



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Dir. I. **FACULTAD DE QUÍMICA**

José Valdez Martínez

Maria Rafael García

Araceli Patricia Pérez

Thalía Antonia Rodríguez

**“ESTUDIO QSAR DE COMPUESTOS DE
COORDINACIÓN DE COBRE DE TIPO
[Cu(N-N)(glicinato)]NO₃”**

Departamento de Química Inorgánica y Metalurgia

Laboratorio de Cultivos de Tejidos

Unidad de Experimentación Animal

Facultad de

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Q U Í M I C O

P R E S E N T A:

JUAN CARLOS GARCÍA RAMOS

Q.F.B. María Elena Bravo Gómez

Supervisora Académica

MEXICO, D.F.

MARZO 2007

Dr. Lora Ruiz Azuara

Asesor del Tesis





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

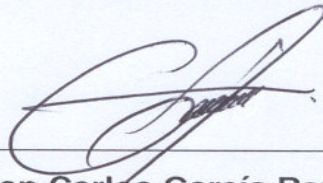
Jurado asignado:

Presidente	Dra. Lena Ruiz Azuara
Vocal	Jesús Valdés Martínez
Secretario	Maria Isabel Gracia Mora
Primer Suplente	Araceli Patricia Peña Álvarez
Segundo Suplente	Thalina Alejandra Rodríguez Fernández.

Lugar donde se desarrolló el tema.

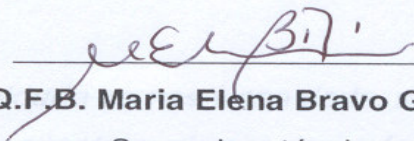
Laboratorio 210.
Departamento de Química Inorgánica y Nuclear.
y
Laboratorio de cultivo de tejidos.
Unidad de experimentación animal.

Facultad de Química , UNAM.



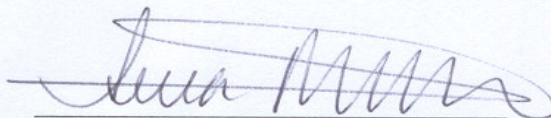
Juan Carlos García Ramos

Sustentante



Q.F.B. Maria Elena Bravo Gómez

Supervisor técnico



Dra. Lena Ruiz Azuara.

Asesora del tema

DEDICATORIAS.

A mis padres Jesús y Delia por ser un ejemplo de solidez, entrega, paciencia, constancia y amor.

A mis hermanos Nancy y José Luis que en todo momento me han demostrado su cariño.

A todas aquellas personas con las que he compartido los momentos más importantes de mi vida.

“La sabiduría no nos viene dada, sino que debemos descubrirla por nosotros mismos después de un viaje que nadie puede ahorrarnos o hacer por nosotros.”

Marcel Proust.

AGRADECIMIENTOS.

Al proyecto CONACYT-Salud 7677 por el apoyo económico para esta investigación.

A la Dra. Lena Ruiz por permitirme ser participe de este grandioso proyecto, pero sobre todo, por ser parte importante en mi formación como persona y como profesional.

A la M. en C. Isabel Gracia por su apoyo incondicional y por hacerme sentir como en casa.

A la Q.F.B. María Elena Bravo por todas las cosas que me enseñó y las muchas que aprendimos en el camino, gracias por tu amistad.

Al Dr. Luis Antonio Ortiz Frade por esas larguísimas y apasionadas discusiones acerca de cualquier tema que nos llevaron a comenzar una amistad que espero dure muchísimo tiempo.

A todos los seres del laboratorio y agregados culturales que hicieron mi estancia en ese lugar una extraordinaria experiencia.

A “los suyos en la sopa.”

A la Facultad de Química y a la Universidad Nacional Autónoma de México por alojarme durante estos años de los cuales me llevó un grato recuerdo.

Índice.

1. Resumen	1
2. Introducción	2
2.1 Neoplasias malignas.....	3
2.2 Estudios etiológicos.....	5
2.3 Tratamientos.....	8
2.3.1 Cirugía.....	9
2.3.2 Radioterapia.....	9
2.3.3 Terapia biológica.....	10
2.3.4 Terapia génica.....	11
2.3.5 Terapia fotodinámica.....	12
2.3.6 Hipertermia local.....	12
2.3.7 Terapia de captura de neutrones por boro (BNCT).....	13
2.3.8 Quimioterapia.....	14
2.3.8.1 Compuestos de platino.....	14
2.3.8.2 Compuestos de rutenio y rodio.....	17
2.3.8.3 Compuestos de renio.....	21
2.3.8.4 Compuestos de oro	21
2.3.8.5 Metallocenos y budotitanio.....	23
2.3.8.6 Compuestos con metales representativos.....	24
2.3.8.7 Compuestos de cobre.....	26
3. Antecedentes	30
3.1 Casiopeínas.....	30
3.2 Correlaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR).....	34
4. Hipótesis	38
5. Objetivos	39

6. Parte experimental	40
6.1. Síntesis.....	40
6.2 Técnicas empleadas en la caracterización.....	41
6.2.1 Difracción de rayos X.....	42
6.3 Estudios de voltamperometría cíclica.....	42
6.4 Determinación de concentración inhibitoria media (CI ₅₀)	43
6.5 Construcción de ecuaciones de correlacion cuantitativa estructura-actividad (QSAR).....	45
7. Resultados y discusión	46
7.1 Caracterización.....	46
7.1.1 Espectroscopia infrarroja.....	47
7.1.2 Análisis elemental.....	48
7.1.3 Momento magnético efectivo.....	49
7.1.4 Conductividad.....	50
7.1.5 Espectroscopia UV-vis.....	51
7.1.6 Difracción de rayos X.....	52
7.2 Estudio electroquímico.....	62
7.3 Ensayos biológicos.....	77
7.3.1 Inhibición de la proliferación celular.....	77
7.4 Obtención de ecuaciones de correlación cuantitativa estructura- actividad (QSAR).....	78
5. Conclusiones	88
7. Referencias	90
Índice de tablas	101
Índice de figuras	103
Anexo I. Espectros IR	106
Espectros IR del compuesto [Cu(4,7-difenil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ CasIgli	106
Espectros IR del compuesto [Cu(4,7-dimetil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ CasIIgli	107

Espectros IR del compuesto	
[Cu(5,6-dimetil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ CasVIgIi	108
Espectros IR del compuesto	
[Cu(3,4,7,8-tetrametil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃	
CasVIIgIi	109
Espectros IR del compuesto	
[Cu(1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ CasVIIgIi	110
Espectros IR del compuesto	
[Cu(4-metil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ Cas4mgIi	111
Espectros IR del compuesto	
[Cu(5-metil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ CasVmglIi	112
Espectros IR del compuesto	
[Cu(5-cloro-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ CasVCIgIi	113
Espectros IR del compuesto	
[Cu(5-nitro-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ CasVNO₂gIi	114
Anexo II Espectros UV-vis	115
Espectro electrónico de 450 a 850 nm para el compuesto	
[Cu(4,7-difenil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ CasIgIi	115
Espectro electrónico de 450 a 850 nm para el compuesto	
[Cu(4,7-dimetil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ CasIIgIi	115
Espectro electrónico de 450 a 850 nm para el compuesto	
[Cu(5,6-dimetil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ CasVIgIi	116
Espectro electrónico de 450 a 850 nm para el compuesto	
[Cu(3,4,7,8-tetrametil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃	
CasVIIgIi	116
Espectro electrónico de 450 a 850 nm para el compuesto	
[Cu(1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ CasVIIgIi	117
Espectro electrónico de 450 a 850 nm para el compuesto	
[Cu(4-metil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ Cas4mgIi	117

Espectro electrónico de 450 a 850 nm para el compuesto [Cu(5-metil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ CasVmgli	118
Espectro electrónico de 450 a 850 nm para el compuesto [Cu(5-cloro-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ CasVClgli	118
Espectro electrónico de 450 a 850 nm para el compuesto [Cu(5-nitro-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ CasVNO₂gli	119
Anexo III Voltamperometría cíclica	120
Voltamperograma en dirección catódica y a diferentes velocidades de barrido del compuesto [Cu(4,7-difenil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ CasIgli	120
Voltamperograma en dirección catódica y a diferentes velocidades de barrido del compuesto [Cu(4,7-dimetil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ CasIIgli	121
Voltamperograma en dirección catódica y a diferentes velocidades de barrido del compuesto [Cu(5,6-dimetil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ CasVIgli	122
Voltamperograma en dirección catódica y a diferentes velocidades de barrido del compuesto [Cu(3,4,7,8-tetrametil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ CasVIIIgli	123
Voltamperograma en dirección catódica y a diferentes velocidades de barrido del compuesto [Cu(1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ CasVIIgli	124
Voltamperograma en dirección catódica y a diferentes velocidades de barrido del compuesto [Cu(4-metil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ Cas4mgli	125
Voltamperograma en dirección catódica y a diferentes velocidades de barrido del compuesto [Cu(5-metil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ CasVmgli	126

Voltamperograma en dirección catódica y a diferentes velocidades de barrido del compuesto

[Cu(5-cloro-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO₃ **CasVClgli**.....127

Voltamperograma en dirección catódica y a diferentes velocidades de barrido del compuesto

[Cu(5-nitro-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO₃ **CasVNO₂gli**.....128

ABREVIATURAS

QSAR	Siglas en ingles para Correlación cuantitativa estructura-actividad.
$E_{1/2}$	Potencial de media onda.
CI_{50}	Concentración inhibitoria media.
MAB	Anticuerpos monoclonales.
G-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos.
GM-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos.
BNCT	Siglas en ingles para Terapia de captura de neutrones por boro.
ADN	Ácido desoxirribonucleico.
G^{N7}	Nitrógeno 7 de la guanina.
NAMI	Na- <i>trans</i> -[RuCl ₄ (Me ₂ SO) (Im)].
NAMI-A	[ImH] <i>trans</i> -[RuCl ₄ (Me ₂ SO)(Im)].
DL ₅₀	Dosis letal media.
ATP	Adenosín trifosfato.
KTS	3-etoxi-2-oxobitiraldehido bis (tiosemicarbazona).
RM	Refractividad molar.
BTP	1,3-bis[tris(hidroximetil)metilamino]propano.
D-MEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium.
FBS	Suero Fetal bovino.
Tris-base	Tris(hidroximetil)aminoetano.
A	Absorbancia.
M.B.	Magnetones de Bohr.
UV-vis	Ultravioleta-visible.
VC	Voltamperometría cíclica.
E	Potencial.
E_{pc}	Potencial de pico catódico.
E_{pa}	Potencial de pico anódico.
V	Voltios.

Fc^+-Fc	Par redox ferricinio-ferroceno.
E_λ	Potencial de inversión.
i_{pc}	Corriente de pico catódico.
i_{pa}	Corriente de pico anódico.
EC	Mecanismo electroquímico-químico.
K_f	Constante de formación.
ΔE	Diferencia de potencial.
pE	$E_{1/2}/0.059$.

1. Resumen

Los datos proporcionados por la WHO (World Health Organization) muestran a las enfermedades cardiovasculares y al cáncer como las principales causas de muerte a nivel mundial¹, en nuestro país se sigue la misma tendencia, siendo el cáncer la tercera causa de muerte después de las enfermedades cardiovasculares y la diabetes mellitus². De todos los casos de cáncer registrados en México, más del 60% es presentado por mujeres, de este porcentaje la mayor incidencia corresponde a cáncer del cuello uterino y cáncer mamario.²

Debido a la necesidad inmediata de encontrar alternativas para el tratamiento de estos padecimientos, el grupo dirigido por la Dra. Lena Ruiz desarrolla una serie de compuestos de coordinación de cobre registrados con el nombre de Casiopeínas[®]. Algunos de estos compuestos han mostrado actividad citotóxica y antineoplásica *in vitro e in vivo*.³⁻⁵

Con el objetivo de mejorar su actividad antitumoral y dirigir el diseño hacia estructuras más activas y de ser posible menos tóxicas, se realizó un estudio de correlación cuantitativa estructura-actividad (QSAR) para nueve Casiopeínas del tipo $[\text{Cu}(\text{N-N})(\text{glicinato})]\text{NO}_3$ que presentan ligeros cambios estructurales en los anillos diimina.

Para ello se determinó por voltamperometría cíclica el potencial de media onda ($E_{1/2}$) y se evaluó *in vitro* la concentración inhibitoria media (CI_{50}) a través del ensayo de inhibición de la proliferación celular empleando dos líneas tumorales humanas de cervix (HeLa y SiHa). Los valores experimentales en conjunto con descriptores estéricos e hidrofóbicos de sustituyentes reportados en la literatura fueron empleados para la construcción de ecuaciones QSAR. Estas ecuaciones sugieren una gran importancia del parámetro electroquímico ($E_{1/2}$) en la descripción de la actividad inhibitoria *in vitro* con coeficientes de correlación mayores a 0.90 en ambas líneas tumorales humanas.

2. Introducción.

El desarrollo en ciencia y tecnología que se produjo durante el siglo XX proporcionó los medios necesarios para que la esperanza de vida de los seres humanos incrementara, sin embargo, este desarrollo también lo enfrento a nuevos factores que afectan directamente su salud.

Entre los principales factores encontramos el estilo de vida (estrés, mala alimentación, sedentarismo), el ambiente en el que se desarrolla el individuo (ruido, altos niveles de contaminación, etc.) y la predisposición genética a ser atacado por diversas enfermedades.

La WHO reporta 58 millones de muertes en 2005, de las cuales 35 millones se asocian a enfermedades no transmisibles, casi el doble de las muertes provocadas por enfermedades transmisibles que incluyen al VIH/SIDA, tuberculosis y malaria.¹

Las enfermedades cardiovasculares son la primera causa de muerte, a las cuales se atribuyen el 30% del total de muertes reportadas para enfermedades no transmisibles (17.5 millones de muertes), seguidas por el cáncer con 7.6 millones de muertes y en tercer sitio las enfermedades respiratorias crónicas con 4.1 millones de muertes, todas estas cifras reportadas en el 2005.¹

En México, la principal causa de muerte sigue siendo las enfermedades cardiovasculares, sin embargo, a diferencia de la tendencia mundial, en años recientes la segunda causa de muerte es la diabetes mellitus colocando al cáncer como la tercera causa.²

De todos los casos de cáncer registrados en México, cerca del 65% fueron presentados por mujeres, de este porcentaje el 33.2% corresponde a cáncer de cuello de útero, 16.4% a mama, 3.5 % a ovario, 3 % a cuerpo del útero y 2.7% a estómago.

En el caso de los hombres (35% de todos los casos registrados) se presenta el cáncer de glándula prostática como el más predominante con un 14.2%, seguido del de estómago con 6.3%, ganglio linfático con 6.1%, tejidos blandos con 5.2% y testículo con 4.8%.² Así, en nuestro país los estados más afectados son Oaxaca, Chiapas, Guerrero, Veracruz, Distrito Federal, Morelos, Jalisco y Nuevo León, siendo los tres primeros los que sufren el mayor impacto al no contar con la infraestructura y los recursos para proporcionar el tratamiento médico adecuado, obligando al paciente a trasladarse, al menos, a la zona centro del país.⁶

2.1 Neoplasias malignas.

Neoplasia hace referencia a un trastorno de la reproducción celular que conduce a una multiplicación descontrolada de las células, las cuales escapan a los controles de autorregulación celular y del organismo. Esta reproducción descontrolada generalmente se acompaña de una insuficiente diferenciación celular (anaplasia). Si la proliferación neoplásica encuentra una adecuada fuente de nutrientes para satisfacer sus necesidades, invadirá los tejidos del huésped afectando funciones vitales para después terminar con la vida del individuo.

La división de este proceso en varias etapas no es absoluta sino convencional, en un extremo del proceso están las hiperplasias y en el otro las neoplasias malignas; en el punto medio se encuentran lesiones “precancerosas” * que pueden o no evolucionar a neoplasias malignas o benignas, la diferencia entre estas dos, es que en la última la diferenciación celular es generalmente mayor y su grado de reproducción es menor que el de las neoplasias malignas.

* El término “precanceroso” no debe interpretarse en el sentido cronológico como una lesión que está en camino de convertirse en cáncer, sino que estas lesiones son más frecuentes en un grupo de mayor riesgo para determinado tipo de cáncer.

En términos generales las principales diferencias entre los dos tipos de tumores se derivan del grado de alteración del ciclo reproductivo celular que presentan los tumores malignos, esto explica el menor grado de diferenciación, su rápido crecimiento y mayor capacidad de invasión. Las principales diferencias las podemos encontrar en la tabla 2.1.

Tabla 2.1. Diferencias generales entre los tumores malignos y benignos		
	Benignos	Malignos
Grado de diferenciación	Avanzado	Deficiente
Núcleos de las células	Normal	Grande e hiper cromático
Relación núcleo/citoplasma	Baja	Alta
Mitosis	Pocas	Abundantes
Polaridad tisular	Conservada	Alterada
Rapidez de crecimiento	Baja	Elevada
Medio de crecimiento	Expansión	Infiltración
Recurrencia después de la resección [†]	Poco frecuente	Frecuente
Metástasis	Ausentes	Frecuentes
Generación de proteasas	Escasa	Abundante

A las neoplasias malignas también se les denominan tumores malignos o se les conoce con el nombre particular de cáncer, el término es herencia del médico griego Galeno (131-201) quien lo bautizó de esta manera debido a la forma de cangrejo que presentaba la enfermedad en la glándula mamaria.

Una de las características más importantes de las neoplasias malignas es su capacidad de crecer y propagarse más allá de su sitio de origen. El término metástasis connota el desarrollo de implantes secundarios que no tienen continuidad con el tumor primario, quizás en tejidos remotos. Las propiedades de invasión y más aún, las metástasis, identifican con mayor propiedad a una neoplasia como maligna que cualquier otro de los atributos neoplásicos. Las excepciones notables a lo antes expuesto son el carcinoma de células basales de la piel y casi todos los tumores primarios del sistema nervioso central. Si bien esas neoplasias son muy invasoras en sus sitios primarios de origen, rara vez causan metástasis. Con lo cual podemos diferenciar entre un comportamiento invasivo y uno metastático.⁷

[†] Resección: extirpación quirúrgica de la totalidad o parte de un órgano o tejido.

Los conocimientos acerca de los tumores han sido adquiridos de manera muy gradual y con la participación de numerosos grupos humanos. El aporte de nuevos conocimientos en este campo es permanente y en muchas ocasiones modifica conceptos antes aceptados como válidos, por lo cual, el manejo de un lenguaje común es necesario, en la tabla 2.2 se enlista una de las nomenclaturas más aceptadas.

2.2 Estudios etiológicos.

La existencia de las neoplasias malignas fue reconocida desde tiempos muy remotos, existe mención de ellos en el *Ramayana* y en el papiro Ebers textos hindú y egipcio respectivamente, sin embargo, las observaciones que han orientado el estudio científico de este grupo de enfermedades fueron muy escasas hasta antes del siglo XIX.

En 1700 Ramazzini proporciona el primer ejemplo de cáncer relacionado con la actividad realizada al evidenciar la alta incidencia de cáncer de mama en las monjas, que atribuía al celibato. En ese mismo siglo (1775) los estudios realizados por Sir Percival Pott mostraban que las condiciones en las cuales se desarrollaban los individuos en combinación con ciertas sustancias eran capaces de producir cáncer. El carcinoma de escroto que desarrollaban los deshollinadores de chimeneas de Londres era debido a la escasa higiene que tenían los trabajadores y a la presencia de hollín en los pliegues del escroto por periodos prolongados.⁸

Entre 1840 y 1850 Müller y Remak difieren con la hipótesis que establece que las células se forman en la matriz intercelular y proponen que todas las células animales se originan de células ya presentes (*omnia cellula e cellula*). Virchow emplea este principio como piedra angular de su trabajo "*Patología Celular*" en el cual establece que la célula es el punto central en el crecimiento tumoral.⁹

Tabla 2.2 Nomenclatura de tumores		
Tejido de origen	Tumor benigno	Tumor maligno
I. Compuesto de un tipo de célula parenquimatosa[‡]		
A. Tumores de origen mesenquimatoso[§]		
1. Tejidos conjuntivos y derivados		
Fibroblastos	Fibroma	Fibrosarcoma
Cartílago	Condroma	Condrosarcoma
Hueso	Osteoma	Osteosarcoma
Graso	Lipoma	Liposarcoma
2. Tejidos endoteliales o relacionados		
Vasos sanguíneos	Hemangioma	Angiosarcoma
Vasos linfáticos	Linfangioma	Linfangiosarcoma
Sinovia		Sinovioma (sinoviosarcoma)
Mesotelio		Mesotelioma
Cubiertas encefálicas	Meningioma	Meningioma invasor.
3. Células sanguíneas y relacionadas.		
Células hematopoyéticas		Leucemias
Tejido linfoide		Linfomas malignas
4. Músculo		
Liso	Leiomioma	Leiomiomasarcoma
Estriado	Rabdomioma	Rabdomiosarcoma
B. Tumores de tipo epitelial^{**}		
1. Escamoso estratificado	Papiloma de células escamosas	Carcinoma de células escamosas
2. Células basales de piel o anexos		Carcinoma de células basales
3. Recubrimiento epitelial		
Glándulas o conductos	Adenoma	Adenocarcinoma
	Papiloma	Carcinoma papilar
	Cistadenoma	Cistadenomacarcinoma
4. Vías respiratorias		Carcinoma brocígeno "adenoma" bronquial
5. Neuroectodermo	Nevos	Melanoma (Melanocarcinoma)
6. Epitelio renal	Adenoma tubular renal	Carcinomas de células renales
7. Hepatocitos	Adenoma de células hepáticas	Carcinoma hepatocelular
8. Epitelio de las vías urinarias (transicional)	Papiloma de células transicionales	Carcinoma de células transicionales.
9. Epitelio placentario	Mola hidatidiforme	Coriocarcinoma
10. Epitelio testicular		
Células germinales		Seminoma
		Carcinoma embrionario
II. Más de un tipo de células neoplásicas-tumores mixtos-por lo general derivados de una capa germinal.		
1. Glándulas salivales	Adenoma pleomorfo (Tumor mixto de origen en glándulas salivales)	Tumor mixto maligno de origen en glándulas salivales.
2. Primordio renal		Tumor de Wilms
III. Más de un tipo de células neoplásicas de más de una capa germinal: teratógeno^{††}.		
1. Células totipotenciales en gónadas o en restos embrionarias.	Teratoma maduro, quiste dermoide.	Teratoma inmaduro, teratocarcinoma.

[‡] Parénquima: Tejido propio de un órgano.

[§] Mesénquima: tejido derivado de una de las capas celulares que constituyen el embrión, de naturaleza conectiva.

^{**} Epitelio: tejido de revestimiento que se encuentra en todas las superficies corporales tanto interiores como exteriores. El número de capas es variado, desde los uniestratificados (endotelio) hasta los pluriestratificados, como la epidermis.

^{††} Teratógeno: lo que produce malformaciones en el desarrollo prenatal.

Durante el mismo siglo XIX los investigadores trataron de relacionar el crecimiento tumoral con la presencia de diferentes agentes infecciosos como las bacterias (Nepveu 1872), los protozoarios (Albarran 1889), las levaduras (Russell 1890 y Sanfelice 1895), las micetozoas (Woronin 1876) y los virus (Gorini 1900 y Borrel 1904). Las propuestas hechas para sustentar cada teoría estaban basadas en resultados de los ensayos de tinción.⁹

Con la gran cantidad de información colectada de los diferentes experimentos y fusionando las diversas líneas de pensamiento se establece la teoría de “la autonomía celular”. Esta teoría propone que un proceso aberrante dota a la célula de la capacidad de existir de manera independiente, así, exenta de los mecanismos de control a los que está sujeta su contraparte normal, desviaría todos sus recursos para obtener una capacidad ilimitada de crecimiento.⁹

Al mismo tiempo que se desarrollaban las teorías antes mencionadas, Loeb y su grupo logran transplantar tumores humanos en ratas, así mismo, logran transplantar un sarcoma de tiroides de rata durante 40 generaciones percatándose que sólo con excepción de pequeñas diferencias estructurales basadas en diferencias celulares individuales, las características del tumor permanecían sin cambio durante toda la serie de trasplantes. Michaelis, Ehrlich, Barrel, Cramer, Tyzzer y muchos más realizaron muchos experimentos de este tipo empleando diferentes tumores. Todos estos experimentos proporcionaron datos importantes acerca de condiciones de crecimiento tumoral.⁹

En 1911 Rous encontró en un pollo un sarcoma que pudo ser transmitido a otros animales de la misma especie por medio de filtrados libres de células y sospechó que el agente causal debiese ser de menor tamaño que las células de gallina y que las bacterias, por lo que podría corresponder a un virus, aunque no lo designó así, sino como un agente tumoral, en 1966 el doctor Rous recibe el Premio Nobel de Medicina por su trabajo sobre tumores inducidos por virus que comparte con Charles Breton Huggins quien desarrolló tratamientos hormonales para combatir el cáncer prostático¹⁰.

En 1915 Yamagawa e Ichikawa lograron inducir cáncer de piel en animales de laboratorio aplicando diariamente extractos de alquitrán de hulla en la oreja de los animales durante varios meses, iniciando así el estudio sistemático de la carcinogénesis química. En 1935 Sir Ernest Kennaway y su grupo de trabajo aislaron y señalaron algunos de los carcinógenos químicos más potentes que se conocen hoy en día, los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP's) del tipo del benzantraceno y benzopireno.

Por su parte el doctor J. Michael Bishop descubrió el gen *v-src*, que permite al virus causante del sarcoma de Rous inducir el tumor, también se encuentra presente en las células normales, no tan sólo de gallina sino también de algunos otros vertebrados, incluyendo el ser humano. Logró este descubrimiento gracias al empleo de las nuevas tecnologías de la llamada ingeniería genética, dando de esta manera una perspectiva completamente innovadora para abordar el tema del cáncer y conocer los procesos que llevan a la aparición y desarrollo de esta enfermedad. Los doctores J. Michael Bishop y Harold E. Varmus comparten en 1989 el Premio Nobel de Medicina por el descubrimiento del origen celular de los oncogenes retrovirales¹⁰.

2.3 Tratamientos.

Las formas de combatir las neoplasias son principalmente tres: la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia, los resultados de estas estrategias terapéuticas dependen del comportamiento que tenga la neoplasia, aunque la experiencia ha demostrado que la combinación de estrategias ofrece los mejores resultados.

Recientemente se han incorporado nuevas estrategias que en combinación con los tres ya mencionados pueden tener una mejor función en el tratamiento de estos padecimientos, entre ellos encontramos a la terapia biológica, la terapia fotodinámica, la hipertermia local, el trasplante de médula ósea y la terapia génica, entre otras, aunque hasta el momento esto provoque un costo mayor en el tratamiento. Una pequeña descripción acerca de todos estos procedimientos se presenta en los párrafos siguientes.

2.3.1 Cirugía.

Este es uno de los principales procedimientos en la erradicación de crecimientos anómalos localizados y que son de fácil acceso para realizar una intervención quirúrgica, sin embargo, muchas de las neoplasias malignas presentan metástasis, con lo cual la erradicación del tumor con solo cirugía es impensable. Cuando existe metástasis puede emplearse la quimioterapia o la radioterapia como auxiliares en el tratamiento, si el tumor no es accesible puede emplearse la quimioterapia o alguna otra de las estrategias que se describen a continuación.

2.3.2 Radioterapia.¹¹

Este procedimiento se basa en el empleo de radiación para el tratamiento de la enfermedad, generalmente se emplean los rayos X, los mismos que se utilizan para tomar una placa radiográfica de nuestro sistema óseo.

La radioterapia puede ser externa o interna; en la radioterapia externa se emplean los ya citados rayos X, la "irradiación de cobalto", electrones y en raras ocasiones otras partículas como protones, mientras que la radioterapia interna coloca material radioactivo directamente en el tumor o en las cercanías del mismo, para lo cual emplea fuentes de radiación directa en dos formas: implantes radioactivos y líquidos radioactivos.

Los implantes radioactivos pueden ser tubos, alambres o semillas de material que se colocan en el tumor por un tiempo determinado durante el cual ejercerá su acción, la fuente radioactiva normalmente empleada es el Cesio 137 o el Iridio 192; algunas semillas se dejan permanentemente en el cuerpo, estas emplean como fuente el oro radioactivo o el yodo. Los implantes se emplean principalmente para combatir cáncer cervico-uterino, vagina, boca, esófago, pene, uréter, hígado, ducto biliar, labio, nuca y pecho.

Los líquidos radioactivos tienen diferentes aplicaciones:

- ❖ Fósforo radioactivo: usado en tumores de células sanguíneas y relacionadas.
- ❖ Estroncio radioactivo: usado en tumores secundarios de hueso.
- ❖ Yodo radioactivo: usado en cáncer de tiroides.

Los isótopos son unidos a algún medicamento especialmente diseñado para transportarlo al tumor, aunque este tipo de tratamientos solo se encuentra en unidades médicas altamente especializadas.

2.3.3 Terapia biológica.

La terapia biológica emplea sustancias endógenas o medicamentos cuyas formulaciones incluyen dichas sustancias. Este tratamiento también es conocido como “modificadores de respuesta biológica” o simplemente “agentes biológicos”.

Existen un gran número de medicamentos que son englobados en la terapia biológica como por ejemplo:

- ❖ Anticuerpos monoclonales (MAB): una forma de producirlos es fusionando linfocitos B de un animal inmunizado con células de mieloma múltiple por medio de la tecnología hibridoma desarrollada por Köhler y Milstein por la que se hicieron acreedores de un premio Nobel ¹⁰. La célula fusionada (hibridoma) combina dos propiedades: la habilidad de sintetizar un anticuerpo para un blanco específico (antígenos asociados a tumores y la inmortalidad de las células de mieloma.¹²
- ❖ Vacunas anticancerígenas: el objetivo es que el organismo monte su propia respuesta inmune una vez que se han administrados junto con antígenos tumorales. Se han investigado diferentes vacunas las cuales presentan diversas formas de acción, entre las mas estudiadas están: vacunas antígenas, vacuna de células sanas, vacuna de células dendríticas¹³, vacunas de ADN; los nombres se deben al material empleado para hacerlas o al trabajo que realizan.

- ❖ Factores de crecimiento: estos son empleados para incrementar el número de leucocitos circulantes, algunos de estos son el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) o el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF)¹⁴.
- ❖ Bloqueadores de crecimiento tumoral: esta técnica emplea fármacos que inhiben el crecimiento y multiplicación celular, por lo que al administrarlos se detiene el crecimiento del cáncer, entre algunos inhibidores se encuentran Erlotinib¹⁵, al Iressa o al Imatinib.
- ❖ Tratamiento antiangiogénico: angiogénesis significa el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos, que son indispensables para el desarrollo del tumor. Algunos medicamentos evitan que las células cancerígenas obtengan sus propios vasos sanguíneos, como el Bevacizumab (Avastin)¹⁶, el Caplostatin o el endostatin¹⁷.
- ❖ Interferones: son proteínas producidas de manera natural como respuesta del sistema inmune de la mayoría de los animales frente a agentes externos. El interferón α y el interferón γ son de los más empleados en terapia, y su administración es frecuentemente por vía intramuscular.
- ❖ Terapia hormonal: estos procedimientos emplean hormonas sexuales o inhibidores hormonales para inhibir el crecimiento tumoral en tumores dependientes de hormonas como el carcinoma mamario o el carcinoma prostático. La terapia puede disminuir el estímulo hormonal de células tumorales a diferentes niveles: removiendo la fuente de hormonas, por inhibición de su síntesis o bloqueando su acción a nivel celular.¹⁸

2.3.4 Terapia génica.¹⁹

Muchos investigadores incluyen esta terapia en el grupo de la terapia biológica, sin embargo, algunos otros prefieren emplear el término “terapia molecular” que es más general y que define mejor su mecanismo de acción, por ello su denominación como grupo independiente.

Los genes son una secuencia específica de bases que proporcionan las instrucciones para la síntesis de proteínas. La finalidad de la terapia génica es la corrección de genes

defectuosos que son partícipes en el desarrollo de enfermedades para lo cual se pueden emplear diferentes estrategias:

- ❖ Un gen normal puede ser insertado en un punto inespecífico dentro del genoma para reemplazar al gen infuncional. Esta estrategia es la más común.
- ❖ Un gen anormal puede ser intercambiado por un gen normal mediante una recombinación homóloga.
- ❖ El gen anormal puede ser reparado mediante una mutación inversa selectiva, que regresa al gen a sus funciones normales.
- ❖ La regulación (el encendido o apagado de un gen) de un gen particular puede ser alterado.

2.3.5 Terapia fotodinámica.²⁰

La terapia fotodinámica consiste de dos pasos, en el primero de ellos se administra al paciente Photofrin (porfímero sódico ($C_{68}H_{74}N_8H_{11}$)), que es retenido selectivamente por las células tumorales en su forma inactiva. Aproximadamente 24-48 horas después de la administración comienza el segundo paso, donde la zona a tratar es iluminada con láser ($\lambda = 630 \text{ nm}$). Al ser iluminado el Photofrin se desencadena una cascada de reacciones donde se producen iones superóxido y radicales hidroxilo que causan la muerte de la célula. El láser es administrado por medio de guías de fibra óptica que pasan a través de un endoscopio. Las guías son delgadas, flexibles, similares a líneas de pesca, estas son especialmente diseñadas para conducir la luz láser.

2.3.6 Hipertermia local.²¹

Este es un procedimiento en el cual el tejido es sometido a temperaturas altas para dañar o producir muerte celular. El área es calentada de manera externa por medio de ondas de alta frecuencia, para mantener la temperatura pueden utilizarse sondas estériles incluidos alambres delgados calientes o tubos llenos de agua caliente; antenas de microondas implantadas o electrodos de radiofrecuencia. Este tratamiento se basa en un principio sencillo: si es posible alcanzar una temperatura de $\approx 41\text{-}49 \text{ }^\circ\text{C}$ en el tumor, las

células cancerosas serán destruidas, los tumores primarios tienen una mala circulación sanguínea, lo que los hace más sensibles a cambios en la temperatura.

2.3.7 Terapia de captura de neutrones por boro (BNCT).²²

Esta terapia está basada en la acumulación selectiva en células cancerosas de ^{10}B (una especie no radioactiva) y un tratamiento posterior con un flujo de neutrones, la irradiación proporciona productos de fisión de alta energía que son efectivos en un área pequeña muy parecida al tamaño de la célula, lo cual permite la destrucción selectiva de las células cancerosas sin afectar a las células aledañas.

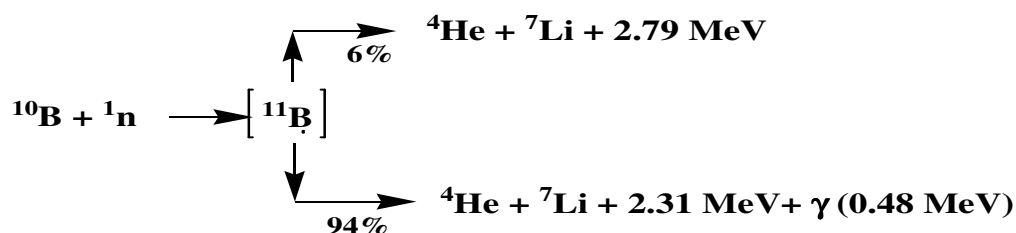


Figura 2.1. Esquema de los productos de fisión de ^{10}B irradiado con neutrones.

Uno de los compuestos que proporciona la cantidad de boro suficiente para realizar la terapia es el *closo*-dodecaborato, este compuesto puede ser funcionalizado para optimizar el transporte.

En los últimos años también se plantean como posibles candidatos a emplearse en BNCT compuestos de bajo peso molecular derivados de porfirinas, ftalocianinas, tioureas cíclicas, fosfatos, fosfonatos, compuestos capaces de enlazarse con ADN, entre muchos otros.

Estos procedimientos continúan en fase de prueba y aún con los resultados mostrados por estas técnicas, la quimioterapia sigue siendo una de las armas más potentes en el tratamiento de estos padecimientos.

2.3.8 Quimioterapia.

Los diversos medicamentos empleados en quimioterapia para combatir el cáncer están clasificados de acuerdo a su mecanismo de acción : (a) agentes alquilantes, (b) agentes intercalantes, (c) agentes antimetabólicos, (d) alcaloides de plantas, (e) antibióticos antitumorales, (f) hormonas/ antihormonas y (g) misceláneos (en este grupo se encuentran aquellos compuestos empleados como quimioterapéuticos pero que no entran en ninguna de las clasificaciones anteriores).

En los grupos antes mencionados se encuentran una gran diversidad de compuestos, la gran mayoría de estos se encuentran en los clasificados como orgánicos, que pueden provenir de productos naturales o de un proceso de síntesis, sin embargo, en las últimas décadas los compuestos inorgánicos han tenido un desarrollo lento pero constante.

Los resultados obtenidos al administrar cisplatino a pacientes con tumor testicular o de ovario metastático que eran poco tratables con los antitumorales conocidos hasta ese momento representó un gran avance en el tratamiento de estos padecimientos, este paso motivó a los diferentes grupos de investigación a emplear otros metales de transición para obtener nuevos agentes anticancerosos tomando en cuenta que estos metales podrían tener ciertas ventajas, (1) sitios adicionales de coordinación, (2) cambios en el estado de oxidación del metal y (3) diferentes cinéticas de sustitución y afinidad hacia los ligantes. A continuación se mencionan algunos de los compuestos inorgánicos que han sido evaluados a lo largo de cinco décadas.

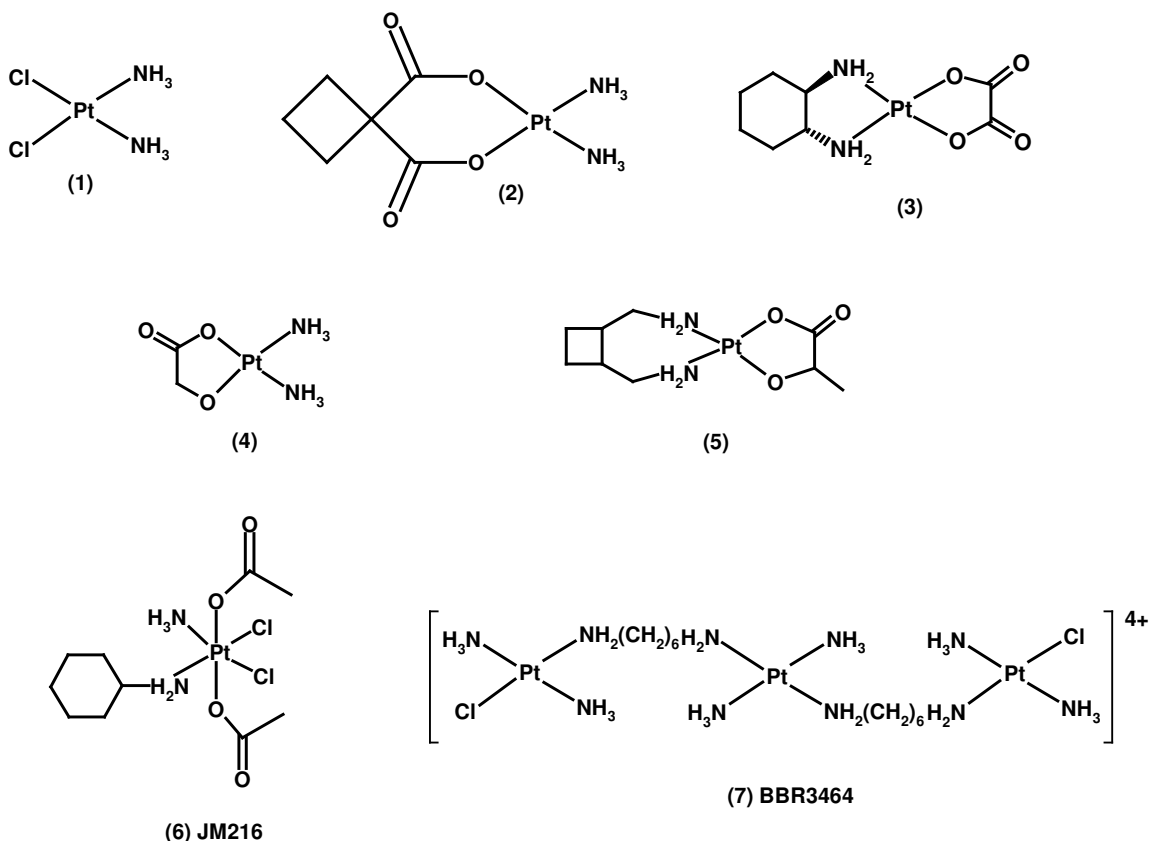
2.3.8.1 Compuestos de platino.

Los complejos de platino son sin duda los compuestos más estudiados como agentes antitumorales, uno de los compuestos que mejores resultados ha presentado en terapia es el cisplatino (**1**) (*cis*-[Pt(NH₃)₂(Cl)₂]), aprobado por la FDA en 1979 para su empleo como antitumoral, este complejo se emplea en el tratamiento de cáncer de células

germinales, tumores de trofoblastos, cáncer epitelial de ovario y cáncer de hígado así como paliativo en cáncer de vejiga, cervical, nasofaríngeo, esófago y cáncer en la cabeza y la nuca, pero la mayor eficacia se ha observado en cáncer testicular.²³⁻²⁴

La “segunda generación” de compuestos de platino diseñados a partir de la estructura del cisplatino buscaban disminuir la toxicidad e incrementar el espectro de acción, tal es el caso del carboplatino **(2)** que es menos tóxico que el cisplatino y el cual fue aprobado para su empleo clínico en 1998.

El cisplatino sigue siendo utilizado como “compuesto padre” o “compuesto base” y recientemente nuevos compuestos han sido aprobados para su empleo, en Estados Unidos en 2002 el oxaliplatino **(3)** [*trans*-L-diaminociclohexano (oxalato) platino (II)] en combinación con 5-fluorouracilo para tratar cáncer colorrectal y en Japón y China el nedaplatino **(4)** [*cis*-diamino-glicolato-O, O'-platino (II)] y el lobaplatino **(5)** respectivamente.^{23,24}



Otros compuestos de platino con estado de oxidación (IV) como el satraplatino o JM-216 (6) han sido probados, sin embargo, se cree que estos son reducidos a Pt (II) por agentes intracelulares y extracelulares antes de reaccionar con el ADN. Una vía más ha producido compuestos binucleares, trinucleares y tetranucleares de este metal que de acuerdo a las pruebas realizadas se muestran como posibles candidatos para su uso como antitumorales, como el denominado BBR3464 (7), que evaluado *in vitro* presenta una mayor actividad tanto en líneas sensibles como resistentes al cisplatino, el incremento en la actividad es atribuido a una mayor asimilación de Pt por parte de la células respecto al cisplatino y por consiguiente un incremento en la unión a ADN.²⁵

Los compuestos de platino interactúan directamente con el ADN formando aductos por medio de un intercambio de ligantes, en el cual se pierden los átomos de cloro de la esfera de coordinación del platino, en un primer paso la sustitución es por una molécula de agua, para después ser sustituidos por átomos de nitrógeno de las bases púricas y pirimidínicas (Figura 2.2), siendo el nitrógeno 7 de la guanina (G^{N7}) el principal blanco, siendo esta base la más favorable termodinámica y cinéticamente para la reacción con platino y otros electrófilos además de que la posición G^{N7} es la más nucleofílica del ADN.²⁶

La interacción que se observa entre el platino y la guanina puede ser (1) monofuncional, esto es, que el platino se une a solo una base del ADN, (2) se puede presentar una unión intracatenaria que es el más común debido a la disposición espacial después de que se da un proceso monofuncional y (3) una interacción intercatenaria en la que el platino está coordinado a dos nitrógenos de bases pertenecientes a dos distintas cadenas.²⁷ (Figura 2.3)

1A10).

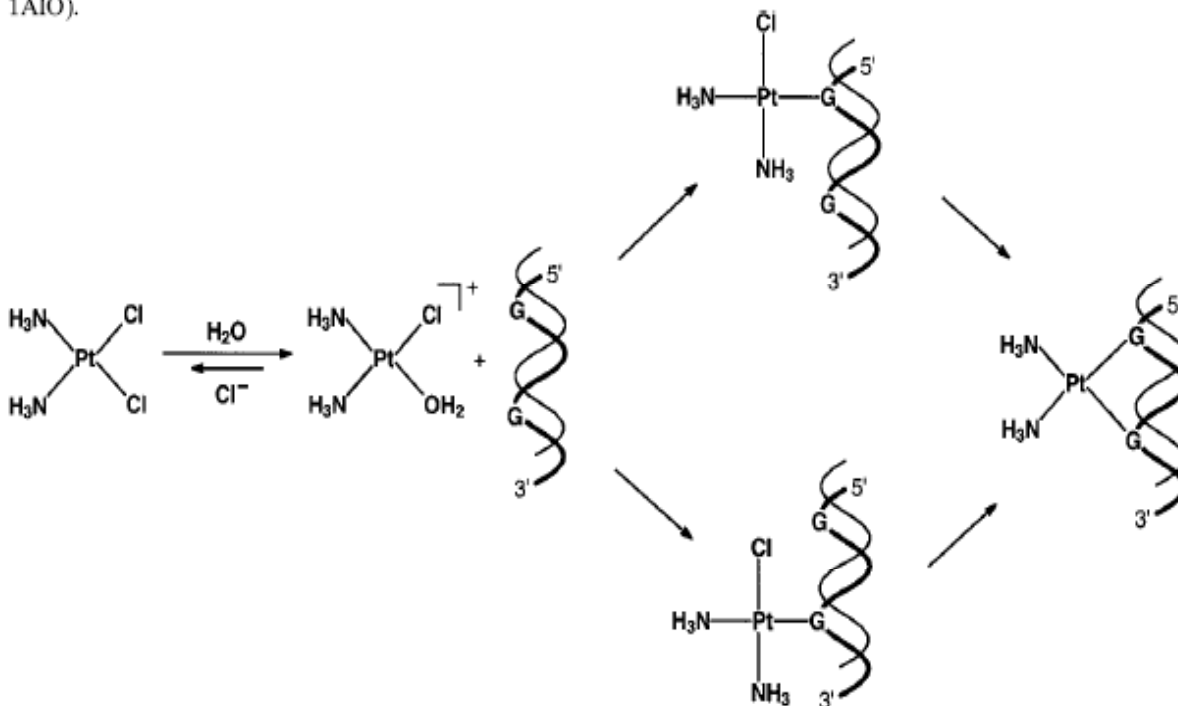


Figura 2.2. Esquematación de la reacción de hidrólisis del cisplatino y su interacción con N⁷ de guanina.

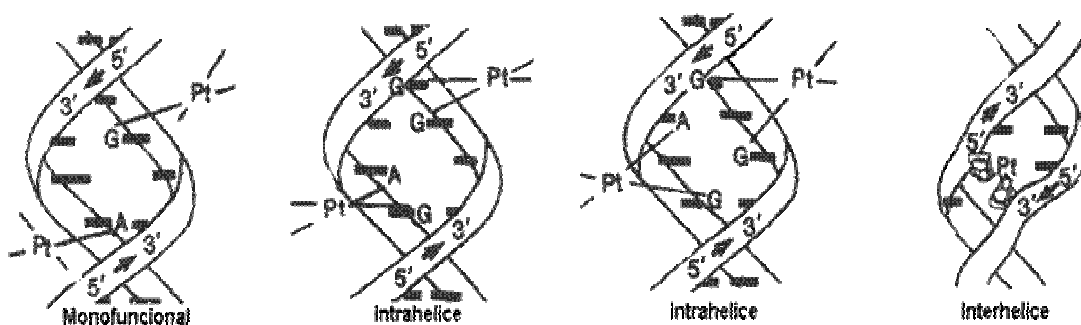


Figura 2.3. Aduetos formados por los compuestos de platino con el ADN

2.3.8.2 Compuestos de rutenio y rodio.

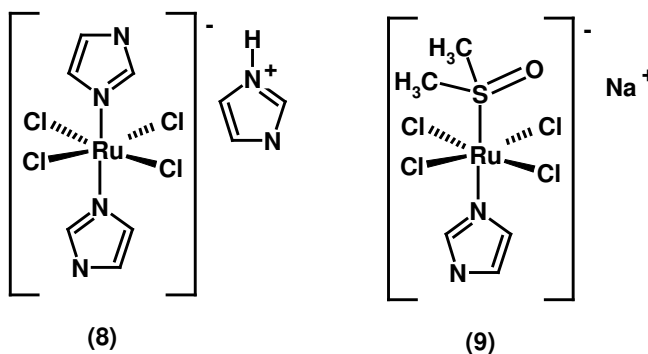
El rutenio, osmio, rodio, iridio, paladio y platino son elementos de la segunda y tercera serie transicional de las familias 8, 9 y 10 conocidos como “metales del grupo del platino”. La química de estos elementos presenta algunas características comunes, sin embargo, existen amplias variaciones que dependen de las diferentes estabilidades de los

estados de oxidación, estereoquímicas, etc.²⁸ En los siguientes párrafos se presenta información de compuestos de coordinación de dos elementos de este “grupo del platino”: el rutenio y el rodio.

Los complejos de coordinación de rutenio en diferentes estados de oxidación presentan en la gran mayoría de los casos un mecanismo de acción muy similar al que muestran los compuestos de platino. Como ejemplo de ello se encuentran los compuestos de tipo *cis*-[Ru^{III}Cl₂(NH₃)₄]Cl₂ y (HIm)*trans*-[Ru^{III}(Im)₂Cl₄] (**8**) (donde HIm=imidazol protonado e Im= imidazol) que presentan una relación directamente proporcional entre la magnitud de su interacción con ADN y la citotoxicidad.²⁹

La solubilidad de estos compuestos puede ser aumentada al incrementar el número de cloros, como los compuestos *trans*-(LH) [RuCl₄L₂] donde L= imidazol o indazol, los cuales muestran actividad frente a leucemia linfocítica P388, carcinosarcoma de Waker 256, tumor ascítico de Estocolmo, melanoma B16 subcutáneo transplantedo, sarcoma 180, tumores ascíticos de Ehrlich, y tumor de colon MAC 15A y particularmente efectivos frente a tumores colorrectales, todos estos, modelos tumorales animales.³⁰

La solubilidad también puede ser incrementada empleando dialquil sulfóxidos (R₂SO) como en *trans*-[RuCl₂(Me₂SO)₄], [RuCl₃(Me₂SO)₂B] donde B= imidazol o indazol o el compuesto Na-*trans*-[RuCl₄(Me₂SO)(Im)] (**9**) que también es conocido como NAMI.



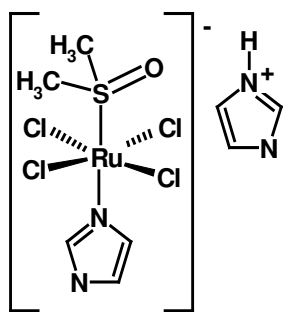
El NAMI puede ser utilizado para minimizar el crecimiento de micro metástasis indetectables después de un tratamiento quirúrgico o de radioterapia.³¹ Tiene un potencial de reducción de 0.235V, lo cual indica que pueden ser activados por reductores biológicos como el ácido ascórbico o la cisteína. Tiene una gran solubilidad en agua y es activo frente a una gran cantidad de líneas tumorales murinas incluidos el carcinoma de hígado de Lewis, melanoma B16 y carcinoma mamario MCa.

Los estudios realizados con este compuesto muestran que el mecanismo de acción no involucra la unión con el ADN,³² su actividad parece ser independiente de la concentración, ya que sólo una pequeña cantidad del compuesto alcanza el tumor, además de que puede incrementar la resistencia a la formación de metástasis.³³

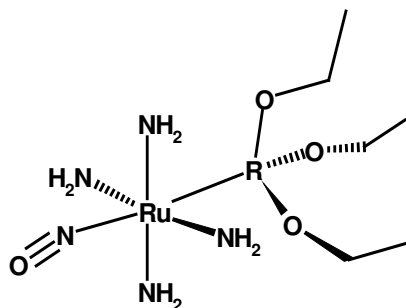
Por otro lado, NAMI-A (ImH)-*trans*-[RuCl₄(Me₂SO)(Im)] (**10**), es un compuesto diseñado para tener actividad farmacológica superior a NAMI, este compuesto es más estable y es más fácil de sintetizar y presenta una menor toxicidad que cisplatino.³⁴

Algunos compuestos de nitrosilo (**11**) son activos liberando oxido nítrico tras una reducción *in vivo*. Ford ha revisado las ventajas fotodinámicas de la liberación de NO de los compuestos de rutenio, la única aproximación fotodinámica es el emplear la absorción Mössbauer de rayos γ de complejos de rutenio unidos a ADN para inducir a los electrones Auger a provocar daños a los ácidos nucleicos.³⁵

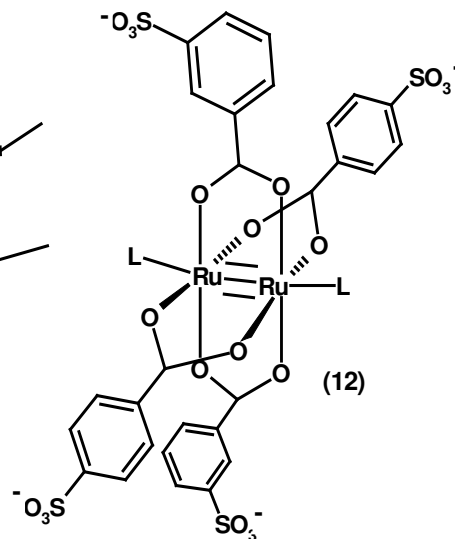
También han sido evaluados compuestos de dirutenio, compuestos de valencia mixta con carboxilatos del tipo [Ru₂(μ -O₂CR)₄]Cl donde R= Me, Et, (**12**) que tienen actividad moderada contra la línea celular P388. La actividad que presentan *in vitro* los compuestos de dirutenio se ve incrementada por la alta solubilidad en agua de la serie de compuestos M₃[Ru₂(μ -O₂CR)₄(H₂O)₂]-4H₂O donde R= *m*- o *p*- C₆H₅SO₃⁻ y M= Na⁺ o K⁺, un hecho que refuerza la importancia de la solubilidad en la actividad biológica de estos medicamentos.³⁶



(10)



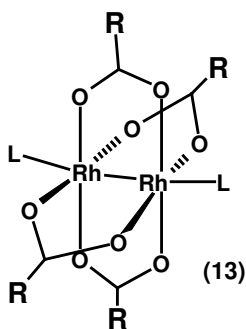
(11)



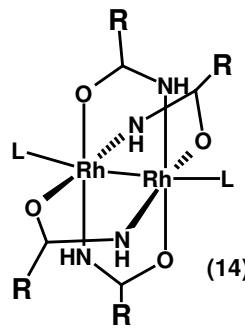
(12)

Respecto a los complejos de rodio, los estudios *in vivo* de compuestos de tipo $[\text{Rh}_2(\mu\text{-O}_2\text{CR})_4]$ (**13**) donde R= Me, Et y Pr indican que la actividad antitumoral es significativa en las líneas tumorales murinas L1210, sarcoma 180, tumores ascíticos de Ehrlich y P388. Aunque el mecanismo de acción de estos compuestos no ha sido dilucidado se sabe que se unen al ADN e inhiben su replicación y la síntesis de proteínas de forma semejante a como actúa el cisplatino.

Es importante destacar el hecho de que la actividad antitumoral de la serie $[\text{Rh}_2(\mu\text{-O}_2\text{CR})_4]$ donde R= Me, Et, Pr aumenta conforme aumenta la lipofilicidad del grupo R. Siguiendo este precepto, se evaluaron los complejos $[\text{Rh}_2(\mu\text{-O}_2\text{CCF}_3)_4]$ y $[\text{Rh}_2(\mu\text{-HNCOCF}_3)_4]$ (**14**) que muestran un incremento significativo en el índice de supervivencia de ratones con tumores ascíticos de Ehrlich y una DL_{50} de orden similar a la de cisplatino.³⁶



(13)



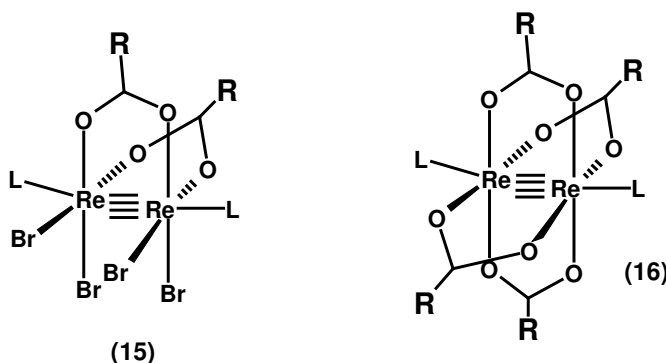
(14)

R=Me,Et,Pr,CF₃

2.3.8.3 Compuestos de renio.

Debido a su proximidad en la tabla periódica respecto a los metales del grupo del platino se sintetizaron y evaluaron una gran cantidad de compuestos de coordinación de renio.

Los compuestos dinucleares en los que hay un enlace directo metal-metal se consideran como una clase promisoría de compuestos inorgánicos debido a la baja toxicidad relativa en comparación con otros metales pesados. Los compuestos $[\text{Re}(\mu\text{-O}_2\text{CC}_2\text{H}_5)_2\text{Br}_4(\text{H}_2\text{O})_2]$ (**15**) y el compuesto soluble en agua $[\text{Re}_2(\mu\text{-O}_2\text{CC}_2\text{H}_5)_4]\text{SO}_4$ (**16**) ambos con enlace cuádruple Re-Re presentan una actividad antitumoral considerable frente a melanoma B16 y sarcoma 180 respectivamente. Es posible que estos compuestos inhiban la replicación de ADN y la síntesis de proteínas de una manera similar a como la hacen los compuestos dinucleares de rodio.³⁶



2.3.8.4 Compuestos de oro.³⁷

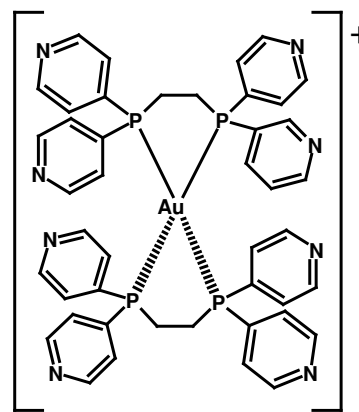
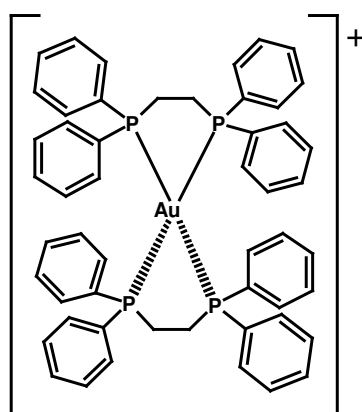
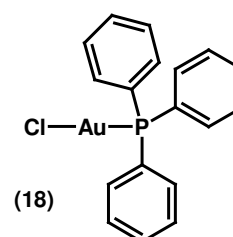
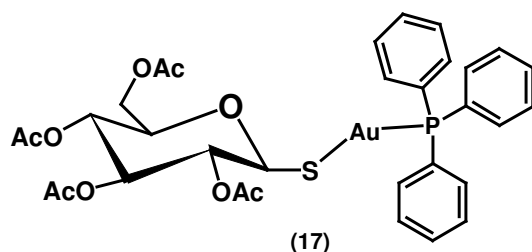
Los compuestos de oro son utilizados desde hace mucho tiempo para combatir la artritis, pero desde hace algunos años se han probado como potenciales agentes antitumorales aunque muy pocos de ellos han mostrado esta actividad.

Los compuestos que mostraban actividad eran aquellos que tenían fosfinas en su esfera de coordinación como el auranofin $[\text{Au}^{\text{I}}(2,3,4,6\text{-tetra-O-acetil-}\beta\text{-1-D-glucopianosato-S})(\text{trifenilfosfina})]$ (**17**) que incrementa el tiempo de sobrevivencia de ratones inoculados con

leucemia P388, inhibe la ADN polimerasa y es citotóxico en células que tienen una alteración mitocondrial.

Otro ejemplo de un compuesto de coordinación de oro con fosfinas es el $[\text{Au}(\text{PPh}_3)\text{Cl}]$ (**18**) el cual inhibe la formación de colonias tumorales *in vitro*, reacciona con ADN e inhibe la fosforilación oxidativa y la producción de ATP.

Por último, los compuestos de tipo $[\text{Au}^{\text{I}}(\text{PR}_2)_2]\text{Cl}$ tienen una actividad antitumoral reproducible y significativa en varios modelos tumorales murinos *in vivo*. El compuesto $[\text{Au}^{\text{I}}(\text{dppe})_2]\text{Cl}$ donde dppe= Bis [1,2-bis (difenilfosfino) etano] (**19**) inhibe la formación de colonias tumorales *in vitro*, induce la formación de enlaces cruzados ADN-proteína y tiene efectos antimitocondriales en células de leucemia P388. Si se sustituyen los fenilos en 18 por piridinas se obtiene el compuesto (**20**) que muestra prometedoras propiedades antitumorales *in vitro* e *in vivo* debido a su lipofilicidad. La actividad antitumoral de estos compuestos aún no es muy clara, pero se sabe que los compuestos de Au^{I} con fosfinas son citotóxicos y muchos tiene aparente actividad antimitocondrial, lo cual los convierte en candidatos potenciales para realizar pruebas más específicas.



2.3.8.5 Metalocenos y Budotitanio.

La actividad antitumoral de los metalocenos del tipo X_2Cp_2M donde $M=Ti, V, Nb$ y Mo y $X=$ halógeno, es dependiente del metal que se encuentre en el complejo. La actividad de metalocenos con Ta y W es marginal, mientras que con Zr y Hf son inactivos. La relación diagonal (respecto a la posición que ocupan en la tabla periódica) entre los iones metálicos de complejos activos sugiere que la actividad depende del tamaño y la sustitución de ligantes del ion metálico. Estos compuestos fueron evaluados inicialmente como posibles análogos de cisplatino, la efectividad del compuesto Cl_2Cp_2Ti frente a tumores resistentes a cisplatino indica un mecanismo de acción diferente, lo que abre la posibilidad de nuevas opciones terapéuticas frente a tumores donde el cisplatino ha fracasado como lo es el cáncer de ovario.³⁸

La actividad de los metalocenos probablemente depende de la hidrólisis del compuesto de coordinación metal que para $M= Ti, V, Zr$ y Mo (**21**) ocurre mucho más rápido que para cisplatino. La rápida disociación del cloruro de Cl_2Cp_2Ti trae como consecuencia cinco productos hidrolíticos en medio amortiguado. La pérdida del primer cloruro es muy rápida para determinarla de manera sencilla y la segunda ocurre con una vida media de 45 minutos o menos. Las variaciones en el grupo saliente X tienen menor efecto sobre este mecanismo que el cambio de ion metálico, aún cuando X es neutro (Figura 2.4). La diferencia entre las especies formadas en medio acuoso por los diferentes metales pueden modular su actividad, aquellos que forman complejos neutros en condiciones fisiológicas pueden entrar en la célula de forma más sencilla.³⁹

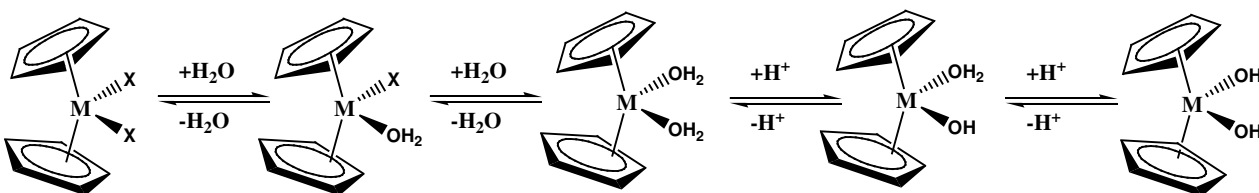
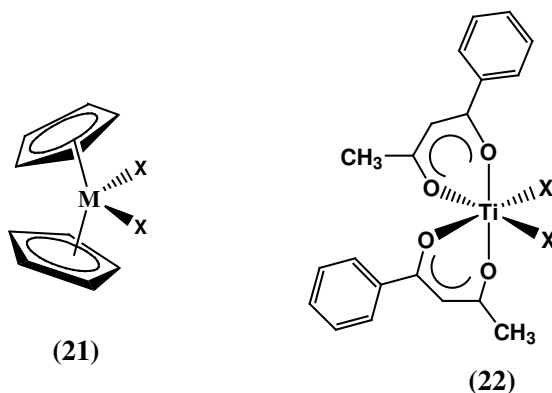


Figura 2.4. Esquema de hidrólisis de los metalocenos dihalogenados en medio acuoso.

Continuando con los compuestos de titanio es necesario mencionar el budotitano (**22**), $cis\text{-}[(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O})_2(\text{bzac})_2\text{Ti}^{\text{IV}}]$ donde bzac= 1-fenilbutano-1,3-diacetonato, que fue el primer compuesto empleado en tratamientos clínicos con centro metálico distinto a platino.⁴⁰

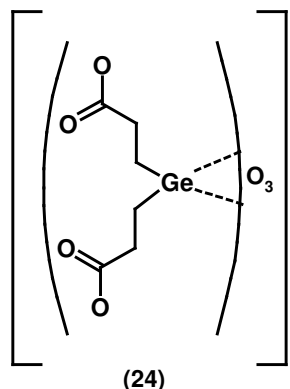
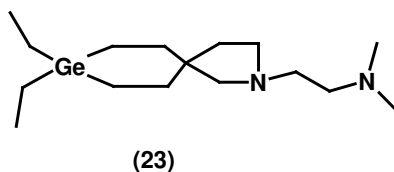


El budotitano es muy efectivo frente a un amplio número de tumores ascíticos y tumores colorrectales inducidos en animales. Los ensayos clínicos indican que es bien tolerado por los pacientes, siendo una arritmia cardiaca el efecto secundario en la dosis máxima tolerada. Aunque no hay mucha información acerca de la forma de acción del budotitano muy probablemente su mecanismo de acción es similar al que presentan el Cp_2TiCl_2 y NAMI.⁴¹

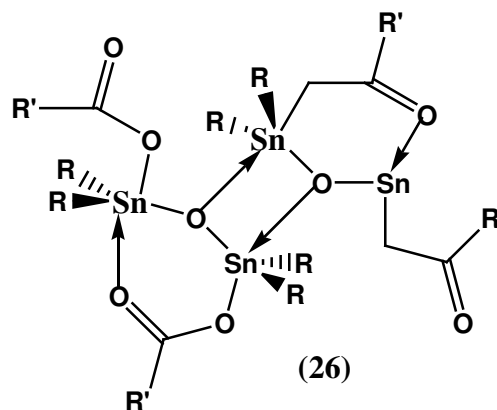
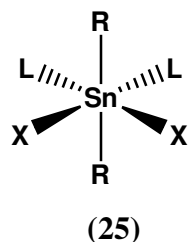
2.3.8.6 Compuestos con metales representativos.

Los compuestos de germanio fueron los primeros compuestos con metales representativos del grupo 14 en los que se identificaron propiedades antiproliferativas, son dos los compuestos de germanio con propiedades antitumorales, el 8,8-dietil-2-[3-(N-dimetilamino) propil]-2azo-8-germaspiro [4,5] decano (spirogermanio) (**23**) y el compuesto polimérico trióxido de bis [(carboxietil) germanio] (**24**). Su actividad antitumoral fue establecida frente a diferentes líneas celulares, entre las que se encontraban el carcinoma de hígado de Lewis y tumor ascítico de Ehrlich, en el caso del primer compuesto los efectos de inhibición tumoral fueron observados frente a carcinomas de ovario avanzados y linfoma. Es interesante el hecho de que la actividad anticancerígena de los compuestos

de germanio no está relacionada con la citotoxicidad directamente sino con la potenciación del sistema inmune por medio de un hospedero, la activación de interferones parece ser un factor importante de su acción.³⁸



El estaño es otro de los elementos representativos empleados en la síntesis de compuestos con actividad antitumoral. Se evaluó una serie de compuestos del tipo X_2R_2Sn y $X_2R_2L_2Sn$ donde X = halógeno R = grupo orgánico y L = ligante nitrogenado monodentado (piridina) o bidentado (etilendiamina, bipyridina, etc.) como posibles análogos del cisplatino, sin embargo presentaron poca actividad (25). Este tipo de compuestos muestran un incremento en su toxicidad en el orden $R_3Sn > R_2Sn > RSn$, así mismo se observa una mayor toxicidad al incrementar la longitud de la cadena.⁴²⁻⁴³



La actividad de muchos de estos compuestos frente a líneas tumorales pone de manifiesto que debe existir un balance entre la solubilidad y la lipofilicidad, requisito necesario para optimizar la eficacia. En un intento por aumentar la solubilidad de estos

compuestos se empleó salicilato o derivados de éste en la serie $(\text{sal})_2\text{R}_2\text{Sn}-\text{O}-\text{SnR}_2(\text{sal})_2$ **(26)**, siendo el más activo el derivado con 5-metoxisalicilato.⁴⁴

En ensayos de citotoxicidad con complejos del tipo $(\text{n-Bu})_2(\text{benz})_2\text{Sn}$, donde benz=benzoato o derivados de éste, se encontró que el complejo que presentó mayor actividad frente a un tumor de colon implantado en ratón es aquel donde benz = 4-hidroxi-3metoxibenzoato.⁴²

El nitrato de galio ($\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$) se emplea para el tratamiento de la hipercalcemia, esta enfermedad consiste en una alta concentración de calcio en la sangre y se relaciona con el cáncer de huesos. Este compuesto también ha presentado actividad frente a linfomas y carcinoma de vejiga,⁴⁵ en combinación con vinblastina e ifosfamida es efectivo contra carcinoma metastático de urotelio y cáncer de ovario resistente a cisplatino, sin embargo los pacientes presentan arritmia cardiaca como efecto secundario. En combinación con paclitaxel (Taxol) se usa en diversos tipos de cáncer que son difíciles de tratar con los agentes existentes.⁴⁶ De la misma forma otras sales de galio también se han empleado en quimioterapia combinada, como el caso del GaCl_3 que se ha administrado oralmente y puede potenciar el efecto del cisplatino.

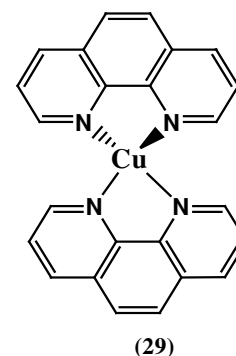
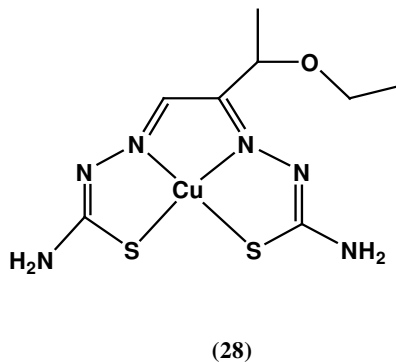
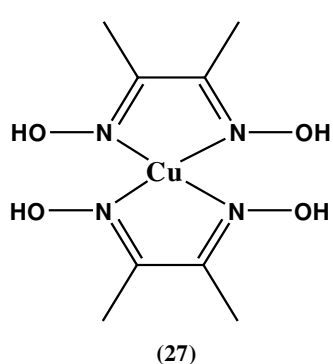
2.3.8.7 Compuestos de cobre.

En la literatura se menciona la capacidad del CuSO_4 como inhibidor del crecimiento tumoral en varios modelos experimentales de carcinoma como el tumor de Ehrlich, sin embargo, al no provocar experimentalmente un incremento en el índice de supervivencia suficiente para cumplir con los protocolos de evaluación internacionales se abandonó su estudio.⁴⁷

En el caso de los compuestos $[\text{Cu}(\text{dimetilgloxima})_2]$ **(27)** y el $[\text{Cu}(\text{3-etoxi-2-oxobutiraldehido bis(tiosemicarbazona)})]$ ($\text{Cu}(\text{II})\text{KTS}$) **(28)**, el ligante por si mismo presenta actividad antitumoral, siendo la función del ion Cu^{2+} la de potenciar esta actividad. El

complejo de cobre con oxima mostró actividad considerable *in vitro* frente a tumores ascíticos de Ehrlich y a S180, sin embargo, las pruebas *in vivo* en modelos murinos produjeron resultados desalentadores.⁴⁷

El caso del complejo Cu(II)KTS es distinto, en diversos trabajos publicados entre 1965 y 1967 se presentan los resultados de estudios *in vitro* e *in vivo* que ponen a este compuesto como un candidato potencial para continuar su estudio en la fase clínica.⁴⁸⁻⁵⁰ Un año después, en 1968, se propone que este compuesto inhibe la biosíntesis de ADN por la disminución en la formación de nucleótidos de pirimidina⁵¹ y se trabaja con nuevos ligantes parecidos al KTS.⁵²



En la década de 1980 otro compuesto de cobre llama la atención de muchos investigadores, el $[\text{Cu}(1,10\text{-fenantrolina})_2]^{2+}$ ($[\text{Cu}(\text{o-fen})_2]^+$) (**29**), el cual no es evaluado como antitumoral, sin embargo presenta características muy interesantes desde el punto de vista bioquímico. Ha sido demostrado que este compuesto provoca la ruptura de ácidos nucleicos (actividad nucleasa), produciendo un patrón específico de fragmentos que es diferente a otros compuestos que tienen la misma función.⁵³⁻⁵⁴

Para que se lleve a cabo la ruptura del ADN es necesaria la presencia de H_2O_2 ya que una vez que se ha llevado a cabo la formación de un complejo no covalente entre $[\text{Cu}(\text{o-fen})_2]^+$ y el ADN, el H_2O_2 a través de una reacción de óxido-reducción que involucra a un electrón oxida al complejo cúprico para producir el oxo complejo de cobre, que es

directamente responsable del daño oxidativo que se observa, este proceso también ayuda a explicar la especificidad de ruptura del daño observado.⁵⁵⁻⁵⁶

El mecanismo propuesto para la interacción se muestra en la figura 2.5, en donde se proponen dos alternativas posibles, el primer caso es la formación del complejo cuproso en la disolución, el cual interacciona de manera no covalente con el surco menor del ADN, en donde posteriormente es oxidado por el H_2O_2 . En el segundo caso, el complejo cúprico se une de forma no covalente al surco menor y posteriormente es reducido en la superficie del ADN antes de reaccionar con el H_2O_2 .⁵⁷⁻⁵⁸ Dado que ambos complejos, tanto el cúprico como el cuproso y sus derivados presentan una gran afinidad por el ADN, ambos mecanismos pueden ser posibles.

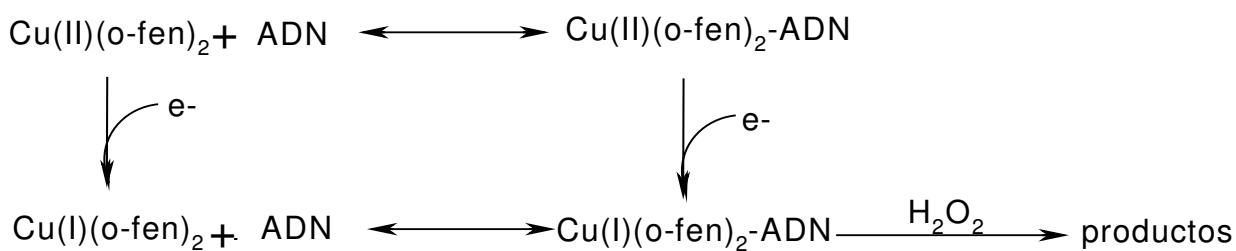
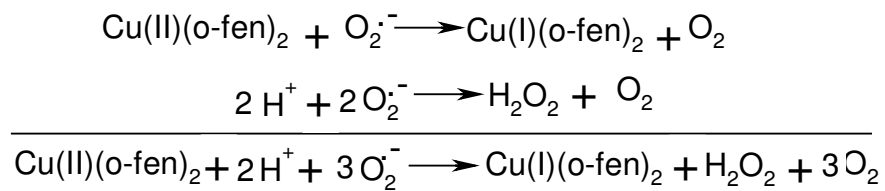


Figura 2.5. Mecanismo propuesto para la interacción de $[\text{Cu}(\text{o-fen})_2]^+$ con el ADN.

Estudios mecanísticos sugieren que el complejo cuproso no es un eficiente generador de radicales hidroxilo cuando interacciona con peróxido de hidrógeno⁶, por lo cual el oxo complejo de cobre es el oxidante que ataca en primera instancia a la desoxiribosa.

La ruptura de ADN también se puede presentar cuando hay anión superóxido en el medio, este anión se produce de manera natural en diversos procesos celulares, y cuando en este medio se encuentra el $[\text{Cu}(\text{o-fen})_2]^{2+}$ se pueden llevar a cabo las siguientes reacciones:



Donde el anión superóxido reduce al complejo cúprico para producir el complejo cuproso y oxígeno, mientras al mismo tiempo una reacción de dismutación de anión superóxido produce H_2O_2 y oxígeno, los dos reactivos necesarios para la ruptura de la cadena de ADN ya mencionada.⁵⁵

3. Antecedentes

3.1 Casiopeínas[®]

En la década de los 80's, un grupo de investigadores de la Facultad de Química dirigido por la doctora Lena Ruiz comenzó a trabajar con compuestos de coordinación de cobre (II) que fueron registrados y patentados bajo el nombre de Casiopeínas[®].

Las Casiopeínas[®] son complejos de coordinación mixtos que involucran en su estructura ligantes bidentados con átomos donadores nitrógeno y oxígeno, estos tienen como fórmulas generales $[Cu(N-N)(O-O)]NO_3$ y $[Cu(N-N)(N-O)]NO_3$, donde (N-N)=x-fenantrolina o x-bipiridina, (O-O)= acetilacetato o salicilaldehidato y (N-O)= α -aminoacido o péptido, cuyas estructuras generales se muestran en la figura 2.6.

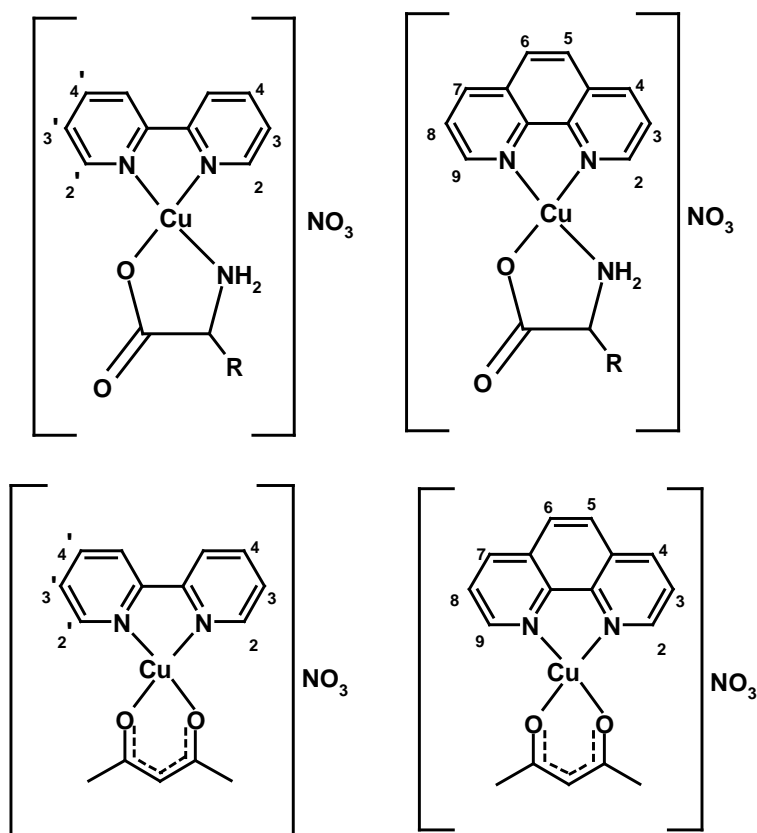


Figura 2.6. Estructuras generales de las Casiopeínas[®]. En la figura no se muestran los compuestos que tienen en su estructura salicilaldehidato.

Estos compuestos suman más de 100 y se encuentran clasificados en diez familias, las cuales se muestran en la tabla 2.3.

Tabla 2.3 Clasificación de las Casiopeínas [®]	
Clave	Formula general
Casiopeína I	[Cu(4,7-difenil-1,10-fenantrolina)(N-O) ^a] ₂ NO ₃
Casiopeína II	[Cu(4,7-dimetil-1,10-fenantrolina)(N-O)] ₂ NO ₃
Casiopeína IIIa	[Cu(N-N) ^b (acetilacetato)] ₂ NO ₃
Casiopeína IIIb	[Cu(N-N)(salicilaldehidato)] ₂ NO ₃
Casiopeína IV	[Cu(4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina)(N-O)] ₂ NO ₃
Casiopeína V	[Cu(5-R-1,10-fenantrolina)(N-O)] ₂ NO ₃
Casiopeína VI	[Cu(5,6-dimetil-1,10-fenantrolina)(N-O)] ₂ NO ₃
Casiopeína VII	[Cu(1,10-fenantrolina)(N-O)] ₂ NO ₃
Casiopeína VIII	[Cu(3,4,7,8-tetrametil-1,10-fenantrolina)(N-O)] ₂ NO ₃
Casiopeína IX	[Cu(2,2'-bipiridina)(N-O)] ₂ NO ₃
Casiopeína X	[Cu(N-N)(péptido)] ₂ NO ₃

- a. N-O = α -aminoacidato
 b. N-N= R-1,10-fenantrolina o R-2,2'-bipiridina

La evidencia experimental obtenida por Rosenberg para el cisplatino, establece que los compuestos para tener actividad deben cumplir con los siguientes postulados: (a) deben contener ligantes que favorezcan una configuración *cis* en la esfera de coordinación del metal (b) la fuerza de enlace de los ligantes al centro metálico debe ser diferente, uno debe estar fuertemente enlazado, mientras que el otro o los otros deben tener menor fuerza de enlace que facilite su intercambio por biomoléculas y (c) la molécula en cuestión debe ser neutra.⁶⁰

Para el diseño de las Casiopeínas[®] se consideró importante el cumplimiento de los siguientes aspectos: (a) el metal debía estar entre los considerados como esenciales para el organismo, (b) los ligantes empleados debían forzar la configuración *cis* en la esfera de coordinación del cobre (ligantes bidentados como R-1,10-fenantrolina, R-2,2'-bipiridina, α -aminoacidatos, acetilacetatos y salicilaldehidatos), (c) las diferencias en la afinidad que presenta el cobre en estado de oxidación (II) hacia ligantes con donadores nitrógeno y donadores oxígeno podría facilitar un posible intercambio de ligantes entre el complejo y biomoléculas, (d) los diferentes ligantes empleados para obtener el complejo deberán proporcionar diferentes

grados de hidrofobicidad y (e) los compuestos obtenidos deberán ser catiónicos para facilitar su solubilidad en agua.

Los aspectos a cumplir citados en el párrafo anterior toman en cuenta el hecho de que al emplear un metal esencial como el cobre, el organismo cuenta con mecanismos para su eliminación en caso de encontrarse en grandes cantidades, lo que podría llevar a disminuir en la medida de lo posible la toxicidad de los compuestos, así mismo, el contener sistemas aromáticos planos como lo son las diiminas puede facilitar una interacción de tipo π - π con las bases que se encuentran disponibles para este tipo de interacción en los surcos mayor y menor del ADN^{57,61} además de que el cobre debido a los potenciales redox que presenta puede participar en reacciones de tipo Fenton y Haber-Weiss para producir radicales libres⁶².

De las Casiopeínas[®] se han determinado constantes de formación de los complejos, se han realizado estudios de estabilidad en solución⁶³, relaciones estructurales⁶⁴, estudios teóricos⁶⁵ y se cuenta con las estructuras cristalinas de algunos de ellos.

En lo concerniente a interacción con biomoléculas, las Casiopeínas[®] de las familias I y II interaccionan con el ADN por medio de una intercalación que se presenta por medio del ligante diimina, donde los valores de constantes de asociación son dependientes de la contribución en el factor estérico del aminoácido.⁶⁶ Por otro lado, la interacción de un miembro de la familia III, el [Cu(4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina)(acetilacetato)]NO₃, (Casiopeína III-ia) con adenina, guanina, citosina y tirosina mostró que la mayor interacción se presenta con adenina en forma de apilamiento⁶⁷, este mismo compuesto puede sufrir una sustitución del ligante acetilacetato por metionina, el cual es un residuo muy abundante en la célula.⁶⁸

Con respecto a la evaluación de la actividad biológica se han empleado modelos tanto *in vitro* como *in vivo* en donde se ha observado que estos compuestos muestran actividad citotóxica, citostática y antineoplásica.⁴⁻⁶

Los compuestos más empleados en la evaluación de la actividad biológica pertenecen a la familias II y III, el [Cu(4,7-dimetil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO₃ (Casiopeína Iigli) y el [Cu(4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina)(acetilacetato)]NO₃ (Casiopeína III-ia).

Un estudio empleando la Casiopeína Iigli administrando diferentes dosis en células CH1 muestra que la muerte celular se da principalmente por apoptosis⁶⁹, mientras que en células de glioma C6 tanto *in vitro* como *in vivo*, se observa inhibición en la proliferación celular, incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno y la inducción de apoptosis en una manera dosis dependiente. Los resultados sugieren que en los eventos apoptóticos intervienen mecanismos caspasa dependientes y caspasa independientes en función de la dosis empleada.⁷⁰

Estudios de hemotoxicidad en ratas donde se administra Casiopeína Iigli muestran los cuadros clínicos de anemia hemolítica acompañada de leucocitosis y neutrofilia después de la administración, sin embargo se alcanzan nuevamente los niveles normales cinco días después. El cambio observado en la morfología de las células rojas es atribuido a la formación de especies reactivas de oxígeno, en la formación de las cuales está implicado el Cu²⁺ por medio de una reacción de óxido-reducción.⁷¹

La producción de especies reactivas de oxígeno también se manifiesta en estudios realizados en bacterias, donde la respuesta anómala al inducir un shock oxidativo puede deberse a los radicales formados a través de reacciones de tipo Fenton y Haber-Weiss⁷², así mismo, las Casiopeínas[®] Iigli y III-ia inhiben la respiración y síntesis de ATP en mitocondrias, los resultados muestran que la Casiopeína II es 10 veces más efectiva en la inhibición que la Casiopeína IIIa, mostrando además que la vía de inhibición depende de la concentración.⁷³

Debido a estos resultados se cuenta con métodos cromatográficos validados para la detección de Casiopeína Iigli⁷⁴ y Casiopeína III-ia⁷⁵ en

plasma de rata para un intervalo de concentraciones de 2.5 a 5 $\mu\text{g/mL}$ para la primera y de 5 $\mu\text{g/mL}$ para la segunda.

Con la finalidad de conocer algunos de los parámetros que pudieran ser útiles en la descripción de la actividad mostrada por estos compuestos, se realizó un estudio de correlación estructura-actividad empleando compuestos de la familia III con fórmula general $[\text{Cu}(\text{N-N})(\text{acac})]\text{NO}_3$ donde se concluyó que la presencia del tercer anillo aromático presente en la fenantrolina pero no así en la bipyridina se ve reflejado en la actividad biológica, siendo los compuestos con fenantrolina los que inducían una mayor disminución en la proliferación celular en las líneas tumorales HeLa y SiHa. Así mismo, las ecuaciones sugieren que el parámetro electrónico es de gran relevancia, y debido a que éste fue el potencial de media onda, es posible pensar en que estos compuestos estén involucrados en reacciones de óxido-reducción de tipo Fenton.⁷⁶

Estos resultados son los que hacen indispensable el realizar un estudio de estructura-actividad empleando ahora compuestos pertenecientes a las familias restantes, que aporten datos acerca de cual es el posible mecanismo de acción de este tipo de compuesto.

3.2 Correlaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR).^{77,78}

Desde finales del siglo XIX los químicos y los farmacólogos observaron que la actividad biológica que presentaba algún compuesto en particular podía ser incrementada o disminuida cambiando los grupos funcionales que estaban unidos a la estructura padre o estructura de partida. Se esperaba que estos cambios pudieran incrementar la diferencia entre las dosis tóxicas y terapéuticas así como evidenciar nuevas propiedades.

Al final de la década de 1860 Crum-Brown y Fraser mostraron que cambios graduales en la estructura de ciertas drogas coincidían con cambios

en su respuesta biológica, lo que les llevó a postular que la actividad de una droga (ϕ) estaba en función de su estructura (C):

$$(\phi) = f(C) \dots\dots\dots(1).$$

En 1893 Riched trabajando con narcóticos muestra que el grado de actividad de los compuestos es inversamente proporcional a su solubilidad en agua, trabajo complementado por Meyer y Overton al mostrar que la actividad narcótica de ciertos compuestos presentaban un comportamiento similar pero ahora tomando en cuenta la distribución del compuesto en un medio de aceite / agua.

En investigaciones posteriores se relacionaron otras propiedades fisicoquímicas con las respuestas biológicas presentadas por las moléculas, así Ferguson en 1939 conjunta todo el trabajo realizado al proponer la ecuación 2:

$$C_i = kA_i^m \dots\dots\dots(2)$$

donde C_i es la concentración necesaria del compuesto para presentar una respuesta definida, A_i es un parámetro fisicoquímico o descriptivo del compuesto mientras k y m son constantes propias de una serie de compuestos.

Al mismo tiempo que se desarrollaban más modelos matemáticos en las correlaciones cuantitativas de estructura actividad, se introdujo otro tipo de aproximación, el modelo lineal de energía libre. Empleando la ecuación de Hammet para las reacciones de ácido benzoico y sus derivados (ecuación 3), muchos investigadores trataron de establecer correlaciones entre las propiedades fisicoquímicas y las respuestas biológicas.

$$\log\left(\frac{k_x}{k_H}\right) = \rho\sigma \dots\dots\dots(3)$$

En la ecuación 3, k_x y k_H son las constantes de equilibrio para las reacciones de compuestos sustituidos y no sustituidos respectivamente, σ es una constante que depende completamente de la naturaleza y posición del sustituyente y ρ es una constante que depende del tipo y las condiciones de reacción, así como de la naturaleza del compuesto. Si se rescribe la ecuación se muestra una clara relación lineal entre la constante del sustituyente (σ) y el logaritmo de la reactividad del compuesto (k_x). (Ecuación 4).

$$\log k_x = \rho\sigma + \log k_H \dots\dots\dots(4)$$

Como el logaritmo de una constante de equilibrio es proporcional al cambio en la energía libre de Gibbs, esta y otras relaciones similares se conocen como “relaciones de energía libre”.

Sin embargo, esta relación proporcionó pocos resultados exitosos, por lo cual Zahradník y colaboradores extendieron este tratamiento para incluir otros parámetros fisicoquímicos para relacionarlos con las respuestas biológicas mostradas por una serie de compuestos homólogos, lo cual se resume en la ecuación 5.

$$\log\left(\frac{\tau_i}{\tau_{et}}\right) = \alpha\beta \dots\dots\dots (5)$$

donde τ_i es la concentración molar necesaria del i ésimo congénere de una serie de compuestos alifáticos homólogos para presentar una respuesta biológica definida, τ_{et} es la concentración molar del derivado etilo de la serie para producir la misma respuesta, α es una constante que depende de la naturaleza de la serie de compuestos y del sistema biológico y β es un parámetro fisicoquímico que depende del sustituyente.

Hansch y colaboradores reconocen la naturaleza fisicoquímica de las reacciones biológicas y además reconoce la importancia de la separación de

las propiedades fisicoquímicas que están involucradas en la respuesta biológica, por ello proponen la expansión de la relación lineal de energía libre para poder incluir parámetros fisicoquímicos adicionales como se muestra en la ecuación 6.

$$\log\left(\frac{1}{C}\right) = k_1\pi + k_2\sigma + k_3 \dots\dots\dots (6)$$

donde C es la concentración molar del compuesto para producir una respuesta biológica definida, las constantes k_1, k_2 y k_3 se obtienen empleando el método de mínimos cuadrados, π es definida de manera análoga a σ , $\pi = \log P_x - \log P_H$, donde P_x es el coeficiente de partición en octanol/agua para el compuesto sustituido y P_H el coeficiente de partición para el compuesto base o de partida.

Hansch propone que es posible construir un modelo para describir una respuesta biológica empleando tres tipos de parámetros fisicoquímicos: estéricos, electrónicos e hidrofóbicos (ecuación 7), obteniendo de esta manera una correlación que involucre más de un parámetro descriptor y conocer de manera cuantitativa cuan importante es, así como la dilucidación o al menos que proporcione una mayor cantidad de información acerca del posible mecanismo de acción.⁷⁹

$$RB = f(\text{electrónicos}, \text{estéricos}, \text{hidrofóbicos}) \dots\dots\dots (7)$$

Todo esto con la finalidad de desarrollar nuevos compuestos capaces de ayudar en el tratamiento de enfermedades como el cáncer, el SIDA y muchas otras más que aquejan a la población y cuyo control o erradicación son necesidades primordiales a satisfacer.

4. Hipótesis

La variación de la naturaleza y posición de los sustituyentes sobre el ligante fenantrolina manteniendo el segundo ligante constante (compuestos de fórmula general $[\text{Cu}(\text{R-1,10-fenantrolina})(\text{glicinato})]\text{NO}_3$) tendrá un efecto directo sobre el potencial de óxido-reducción, así como en la actividad biológica que presente cada uno de estos compuestos.

5. OBJETIVOS.

Objetivo general.

- Encontrar las propiedades de las nueve Casiopeínas sintetizadas que en conjunto con el potencial de media onda ($E_{1/2}$) puedan ser empleadas en la construcción de ecuaciones que permitan describir de manera cuantitativa la actividad biológica mostrada por los compuestos.

Objetivos particulares

- Sintetizar y caracterizar 9 compuestos de coordinación de cobre pertenecientes a la familia de Casiopeínas[®].
- Realizar el estudio electroquímico de estos compuestos y obtener el potencial de media onda ($E_{1/2}$) que será empleado como descriptor electrónico en las ecuaciones de correlación estructura actividad.
- Evaluar los compuestos sintetizados en dos líneas tumorales humanas HeLa y SiHa, obtener el valor de concentración media de inhibición de la proliferación (CI_{50}) en ambas líneas y compararlos con la CI_{50} de cisplatino.
- Encontrar los parámetros que pueden ser empleados para la descripción de la actividad de los compuestos evaluados.
- Construir ecuaciones de correlación estructura-actividad.

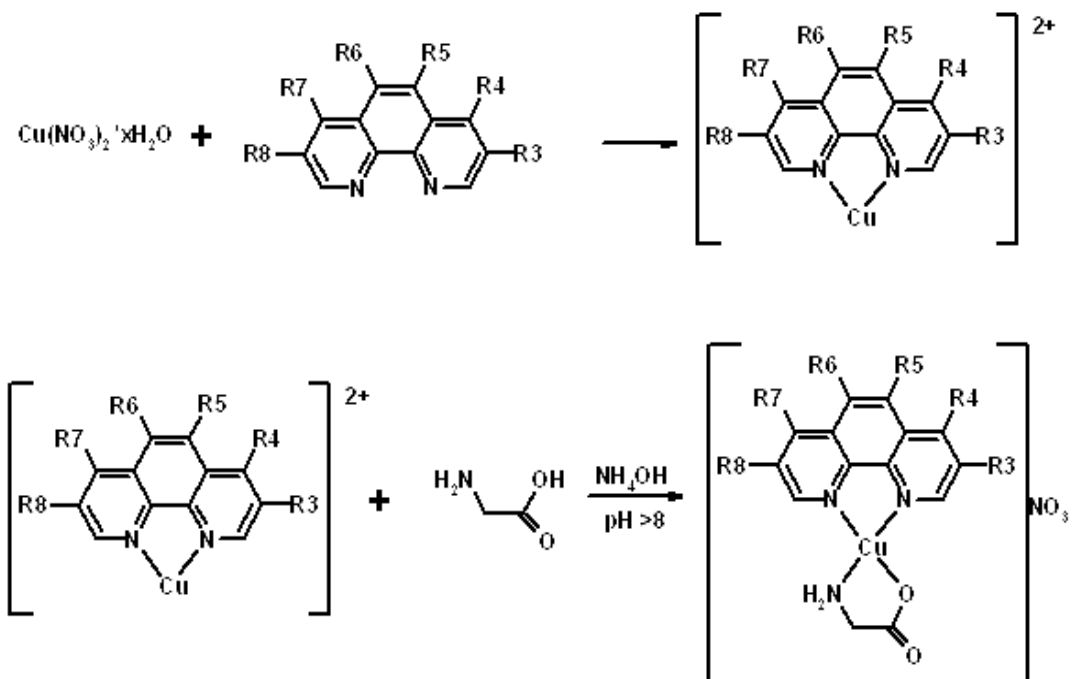
6. Parte experimental.

6.1 Síntesis

La síntesis se realizó de acuerdo a las patentes registradas para Casiopeínas[®]. Las fenantrolinas empleadas se enlistan a continuación:

- 4,7-dimetil-1,10-fenantrolina
- 4,7-difenil-1,10-fenantrolina
- 5,6-dimetil-1,10-fenantrolina
- 3,4,7,8-tetrametil-1,10-fenantrolina
- 1,10-fenantrolina
- 4-metil-1,10-fenantrolina
- 5-metil-1,10-fenantrolina
- 5-cloro-1,10-fenantrolina
- 5-nitro-1,10-fenantrolina

El esquema de reacción es el siguiente:



Las fenantrolinas así como la glicina fueron adquiridas de GFS Chemicals, el $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ de Sigma-Aldrich Co., el NH_4OH así como el MeOH y EtOH fueron adquiridos de J.T. Baker.

6.2 Técnicas empleadas en la caracterización.

El análisis elemental se realizó en un equipo *Fisons Instruments Analyzer* modelo EA 1108 usando un estándar de sulfanilamida.

La espectroscopia IR en la región media del espectro se efectuó en un espectrofotómetro *Nicolet AVATAR 320 FT-IR* en el intervalo de $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$, las muestras fueron preparadas en pastillas de KBr (Sigma-Aldrich) de grado espectroscópico; y en para la región lejana del espectro se empleó un espectrofotómetro *Bruker Vector 22* en el intervalo de $800\text{-}200\text{ cm}^{-1}$, las muestras fueron preparadas como disolución en sólido con CsI (Sigma-Aldrich) grado espectroscópico.

Las mediciones de conductividad se realizaron con un conductímetro *Jenway 4330 Conductivity and pH meter* en concentración 1mM de cada complejo en solución metanólica a $25\text{ }^\circ\text{C}$.

Las determinaciones de la susceptibilidad magnética por gramo de compuesto se determinó mediante el método de Gouy y se utilizó para determinar el momento magnético efectivo, para ello se empleó una balanza magnética *Mkl de Sherwood Scientific* con valor de constante de 0.99128.

Los espectros de UV-vis. se adquirieron con un espectrofotómetro *Hewlett Packard 8452* de arreglo de diodos, en un intervalo de 190 a 900 nm, las muestras se prepararon en solución metanólica empleando una concentración $1 \times 10^{-3}\text{ M}$.

6.2.1 Difracción de rayos-X.

Fue posible obtener un cristal único por medio de una lenta evaporación del disolvente. Los datos cristalográficos fueron obtenidos con un difractómetro *Siemens P4* utilizando el sistema *XSCANs*, versión 2.10, con fuente de radiación Mo-K_α ($\lambda = 0.71073\text{\AA}$). La resolución y refinación de la estructura se llevó a cabo utilizando el programa *ShelXS*. Todos los átomos, con excepción de los hidrógenos, fueron refinados anisotrópicamente. Las posiciones de los átomos de hidrógeno fueron generadas geométricamente e incluidos en el refinamiento con parámetros térmicos isotópicos. El factor de dispersión para cada átomo y las correcciones a las dispersiones anómalas fueron tomadas de las Tablas Internacionales de Cristalografía. Los gráficos de las estructuras moleculares fueron generados usando el programa *ORTEP3* para Windows.⁸⁰

6.3 Estudios de voltamperometría cíclica

Los experimentos de electroquímica se realizaron con un *potenciostato-galvanostato EG & G PARC modelo 263-A*. En las determinaciones se empleó un arreglo de tres electrodos, como electrodo de trabajo se utilizó un disco de carbón vítreo de 0.071 cm^2 de área geométrica, como electrodo auxiliar se usó un alambre de platino y como electrodo de pseudo-referencia un alambre de plata inmerso en una disolución de AgNO_3 0.1 M. Como electrolito soporte se empleó KNO_3 (Sigma-Aldrich) y se ajustó el pH a un valor de 7 con el amortiguador 1,3-bis [tris(hidroximetil)metilamino]propano (BTP) (Sigma-Aldrich).

Se utilizaron disoluciones de concentración 1 mM de analito preparadas en una mezcla de disolventes agua-etanol (60:40), con 2.5mL de KNO_3 0.1 M en disolución acuosa, 0.5 mL de BTP 0.1 M en disolución acuosa y 2 mL de etanol. Todas las disoluciones fueron burbujeadas por 20 minutos con N_2 antes de comenzar el experimento, después de cada medición se limpió el electrodo de

trabajo con etanol y se secó con papel. Los potenciales se reportan con respecto al par Ferricinio-Ferroceno (Fc^+/Fc) de acuerdo a la convención de la IUPAC.⁸¹

Se efectuaron estudios de variación de velocidades de barrido de 25 , 50, 100 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 y 1000 mV/s en dirección anódica y catódica, así como estudios de inversión de potenciales $E_{\lambda+}$ y $E_{\lambda-}$ en dirección anódica y catódica a una velocidad de 100 mV/s.

6.4 Determinación de concentración inhibitoria media (CI_{50})

Para la determinación de la concentración inhibitoria 50 (CI_{50}) se realizó el ensayo de inhibición de la proliferación celular empleando dos líneas tumorales humanas de cervix, HeLa y SiHa (adquiridas a la ATCC). Para este ensayo se emplearon placas de 96 pozos, en las cuales se adicionó 100 μl de medio de cultivo D-MEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) adicionado al 10% con suero fetal bovino (FBS) por pozo de prueba y 2×10^4 células por pozo.

Las placas se incubaron a 37° C y 5% de CO_2 durante 24 horas, transcurrido este tiempo se aspiró el medio de cultivo, posteriormente se adicionaron 90 μl de D-MEM adicionado con 10% de FBS y 10 μl de la solución del compuesto de prueba en concentraciones de 10, 1, 0.3, 0.1 y 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ por triplicado. Las placas se incubaron en las mismas condiciones durante 24 horas al término de las cuales se aspiró el medio y las células fueron fijadas con 200 μl de ácido tricloroacético al 10% durante una hora a 4° C. Posteriormente se realizaron 5 lavados con agua y se dejaron secar a temperatura ambiente.

La tinción se realizó adicionando 100 μL de sulforrodamina-B ($\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{NaO}_7\text{S}_2$, Sigma-Aldrich) al 0.4 % a cada uno de los pozos y se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente. Después se realizaron 4 lavados con ácido acético al 1 %. Las placas se secaron a temperatura ambiente. Una vez secas, el colorante se solubilizó con 100 μL de Tris(hidroximetil)aminometano

(Tris-base) 10 mM (pH 10.5) durante 5 minutos con agitación suave. Finalmente el colorante se lee en un lector de microplacas a 564 nm.

El ensayo con sulforrodamina-B es un típico ensayo de medición de proteínas, se asume que las células muertas son removidas durante el proceso y no contribuyen en el punto colorimétrico. La sulforrodamina-B es un colorante aniónico de tipo aminoxanteno rosa brillante con dos grupos sulfónicos, este es un colorante de proteínas el cual bajo condiciones medianamente ácidas se une a los residuos de aminoácidos básicos en las células fijadas con ácido tricloroacético.⁸²⁻

83

Para calcular la (CI_{50}) se determina para cada línea y compuesto la capacidad para inducir el 50% de inhibición de la capacidad proliferativa mediante la siguiente ecuación considerando como proliferación celular máxima (100%) la de los cultivos control.

$$\% \text{ proliferación} = 100 * [A_T / A_C]$$

Donde A_T = Absorbancia de los pozos tratados, A_C = absorbancia de los pozos control.

En todos los ensayos el control negativo es un pozo al cual se le adiciona agua y el control positivo es el cisplatino.

Se utiliza el programa StatPlus 2005 para realizar el análisis estadístico Probit el cual proporciona el valor de CI_{50} .

6.5 Construcción de ecuaciones de correlación estructura actividad (QSAR).

Con los resultados de la CI_{50} determinada en cada línea tumoral se procedió a la correlación del logaritmo del inverso de este valor ($\log 1/CI_{50}$) con los parámetros fisicoquímicos obtenidos experimentalmente y los enlistados en la literatura.

En primera instancia se hace la correlación entre ($\log 1/CI_{50}$) con cada uno de los parámetros fisicoquímicos empleando el métodos de los mínimos cuadrados para seleccionar los descriptores más convenientes.

Una vez seleccionados los descriptores, se construye una ecuación con dos de ellos empleando una regresión multiparamétrica la cual proporcionará al peso de cada parámetro en la descripción de una respuesta biológica dada, en este caso, la concentración necesaria para inhibir el crecimiento en un 50% de la población.

Los resultados de cada una de estas ecuaciones se comparan con la respuesta experimental obtenida.

7. Resultados y discusión

7.1 Caracterización

Los compuestos sintetizados se identificaran de acuerdo a la numeración y claves a continuación indicadas para facilitar su manejo en las tablas y durante la discusión.

- (1) $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})(4,7\text{-difenil-1,10-fenantrolina})(\text{glicinato})]\text{NO}_3$ Nitrato de acuo(4,7-difenil-1,10-fenantrolina)(glicinato) cobre (II)..... **CasIgli.**
- (2) $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_2(4,7\text{-dimetil-1,10-fenantrolina})(\text{glicinato})]\text{NO}_3$ Nitrato de diacuo(4,7-dimetil-1,10-fenantrolina)(glicinato) cobre (II)..... **CasIIgli**
- (3) $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})(5,6\text{-dimetil-1,10-fenantrolina})(\text{glicinato})]\text{NO}_3$ Nitrato de acuo(5,6-difenil-1,10-fenantrolina)(glicinato) cobre (II)..... **CasVIgli**
- (4) $[\text{Cu}(3,4,7,8\text{-tetrametil-1,10-fenantrolina})(\text{glicinato})]\text{NO}_3$ Nitrato de (3,4,7,8-tetrametil-1,10-fenantrolina)(glicinato) cobre (II)..... **CasVIIIgli**
- (5) $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})(1,10\text{-fenantrolina})(\text{glicinato})]\text{NO}_3$ nitrato de acuo(1,10-fenantrolina)(glicinato) cobre (II)..... **CasVIIgli**
- (6) $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})(4\text{-metil-1,10-fenantrolina})(\text{glicinato})]\text{NO}_3$ Nitrato de acuo(4-metil-1,10-fenantrolina)(glicinato) cobre (II)..... **Cas4mgli**
- (7) $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})(5\text{-metil-1,10-fenantrolina})(\text{glicinato})]\text{NO}_3$ Nitrato de acuo(5-metil-1,10-fenantrolina)(glicinato) cobre (II)..... **CasVmgli**
- (8) $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})(5\text{-cloro-1,10-fenantrolina})(\text{glicinato})]\text{NO}_3$ Nitrato de acuo(5-cloro-1,10-fenantrolina)(glicinato) cobre (II)..... **CasVCigli**
- (9) $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})(5\text{-nitro-1,10-fenantrolina})(\text{glicinato})]\text{NO}_3$ Nitrato de acuo(5-nitro-1,10-fenantrolina)(glicinato) cobre (II)..... **CasVNO₂gli**

7.1.1 Espectroscopia infrarroja

Las frecuencias de absorción observadas en el espectro IR para cada uno de los compuestos sintetizados se presentan en la tabla 7.1. Se identifican las ν_{asim} del grupo $-\text{COO}^-$ y las correspondientes vibraciones para el grupo $-\text{NH}_2$, así como las vibraciones $\nu(\text{C}=\text{C})$ y $\nu(\text{C}=\text{N})$ de la fenantrolina, lo que permite establecer la coordinación de ambos ligantes⁸⁴. La presencia de la frecuencia de vibración entre 1360 y 1385 cm^{-1} corresponde al ión nitrato que se encuentra como contra-ion del complejo de cobre.

Tabla 7.1 Principales bandas de absorción en el infrarrojo ($4000\text{-}400\text{cm}^{-1}$).									
Compuesto	Glicina coordinada				Fenantrolina coordinada				NO_3^-
	νNH_2	νNH_2	$\nu_{\text{as}}\text{COO}^-$	δNH_2	$\nu(\text{C}=\text{C})$	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\nu(\text{C}=\text{C})$	$\nu(\text{C}=\text{N})$	
CasIgli	3449	3240	1604	633	1522	1428	852	709	1364
CasIIgli	3446	3255	1602	637	1525	1429	871	726	1383
CasVIgli	3421	3261	1632	597	1525	1435	822	709	1385
CasVIIgli	3395	3300	1620	645	1533	1434	828	725	1385
CasVIIigli	3419	3258	1612	649	1520	1430	851	722	1384
Cas4mgli	3430	3243	1628	610	1522	1430	856	726	1382
CasVmgli	3404	3253	1632	622	1524	1430	816	730	1384
CasVCigli	3419	3249	1613	648	1517	1426	820	729	1365
CasVNO₂gli	3413	3250	1629	----	1519	1426	822	722	1384

En las vibraciones correspondientes a la interacción metal ligante se identificó la vibración correspondiente a la formación de un anillo de cinco miembros debido a la coordinación de la glicina con el cobre (N-Cu-O)⁸⁵, así como las vibraciones individuales correspondientes al metal interaccionando con cada uno de los átomos

donadores de los ligantes⁸⁴, los valores se muestran en la tabla 7.2. Los espectros de todos los compuestos se presentan en el anexo 1.

Tabla 7.2. Principales bandas de absorción en el infrarrojo (800-200 cm ⁻¹)									
Vibración (ν)	Cas Igli	CasII gli	CasV Igli	CasVII Igli	CasVI Igli	Cas4 mgli	CasV mgli	CasVC Igli	CasVN O ₂ gli
Cu-N^φ	503	502	498	507	508	501	504	502	505
Cu-N^φ	431	435	441	433	430	438	419	433	433
Cu-N^φ	398	398	396	392	402	400	396	402	395
Cu-N^φ	292	294	301	289	293	295	296	-----	291
Cu-N⁺	478	487	478	496	487	470	493	484	488
Cu-N⁺	465	462	459	462	459	458	465	462	460
Cu-O	323	317	317	324	319	319	319	315	313
Cu-O	279	284	287	278	278	278	285	280	280
N-Cu-O	550	559	559	552	557	563	557	560	556

φ Nitrógeno perteneciente a fenantrolina

+ Nitrógeno perteneciente a glicinato

7.1.2 Análisis elemental.

El análisis elemental teórico concuerda con los resultados obtenidos experimentalmente ajustándose en la gran mayoría de los casos con una molécula de agua, a excepción de los compuestos **CasIgli**, **CasIIgli** y **CasVIIIgli** que se ajustaron con 1.5, 2 y ninguna molécula de agua respectivamente, la fórmula mínima así como los pesos moleculares para los compuestos se muestran en la tabla 7.3.

Tabla 7.3 Análisis Elemental					
Compuesto	A.E. teórico	A.E. exp.	%Error	Fórmula mínima ^a	P.M. ^b
CasIgli	C 55.81	C 55.81	C 0.0	CuC ₂₆ H ₂₀ N ₄ O ₅ *1.5H ₂ O	559.01
	N 10.01	N 10.01	N 0.0		
	H 4.114	H 4.114	H 0.0		
CasIIgli	C 43.29	C 43.53	C 0.55	CuC ₁₆ H ₁₆ N ₄ O ₅ *2H ₂ O	443.86
	N 12.62	N 12.61	N 0.08		
	H 4.541	H 4.697	H 3.43		
CasVIgli	C 47.11	C 47.37	C 0.55	CuC ₁₆ H ₁₆ N ₄ O ₅ *H ₂ O	425.86
	N 13.73	N 13.78	N 0.36		
	H 3.953	H 4.151	H 5.00		
CasVIIgli	C 47.63	C 46.97	C 1.38	CuC ₁₈ H ₂₀ N ₄ O ₅	435.91
	N 12.34	N 12.67	N 2.67		
	H 4.885	H 4.842	H 0.88		
CasVIIigli	C 44.27	C 44.01	C 0.58	CuC ₁₄ H ₁₂ N ₄ O ₅ *H ₂ O	406.35
	N 14.75	N 14.21	N 3.66		
	H 3.184	H 3.205	H 0.65		
Cas4mgli	C 43.74	C 43.01	C 1.66	CuC ₁₅ H ₁₄ N ₄ O ₅ *H ₂ O	411.5
	N 13.60	N 13.50	N 0.73		
	H 3.880	H 3.550	H 8.50		
CasVmgli	C 43.74	C 42.04	C 3.88	CuC ₁₅ H ₁₄ N ₄ O ₅ *H ₂ O	411.5
	N 13.60	N 13.75	N 1.10		
	H 3.880	H 3.650	H 5.92		
CasVCigli	C 38.88	C 38.63	C 0.64	CuC ₁₄ H ₁₁ N ₄ O ₅ Cl*H ₂ O	432
	N 12.96	N 13.05	N 0.69		
	H 3.000	H 3.050	H 1.66		
CasVNO ₂ gli	C 37.96	C 36.95	C 2.66	CuC ₁₄ H ₁₁ N ₅ O ₇ *H ₂ O	442.5
	N 15.81	N 15.40	N 2.59		
	H 2.930	H 2.844	H 2.93		

a. Fórmula por ion metálico.

b. P.M. peso molecular (g/mol)

7.1.3 Momento magnético efectivo.

Para cada compuesto se determinó la susceptibilidad magnética por gramo empleando el método de Gouy⁸⁶, con ese valor se determinó la susceptibilidad molar y se hicieron las correcciones por aportaciones diamagnéticas correspondientes, para obtener el momento magnético efectivo, el cual se muestra en la tabla 7.4. Los valores corresponden para 1 electrón desapareado (1.73-1.95 M.B.), esto indica la presencia de Cu en estado de oxidación +2. Se sugiere tentativamente una fórmula general [Cu(X-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO₃, donde se propone que el nitrato se encuentre como contra-ión como lo indican los resultados de la espectroscopia IR. Mediante las técnicas que se describen en los apartados siguientes se presentan evidencias experimentales que confirman la propuesta.

Compuesto	μ_{eff}^a
CasIgli	1.85
CasIIgli	1.76
CasVIgli	1.71
CasVIIigli	1.78
CasVIIigli	1.8
Cas4mgli	1.8
CasVmgli	1.85
CasVCigli	1.76
CasVNO₂gli	1.71

a. μ_{eff} momento magnético efectivo en Magnetones de Bohr (M.B.)

7.1.4 Conductividad

El valor de conductividad molar de cada compuesto se muestra en la tabla 7.5. Los valores obtenidos indican que los compuestos se encuentran en el intervalo de los electrolitos tipo (1:1) que en metanol es de 80-115 S,⁸⁷ lo cual confirma la fórmula propuesta en la que el glicinato neutraliza una de las cargas positivas del cobre, mientras que una molécula de nitrato actúa como contra-ión del compuesto de coordinación.

Compuesto	$\Lambda(\text{S})^a$
CasIgli	71.2
CasIIgli	75.1
CasVIgli	76.1
CasVIIigli	79.2
CasVIIigli	72.0
Cas4mgli	87.2
CasVmgli	83.3
CasVCigli	87.9
CasVNO₂gli	73.5

a. Conductividad determinada a 298 K en metanol.

7.1.5 Espectroscopia UV-vis

En la región del visible se observa una sola señal cerca de 600 nm que tiene un coeficiente de extinción alrededor de $60 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ en todos los casos, señal que es atribuida a la superposición de las transiciones $d_{xz,yz} \rightarrow d_{xy}$ y $d_{x^2-y^2} \rightarrow d_{xy}$. La transición $d_{xz,yz} \rightarrow d_{xy}$ ocurre en la región entre 550 y 600 nm, mientras que la transición $d_{x^2-y^2} \rightarrow d_{xy}$ ocurre entre los 600 y 640 nm⁸⁴, al solo observar una señal en el sistema y debido a la cercanía de las transiciones descritas, se concluye que las dos transiciones están inmersas en esta única señal (figura 7.1). Los valores de $\lambda_{\text{máx}}$ y ϵ para cada compuesto se presentan en la tabla 7.6.

Compuesto	λ máx	ϵ^a
CasIgli	604	52.04
CasIIgli	604	48.95
CasVIgli	606	58.46
CasVIIigli	606	59.01
CasVIIigli	614	46.06
Cas4mgli	610	59.77
CasVmgli	612	50.05
CasVCigli	612	53.07
CasVNO₂gli	614	43.97

a. Coeficiente de extinción ($\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$)

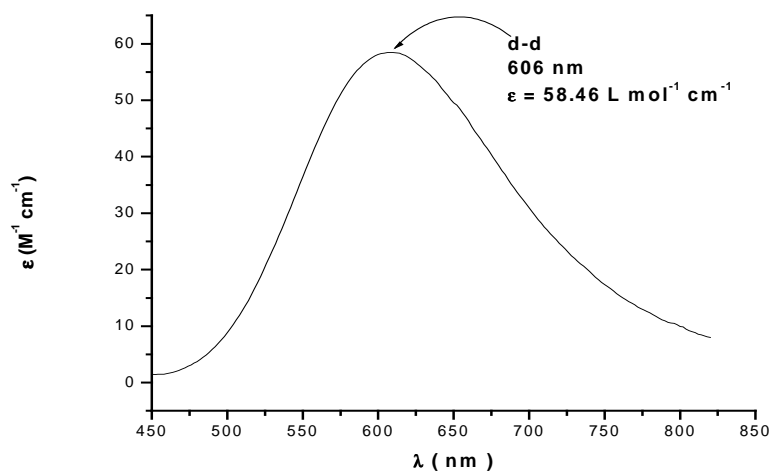


Figura 7.1 Espectro electrónico del compuesto $[\text{Cu}(5,6\text{-dimetil-1,10-fenantrolina})(\text{glicinato})\text{H}_2\text{O}]\text{NO}_3$ (CasVIgli) de 450-850nm.

7.1.6 Difracción de rayos X

El complejo $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})(5,6\text{-dimetil-1,10-fenantrolina})(\text{glicinato})]\text{NO}_3$ (CasVIgli) cristaliza en el sistema monoclinico, en el grupo espacial $P2_1/c$. Los datos cristalográficos así como las distancias y ángulos de enlace seleccionados se presentan en las tablas 7.7 y 7.8 respectivamente.

Tabla 7.7 Datos cristalográficos de $[\text{Cu}(5,6\text{-dimetil-1,10 fenantrolina})(\text{glicinato})\text{H}_2\text{O}]\text{NO}_3$

Fórmula empírica	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{CuN}_4\text{O}_6$
Peso molecular	425.88
Temperatura	293(2) K
Longitud de onda	0.71069 Å
Dimensión del cristal	0.2 x 0.14 x 0.1 mm ³

Volumen	1689.5(14) Å ³	
Densidad (calculada)	1.674 mg/m ³	
Sistema cristalino	Monoclínico	
Grupo espacial	P2 _{1/c}	
Parámetros de la celda	a = 7.281(5) Å	α = 90.00(5)°
	b = 12.891(5) Å	β = 95.85(5)°
	c = 18.095(5) Å	γ = 90.00(5)°
Z	4	
Coefficiente de absorción	1.337 mm ⁻¹	
Reflexiones colectadas	6462	
Reflexiones independientes	4921 [R(int) = 0.1214]	
GOOF en F ²	0.874	
R índices finales [I > 2σ(I)]	R1 = 0.1013, wR2 = 0.1173	
R índices (todos los datos)	R1 = 0.3142, wR2 = 0.1505	

Tabla 7.8. Ángulos [°] y distancias [Å] seleccionadas para [Cu(5,6-dimetil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO₃

N(1)-Cu(1)	2.014(5)
N(2)-Cu(1)	1.977(5)
N(3)-Cu(1)	1.987(5)
O(1)-Cu(1)	1.945(4)
O1w-Cu(1)	2.559(4)
O(1)-Cu(1)-N(2)	93.0(2)
O(1)-Cu(1)-N(3)	85.53(19)
N(2)-Cu(1)-N(3)	178.5(2)
O(1)-Cu(1)-N(1)	174.8(2)
N(2)-Cu(1)-N(1)	82.5(2)
N(3)-Cu(1)-N(1)	99.0(2)

En la figura 7.2 se presenta el diagrama ORTEP para el compuesto $[\text{Cu}(\text{5,6-dimetil-1,10-fenantrolina})(\text{glicinato})\text{H}_2\text{O}]\text{NO}_3$ (**CasVIgli**). El compuesto presenta una geometría de pirámide de base cuadrada distorsionada, la base de la pirámide la constituyen los dos átomos de nitrógeno de la fenantrolina (N1 y N2), así como los átomos de nitrógeno (N3) y oxígeno (O1) del glicinato, mientras que la quinta posición es ocupada por una molécula de agua (O1w), las distancias de enlace se presentan en la tabla 7.8.

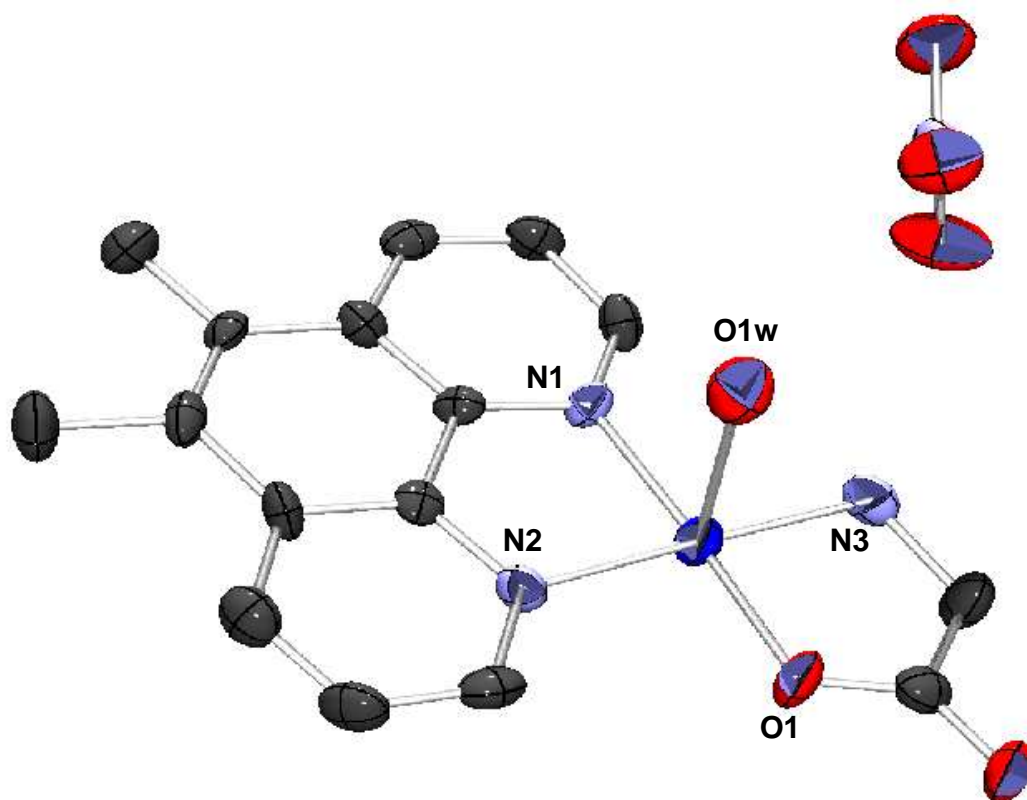


Figura 7.2. Diagrama ORTEP mostrando la estructura molecular del compuesto $[\text{Cu}(\text{5,6-dimetil-1,10-fenantrolina})(\text{glicinato})\text{H}_2\text{O}]\text{NO}_3$.

La fenantrolina y el glicinato presentan un arreglo *cis* en torno al átomo de Cu(II) de acuerdo a los ángulos de enlace N2-Cu-N1 $82.5(2)^\circ$ y O1-Cu-N3 $85.53(19)^\circ$; los ángulos N1-Cu-N3 y N2-Cu-O1 son mayores a 90° lo que induce una pequeña distorsión en la base de la pirámide. Así mismo, el átomo de cobre se encuentra a 0.029 \AA del plano formado por N1, N2, N3 y O1.

El anión nitrato no forma parte de la esfera de coordinación del cobre, sin embargo, si presenta interacción con el centro metálico, lo cual se ve reflejado en la distancia que hay entre el Cu (II) y uno de los oxígenos del anión, que es de 2.635 Å (figura 7.3a). La distancia más corta que existe entre dos nitratos de moléculas contiguas es de 3.012 Å (figura 7.3b), lo cual indica que las moléculas se encuentran muy cerca en el espacio, lo que favorece la formación de puentes de hidrógeno entre los aniones y los grupos -NH_2 .

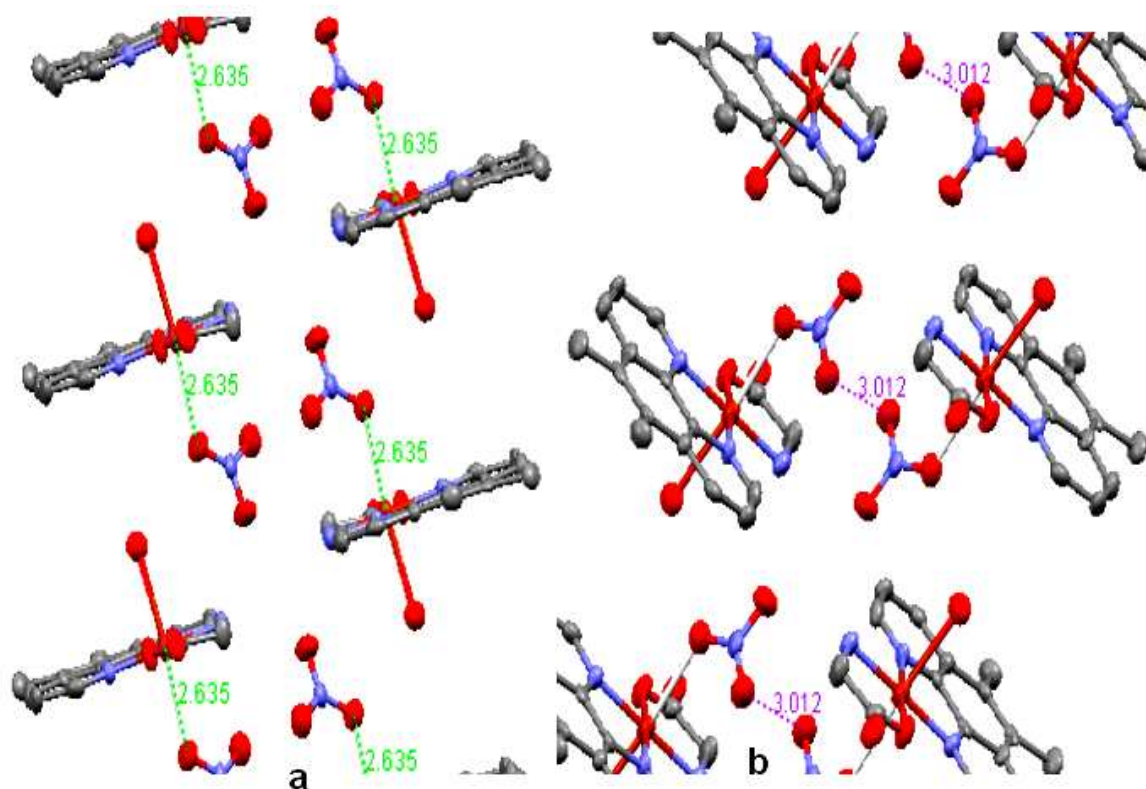


Figura 7.3. Diagrama (a) mostrando la interacción del anión nitrato con el Cu(II) (b) misma sección girada 180° sobre el plano de la molécula mostrando la distancia entre los aniones.

Los nitratos con una disposición trigonal plana, se encuentran invertidos uno con respecto al otro, ésta disposición favorece el arreglo molecular, ya que el nitrato de una molécula forma puentes de hidrógeno con dos grupos -NH_2 de moléculas contiguas, mismas que participan en la formación de otros dos puentes con el nitrato que se encuentre en la capa superior a ellos, formando una especie de rectángulo,

cuyas distancias de enlace $O\cdots(H)\cdots N$ serán de 2.997 Å y 2.941 Å respectivamente (figura 7.4).

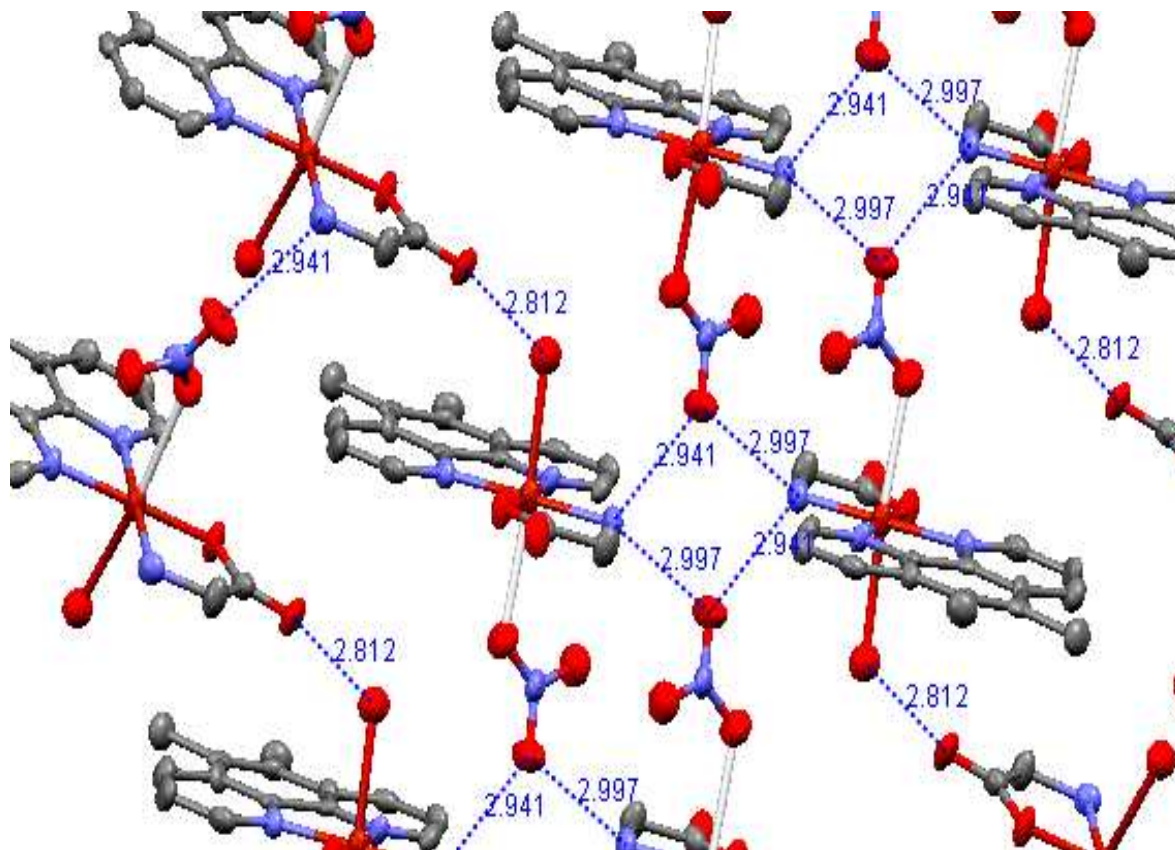


Figura 7.4. Diagrama que ilustra la formación de puentes de hidrógeno entre el nitrato y el grupo $-NH_2$ y entre el H_2O y el grupo $-C=O$.

También es posible identificar interacciones en donde participan las moléculas de agua (que ocupan la posición apical de la pirámide de base cuadrada) y el grupo carbonilo del glicinato, cuya distancia de enlace $O\cdots(H)\cdots O$ es de 2.812 Å. Con esto es posible decir que la disposición que adoptan las moléculas dentro del cristal se debe primordialmente a la formación de puentes de hidrógeno, en donde una misma molécula puede participar en al menos tres de estos (considerando que el nitrato no forma parte de la esfera de coordinación del cobre, de tomar en cuenta la interacción

del anión con el centro metálico serían 5 los puentes de hidrógeno por molécula) proporcionando una gran estabilidad a este arreglo.

Con la finalidad de conocer un poco más acerca del ambiente de coordinación que proporcionan estos ligantes al Cu(II) se compararon las distancias y ángulos de enlace del compuesto **CasVIgIi** (figura 7.2) con diferentes compuestos de coordinación de cobre que involucran en su estructura a los ligantes fenantrolina y glicinato, este análisis se encuentra en los párrafos siguientes.

El ángulo que forman los nitrógenos de la fenantrolina con el cobre es menor a los 90°, este valor también es observado en complejos de cobre con dos unidades de fenantrolina en donde se reportan ángulos cercanos a 80°. De la misma forma, no hay una diferencia significativa en las distancias de enlace, que se encuentran alrededor de los 2.0 Å, aún cuando en los compuestos bisquelato la geometría adoptada es la de bipirámide trigonal.⁸⁸⁻⁹⁰

Por otro lado, el ángulo encontrado para N3-Cu-O1 correspondiente al glicinato en el compuesto **CasVIgIi** con valor de 85.5° es similar a los ángulos encontrados en diferentes compuestos en donde el valor es de alrededor de 85°.⁹¹⁻⁹³ Las distancias de enlace, así como los ángulos y el grupo espacial de los compuestos se presentan en la tabla 7.9

Tabla 7.9. Distancias y ángulos de enlace correspondientes al glicinato en los compuestos comparados.				
Compuesto	Cu-N (Å)	Cu-O (Å)	∠N-Cu-O (°)	Grupo espacial
CasVIgIi	1.987(5)	1.945(4)	85.53(19)	P2 _{1/c}
<i>cis</i> -[Cu(glicinato) ₂] ⁸⁷	1.951(3)	1.946(5)	85.13(4)	P 212121
[CuCl(glicinato)(metanol)] ⁸⁸	1.951(5)	1.964(4)	84.8(2)	P2 _{1/c}
[CuCl(glicinato)(1-metilimidazol)] ⁸⁸	1.946(1)	1.963(1)	84.0(6)	P _{ca} 2 ₁
[CuCl(glicinato)(2,2'-bipiridina)]·2H ₂ O ⁸⁹	2.006(2)	1.957(2)	84.52(9)	P2 _{1/c}

En estos valores puede apreciarse el efecto que ejerce sobre la distancia de enlace el hecho de tener en posición *trans* un sistema que deslocalice la densidad electrónica, por ejemplo, en los complejos [CuCl(glicinato)(metanol)] y [CuCl(glicinato)(1-metilimidazol)] donde el Cl (donador sigma) se encuentra *trans* al nitrógeno del glicinato presenta las distancias de enlace más cortas, mientras que en los compuestos donde la posición *trans* la ocupa un sistema que funge como donador σ y aceptor π (bipiridina, fenantrolina) o tan sólo que puede deslocalizar la densidad electrónica (carbonilo del glicinato) la distancia Cu-N se alarga.

El análisis hecho anteriormente concuerda con lo enunciado en la segunda regla de variación en la longitud del enlace establecida por Gutmann, donde se plantea que un enlace se acorta cuando el desplazamiento de densidad electrónica tiene lugar del átomo más electronegativo al átomo más electropositivo teniendo el efecto contrario en la longitud de los otros enlaces que conforman la molécula en diferente grado⁹⁴.

Si se toma en cuenta el análisis anterior, es posible proponer que al emplear fenantrolinas con diferente capacidad de donación σ y aceptación π , estas diferencias se verán reflejadas en las distancias de enlace que presente el centro metálico hacia los átomos donadores del glicinato.

Las estructuras cristalinas de los compuestos **CasIIgIi**⁹⁵, **CasVIIIgIi**⁹⁶ y **CasVIIgIi**⁹⁷ han sido determinadas anteriormente por el grupo de investigación y la estructura del compuesto **CasVIgIi** determinada en este trabajo se emplean para comparar las distancias de enlace y poner a prueba la propuesta hecha en el párrafo anterior. Los compuestos **CasIIgIi**, **CasVIgIi** y **CasVIIIgIi** tienen sustituyentes metilo en diferentes posiciones, mientras que el compuesto **CasVIIgIi** no tiene sustituyentes, por lo cual será tomado como punto de partida para realizar la comparación. La figura 7.5 muestra las estructuras cristalinas de los compuestos antes mencionados.

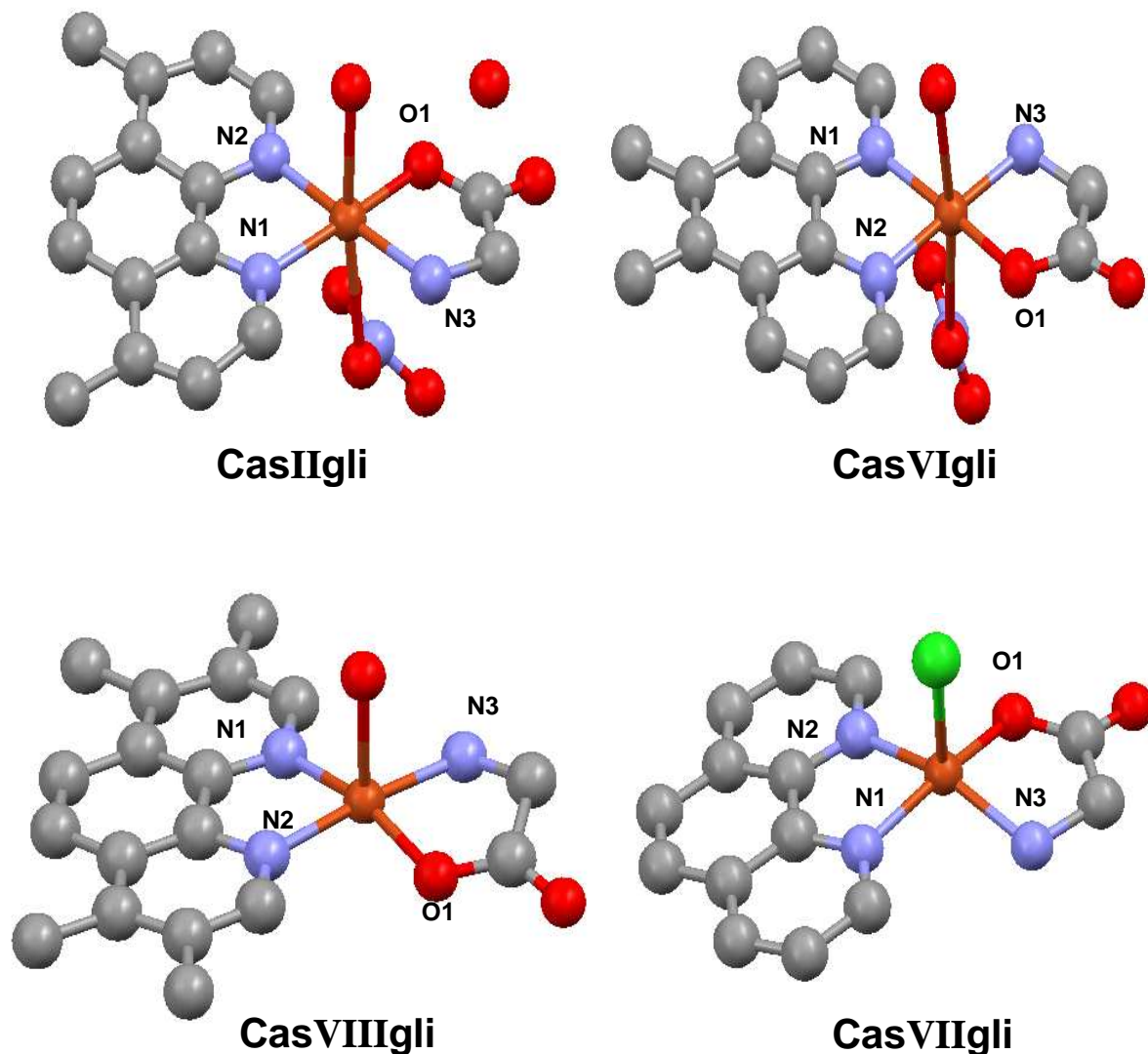


Figura 7.5. Estructuras cristalinas de los compuestos $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})(4,7\text{-dimetil-1,10-fenantrolina})(\text{glicinato})(\text{NO}_3)]$ (CasIIgli), $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})(5,6\text{-dimetil-1,10-fenantrolina})(\text{glicinato})\text{NO}_3]$ (CasVIgli), $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})(3,4,7,8\text{-tetrametil-1,10-fenantrolina})(\text{glicinato})\text{NO}_3]$ (CasVIIIgli) y $[\text{Cu}(1,10\text{-fenantrolina})\text{Cl}(\text{glicinato})]$ (CasVIIgli) .

La tabla 7.10 presenta las distancias de enlace del centro metálico a los átomos donadores de los ligantes para los cuatro compuestos, las distancias que corresponden al enlace del Cu(II) con la fenantrolina (Cu-N1 y Cu-N2) presentan

Tabla 7.10. Distancias y ángulos de enlace de los átomos donadores al centro metálico en los complejos mixtos de coordinación.				
Compuesto	CasIIgli	CasVIgli	CasVIIIgli	CasVIIgli
Cu-N1 (Å)	2.004(8)	2.014(5)	2.012(3)	2.031(6)
Cu-N2 (Å)	2.014(7)	1.977(5)	1.994(3)	2.007(7)
Cu-N3 (Å)	1.963(8)	1.987(5)	1.988(4)	2.007(7)
Cu-O1 (Å)	2.065(9)	1.945(4)	1.950(3)	1.945(6)
∠N1-Cu-N2 (°)	80.2(3)	82.5(2)	82.05(14)	81.8(3)
∠N3-Cu-O1 (°)	86.1(4)	85.53(19)	84.72(13)	84.5(3)
pKa_{fen libre}	6.39	5.7	7.02	5.16

valores alrededor de los 2.0 Å y ángulos de enlace de muy cercanos a 80°, en el caso del ligante glicinato, el ángulo de enlace se encuentra alrededor de los 85° y las distancias de enlace Cu-N3 alrededor de los 2.0 Å y Cu-O1 muy cercanas a 1.5 Å.

De manera general, es posible observar que la distancia de enlace Cu-N1 disminuye **CasIIgli < CasVIIIgli ≈ CasVIgli < CasVIIgli** mientras que las distancia Cu-O1 (átomo *trans* a N1) incrementa **CasIIgli > CasVIIIgli > CasVIgli ≈ CasVIIgli**.

El compuesto **CasIIgli**, presenta la distancia Cu-N1 más corta (2.003 Å) y la distancia de enlace Cu-O1 más larga (2.065 Å) de los compuestos comparados, esto puede ser atribuido a que las posiciones 4 y 7 son las que poseen una mayor capacidad inductora ya que la carga por efecto de la resonancia es soportada directamente por el átomo de nitrógeno (figura 7.6).

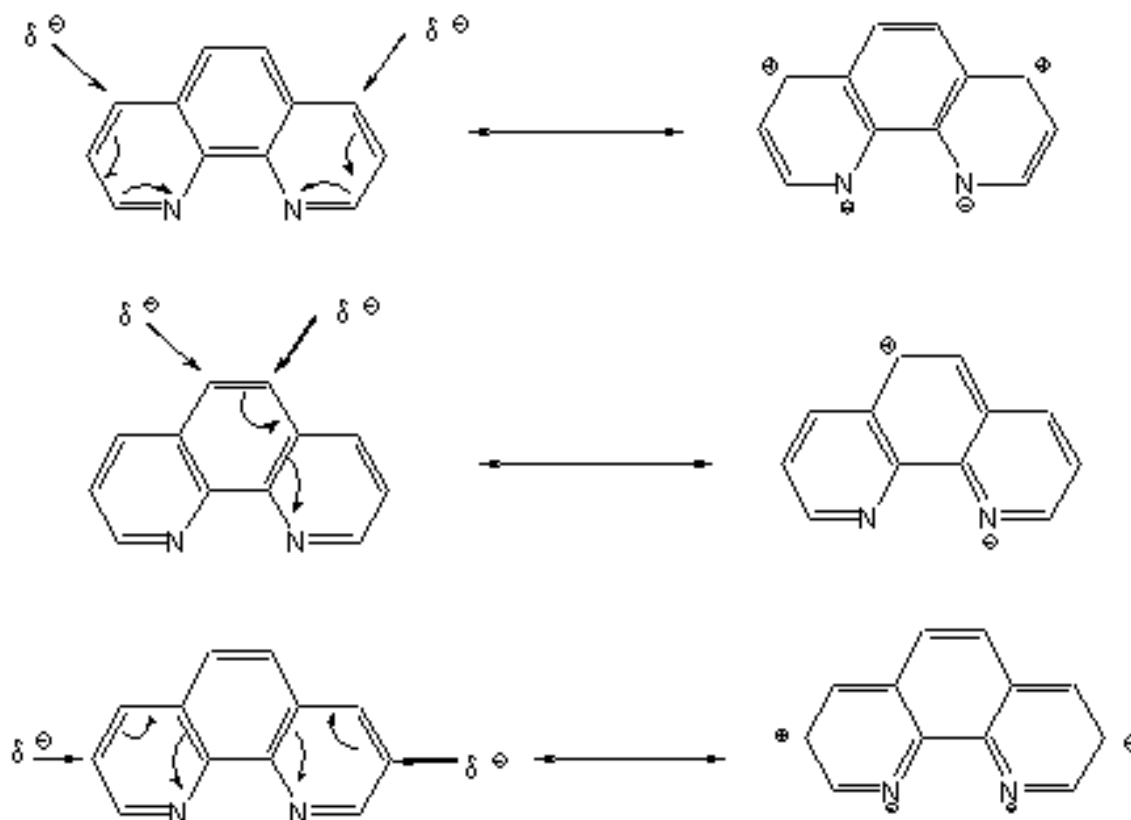


Figura 7.6. Estructuras resonantes de la fenantrolina producto de un efecto de inducción de carga en diferentes posiciones.

En los compuestos **CasVIgIi** y **CasVIIIgIi** las distancias Cu-N1 son prácticamente iguales pero mayores que la misma distancia en el compuesto **CasIIgIi**, aún cuando se tiene el mismo o un mayor número de grupos metilo en la estructura, indicando que la capacidad inductora es menor en las posiciones 3, 5, 6 y 8 debido a que la carga es soportada no solo por el nitrógeno, sino también por uno de los átomos de carbono (figura 7.6).

El que las distancias de enlace de **CasVIgIi** y **CasVIIIgIi** sean iguales sugiere que la sustitución en las posiciones 3 y 8 en **CasVIIIgIi** en lugar de contribuir con la inducción de carga hacia el nitrógeno la disminuyen, esto puede deberse a la cercanía de los grupos electrodonadores (uno en posición *-orto* respecto al otro) lo cual dificultaría la migración de la carga teniendo como resultado que la inducción

sea la misma que la que proporcionarían sólo dos grupos metilo en las posiciones 5 y 6. Por lo cual es posible decir que las diferencias en las distancias radica en la posición que ocupan los sustituyentes, hecho que se aprecia de mejor manera en los potenciales de oxido-reducción que se presentan en el apartado siguiente.

7.2 Estudio electroquímico.

Se realizó un estudio de voltamperometría cíclica (VC) para conocer el comportamiento electroquímico de los compuestos de coordinación estudiados. Los voltamperogramas en dirección catódica y anódica para el compuesto **CasVIgIi** se muestran en la figura 7.7a y 7.7b respectivamente.

Al iniciar el barrido en dirección catódica (Figura 7.7 a) se observan dos señales de reducción Ic ($E_{pc} = -0.349$ V) y IIc ($E_{pc} = -0.548$ V), se invierte el barrido de potencial y se observan dos señales de oxidación Ia ($E_{pa} = -0.250$ V) y IIa ($E_{pa} = 0.705$ V). Al iniciar el barrido en dirección anódica (Figura 7.7b) se observan las mismas señales de oxidación y de reducción. En todos los compuestos se presentan las dos señales de reducción y las dos señales de oxidación.

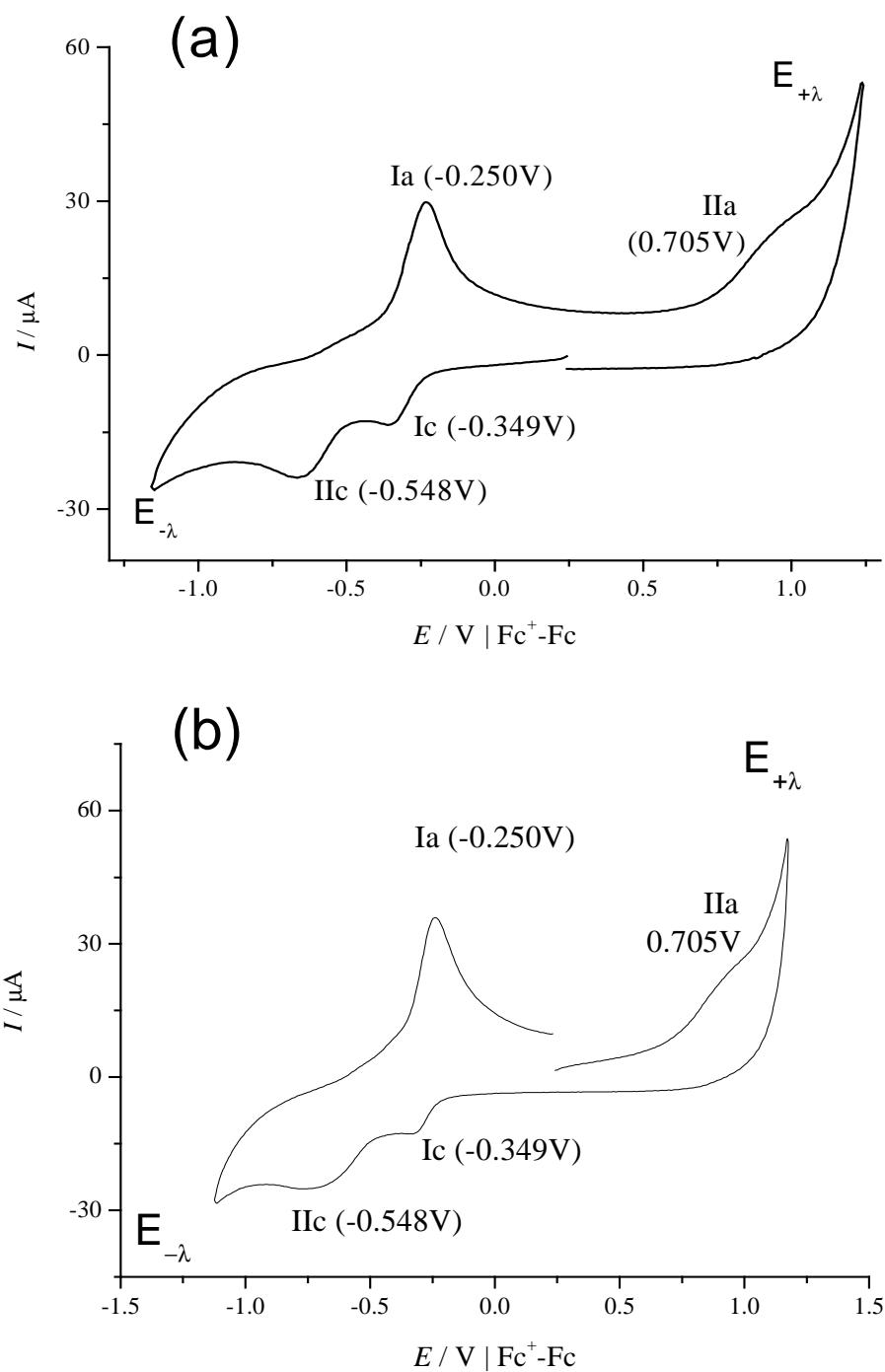


Figura 7.7.- Estudio de voltamperometría cíclica de CasVIgI a una concentración 1mM en una mezcla agua:etanol (60:40 %) en presencia de KNO_3 0.1 M, $v=0.1$ V/s, electrodo de carbón vítreo de 0.071 cm^2 de área geométrica. (a) dirección catódica, (b) dirección anódica.

Para obtener mayor información acerca de la correspondencia existente en las señales que aparecen en los voltamperogramas se realizó un estudio de inversión de potenciales a una velocidad de 0.1 V/s. La figura 7.8 muestra los voltamperogramas de inversión de potencial en dirección anódica ($E_{+\lambda}$) realizados cada 0.05V para el compuesto **CasVIgli**. El estudio de inversión de potencial comienza en un valor de -1.2V, asegurando así la presencia de los dos procesos de reducción observados (Ic y Iic).

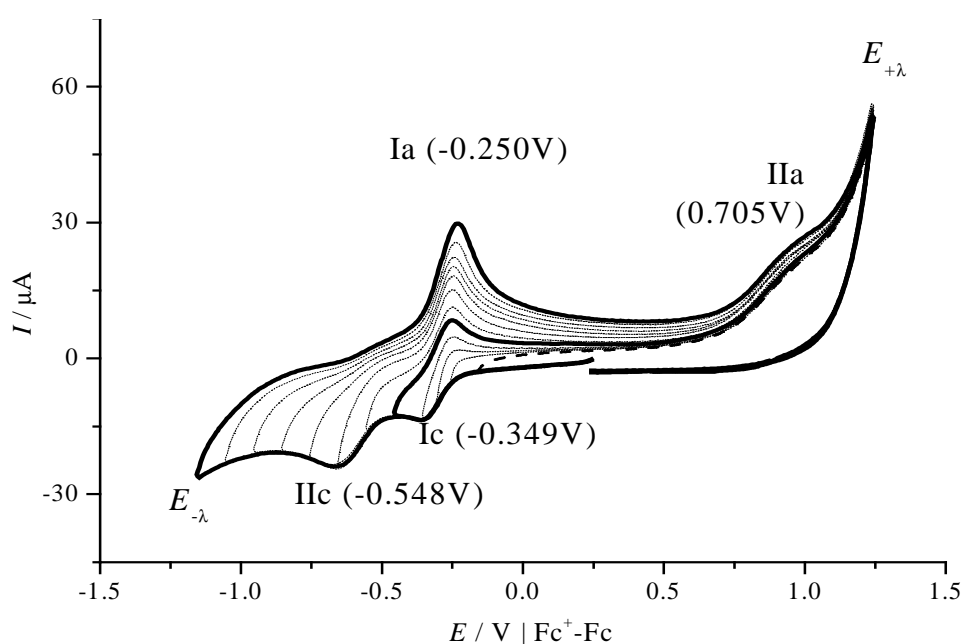


Figura 7.8. Estudio de voltamperometría cíclica con inversión de potenciales para CasVIgli a una concentración 1 mM en una mezcla agua:etanol (60:40 %) en presencia de KNO_3 0.1 M, $v=0.1$ V/s, electrodo de carbón vítreo de 0.071 cm^2 de área.

La figura 7.8 muestra que la señal Ia depende tanto de la señal Ic como de la señal Iic, debido a que la intensidad de la corriente de la señal Ia disminuye conforme el valor de potencial se acerca a cero, con la gradual desaparición de las dos señales de reducción sin que el valor de potencial al cual aparece la señal Ia presente cambio alguno. Estos resultados podrían conducirnos a asignar la señal Ic como el paso $\text{Cu}^{\text{II}} \rightarrow \text{Cu}^{\text{I}}$, la señal Iic como $\text{Cu}^{\text{I}} \rightarrow \text{Cu}^0$ y Ia como un proceso que involucre dos electrones para dar como resultado el proceso $\text{Cu}^0 \rightarrow \text{Cu}^{\text{II}}$, sin embargo,

con la evidencia que se muestra en los párrafos siguientes se podrá constatar que aunque lógica esta asignación es incorrecta.

Debido a la interesante dependencia mostrada por la señal Ia respecto a las señales Ic y Iic, se planteó el realizar dos experimentos de VC a diferentes velocidades de barrido, el primero involucró solamente los procesos Ic y Ia, mientras que el segundo involucró los tres procesos (Ic, Iic y Ia).

La figura 7.9 muestra los voltamperogramas a diferentes velocidades de barrido para el compuesto **CasVIgIi** donde se encuentran involucrados los tres procesos, en todos los casos se observó una relación lineal entre las corrientes de pico $i_p(Ia)$, $i_p(Ic)$ e $i_p(Iic)$ frente a la raíz cuadrada de la velocidad ($v^{1/2}$), lo que indica que los procesos están controlado por difusión.

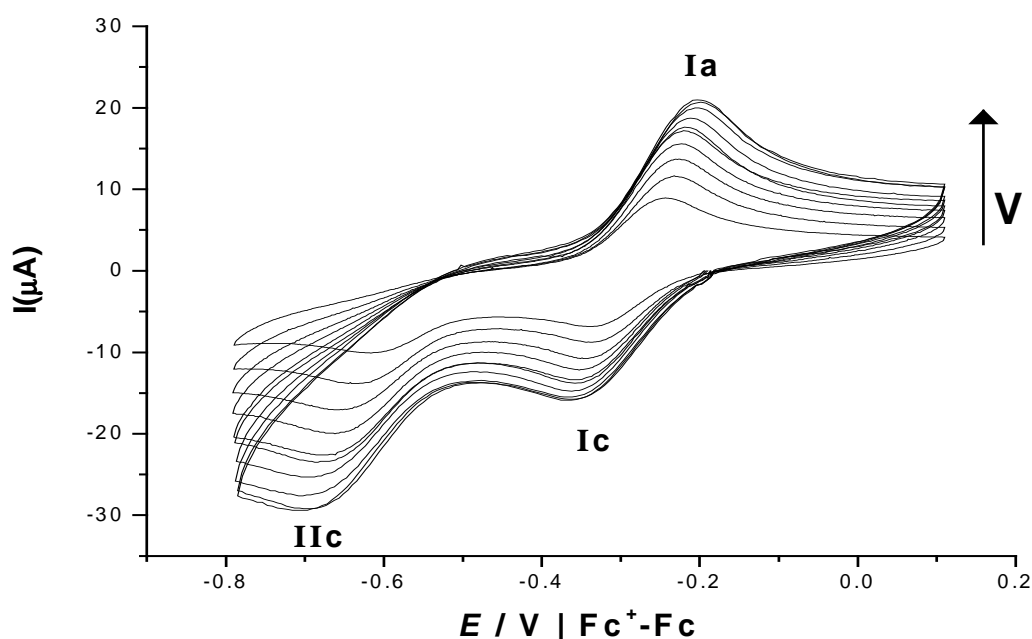
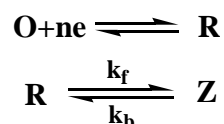


Figura 7.9 Estudio de voltamperometría cíclica para CasVIgIi a una concentración 0.1 mM en una mezcla agua:etanol (60%:40%) en presencia de KNO_3 0.1M, $v=$ 0.05,0.1,0.2,0.3,0.4,0.5,0.6,0.7,0.8,0.9 y 1 V/s empleando un electrodo de carbón vítreo de 0.071cm^2 de área.

El gráfico de i_{pa}/i_{pc} frente a la velocidad para los procesos Ia y Ic muestra un comportamiento del sistema muy parecido a la respuesta obtenida para un sistema electroquímico-químico (EC) donde la transformación ocurre de acuerdo al siguiente esquema:



de acuerdo a los gráficos mostrados por Nicholson y Shain⁹⁸; con la particularidad de que el gráfico no parte de un valor de 1, sino que lo hace de valores muy cercanos a 1.3 como se muestra en la figura 7.10, lo cual puede ser considerado como un indicio de la presencia de adsorción en la superficie del electrodo, por lo cual, para comprobar que este sistema presenta o no una adsorción en el electrodo se realiza un experimento de VC con un electrodo de platino, superficie sobre la cual no se encuentra favorecida la adsorción.

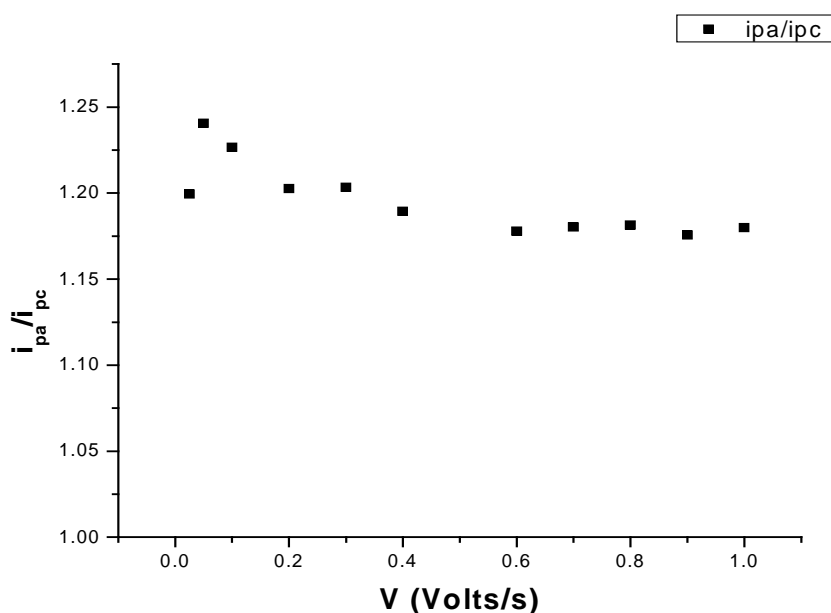


Figura 7.10. Gráfico de la relación de corrientes de pico anódico y pico catódico en función de la velocidad de barrido.

Se adquiere un voltamperograma cíclico empleando un electrodo de platino de 2 mm de ϕ a una velocidad de barrido de 0.1V/s para el compuesto **CasVIgli**. Este voltamperograma muestra dos señales, una de reducción Ic' ($E_{pc} = -0.360V$) y una de oxidación Ia' ($E_{pa} = -0.240V$), al llevar el valor de potencial muy cerca de los límites anódico y catódico no se presenta ningún otro proceso. Los valores de las señales obtenidas cuando se emplea el electrodo de platino aparecen en valores muy parecidos a los valores de Ia ($E_{pa} = -0.250 V$) y Ic ($E_{pc} = -0.349 V$) obtenidos con el electrodo de carbón vítreo (Figura 7.11), lo que permite sugerir que las señales Ia y Ic así como las señales Ia' y Ic' corresponden al mismo proceso, al paso monoeléctrico $[Cu(fen)(gli)]^+ / [Cu(fen)(gli)]$. La señal de reducción Iic que aparece al usar el electrodo de carbón vítreo puede ser asociada a una adsorción.

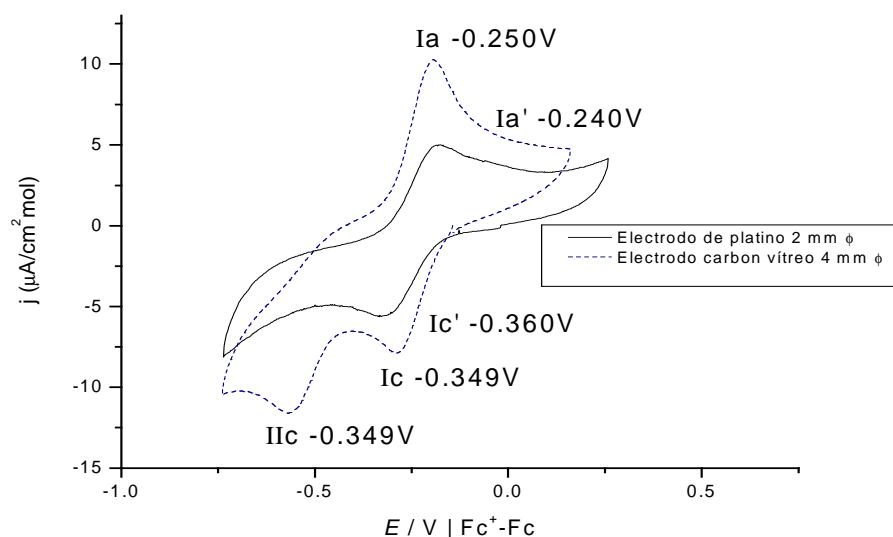


Figura 7.11. Voltamperogramas cíclicos para el compuesto CasVIgli a una concentración 1 mM en una mezcla agua-etanol (60:40 %) en presencia de KNO_3 0.1 M, $v=0.1$ V/s (a) empleando un electrodo de platino (línea continua) (b) empleando un electrodo de carbón vítreo (línea punteada).

Se plantea entonces un nuevo problema, la comparación de voltamperogramas adquiridos con los electrodos de platino y carbón vítreo sugieren una adsorción sobre la superficie del electrodo de carbón vítreo, sin embargo, los

resultados de los estudios a diferentes velocidades de barrido indican que los procesos presentan una relación lineal de las corrientes de pico frente $v^{1/2}$, un comportamiento muy peculiar, siendo que cuando se presenta una adsorción por lo general no hay una relación lineal entre i_p y $v^{1/2}$.⁹⁹

Recapitulando las evidencias encontradas hasta el momento, se puede decir que los complejos mixtos de coordinación estudiados en este trabajo poseen una unidad de fenantrolina en su estructura, lo cual favorece una adsorción sobre la superficie de carbón vítreo en medios predominantemente acuosos,¹⁰⁰⁻¹⁰¹ tal como se observa en el estudio comparativo donde se emplean electrodos de carbón vítreo y platino.

El comportamiento de las corrientes de pico (i_p) frente a la velocidad de barrido no presenta una relación lineal, de hecho, el comportamiento observado es parecido a una transferencia de carga reversible (relación lineal entre i_p y $v^{1/2}$), lo que concuerda con el comportamiento que muestra una adsorción débil de una especie electrogenerada.¹⁰²

La adsorción provoca una modificación de la superficie del electrodo, por lo cual la siguiente molécula que llega del seno de la disolución no se reduce sobre una superficie de carbón vítreo, sino sobre una capa de moléculas reducidas del complejo mixto depositado sobre carbón vítreo, esto da como resultado que, aunque sea la misma especie en disolución la que será reducida se observe una segunda señal de reducción a potenciales más negativos (proceso que también es controlado por difusión), de acuerdo a los resultados obtenidos del estudio de VC a diferentes velocidades de barrido.

De esta manera es posible explicar la dependencia encontrada entre la señal de oxidación (I_a) y las señales de reducción (I_c y I_{Ic}), ya que en ambos procesos de reducción se forma la misma especie $[Cu^+(X-fen)(gli)]$, la cual al ser oxidada producirá una sola señal, esta señal disminuirá su intensidad sin ser modificado el

valor de potencial al cual aparece conforme se produzca una menor cantidad de especie reducida que sea posible reoxidar, tal como se observó en los experimentos de inversión de potencial.

Así mismo, la propuesta de una adsorción explica el hecho de que al estudiar el comportamiento de las corrientes de pico para los procesos I_c y I_a se obtenga un comportamiento que corresponde a un mecanismo de tipo EC. El mecanismo mencionado estaría constituido por la reducción de $[\text{Cu}^{2+}(\text{X-fen})(\text{gli})]^+$ a $[\text{Cu}^+(\text{X-fen})(\text{gli})]$, que sería el paso electroquímico, mientras que el paso químico correspondería a las interacciones de la parte aromática de la molécula con la superficie de carbón vítreo que da como resultado la adsorción débil.

De acuerdo a lo anterior es posible hacer la asignación de las señales que aparecen en el voltamperograma: el proceso I_c será la reducción de $[\text{Cu}^+(\text{X-fen})(\text{gli})]^+$ a $[\text{Cu}^{2+}(\text{X-fen})(\text{gli})]$ con la adsorción de esta especie en la superficie del electrodo para formar una monocapa ($[\text{Cu}^+(\text{fen})(\text{gli})]_{\text{ads}}$) sobre la cual se dará la siguiente reducción, la señal I_{ic} corresponde a la reducción de $[\text{Cu}^{2+}(\text{fen})(\text{gli})]$ proveniente de la disolución sobre la monocapa para formar $[\text{Cu}(\text{X-fen})(\text{gli})]_{\text{ads}}$, al invertir el barrido de potencial sólo se tendrá una especie para oxidar $[\text{Cu}(\text{X-fen})(\text{gli})]_{\text{ads}}$, que al reoxidarse a $[\text{Cu}^{2+}(\text{X-fen})(\text{gli})]$ dará la señal I_a . Estos procesos se resumen en la figura 7.12.

Aunque todos los compuestos estudiados presentan el mismo comportamiento, en algunos de ellos es menos evidente la segunda señal de oxidación, lo que puede relacionarse con los sustituyentes presentes en la fenantrolina, los cuales pueden estar modificando la adsorción del compuesto sobre la superficie del electrodo.

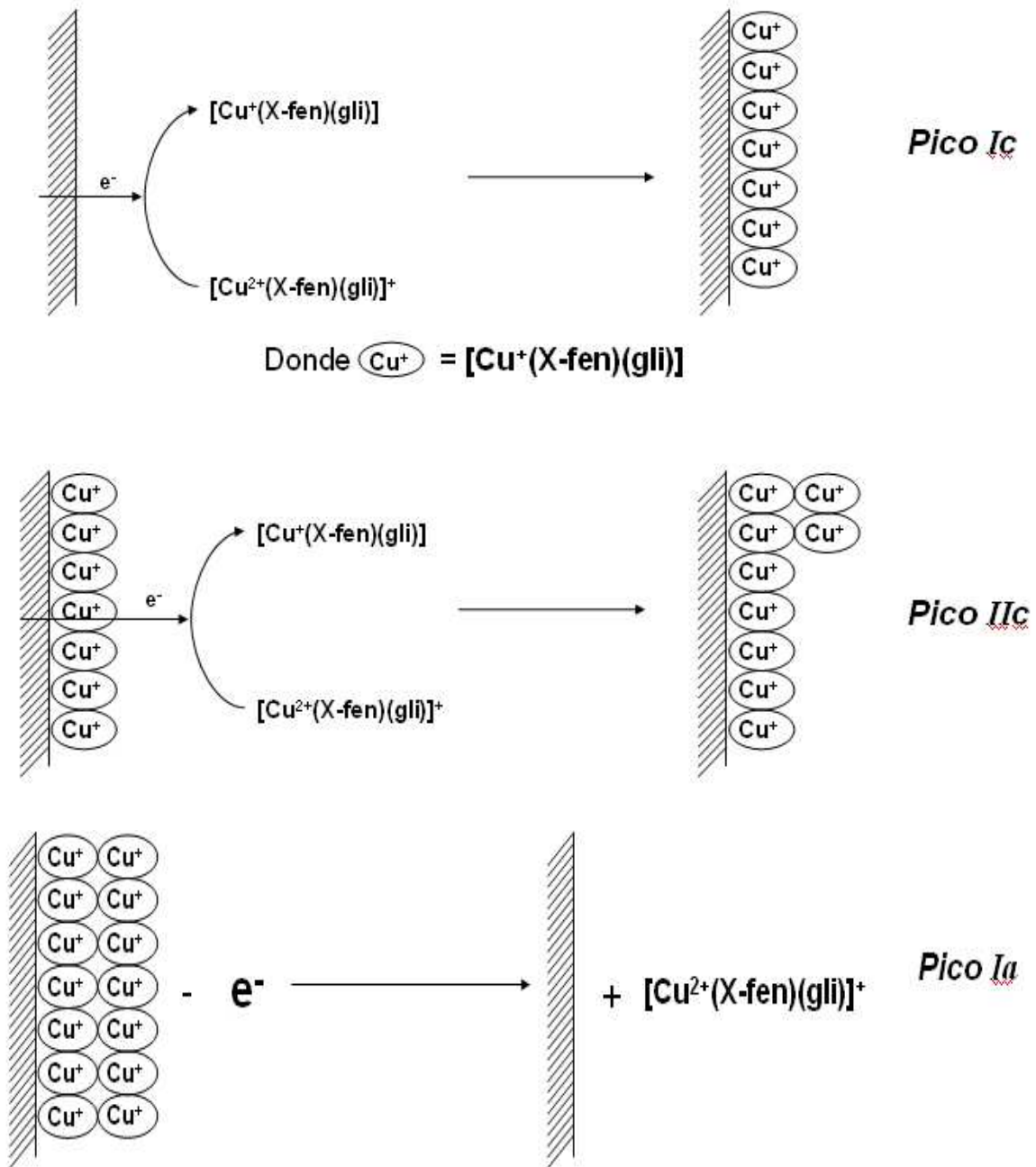


Figura 7.12. Esquematización de los procesos observados en los voltamperogramas obtenidos para el compuesto CasVIgIi.

Anson y colaboradores¹⁰³ empleando los complejos $[\text{Cu}(\text{fen})_2]^{2+}$ muestran que estos compuestos se depositan en la superficie del electrodo de grafito cuando se encuentran en un medio acuoso, tal como la propuesta realizada para los sistemas de este trabajo.

Los autores proponen un modelo para el proceso de transporte de electrones, en este modelo se propone la formación de monocapas de complejo en su forma reducida $[\text{Cu}(\text{fen})_2]^+$. El incremento en el tamaño del depósito no interfiere con el flujo de electrones necesarios para realizar el proceso de reducción, estos electrones se transportan del electrodo subyacente a través de los núcleos de cobre mediante un rápido mecanismo de transferencia electrónica formando núcleos de cobre con diferente estado de oxidación Cu(I) y Cu(II) dentro de la capa, tal como se muestra en la figura 7.13.

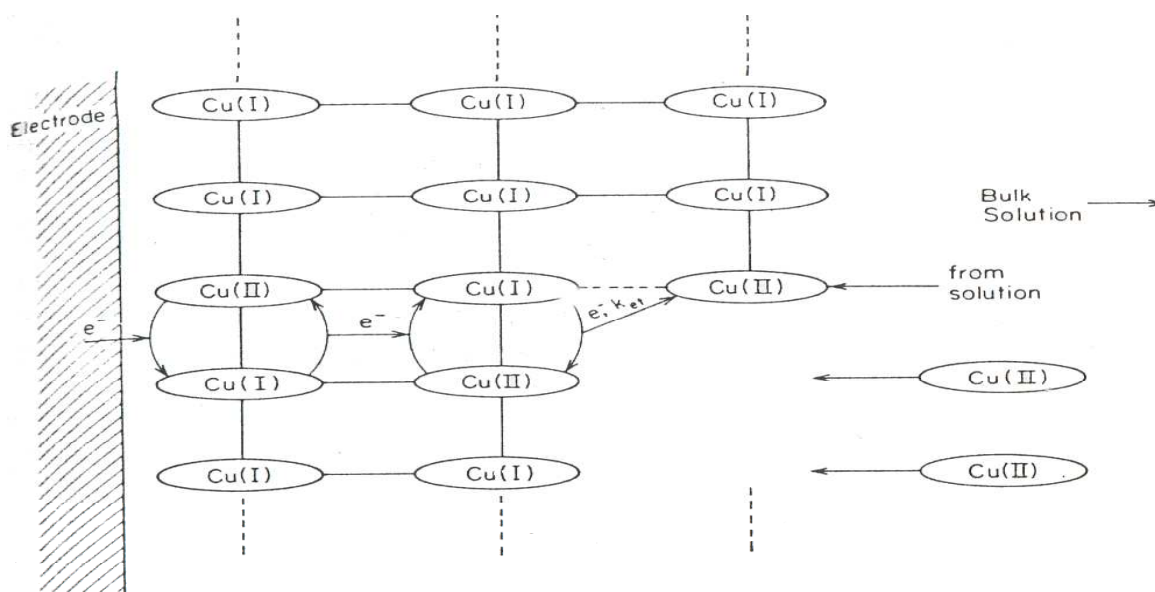


Figura 7.13. Modelo del mecanismo de transporte de electrones a través de un depósito creciente de $[\text{Cu}(\text{fen})_2]^+$ en un electrodo de grafito.

Los núcleos de cobre que se encuentran en la parte más externa del depósito cambian su estado de oxidación de Cu^+ a Cu^{2+} debido a su interacción con las moléculas que se encuentran en la disolución, la molécula de la superficie de la capa

se oxida, mientras que la molécula que se encontraba en disolución se reduce y se deposita. La velocidad para reducir el Cu^{2+} que se encuentra dentro de la capa es mucho mayor que la transformación de una nueva molécula superficial a su especie oxidada.¹⁰⁴⁻¹⁰⁵

Es importante resaltar que la adsorción se ve favorecida por la formación de un oligómero de moléculas de Cu^+ , este oligómero se puede formar con moléculas tanto de $[\text{Cu}(\text{fen})_2]^+$ como de $[\text{Cu}(\text{fen})]^+$, en ambos casos la transferencia de electrones entre los núcleos dentro del depósito sigue siendo rápida,¹⁰⁴ sin embargo, la adsorción es más fuerte cuando las moléculas que conforman el oligómero cuentan con dos unidades de fenantrolina en su estructura.¹⁰³

Los resultados reportados por Anson y sus colaboradores proporcionan un mayor soporte a la propuesta realizada para explicar el comportamiento electroquímico de los complejos estudiados en este trabajo debido a:

1) las diferencias encontradas en la fuerza de adsorción de los compuestos debido al número de unidades de fenantrolina que contenga la molécula, apoyando la sugerencia de una adsorción débil.

2) la transferencia de electrones necesaria para la reducción de las especies en disolución una vez que se ha formado el depósito se da a través de los núcleos que lo conforman, con una gran velocidad de transferencia, la cual no se ve afectada por el aumento en el tamaño del depósito. Al no interferir el depósito en la transferencia de electrones, es posible observar el control difusional en los dos procesos de reducción de los compuestos estudiados.

Una vez identificado el proceso $[\text{Cu}^{2+}(\text{X-fen})(\text{gli})]^+ / [\text{Cu}^+(\text{X-fen})(\text{gli})]$, se obtienen los valores de potencial de media onda como $E_{1/2} = (E_{pc} + E_{pa})/2$ que se enlistan en la tabla 7.11.

Tabla 7.11 Potencial de media onda ($E_{1/2}$) de los compuestos estudiados y valores de pK_a de las fenantrolinas sin coordinar.		
Compuesto	$E_{1/2} / V Fc^+ - Fc$	$pK_{a_{fen}}$
CasIgli	-0.2136	5.16
CasIIgli	-0.3104	6.39
CasVIgli	-0.2917	5.7
CasVIIIgli	-0.3024	7.02
CasVIIgli	-0.259	5.16
Cas4mgli	-0.2815	5.9
CasVmgli	-0.2727	5.18
CasVCigli	-0.2208	3.72
CasVNO₂gli	-0.1822	2.67

En la tabla 7.11 también se presenta el valor de pK_a de las fenantrolinas en su forma libre. Al graficar $E_{1/2}$ frente a $pK_{a_{fen}}$ (figura 7.14) la tendencia es que al incrementar el valor de $pK_{a_{fen}}$ los valores de $E_{1/2}$ de los complejos mixtos presentan un valor más negativo, con excepción del compuesto **CasIgli** (no presente en la gráfica), cuyo valor de $pK_{a_{fen}}$ no presenta diferencias con respecto al compuesto **CasVIIgli**, el cual no presenta sustitución. Sin tomar en cuenta al compuesto **CasIgli** debido a lo antes mencionado, se obtiene la ecuación $E_{1/2} = -0.03001pKa - 0.10849$ con un coeficiente de correlación de 0.974, el potencial de óxido-reducción de estos compuestos depende entonces de la naturaleza y posición de los sustituyentes de la fenantrolina, concordando con los resultados que presentan Sanna y colaboradores¹⁰⁶ empleando los complejos $[Cu(R-1,10\text{-fenantrolina})_2(NO_3)]NO_3$.

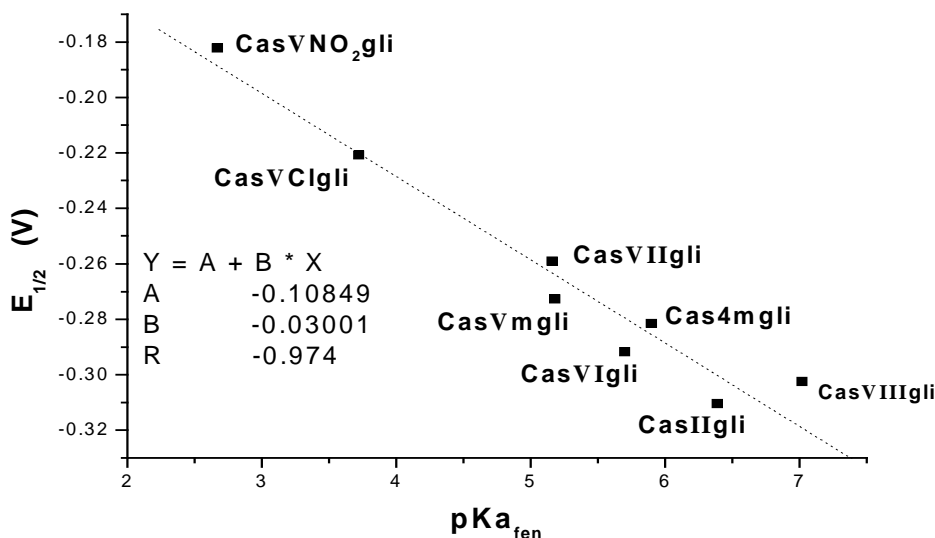


Figura 7.14. Gráfico de $E_{1/2}$ de los complejos mixtos frente al $pK_{a_{fen}}$ de las fenantrolinas sin coordinar.

Con la finalidad de comparar el carácter oxidante o reductor de estos compuestos se toma como referencia al $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ en las mismas condiciones, el voltamperograma del $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ se muestra en la figura 7.15, en este voltamperograma es posible identificar dos reducciones $\text{Cu}^{2+} \rightarrow \text{Cu}^+$ (-0.190V) y $\text{Cu}^+ \rightarrow \text{Cu}^0$ (-0.554V) y dos oxidaciones $\text{Cu}^0 \rightarrow \text{Cu}^+$ (-0.244V) y $\text{Cu}^+ \rightarrow \text{Cu}^{2+}$ (+0.060V).

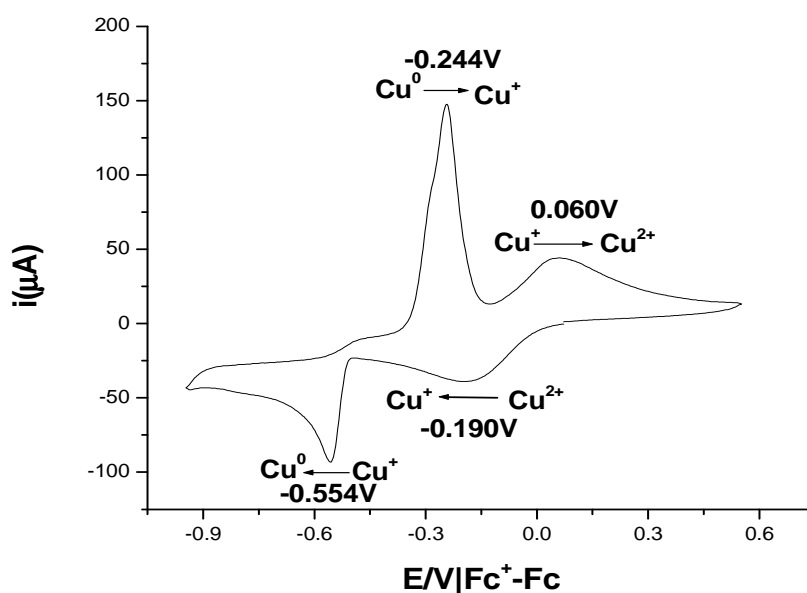
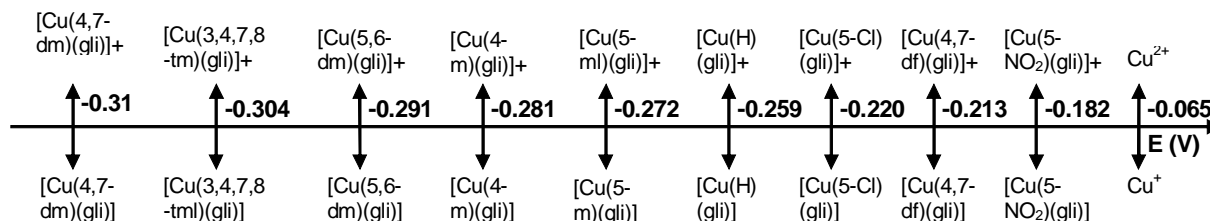
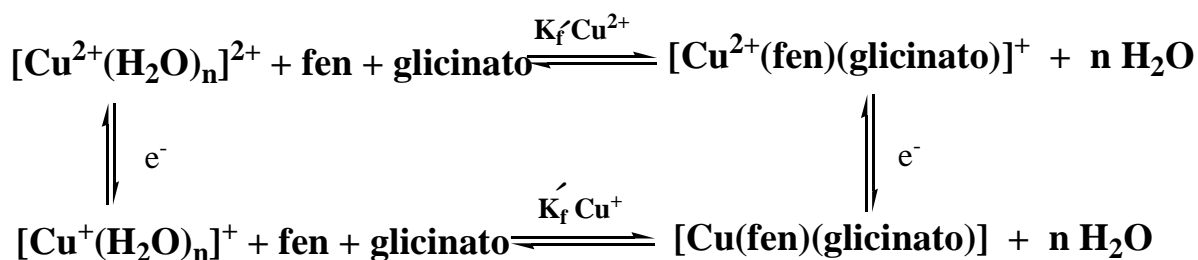


Figura 7.15.- Estudio de voltamperometría cíclica de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ a una concentración 5mM en una mezcla agua:etanol (60:40 %) en presencia de KNO_3 0.1 M, $v=0.1$ V/s, electrodo de carbón vítreo de 0.071 cm^2 de área geométrica en dirección catódica.

Al acomodar los valores de $E_{1/2}$ en una escala de potencial es posible observar que el valor de $E_{1/2}$ de todos los compuestos es más negativo que el que presenta $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, esto es, los sistemas se vuelven más reductores.



Contando con el valor de $E_{1/2}$ del $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ y tomando en cuenta el siguiente esquema de reacción



es posible determinar el valor de $\log\left(\frac{K'_f \text{Cu}^+}{K'_f \text{Cu}^{2+}}\right)$ empleando la ecuación

$$E_{[\text{Cu}(\text{fen})(\text{glicinato})]^{2+}/+} = E_{[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_n]^{2+}/+} + \frac{0.06}{n} \log\left(\frac{K'_f \text{Cu}^+}{K'_f \text{Cu}^{2+}}\right)$$

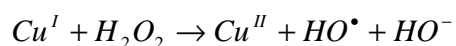
donde $E_{[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_n]^{2+}/+}$ es $E_{1/2}$ de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ cuyo valor es de -0.065V , se obtiene el siguiente orden de estabilidad relativa respecto al complejo de Cu^{II} **CasIIgli** > **CasVIIIgli** > **CasVIgli** > **Cas4mgli** > **CasVmgli** > **CasVIIgli** > **CasVCigli** > **CasIgli** > **CasVNO₂gli**. Los valores de $E_{1/2}$, ΔE y $\log\left(\frac{K'_f \text{Cu}^+}{K'_f \text{Cu}^{2+}}\right)$ se presentan en la

tabla 7.12.

Tabla 7.12. Valores de $E_{1/2}$, ΔE y $\log(K'_f Cu^{2+}/K'_f Cu^+)$ de los complejos.			
Compuesto	$E_{1/2}$ (V)	ΔE (V)	$\log\left(\frac{K_f Cu^+}{K_f Cu^{2+}}\right)$
CasIgli	-0.2136	-0.1486	-2.47
CasIIgli	-0.3104	-0.2454	-4.09
CasVIgli	-0.2917	-0.2267	-3.77
CasVIIIgli	-0.3024	-0.2374	-3.95
CasVIIgli	-0.259	-0.1940	-3.23
Cas4mgli	-0.2815	-0.2165	-3.60
CasVmgli	-0.2727	-0.2077	-3.46
CasVCigli	-0.2208	-0.1558	-2.59
CasVNO₂gli	-0.1822	-0.1172	-1.95

La estabilidad de los complejos cuando el metal se encuentra en un estado de oxidación II incrementa conforme aumenta el carácter electrodonador de los sustituyentes presentes en la fenantrolina.

Si en el medio de reacción se encuentra una especie que pueda realizar la transformación $Cu^{II} \rightarrow Cu^I$, una vez que estos compuestos se encuentren como Cu^I la tendencia natural será el reoxidarse, siendo este comportamiento lo que permite sugerir que entre más negativo sea el potencial de las Casiopeínas[®] más factible es su participación en la reacción de tipo Fenton:



Este hecho es importante, ya que en la célula existen moléculas que pueden reducir los compuestos de Cu^{II} como la cisteína, el ácido ascórbico o el glutatión¹⁰⁷ promoviendo la formación de radicales hidroxilo (HO^\bullet) al reaccionar con el H_2O_2 que se forma como producto de diferentes procesos celulares.¹⁰⁸

7.3 Ensayos biológicos

7.3.1 Inhibición de la proliferación celular

Se determinó para cada compuesto la capacidad para inducir el 50% de inhibición en la proliferación en las líneas tumorales HeLa y SiHa empleando el programa StatPlus 2005 para el análisis estadístico de los datos (Análisis Probit de sobrevivencia). Los valores de CI_{50} obtenidos se presentan en la tabla 7.13.

Tabla 7.13. Valores de CI_{50} obtenidos de la evaluación en las líneas tumorales humanas SiHa y HeLa.				
Compuesto	CI_{50} (μM)_{HeLa}	CI_{50} ($\mu g/mL$)_{HeLa}	CI_{50} (μM)_{SiHa}	CI_{50} ($\mu g/mL$)_{SiHa}
CasIgli	5.748	3.2133	6.559	3.667
CasIIgli	5.512	2.4466	3.228	1.433
CasVIgli	3.940	1.6071	3.050	1.244
CasVIIIgli	2.314	1.0091	1.674	0.730
CasVIIgli	13.88	5.6420	27.26	11.08
Cas4mgli	8.668	3.5671	10.19	4.196
CasVmgli	6.146	2.5293	3.608	1.485
CasVCigli	20.33	8.7849	13.88	5.999
CasVNO₂gli	20.80	9.2045	204.1	90.320
Cisplatino	136.3	40.9008	238.9	71.699

En ambas líneas tumorales los valores de CI_{50} de todos los compuestos evaluados son menores que el valor de CI_{50} para el cisplatino. Así mismo, el compuesto **CasVIIIgli** es el que presenta el menor valor de CI_{50} seguido por **CasVIgli** y **CasIIgli**, este último compuesto es uno con los cuales más trabajo se ha realizado y cuyos resultados motivó este estudio.

En la línea celular HeLa, la CI_{50} del compuesto **CasVIIIgli** es 50 veces menor que la CI_{50} de cisplatino, mientras que en SiHa el mismo compuesto presenta un valor casi 150 veces menor. Estos resultados son relevantes ya que el cisplatino es

el quimioterapéutico empleado preferentemente en el tratamiento de este tipo de cáncer en conjunto con la radioterapia.¹⁰⁹

Una vez evaluados los compuestos en las dos líneas tumorales, se cuenta con una respuesta biológica, respuesta que podrá ser descrita empleando parámetros fisicoquímicos, finalidad principal de este trabajo.

7.4. Obtención de ecuaciones de correlación cuantitativa estructura-actividad (QSAR).

Para la elección de los descriptores que formarán parte de la ecuación QSAR se empleó el método de los mínimos cuadrados, proceso que será descrito a continuación.

El primer parámetro a evaluar fue $E_{1/2}$ debido a que los compuestos evaluados pueden participar en reacciones de óxido-reducción como se mencionó en la introducción. Para la correlación no se empleó directamente el valor de $E_{1/2}$ sino pE (donde $pE = E_{1/2}/0.059$) para que los valores comparados se encontraran en el mismo orden de magnitud. La actividad inhibitoria de cada compuesto se presenta como el logaritmo del inverso de CI_{50} ($\log(1/CI_{50})$). En la tabla 7.14 se presentan los valores de actividad inhibitoria para HeLa y SiHa así como los valores de pE de los compuestos.

Tabla 7.14. Valores de Cl_{50} y valores de pE de los compuestos evaluados.			
Compuesto	Log(1/Cl_{50})_{SiHa}	Log (1/Cl_{50})_{HeLa}	pE
CasIgli	-0.73482	-0.69354	-3.62034
CasIIgli	-0.36895	-0.60008	-5.26102
CasVIgli	-0.58629	-0.71419	-4.94407
CasVIIIgli	-0.21337	-0.50503	-5.12542
CasVIIgli	-1.2149	-1.0576	-4.38983
Cas4mgli	-0.82911	-0.84837	-4.77119
CasVmgli	-0.93139	-0.90207	-4.62203
CasVCigli	-1.44273	-1.21498	-3.74137
CasVNO₂gli	-2.16693	-1.43286	-3.08814

En la figura 7.16 se presenta el gráfico de $\log(1/Cl_{50})$ frente a pE de ambas líneas celulares, aunque no se presenta una relación lineal entre ambos parámetros, en ambos casos se presenta un agrupamiento de compuestos en la parte derecha de la gráfica, en HeLa los compuestos que más se desvían de la tendencia que marca la línea punteada son **CasIgli** y **CasVNO₂gli**, el primero cuenta con los sustituyentes más grandes de toda la serie (dos grupos fenilo en las posiciones 4 y 7), mientras que el segundo posee un grupo nitro en la posición 5, uno de los dos sustituyentes electroattractores de la serie de compuestos. Con respecto a SiHa y siguiendo nuevamente la tendencia que marca la línea punteada, los compuestos que presentan la mayor desviación son nuevamente **CasIgli** y **CasVNO₂gli** además del compuesto **CasVCigli** que posee un grupo cloro en la posición 5, el otro sustituyente electroattractor de la serie.

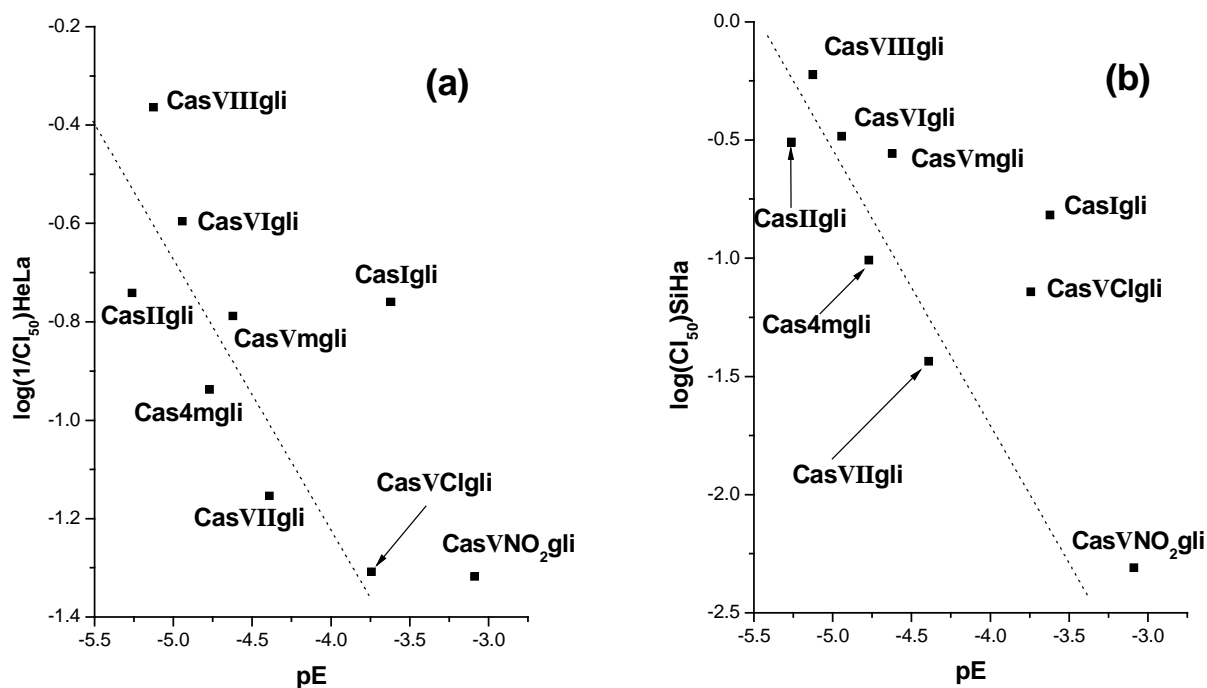


Figura 7.16. Correlación entre la actividad inhibitoria ($\log(1/CI_{50})$) y pE de los compuestos (a) $\log(1/CI_{50})$ HeLa frente pE, (b) $\log(1/CI_{50})$ SiHa frente pE.

Esta desviación puede deberse al tamaño de los sustituyentes, ya que tomados de manera individual, el fenilo y el nitro ocupan un mayor volumen que un grupo metilo, lo cual concuerda con lo observado en la línea tumoral HeLa, sin embargo, en la línea tumoral SiHa, el que el compuesto que tiene un cloro como sustituyente (**CasVCigli**) se desvíe de la tendencia, hace pensar en otro factor esté involucrado además del estérico, pudiendo ser un factor hidrofóbico.

De acuerdo a los resultados anteriores, los siguientes descriptores a empleados son parámetros relacionados con el tamaño de la molécula y con la hidrofobicidad de la misma. En la literatura se encuentran valores de refractividad molar (RM) y π ,¹¹⁰ los cuales se correlacionaron con $\log(1/CI_{50})$ de ambas líneas tumorales humanas.

La refractividad molar (RM) es un parámetro que puede relacionarse directamente con el volumen de la molécula, en este tratamiento se le asigna un valor a cada sustituyente que representa la contribución que tiene con respecto al volumen total de la molécula con respecto a un compuesto “padre” o “de partida” que tiene un valor de cero . En este trabajo, el compuesto padre es **CasVIIgIi** . Los valores de refractividad molar y los valores de $\log (1/CI_{50})$ para ambas líneas tumorales se presentan en la tabla 7.15.

Tabla 7.15. Valores de CI_{50} , RM y π_{fen} de los compuestos estudiados.				
Compuesto	Log(1/CI_{50})_{SiHa}	Log (1/CI_{50})_{HeLa}	RM^a	π_{fen}^b
CasIgli	-0.73482	-0.69354	50.8	3.73
CasIIgIi	-0.36895	-0.60008	11.4	0.92
CasVIgIi	-0.58629	-0.71419	11.4	0.92
CasVIIgIi	-0.21337	-0.50503	22.8	1.84
CasVIIgIi	-1.2149	-1.0576	0	0
Cas4mgIi	-0.82911	-0.84837	5.7	0.46
CasVmglIi	-0.93139	-0.90207	5.7	0.46
CasVCIgIi	-1.44273	-1.21498	6	0.8
CasVNO₂gIi	-2.16693	-1.43286	7.4	-0.22

a. Valores tomados de Comprehensive Medicinal Chemistry. Volumen 4. Quantitative Drug Design.

b. Valores tomados de Bravo Gómez M.E. Tesis doctoral. Facultad de Química. UNAM.

Al graficar los valores de RM frente a $\log(1/CI_{50})$ de ambas líneas tumorales es posible apreciar una tendencia en la gran mayoría de los compuestos, nuevamente siguiendo las líneas punteadas de ambas gráficas (figura 7.17). Los compuestos que más se desvían de la tendencia mencionada son el **CasIgli** y **CasVCIgIi** y **CasVNO₂gIi** en el caso de HeLa, mientras que en SiHa son **CasIgli** y **CasVNO₂gIi**, nuevamente los compuestos que poseen los sustituyentes más grandes (compuesto **CasIgli**) y los que poseen los sustituyentes con mayor carácter electrotractor.

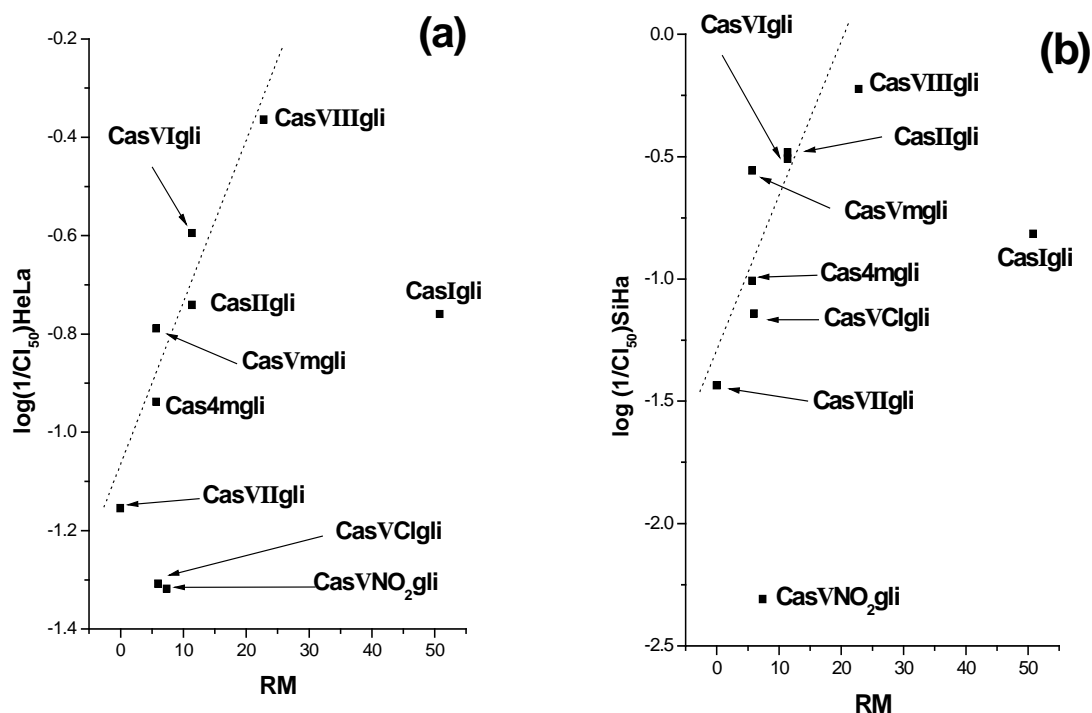


Figura 7.17. Correlación de $\log(1/CI_{50})$ frente a RM para las líneas tumorales (a) HeLa y (b) SiHa.

Por otro lado los valores de π_{fen} surgen de coeficientes de partición en el sistema octanol /agua ($\log P$). $\log P$ es considerada una propiedad constitutiva-aditiva y numéricamente igual a la suma de $\log P$ del compuesto padre más un término π que representa la diferencia de hidrofobicidad entre un sustituyente en particular y el átomo de hidrógeno que es reemplazado.

La correlación entre los valores π_{fen} mostrados en la tabla 7.15 y $\log(1/CI_{50})$ muestra un comportamiento muy similar al que se encuentra cuando se emplea el parámetro RM, nuevamente son dos los compuestos que presentan la mayor desviación en la línea tumoral HeLa **CasIgIi** y **CasVCIgIi**, mientras que en SiHa los compuestos son **CasIgIi** y **CasVNO₂gIi** (Figura 7.18).

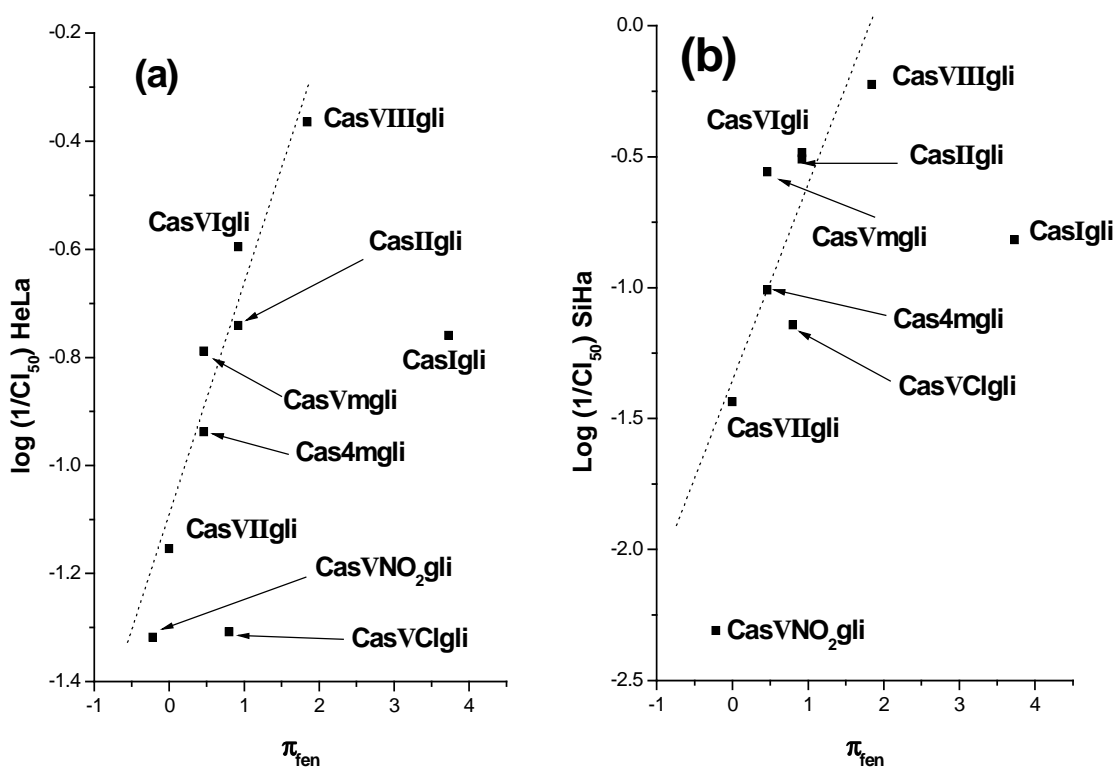


Figura 7.18. Correlación de $\log(1/CI_{50})$ frente a π_{fen} para ambas líneas tumorales (a) HeLa y (b) SiHa.

La tendencia de ambos descriptores frente a $\log(1/CI_{50})$ en ambas líneas tumorales es prácticamente el mismo, por lo cual se correlacionaron ambas variables obteniendo la ecuación $\pi_{\text{fen}} = 0.07476RM - 0.01672$, $r = 0.96604$ (Figura 7.18). Es interesante el hecho de que en esta correlación, los dos valores que se desvían son los correspondientes a los sustituyentes con el mayor carácter electroatractor (-Cl y -NO₂)

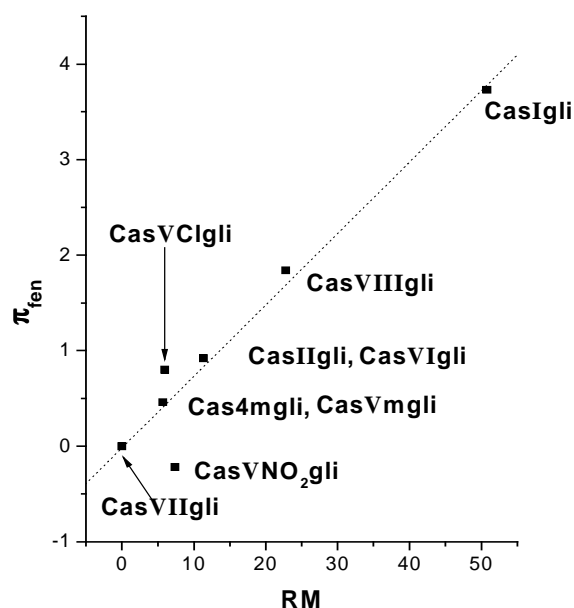


Figura 7.19. Correlación de π_{fen} frente a RM.

Aún con estas ligeras desviaciones respecto a la tendencia mostrada en la figura 7.19, los compuestos evaluados se encuentran en un intervalo en el cual el parámetro estérico (RM) es colineal con el parámetro hidrofóbico (π_{fen}), dificultando el discernir que factor tiene mayor peso en la respuesta biológica encontrada. La colinealidad que presentan estas dos variables, permiten emplear cualquiera de las dos para la construcción de las ecuaciones QSAR.

Con los valores reportados en la tabla 7.13 de actividad biológica *in vitro*, el descriptor estérico RM, el descriptor hidrofóbico π_{fen} y los valores de pE se construyeron ecuaciones QSAR, empleando una regresión lineal multiparamétrica, en donde la variable dependiente es el Log (1/CI₅₀) de cada línea tumoral, obteniendo las ecuaciones abajo reportadas.

$$\text{Log (1/CI}_{50}\text{) HeLa} = -2.63807 - 0.36003(\text{pE}) + 0.01262(\text{RM})$$

R= 0.9323, F=19.931, SD=0.1355, N=9..... **(Ecuación 1)**

$$\text{Log } (1/CI_{50}) \text{ SiHa} = -4.47391 - 0.74455(pE) + 0.01913(RM)$$

R= 0.9153, F=15.509, SD= 0.2956, N=9(Ecuación 2)

$$\text{Log } (1/CI_{50}) \text{ HeLa} = -2.43783 - 0.31981(pE) + 0.14809\pi_{fen}$$

R= 0.9044, F=13.49336, SD= 0.1597, N=9.....(Ecuación 3)

$$\text{Log } (1/CI_{50}) \text{ SiHa} = -4.22509 - 0.68572(pE) + 0.27017\pi_{fen}$$

R= 0.94138, F=23.36171, SD= 0.2477, N=9..... (Ecuación 4)

Con las ecuaciones obtenidas para ambas líneas celulares se calcula un estimado de la actividad, los gráficos se presentan en las figuras 7.20 y 7.21.

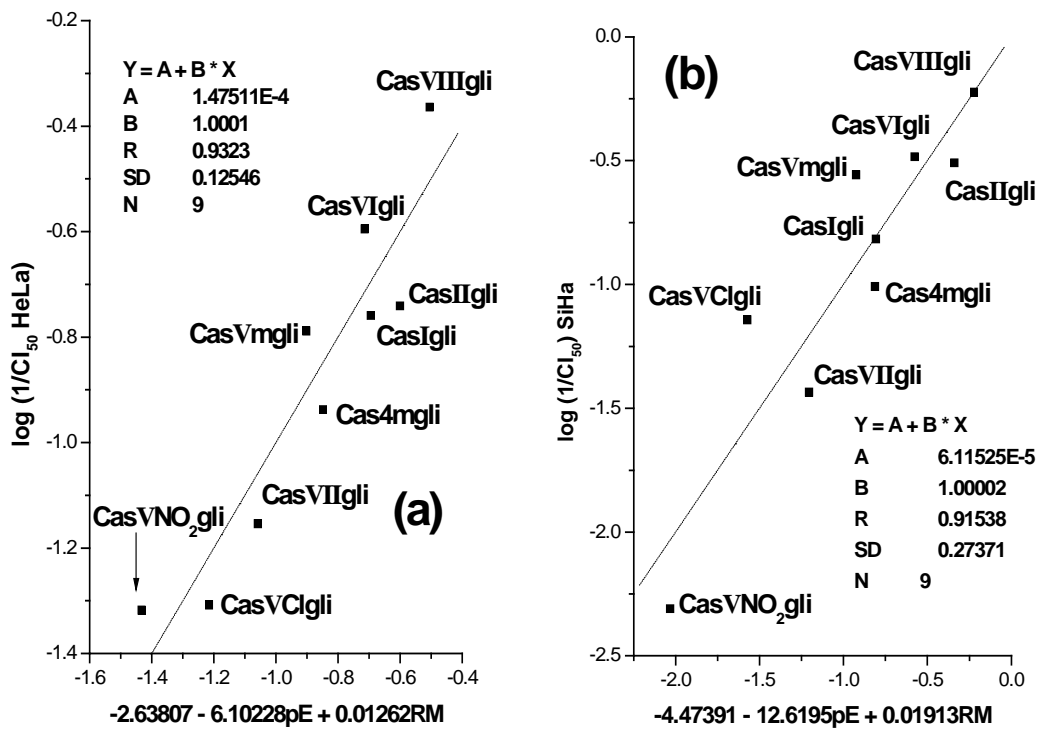


Figura 7.20. Correlación entre (a) log(1/CI₅₀) HeLa y valores encontrados con la ecuación 1 ,
(b) log(1/CI₅₀)SiHa y valores encontrados con la ecuación 2

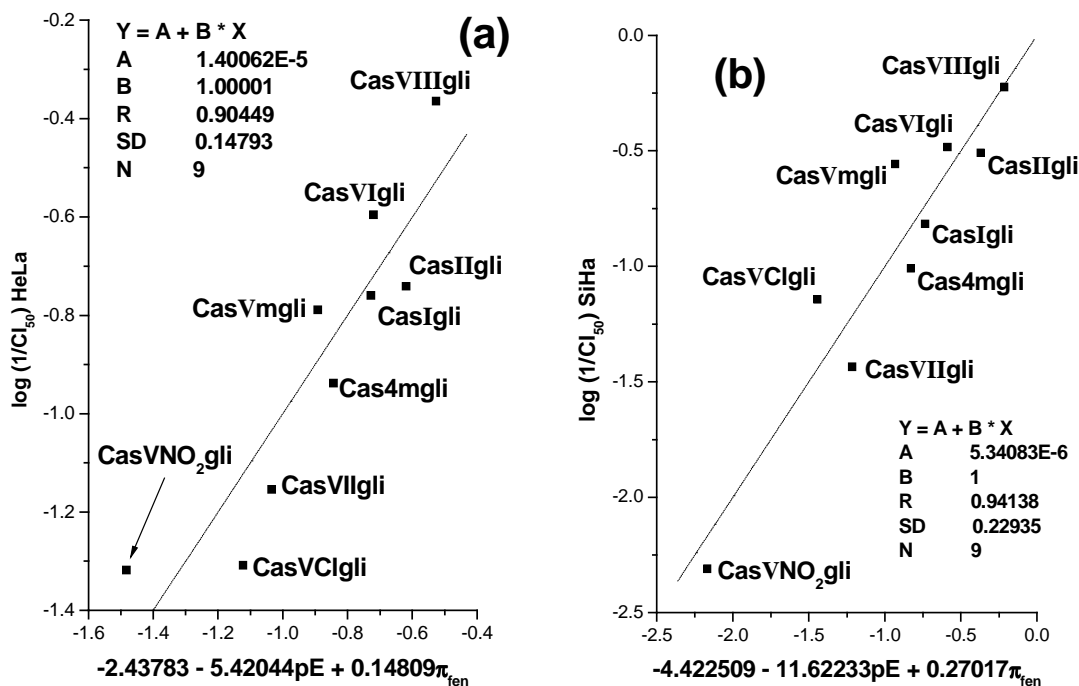


Figura 7.21. Correlación entre (a) $\log(1/CI_{50})$ HeLa y valores encontrados con la ecuación 3 , (b) $\log(1/CI_{50})$ SiHa y valores encontrados con la ecuación 4

El valor de la pendiente tiene un valor de uno en todos los casos, mientras que el valor del intercepto es muy cercano a cero, lo cual indica una buena reproducción de la respuesta biológica obtenida experimentalmente empleando las ecuaciones QSAR.

La tendencia general que adoptan los compuestos es el incrementar su actividad inhibitoria conforme incrementa su carácter reductor, sin embargo, al hacer un análisis más detallado es notorio el hecho de que el factor electrónico no es el único implicado en la respuesta biológica. Un ejemplo de ello es la actividad que muestra el compuesto **CasIgli**, presentando en ambas líneas tumorales valores intermedios de CI_{50} pero un valor de $E_{1/2}$ que se encuentra entre los más positivos. Así mismo, este compuesto contiene en su estructura a los sustituyentes más

lipófilos y más voluminosos, como lo indican los valores de RM y π_{fen} correspondientes presentados en la tabla 7.15.

El signo del coeficiente de RM como de π_{fen} en las ecuaciones QSAR indican que el incremento en la hidrofobicidad o en el volumen de la molécula será reflejado en un incremento en la actividad inhibitoria. De la misma forma se obtendrá un incremento en la actividad inhibitoria al incrementar el carácter reductor de los compuestos.

Los resultados del análisis QSAR concuerdan con los resultados del estudio electroquímico y con la propuesta realizada por Bravo-Gómez⁷⁶, en donde los parámetros electrónicos son importantes para la descripción de las actividades mostradas por estos compuestos *in vitro*, así como con otros resultados presentados por el grupo de investigación donde se propone la participación de estos compuestos en reacciones de óxido-reducción.

Así, los resultados del análisis cuantitativo empleando las ecuaciones QSAR permiten proponer la sustitución de las fenantrolinas con grupos electrodonadores como metoxilo, propilo, isopropilo o *ter*-butilo que incrementen el carácter reductor de los compuestos y al mismo tiempo incremente el volumen de la molécula y su hidrofobicidad con la finalidad de incrementar su actividad inhibitoria, al menos, en estas dos líneas tumorales humanas.

8. Conclusiones.

- ✓ Se sintetizaron y caracterizaron de manera satisfactoria 9 compuestos de coordinación pertenecientes a la familia de las Casiopeínas[®].
- ✓ El empaquetamiento que presenta el compuesto **CasVIgIi** ([Cu(5,6-dimetil-1,10-fenantrolina)(glicinato)H₂O]NO₃) en estado sólido puede ser atribuido a la formación de puentes de hidrógeno, donde cada molécula de este compuesto participa en al menos tres de estas interacciones.
- ✓ El estudio electroquímico revela la presencia de una débil adsorción sobre la superficie del electrodo de carbón vítreo, sin embargo, es posible determinar el valor de $E_{1/2}$ para el proceso [Cu(R-1,10-fenantrolina)(glicinato)]^{2+/1+} empleando los valores de potencial de las señales de reducción I_c y de oxidación I_a .
- ✓ Los nueve compuestos evaluados en las líneas tumorales humanas HeLa y SiHa presentan valores de CI_{50} menores que los que presenta cisplatino.
- ✓ El compuesto **CasVIIIgIi** ([Cu(3,4,7,8-tetrametil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO₃) presenta los valores de CI_{50} más bajos en ambas líneas tumorales humanas, siendo en HeLa 50 veces menor que el valor de CI_{50} del cisplatino, mientras que en SiHa es casi 150 veces menor.
- ✓ La tendencia encontrada al correlacionar la actividad biológica frente a pE permite sugerir la participación de estos compuestos en un proceso de óxido-reducción que esté relacionado con la inhibición de la proliferación celular.
- ✓ Los valores de RM y π_{fen} que corresponden a los sustituyentes del ligante diimina en los complejos son colineales, lo cual dificulta el asociar la

respuesta biológica obtenida a uno de los dos parámetros, el estérico o el hidrófobo.

- ✓ Las ecuaciones QSAR construidas con la combinación de $pE+RM$ o $pE+\pi_{fen}$ muestran una buena reproducción de la respuesta biológica obtenida experimentalmente.
- ✓ Y finalmente, basándonos en los resultados que arrojó el estudio QSAR se sugiere que para incrementar la actividad inhibitoria de crecimiento celular en las líneas tumorales humanas HeLa y SiHa, los compuestos a sintetizar cuenten con sustituyentes sobre el ligante diimina que posean un carácter electrodonador además de un tamaño mayor que el grupo metilo, pudiendo ser estos sustituyentes metoxilo, propilo, isopropilo o terbutilo, confirmando de esta manera la hipótesis de trabajo.

Índice de tablas.

2. Introducción.

Tabla 2.1. Diferencias generales entre los tumores malignos y benignos4

Tabla 2.2. Nomenclatura de tumores6

3. Antecedentes.

Tabla 3.1. Clasificación de las Casiopeínas[®]31

7. Resultados y discusión.

Tabla 7.1. Principales bandas de absorción en el infrarrojo (4000-400cm⁻¹).....47

Tabla 7.2. Principales bandas de absorción en el infrarrojo (800-200 cm⁻¹).....48

Tabla 7.3. Análisis Elemental.....49

Tabla 7.4. Susceptibilidad magnética.....50

Tabla 7.5. Conductividad molar en disolución.....50

Tabla 7.6. Espectroscopia UV-vis.....51

Tabla 7.7. Datos cristalográficos de **CasVigli**
[Cu(5,6-dimetil-1,10-fenantrolina)(glicinato)H₂O]NO₃51-52

Tabla 7.8. Ángulos [°] y distancias [Å] seleccionadas para **CasVigli**
[Cu(5,6-dimetil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO₃.....53

Tabla 7.9. Distancias y ángulos de enlace correspondientes al glicinato en los compuestos comparados.....57

Tabla 7.10. Distancias y ángulos de enlace de los átomos donadores al centro metálico en los complejos mixtos de coordinación.....60

Tabla 7.11. Potencial de media onda (E_{1/2}) de los compuestos estudiados y valores de pK_a para las fenantrolinas sin coordinar.....73

Tabla 7.12. Valores de $E_{1/2}$, ΔE y $\log(K'_{iCu^{2+}}/K'_{iCu^+})$ de los complejos.....76

Tabla 7.13. Valores de Cl_{50} obtenidos de la evaluación en las líneas tumorales humanas SiHa y HeLa.....77

Tabla 7.14. Valores de Cl_{50} y valores de pE de los compuestos evaluados.....79

Tabla 7.15. Valores de Cl_{50} , RM y π_{fen} de los compuestos estudiados.....81

Índice de figuras

2. Introducción.

Figura 2.1. Esquema de los productos de fisión de ^{10}B irradiado con neutrones.....	13
Figura 2.2. Esquemización de la reacción de hidrólisis del cisplatino y su interacción con N^7 de guanina.....	17
Figura 2.3. Aductos formados por los compuestos de platino con el ADN.....	17
Figura 2.4. Esquema de hidrólisis de los metalocenos dihalogenados en medio acuoso.....	23
Figura 2.5. Mecanismo propuesto para la interacción de $[\text{Cu}(o\text{-fen})_2]^+$ con el ADN.....	28

3. Antecedentes.

Figura 3.1 Estructuras generales de las Casiopeínas [®] . En la figura no se muestran los compuestos que tienen en su estructura salicilaldehidato.....	30
---	----

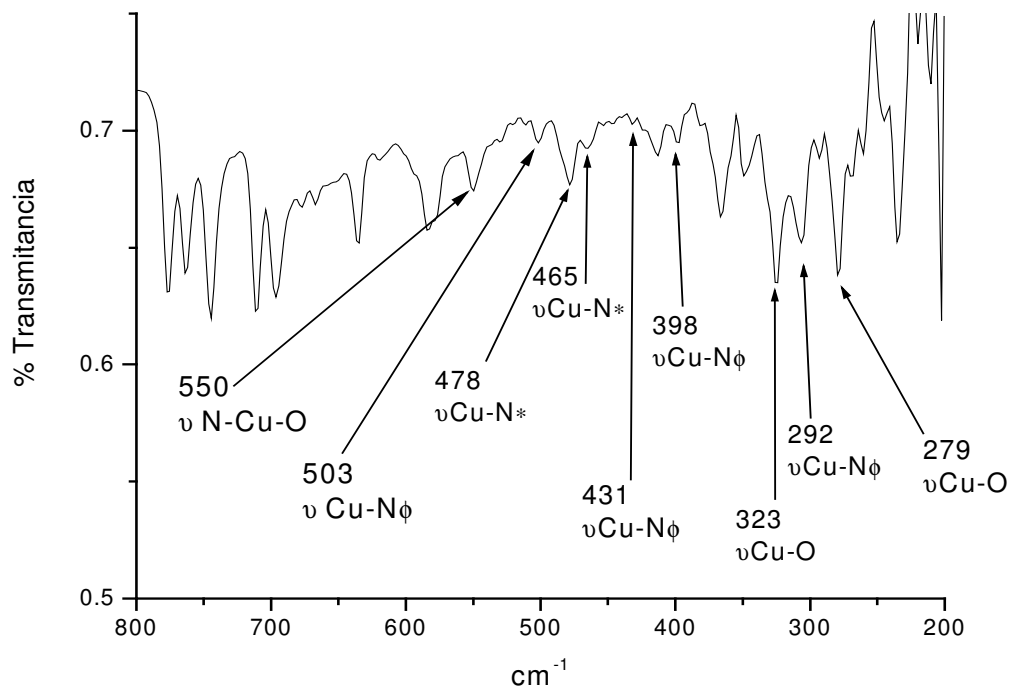
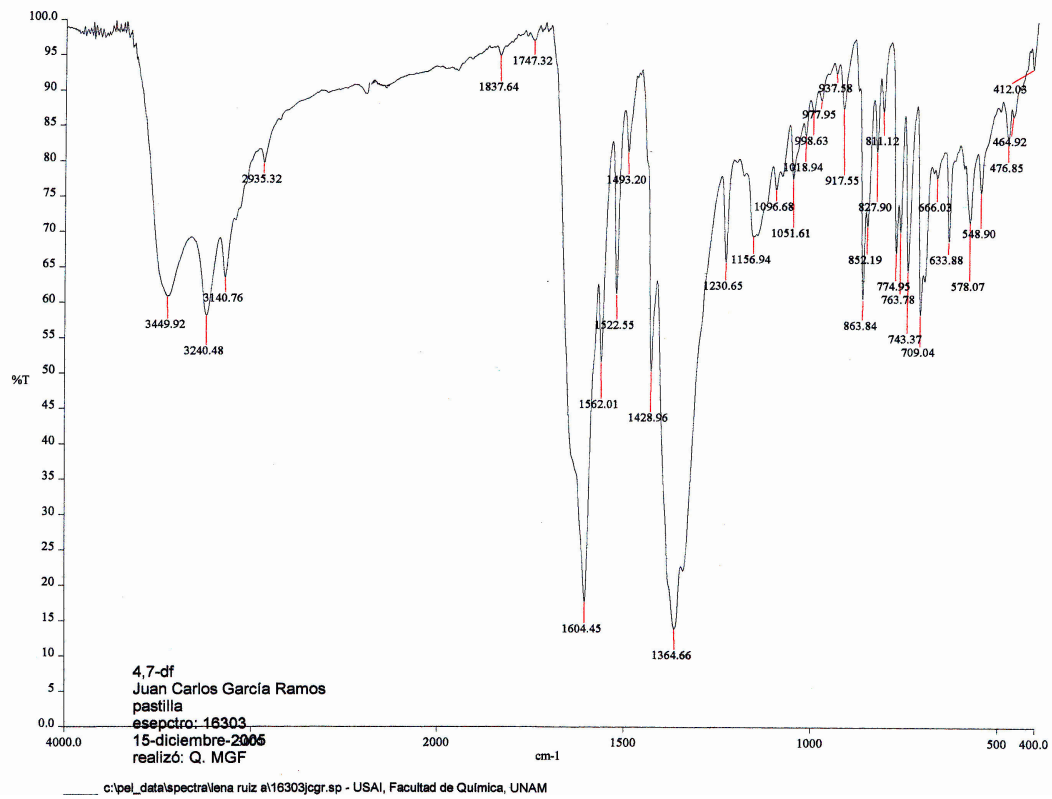
7. Resultados y discusión.

Figura 7.1. Espectro electrónico del compuesto CasVIgli ($[\text{Cu}(5,6\text{-dimetil-1,10-fenantrolina})(\text{glicinato})\text{H}_2\text{O}]\text{NO}_3$) de 450-900nm.....	52
Figura 7.2. Diagrama ORTEP mostrando la estructura molecular del compuesto CasVIgli ($[\text{Cu}(5,6\text{-dimetil-1,10-fenantrolina})(\text{glicinato})\text{H}_2\text{O}]\text{NO}_3$).....	54
Figura 7.3. Diagrama (a) mostrando la interacción del anión nitrato con el Cu(II) (b) misma sección girada 180° sobre el plano de la molécula mostrando la distancia entre aniones.....	55
Figura 7.4. Diagrama que ilustra la formación de puentes de hidrógeno entre el nitrato y el grupo $-\text{NH}_2$ y entre el H_2O y el grupo $-\text{C}=\text{O}$ -.....	56

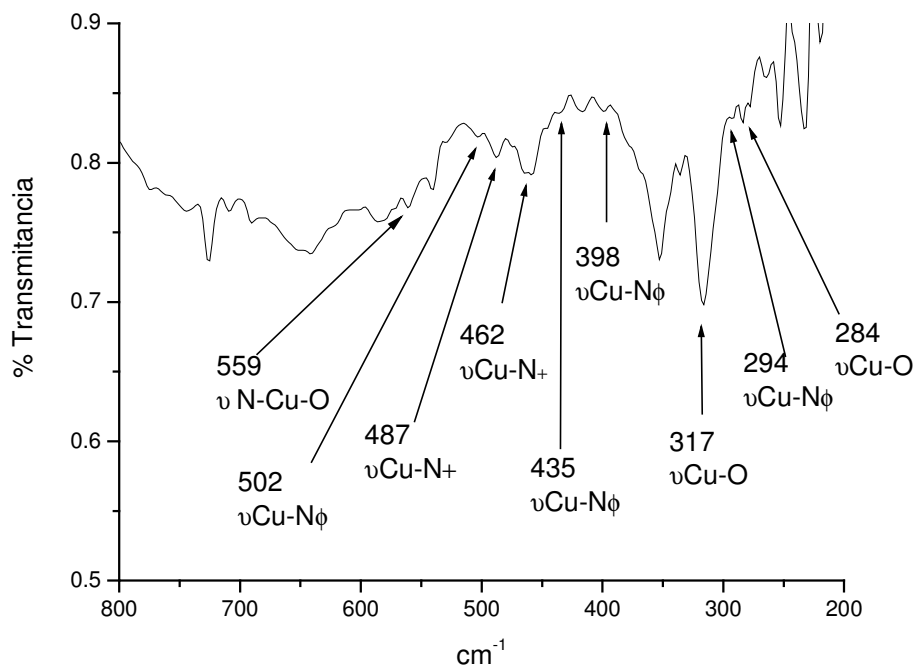
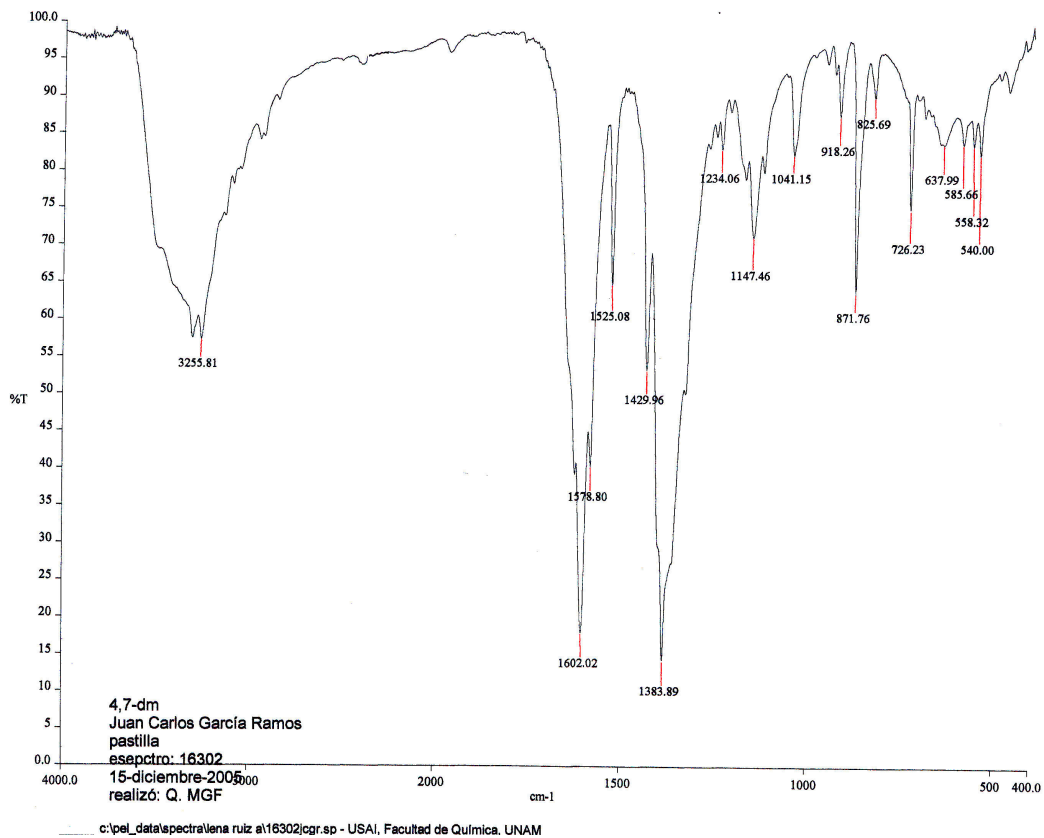
Figura 7.5. Estructuras cristalinas de los compuestos [Cu(H ₂ O)(4,7-dimetil-1,10-fenantrolina)(glicinato) (NO ₃)] (CasIIgli), [Cu(H ₂ O)(5,6-dimetil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ (CasVIgli), [Cu(H ₂ O)(3,4,7,8-tetrametil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO ₃ (CasVIIIgli) y [Cu(1,10-fenantrolina) Cl (glicinato)] (CasVIIgli).....	59
Figura 7.6. Estructuras resonantes de la fenantrolina producto de un efecto de inducción de carga en diferentes posiciones.....	61
Figura 7.7. Estudio de voltamperometría cíclica del compuesto CasVIgli a una concentración 1mM en una mezcla agua:etanol (60:40 %) en presencia de KNO ₃ 0.1 M, v=0.1 V/s, electrodo de carbón vítreo de 0.071 cm ² de área geométrica. (a) dirección catódica, (b) dirección anódica.....	63
Figura 7.8. Estudio de voltamperometría cíclica con inversión de potenciales para el compuesto CasVIgli a una concentración 1 mM en una mezcla agua:etanol (60:40 %) en presencia de KNO ₃ 0.1 M, v=0.1 V/s, electrodo de carbón vítreo de 0.071 cm ² de área.....	64
Figura 7.9. Estudio de voltamperometría cíclica para el compuesto CasVIgli a una concentración 0.1 mM en una mezcla agua:etanol (60%:40%) en presencia de KNO ₃ 0.1M, v= 0.05,0.1,0.2,0.3,0.4,0.5,0.6,0.7,0.8,0.9 y 1 V/s empleando un electrodo de carbón vítreo de 0.071cm ² de área.....	65
Figura 7.10. Grafico de la relación de corrientes de pico anódico y pico catódico en función de la velocidad de barrido.....	66
Figura 7.11. Voltamperogramas cíclicos para el compuesto CasVIgli a una concentración 1 mM en una mezcla agua-etanol (60:40 %) en presencia de KNO ₃ 0.1 M, v=0.1 V/s (a) empleando un electrodo de platino (línea continua) (b) empleando un electrodo de carbón vítreo (línea punteada).....	67
Figura 7.12. Esquematización de los procesos observados en los voltamperogramas obtenidos para el compuesto 3.....	70
Figura 7.13. Modelo del mecanismo de transporte de electrones a través de un depósito creciente de Cu(fen) ₂ ⁺ en un electrodo de grafito.....	71
Figura 7.14. Gráfico de E _{1/2} de los complejos mixtos frente al pK _a _{fen} de las fenantrolinas sin coordinar.....	74

Figura 7.15. Estudio de voltamperometría cíclica de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ a una concentración 5mM en una mezcla agua:etanol (60:40 %) en presencia de KNO_3 0.1 M, $v=0.1$ V/s, electrodo de carbón vítreo de 0.071 cm^2 de área geométrica en dirección catódica.....	74
Figura 7.16. Correlación entre la actividad inhibitoria ($\log(1/\text{CI}_{50})$ y pE de los compuestos (a) $\log(1/\text{CI}_{50})\text{HeLa}$ frente pE , (b) $\log(1/\text{CI}_{50})\text{SiHa}$ frente pE	80
Figura 7.17. Correlación de $\log(1/\text{CI}_{50})$ frente a RM para las líneas tumorales (a) HeLa y (b) SiHa.....	82
Figura 7.18. Correlación de $\log(1/\text{CI}_{50})$ frente a π_{fen} para ambas líneas tumorales (a) HeLa y (b) SiHa.....	83
Figura 7.19. Correlación de π_{fen} frente a RM	84
Figura 7.20. Correlación entre (a) $\log(1/\text{CI}_{50})$ HeLa y valores encontrados con la ecuación 1 , (b) $\log(1/\text{CI}_{50})\text{SiHa}$ y valores encontrados con la ecuación 2.....	85
Figura 7.21. Correlación entre (a) $\log(1/\text{CI}_{50})$ HeLa y valores encontrados con la ecuación 3, (b) $\log(1/\text{CI}_{50})\text{SiHa}$ y valores encontrados con la ecuación 4.....	86

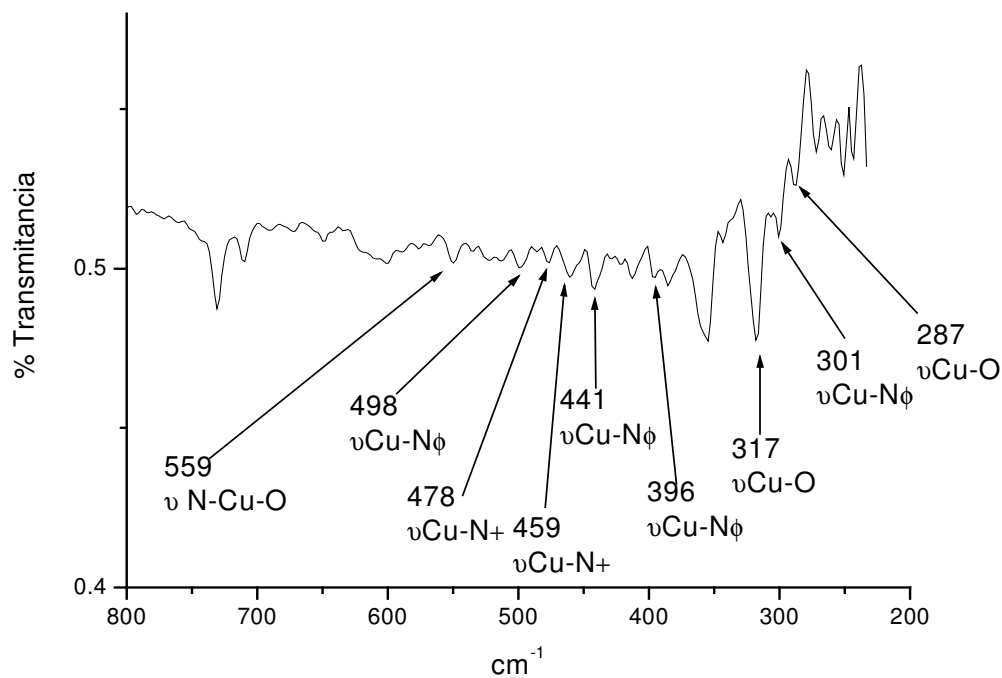
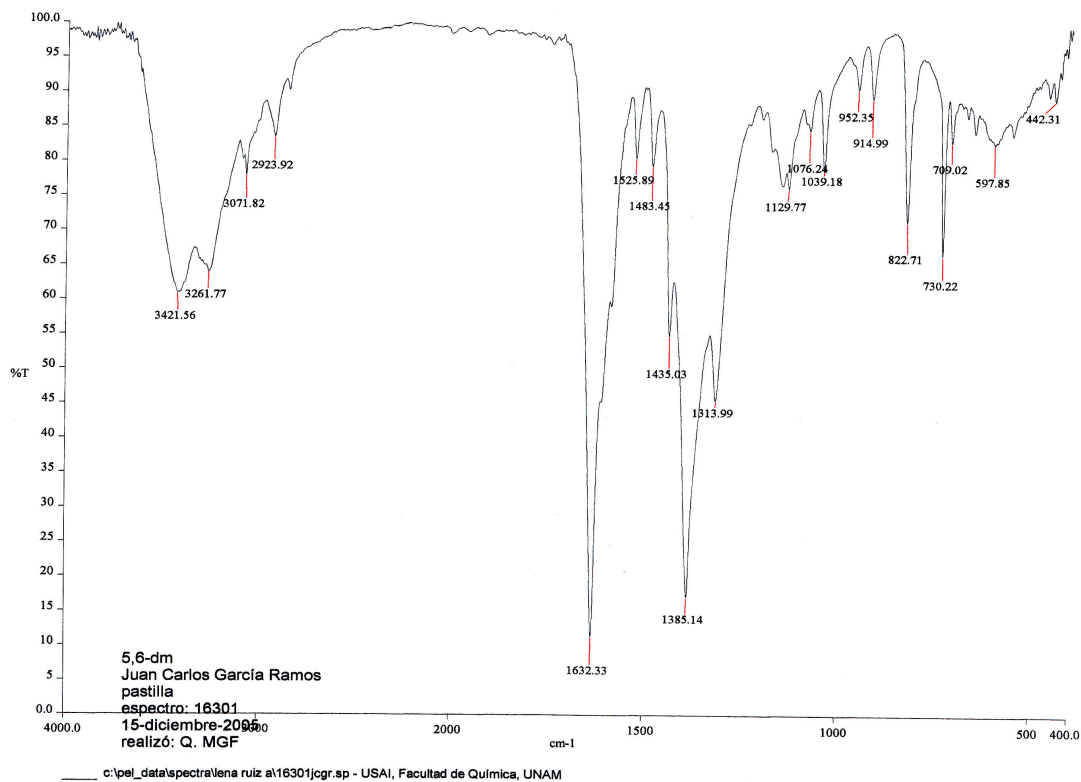
Anexo I. Espectros IR



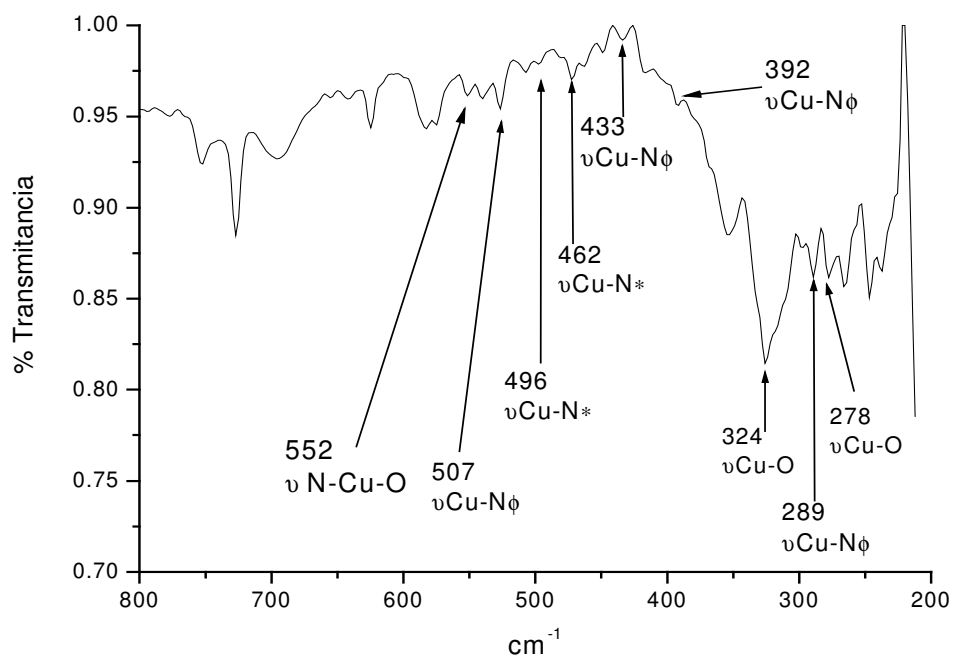
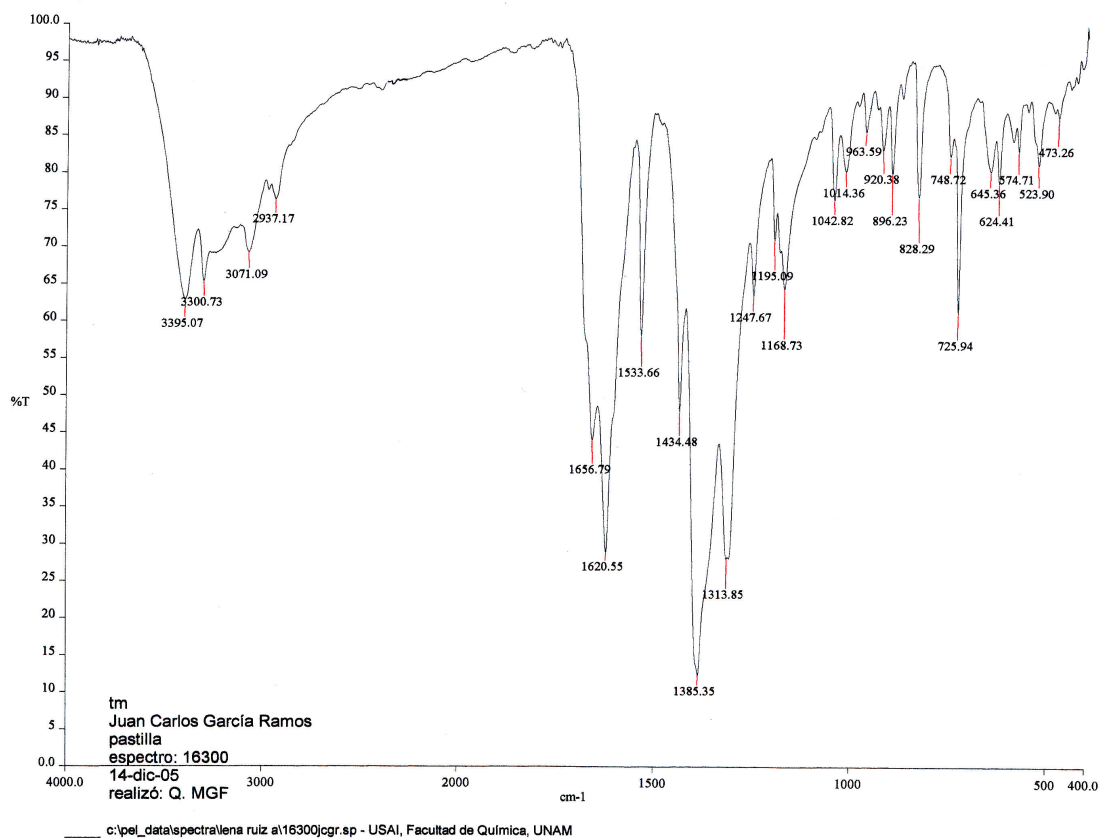
Espectros IR de 400-400 nm y de 800-200 nm del compuesto **CasIgli**.



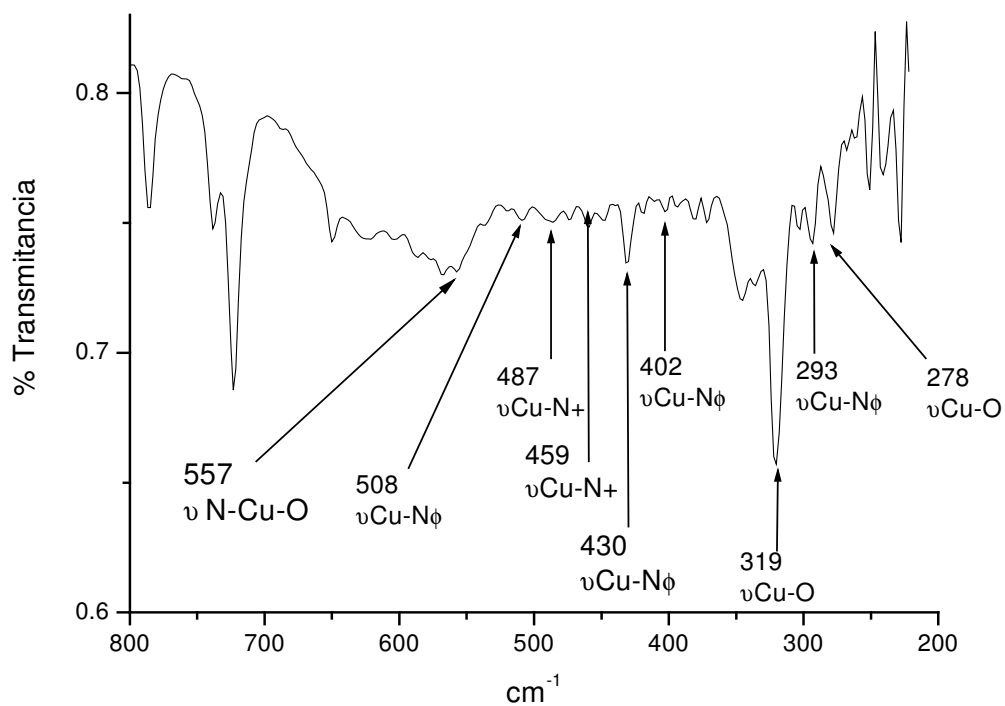
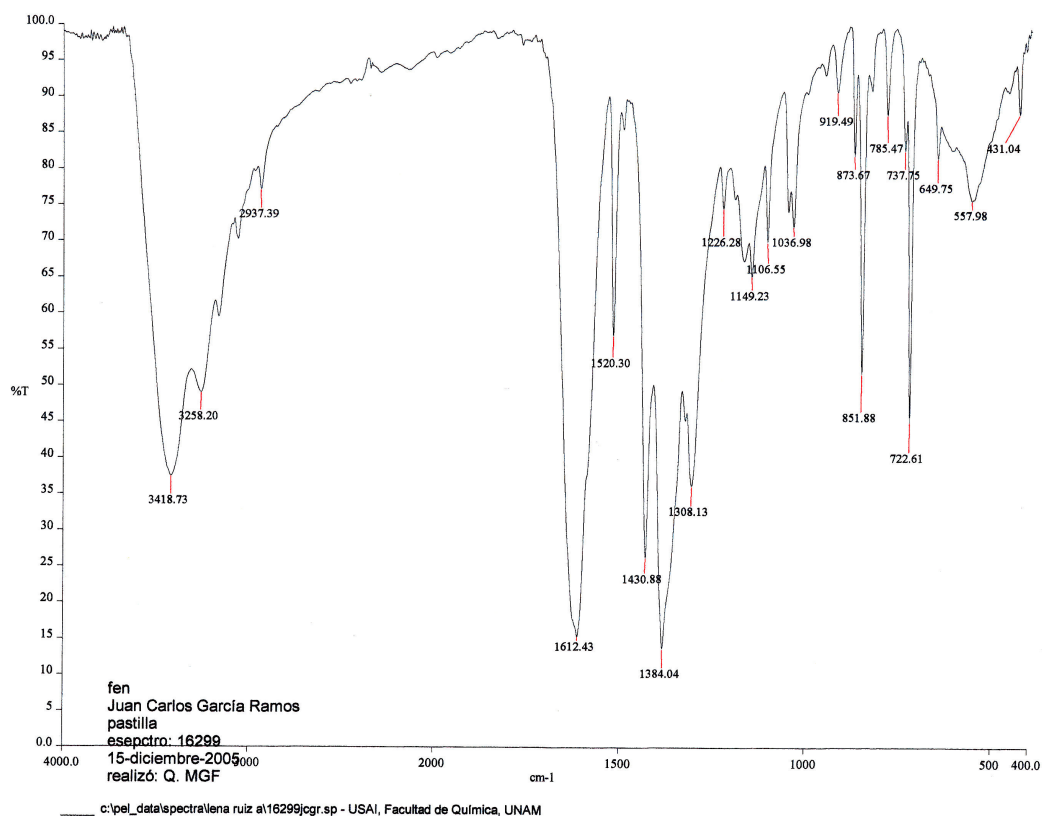
Espectros IR de 400-400 nm y de 800-200 nm del compuesto **CasiIgli**.



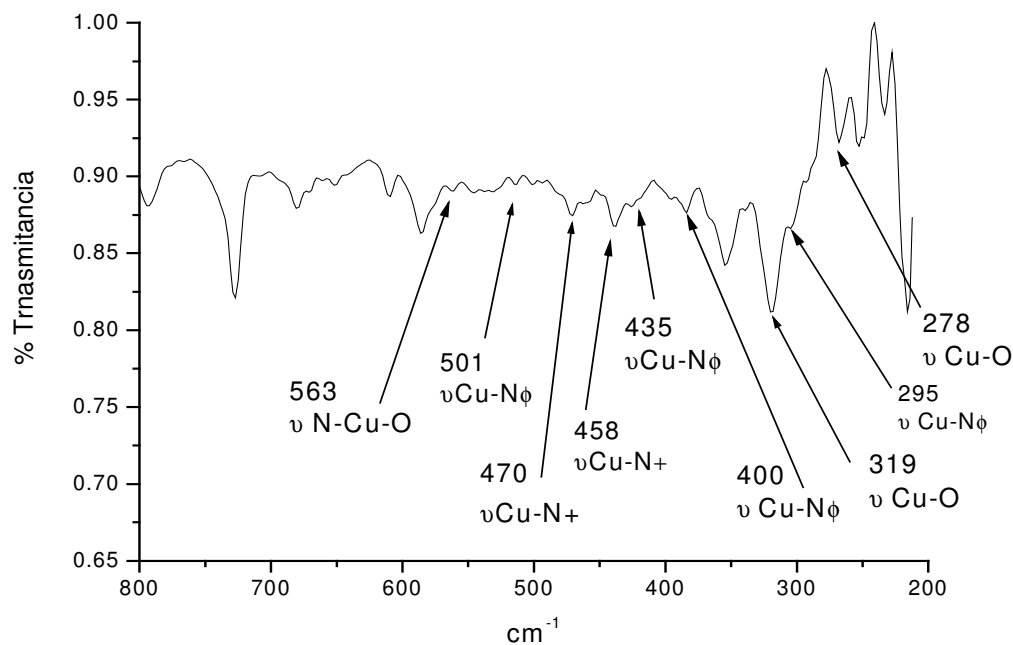
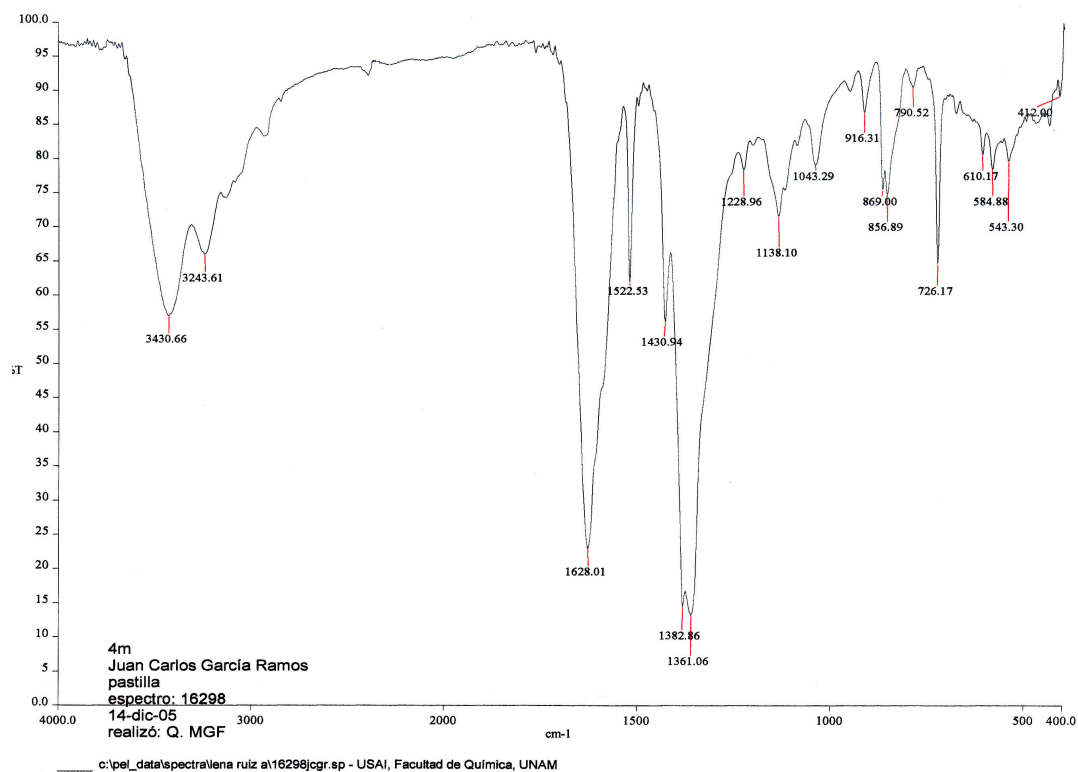
Espectros IR de 400-400 nm y de 800-200 nm del compuesto **CasVigli**.



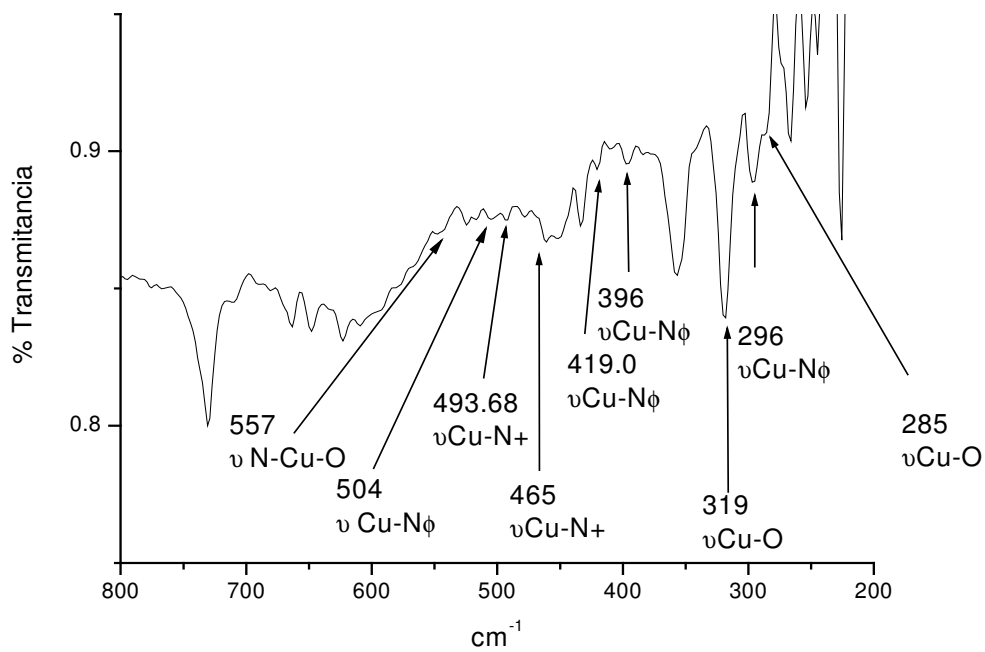
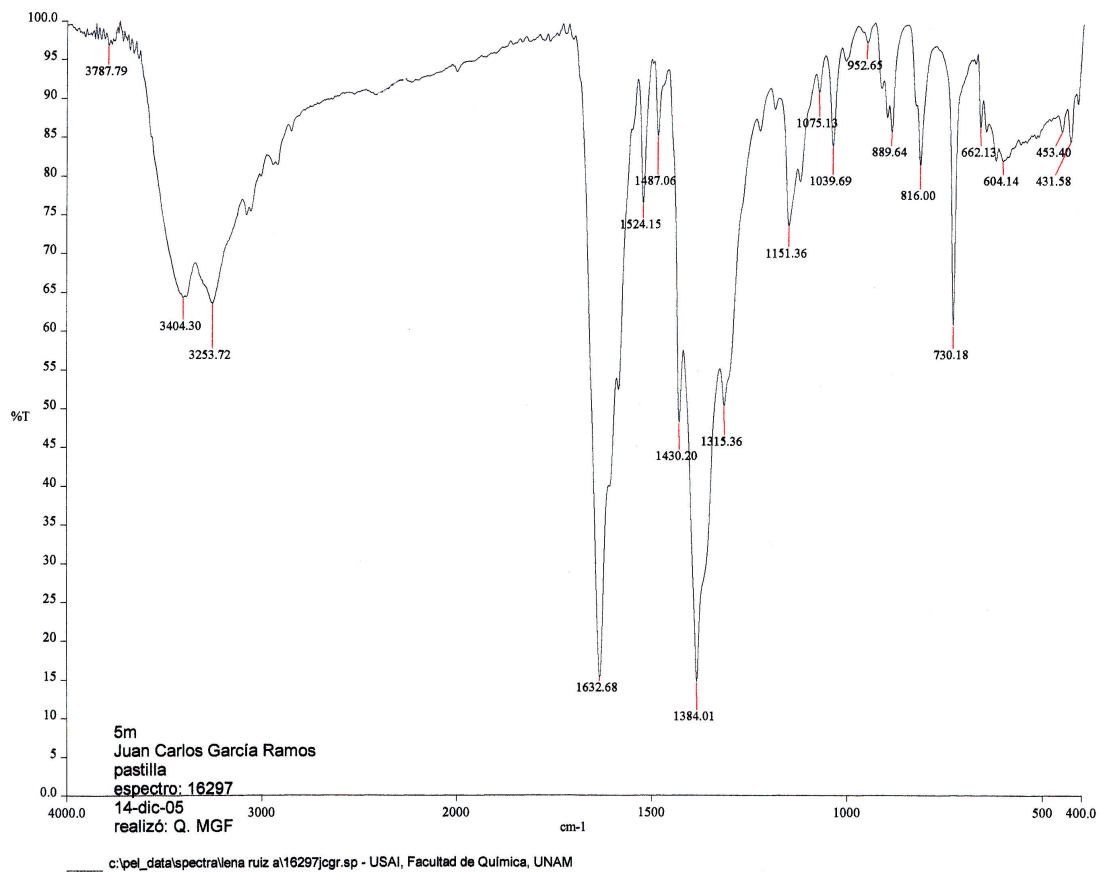
Espectros IR de 400-400 nm y de 800-200 nm del compuesto **CasVIIIgIi**.



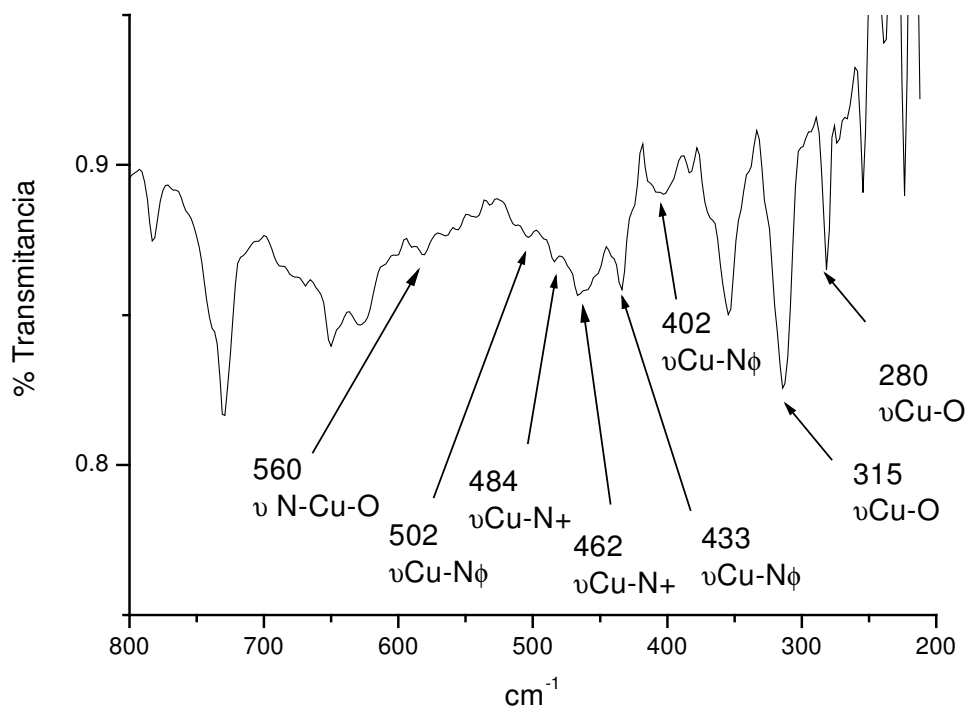
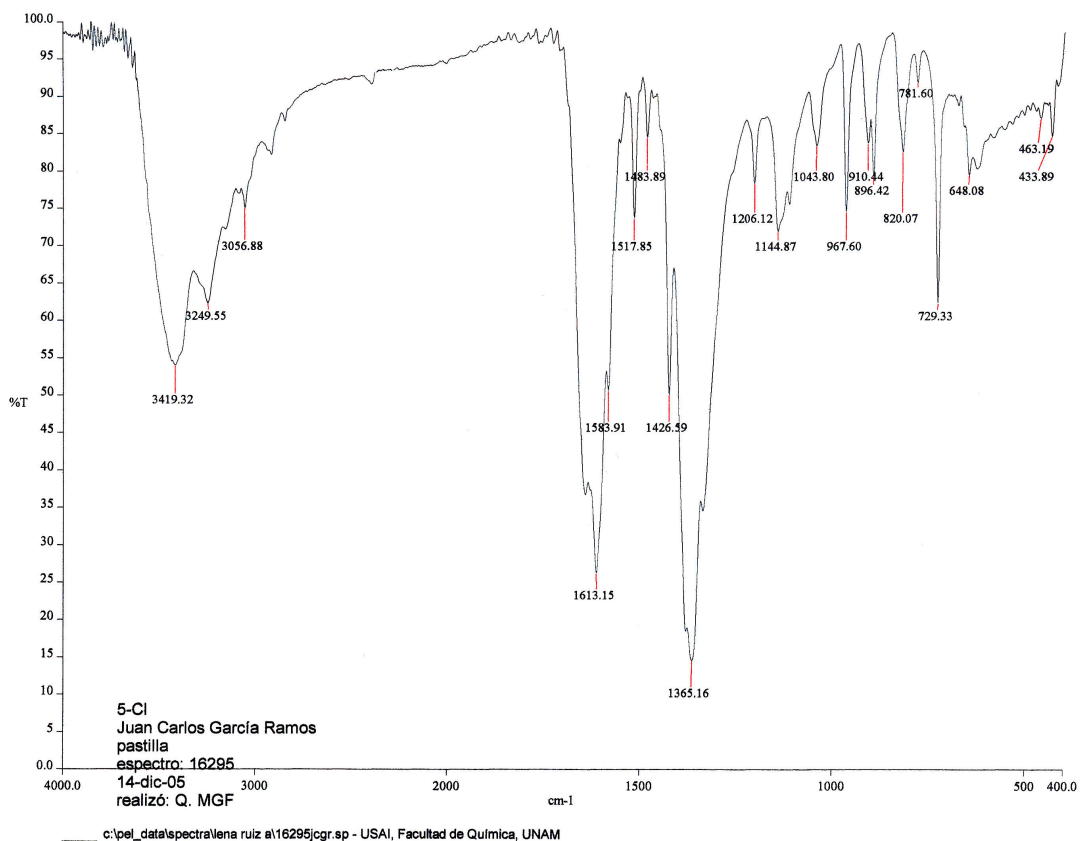
Espectros IR de 400-400 nm y de 800-200 nm del compuesto **CasVIIgli**.



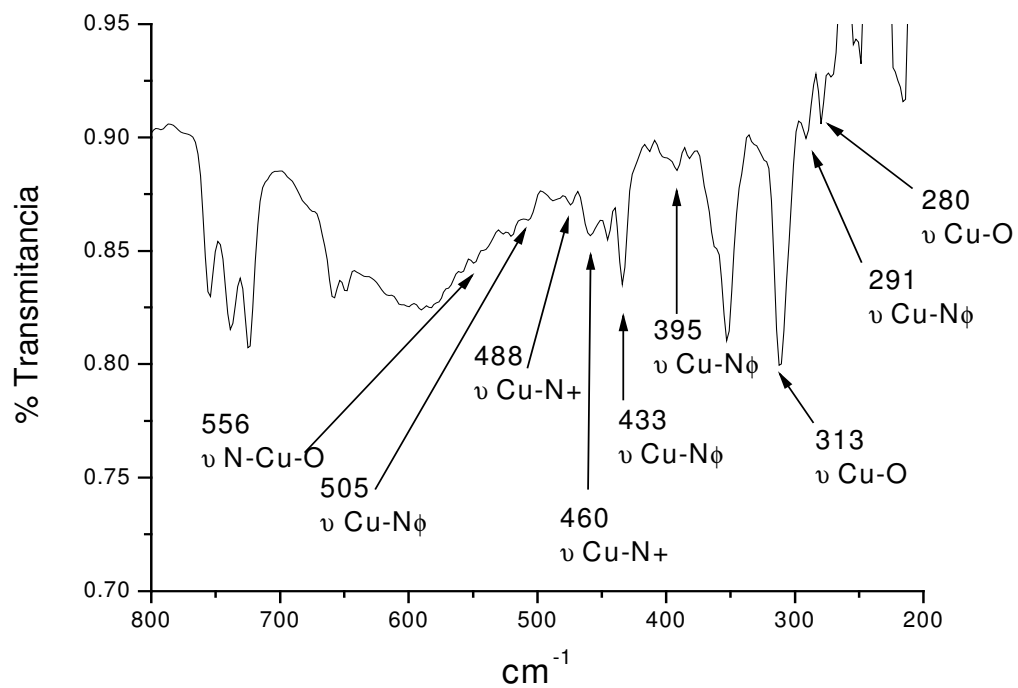
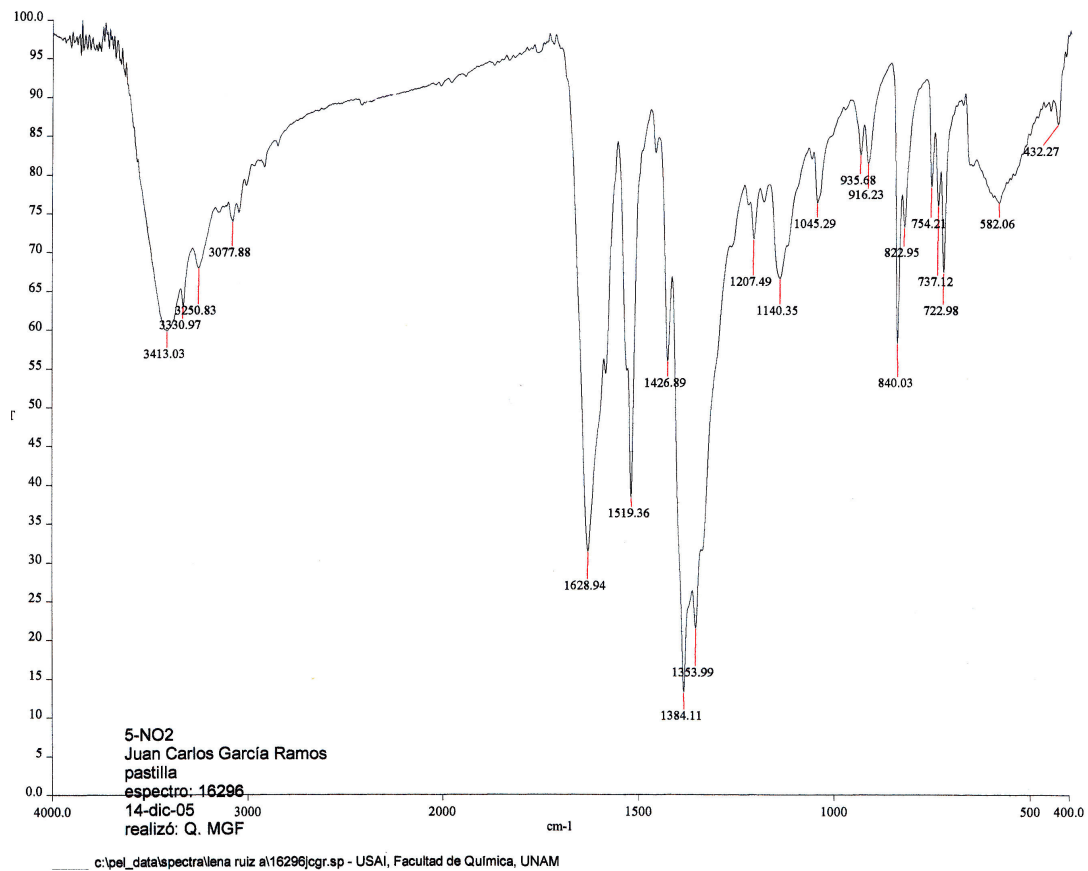
Espectros IR de 400-400 nm y de 800-200 nm del compuesto **Cas4mgli**.



Espectros IR de 400-400 nm y de 800-200 nm del compuesto **CasVmgli**.

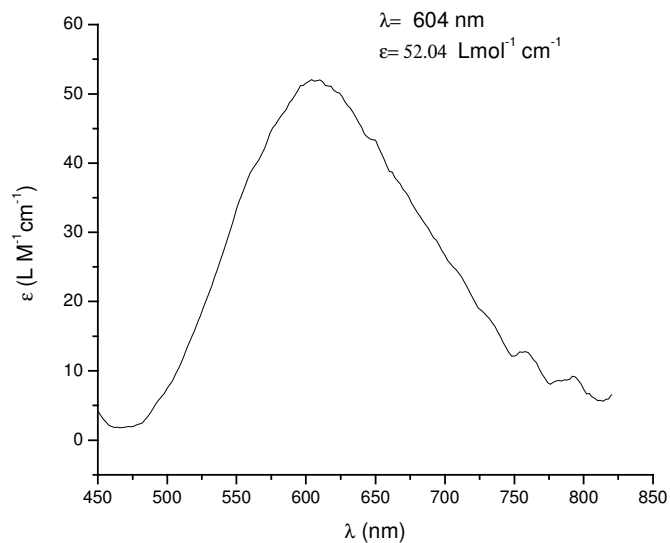


Espectros IR de 400-400 nm y de 800-200 nm del compuesto **CasVCgli**.

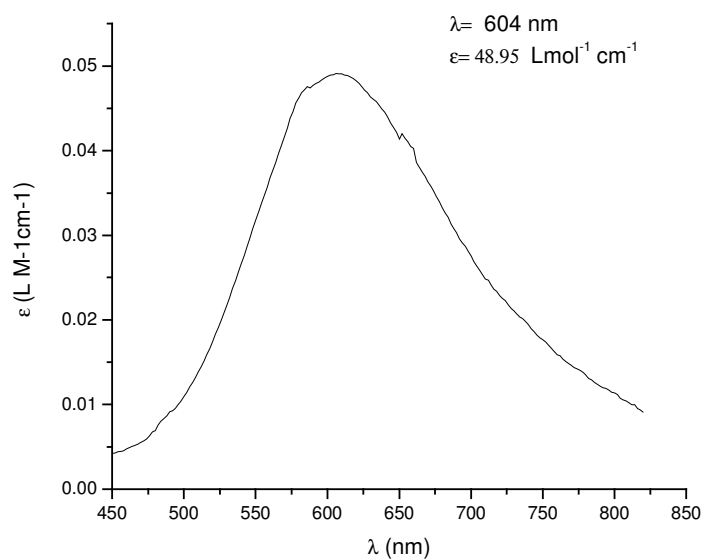


Espectros IR de 400-400 nm y de 800-200 nm del compuesto **CasVNO₂gli**.

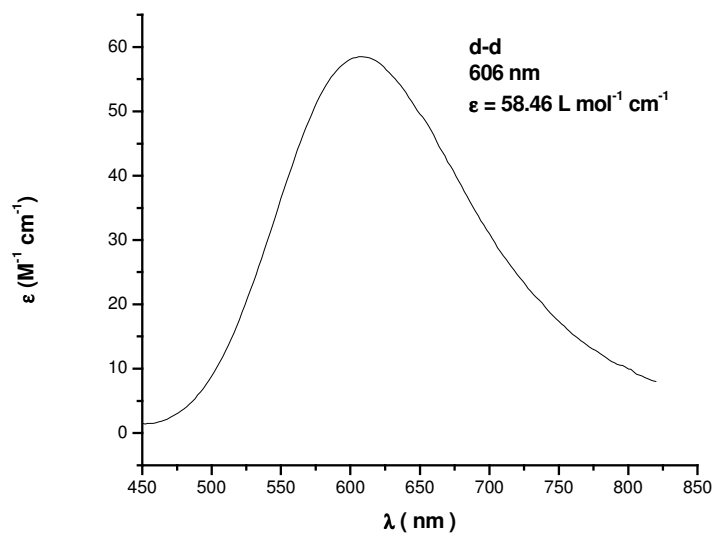
Anexo II. Espectros UV-vis



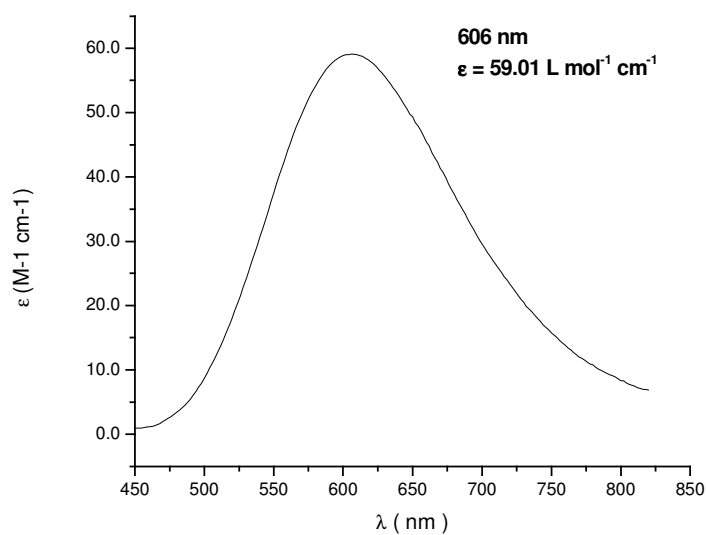
Espectro electrónico de 450 a 850 nm para el compuesto **CasIgli**.



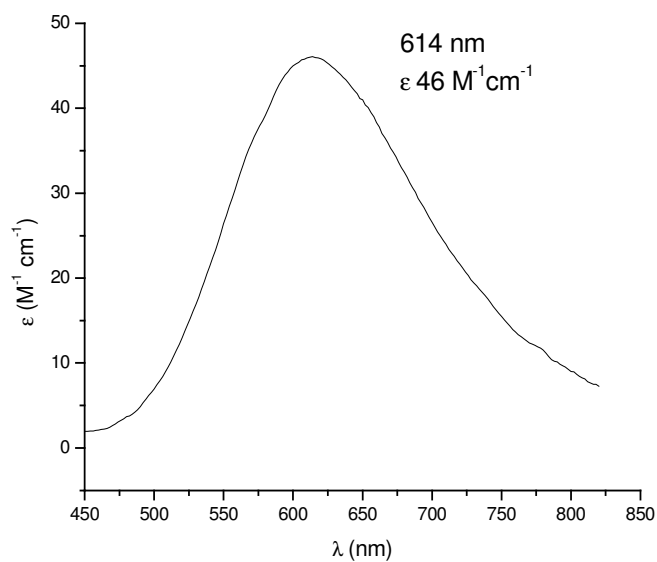
Espectro electrónico de 450 a 850 nm para el compuesto **CasIIgli**.



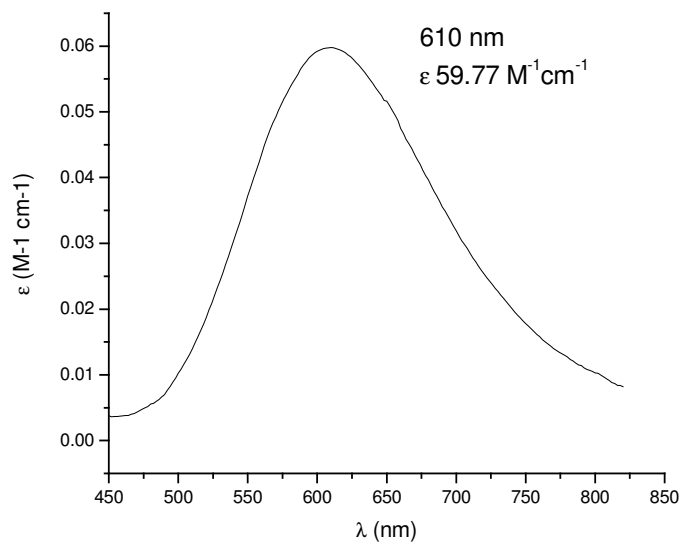
Espectro electrónico de 450 a 850 nm para el compuesto **CasVIgIi**.



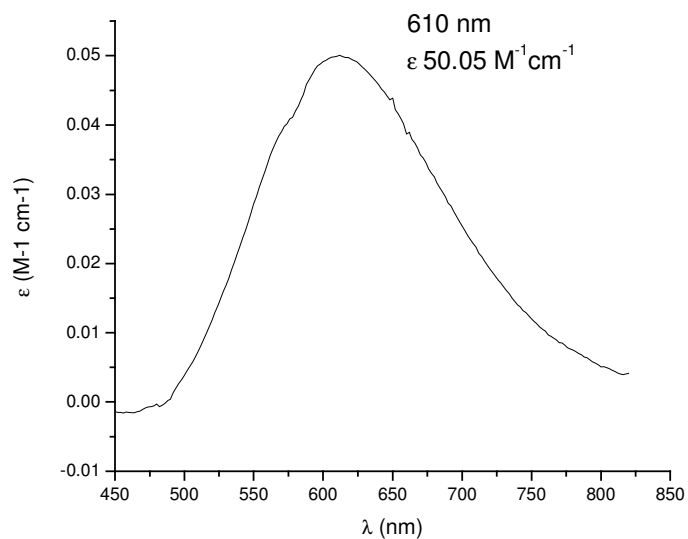
Espectro electrónico de 450 a 850 nm para el compuesto **CasVIIgIi**.



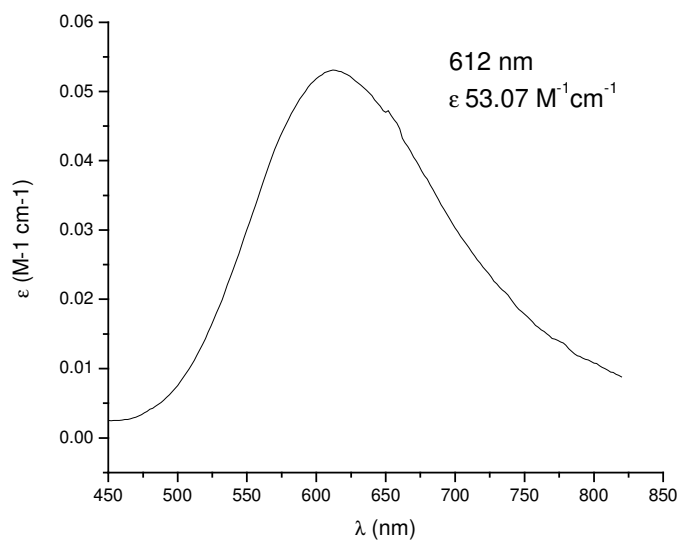
Espectro electrónico de 450 a 850 nm para el compuesto **CasVIgli**.



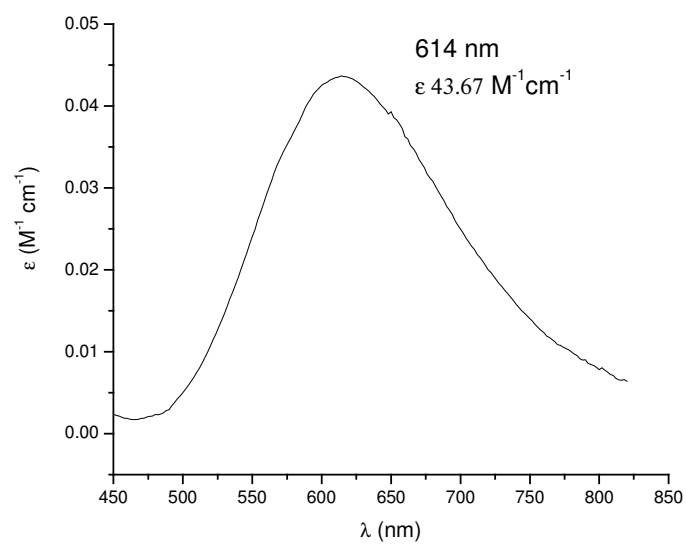
Espectro electrónico de 450 a 850 nm para el compuesto **Cas4mgli**.



Espectro electrónico de 450 a 850 nm para el compuesto **CasVmgli**.

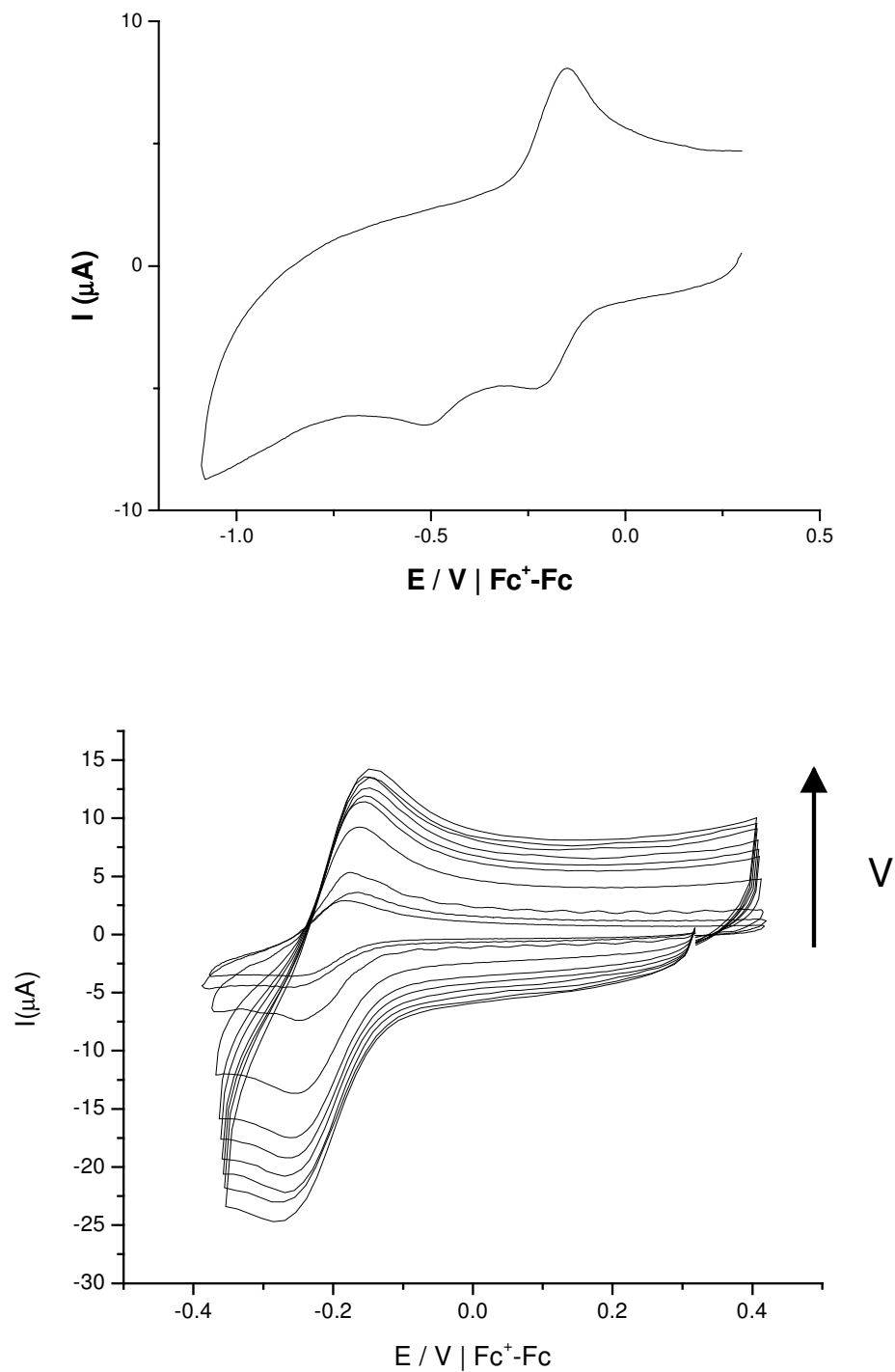


Espectro electrónico de 450 a 850 nm para el compuesto **CasVCigli**.

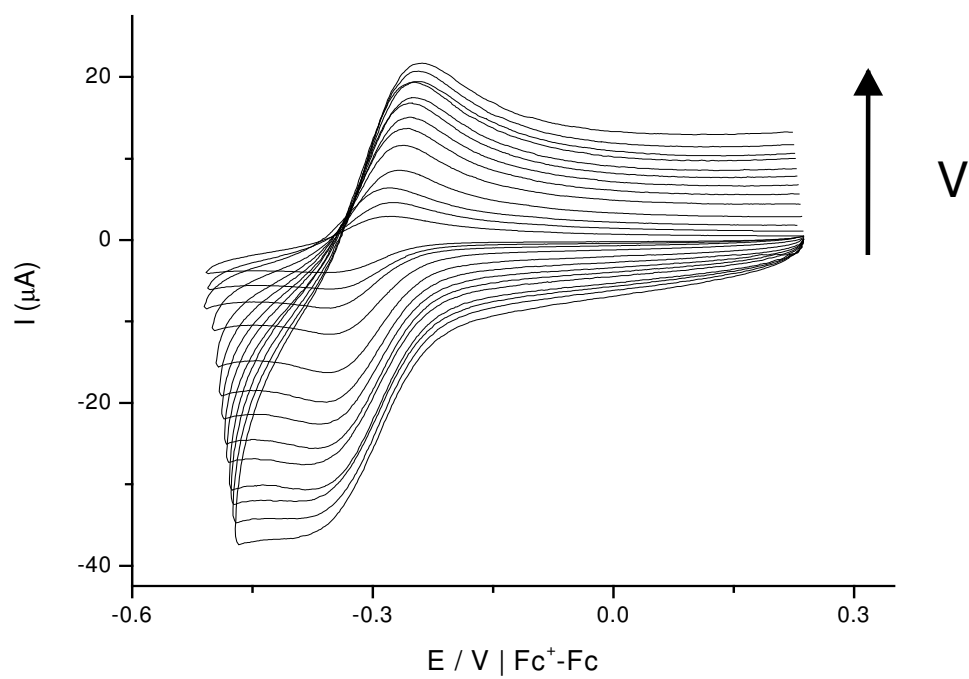
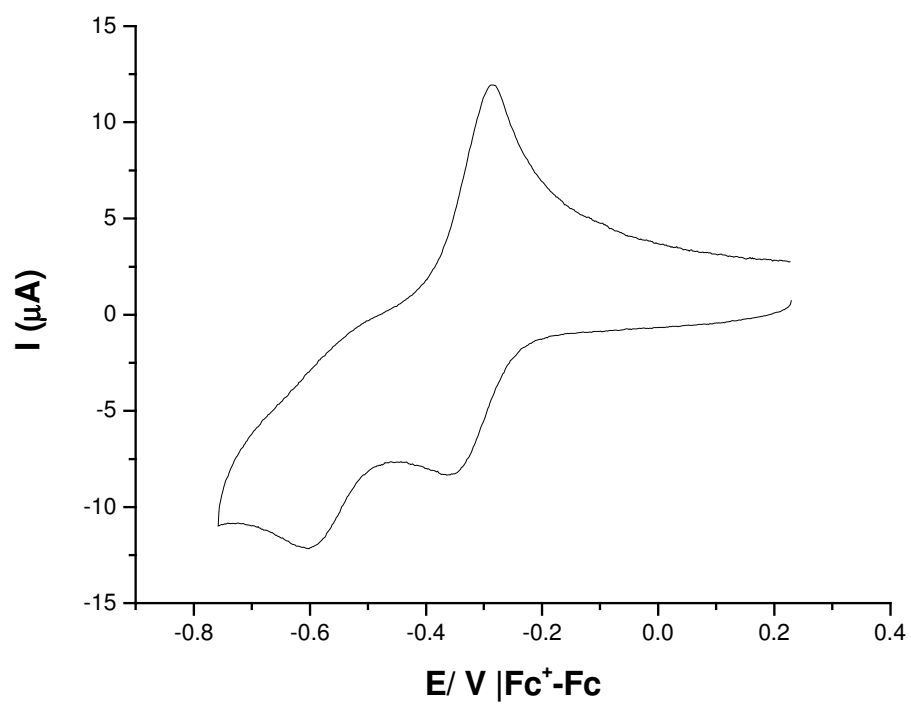


Espectro electrónico de 450 a 850 nm para el compuesto **CasVNO₂gli**.

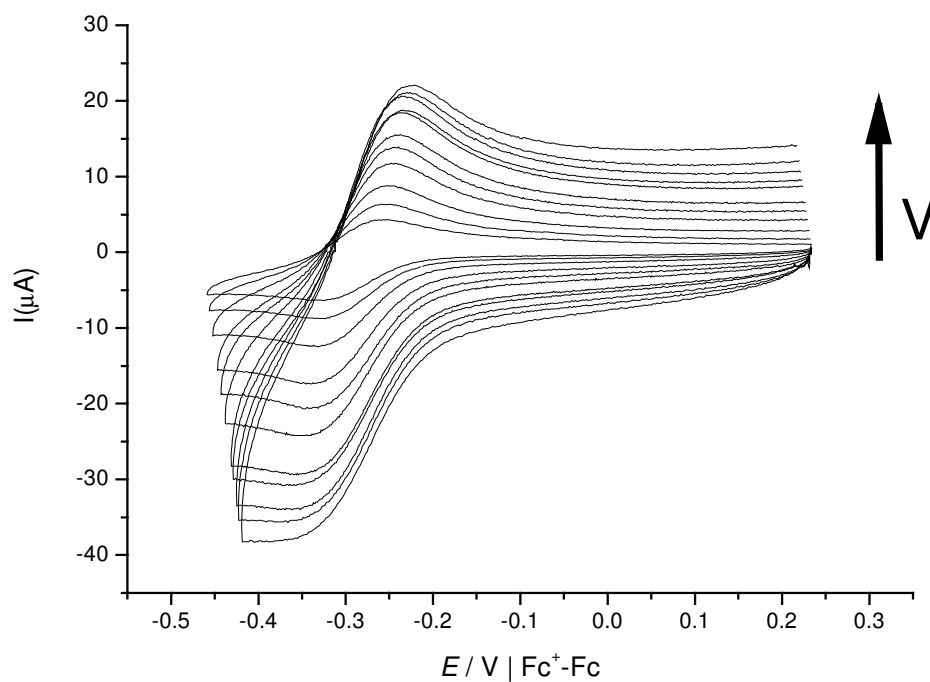
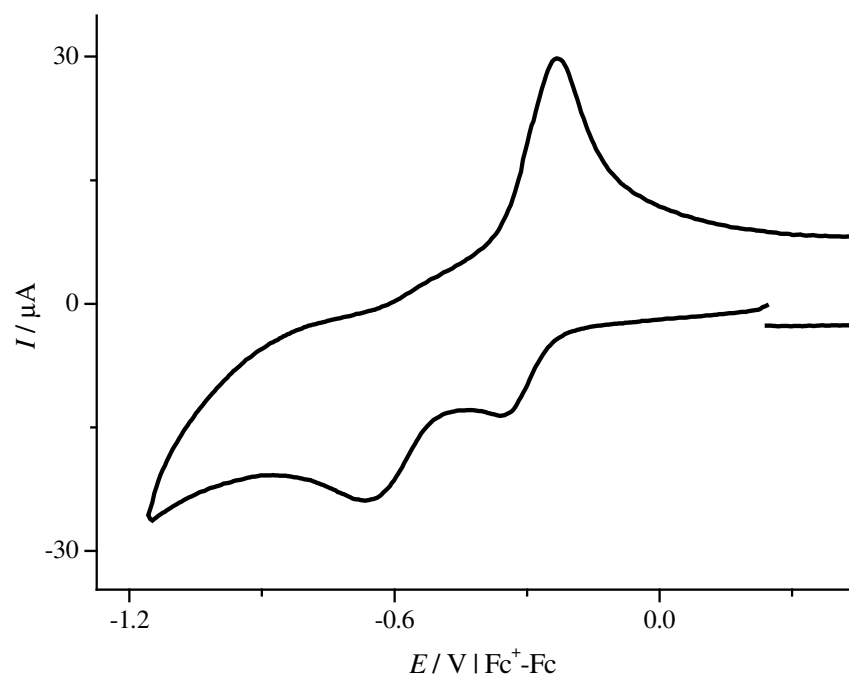
Anexo III . Voltamperometría cíclica.



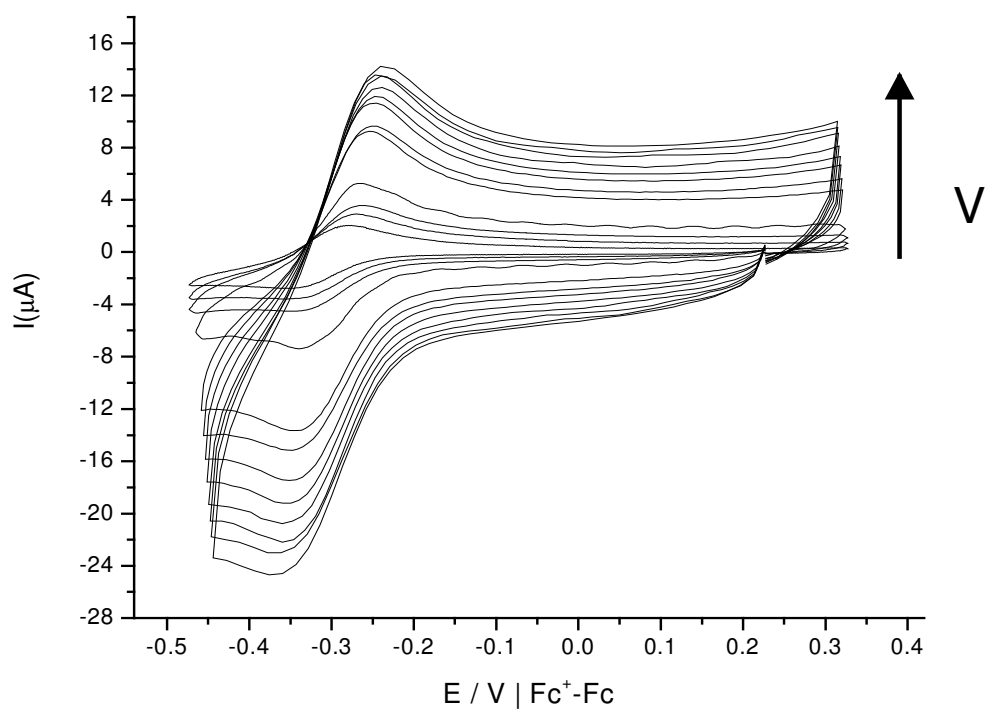
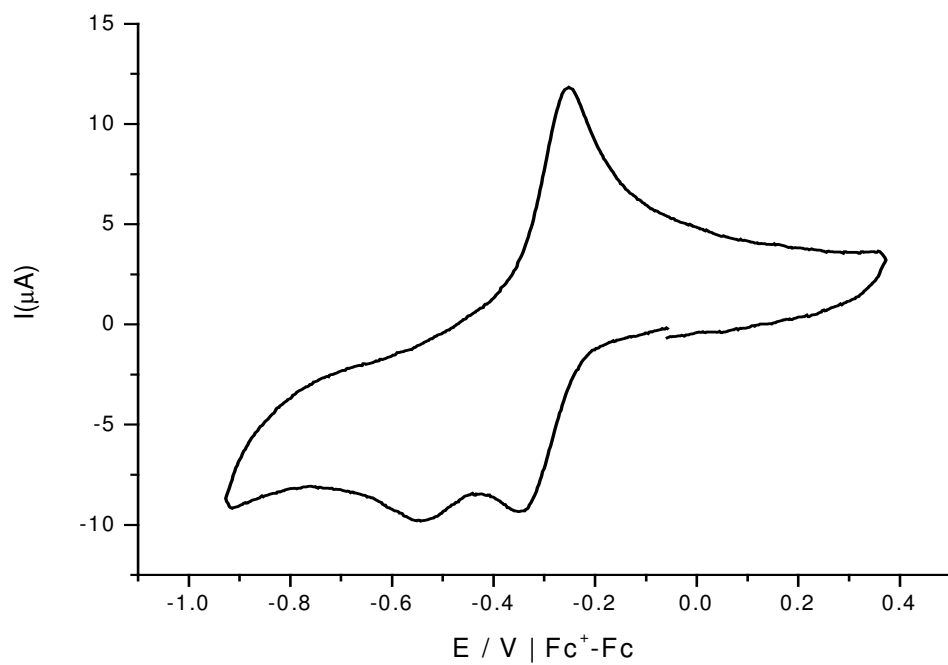
Voltamperograma en dirección catódica y a diferentes velocidades de barrido del compuesto **CasIgli**.



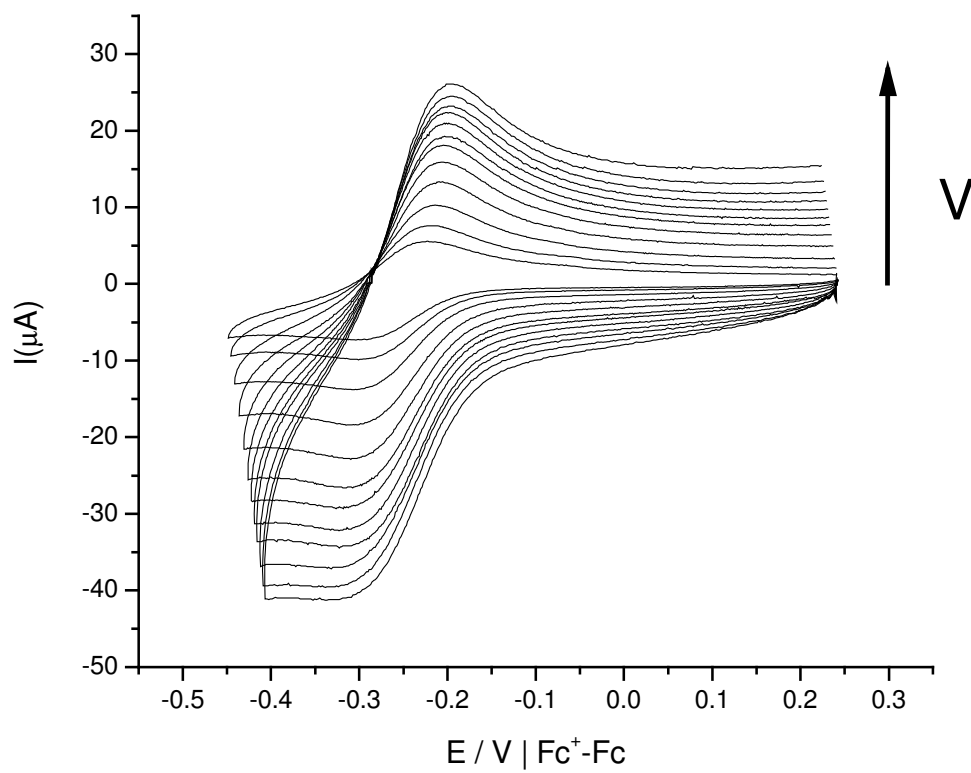
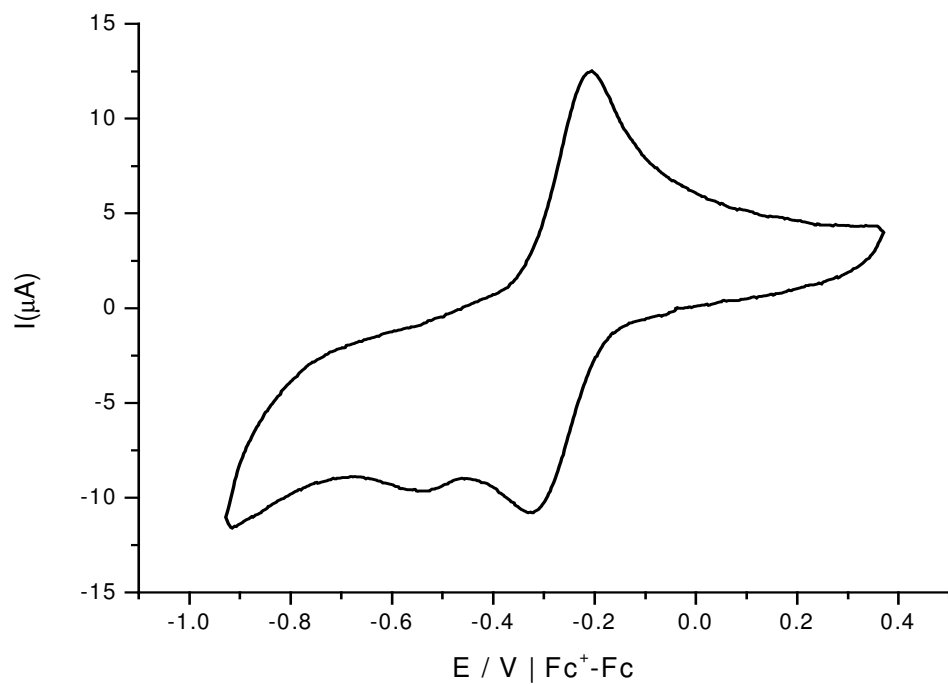
Voltamperograma en dirección catódica y a diferentes velocidades de barrido del compuesto **CasIIgli**.



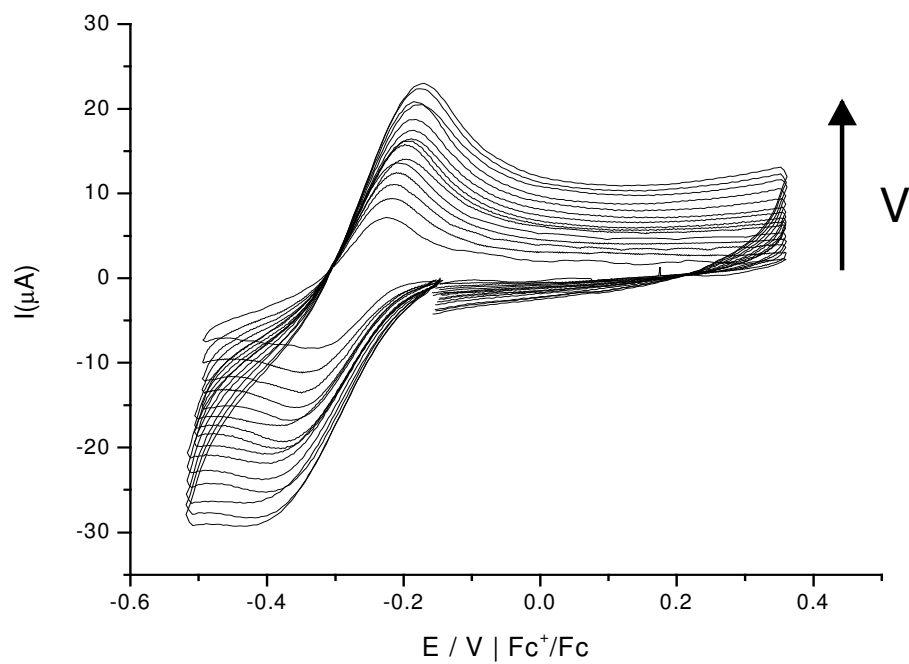
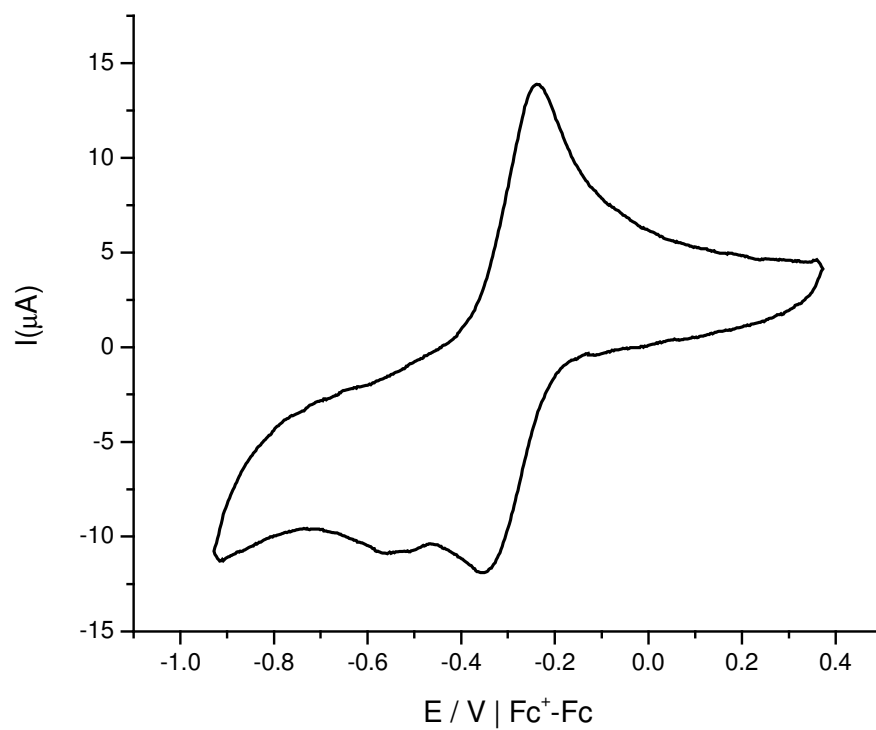
Voltamperograma en dirección catódica y a diferentes velocidades de barrido del compuesto **CasVIgli**.



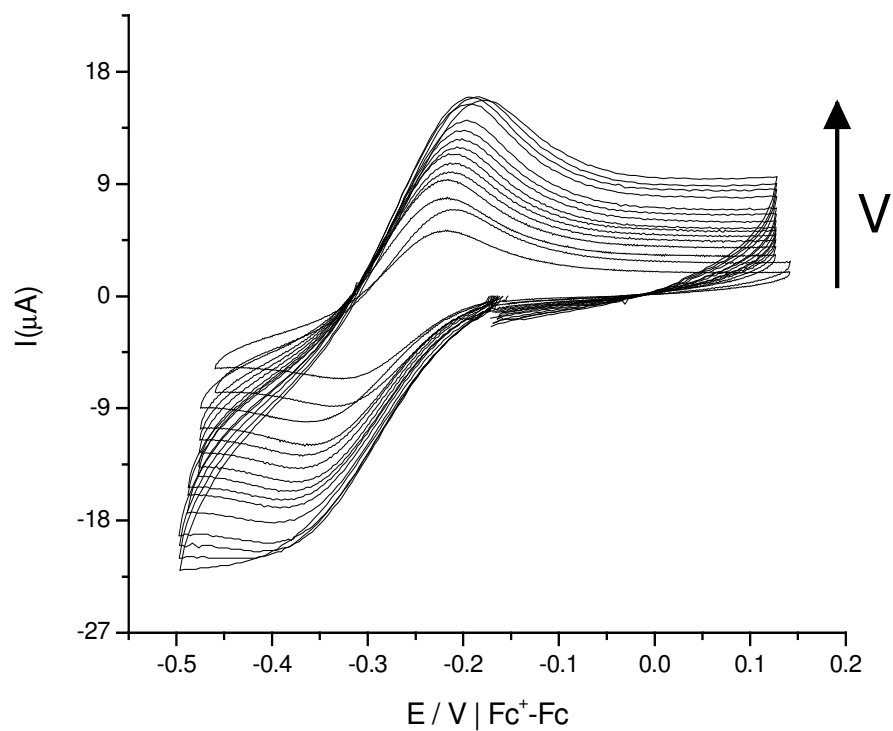
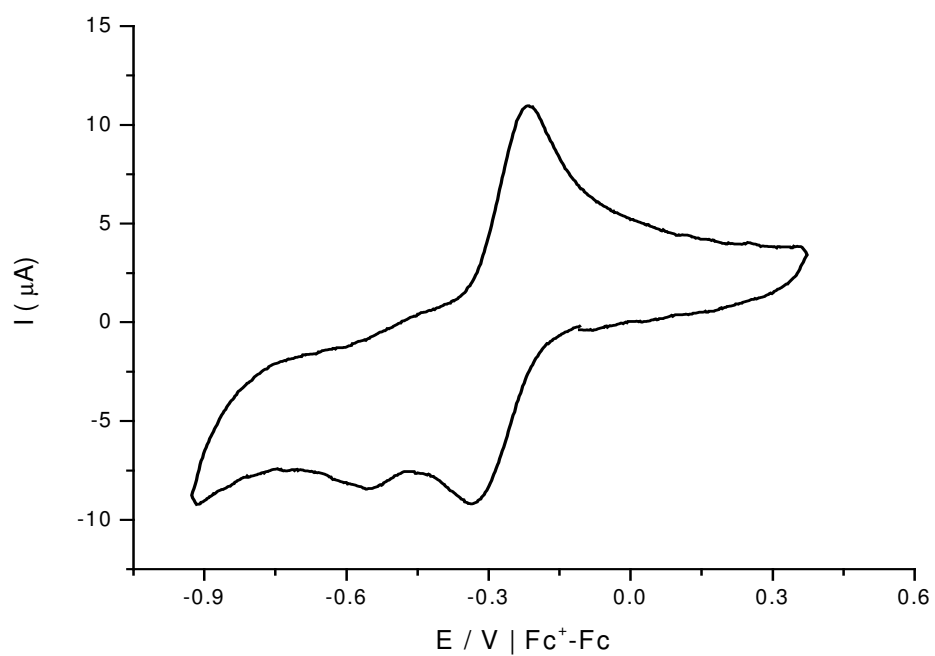
Voltamperograma en dirección catódica y a diferentes velocidades de barrido del compuesto **CasVIIIgli**.



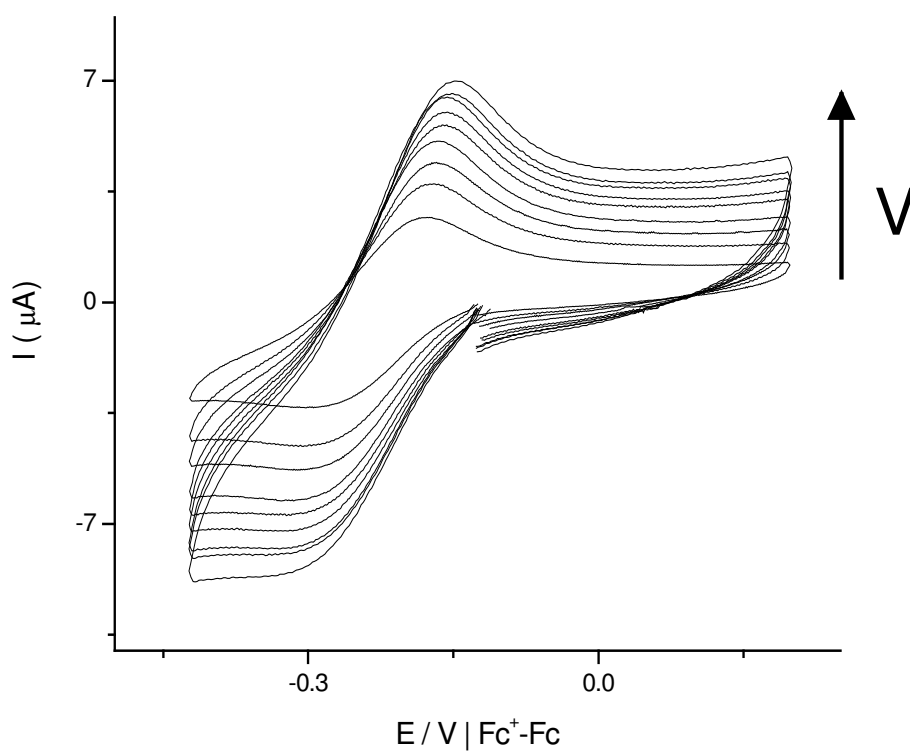
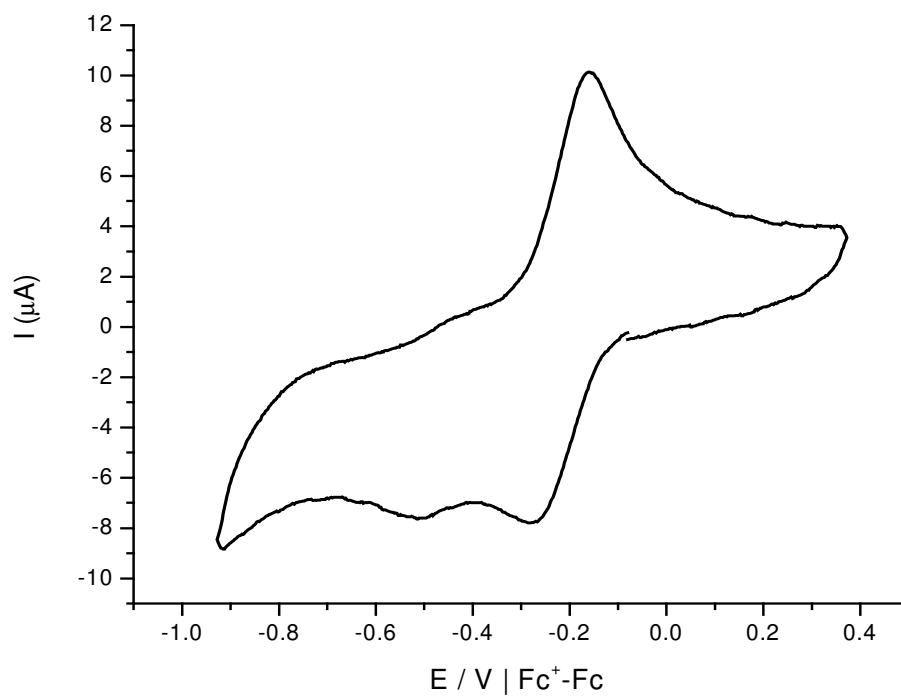
Voltamperograma en dirección catódica y a diferentes velocidades de barrido del compuesto **CasVIIgli**.



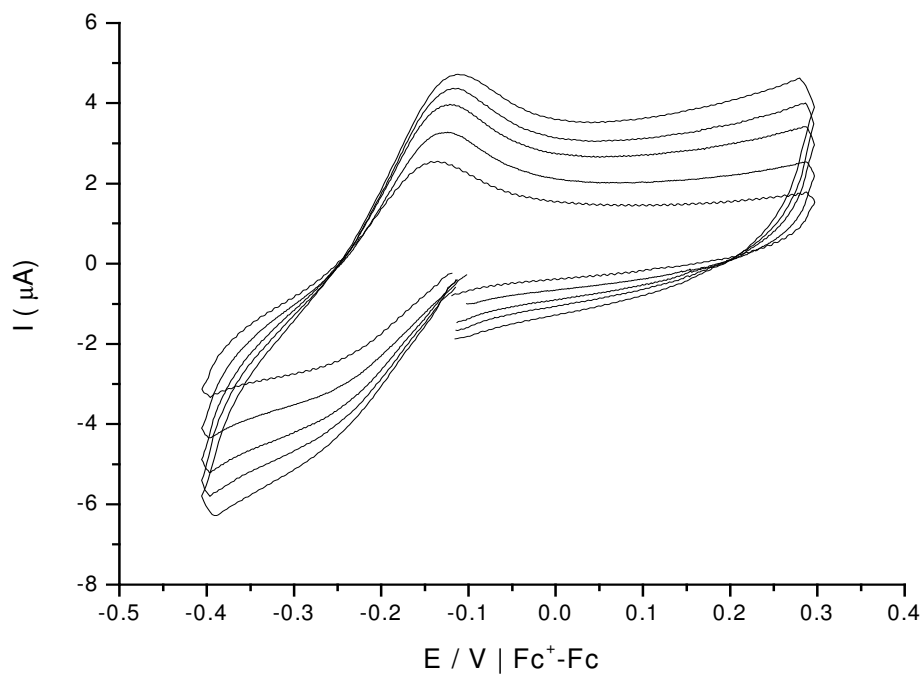
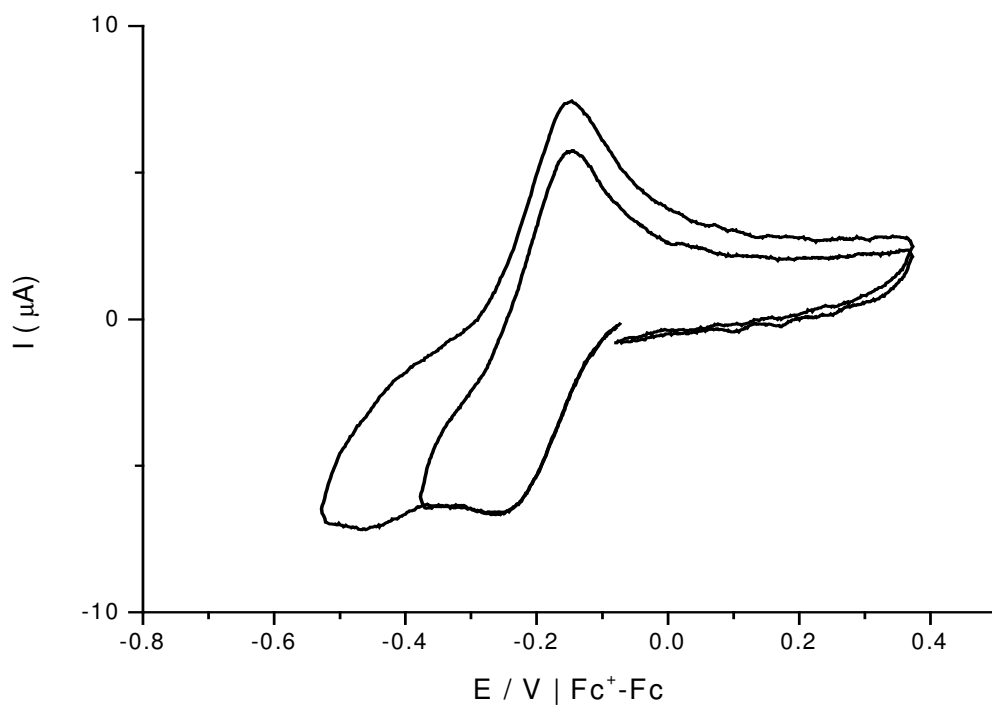
Voltamperograma en dirección catódica y a diferentes velocidades de barrido del compuesto **Cas4mgli**.



Voltamperograma en dirección catódica y a diferentes velocidades de barrido del compuesto **CasVmgli**.



Voltamperograma en dirección catódica y a diferentes velocidades de barrido del compuesto **CasVCgli**.



Voltamperograma en dirección catódica y a diferentes velocidades de barrido del compuesto **CasVNO₂gli**.

9. Referencias.

1. Resumen

1. www.who.int/healthinfo/morttables/en/index.html
2. www.inegi.gob.mx/est
3. Ruiz-Ramírez, L., Gracia-Mora, I., Moreno-Esparza, R., Díaz, D., Gasque, L., Huerta, L., Mayet, L. y Lomelí, C. **The antitumor activity of several transition metal complexes.** Journal of Inorganic Biochemistry. 1991,2–3: 615.
4. Ruiz-Ramírez L., Gracia-Mora I., Mendoza A., Pérez G., Ferrer-Sueta G., Tovar A., Breña M., Gutiérrez P., Cruces Martínez M.P., Pimentel E. y Natarayan A. **Cytostatic,mutagenic,antineoplastic activities and preliminar toxicity of copper (II) new drugs: Casiopeinas I, II, III.** Journal of Inorganic Biochemistry. 1993,51 (1–2):25.
5. Gracia-Mora, I., Ruiz-Ramírez, L., Gómez-Ruiz, C., Tinoco-Méndez, M., Márquez-Quiñones, A., Romero-De Lira, L., Marín-Hernández, A., Macías-Rosales, L., Bravo-Gómez, M.E. **Knigh't's move in the periodic table, from copper to platinum, novel antituomor mixed chelate copper compounds, Casiopeinas, evaluated by an *in vitro* human and murine cancer cell line panels.** Metal Based Drugs. 2001, 8 (1) : 19-28.

2. Introducción.

6. Investigación y Desarrollo. Suplemento Febrero 2001.
7. Kumar, V., Abbas, A.K y Fausto, N. **Robbins & Cotran . Patología Humana.** Capítulo 7. 5ª edición. Interamericana-McGraw-Hill. México. 1995.
8. **Casarett and Doull's Toxicology. The basic science of poisons.** Klaassen, C.D. Editor. Capitulo 8. Carcinogénesis Química. McGraw-Hill.Estados Unidos. 2001.
9. Triolo, V. A. **Nineteenth century foundations of cancer research origins of experimental research.** Cancer Research. 1964, 24 (1) : 4-27.
10. www.nobelprize.org

11. **Comprehensive textbook in oncology. Volume 1.** Moosa,A.R., Schimpff, S. C. y Robson, M. C. Editores. 2a. Edición. Williams & Wilkins. Baltimore, Estados Unidos. 1991.
12. Referencia 11, capítulo 63.
13. Banchereau, J. **El largo brazo del sistema inmunológico.** Scientific American México. Noviembre 2002. 32-39.
14. Referencia 11. Capítulo 67.
15. Dowell, J. y Minna, J.D. **Erlotinib hydrochloride.** Nature Reviews. Drug Discovery. 2005. S14-S15.
16. Ellis, L.M. y Kirkpatrick, P. **Bevacizumab.** Nature Reviews. Drug Discovery. 2005. S8-S9.
17. Folkman, J. **Antiangiogenesis in cancer therapy-endostatin and its mechanism of action.** Experimental Cell Research. 2006, 312: 594-607.
18. Referencia 11. Capítulo 62.
19. genomics.energy.gov
20. Referencia 11. Capítulo 72.
21. Referencia 11. Capítulo 70.
22. Soloway, H.A., Tjarks, W., Barnum, B.A., Rong, F.G., Barth, R.F., Codogni I.M. y Wilson, J.G. **The Chemistry of Neutron Capture Therapy.** Chemical Reviews. 1998,98(4): 1515-1562.
23. **Comprehensive Coordination Chemistry II. From Biology to Nanotechnology. Volume 9. Applications of Coordination Chemistry.** McCleverty, J.A. y Meyer, T.M. Editores. Elsevier Pergamon. Oxford, Reino Unido. 2004.
24. Guo, Z. y Sadler, P.J. **Metals in Medicine.** Angewante Chemie International Edition. 1999, 38: 1512-1531.
25. Wong, E. y Giandomenico, C.M. **Current Status of Platinum-based Antitumor Drugs.** Chemical Reviews. 1999, 99: 2451-2466.
26. Baik, M.H., Friesner, R.A. y Lippard, S.J. **Theoretical Study of Cisplatin to Purine Basis: Why Does Cisplatin Prefer Guanine over Adenine?** Journal of American Chemical Society. 2003, 125: 14082-14092.

27. **Biochemical Mechanisms of platinum Antitumor Drugs.** McBrien, D.C.H. y Slater, T.F. Editores. IRL Press. Oxford, Reino Unido. 1986.
28. Cotton, F.A. y Wilkinson, G. **Química Inorgánica Avanzada.** Capítulo 22. Limusa-Noriega Editores. México D.F. 2001.
29. Clarke, M.J., Zhu, F. y Frasca, D. **Non-Platinum Chemotherapeutic Metallopharmaceuticals.** Chemical Reviews. 1999, 99:2511-2533.
30. Seeling, M.H., Berger, M.R. y Keppler, B.K. **Antineoplastic Activity of three ruthenium derivatives against chemically induced colorectal carcinoma in rats.** Journal of Cancer Research in Clinical Oncology. 1992,118:195-200.
31. Sava, G., Alessio, E., Bergamo, E. y Mestroni, G. **Sulfoxide ruthenium complexes: Non Toxic Tools for a Selective Treatment of Solid Tumor Metastases.** Topics in Biological Inorganic Chemistry. *Metallopharmaceuticals I. DNA Interactions.* 1999,1: 25-31.
32. Gagliardi, R., Sava, G., Pacor, S., Mestroni, G. y Alessio, E. **Antimetastatic action and toxicity on healthy tissues of Na[*trans*-RuCl₄(DMSO)Im] in the mouse.** Clinical and Experimental Metastasis. 1994, 12(3): 93-100.
33. Keppler, B.K., Rupp, W., Juhl, U.M., Endres, H., Niebl, R. y Balzer, W. **Synthesis, molecular structure and tumor-inhibiting properties of imidazolium trans-bis(imidazole)tetrachlororuthenate(III) and its methyl-substituted derivatives.** Inorganic Chemistry. 1987, 26: 4366-4370.
34. Bergamo, A., Zorzet, S., Gava, B., Sorc, A., Alessio, E., Iengo, E. y Sava, G. **Effects of NAMI-A and some related ruthenium complexes on cell viability after short exposures of tumor cell lines.** Anticancer Drugs. 2000, 11(8): 665-672.
35. Clarke, M.J. **Ruthenium Metallopharmaceuticals.** Coordination Chemistry Reviews. 2002, 232: 69-93.
36. Chifotides, H.T. y Dunbar, K.R. **Interactions of Metal-Metal bonded Antitumor Active complexes with DNA fragments and DNA.** Accounts of Chemical Research. 2005, 38(2): 146-156.

37. McKeage, M.J., Maharaj, L. y Berners-Price, S.J. **Mechanism of cytotoxicity and antitumor activity of gold phosphine complexes: the possible role of mitochondria.** Coordination Chemistry Reviews. 2002, 232: 127-135.
38. Köpf-Maier, P. y Köpf, H. **Non-Platinum Metal Antitumor Agents. History, Current Status and Perspectives.** Chemical Reviews. 1987, 87: 1137-1152.
39. Waern, J.B., Dillon, C.T. y Harding, M.M. **Organometallic Anticancer Agents: Cellular Uptake and Cytotoxic Studies on Thiol Derivatives of the Antitumor Agent Molybdocene Dichloride.** Journal of Medicinal Chemistry. 2005, 48: 2093-2099.
40. Keppler, B.K., Friesen, C., Moritz, H., Vongerichten, H. y Vogel, E. **Tumor inhibiting bis(β -diketonato) metal complexes. Budtitane, *cis*-diethoxybis(1-phenylbutane-1,3-dionato)titanium (IV). *The first transition metal complex after platinum to qualify for clinical trials.* Structure and Bonding. Bioinorganic Chemistry. 1991,78:97-127.**
41. Köpf-Maier, P. **Complexes of metals other than platinum as antitumor agents.** European Journal of Clinical Pharmacology. 1994, 47:1-16.
42. Gielen, M. **Tin-based antitumor drugs.** Coordination Chemistry Reviews. 1996,151:41-51.
43. De Vos, D., Willem, R., Gielen, M., van Wingerden, K.E. y Nooter, K. **The Development of Novel Organotin Anti-Tumor Drugs: Structure and Activity.** Metal Based Drugs. 1998, 5(4): 179-187.
44. Kemmer, M., Gielen, G., Biesemans, M., de Vos, D. y Willem, R. **Synthesis, Characterization and *In Vitro* Activity of Di-n-Butyl, Tri-n-Butyl and triphenyltin 3,6-dioxaheptanoates and 3,6,9-trioxadecanoates.** Metal Based Drugs. 1998,5(4): 189-196.
45. Seligman P.A. y Crawford E.D. **Treatment of Advanced Transitional Cell Carcinoma of the Bladder With Continuous-Infusion Gallium Nitrate.** Journal of the National Cancer Institute. 1991,83:1582-1584.
46. Dreicer, R., Lallas, T., Joyce, J., Barrie, A., Sorosky, J. y Buller, R. **Vinblastine, Ifosfamide, Gallium Nitrate and Filgastrim in Platinum ang**

- Paclitaxel-Resistant Ovarian Cancer: A Phase II Study.** Am. J. Clin. Oncol. 1998,21(3):287-290.
47. **Metal Ions in Biological Systems: Metal Complexes as Anticancer Agents. Volume 11.** Capítulo 1. Sigel y Sigel Editores. Marcel Dekker Inc. Nueva York. 1980.
48. Mihich, E. y Nichol, C.A. **Ketoxal Bis(thiosemicarbazone) I. Effects against Experimental Tumors.** Cancer Research. 1965, 25: 1410-1416.
49. Mihich, E. y Simpson, C.L. **Ketoxal Bis(thiosemicarbazone) II. Toxic and Patologic Effects.** Cancer Research. 1965, 25: 1417-1426.
50. Crim, J.A. y Petering, H.G. **The Antitumor Activity of Cu(II)KTS, the Copper(II) Chelate of 3-ethoxy-2-oxobutyraldehyde bis(thiosemicarbazone).** Cancer Research. 1967, 27:1278-1285.
51. Booth, B.A., Johns, D.G., Bertino, J.R. y Sartorrelli, A.C. **Sites of Inhibition of DNA synthesis by ketoxal(thiosemicarbazones).** Nature. 1968,217: 250-251.
52. Van Giessen, G.J. y Petering, H.G. **Metal complexes of 3-ethoxy-2-oxobutyraldehyde bis(thiosemicarbazone) and related ligands as antitumor agents.** Journal of Medicinal Chemistry. 1968,11: 695-703.
53. Sigman, D.S. **Nuclease Activity of 1,10-phenanthroline-Copper Ion.** Accounts in Chemical Research. 1986, 19: 180-186.
54. Chen, C.H. y Sigman, D.S. **Nuclease Activity of 1,10-phenanthroline-copper: sequence-specific target.** Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1986,83: 7147-7151.
55. Marshall, L.E., Graham, D.R., Reich, K.A y Sigman, D.S. **Cleavage of Deoxyribonucleic acid by 1,10-phenanthroline-cuprous complexes. Hydrogen peroxide requirement and primery and secondary structure specificity.** Biochemistry. 1981, 20(2): 244-250.
56. Thederahn, T.B., Kuwabara, M.D., Larsen, T.A. y Sigman, D.S. **Nuclease Activity of 1,10-Phenanthroline-Copper: Kinetic Mechanism.** Journal of the American Chemical Society. 1989, 111: 4941-4946.
57. Sigman, D.S. **Chemical Nuclease.** Biochemistry. 1990, 29(39):9097-9105.

58. Sigman, D.S., Mazumder, A. y Perrin, D.M. **Chemical Nuclease**. Chemical Reviews. 1993, 93: 2295-2316.
59. Johnson, G.R.A. y Nazbet, N.B. **Kinetic and mechanism of the reaction of the bis(1,10-phenanthroline)copper (I) with hydrogen peroxide in aqueous solution**. Journal of the American Chemical Society. 1987, 109: 1990-1994.

3. Antecedentes.

60. Fricker, S. **Metal compounds in cancer therapy**. 1a Edición. Chapman-Hall. Londres, Reino Unido. 1990.
61. Chikira, M., Tomizawa, Y., Fusita, D., Sugizaki, T., Sugawara, N., Yamazaki, T., Sasano, A., Shindo, H., Palanandiavar, M y Antholine, W.E. **DNA-fiber EPR study of the orientation of Cu(II) complexes of 1,10-phenanthroline and its derivatives bound to DNA: mono(phenanthroline)-copper(II) and its ternary complexes with aminoacids**. Journal of Inorganic Biochemistry. 2002,89: 163-173.
62. **Metal Ions in Biological Systems: Interrelations Between Free Radicals and Metal Ions in Live Process. Volume 36**. Sigel y Sigel Editores. Marcel Dekker. Nueva York. 1999.
63. Gasque, L., Moreno-Esparza, R. y Ruiz-Ramirez, L. **Stability of Ternary Copper and Nickel Complexes with 1,10-phenanthroline**. Journal of Inorganic Biochemistry. 1992, 48: 121-127.
64. Gasque, L., Medina, G., Moreno-Esparza, R. y Ruiz-Ramírez, L. **Cu-O stretching frequency correlation with phenanthroline pK_a values in mixed copper complexes**. Inorganica Chimica Acta. 1998,288: 106-111.
65. Martinez, A., Salcedo, R y Sansores, L.E. **A density functional study of the reactivity and stability of mixed copper complexes. Is hardness the reason?** Inorganic Chemistry. 2001, 40: 301-306.
66. Círiga, C. **Estudio de la interacción de la familia de las Casiopeínas I y II con el ADN**. Tesis de Maestría. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México.

67. Tovar Tovar, A., Ruiz Azuara, L y Campero Celis, A. **Dos formas de interacción entre complejos mixtos de Cu(II) (Casiopeínas) y adenina, como una aproximación a su selectividad.** 1er. Congreso Nacional de Química Médica. Dedicado a la investigación en cáncer. Oaxaca, Oaxaca. 23 al 27 de noviembre 2004. 233-235
68. Tovar Tovar, A., Ruiz-Ramirez, L., Campero Celis, A., Romerosa, A., Moreno Esparza, R. y Rosales-Hoz, M.J. **Structural and reactivity studies on 4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridine acetylacetonate copper (II) nitrate (Casiopeina III-ia) with methionine, by UV-vis and EPR techniques.** Journal of Inorganic Biochemistry. 2004, 98: 1045-1053.
69. De Vizcaya-Ruiz, A., Rivero-Müller, A., Ruiz-Ramirez, L., Kass, G.E.N., Kelland, L.R., Orr, R.M. y Dobrota, M. **Induction of Apoptosis by a novel copper-based anticancer compound, Casiopeina II, in L1210 Murine leukemia and CH1 Human Ovarian Carcinoma Cells.** Toxicology In Vitro. 2000, 14: 1-5.
70. Trejo-Solís, C., Palencia, G., Zúñiga, S., Rodríguez-Ropón, A., Osorio-Rico, L., Sánchez-Torres, L., Gracia-Mora, I., Márquez-Rosado, L., Sánchez, A., Moreno-García, M.E., Cruz, A., Bravo Gómez, M.E., Ruiz-Ramírez, L., Rodríguez-Enríquez, S. y Sotelo, J. **Cas II gly Induces Apoptosis in Glioma C6 Cells In Vitro and In Vivo through Caspase-Dependent and Caspase-Independent Mechanisms.** Neoplasia. 2005, 7(6): 563-574.
71. De Vizcaya-Ruiz, A., Rivero-Müller, A., Ruiz-Ramirez, L., Howard, J.A. y Dobrota, M. **Hematotoxicity response in rats by the novel copper-based anticancer agent: Casiopeina II.** Toxicology. 2003,194: 103-113.
72. Alemón-Méndez, R. **Tesis Maestría en Ciencias Biológicas.** Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Julio 2003.
73. Marín-Hernández, A., Gracia-Mora, I., Ruiz-Ramírez, L. y Moreno-Sánchez, R. **Toxic effects of copper-based antineoplastic drugs (Casiopeínas®) on mitochondrial functions.** Biochemical Pharmacology. 2003,65: 1979-1989.

74. Reyes, L., Fuentes-Noriega, I., Ruíz-Ramírez, L. y Macías, L. **Development and validation of a liquid chromatographic method for Casiopeína ligly i rat plasma.** Journal of Chromatography B. 2003, 791: 111-116.
75. Fuentes-Noriega, I., Ruiz-Ramírez, L., Tovar Tovar, A., Rico-Morales, H. y Gracia-Mora, I. **Development and validation of liquid chromatographic method for Casiopeína Illi[®] in rat plasma.** Journal of Chromatography B. 2002, 772: 115-121.
76. Bravo-Gómez, M.E. **Tesis doctoral.** Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México.
77. **Drug Discovery. Science and Development in a Changing Society. Advances in Chemistry Series 108.** Gould R.F Editor. American Chemical Society. Washington D.C. 1971.
78. **Biological Correlations –The Hansch Approach. Advances in Chemistry Series 114.** Gould R.F Editor. American Chemical Society. Washington D.C. 1972.
79. Hansch C. **A Cuantitative Approach to Biochemical Structure-Activity Relationships.** Accounts in Chemical Research. 1969,2: 232-239.

6. Parte experimental.

80. Farrugia L.J. **ORTEP-3 for Windows - a version of ORTEP-III with a Graphical User Interface (GUI).** Journal of Applied Crystallography. 1997,30:565.
81. Gritzner, G. y Küta, J. **Recommendations on reporting electrode potentials in nonaqueous solvents.** Pure and Applied Chemistry. 1984, 56(4): 461-466.
82. Skehan, P., Storeng, R., Scudeiro, D., Monks, A., McMahon, J., Vistica, D., Warren, J.T., Bokesch, H., Kenney, S. y Boyd, M.R. **New Colorimetric Citotoxicity Assay for Anticancer-Drug Screening.** Journal of the National Cancer Institute. 1990; 82: 1107-1112.
83. Rubistein, L.V., Shoemaker K.D., Paull K.D., Simon R.M., Tosini S., Skehan P., Scudeiro D.A., Monks A. y Boyd M.R. **Comparison of In Vitro Anticancer-**

Drug Screening Data Generated With a Tetrazolium Assay Versus a Protein Assay Against a Diverse Panel of Human Tumor Cell Lines. Journal of the National Cancer Institute. 1990, 82: 1113-1118.

7. Resultados y Discusión.

84. Kwik, W.L., Ang, K.P. y Chen, G. **Complexes of (2,2'-bipyridyl)copper(II) and (1,10-phenanthroline)copper(II) with some amino acids.** Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry. 1980, 42: 303-313.
85. Condrate, R.A. y Nakamoto, K. **Infrared Spectra and Normal coordinate análisis of metal glycino complexes.** Journal of Chemical Physics. 1965,42 (7): 2590-2598. (b) Herlinger, W.A., Wenhold, L.S. y Veach Long II, T. **Infrared spectra of amino acids and their metal complexes II. Geometrical isomerism in Bis (aminoacidate)copper (II) complexes.** Journal of the American Chemical Society. 1970,92: 6474-6481.
86. Chamizo-Guerrero, J.A. **Susceptibilidad magnética.** Tesis de licenciatura. Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. 1976.
87. Girolami, G.S., Rauchfuss, T.B. y Angelici, R.J. **Synthesis and thecniques in inorganic chemistry: a laboratory manual.** University Science Book. Sausalito, California. 1998. Apéndice 2.
88. Murphy, G., Nagle, P., Murphy, B. y Hathaway, B. **Crystal structures, electronic properties and structural pathways of four [Cu(phen)₂Cl][Y] complexes (phen=1,10-phenanthroline; Y= BF₄⁻•0.5H₂O,PF₆⁻,CF₃SO₃⁻•H₂O or BF₄⁻).** Journal of Chemical Society. Dalton Transactions. 1997, 15: 2645-2652.
89. Bush, P.M.,Whitehead, J.P., Pink, C.C., Gramm, E.C., Eglin, J.L., Watton, S.P. y Pence, L.E. **Electronic and structural variation among copper (II) complexes with substituted phenanthrolines.** Inorganic Chemistry. 2001, 40: 1871-1877.
90. Yamada, Y., Sakurai, H., Miyashita, Y., Fujisawa, K. y Okamoto, K. **Crystal structures, electronic absortion and reflectance spectral behavior of five**

- coordinated chlorocopper(II) complexes with 5,6-disubstitued-1,10-phenanthroline.** Polyhedron. 2002, 21: 2143-2147.
91. Tomita, K. y Nitta, I. **Über die Kupfer-salze der w-Aminosäure.II. Über die Kristallstrukture des Kupfer-Glycin-Monohydrates.** Bulletin of the Chemical Society of Japan. 1961, 34 (2): 286-291.
92. Norman, R.E. y Rose, N.J. **Mono-amino-acid-copper complexes: Syntheses and structures of Chloro(glicinato)(methanol)copper(II) and Chloro(glicinato)(1-methylimidazole)copper(II).** Acta Crystallographica. C. 1990, 46: 1-6.
93. Neitzel C.J. y Desiderato R. **2,2'-bypiridylglycinatochlorocopper(II) dihydrate.** Crystal Structure Communications. 1975, 4 (2): 333-336.
94. Gutmann, V. **The Donor-Acceptor Approach to Molecular Interactions.** Plenum Press. 1978. Nueva York.
95. Solans, X., Ruiz-Ramírez, L., Martínez, A., Gasque, L. y Moreno-Esparza, R. **Mixed chelate complexes II. Structures of L-alaninato(aqua)(4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline)copper II nitrate monohydrate and aqua(4,7-dimethyl-1,10-phenanthroline)(glycinato)(nitrate)copper II monohydrate.** Acta Crystallographica C. 1993, 49: 890-893.
96. Álvarez-Larena, A., Briansó-Penalva, J.L., Piniella, J.F., Moreno-Esparza, R. , Ruiz-Ramírez, L. y Ferrer-Sueta, G. **Aqua(glycinato)(3,4,7,8-tetramethyl-1,10-phenanthroline)copper (II) nitrate.** Acta Crystallographica C. 1995,51: 852-854.
97. Solans, X., Ruiz-Ramírez, L., Martínez, A., Gasque, L. y Briansó, J.L. **Structures of Chloro(glycinato)(1,10-phenanthroline)copper (II) monohydrate (I) and Aqua(1,10-phenanthroline)(L-phenylalaninato)copper (II) monohydrate (II).** Acta Crystallographica C. 1988,44: 628-631.
98. Nicholson, R.S. y Shain, I. **Theory of Stationary Electrode Polarography. Single Scan and Cyclic Methods Applied to Reversible, Irreversible and Kinetic Systems.** Analytical Chemistry. 1964, 36(4) : 706-723.
99. Bard, A.J. y Faulkner, L.R. **Electrochemical methods. Fundamentals and applications.** John Wiley and Sons. Estados Unidos. 2001. Capítulo 13.

100. Brown, A.P. y Anson, F.C. **Molecular anchors for the attachment of metal complexes to graphite electrode surfaces.** Journal of Electroanalytical Chemistry. 1977, 83: 203-206.
101. Lever, A.B.P. **Surface Electrochemistry of inorganic complexes.** Pure and Applied Chemistry. 1998, 70 (4): 755-763.
102. Macdonald, D.D. **Transient Techniques in Electrochemistry.** Plenum Press. 1977. Nueva York. Capítulo 6.
103. Lee, C.W. y Anson, F.C. **Electrón exchange between Cu(phen)_2^+ adsorbed on graphite and Cu(phen)_2^+ in solution.** Inorganic Chemistry. 1984, 23: 837-844.
104. Andrieux, C.P. y Saveant, J.M. **Heterogeneous (Chemically modified electrodes, polymer electrodes) Vs. Homogeneous catalysis of electrochemical reactions.** Journal of Electroanalytical Chemistry. 1978, 93: 163-168.
105. Andrieux, C.P. y Saveant, J.M. **Kinetics of electrochemical reactions mediated by redox polymer films.** Journal of Electroanalytical Chemistry. 1982, 134: 163-166.
106. Sanna, G., Pilo, I.M., Zoroddu M.A., Seeber, R. Y Mosca, S. **Electrochemical and spectroelectrochemical study of copper complexes with 1,10-phenanthrolines.** Inorganica Chimica Acta. 1993, 208: 153-158.
107. Ueda, J., Takai, M., Shimazu, Y. y Ozawa, T. **Reactive Oxygen Species Generated from the Reaction of Copper(II) Complexes with Biological Reductants Cause DNA Strand Scission.** Archives of Biochemistry and Biophysics. 1998, 357(2) : 231-239.
108. Halliwell, B. y Gutteridge, J.M.C. **Role of Free Radicals and Catalytic Metal Ions in Human Disease: An Overview.** Methods in Enzymology. 1990, 186: 1-85.
109. www.cancer.gov
110. **Comprehensive Medicinal Chemistry. Volume 4. Quantitative Drug Design.** Corwin Hansch Editor. Pergamon Press. 1990. Oxford.