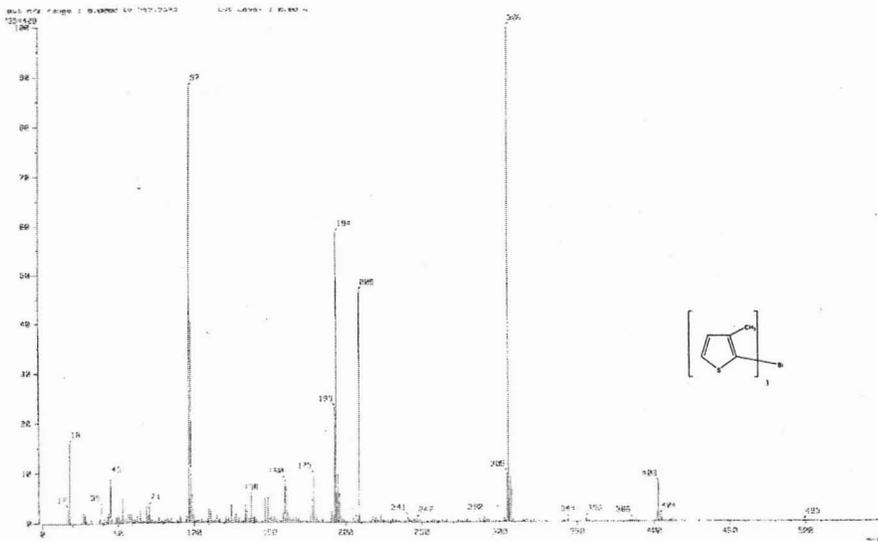


Espectros de tris (3-metil-2-tienil) bismutina

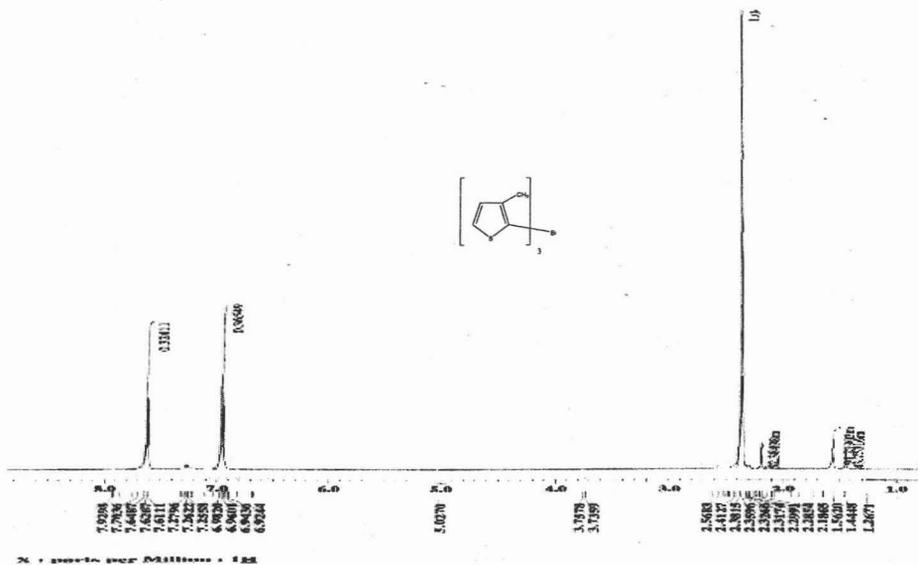
ESPECTRO 25: IR (PASTILLA-KBR)



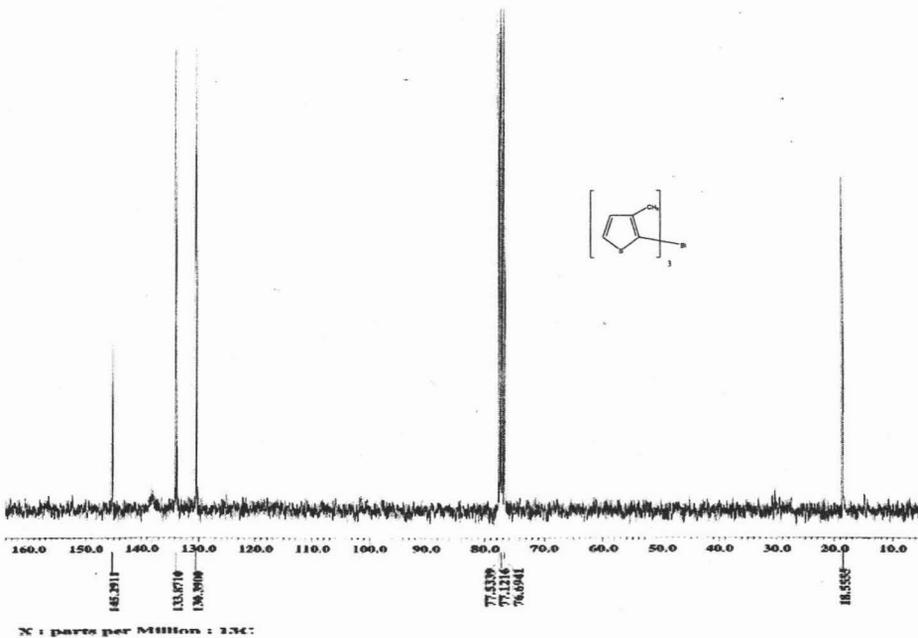
ESPECTRO 26: EM (IE+) (ION NORMAL [MF-LINEAL], 86.5°C)



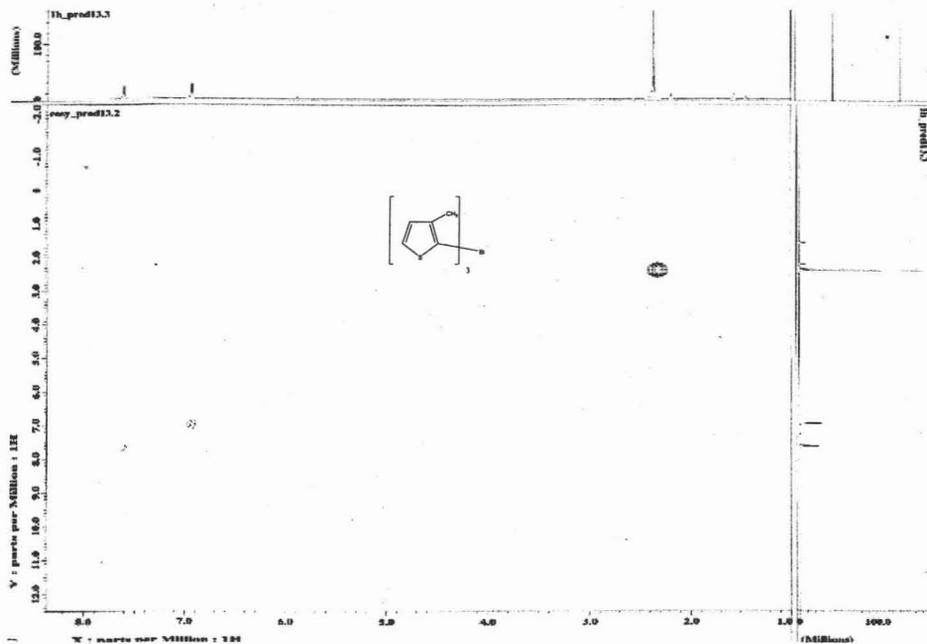
ESPECTRO 27: RMN ^1H (δppm): (CDCl_3 , 300 MHz, TMS)



ESPECTRO 28: RMN ^{13}C (δppm): (CDCl_3 , 75 MHz, TMS)



ESPECTRO 29: RMN COSY (δ ppm): (CDCl_3 , TMS)



DIFRACCIÓN DE RAYOS X

RX 30: ESTRUCTURA MOLECULAR

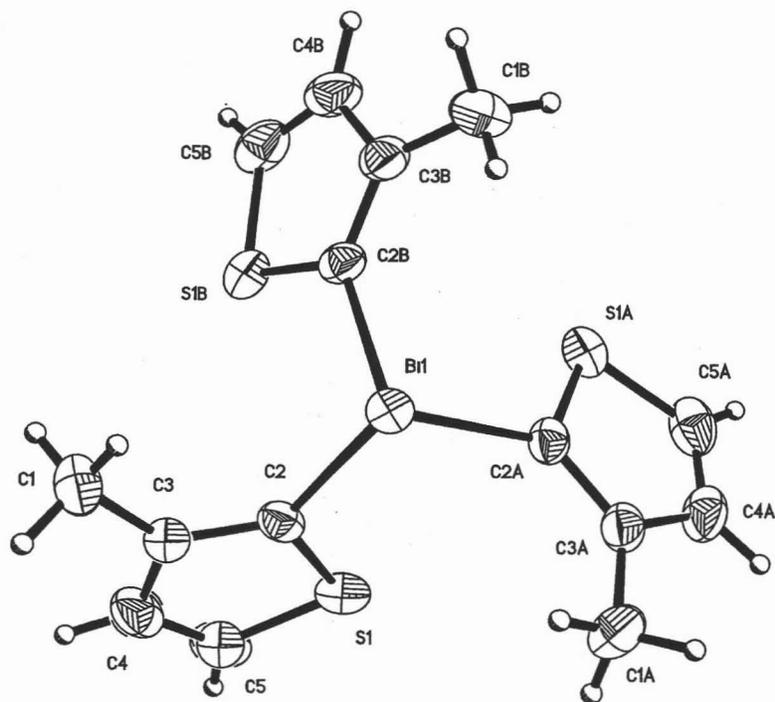


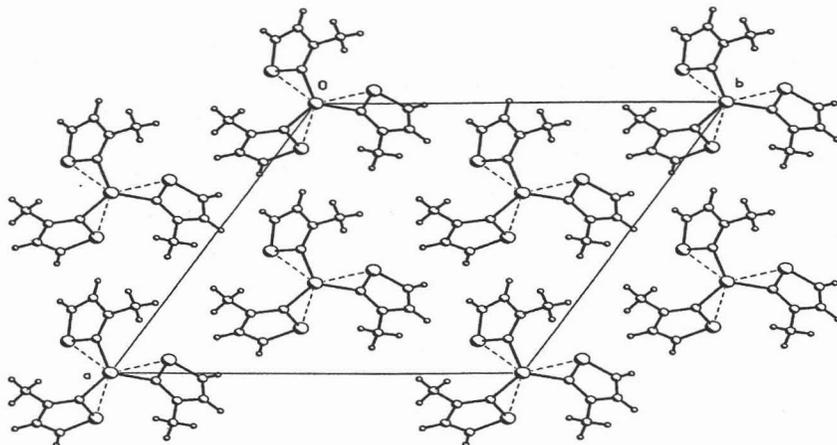
Tabla 10: Longitudes de enlace [Å] y ángulos [°] para tris-(3-metil-2-tienil) bismutina

Bi(1)-C(2)	2.241 (5)	C(2)B-Bi(1)-C(2)	92.47 (16)
Bi(1)-C(2)A	2.241 (5)	C(5)-S(1)-C(2)	92.0 (3)
Bi(1)-C(2)B	2.241 (5)	C(3)-C(2)-S(1)C	111.1 (4)
S(1)-C(5)	1.709 (6)	C(3)-C(2)-Bi(1)	127.3 (4)
S(1)-C(2)	1.718 (5)	S(1)-C(2)-Bi(1)	121.6 (2)
C(2)A-Bi(1)-C(2)B	92.47 (16)	C(4)-C(5)-S(1)	110.9 (5)
C(2)A-Bi(1)-C(2)	92.47 (16)		

Tabla 11: Parámetros cristalográficos y refinamiento estructural para la tris-(3-metil-2-tienil) bismutina

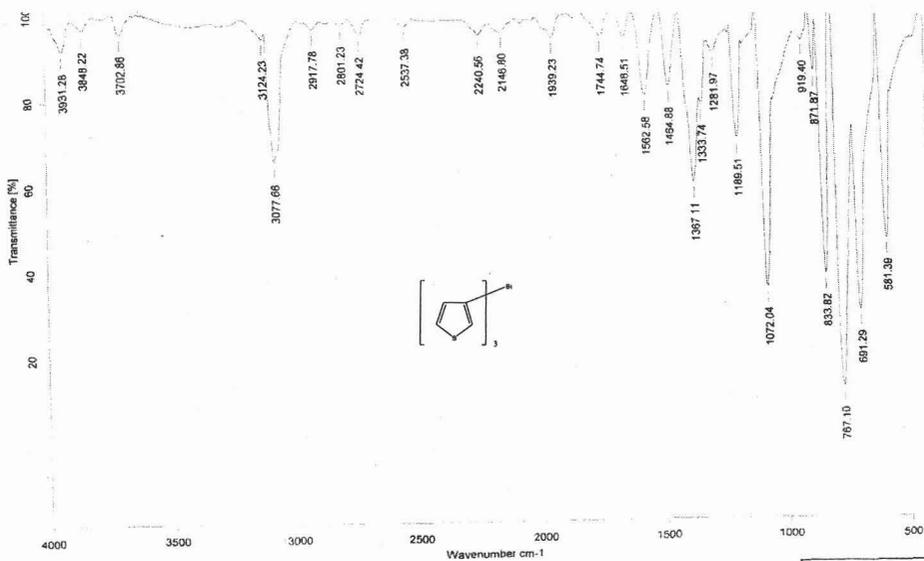
DATOS		DATOS	
Fórmula empírica	C ₁₅ H ₁₅ S ₃ Bi	Rango de índices	-24 <= h <= 24 -24 <= k <= 24 -8 <= l <= 8
Peso Molecular	500.43	Reflexiones colectadas	5768
Temperatura	293 (2) K	Reflexiones independientes	2003 [R (int) = 0.0474]
Longitud de onda	0.71073 Å	Complemento para $\theta = 32.47^\circ$	99.5%
Sistema cristalino	Rombohedral	Mediciones trazadas por un difractómetro	Brucker Smart Apex CCD
Grupo espacial	R 3	Corrección de la Absorción	Índice analítico de superficie
Dimensiones de la celda unitaria	a = 16.426 (1) Å $\alpha = 90^\circ$ b = 16.426 (1) Å $\beta = 90^\circ$ c = 5.332 (1) Å $\gamma = 120^\circ$	Transmisión Max y min.	0.4653 y 0.1209
Volumen	1245.9 (3) Å ³	Método de refinamiento	Matrices enteras de mínimos cuadrados F ²
Z	3	Dato	2003
Densidad teórica	2.001 Mg/m ³	Restricción	1
Coefficiente de Absorción	10.975 mm ⁻¹	Parámetros	59
Tamaño del cristal	0.392 x 0.098 x 0.086 mm	Intervalo de (θ)	2.48 a 32.57°
Color	sin color	F (000)	708
Forma	prisma	Índices de R	R1 = 0.0415 wR2 = 0.0498
Ajuste sobre F ²	0.977	Parámetro absoluto de la estructura	-0.04 (8)
Índice final R [$I > 2$ sigma (I)]	R 1 = 0.0380 wR2 = 0.0492	Largo de diff. Del pico y abertura	1.200 (0.92 Å para Bi 1) y -1.066 e.Å ⁻³

RX 31: CELDA UNITARIA

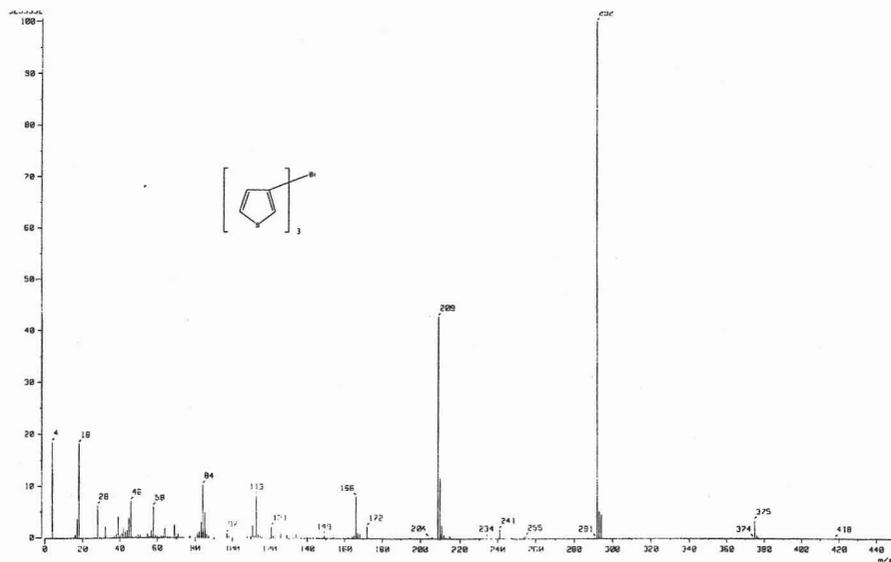


Espectros de tris-(3-tienil) bismutina

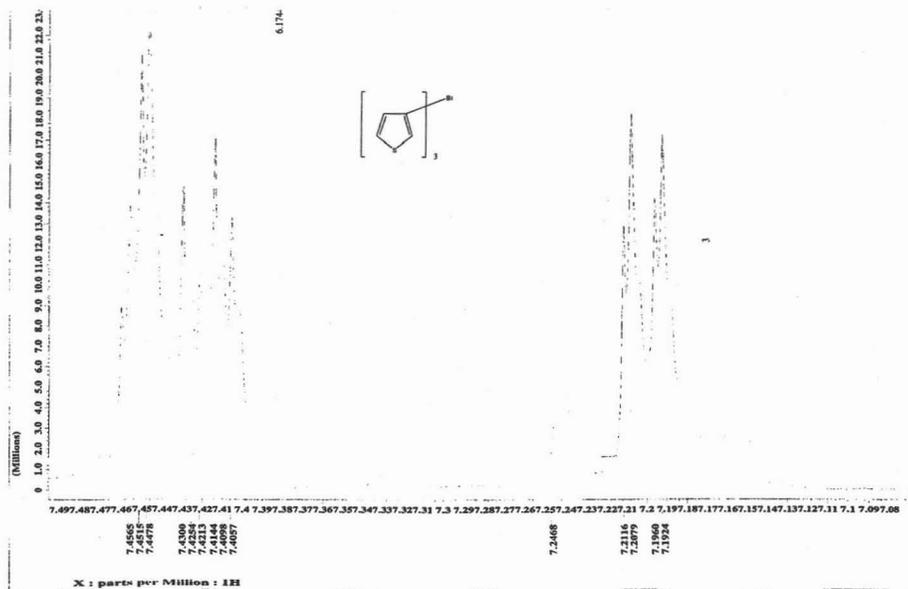
ESPECTRO 32: IR (PASTILLA-KBR)



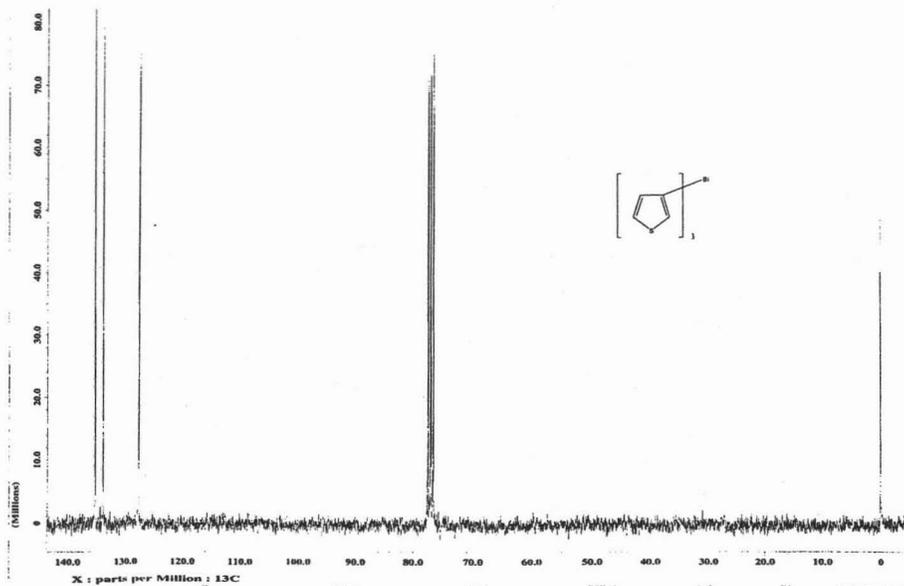
ESPECTRO 33: EM (IE+) (ION NORMAL [MF-LINEAL], 86.5°C



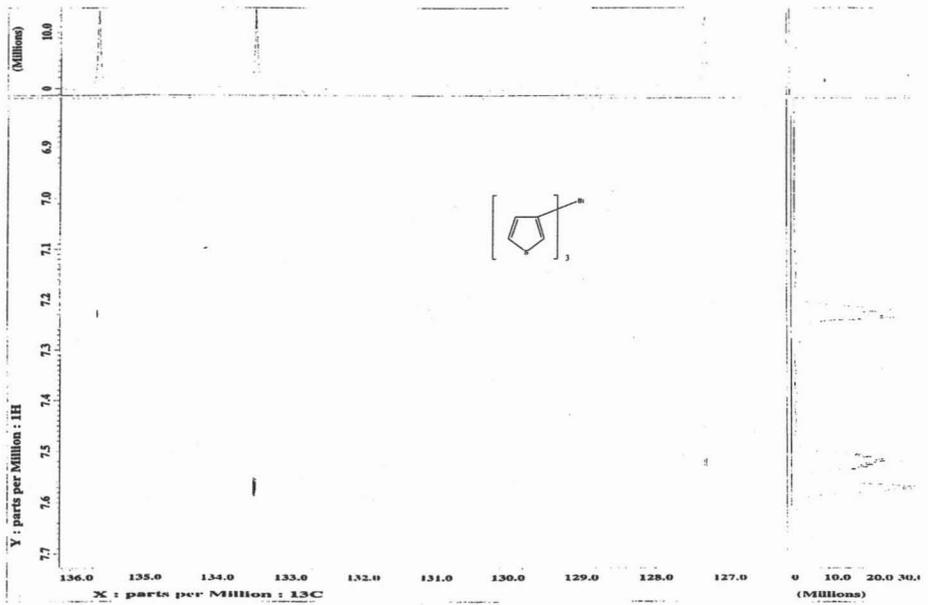
ESPECTRO 34: RMN ^1H (δppm): (CDCl_3 , 300 MHz, TMS)



ESPECTRO 35: RMN ^{13}C (δppm): (CDCl_3 , 75 MHz, TMS)



ESPECTRO 36: RMN HETCOR (δ ppm): (CDCl_3 , TMS)



DIFRACCIÓN DE RAYOS X

RX 37: ESTRUCTURA MOLECULAR

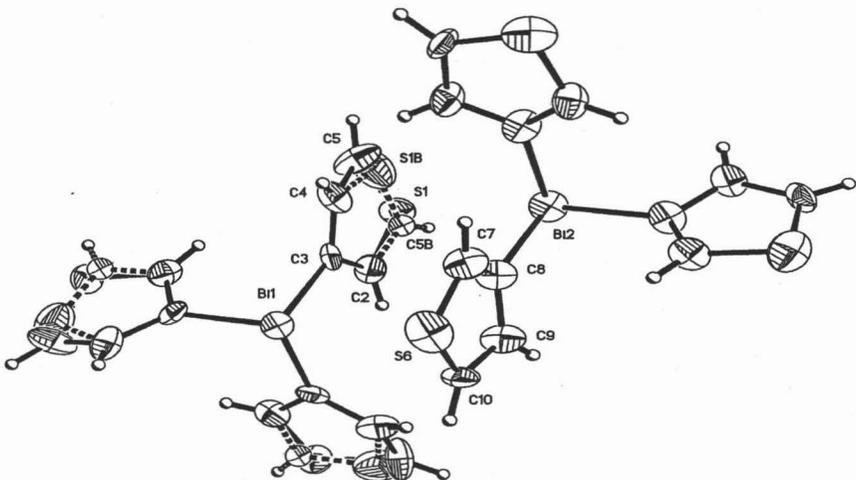


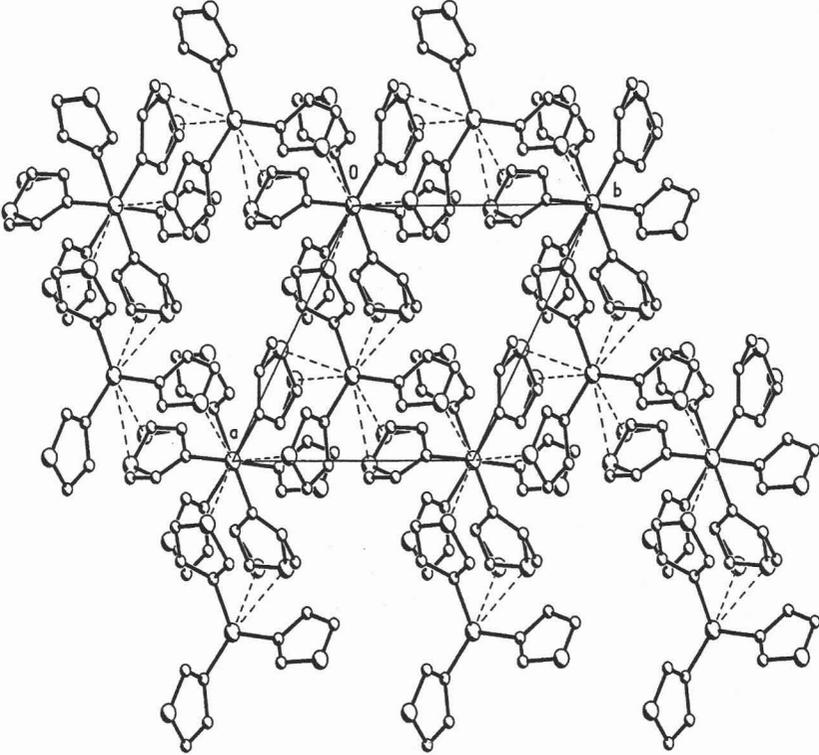
Tabla.12: Longitudes de enlace [Å] y ángulos [°] para tris-(3-tienil) bismutina

Bi(1)-C(3)	2.26 (2)	C(4)-C(5)-S(1)	101 (4)
Bi(1)-C(3)A	2.26 (2)	S(1)...Bi(2)	4.213 (16)
Bi(1)-C(3)B	2.26 (2)	S(1B)-C(5B)	1.67 (8)
Bi(1)...S(6)	4.219 (10)	Bi(2)-C(8)	2.25 (2)
C(2)-S(1)	1.73 (3)	S(6)-C(10)	1.70 (3)
C(4)-S(1B)	1.67 (5)	S(6)-C(7)	1.69 (3)
S(1)-C(5)	1.90 (5)	C(5B)-S(1B)-C(4)	103 (3)
C(3)A-Bi(1)-C(3)	90.4 (8)	C(2)-C(5B)-S(1B)	99 (4)
C(3)A-Bi(1)-C(3)B	90.4 (8)	C(8)-Bi(2)-C(8)	91.8 (6)
C(3)-Bi(1)-C(3)B	90.4 (8)	C(10)-S(6)-C(7)	92.6 (13)
C(3)-C(2)-S(1)	113 (2)	C(8)-C(7)-S(6)	113 (2)
C(2)-C(3)-Bi(1)	124.5 (19)	C(7)-C(8)-Bi(2)	125.7 (17)
C(4)-C(3)-Bi(1)	121.1 (19)	C(9)-C(8)-Bi(2)	124.8 (15)
C(3)-C(4)-S(1B)	103 (2)	C(9)-C(10)-S(6)	108.9 (15)
C(2)-S(1)-C(5)	93 (2)		

Tabla 13: Parámetros cristalográficos y refinamiento estructural para la tris-(3-metil-2-tienil) bismutina

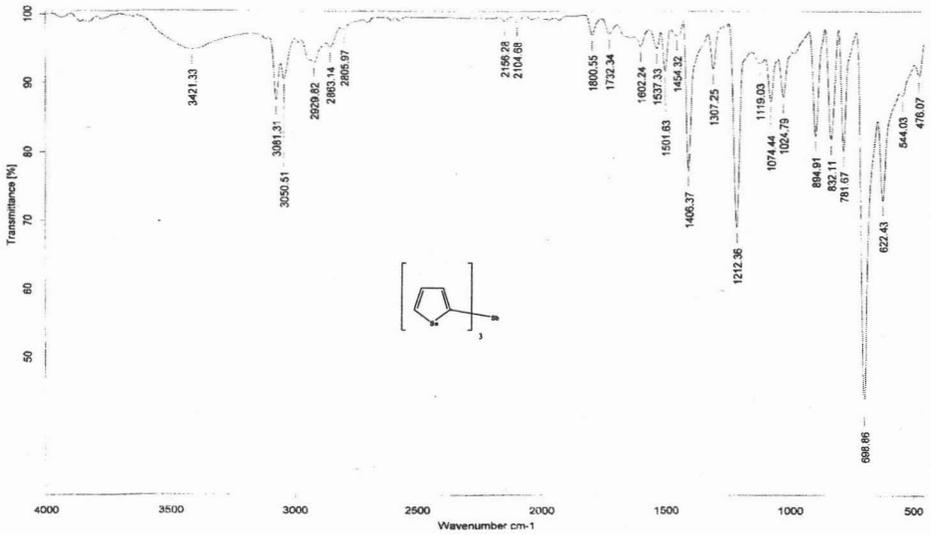
DATOS		DATOS	
Fórmula empírica	C ₁₅ H ₁₅ S ₃ Bi	Intervalo de (θ)	2.48 a 32.57°
Peso Molecular	500.43	Rango de índices	-24 < =h < = 24 -24 < = k < = 24 -8 < = l < = 8
Temperatura	293 (2) K	Reflexiones colectadas	5768
Longitud de onda	0.71073	Reflexiones independientes	2003 [R (int) = 0.0474]
Sistema cristalino	Rombohedral	Complemento para θ = 32.47°	99.5%
Grupo espacial	R 3	Mediciones trazadas por un difractómetro	Brucker Smart Apex CCD
Dimensiones de la celda unitaria	a = 16.426 (1) Å, α = 90° b = 16.426 (1) Å, β = 90° c = 5.332 (1) Å, γ = 120°	Corrección de la Absorción	Índice analítico de superficie
Volumen Z	1245.9 (3) Å ³ 3	Transmisión Max y min.	0.4653 y 0.1209
Densidad teórica	2.001 Mg/m ³	Método de refinamiento	Matrices enteras de mínimos cuadrados F ²
Coefficiente de Absorción	10.975 mm ⁻¹	Tamaño del cristal	0.392 x 0.098 x 0.086 mm
F (000)	708	Color	sin color
Ajuste sobre F ²	0.977	Forma	prisma
Índice final R [I > 2 sigma (I)]	R 1 = 0.0380 wR2 = 0.0492	Dato	2003
		Restricción	1
		Parámetros	59
		Parámetro absoluto de la estructura	-0.04 (8)
		Largo de diff. Del pico y abertura	1.200 (0.92 para Bi 1) y -1.066 e. ⁻³
		Índices de R	R1 = 0.0415 wR2 = 0.0498

RX 38: CELDA UNITARIA

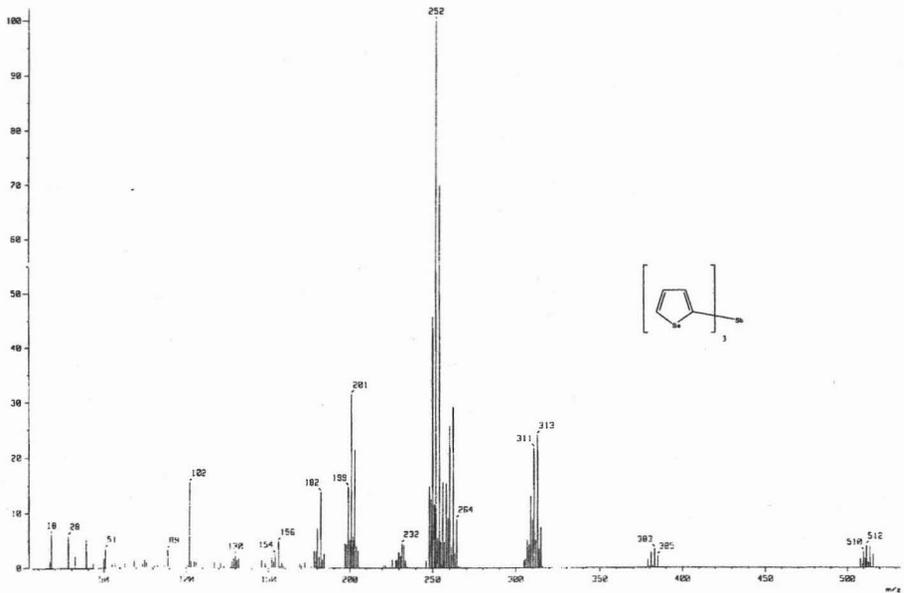


Espectros de tris-(2-selenil)estibina

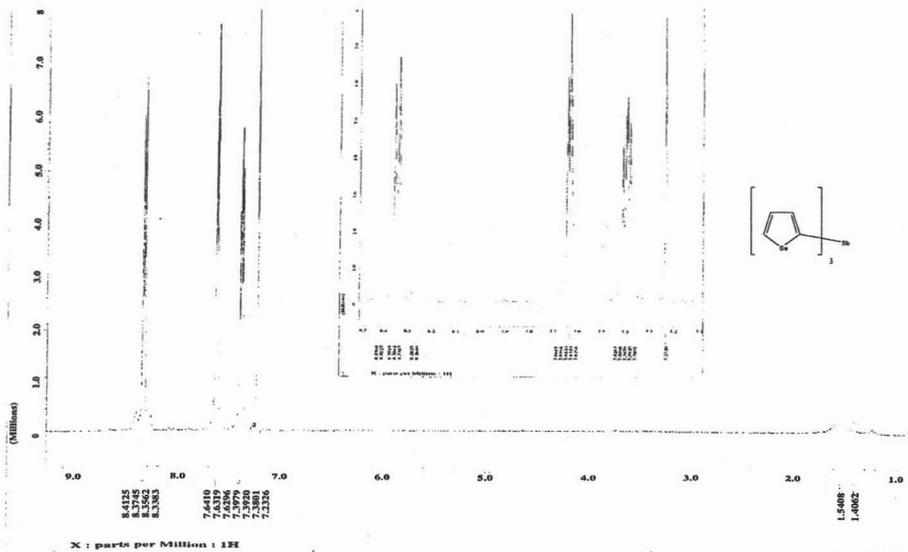
ESPECTRO 39: IR (PASTILLA-KBR)



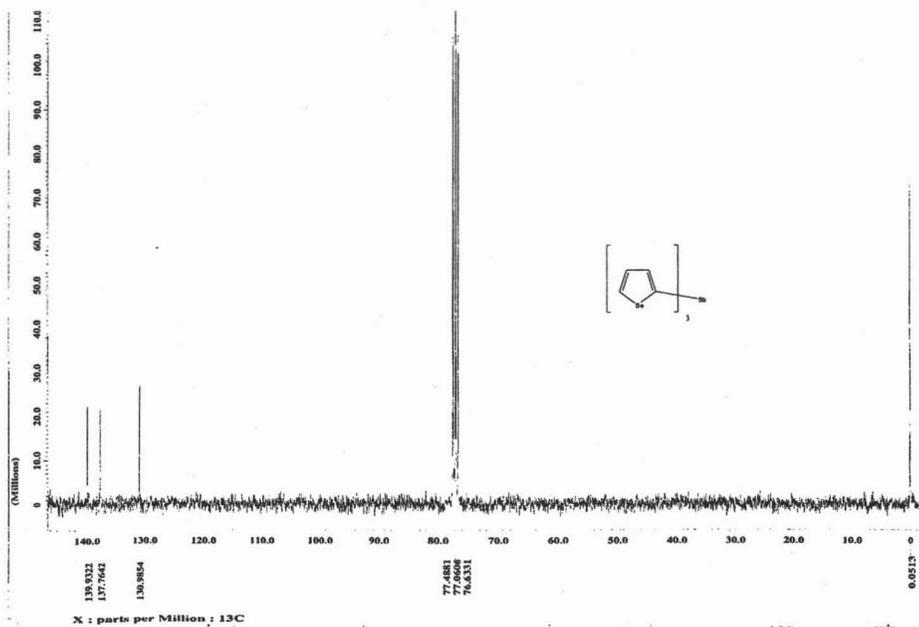
ESPECTRO 40: EM (IE+) (ION NORMAL [MF-LINEAL], 86.5°C



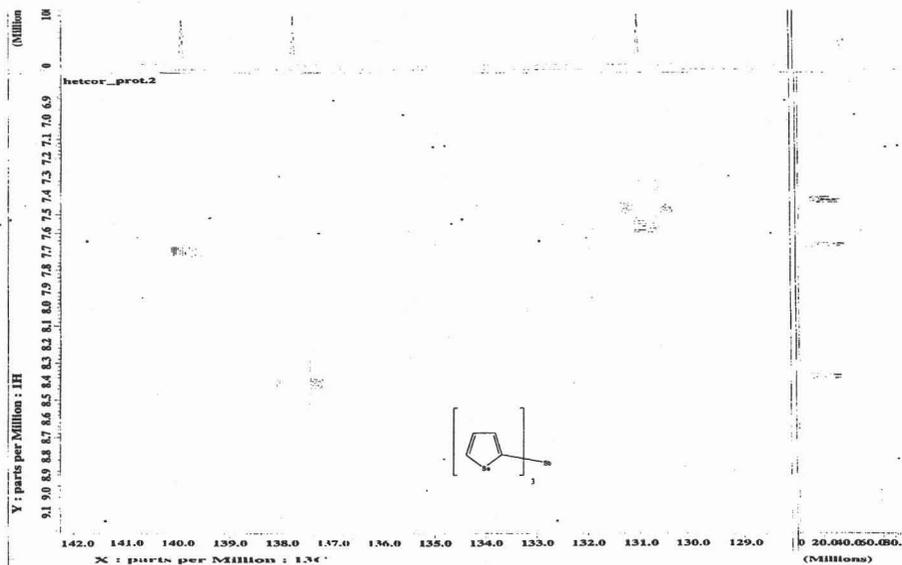
ESPECTRO 41: RMN ^1H (δppm): (CDCl_3 , 300 MHz, TMS)



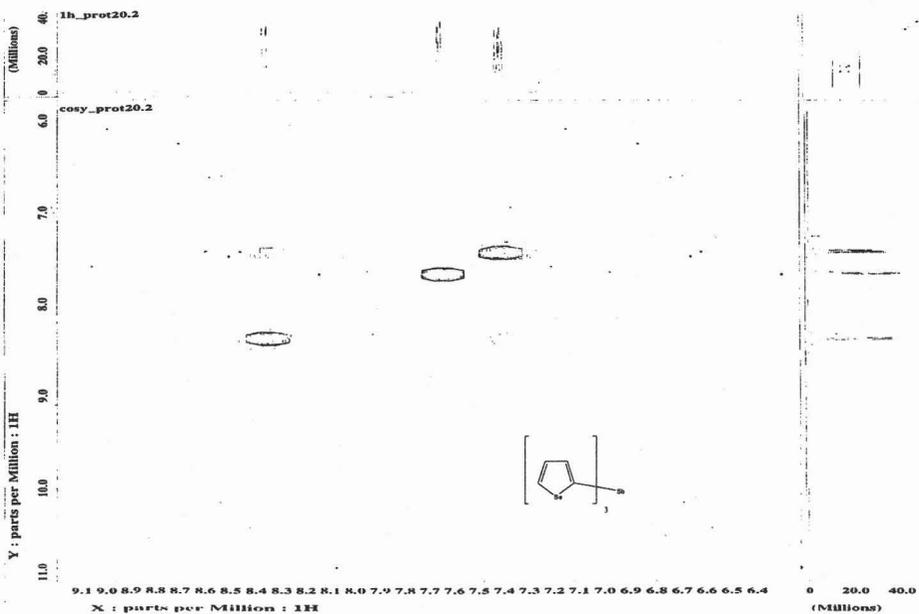
ESPECTRO 42: RMN ^{13}C (δppm): (CDCl_3 , 75 MHz, TMS)



ESPECTRO 43: RMN HETCOR (δ ppm): (CDCl_3 , TMS)



ESPECTRO 44: RMN COSY (δ ppm): (CDCl_3 , TMS)



DIFRACCIÓN DE RAYOS X

RX 45: ESTRUCTURA MOLECULAR

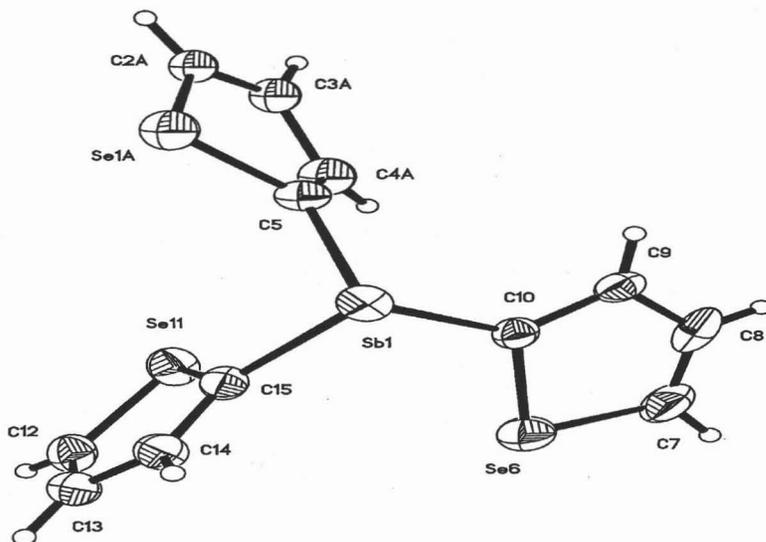


Tabla 14: Longitudes de enlace [Å] y ángulos [°] para tris-(2-selenil) estibina

Se(1A)-C(5)	1.797 (12)	C(5)-Sb(1)-C(10)	97.3 (4)
Se(1A)-C(2A)	1.86 (4)	C(5)-Sb(1)-C(15)	96.1 (4)
Se(1B)-C(5)	1.832 (10)	C(10)-Sb(1)-C(15)	94.0(4)
Se(1B)-C(2B)	1.92 (3)	Se(6)-C(7)	1.828 (16)
C(5)-Sb(1)	2.117 (11)	Se(6)-C(10)	1.855 (11)
Sb(1)-C(10)	2.122 (11)	Se(11)-C(12)	1.836 (14)
Sb(1)-C(15)	2.143 (12)	Se(11)-C(15)	1.872 (11)
C(5)-Se(1A)-C(2A)	89.3 (14)	C(7)-Se(6)-C(10)	89.6 (6)
C(3A)-C(2A)-Se(1A)	115 (3)	C(8)-C(7)-Se(6)	112.1 (11)
C(5)-Se(1B)-C(2B)	87.3 (10)	C(9)-C(10)-Se(6)	109.0 (8)
C(3B)-C(2B)-Se(1B)	111 (2)	C(9)-C(10)-Sb(1)	129.7 (8)
C(4A)-C(5)-Se(1A)	109.9 (17)	Se(6)-C(10)-Sb(1)	120.9 (5)
C(4B)-C(5)-Se(1B)	110 (2)	C(12)-Se(11)-C(15)	87.0 (6)
C(4B)-C(5)-Sb(1)	123 (2)	C(13)-C(12)-Se(11)	112.9 (10)
C(4A)-C(5)-Sb(1)	128.5 (17)	C(14)-C(15)-Se(11)	110.9 (9)
Se(1A)-C(5)-Sb(1)	119.5 (5)	C(14)-C(15)-Sb(1)	124.5(8)
Se(1B)-C(5)-Sb(1)	126.8 (6)	Se(11)-C(15)-Sb(1)	124.5 (6)

Tabla 15: Parámetros cristalográficos y refinamiento estructural para la tris-(2-selenil) estibina

DATOS		DATOS	
Fórmula empírica	C ₁₂ H ₆ Se ₃ Sb	Intervalo de (θ)	1.52 a 24.99°
Peso Molecular	511.82	Rango de índices	-7 < =h < = 7 -9 < = k < = 9 -16 < = l < = 16
Temperatura	293 (2) K	Reflexiones colectadas	8454
Longitud de onda	0.71073	Reflexiones independientes	2485 [R (int) = 0.0559]
Sistema cristalino	Triclinico	Complemento para θ =	100.0%
Grupo espacial	P-1	32.47°	
Dimensiones de la celda unitaria	a= 6.3316 (4) Å	Mediciones trazadas por un difractómetro	Brucker Smart Apex CCD
	b= 8.411 (1) Å	Corrección de la Absorción	Índice analítico de superficie
	c= 13.848 (1) Å		
	α=77.198 (1)° β=80.286 (1)° γ=83.165 (1)°		
Volumen	706.3 (1) Å ³	Transmisión máx y mín.	0.6583 y 0.1259
Z	2	Método de refinamiento	Matrices enteras de mínimos cuadrados F ²
Densidad teórica	2.407 Mg/m ³	Dato	2485
Coeficiente de Absorción F (000)	9.655 mm ⁻¹	Restricción	20
	468	Parámetros	141
Tamaño del cristal	0.252 x 0.236 x 0.044 mm	Ajuste sobre F ²	1.040
Color	sin color	Índice final R [I > 2 sigma (I)]	R 1= 0.0709 wR2= 0.2220
Forma	láminas	Índices de R	R 1= 0.0834 wR2= 0.2385
Largo de diff. Del pico y abertura	5.269 (0,30) para C4B) y -1.967 e. -3		

RX 46: CELDA UNITARIA

