



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

*Síntesis y caracterización de complejos de níquel con ligantes
polibencimidazólicos*

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA
Q. NATALIA MUÑOZ PATIÑO

TUTOR
DR. IVAN CASTILLO PÉREZ
INSTITUTO DE QUÍMICA

CIUDAD DE MÉXICO, MARZO
2020



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

Síntesis y caracterización de complejos de níquel con ligantes polibencimidazólicos

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. NATALIA MUÑOZ PATIÑO

TUTOR

DR. IVAN CASTILLO PÉREZ
INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM



Ciudad de México, 2020

Agradecimientos

Al **Dr. Ivan Castillo Pérez** por permitirme ser parte de su grupo de investigación, su asesoría en cada paso de esta etapa y por todos los conocimientos y habilidades que compartió conmigo.

A la **Universidad Nacional Autónoma de México**, por contribuir a mi formación académica y profesional.

A **CONACyT** por otorgarme la beca 889015 que me permitió realizar mis estudios de maestría.

A **DGAPA-PAPIIT** por el financiamiento adicional al proyecto de investigación.

Al **Instituto de Química** de la **UNAM**, por brindarme los espacios, personal y equipos suficientes para llevar a cabo el proceso investigativo.

A los **miembros del jurado**, por el tiempo invertido en leer este trabajo y sus valiosos aportes.

A la **Dra. Daniela Araiza Olivera Toro**, por su colaboración y disposición para realizar los experimentos de citotoxicidad.

Al **Dr. Marcos Flores Álamo** y al **MSc. Simón Ortega Hernández** por la elucidación de estructuras de rayos X.

A la **Q. María de la Paz Orta Pérez** por los análisis elementales mediante combustión.

Al **Dr. Francisco Javier Pérez Flores**, **I.Q. Luis Velasco Ibarra** y **Dra. María del Carmen García González** por los análisis de espectrometría de masas por los métodos FAB, DART e IE.

A la **M. en I. Maricruz López López** por el manejo y disposición de residuos.

Al **personal académico y administrativo del Instituto de Química** por su labor.

A mis padres **María Celina Patiño** y **José Gerardo Muñoz**, por estar incondicionalmente en cada paso y logro de mi vida, por su confianza, amor y apoyo. Infinitas gracias.

A **Andrés Solís**, por su amor, su apoyo incondicional, por creer en mí y estar presente siempre dándome ánimo para seguir o celebrando junto a mí. Gracias por tener la palabra indicada en el momento adecuado, por hacerme ver lo bonito de la vida y compartirla junto a mí.

A mis **compañeros del Laboratorio de Química Bioinorgánica y Supramolecular (4-C/2-2)** y **compañeros del laboratorio en la parte orgánica** por su amistad, sus consejos, su compañía, aportes, retroalimentación y ayuda en muchas ocasiones. Sin ustedes no hubiera sido igual.

A mis padres

Miembros del jurado

Presidente	Dra. Laura María Gasque Silva	Facultad de Química, UNAM
Vocal	Dr. Juventino José García Alejandre	Facultad de Química, UNAM
Vocal	Dr. Ronan Marie Le Lagadec	Instituto de Química, UNAM
Vocal	Dr. Juan Leopoldo Olguín Talavera	CINVESTAV
Secretario	Dra. Claudia Paola Gómez-Tagle Chávez	Facultad de Química, UNAM


Presentación en eventos académicos


POLYMAT-2019

International Conference on Polymers and Advanced Materials

Presentation en modalidad de cartel: *Synthesis and characterization of nickel complexes with polibenzimidazolic ligands*

Huatulco, Oaxaca, 20-25 de Octubre de 2019





SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF NICKEL COMPLEXES WITH POLIBENZIMIDAZOLIC LIGANDS

Natalia Muñoz-Patiño, Ivan Castillo
Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, natym0708@comunidad.unam.mx

Introduction

Metalloenzymes are central to the functioning of biological systems. Even though the known nickel proteins remain rather few in number compared with those containing the more prevalent transition metal ions [1], Ni dependent enzymes like Ni-SOD, [NiFe]-hydrogenases or quercetin 2,4-dioxygenase have been described, where the Ni environment in each one is different; however, the Ni centers are believed to reside within the active sites of all these enzymes are intimately involved in their catalytic cycles [2].

Reactivity

Oxygen Species

The reactivity with H₂O₂ and NaOCl was monitored by low temperature UV-vis spectroscopy.

Results

Synthesis and characterization

Ni(II) complexes were synthesized starting from nickel chloride with the respective ligands as shown in Scheme 1. All complexes were completely characterized by techniques such as IR, MS, UV-vis, electrochemistry and X-ray diffraction, with the soluble monomers (by MS) presenting chloride bridges to form dimers in the solid state (X-ray).

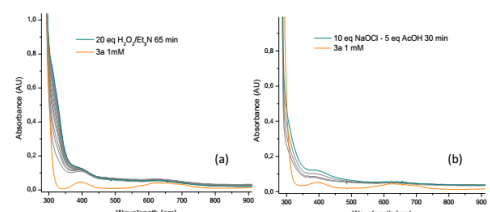
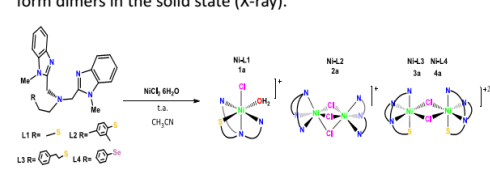


Figure 2. UV-vis absorption spectrum of **3a** over time with a addition of (a) H₂O₂/Et₃N and (b) NaOCl/AcOH at -30 °C in MeCN



Scheme 1. Synthesis of complexes with polybenzimidazolic ligands

Proton Reduction Electro catalysis

Trifluoroacetic acid (TFA) was used as a proton source to test the electrocatalytic reduction of protons to H₂ by **3a** and **4a**.

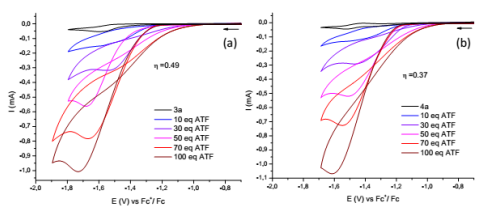


Figure 3. Catalytic behavior of (a) **3a** and (b) **4a**, for electrochemical hydrogen production with varying concentrations of TFA.

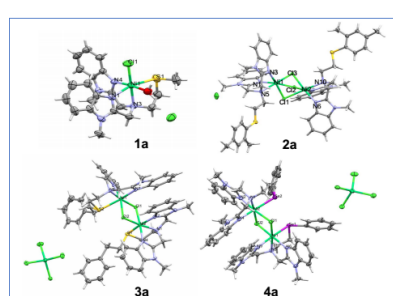


Figure 1. Molecular structures for complexes **1a-4a**

Conclusions

UV-vis spectroscopic detection of new Ni-oxygen species was evident, characterization studies will be performed. Complexes **3a** and **4a** catalyze the electrochemical reduction of protons to H₂ in the presence of TFA.

References

- [1] S. Padamati, et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 8718–8724
- [2] J. Vlucht, F. Meyer. *Met. Ions Life Sci.* **2007**, *2*, 181–240

Acknowledgements

The authors thank the analytical services at Instituto de Química, DGAPA-PAPIIT (IN203317), Conacyt (Beca 889015), and 4T.

**Este trabajo de investigación se desarrolló en el laboratorio 4-C/2-2 de
Química Bioinorgánica y supramolecular del Instituto de Química de la UNAM
bajo asesoría del Dr. Ivan Castillo Pérez.**

CONTENIDO

Agradecimientos	I
Miembros del jurado	III
Presentación en eventos académicos	IV
Abreviaturas y símbolos	VIII
Resumen	IX
1. GENERALIDADES Y ANTECEDENTES	1
1.1. Compuestos de coordinación de níquel	1
1.2. Importancia biológica del níquel	2
1.2.1. Metaloenzimas de níquel	3
1.2.1.1. Enzimas con centros de níquel no redox	3
1.2.1.2. Enzimas redox de níquel	6
1.2.2. Complejos de níquel y citotoxicidad	12
1.3. Química biomimética	13
1.3.1. Química bioinspirada de níquel	14
1.3.1.1. Activación de oxígeno	15
1.3.1.2. Reducción de protones	16
2. PLANTEAMIENTO, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	18
2.1. Planteamiento del proyecto	18
2.2. Hipótesis	18
2.3. Objetivos	19
2.3.1. Objetivo general	19
2.3.2. Objetivos específicos	19
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
3.1. Síntesis y caracterización de complejos de níquel	21
3.1.1. Complejos con cloruro de níquel	21
3.1.1.1. Propiedades electrónicas, magnéticas y electroquímicas de los complejos	27
3.1.2. Complejos con acetato de níquel	31
3.2. Reactividad	34
3.2.1. Reducción electrocatalítica de protones	34
3.2.2. Activación de oxígeno	40
3.2.2.1. Peróxido de hidrógeno	40
3.2.2.2. Hipoclorito de sodio	44
3.2.3. Citotoxicidad	47
4. CONCLUSIONES	51

5. PARTE EXPERIMENTAL	52
5.1. General	52
5.2. Instrumentación	52
5.3. Síntesis y caracterización de compuestos	53
5.3.1. Aminas	53
5.3.2. 2-clorometilbencimidazol	54
5.3.3. Ligantes	55
5.3.4. Complejos de coordinación	56
5.4. Citotoxicidad	58
6. BIBLIOGRAFÍA	60
ANEXOS	66

Abreviaturas y símbolos

Å	Angstrom (10^{-10} m)
°C	Grado Celsius o centígrado
AE	Análisis elemental
Ar	Grupo aromático
ATF	Ácido trifluoroacético
B.M.	Magnetones de Bohr
Bnz	Bencimidazol
Cys	Cisteína
DART	Direct Analysis in Real Time
DRX	Difracción de rayos X
$E_{1/2}$	Potencial de media onda
FAB	Fast atom bombardment
Fc ⁺ /Fc	Par redox ferricinio/ferroceno
H	hora
H ₂ asas	Hidrogenasas
IR	Espectroscopía infrarroja
kDa	Kilo Dalton
M	Concentración molar
m/z	Relación masa/carga
MHz	Megahertz
mL	Mililitro
mM	Milimolar
Mmol	Milimoles
MS	Espectrometría de masas
mV	Milivoltios
Nm	Nanómetros (10^{-9} m)
p.F.	Punto de fusión
Ph	Fenil
ppm	Partes por millón
Redox	Óxido-Reducción
RMN	Resonancia magnética nuclear
s	Segundo
t.a.	Temperatura ambiente
TOF	Turnover number
UV-vis	Espectroscopia Ultravioleta-visible
λ	longitud de onda
μ_{eff}	Momento magnético efectivo

Resumen

Título: *Síntesis y caracterización de complejos de níquel con ligantes polibencimidazólicos*

A finales de la década de los sesenta pudo establecerse claramente que el níquel es un elemento traza esencial para diferentes sistemas bacterianos, y el descubrimiento de centros paramagnéticos de Ni en varios sistemas biológicos ha proporcionado un ímpetu importante para el estudio de la química redox del Ni. Las enzimas de níquel descritas hasta el momento tienen funciones biológicas realmente diversas, donde el ambiente de Ni en cada una es diferente. Sin embargo, se cree que los centros de Ni dentro de los sitios activos de todas estas enzimas están íntimamente involucrados en sus ciclos catalíticos, así mismo sus entornos de ligantes ricos en tiolato. Inspirados en las diferentes propiedades redox y reactividades que presentan los complejos de níquel(II) con diferentes ligantes, especialmente los que le confieren un entorno rico en donadores nitrógeno y azufre similares a algunas metaloenzimas dependientes de níquel, en este trabajo se reporta la síntesis, caracterización y diferentes reactividades de complejos de níquel(II) con ligantes bisbencimidazol-calcogenoéter. Cuatro complejos obtenidos a partir de la sal $[\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ (**1a-4a**) y tres a partir de $[\text{Ni}(\text{OAc})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ (**1b, 3b y 4b**) fueron sintetizados en condiciones similares y sus estructuras fueron confirmadas por análisis de difracción de rayos X de monocristal, se caracterizaron por técnicas convencionales como análisis elemental, FT-IR, UV-Vis y espectrometría de masas, y adicionalmente la serie **a** se caracterizó mediante susceptibilidad magnética y estudios de voltamperometría cíclica. Los complejos **1a-4a** mostraron ser catalizadores activos en la reducción de protones cuando se usa como fuente de protones ATF y se estableció que dicha catálisis se lleva a cabo de forma homogénea. Mediante estudios UV-Vis a baja temperatura se establece que los complejos pueden actuar como potenciales activadores de moléculas pequeñas como H_2O_2 y NaOCl . Además dos de ellos presentaron actividad citotóxica *in vitro*, con selectividad hacia células cancerígenas SK-LU-1 (carcinoma de pulmón) y HeLa (carcinoma cervico uterino), en comparación con células sanas HEK (riñón humano).

1. GENERALIDADES Y ANTECEDENTES

1.1. Compuestos de coordinación de níquel

El níquel juega un papel importante en áreas tan diversas como la metalurgia, el magnetismo y la biología, así como en aplicaciones químicas tales como la transformación catalítica de sustratos orgánicos. La investigación de compuestos de níquel en varios estados de oxidación sigue siendo dispersa y aquellos en la oxidación +1 son menos comunes que los de los estados de oxidación 0 y +2¹. La química de coordinación del níquel es bastante amplia, específicamente el níquel(II) con una configuración electrónica d^8 , ya que tiene capacidad para adoptar diversas geometrías, por lo cual presenta una química de coordinación versátil, con complejos octaédricos, tetraédricos y cuadrados, de forma similar al Cobre(II)². Las variaciones estructurales en el centro de Ni en los complejos dan lugar a diferentes propiedades redox y reactividades³. Recientemente, los complejos de níquel han mostrado propiedades anticancerígenas interesantes en una variedad de líneas celulares de cáncer⁴, además se han utilizado como catalizadores en diversas reacciones como de acoplamiento cruzado⁵, oxidación electrolítica del agua⁶ y oxidación de alcanos⁷.

Como la mayoría de los metales de transición divalentes, Ni(II) se considera frontera entre los ácidos de Lewis duros y blandos, por ello no es sorprendente que tenga una alta afinidad por el imidazol, que se encuentra en el límite entre las bases de Lewis, y además está presente en el aminoácido histidina. Debido a su estado limítrofe, este metal en estado de oxidación +2 forma complejos estables con ligantes duros (Ej., OH^- , H_2O y NH_3) y blandos (Ej. RS^- , CO y CN^-). Lo más interesante en términos de química de coordinación es la capacidad de Ni(II) para adoptar una variedad de geometrías que pueden estar en equilibrio entre sí, un equilibrio que para los compuestos inorgánicos puede ser dictado en parte por la naturaleza de los ligantes⁸.

Ni(II) con número de coordinación cuatro puede adoptar geometrías planas o tetraédricas, o cualquier geometría intermedia (por ejemplo, moléculas con simetría de grupo puntual C_{2v}). Los complejos de Ni(II) cuadrados son diamagnéticos con ocho electrones apareados en los orbitales d_{yz} , d_{xz} , d_z^2 y d_{xy} . Por otro lado, los complejos tetraédricos de Ni^{+2} son paramagnéticos con dos electrones no apareados en los orbitales t_2 . Estas dos geometrías de coordinación pueden estar en equilibrio entre sí. La geometría tetraédrica es favorecida por sustituyentes más voluminosos, cuya tensión estérica se minimiza en la conformación tetraédrica, y la coordinación plana es favorecida por la energía de estabilización del campo ligante.

Los complejos Ni(II) con número de coordinación cinco pueden presentar geometrías bipirámide-trigonal o piramidales cuadradas. Los complejos bipirámide-trigonales son frecuentemente de alto espín, mientras que los complejos piramidales cuadrados tienden a ser de bajo espín.

Por último, los complejos de níquel hexacoordinados con geometría octaédrica tienen un espín invariablemente alto con dos electrones no apareados en el nivel e_{2g} , y muestran una preferencia por los ligantes de campo más fuerte, como ligantes donadores de nitrógeno sobre el agua o el tiolato^{8,9}. Esta tendencia se ilustra por el hecho de que en los pocos complejos hexacoordinados con ligantes tiolatos, todos son ligantes quelantes con un segundo donador de oxígeno o nitrógeno⁸.

1.2. Importancia biológica del níquel

El níquel es un metal de transición del grupo VIII y es el elemento número 24 más abundante en la corteza terrestre¹⁰. Fue considerado durante muchos años como un elemento sin importancia biológica significativa, hasta que se estableció su existencia en el centro activo de la enzima ureasa en 1975. Desde entonces, se confirmó que Ni(II) es un antagonista competitivo con Mg(II) y Ca(II), y se estableció su presencia en los sitios activos de diferentes metaloenzimas. Por lo tanto, el interés por la evaluación de sus propiedades biológicas se ha expandido rápidamente¹¹.

Se desconocen los roles bioquímicos específicos para el níquel en mamíferos. La exposición crónica al níquel conduce a enfermedades cardiovasculares y renales, fibrosis pulmonar y, más notablemente, cáncer^{8,10}. Sin embargo, también se han observado efectos nocivos asociados con las deficiencias de níquel, ésta se ha relacionado con un aumento de la mortalidad perinatal, una disminución del crecimiento y una disminución de la absorción de hierro. El níquel también es necesario para el crecimiento de la flora intestinal microbiana que es esencial para el desarrollo adecuado del huésped animal. Aunque la importancia bioquímica del níquel se centra principalmente en el ion Ni(II), hay evidencias del papel funcional de otros estados de oxidación⁸.

El estudio de los mecanismos de los procesos bioquímicos en los que interviene este ion tiene gran complejidad debido a la diversidad de números de coordinación que presenta. A finales de la década de los sesenta se pudo establecer claramente que el níquel es un elemento traza esencial para diferentes sistemas bacterianos, además con el descubrimiento de una aparente necesidad fisiológica de níquel por parte de plantas y animales que aún no se comprende completamente, los papeles beneficiosos del níquel en la bioquímica han salido a la luz^{10,12}. A partir de esa información se produjeron rápidos y continuos avances en este campo, incluyendo la generación de hidrógeno¹³ y la conversión de CO/CO₂¹⁴, y por lo tanto son importantes para la química ambiental y la ciencia de la energía, así como la bioquímica microbiana⁸.

El descubrimiento de centros paramagnéticos de níquel en varios sistemas biológicos ha proporcionado un ímpetu importante para el estudio de la química redox del Ni, ahora se sabe que hay varias enzimas que contienen níquel, y que éste participa en reacciones de óxido-

reducción. Entre las parejas redox con importancia biológica, se incluye el par $\text{Ni}^{+2/+3}$ que se ve facilitado por la incorporación de ligantes tiolatos, que no se encuentran en las enzimas de níquel que carecen de química redox centrada en el metal. Esto se debe a que la presencia de donantes S reduce significativamente la E° en comparación con complejos con coordinación N/O⁸.

Además, hay una gran cantidad de complejos de níquel(II) con diferentes propiedades biológicas, incluidos los que tienen actividad antitumoral^{11,15}, anticonvulsivos, antiepilépticos¹⁶, actividad antibacteriana *in vitro*¹⁷, antifúngica¹⁸, antimicrobiana^{11,19}, antiinflamatoria²⁰, antioxidante²¹ y antiproliferativa²². Además, se han informado muchos complejos de Ni(II) como posibles intercaladores de ADN o agentes de escisión del ADN^{15,23–26}.

1.2.1. Metaloenzimas de níquel

Aunque hasta ahora se conocen pocas enzimas de Ni, estas juegan un papel importante en los ciclos biológicos de carbono, nitrógeno y oxígeno, y tienen papeles críticos en bacterias, arqueas, hongos, algas y plantas superiores²⁷. Las enzimas que contienen níquel están involucradas en numerosas transformaciones químicas que no solo son vitales para la vida sino también de importancia para la crisis energética del siglo XXI, como la generación de energías alternativas, las emisiones de gases de efecto invernadero y la desintoxicación de especies reactivas de oxígeno (ROS)²⁸.

En los sitios activos de Ni, este se une con átomos de N, O y S en la mayoría de los casos, y a veces con átomos de Se y C como se ve en [NiFeSe]-hidrogenasa y CO deshidrogenasa, respectivamente³. Recientemente, el interés en la química de los tiolatos de Ni(II) ha aumentado debido al reconocimiento de que ciertas enzimas incorporan coordinación mixta N/S en Ni(II)²⁹. Las enzimas dependientes de níquel pueden dividirse en dos grupos: con actividad redox en donde la actividad principal del centro de Ni es realizar la activación del sustrato y la química redox, y las enzimas no-redox.

1.2.1.1. Enzimas con centros de níquel no redox

Ureasa

La ureasa, la primera enzima en cristalizarse y en conocerse que requiere níquel para la catálisis, se encuentra en bacterias, arqueas, plantas, algas y hongos seleccionados, cataliza la hidrólisis aparentemente simple de la urea en amoníaco y ácido carbámico que se descompone espontáneamente en otra molécula de amoníaco y ácido carbónico. Por lo tanto, la ureasa permite que los microorganismos utilicen la urea como fuente de nitrógeno, que a su vez puede ser explotada por organismos superiores como plantas y animales⁸.

Las ureasas comparten una estructura trimérica básica con tres sitios catalíticos dinucleares y pliegues esencialmente idénticos, a pesar de tener variaciones en sus estructuras cuaternarias. El sitio activo de la ureasa (Figura 1) contiene dos átomos de Ni^{+2} separados por 3.5-3.7 Å, unidos por un residuo de carbamato de lisina y un ion hidróxido. Los estudios de mutagénesis dirigida al sitio en *K. aerogenes* muestran que el residuo de lisina carbamilada no es esencial para la catálisis y puede reemplazarse por un ácido orgánico unido de forma no covalente. Cada Ni(II) también está coordinado a una molécula de agua terminal y dos residuos de histidina. Finalmente un Ni(II) también está coordinado a un residuo de ácido aspártico, produciendo un átomo de níquel pentacoordinado en una geometría piramidal cuadrada, y un níquel pseudo-octaédrico²⁷.

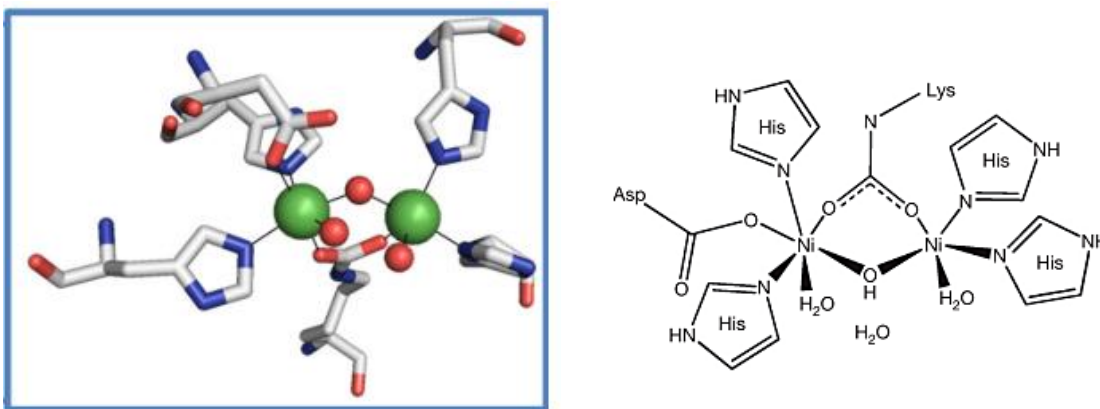


Figura 1. Sitio activo dinuclear Ni-Ni de la Ureasa^{8,27}

Glioxilasa I

La glioxilasa (GlxI) cataliza la formación de SD-lactoilglutación a partir del hemi-mercaptal producido de forma no enzimática a partir de metilglioxal y glutatión. Esto es parte de una cadena de reacción más grande que desintoxica α -cetoaldehídos como el metilglioxal, que afecta de manera nociva al ADN, ARN y proteínas, al convertirlos en ácidos α -hidroxicarboxílicos como el lactato. La primera glioxilasa dependiente de níquel se encontró en *E. coli*. La proteína cristalizada es un homodímero que une dos átomos de níquel, cada uno uniendo las interfaces monoméricas⁸.

Inicialmente, se creía que las glioxilasas eran exclusivamente enzimas de zinc basadas en los homólogos humanos, hasta el descubrimiento de la glioxilasa I en *E. coli*. Las enzimas de los humanos, *Saccharomyces cerevisiae* y *Pseudomonas putida* son dependientes de zinc, revelando dos sitios activos mononucleares Zn(II) en la interfaz del dímero. Por el contrario, la GlxI homóloga de *Escherichia coli* es inactiva con Zn(II) y máximamente activa en presencia de Ni(II). Los datos estructurales de cristalografía y absorción de rayos X, sugieren que este comportamiento se debe a la geometría de coordinación. La enzima de inactiva zinc es pentacoordinada con una geometría bipirámide-trigonal, mientras que el metal activo muestra una geometría pseudo-octaédrica. Esto es consistente con el entorno de coordinación que se

encuentra en la glioxilasa I humana dependiente de zinc, donde el zinc también es hexacoordinado^{27,30}.

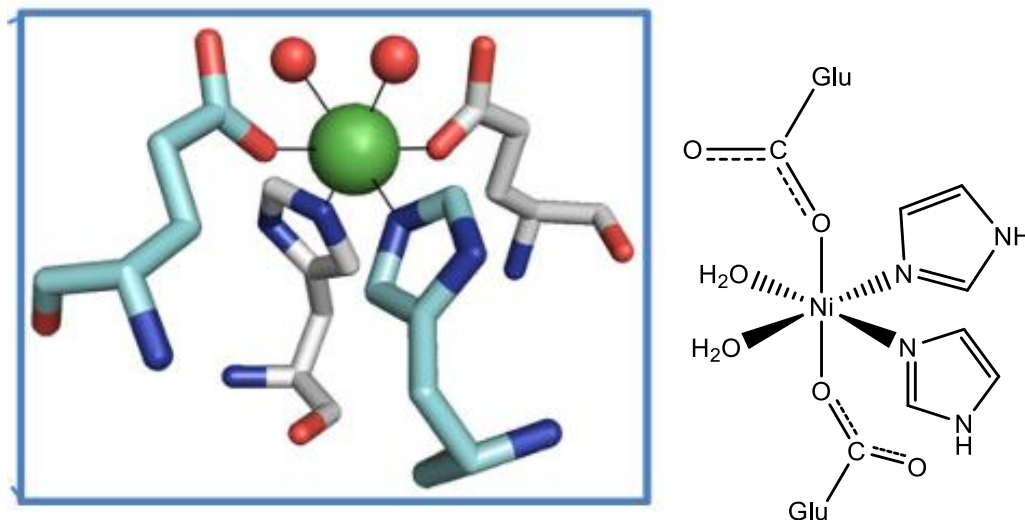


Figura 2. Sitio activo de la GlxI²⁷

Acireductona dioxigenasa

La biosíntesis de poliaminas de S-adenosilmetionina también produce metiltioadenosina como un subproducto que a su vez puede reciclarse de vuelta a la metionina a través de la vía de recuperación de la metionina. Un intermediario importante en esta vía es la acireductona (1,2-dihidroxi-3-ceto-5-metiltiopentano). La acireductona se puede convertir en el precursor α -cetoácido de la metionina mediante la acireductona dioxigenasa (ARD) unida al hierro. Sin embargo, si la enzima se une al níquel, aparece una vía 'no productiva' que produce formiato, monóxido de carbono y metiltiopropionato. Este es el único ejemplo de una enzima que naturalmente forma diferentes metaloenzimas donde los productos de la reacción dependen del metal, y el único ejemplo conocido de una dioxigenasa de níquel. Los estudios mecanicistas de ARD de *K. pneumoniae* muestran que los resultados diferentes con cada metal se deben a la coordinación diferencial de una especie intermedia de anión peroxo³⁰.

No existe una estructura cristalográfica para ARD, pero se informa una estructura para un homólogo de ratón donde se desconoce la identidad del metal. ARD pertenece a una súper familia diversa conocida como cupins. La forma de ARD de hierro tiene una estructura idéntica a la forma de apoproteína de la enzima, mientras que Ni-ARD tiene sutiles diferencias estructurales. Los metales están unidos a 3 histidinas y 1 carboxilato (Figura 3). Significativamente, la unión de Fe(II) conduce a un C-terminal desordenado, y un mayor orden en el N-terminal en relación con el encontrado en la ARD unida a Ni(II). Estos cambios se propagan a través de la proteína para producir diferencias sutiles en el sitio activo²⁷.

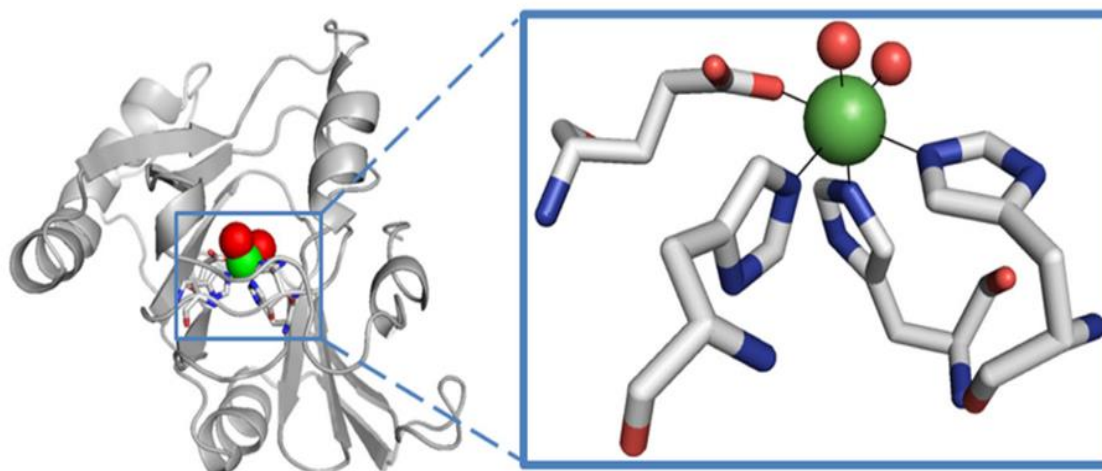
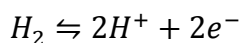


Figura 3. Estructura de ARD y sitio activo. Se muestra la estructura de RMN de la acireductona dioxigenasa (*Klebsiella oxytoca*). El Ni (esfera verde) coordina tres His y un Glu y dos moléculas de agua (esferas rojas) ²⁷

1.2.1.2. Enzimas redox de níquel

Hidrogenasa

Las hidrogenasas (H₂asas) catalizan la interconversión de gas hidrógeno con protones y electrones, como se muestra en la Ecuación 1. Estas enzimas se encuentran en arqueas, bacterias y eucariotas, donde esta reacción reversible se usa para el consumo de equivalentes reductores en exceso o para proporcionar electrones destinados a vías generadoras de energía. Las hidrogenasas generalmente se clasifican en tres grupos según el tipo de metal(es) en su sitio activo. Las [Fe] hidrogenasas que tienen un solo centro de hierro en el sitio activo y carece de grupos de hierro-azufre, las [FeFe] hidrogenasas que contienen un sitio activo dinuclear de Fe junto con grupos de Fe-S, y las heterodinucleares [NiFe]-hidrogenasas que son las más predominantes^{31,32}.



Ecuación 1. Reacción catalizada por las hidrogenasas

Las [NiFe]-hidrogenasas se componen típicamente de un mínimo de dos subunidades: una subunidad catalítica grande de 60 kDa que contiene el sitio activo NiFe y una pequeña subunidad de transferencia de electrones de 30 kDa con uno o más grupos Fe-S. Existen numerosas estructuras cristalinas para [NiFe]-hidrogenasas, en este caso se ejemplifica con la enzima de *Desulfovibrio fructosovorans* representada en la Figura 4. El sitio activo está profundamente enterrado en la gran subunidad con el níquel coordinado a cuatro residuos de cisteína, dos de las mismas cisteínas coordinan el Fe, el cual está coordinado por tres ligantes diatómicos: dos donadores σ CN⁻ y un aceptor π CO. Estos ligantes diatómicos se estabilizan

mediante enlaces de hidrógeno con residuos de serina y arginina cercanos. En la proteína *D. fructosovorans*, la subunidad pequeña contiene tres grupos Fe-S (grupos proximales y distales [4Fe-4S] separados por un grupo [3Fe-4S]), pero existen disposiciones alternativas de grupos Fe-S en enzimas de otros organismos²⁷. En una subclase de [NiFe] hidrogenasas ([NiFeSe] H₂asas), una selenocisteína coordina el centro de níquel en lugar de una cisteína¹³.

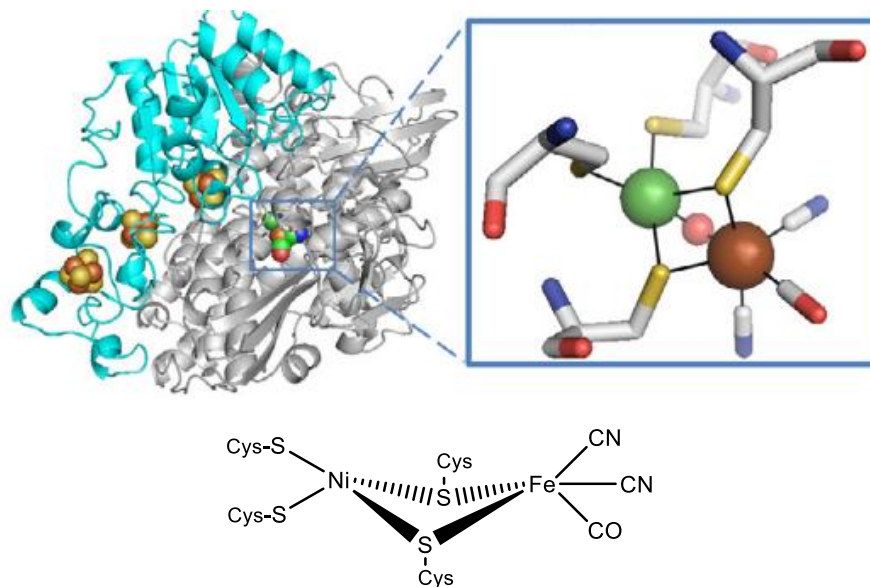


Figura 4. Estructura de Ni-Fe hidrogenasa y sitio activo²⁷

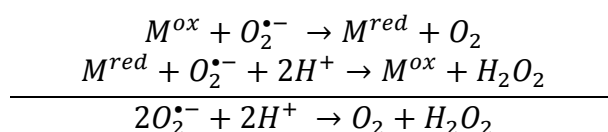
La determinación de la estructura cristalina de rayos X de las diversas [NiFe] hidrogenasas ha demostrado que el marco estructural único y común $[(\text{CO})(\text{CN})_2\text{Fe}(\mu\text{-S}_{\text{Cys}})_2\text{Ni}(\text{S}_{\text{Cys}})_2]$ se conserva en el sitio activo junto con la variación del tercer ligante puente en función del estado redox de la enzima. Mientras que varios complejos de FeNi puenteados por ligantes ditiolato se han descrito como modelos sintéticos del sitio activo, aquellos que tienen en el centro de Fe ligantes CO y CN son bastante limitados, aunque tales modelos son indispensables para comprender el mecanismo de la hidrogenasa [NiFe]³³.

Superóxido dismutasa dependiente de níquel

La respiración celular usando oxígeno conduce a la formación de aniones radicales superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$). Este subproducto es reactivo con los grupos de hierro y azufre y otros componentes celulares, y está implicado en una variedad de enfermedades relacionadas con la edad. Las células pueden desintoxicar el superóxido convirtiéndolo en O_2 y H_2O_2 , utilizando la enzima superóxido dismutasa (SOD). Se conocen varias clases de superóxido dismutasas, y en función de su unión a metales se clasifican en tres enzimas principales: cobre-zinc, hierro y manganeso superóxido dismutasas. Si bien la mayoría de estas enzimas son altamente específicas a

metales, algunas se clasifican como superóxido dismutasas cambialistas, porque pueden usar hierro o manganeso para la actividad^{34,35}.

Las SOD emplean un mecanismo catalítico de 'ping-pong', en el cual el estado de oxidación del metal cambia entre dos estados de oxidación que difieren en un electrón. La reacción procede por un ciclo redox de 1 electrón en el ion metálico como se muestra en la Ecuación 2. Una cuarta clase de SOD que contiene Ni mononuclear (NiSOD) ha sido aislada de varias bacterias *Streptomyces*, originalmente de *Streptomyces seoulensis*, sin embargo, el gen Ni-SOD (sodN) se ha identificado en una gran cantidad de bacterias adicionales, así como en algas verdes eucariotas. Si bien esta enzima comparte un papel funcional común con las otras SOD, varias líneas de evidencia resaltan sus características únicas. La secuencia de aminoácidos de NiSOD no tiene una homología significativa con las otras SOD ni con ninguna otra proteína.



Ecuación 2. Reacción catalizada por la SOD

Se han determinado estructuras cristalinas para NiSOD a partir de dos fuentes de *Streptomyces* (Figura 5), y se han realizado estudios espectroscópicos y de mutación dirigida al sitio activo para definir la geometría de coordinación de níquel. La coordinación del sitio activo de Ni difiere de los otros iones metálicos en SOD, y explica cómo el níquel puede llevar a cabo la catálisis. La estructura cristalina de *S. coelicolor* NiSOD revela un hexámero que puede verse como un dímero entrelazado de trímeros, con los centros de níquel dispuestos en un octaedro. La proteína aislada contiene una mezcla de Ni(II) y Ni(III), cada una con sus distintas geometrías de coordinación. En el estado +2, el Ni está unido en una configuración planar cuadrada por una amida del esqueleto de Cys2, una amina primaria del extremo N y dos ligantes tiolatos de Cys2 y Cys6. En el estado +3, está unido en una disposición piramidal cuadrada con el enlace adicional proporcionado por His1 a través de su átomo de N (Figura 5). Por lo tanto, solo tres residuos de aminoácidos contribuyen a la unión de Ni. Las superóxido dismutasas de níquel son la única clase de SOD en las que el centro metálico está coordinado por cisteínas, así mismo NiSOD es bastante única, por ejemplo, el níquel es el único metal que no cataliza la desproporción de $O_2^{\bullet-}$ en disolución acuosa neutra (en ausencia de la proteína), presumiblemente porque carece de un proceso electrónico redox accesible³⁵.

Los estudios espectroscópicos y computacionales de NiSOD y los compuestos modelo muestran que los ligantes tiolato e imidazol son críticos para crear un entorno que reduce el potencial del Ni en más de 1 V para el par $Ni^{+2/+3}$ y lo hace capaz de catalizar la dismutación de 1 electrón y 2 protones²⁷.

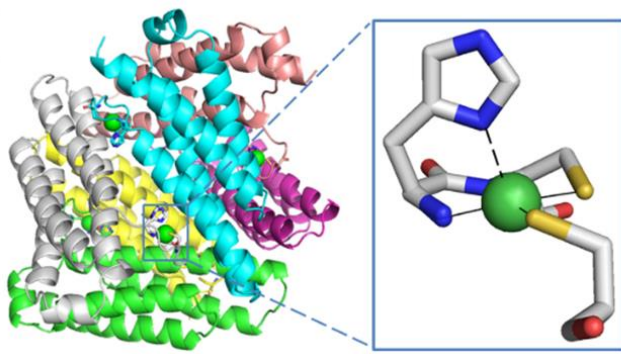


Figura 5. Estructura y sitio activo de la NiSOD²⁷

Monóxido de carbono deshidrogenasa

La deshidrogenasa de monóxido de carbono (CODH) cataliza la oxidación reversible del monóxido de carbono a dióxido de carbono, por lo que juega un papel vital en el ciclo global del carbono al permitir que los organismos utilicen el monóxido de carbono como fuente de carbono y energía. Las enzimas CODH dependientes de níquel pertenecen a dos clases distintas: aquellas con la única función de oxidación de CO/reducción de CO₂ (monofuncional) y aquellas que forman un complejo proteico más grande con la actividad acetil-coenzima A (CoA-SH) sintasa/descarbonilasa (ACS) (bifuncional)³⁴.

Los estudios de cristalografía revelan una estructura dimérica para las CODHs de *Rhodospirillum rubrum* o *Carboxidotermus hydrogenoformans*, un homodímero con dos copias de otra subunidad para la proteína *Methanosarcina barkeri*, y un homodímero CODH que una subunidades adicionales para el ACS de *Moorella thermoacetica* (anteriormente *Clostridium thermoaceticum*). La estructura cristalina CODH de *C. hydrogenoformans* (Figura 6) representa cinco metaloclusters por homodímero; cada subunidad contiene un [1Ni – 4Fe – 4S] cumulo-C y un típico [4Fe – 4S] cumulo-B, con un [4Fe – 4S] cumulo-D encontrado en la interfaz de las subunidades. Dependiendo de la fuente y el estado de la enzima, la estructura del cumulo-C puede variar en el número de átomos de S (4 o 5) y la identidad de los ligandos unidos, pero en esencia se puede ver como [3Fe – 4S]-cumulo unido a un centro de Ni-Fe^{8,27,34}.

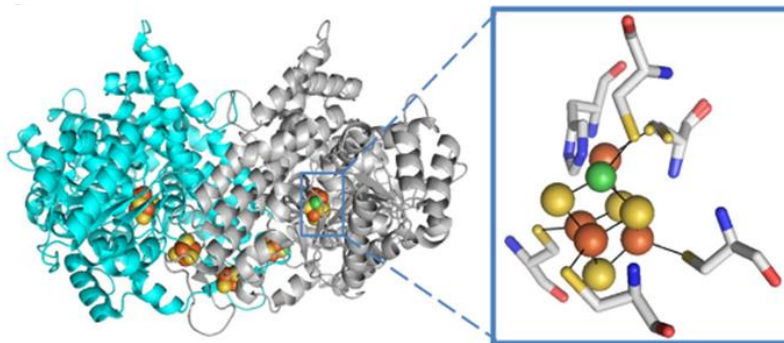


Figura 6. Estructura y sitio activo de la CODH dependiente de níquel²⁷

Acetil coenzima A sintasa

La acetil coenzima A sintasa (ACS) cataliza la carbonilación reversible de la acetil coenzima A (CoA), un cofactor importante en la síntesis y oxidación de ácidos grasos, y la oxidación del piruvato en el ciclo del ácido cítrico. Las enzimas acetilcoenzima A dependientes de níquel se encuentran en las enzimas acetogénicas, metanogénicas y microorganismos reductores de sulfato². Muchos tipos de microorganismos anaeróbicos utilizan ACS como la enzima clave de la vía acetil-S-CoA utilizada para fijar CO₂, mientras que las arqueas metanogénicas que degradan el acetato usan esta enzima para convertir el sustrato de dos carbonos en CO₂ y metano. La ACS contiene dos sitios activos que contienen níquel, uno responsable de la actividad de CODH y otro que cataliza de manera reversible los enlaces carbono-carbono-azufre del acetil-S-CoA; estos sitios activos están conectados por un canal interno o túnel^{27,28,36}.

Las estructuras cristalinas para ACS están disponibles para el complejo que contiene CODH de *M. thermoacetica* y como la subunidad de ACS libre de CODH de *C. hydrogenoformans*. El complejo proteico *M. thermoacetica* consiste en el dímero central de CODH con subunidades adicionales unidas a cada lado (Figura 7). Cada una de las subunidades adicionales contiene un cumulo-A que incluye un [4Fe – 4S]-cumulo puenteado a través de un residuo de Cys a un sitio de metal proximal que se une a un sitio de metal distal a través de otros dos residuos de Cys. El metal distal es níquel, coordinado por dos amidas del esqueleto además de los dos residuos de Cys, mientras que el sitio proximal del metal puede estar ocupado por Ni, Cu o Zn (la estructura con Cu se muestra en la Figura 8); se ha encontrado que el sitio dinuclear de níquel parece ser fisiológicamente relevante²⁷.

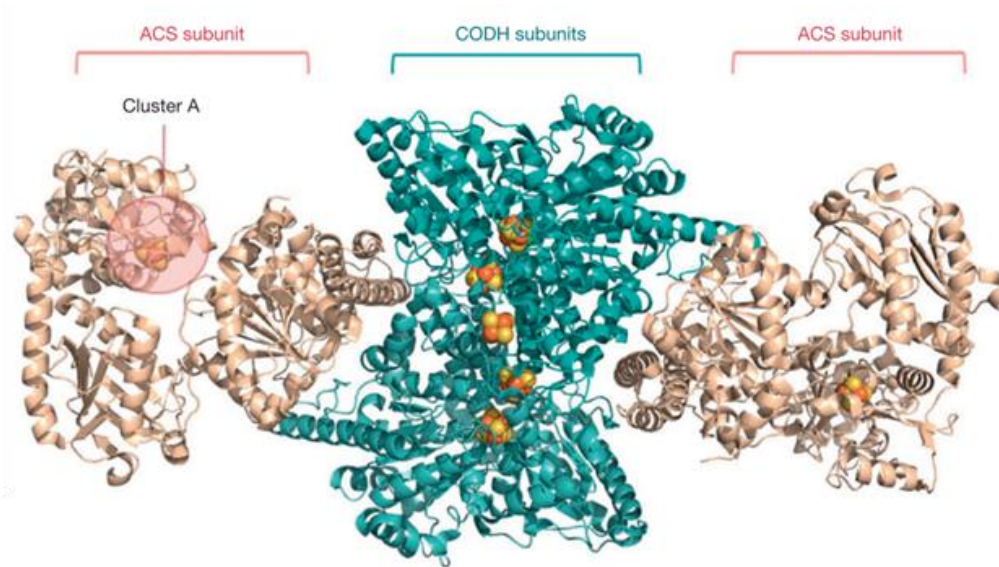


Figura 7. Estructura de la ACS⁸

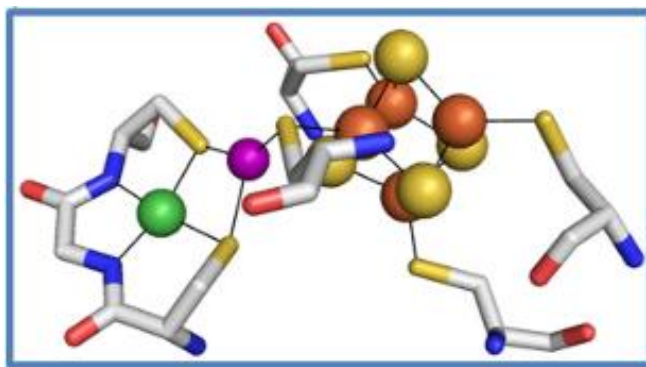


Figura 8. Sitio activo de la ACS Cluster-A. La estructura que se muestra es para una proteína inactiva donde M es Cu (esfera púrpura), pero la enzima activa posee Ni en este sitio²⁷

Metil coenzima M reductasa

Los metanógenos son arqueas estrictamente anaeróbicos que usan sustratos de uno o dos carbonos como acetato, formiato, metanol, metilaminas y dióxido de carbono más hidrógeno gaseoso para satisfacer sus necesidades energéticas. La metil coenzima M reductasa (MCR) juega un papel importante en el ciclo global del carbono, utiliza la coenzima B (fosfato de *N*-7-mercaptoheptanoiltreonina, CoB-SH) para reducir la metil coenzima M (metil-S-tioetanosulfonato, CH₃-S-CoM) y formar metano y el heterodisulfuro CoM-SS-CoB^{28,37}. Todo el metano producido biológicamente está formado por arqueas metanogénicas usando MCR, y la reacción inversa se lleva a cabo por otras arqueas que catalizan la oxidación anaerobia del metano en sinergia con las bacterias reductoras de sulfato³⁷.

Existen estructuras cristalinas de MCR de varios organismos (*Methanothermobacter marburgensis*, *M. kandleri*, *M. barkeri* y *M. thermoautotrophicum*). Se han obtenido estructuras cristalinas de alta resolución para la forma oxidada de MCR, que revela un hexámero de 300 kDa principalmente helicoidal en una disposición $\alpha_2\beta_2\gamma_2$ (Figura 9). La subunidad α contiene el sitio activo que incluye la coenzima F430, un Ni-tetrapirrol que deriva su nombre de una absorbancia a 430 nm del Ni(II)-tetrapirrol⁸. Esta especie de corrinoide está relacionada con sirohemes y corrinoides, pero contiene solo cinco enlaces dobles, por lo que es el tetrapirrol más reducido en la naturaleza. F430 está activo cuando está en el estado de oxidación Ni(I), pero se convierte fácilmente a otros estados de oxidación. La coenzima está unida de forma estrecha pero no covalente en el extremo de un canal hidrofóbico que impide que el disolvente acceda al sitio activo y permite la coordinación de los sustratos²⁷. Además de los nitrógenos de tetrapirrol, el Ni está coordinado axialmente por una cadena lateral Gln con el segundo sitio de coordinación axial disponible para la unión del sustrato^{36,38}.

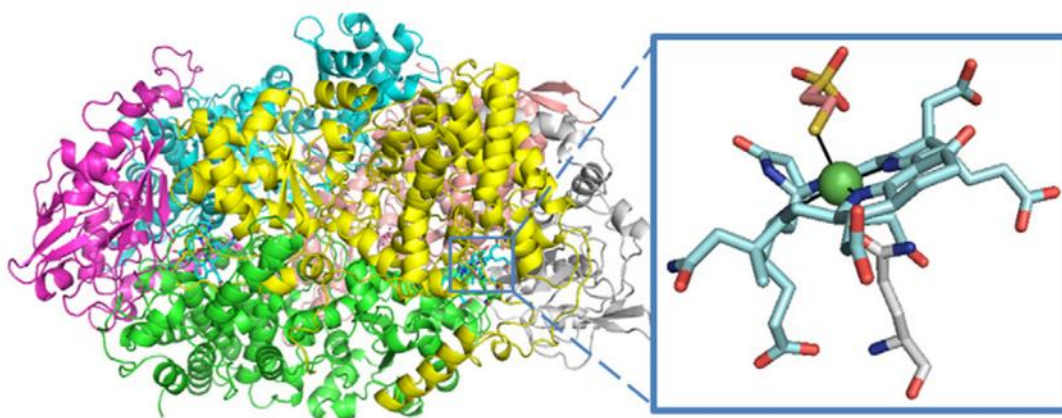


Figura 9. Estructura y sitio activo de la MCR²⁷

1.2.2. Complejos de níquel y citotoxicidad

Los complejos metálicos para aplicaciones médicas son un área prometedora de investigación y se han desarrollado y evaluado metalo-fármacos para mejorar la eficiencia de los medicamentos y minimizar sus efectos secundarios. Se ha demostrado que las moléculas pequeñas como los complejos de metales de transición tienen fuertes interacciones de unión con el ADN a través de modos de interacción tanto covalentes como no covalentes. Los modos de interacción juegan un papel importante en las actividades biológicas de los complejos metálicos, especialmente como agentes antibacterianos, antifúngicos y anticancerígenos. Esto ha formado la base de la mayoría de las investigaciones en la síntesis de complejos metálicos a través de varios métodos y diferentes diseños para desarrollar nuevos fármacos basados en metales²⁵.

Se encontró que la exposición crónica al níquel podría estar relacionada con un mayor riesgo de cáncer de pulmón, enfermedades cardiovasculares, déficit de desarrollo en la infancia y presión arterial alta. Sin embargo, hasta ahora se ha reportado un amplio espectro de actividades biológicas beneficiosas de varios complejos de níquel(II). Por otro lado, algunos complejos que contienen níquel son diseñados para la terapia contra el cáncer³⁹ y se ha informado que algunos complejos de níquel(II) actúan como agentes antiproliferativos¹¹.

Estudios anteriores han demostrado que complejos de níquel de 1,2-naftoquinona tiosemicarbazona y algunas S-metil-tiosemicarbazonas exhiben potente actividad citotóxica contra células cancerosas humanas⁴⁰. Así mismo, C. Zhao y colaboradores³⁹ demostraron que un complejo de níquel-piritiona (NiPT) induce selectivamente la inhibición del ubiquitina-proteasoma (sistema que tiene un papel central en la degradación de las proteínas celulares y que se ha considerado un enfoque atractivo para la terapia contra el cáncer) y la apoptosis en

células tumorales cultivadas y células cancerosas de pacientes humanos con leucemia mieloide aguda. N. Venugopal y colaboradores⁴¹, reportaron la alta citotoxicidad *in vitro* de un nuevo complejo de Ni(II) con un ligante bioactivo tridentado de azo-azomitina N'-(E)-{2-hidroxi-3-metoxi-5-[(E)fenildiazenil]fenil} metilideno] piridina-3 carbohidrazidas en células de cáncer de pulmón humano (A-549), células de cáncer de mama (MDA-MB 231) y células de riñón embrionario normal (HEK293).

Por otro lado, S. Ray y colaboradores⁴² reportaron una serie de complejos de níquel, que exhiben citotoxicidad moderada con la intención de su uso como agentes para desarrollar resistencia a la toxicidad del níquel. De hecho, sus complejos de níquel muestran menos actividad citotóxica hacia dos líneas celulares de cáncer humano que se producen comúnmente, las células HeLa y las células MCF-7, en comparación con el máximo de inhibición por NiCl₂·6H₂O en condiciones análogas a tres concentraciones diferentes. La reducción de la actividad carcinogénica en los complejos con respecto al ion níquel(II) del NiCl₂·6H₂O se produce por la quelación exitosa del centro metálico por una clase de nuevos ligantes de carbeno tetradentado N-heterocíclicos N-O funcionalizados.

1.3. Química biomimética

La química inorgánica biomimética tiene como objetivo la síntesis y caracterización detallada de moléculas relativamente pequeñas que simulan o logran la esfera de coordinación, composición, estereoquímica y estados de oxidación del sitio mononuclear o polinuclear nativo de un metal en el sitio activo de enzimas. La comparación de las propiedades de los análogos sintéticos y estos sitios (nativos), idealmente proporciona información sobre la influencia de la estructura de la proteína y el estudio de estos modelos se ha convertido en una herramienta importante para obtener una mejor comprensión de la estructura y el mecanismo de las metaloenzimas⁴³.

Una estrategia usada en el estudio de sitios metálicos unidos a proteínas, es el enfoque análogo sintético o biomimético definido por el protocolo de la Figura 10⁴³. Un análogo estructural permite la deducción de las características del sitio activo, comunes al sitio y a sí mismo mediante comparaciones de propiedades. Un análogo funcional admite transformaciones de sustrato en productos, como las enzimas, aunque no necesariamente a la misma velocidad o con la misma estereoquímica. Un análogo funcional no es inevitablemente un análogo estructural, pero un análogo estructural de alta fidelidad debería ser un análogo funcional siempre que un entorno proteico no sea obligatorio para la reactividad⁴³.

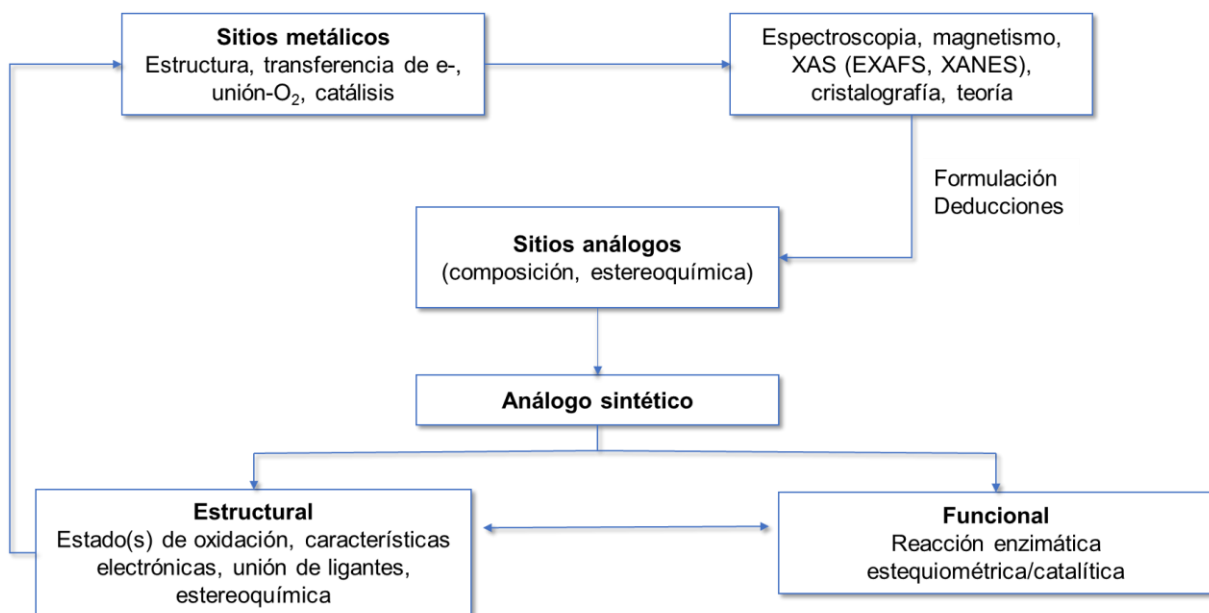


Figura 10. Representación esquemática del enfoque analógico sintético de los sitios activos de metalobiomoléculas⁴³.

El enfoque bioinspirado en los sistemas enzimáticos involucrados en la conversión de energía solar (fotosistema), producción de hidrógeno (hidrogenasas), activación de dióxígeno (oxidasas y oxigenasas) y reducción de CO₂ (deshidrogenasa de CO) utilizan material de partida abundante y barato como O₂, H₂O y CO₂. La inspiración de estos sistemas biológicos es una solución para hacer que los procesos químicos sean más amigables con el ambiente.

1.3.1. Química bioinspirada de níquel

La química de coordinación bioinspirada de níquel ha prosperado en los últimos años, principalmente estimulada por desarrollos interesantes en biología estructural. Aunque las proteínas de níquel conocidas siguen siendo muy pocas en comparación con las que contienen los iones de metales de transición más predominantes como el hierro, el cobre y el zinc, sus funciones biológicas son realmente diversas. Las características esenciales del níquel que son fundamentales para su química, comprenden su actividad redox con los estados de oxidación +1 y +3 accesibles en condiciones apropiadas desde el estado más común +2, y su acidez de Lewis con predominio de los números de coordinación cinco y seis⁴⁴.

Durante la última década, se ha construido y estudiado un gran número de complejos de coordinación de Ni que imitan la estructura y/o función del sitio activo de enzimas, para dilucidar los detalles mecanicistas de las reacciones catalizadas por Ni en biología²⁸. Así mismo, los complejos de níquel se han descrito como modelos no solo para las enzimas de Ni sino también para otros sitios activos de metaloenzimas, para una comprensión más profunda de

las reactividades, como las activaciones de oxígeno y las estructuras electrónicas detalladas³. El papel de los compuestos de níquel(II) en la generación de hidrógeno y la evolución de oxígeno también está documentado⁷.

El entorno más común utilizado para apoyar la química redox de níquel en biología, involucra ligantes tiolato, debido a la ligadura cisteína azufre (Cys-S) que está presente en la mayoría de sitios activos que contienen níquel⁸.

1.3.1.1. Activación de oxígeno

La química de activación de dioxígeno por complejos metálicos es de gran importancia para comprender los mecanismos de reacción de las metaloproteínas activadoras de dioxígeno en sistemas biológicos y la utilización de complejos metálicos como catalizadores de oxidación⁴⁵.

Los intermedios de cobre y oxígeno juegan un papel central en los mecanismos de reducción y activación de O₂ por una amplia gama de enzimas oxigenasa y oxidasa. Como resultado, se ha realizado un gran esfuerzo para comprender las estructuras, las propiedades espectroscópicas y la reactividad de los complejos de cobre-oxígeno a través de enfoques tanto experimentales como teóricos, como se describe en una serie de revisiones exhaustivas publicadas en la última década. Los complejos de níquel también han sido estudiados para proporcionar comparaciones con los sistemas de cobre y comprender los procesos catalíticos⁴⁶. Algunos de estos complejos se prepararon con intención biomimética, mientras que otros se generaron únicamente con el propósito de desarrollar una nueva química de níquel dependiente de O₂⁴⁷.

El níquel no es la elección de la naturaleza para la activación de dioxígeno, dado que la activación de éste, mediada por metales, generalmente requiere el uso de iones metálicos reducidos y la química de Ni/O₂ es particularmente difícil porque acceder al níquel(I) a menudo es complicado, en contraste con el hierro(II) o el cobre(I)⁴⁸, sin embargo en los últimos años los complejos de níquel(II) han atraído atención como catalizadores para diferentes reacciones de oxidación⁴⁹.

Tras el trabajo pionero de Riordan y Brunold, el número de intermedios Ni_x/O₂ identificados espectroscópicamente ahora está creciendo rápidamente, y están surgiendo evidencias de la alta reactividad de los aductos de níquel-oxígeno de alta valencia o estado de oxidación⁴⁸. Varios complejos de níquel(II)-superoxo, níquel(III)-peroxo, níquel(II)-hidroperoxo y níquel(II)-acilperoxo y -alquilperoxo se han caracterizado estructuralmente y se ha estudiado su participación como catalizadores para la química de activación de dioxígeno⁴⁹.

Kimura y sus colegas⁵⁰ observaron la activación de dioxígeno por complejos de níquel con ligantes macrocíclicos de poliamina y estudiaron la oxidación del Ni(II) a Ni(III). Después de eso, por primera vez, Moro-oka y colaboradores sintetizaron un complejo dinuclear Ni(II)-bis-(μ -hidroxo) con ligantes sustituidos hidrotris-(pirazolil)-borato, por reacción con peróxido de

hidrógeno a baja temperatura. También, cristalizaron con éxito el complejo dinuclear Ni(III)-bis(μ -oxo) con el ligante hidrottris(pirazolilborato) sustituido con grupos metilo. Este complejo es altamente inestable a temperatura ambiente y puede oxidar el ligante mismo durante la descomposición del complejo^{51,52}. Suzuki et al. estudiaron la reacción intramolecular de hidroxilación de alcanos utilizando un complejo de Ni(II) con ligante Me₂-tpa (M₂-tpa= bis[(6-metil-2-piridil)metil][(2-piridil)metil] amina) y descubrieron que el complejo dinuclear de Ni(III) generado durante la reacción con H₂O₂ cataliza la hidroxilación del grupo metilo del ligante⁵³. Además, Riordan y sus colaboradores sintetizaron con éxito un complejo de Ni(I) utilizando un ligante tioéter y, tras la interacción con oxígeno molecular, se oxidó al complejo dinuclear Ni(III)-(oxo) caracterizado por estudios de marcado espectral e isotópico^{54,55}. El mismo grupo también sintetizó un complejo de Ni(I) con 1,4,8,11-tetrametil-1,4,8,11-tetraazadodecano (TMC) y estudió sus propiedades de activación de dioxígeno y la formación de especies de Ni(III)-OH espectroscópicamente^{56,57}. Igualmente aislaron el aducto final de níquel-superoxo usando el mismo ligante TMC⁵⁸. Recientemente en el 2018, un complejo bis(μ -oxo)diníquel(III) con un estado fundamental triplete, se ha caracterizado por diversas técnicas espectroscópicas y se ha demostrado que es un buen oxidante de sustratos orgánicos⁵⁹.

El objetivo final de diseñar y estudiar compuestos bioinspirados en la activación de oxígeno es desarrollar catalizadores que utilicen oxidantes benignos para el medio ambiente como H₂O₂ u O₂, porque la naturaleza lleva a cabo la mayoría de las reacciones de oxidación en reacciones biológicas utilizando solo oxígeno molecular. Esto ha resultado ser bastante desafiante ya que hasta ahora no se han identificado enzimas que contengan níquel para la activación de dioxígeno⁴⁹.

1.3.1.2. Reducción de protones

El aumento de la demanda de energía debido al crecimiento de la población y el desarrollo tecnológico plantea un desafío científico basado en la implementación de fuentes de energía renovables. El almacenamiento directo de energía en enlaces químicos con la producción de “combustibles químicos” representa un enfoque flexible para superar la falta de homogeneidad intrínseca de las fuentes naturales como la energía solar. La reacción química más simple que permite la interconversión directa entre energía externa y la energía química, está representada por la formación de una molécula de hidrógeno a través de la reducción de protones ($2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons H_2$).

En la naturaleza, las enzimas hidrogenasas utilizan metales abundantes en la tierra, como el níquel y el hierro, en el sitio activo para catalizar tanto la producción como la oxidación del hidrógeno. Sin embargo, la inestabilidad de la enzima fuera de su entorno natural limita su uso práctico⁶⁰, por tanto han sido sintetizados y caracterizados muchos análogos moleculares artificiales que pueden imitar las funciones naturales y producen hidrógeno a través de la reducción de protones en condiciones electroquímicas y fotoquímicas^{61,62}. Por otro lado,

aunque el platino y sus aleaciones son catalizadores excelentes para la producción electroquímica de hidrógeno, su baja abundancia y alto costo evitan la aplicación generalizada⁶³.

Recientemente, se han estudiado complejos metálicos de bajo costo y abundantes en la tierra como Co, Fe, Mo, Mn y Ni para la producción electrocatalítica de H₂. Entre todos los catalizadores homogéneos de evolución de hidrógeno informados anteriormente basados en metales de la primera serie de transición, los catalizadores basados en Ni han mostrado una actividad catalítica alta y han ganado mucha atención de los investigadores⁶³. Existen diversos informes sobre la producción de H₂ a partir de electrocatalizadores moleculares a base de níquel, incluidos diimina-dioxima⁶⁴, níquel N4-macrocíclo⁶⁵, ditioleno⁶⁶, piridindiimina⁶⁷ y complejos de tiolato^{68,69}. Inspirado por los estudios estructurales del sitio activo de los [FeFe]-H₂asas Dubois et al. diseñaron un electrocatalizador de níquel con ligantes difosfina que contienen aminas, logrando un TOF de 106000 s⁻¹ para la producción de H₂. Se cree que los ligantes como las aminas y los tiolatos, pueden funcionar como transportadores de protones biomiméticos, mientras que el centro de níquel actúa como un donador de hidruro en el estado de transición propuesto, acelerando sinérgicamente la reducción electrocatalítica de protones, al mismo tiempo que reduce la barrera de activación (sobrepotencial)^{70,71}.

Desde la elucidación de las estructuras de las hidrogenasas, se han realizado enormes progresos en la síntesis de modelos moleculares para imitar los sitios activos de [FeFe]-, [NiFe]- y [Fe]-hidrogenasas. Algunos modelos sintéticos reproducen sutilmente la mayoría de las características de coordinación de los centros metálicos en las enzimas naturales y proporcionan información sobre cómo funcionan las hidrogenasas. Sin embargo, pocos de los modelos moleculares muestran una función catalítica hacia la reducción de protones o la oxidación de dihidrógeno^{72,73}, porque la matriz de proteínas crea un ambiente supramolecular que difiere significativamente del ambiente de disoluciones homogéneas, donde se investigan los complejos moleculares. La consideración de esta diferencia del entorno de reacción conduce al diseño y preparación de complejos de metales de transición con énfasis en la capacidad catalítica de la reducción de protones en lugar de la semejanza estructural. Si bien ciertas características de estos complejos moleculares pueden estar inspiradas en las enzimas, la variedad de sus ligantes orgánicos tiene un alcance mucho más amplio que el que aparece en la esfera de coordinación de los sitios activos de las hidrogenasas⁷⁴, además una parte importante de la investigación sintética se ha centrado en sitios mononucleares de hierro o níquel⁷⁵.

2. PLANTEAMIENTO, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. Planteamiento del proyecto

El imidazol es una clase importante de heterociclo, es biológicamente relevante ya que puede imitar el residuo histidina y es el fragmento central de diferentes productos naturales y sistemas biológicos²⁵. El núcleo de bencimidazol (fusión de imidazol y benceno) es de gran interés debido a sus posibles aplicaciones en varias áreas biológicas y a su accesibilidad sintética, además de esto, los derivados de bis(bencimidazol) han atraído gran atención porque tienen una notable capacidad de coordinación⁷⁶. Complementariamente, se conoce que el entorno más común utilizado para apoyar la química redox de níquel en biología, involucra ligantes tiolato, debido a la ligadura cisteína azufre (Cys-S) presente en la mayoría de sitios activos que contienen níquel⁸, por lo anterior, en esta investigación se plantea la síntesis de complejos de coordinación de níquel, empleando ligantes mixtos bisbencimidazol-calcogenoéter, como potenciales análogos funcionales de la enzima [NiFe]-hidrogenasa, así mismo como potenciales activadores de oxígeno y agentes citotóxicos *in vitro* en células cancerígenas. Esto permitirá comparar los resultados obtenidos por nuestro grupo de investigación con los mismos ligantes en complejos de coordinación de cobre e investigar las posibles aplicaciones de dichos complejos de níquel.

2.2. Hipótesis

Las sustituciones en los ligantes bisbencimidazólicos modularán las propiedades electrónicas de los nuevos complejos de níquel y proveerán a cada uno diferentes reactividades al cambiar de metil a fenil sustituido, lo que permitirá su uso como electrocatalizadores activos en la reducción de protones, como compuestos activadores de especies de oxígeno y como agentes citotóxicos *in vitro* en células cancerígenas.

2.3. Objetivos

2.3.1. Objetivo general

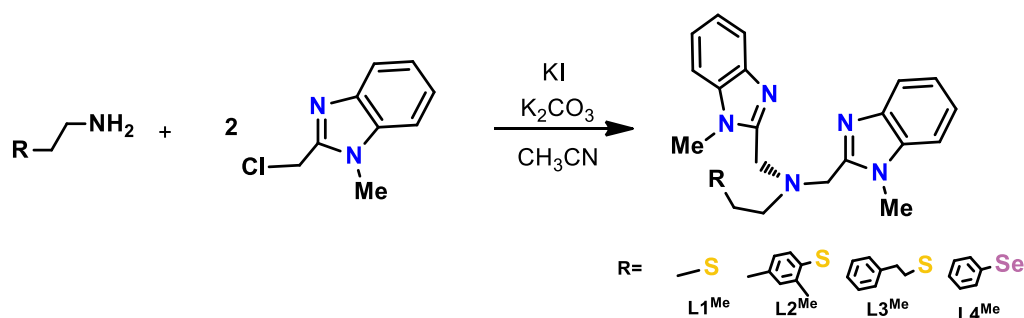
Sintetizar y caracterizar complejos de níquel con ligantes bisbencimidazólicos para determinar su utilidad en la reducción protones, en la activación de oxígeno molecular, así como agentes anticancerígenos *in vitro* como lo hacen sus análogos sintéticos y biológicos de cobre.

2.3.2. Objetivos específicos

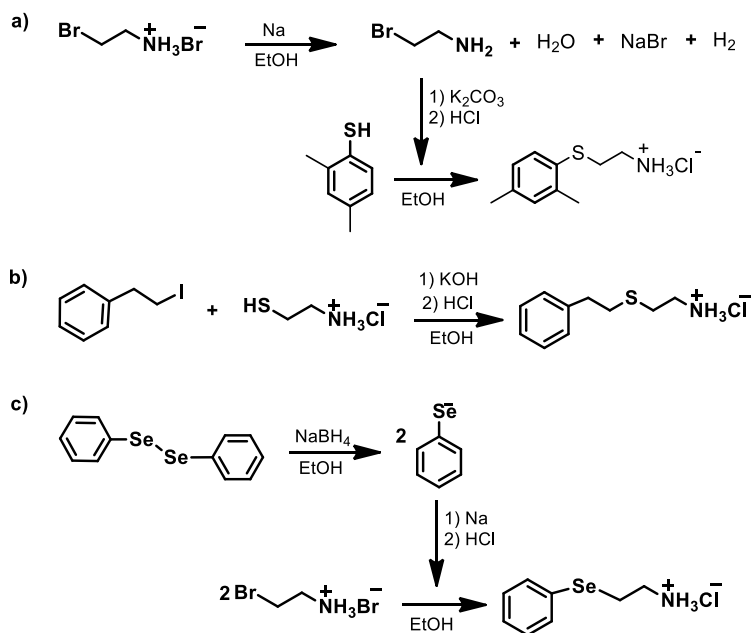
- Preparar y caracterizar ligantes bisbencimidazólicos.
- Sintetizar y caracterizar complejos de níquel con los ligantes obtenidos.
- Analizar el efecto de los ligantes en los complejos de níquel sobre sus propiedades electroquímicas por voltamperometría cíclica.
- Estudiar la capacidad electrocatalítica de los complejos para reducir protones.
- Estudiar la reactividad frente a oxígeno de los complejos de níquel obtenidos.
- Evaluar la actividad citotóxica de los complejos sintetizados.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La síntesis y caracterización de los ligantes (Esquema 1) fue anteriormente reportada por Sánchez-Eguía⁷⁷, como ligantes tripodales inspirados en el sitio activo de algunas monooxigenasas dependientes de Cu. Inicialmente se sintetizaron las aminas correspondientes (Esquema 2), excepto 2-metiltioetilamina usada para el L1^{Me} ya que es comercial, para la posterior incorporación de los grupos bencimidazoilo.



Esquema 1. Síntesis general y estructura de los ligantes

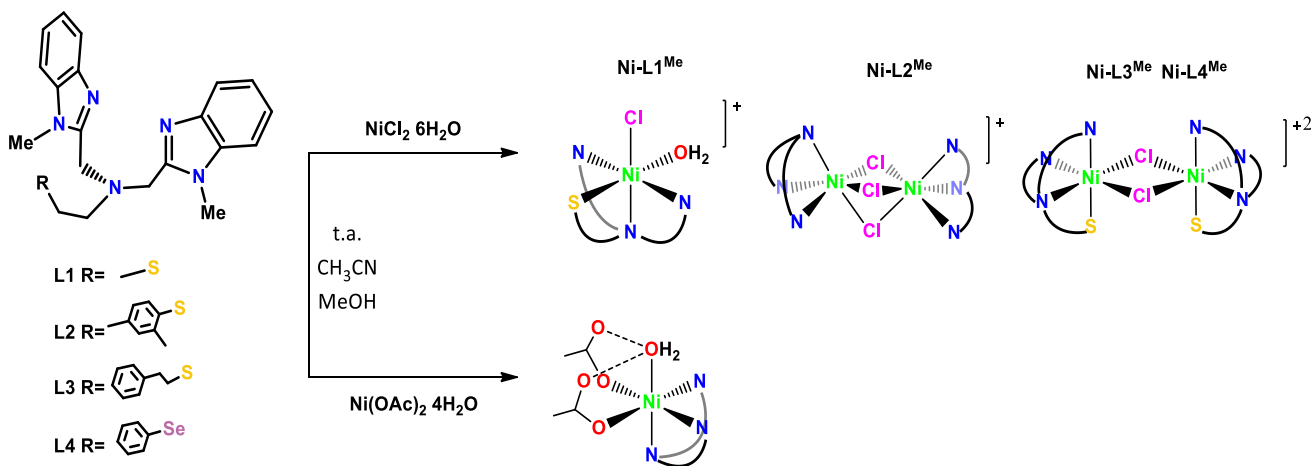


Esquema 2. Síntesis de aminas, a) ASAr, b) ASPH y c) ASe

En este trabajo se desarrollaron complejos de níquel con dichos ligantes, con el fin de estudiar sus propiedades y comparar algunas de estas con los análogos sintéticos y biológicos de cobre.

3.1. Síntesis y caracterización de complejos de níquel

Los complejos de níquel(II) se sintetizaron utilizando dos sales, $[\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ y $[\text{Ni}(\text{OAc})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ en cantidades estequiométricas, con los cuatro ligantes mencionados anteriormente. El método general consistió en adicionar a una solución metanólica de la sal de níquel, el ligante disuelto en acetonitrilo, manteniéndose la mezcla de reacción en agitación a temperatura ambiente por aproximadamente 3 horas (Esquema 3), posteriormente los complejos se aislaron por cristalización, mediante evaporación lenta de solvente y posterior lavado con éter. Todos los complejos sintetizados se caracterizaron mediante técnicas analíticas convencionales (IR, UV-vis, MS, AE, pF, difracción de rayos X).



Esquema 3. Reacción general para la síntesis de complejos de níquel(II)

3.1.1. Complejos con cloruro de níquel

Los complejos de níquel (II) mostrados en la Figura 11, se obtuvieron mezclando los ligantes con cloruro de níquel hexahidratado $[\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ en $\text{CH}_3\text{CN}/\text{MeOH}$. Sus estructuras fueron confirmadas mediante difracción de rayos X y caracterizados por técnicas analíticas y espectroscópicas, sus principales propiedades se reportan en la Tabla 1. Al ser complejos paramagnéticos no presentaron señales en los espectros de RMN y al igual que otros complejos de Ni(II) reportados⁷⁸, al poseer espín total entero ($S=1$), fueron silenciosos en resonancia paramagnética electrónica.

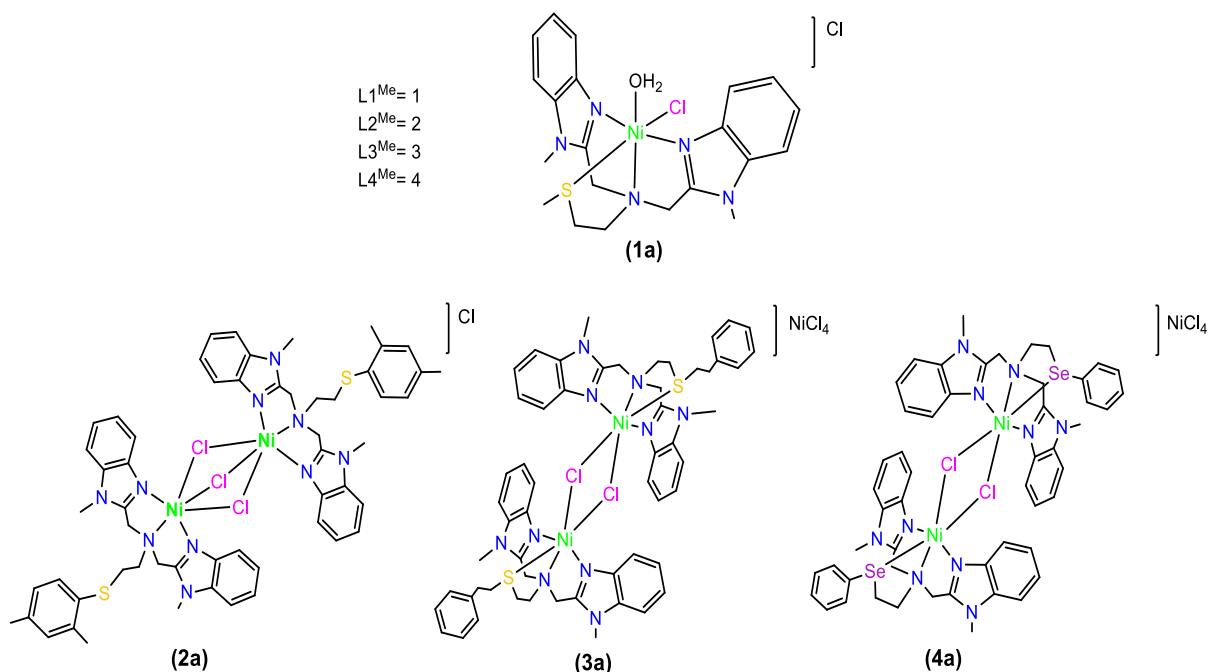


Figura 11. Complejos de níquel(II) sintetizados con cloruro de níquel

Tabla 1. Propiedades de los complejos sintetizados

	Color	Fórmula	Rend. (%)	p.f. ^a (°C)	Análisis elemental			
					Exp. (Calc.) ^b			
					N	C	H	S
1a	Verde azulado	$[\text{Ni}(\text{L1}^{Me})(\text{H}_2\text{O})(\text{Cl})]\text{Cl}$	68	280	10.28 (10.08)	39.92 (39.75)	4.31 (4.21)	4.74 (4.61)
2a	Verde claro	$[\text{Ni}_2(\text{L2}^{Me})_2(\mu\text{-Cl})_3]\text{Cl}$	20 ^c	300	11.19 (11.18)	53.59 (53.70)	5.33 (5.47)	4.88 (5.12)
3a	Verde azulado	$[\text{Ni}_2(\text{L3}^{Me})_2(\mu\text{-Cl})_2][\text{NiCl}_4]$	18 ^c	210	10.24 (10.00)	48.01 (48.04)	5.08 (5.04)	4.28 (4.58)
4a	Verde azulado	$[\text{Ni}_2(\text{L4}^{Me})_2(\mu\text{-Cl})_2][\text{NiCl}_4]$	18 ^c	230	8.12 (8.23)	39.63 (39.53)	3.54 (3.44)	--

^a Descomposición

^b Formula ajustada con disolventes

^c Basado en la sal NiCl_2

En disolución todos los complejos se comportan como especies mononucleares, en los cuales el ligante (L) permanece unido al Ni(II), pero se rompen los puentes cloruro. Esto pudo observarse de acuerdo a los resultados obtenidos mediante espectrometría de masas, como se muestra en la Figura 12, en donde para todos los complejos se observa como ion molecular la especie $[\text{Ni}(\text{L})(\text{Cl})]^+$, y concuerdan con los patrones isotópicos calculados para cada señal de m/z.

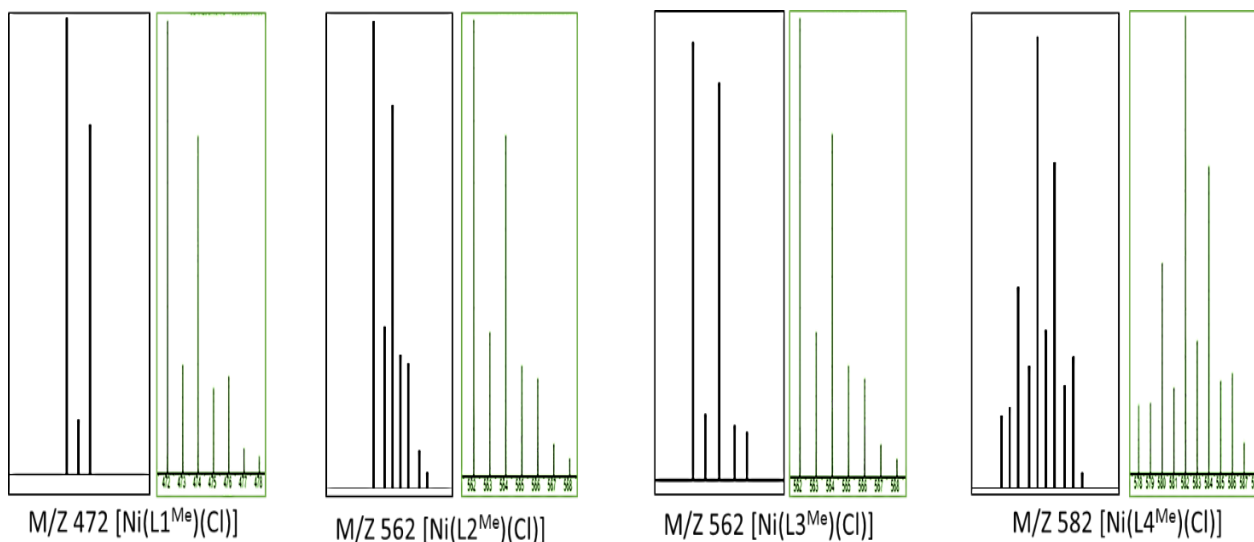


Figura 12. Distribución isotópica (negro) experimental y (verde) calculado, de los iones moleculares de los complejos **1a**, **2a**, **3a** y **4a** respectivamente, obtenidos en MS-FAB⁺

Además se realizó un experimento de osmometría por difusión de vapor, como se observa en la Figura 13, con el fin de corroborar lo mencionado anteriormente. Este se basa en el principio de osmometría, en el cual los disolventes tienen la tendencia a difundirse desde zonas de menor concentración hacia zonas de mayor concentración de soluto, en este caso la difusión se lleva a cabo mediante fase de vapor. Si las concentraciones son iguales no se espera variación del volumen final.

Se utilizaron volúmenes iguales de disoluciones en acetonitrilo del complejo (1 mM, monómero) y de referencia (ferroceno 1 mM), al transcurrir 20 días de contacto entre las fases de vapor de las disoluciones, no se observó variación en el volumen final, lo cual indica que ambas se encontraban a la misma concentración, por tanto se confirma que los complejos se comportan como monómeros en disolución.



Figura 13. Experimento de osmometría por difusión de vapor

Mediante difracción de rayos X se confirmó que en estado sólido, los complejos obtenidos con todos los ligantes presentan el Ni(II) en geometría octaédrica ligeramente distorsionada, y a excepción del complejo **1a**, todos son dímeros con puentes cloruro entre los dos metales. Las estructuras moleculares de los compuestos **1a** y **2a**, se muestran en la Figura 14 y Figura 15 respectivamente, y para los compuestos **3a** y **4a** se muestran en la Figura 16, las distancias de

enlace seleccionadas se resumen en la Tabla 2. Los datos cristalográficos se presentan en la Tabla A1 (ver anexos).

El complejo **1a** presenta en estado sólido una geometría octaédrica distorsionada alrededor del Ni²⁺ (Figura 14), con el átomo de N de la amina central en posición axial y los átomos de nitrógeno de los bencimidazoles y el S en posiciones ecuatoriales, una molécula de agua y un cloruro completan la esfera de coordinación.

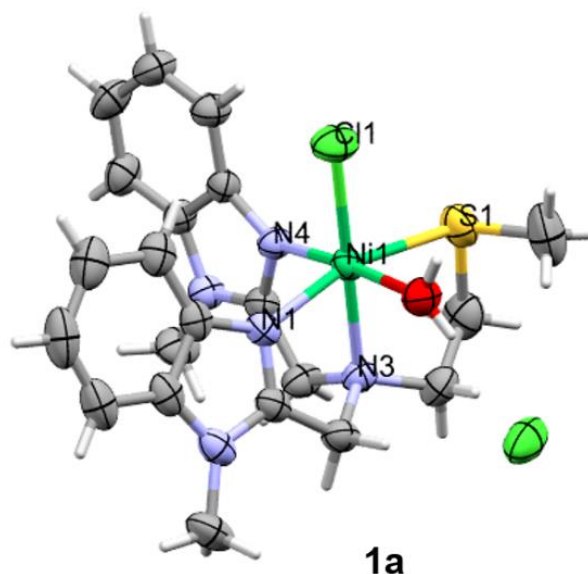


Figura 14. Diagrama Mercury del complejo **1a** al 50 % de probabilidad. Las moléculas de disolvente son omitidos por claridad

Las estructuras en estado sólido de los complejos **2a**, **3a** y **4a** revelan especies dimericas, en donde el Ni en cada entidad molecular se encuentra, para el compuesto **2a**, coordinado por tres nitrógenos del ligante mientras que el brazo con S no se coordina al centro metálico, y en los compuestos **3a** y **4a** tetracoordinado con tres nitrógenos y el átomo de azufre del grupo tioéter (**3a**) o el átomo de Se (**4a**). En ambos casos la amina central se encuentra en posición axial junto con un nitrógeno bencimidazólico y los dos puentes cloruro, mientras el calcógeno y el nitrógeno del otro bencimidazol se encuentran en posición ecuatorial. Como se observa, el complejo con el ligante L2^{Me} presenta tres átomos de cloro puente y una distancia Ni-Ni de 3.0818 Å, mientras que los compuestos con los ligantes L3^{Me} y L4^{Me} presentan dos cloros puente y distancia Ni-Ni 3.4470 y 3.480 Å respectivamente.

En el compuesto **2a** los tres nitrógenos coordinados en cada átomo de níquel se encuentran en posiciones *trans* a un cloro puente, con la distancia Ni-N_{amina} 0.164 y 0.193 Å más larga que cada uno de los enlaces Ni-N_{Bnz}. Para los compuestos **3a** y **4a** que solo presentan dos átomos

de cloro puente, el enlace Ni-N_{amina} al igual que en el compuesto **2a** es más largo que los correspondientes enlaces Ni-N_{Bnz} y entre estos enlaces (Ni-N_{Bnz}) el *trans* a los cloruros puente es el de mayor longitud posiblemente atribuido a efecto *trans* debilitante.

Pueden encontrarse en la literatura pocos ejemplos de complejos de níquel(II) que incorporen ligantes tripodales con estructuras bencimidazólicas, y es aún más escaso este tipo de ligantes con compuestos dimericos, sin embargo W. Lee y colaboradores⁷⁹ sintetizaron y caracterizaron una serie de complejos dimericos y monomericos de níquel soportados con un ligante tripodal *bis*(1metilbencimidazolil-2-metil)amina (L) o *bis*(1metilbencimidazolil-2-metil)-10-alcanforsulfonamida (L'). El complejo dimerico [LNiCl(μ -Cl)]₂·4CH₃OH, posee un entorno octaédrico compuesto por el ligante tridentado y dos cloruros puente y uno terminal, la estructura de rayos X muestra que longitud de enlace de Ni-N_{amina} es 0.113 Å más largo que los de Ni-N_{Bnz}, al igual que los valores obtenidos para los compuestos **2a** – **4a**, además estos valores se encuentran dentro del mismo rango.

Por otro lado al comparar el enlace Ni-Cl terminal del compuesto **1a** con los enlaces Ni-Cl puente de los dímeros, se observa que en todos los casos es más corto el enlace terminal, que el enlace puente Ni-Cl, como se esperaba.

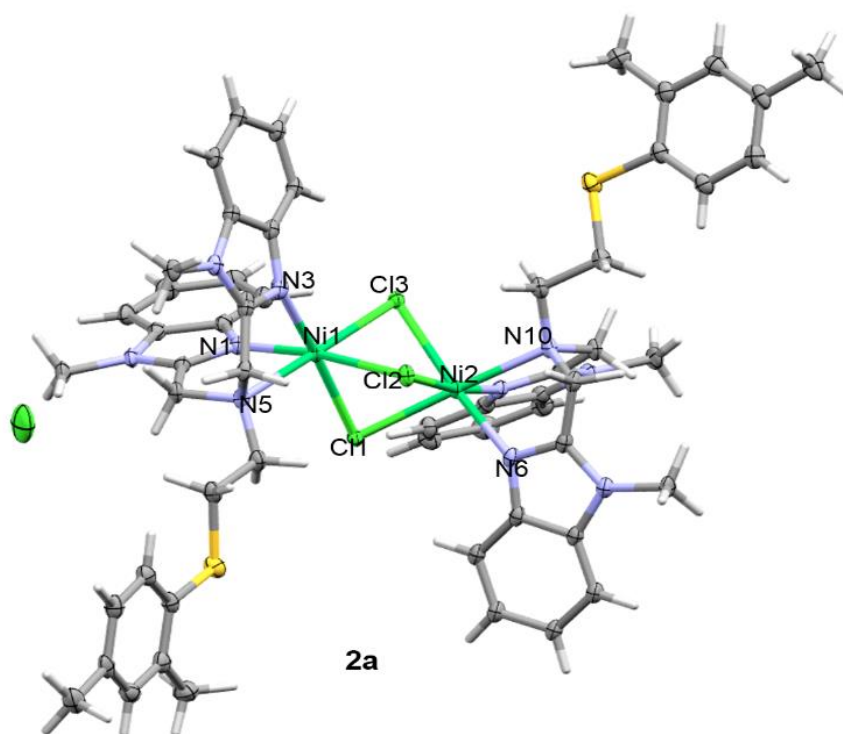


Figura 15. Diagrama Mercury del complejo **2a** al 50 % de probabilidad. Las moléculas de disolvente son omitidas por claridad

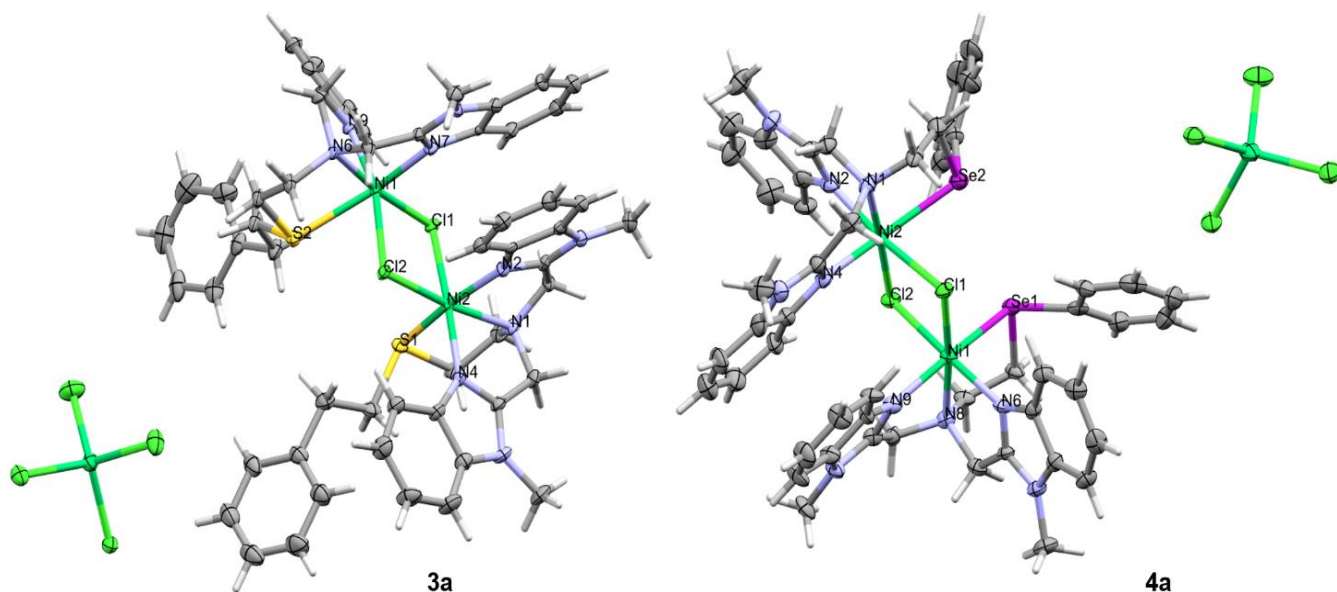


Figura 16. Diagrama Mercury de los complejos **3a** y **4a** al 50 % de probabilidad. Las moléculas de disolvente son omitidas por claridad

Tabla 2. Distancias de enlace seleccionadas (Å) para los complejos **1a** - **4a** en estado sólido

1a		2a	
Ni1-Cl1	2.358(1)	Ni1-N1(Bnz)	2.019(2)
Ni-N1(Bnz)	2.062(3)	Ni-N3(Bnz)	2.047(5)
Ni-N4(Bnz)	2.048(2)	Ni1-N5(Amina)	2.212(2)
Ni-N3(Amina)	2.201(2)	Ni1-Cl1	2.489
Ni1-S1	2.490(1)	Ni1-Cl2	2.400(6)
		Ni1-Cl3	2.460(6)
		Ni2-N6(Bnz)	2.019(2)
		Ni2-N8(Bnz)	2.049(8)
		Ni2-N10(Amina)	2.212(2)
		N2-Cl1	2.489
		Ni2-Cl2	2.480(6)
		Ni2-Cl3	2.400(6)
3a		4a	
Ni1-N9(Bnz)	2.015(4)	Ni1-N6(Bnz)	2.042(5)
Ni1-N7(Bnz)	2.059(4)	Ni1-N9(Bnz)	2.039(6)
Ni1-N6(Amina)	2.160(4)	Ni1-N8(Amina)	2.162(6)
Ni1-S2	2.560(1)	Ni1-Se1	2.589(1)
Ni1-Cl1	2.372(1)	Ni1-Cl1	2.359(2)
Ni1-Cl2	2.439(1)	Ni1-Cl2	2.487(2)
Ni2-N4(Bnz)	2.018(4)	Ni2-N4(Bnz)	2.016(6)
Ni2-N2(Bnz)	2.050(4)	Ni2-N2(Bnz)	2.055(5)
Ni2-N1(Amina)	2.146(4)	Ni2-N1(Amina)	2.170(5)
Ni2-S1	2.475(1)	Ni2-Se2	2.555(1)
Ni2-Cl1	2.479(1)	Ni2-Cl1	2.504(2)
Ni2-Cl2	2.360(1)	Ni2-Cl2	2.373(2)

3.1.1.1. Propiedades electrónicas, magnéticas y electroquímicas de los complejos

Los complejos de níquel **1a**, **2a**, **3a** y **4a** son solubles en disolventes polares y escasamente solubles en disolvente poco polares como diclorometano. Los espectros UV-vis de **1a-4a** en acetonitrilo y metanol se presentan en la Figura 17, y los parámetros de absorción electrónica relevantes están resumidos en la Tabla 3. Los cuatro complejos tienen espectros similares en ambos disolventes, siendo el mayor cambio la intensidad de las señales, presentando en metanol absorptividades menores. Todos los complejos muestran bandas pronunciadas debajo de los 290 nm debidas a la transferencia de carga intraligante, esto se comprobó indirectamente comparando los espectros con los de los ligantes correspondientes.

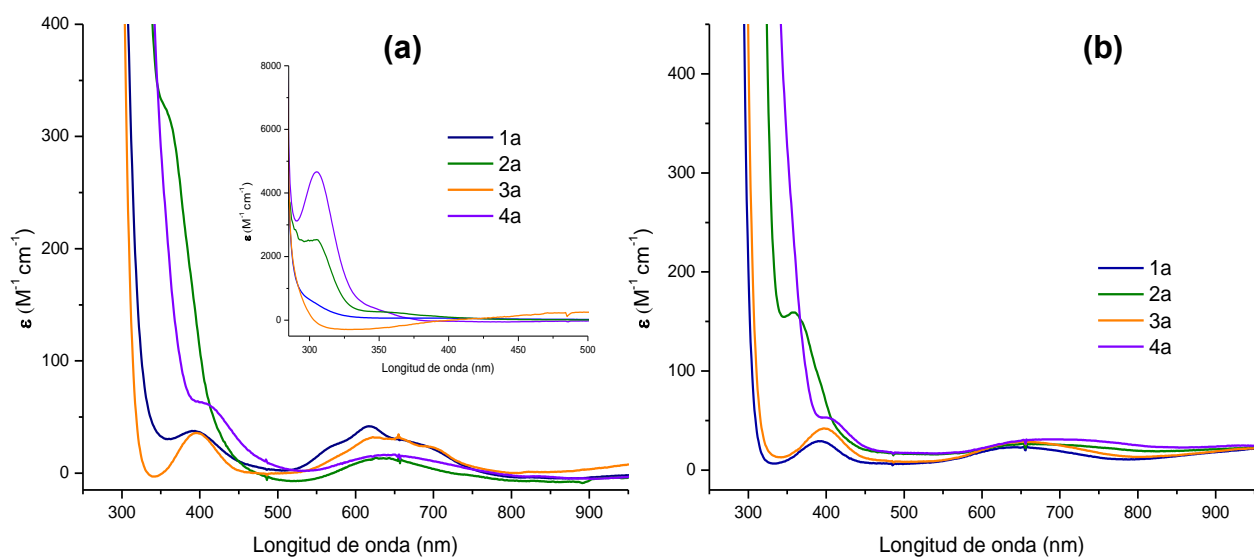


Figura 17. Espectros UV-Vis de los complejos **1a**, **2a**, **3a** y **4a** [1 mM], t.a. en a) acetonitrilo (ampliación [0.3 mM] y b) metanol

Las bandas presentes en los espectros UV-vis de los complejos, asignadas como transferencia de carga (LMCT), que expresan la transferencia de carga entre el centro metálico y los átomos de coordinación Y (Y= S o Se), $Yp\sigma \rightarrow Ni$ y $Yp\pi \rightarrow Ni$, se observan ~ 300 y ~ 400 nm respectivamente, para los complejos **2a** y **4a**. Para los complejos **1a** y **3a**, solo se observa la correspondiente a $Yp\pi \rightarrow Ni$. En los complejos **2a** y **4a**, estas señales son intensas, lo que refleja un alto grado de deslocalización electrónica entre los orbitales metálicos y los donadores de tioéter o selenoéter respectivamente, que puede estar directamente relacionado con un alto grado de covalencia de los enlaces M-S o M-Se⁸⁰. Cabe mencionar que aunque en estado sólido el complejo **2a** no tiene coordinado el azufre del brazo tioeter, en solución si se encuentra coordinado, como se evidencio en las bandas de absorción en el UV-vis atribuidas a las trasferencias entre el Ni y el S.

La señal amplia que abarca de 500 nm a 800 nm, es asignada a transiciones d–d débiles ($\epsilon < 100$), lo cual es típico para complejos de Ni(II) hexacoordinados^{81,82}. Así mismo, se han informado espectros de absorción UV-Visible similares para varios complejos de Ni(II) hexacoordinados⁸³ y con ligantes bencimidazolicos⁷⁹. La banda d–d que para el complejo **1a** se encuentra en 615 nm, se desplaza hacia el rojo en los demás complejos, los cuales presentan un sustituyente en la amina de mayor volumen como lo son los grupos fenilo, lo cual puede atribuirse a una mayor capacidad de donación de electrones por parte de estos complejos (**2a**, **3a** y **4a**)⁸⁴.

Tabla 3. Parámetros de absorción electrónica y magnéticos de los complejos **1a-4a**

Compuesto	Parámetros de absorción electrónica $\lambda(\text{nm}), [\epsilon(\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1})]$			Parámetros magnéticos	
	Acetonitrilo	Metanol		μ_{eff} (B.M.)	χ_A (emu mol ⁻¹)
1a	394 [42]	392[30]	$S_{p\pi} \rightarrow \text{Ni}$	3.04	3.91×10^{-3}
	615 [45]	647 [23]	d–d		
2a	303 [2550]		$S_{p\sigma} \rightarrow \text{Ni}$	4.19	7.42×10^{-3}
	359 [317]	359 [200]	$S_{p\pi} \rightarrow \text{Ni}$		
	635 [14]	670 [26]	d–d		
3a	395 [36]	397 [42]	$S_{p\pi} \rightarrow \text{Ni}$	4.52	8.65×10^{-3}
	636 [32]	652 [29]	d–d		
4a	304 [4679]		$S_{e\sigma} \rightarrow \text{Ni}$	4.75	9.56×10^{-3}
	414 [62]	404 [53]	$S_{e\pi} \rightarrow \text{Ni}$		
	651 [19]	693 [31]	d–d		

Las mediciones de susceptibilidad magnética en estado sólido se realizaron en los complejos **1a-4a** a temperatura ambiente; los valores para el momento magnético efectivo y la susceptibilidad magnética se presentan en la Tabla 3, los datos se corrigieron para el diamagnetismo subyacente mediante el uso de las constantes tabuladas de Pascal⁸⁵. Para los cuatro compuestos, el valor positivo de χ_A sugiere que los complejos de níquel, como se espera, son paramagnéticos⁸⁵. El valor de μ_{eff} de 3.04 para el compuesto **1a**, se encuentra dentro del rango esperado (2.9 – 3.3 B.M.) para una configuración de alto espín y muestran la presencia de Ni(II) en un entorno octaédrico con 2 electrones desapareados ($S=1$)^{82,86,87}. Así mismo, aunque los valores de 4.19, 4.52 y 4.75 para los demás compuestos, se encuentran cerca del valor esperado para 4 electrones desapareados (4.9), el hecho de que sean menores indica, como ya se ha reportado para complejos dinucleares de Ni(II), que se presenta acoplamiento antiferromagnético débil entre los dos iones metálicos paramagnéticos⁸⁸.

El comportamiento electroquímico de los ligantes y los complejos de níquel correspondientes (**1a – 4a**), se estudió a temperatura ambiente utilizando soluciones de CH₃CN con Bu₄NPF₆ 0.1 M como electrolito soporte y un electrodo de trabajo de carbono vítreo, bajo atmósfera inerte

de nitrógeno o argón. Las concentraciones de los compuestos fueron 10^{-3} M. Los potenciales se referenciaron respecto al par ferricinio/ferroceno (Fc^+/Fc).

Los estudios electroquímicos de los ligantes (Figura 18) muestran procesos de oxidación en el rango de 0.3 a 1.2 V (Tabla 4), atribuidos a oxidaciones irreversibles posiblemente centradas en el átomo de azufre o selenio. Entre -2.5 y 0.0 V no se observan procesos, por tanto las ondas electroquímicas observadas en este rango de potencial en los voltamperogramas cíclicos de los complejos (Figura 19) se pueden asignar a procesos que involucran el metal.

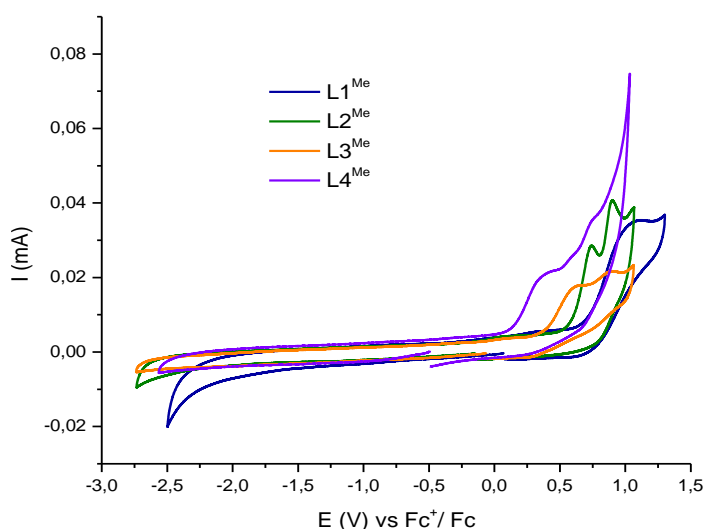


Tabla 4. Potenciales de oxidación de los ligantes en CH_3CN

L1^{Me}	L2^{Me}	L3^{Me}	L4^{Me}
1.10	0.73	0.65	0.39
	0.89	0.86	0.56
			0.74

Figura 18. Voltamperograma cíclico de los ligantes [1 mM] en CH_3CN . Velocidad de barrido 100 mV s^{-1}

Figura 19. Voltamperogramas cíclicos de los complejos **1a** – **4a** [1 mM] t.a. en CH_3CN . Velocidad de barrido 100 mV s^{-1}

Tabla 5. Potenciales redox para los complejos de níquel(II) [1 mM] t.a. en CH₃CN, E_p (V)

	Compuesto				Asignación
	1a	2a	3a	4a	
I _C	-1.680	-1.458	-1.603	-1.532	Ni(II) → Ni(I)
I _A	--	-1.315	--	-1.413	Ni(I) → Ni(II)
II _A	-0.267	--	-0.508	-0.443	Ni(I) → Ni(II)/Ni(0) depositado
III _A	0.799	0.837	0.813	0.684	Ligante

Los datos electroquímicos de los complejos se reportan en la Tabla 5. En la dirección de exploración (catódica), se observa para todos los complejos un proceso de reducción (I_C) atribuido a Ni(II)/Ni(I), al regresar hacia potenciales mayores, se observa la señal (I_A) únicamente en los complejos **2a** y **4a** la cual es asignada a la oxidación Ni(I)/Ni(II). Para el complejo **2a** el potencial de media onda (E_{1/2}) para el par redox (I_C/I_A) es de -1.39 V y con una separación de pico a pico (ΔE = E_{p,ox} – E_{p,red}) de 140 mV. Vale la pena mencionar aquí que, en condiciones experimentales idénticas, ΔE observado para la pareja ferricino/ferroceno es de 80 mV, igualmente la naturaleza de un electrón de esta reducción se ha establecido comparando su corriente con esta pareja estándar.

Siguiendo a potenciales mayores entre -0.4 y -0.3 V, aparecen las señales II_A, la cual es la primera oxidación para los complejos **1a** y **3a**, la segunda para el compuesto **4a** y no aparece para el complejo **2a**. Ésta puede atribuirse a una onda de oxidación de una especie de Ni(I) con un gran cambio estructural (geometría) o debido a una especie de Ni que se sometió a un proceso electroquímico-químico⁸⁹. Por otro lado, esta onda (II_A) se ha reportado para complejos de Ni(II) como consecuencia de disolución anódica de Ni(0) depositado⁹⁰.

Finalmente todos los complejos presentan la onda de oxidación III_A en potenciales entre 0.6-0.9 V la cual está igualmente presente en los ligantes, por tanto no se puede asegurar que son debidas al par redox Ni(III)/Ni(II) habitualmente observados en estos potenciales⁹¹, sin embargo el hecho de ser diferentes en cuanto a número y forma respecto al ligante libre indica que el metal influye en este proceso.

En este estudio se observó que los potenciales de reducción para el par Ni(II/I) de los complejos, son sensibles al efecto electrónico del grupo R incorporado en el tioeter en el ligante coordinado. Estos potenciales cambian catódicamente al pasar del complejo **2a** con sustituyente metil-arilo, a los complejos **4a** y **3a** con arilo y el complejo **1a** con sustituyente metil. Como el sustituyente R en el ligando varía, la densidad de electrones en el ión níquel aumenta, lo que aumenta la dificultad para reducir el centro del metalico⁹².

Es importante enfatizar que en la mayoría de los informes relacionados con complejos diméricos de Ni(II), no se observa la reducción electroquímica a las especies de Ni(I) correspondientes, y solo en un en algunos casos, esto se ha informado como un proceso

irreversible en potenciales más negativos⁸⁰, por lo cual se corrobora que los complejos se comportan como monómeros en disolución, como ya se había mencionado anteriormente.

3.1.2. Complejos con acetato de níquel

Se hizo reaccionar la sal de acetato de níquel $[\text{Ni}(\text{OAc})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ con el ligante correspondiente, para obtener los complejos mostrados en la Figura 20. Fueron confirmados mediante difracción de rayos X y caracterizados por técnicas analíticas y espectroscópicas, sus principales propiedades se reportan en la Tabla 6. En el caso del complejo con el ligante L2^{Me} , la síntesis y caracterización no fue satisfactoria, por tanto los datos no se reportan aquí.

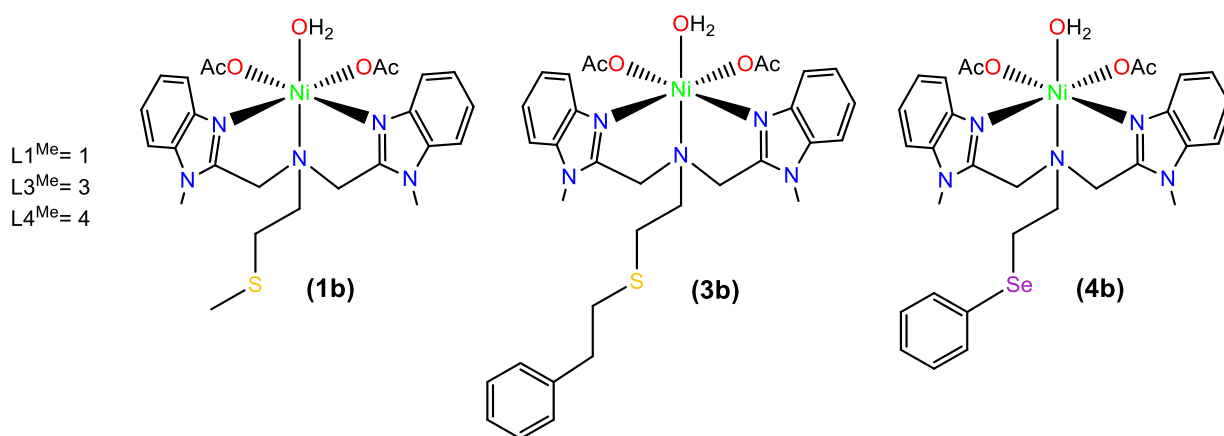


Figura 20. Complejos de níquel(II) sintetizados con acetato de níquel

Tabla 6. Propiedades de los complejos **1b**, **3b** y **4b**

	Color	Fórmula	Rend. (%)	p.f. ^a (°C)	Análisis elemental			
					N	C	H	S
1b	Azul claro	$[\text{Ni}(\text{L1}^{\text{Me}})(\text{OAc})_2(\text{H}_2\text{O})]$	59	200	12.57 (12.19)	52.13 (52.28)	5.80 (5.79)	5.25 (5.58)
3b	Verde claro	$[\text{Ni}(\text{L3}^{\text{Me}})(\text{OAc})_2(\text{H}_2\text{O})]$	50	195	9.94 (10.72)	50.48 (49.91)	4.87 (5.18)	4.70 (3.71)
4b	Azul claro	$[\text{Ni}(\text{L4}^{\text{Me}})(\text{OAc})_2(\text{H}_2\text{O})]$	70	205	9.97 (10.25)	52.27 (52.73)	5.08 (5.16)	--

^a Descomposición

^b Fórmula ajustada con disolventes

Se obtuvieron cristales adecuados para análisis por difracción de rayos X de los complejos **1b**, **3b** y **4b**. Las estructuras en estado sólido (Figura 21), revelan en todos los casos, una especie mononuclear neutra, en donde el Ni se encuentra en geometría octaédrica, coordinado al

ligante mediante tres nitrógenos, el de la amina central y el de los bencimidazoles, a dos moléculas de acetato y una de agua, las cuales presentan entre ellas interacciones electrostáticas tipo enlace de hidrógeno. En todos los casos el calcógeno no se coordina al níquel posiblemente debido a la fuerza del enlace Ni-OAc. Las distancias de enlace seleccionados se muestran en la Tabla 7, los datos cristalográficos se reportan en anexos (Tabla A2).

Tabla 7. Distancias de enlace seleccionadas (Å) para los complejos **1b**, **3b** y **4b** en estado solido

1b		3b		4b	
Ni-N1(Bnz)	2.061(2)	Ni-N1(Bnz)	2.051(3)	Ni-N5(Bnz)	2.050(1)
Ni-N3(Bnz)	2.048(2)	Ni-N4(Bnz)	2.053(3)	Ni-N3(Bnz)	2.059(1)
Ni-N5(Amina)	2.222(2)	Ni-N3(Amina)	2.243(2)	Ni-N1(Amina)	2.222(1)
Ni-O1(H ₂ O)	2.079(2)	Ni-O5(H ₂ O)	2.083(2)	Ni-O5(H ₂ O)	2.091(1)
Ni-O2 (OAc)	2.070(2)	Ni-O3 (OAc)	2.083(3)	Ni-O1 (OAc)	2.063(1)
Ni-O4 (OAc)	2.063(2)	Ni-O1 (OAc)	2.051(3)	Ni-O3 (OAc)	2.071(1)

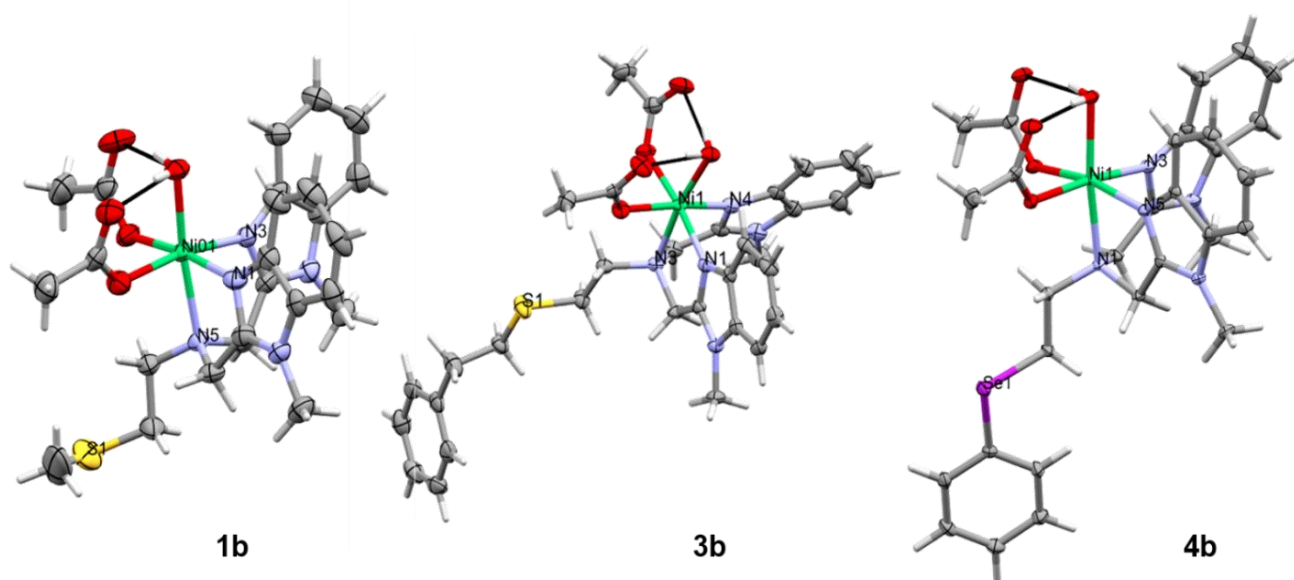


Figura 21. Diagrama Mercury de los complejos **1b**, **3b** y **4b** al 50 % de probabilidad.

En todos los complejos, el nitrógeno de la amina se encuentra en posición axial y los dos nitrógenos bencimidazólicos en posición ecuatorial junto con los aniones acetato. Las longitudes de enlace Ni-O_(acetato) se encuentran en el mismo rango reportado para el enlace Ni-O_(acetato) en complejos de níquel con ligantes acetato monodentados⁹³. De igual forma al comparar la longitud de los enlaces Ni-N_{Bnz} y Ni-N_{amina} con los complejos de la serie **a**, se obtienen valores similares.

Los espectros electrónicos de **1b**, **3b** y **4b** en metanol se presentan en la Figura 22, y los parámetros de absorción electrónica relevantes están resumidos en la Tabla 8. Los complejos no muestran bandas LMCT de metal/ligante, pero se observan tres bandas atribuidas a transiciones d-d de baja intensidad en ~380 nm ($\epsilon \sim 30 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), ~650 nm ($\epsilon \sim 10 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y ~950 nm ($\epsilon \sim 10 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) para los complejos **1b** y **3b**, mientras que para el complejo **4b** solo se observan las últimas dos. Estas bandas están en la escala habitual de complejos octaédricos de níquel (II) reportados en la literatura⁹⁴.

Es importante resaltar en este punto, como se mencionó anteriormente, que en los complejos **1b**, **3b** y **4b** el calcógeno no se encuentra coordinado, por lo cual no se observan las bandas de transferencia de carga LMCT que si se presentan en los complejos **1a-4a**, lo cual reconfirma que en dichos complejos estas bandas son debidas al enlace M-S o M-Se.

Tabla 8. Parámetros de absorción electrónica de los compuestos **1b**, **3b** y **4b**

Compuesto	$\lambda(\text{nm}), [\epsilon(\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-1})]$
	Metanol
1b	379[25]
	596 [10]
	970[9]
3b	396 [35]
	657 [16]
	985 [13]
4b	643 [7]
	986[5]

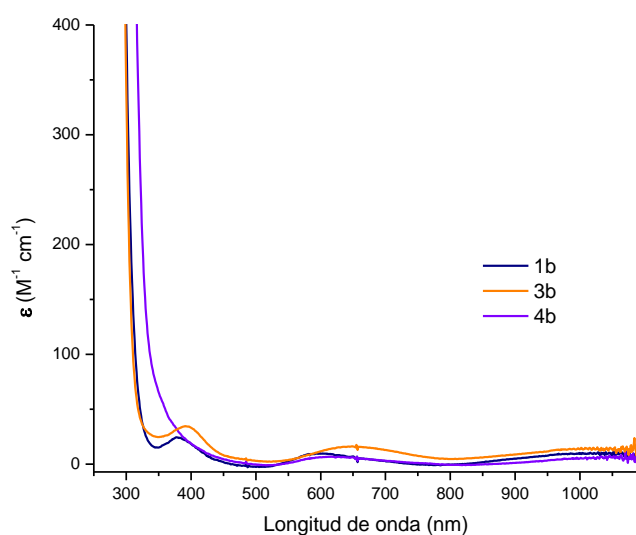


Figura 22. Espectros UV-Vis de los complejos **1b**, **3b** y **4b** [1 mM] t.a. en metanol

3.2. Reactividad

Las enzimas de níquel descritas hasta el momento tienen funciones biológicas realmente diversas, donde el ambiente de níquel en cada una es diferente. Sin embargo, se cree que los centros de Ni dentro de los sitios activos de todas estas enzimas están íntimamente involucrados en sus ciclos catalíticos, así mismo sus ligantes ricos en tiolato⁹⁵, por tanto los complejos de níquel con ligantes bisbencimidazólicos desarrollados en este trabajo se estudiaron como catalizadores en la evolución de hidrógeno, como agentes activadores de especies de oxígeno, y como agentes citotóxicos en líneas celulares cancerígenas. Debido a la baja solubilidad de los complejos sintetizados con acetato (**1b-4b**), lo que limitó la realización de algunos experimentos, todos los estudios de reactividad se realizaron con la serie de complejos **1a-4a**.

3.2.1. Reducción electrocatalítica de protones

Actualmente la técnica electroanalítica mejor establecida para investigar la reacción de evolución de hidrógeno es la voltamperometría cíclica⁷⁴, por tanto la actividad catalítica de los complejos **1a-4a** se evaluó mediante esta técnica en soluciones de acetonitrilo, en presencia de diferentes cantidades de ácido trifluoroacético (ATF) como fuente de protones⁶¹.

La actividad catalítica se indica mediante un cambio en el pico para la reducción del catalizador cuando la fuente de protones está presente, estos cambios incluyen un crecimiento en la altura del pico de reducción y, a veces, un pequeño cambio positivo en su posición⁹⁶. En la Figura 23 se presentan los voltamperogramas de los complejos al adicionar diferentes equivalentes de ATF, y se observa que la adición de ácido en la disolución que contiene cada complejo, fue seguida por la aparición de una onda a potenciales cercanos al proceso Ni(II)/Ni(I), estudiado anteriormente para cada compuesto. Esta respuesta electroquímica se puede atribuir a la reducción de protones electrocatalítica, y sugiere que la catálisis está relacionada con el par redox Ni(II)/Ni(I)⁶¹.

La aparición de un pico es indicativo de un proceso molecular homogéneo, donde hay competencia entre la difusión del sustrato al electrodo y su consumo en el electrodo⁹⁷. Mediante experimentos de control, en ausencia de los complejos, se comprobó que puede ocurrir reducción de protones a partir de ATF en el electrodo de trabajo de carbono vítreo. Sin embargo, el aumento de corriente sin la ayuda de los catalizadores, se produce a potenciales menores a -2.1 V (Figura A1 en anexos), lo cual corrobora que la catálisis es favorecida por los complejos de Ni al disminuir el potencial necesario para reducir los protones cuando éstos están presentes.

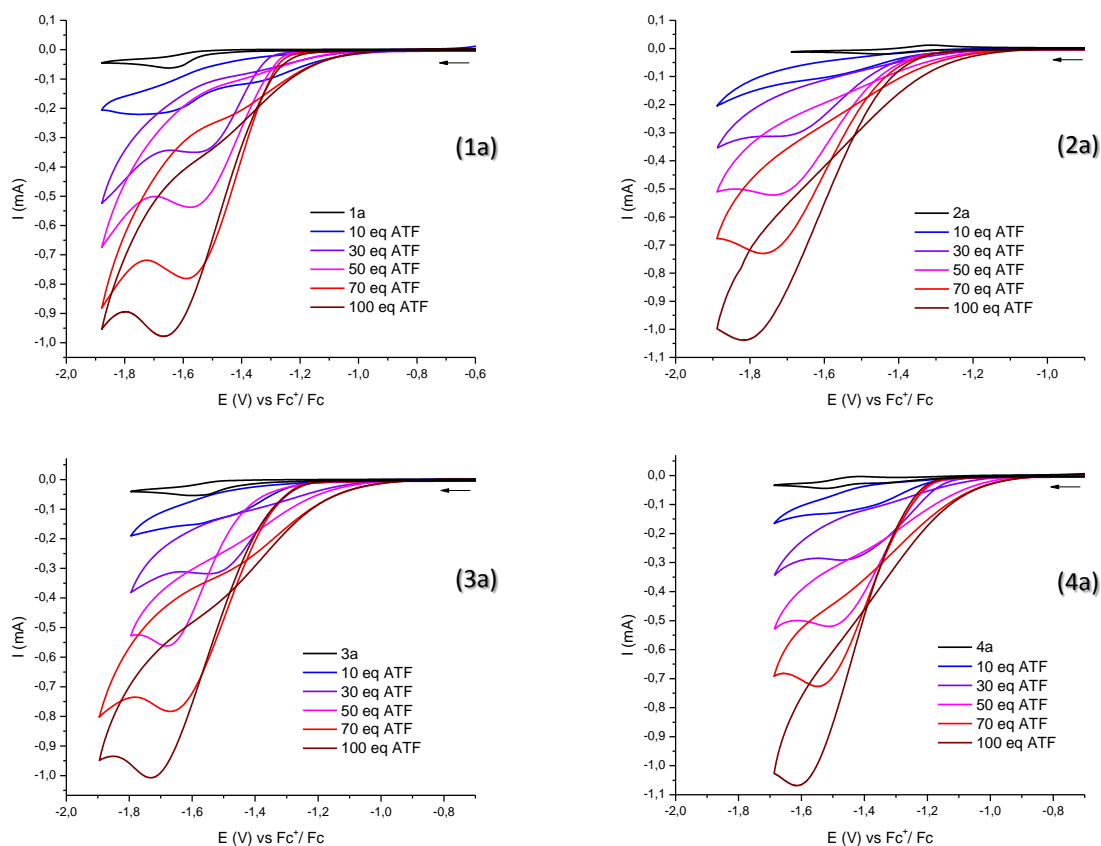


Figura 23. Comportamiento catalítico de los complejos **1a – 4a** [1 mM]_{monómero} t.a. en CH₃CN para la producción electroquímica de hidrógeno con equivalentes crecientes de ATF. Velocidad de barrido $v=100 \text{ mV s}^{-1}$

El sobrepotencial electroquímico (η), esencialmente una energía de activación necesaria para lograr la catálisis, es una medida importante para caracterizar los electrocatalizadores⁹⁸. Los complejos exitosos deberían lograr la catálisis con un bajo sobrepotencial, definido para los propósitos actuales como la diferencia entre el potencial estándar para la reducción del ácido y el potencial donde ocurre la reducción catalítica⁹⁹. Este valor se calculó para todos los complejos usando el método de Evans (Ecuación 3)^{96,99–101} y los valores se reportan en la Tabla 9, estandarizados a 30 equivalentes de ácido, a partir del potencial de media onda ($E_{cat/2}$) y el potencial termodinámico para la reducción de ATF en acetonitrilo ($E_{H^+} = -0.89 \text{ V vs. Fc/Fc}^+$)^{60,102}.

$$\eta = |E_{H^+} - E_{cat/2}|$$

Ecuación 3. Cálculo del sobrepotencial electroquímico

Siguiendo las pautas de Appel y Helm, los valores de $E_{cat/2}$ se determinaron en función del potencial de media onda, el potencial al que se obtiene la mitad de la corriente máxima, ya que este valor de potencial ofrece una mayor precisión en comparación con el pico o potencial de inicio, debido a la menor variación al determinar $E_{cat/2}$ para una onda catalítica no ideal¹⁰³.

El menor sobrepotencial es obtenido con el complejo **4a**, seguido de **3a**, **1a** y finalmente **2a**. Debido a que se buscan catalizadores con bajos sobrepotenciales¹⁰⁴, se puede decir que el complejo que presenta selenio en su estructura (**4a**) es el que, siguiendo este parámetro, se comporta como mejor catalizador. Esto puede ser comparado en la naturaleza con la subclase de hidrogenasas [NiFeSe]-H₂asas, que contienen un residuo terminal de selenocisteína coordinado al centro de Ni en lugar de una cisteína en el núcleo funcional de la enzima. Tal simple reemplazo de S con Se ha hecho que [NiFeSe]-H₂asa muestre una alta tasa de generación de H₂ en comparación con otras H₂asas¹⁰⁵.

Tabla 9. Datos electrocatalíticos de los complejos **1a – 4a**

	1a	2a	3a	4a
$E_{cat/2}$ (V) ^a	-1.40	-1.53	-1.39	-1.27
Sobrepotencial (V)	0.51	0.64	0.49	0.37
Eficiencia catalítica (%)	21	54	22	24
TOF (s ⁻¹)	48	548	67	114

^a Se da para una concentración de ácido de 30 mM y una concentración del catalizador de 1 mM.

Como se observa en la Figura 24, en todos los casos, con concentraciones crecientes de ácido, la corriente reductora aumentó linealmente. La relación de corriente i_c/i_p (i_c = corriente máxima del pico catalítico e i_p = la corriente de la onda de reducción no catalítica) se puede usar como un marcador para comparar la eficiencia catalítica (E.C.) de diferentes complejos¹⁰⁶. Este valor se calculó para todos los compuestos usando la ecuación $E.C. = (i_c/i_p)/(C_A/C_{cat})$ donde C_A es la concentración del ácido y C_{cat} es la concentración del catalizador. Del mismo modo esta relación (i_c/i_p) se estimó para la máxima concentración de ácido estudiada con el fin de calcular el TOF (del inglés *turn over frequency*), como parámetro adicional para comprar la eficiencia catalítica y los valores se presentan en la Tabla 9. Entre los cuatro complejos, el compuesto **2a** es el que presenta la mayor eficiencia, aproximadamente el doble que los demás compuestos, este valor (54%), es mayor al reportado en las mismas condiciones para un complejo pinza Ni(II)-tiolato-PNN (PNN = 2-((di-terbutilfosfinometil-6-dietilaminometil)piridina))⁶⁰. Igualmente, se obtuvo el mayor TOF para este compuesto, la actividad catalítica (548 s⁻¹) de **2a** está cerca del valor de [NiFe]-H₂asas (700 s⁻¹)³¹ y es comparable con el obtenido para un tiolato de níquel (II)-dppf (dppf = 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno) (590 s⁻¹)¹⁰⁷.

Teniendo en cuenta los datos mencionados anteriormente de η y TOF, es claro que estos parámetros no siguen la misma tendencia, y aunque, debido al menor sobrepotencial que

presenta el complejo **4a**, se considera como el mejor catalizador de los cuatro, sin embargo los datos de eficiencia y frecuencia de rotación son más acertados para establecer como mejor catalizador al complejo **2a**.

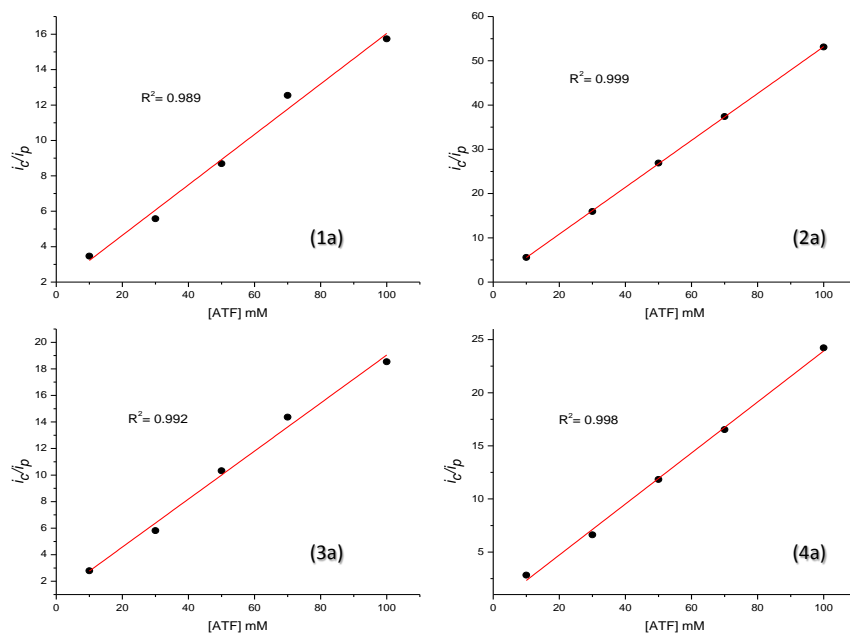


Figura 24. Gráfico de i_c/i_p vs [ATF] (mM) para los complejos **1a–4a**

En los voltamperogramas de la actividad catalítica de los complejos (Figura 23), se observa un cruce prominente entre las trazas de voltametría cíclica anódica y catódica durante la reducción de protones. La aparición del cruce de curvas en estas condiciones generalmente se atribuye a la generación de un intermedio relativamente estable, que es más fácil de oxidar que la especie madre. El entorno químico habría cambiado durante la exploración catódica y generalmente conduce a un cruce entre los ciclos catódico y anódico⁹⁷. Por otro lado las formas de onda cruzadas pueden sugerir una posible electrodeposición y nucleación de los complejos en la superficie del electrodo de carbono vítreo, implicando la posibilidad de un catalizador heterogéneo⁶⁰. Por ello, se realizaron pruebas de enjuague (Figura 25), en las que se extrajo el electrodo después de la electrólisis, se enjuagó con disolvente y se sumergió nuevamente en una solución fresca de ácido para examinar si una actividad catalítica permanece en ausencia de catalizador en disolución. Cuando el electrodo se colocó en la nueva disolución en la exploración no se registró ningún pico catalítico al potencial operativo, lo que sugiere que la reducción de protones es de naturaleza homogénea en lugar de originarse a partir de depósitos de níquel en el electrodo.

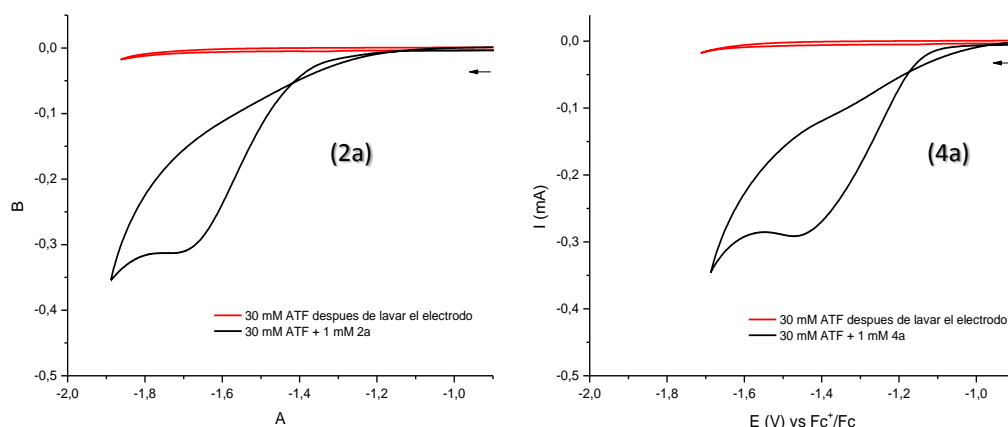


Figura 25. Voltamperograma cíclico de 1 mM 2a y 4a en CH_3CN con 30 mM de ATF agregado (negro) y un VC posterior usando el mismo electrodo después de enjuagar y transferir a solución nueva de CH_3CN sin agregar complejo con ATF 30 mM agregado (rojo). Condiciones: 0.1 M $n\text{-Bu}_4\text{NPF}_6$, atmósfera inerte (N_2), electrodo de trabajo de carbono vítreo, velocidad de exploración = 100 mV s^{-1}

Las gráficas de i_c/i_p versus la raíz cuadrada de la concentración de ácido para todos los complejos muestran una relación no lineal (Figura A2 en anexos). En cambio, se encuentra una relación lineal entre i_c/i_p versus la concentración de ácido (Figura 24); así, la reacción es de segundo orden en ácido, lo que está de acuerdo con estudios previos sobre otros complejos de níquel¹⁰² y además indica que dos protones están involucrados en el paso catalítico determinante de la velocidad¹⁰⁸. Con el fin de comprender un poco acerca del mecanismo para la producción de H_2 , y si este se produce por la protonación inicial antes de la reducción del centro de Ni^{+2} o por la reducción antes de la protonación, se midieron espectros UV-vis de los complejos con ácido (Figura 26). El espectro de absorción de los complejos en disolución cambia con la adición de ácido trifluoroacético, lo que es indicativo de un proceso químico antes de uno electroquímico en el ciclo catalítico.

El desplazamiento a menores longitudes de onda y la disminución de la absorbancia, se ha reportado que son indicadores de la protonación de especies¹⁰⁹, por lo cual se puede decir que, según lo observado, inmediatamente después de la adición de ATF se genera un cambio estructural debido a la protonación del compuesto. La disminución de la intensidad de la banda en $\sim 400 \text{ nm}$ atribuida a la transferencia de carga M-S o M-Se puede atribuirse a la descoordinación del átomo calcógeno tras la protonación del mismo. Dado que cada uno de los complejos genera el catalizador activo con los mismos átomos coordinados (3N), tras la descoordinación del calcógeno, se explica por qué los cuatro complejos pueden llevar a cabo la reducción de protones. La diferencia aquí puede atribuirse a la facilidad de descoordinación del azufre o selenio tras la disolución de los complejos y la adición de ATF. La forma en que este proceso desempeña un papel en la determinación de la eficiencia de reducción de protones no está clara actualmente.

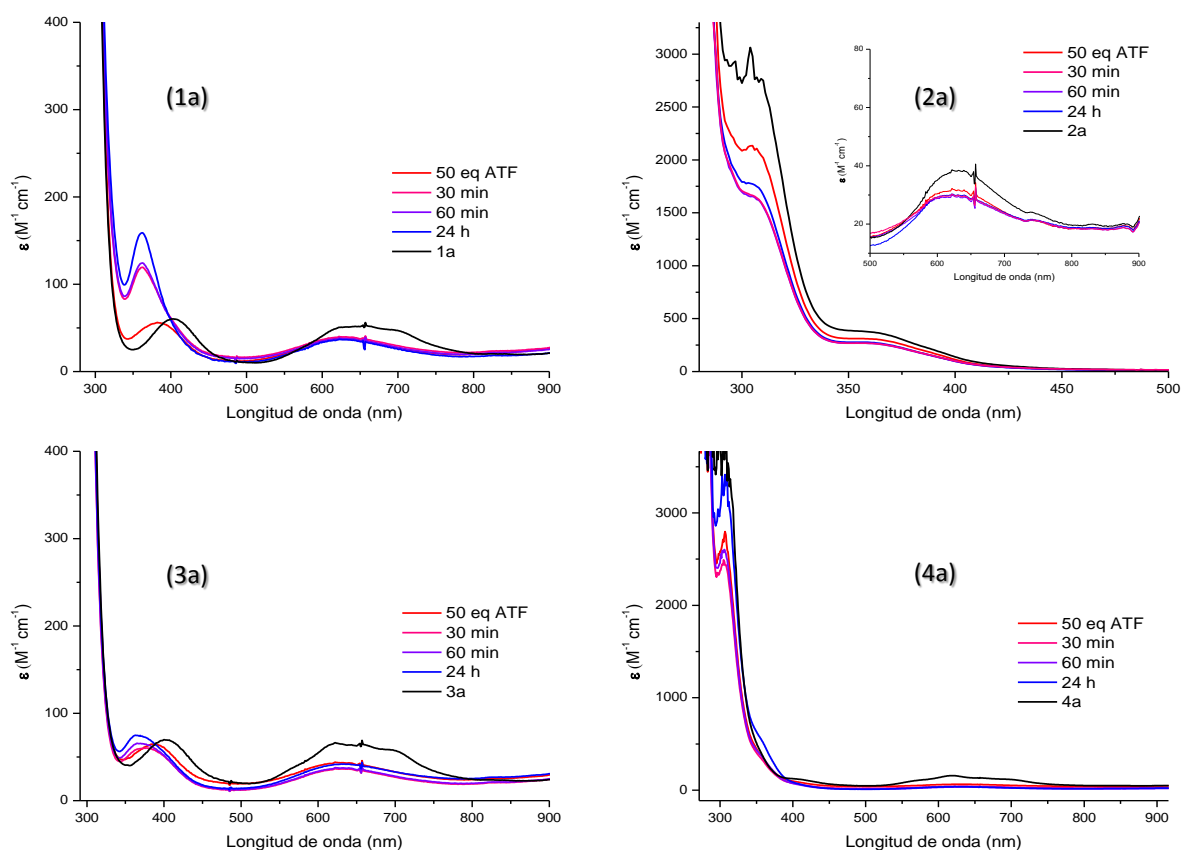


Figura 26. Espectros UV-vis de los complejos **1a-4a** [1 mM] en acetonitrilo con adición de 50 equivalentes de ATF

Como se observa en la Figura 26, transcurridos 30 min, 60 min y 24 h, el cambio en los espectros es más prominente para el compuesto **1a**, donde se generó una nueva señal en 360 nm ($\epsilon = 159 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y para el compuesto **4a**, en el cual apareció un hombro en 360 nm y desapareció la señal de 410 nm, mientras que para los compuestos **2a** y **3a**, no se observaron nuevas señales, solo desplazamiento. Para corroborar qué efecto tiene el ácido en los complejos, las soluciones medidas en UV-vis fueron enviadas a MS-FAB⁺, obteniéndose para todos los casos, que los complejos al estar en contacto con ATF por un tiempo prolongado, se promovió el intercambio de ligantes (^-Cl por $^-\text{OCCF}_3$), obteniéndose los respectivos complejos **1c-4c** mostrados en la Figura 27.

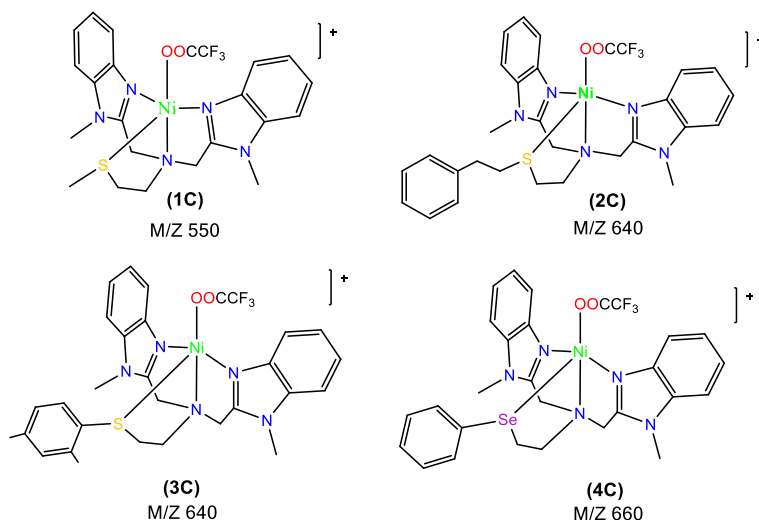


Figura 27. Estructuras propuestas para los complejos **1c-4c**, obtenidas mediante MS-FAB⁺ en acetonitrilo

La duración de los experimentos electrocatalíticos se restringió a 30 min, un período durante el cual no se observó descomposición del catalizador o formación de las nuevas especies en estas condiciones ácidas, según lo determinado por la espectroscopía UV-vis para cada complejo. Por tanto se puede creer que las especies **1c-4c** no están relacionadas con la actividad catalítica que presentaron los compuestos **1a-4a**, sin embargo no puede descartarse dicha posibilidad y deben realizarse experimentos adicionales para corroborarlo.

3.2.2. Activación de oxígeno

La activación de dioxígeno mediada por metales de transición es importante para el desarrollo de catalizadores de oxidación benignos, así mismo la identificación de los intermedios de metal superóxido (O_2^-), peroxo (O_2^{2-}), hidroperoxo (HO_2^-) y oxo (O^{2-}) es considerado crucial para comprender mecánicamente dichas reacciones y para dirigir las transformaciones catalíticas⁴⁸. Como se ha reportado anteriormente, los complejos de níquel(II) generalmente no reaccionan con dioxígeno y requieren el uso de formas parcialmente reducidas de O_2 o ligantes específicos^{48,110}. Es por esto que se estudió la reactividad de los complejos usando peróxido de hidrógeno e hipoclorito de sodio, ambas reacciones se monitorearon con un equipo de espectroscopía ultravioleta visible (UV-vis) acoplado a un criostato.

3.2.2.1. Peróxido de hidrógeno

Como parte de la investigación realizada en nuestro grupo de investigación sobre la activación de dioxígeno en la química de los complejos de cobre, recientemente se ha estudiado la

reactividad al H_2O_2 de los complejos de cobre(II) coordinados por ligantes tripodales derivados de bencimidazol, encontrándose la formación de complejos hidroperoxo en soluciones de THF (Figura 28)⁷⁷. Por tanto en este estudio, se extendió la investigación al sistema níquel(II) que utiliza los mismos ligantes para evaluar la diferencia de reactividad entre los complejos de níquel(II) y cobre(II).

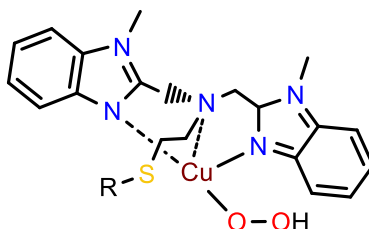


Figura 28. Estructura propuesta para complejos de cobre hidroperoxo reportados por Sanchez-Eguía⁷⁷

Se estudió la reactividad de los compuestos **1a** - **4a** al adicionar diferentes equivalentes de peróxido de hidrógeno y trietilamina a disoluciones de cada complejo. Ésta mezcla $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Et}_3\text{N}$ se usa debido a que se ha reportado que para la formación de especies M-OOH se requiere la presencia de peróxido de hidrógeno y base (típicamente Et_3N)¹¹¹ con el fin de promover la formación de la especie hidroperoxo según el equilibrio $[\text{H}_2\text{O}_2] + [\text{Et}_3\text{N}] \rightleftharpoons [\text{HOO}^- \cdot \text{Et}_3\text{NH}^+]$, donde $[\text{HOO}^- \cdot \text{Et}_3\text{NH}^+]$ reacciona con el complejo metálico para formar el hidropéroxido intermedio¹¹². Las reacciones se siguieron mediante UV-Vis a -30°C en soluciones de acetonitrilo.

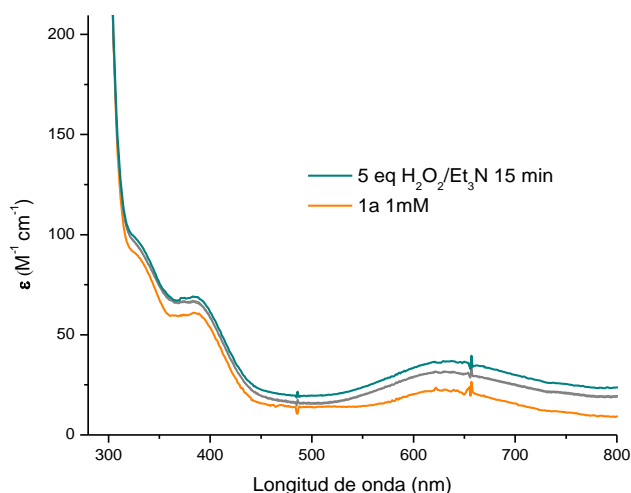


Figura 29. Espectro UV-Vis del complejo **1a**, adición de 5 eq. de $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Et}_3\text{N}$ en CH_3CN a -30°C

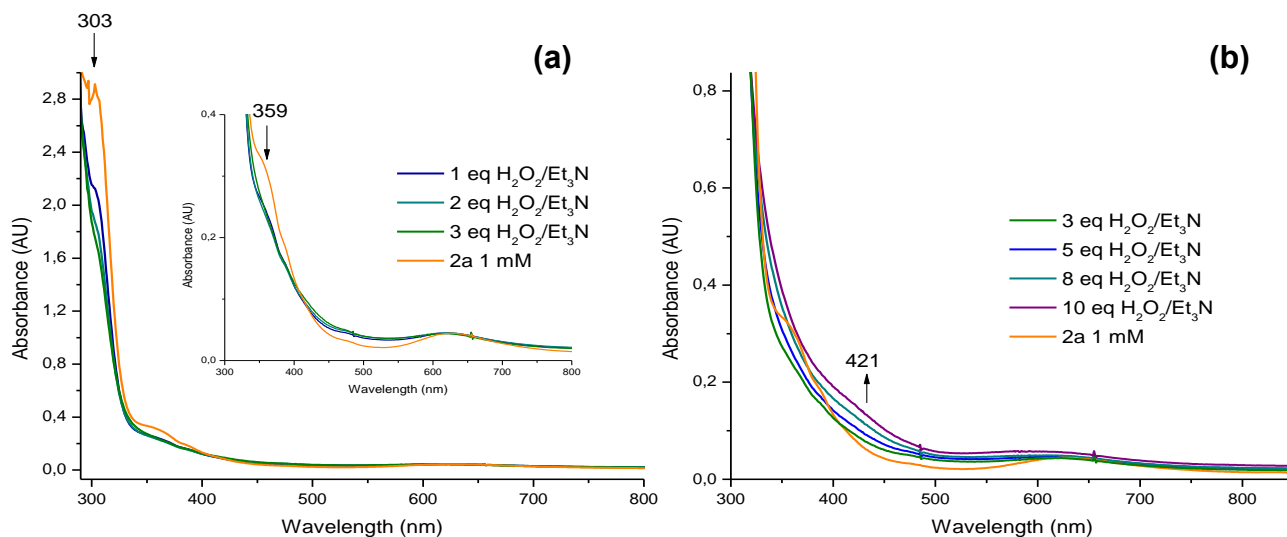


Figura 30. Espectro UV-Vis del complejo **2a** con adiciones de diferentes equivalentes de $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Et}_3\text{N}$ en CH_3CN a -30°C . a) 1 a 3 equivalentes, se anexa ampliación, b) 3 a 10 equivalentes

Como se observa en el espectro electrónico (Figura 29

) del complejo **1a**, antes y después de adicionar la mezcla peróxido/trietilamina, no se presentan cambios significativos en las señales de absorción, a excepción de un pequeño aumento de la línea base. En cuanto al complejo **2a** (Figura 30), se observa desde la adición del primer equivalente de la mezcla oxidante, la disminución de la intensidad en las señales a 303 y 359 nm, lo cual puede ser atribuido a la descoordinación del azufre, sin embargo después de la adición de 5 equivalentes se empieza a notar la aparición de un hombro en 421 nm ($\epsilon = \sim 150 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), posiblemente debido a una transición Ni-O, como se ha reportado anteriormente para un complejo Ni(II)-superoxo $[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{13-TMC})(\text{O}_2)]^+$ (TMC= N-tetramethylated cyclam), preparado agregando 2 eq. de H_2O_2 a una disolución de reacción que contiene $[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{13-TMC})(\text{CH}_3\text{CN})]^{2+}$ en presencia de 1.3 eq. de hidróxido de tetrametilamonio en CH_3CN a -40°C , donde se observa una banda en 416 nm ($\epsilon = 130 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)¹¹³.

La mezcla de reacción fue enviada a MS-FAB⁺, donde se obtuvieron señales características del ligante y del complejo, no obstante, no se observó ningún fragmento asignable al ligante oxidado o a un complejo de Ni-O, lo cual puede deberse a la poca estabilidad del intermediario formado y su corto tiempo de vida. Para el complejo **3a** (Figura 31) se observa la aparición de una nueva señal en 327 nm y un incremento en la intensidad de la banda en 400 nm. Por otro lado, el complejo **4a** (Figura 32) muestra un cambio espectral desde la adición de 1 eq de $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Et}_3\text{N}$, aumentando la absorbancia del pico a 406 nm. Estos cambios en ambos complejos pueden atribuirse a la formación de nuevas especies oxigenadas de níquel (Ni-OOH), sin embargo no pudieron ser identificadas.

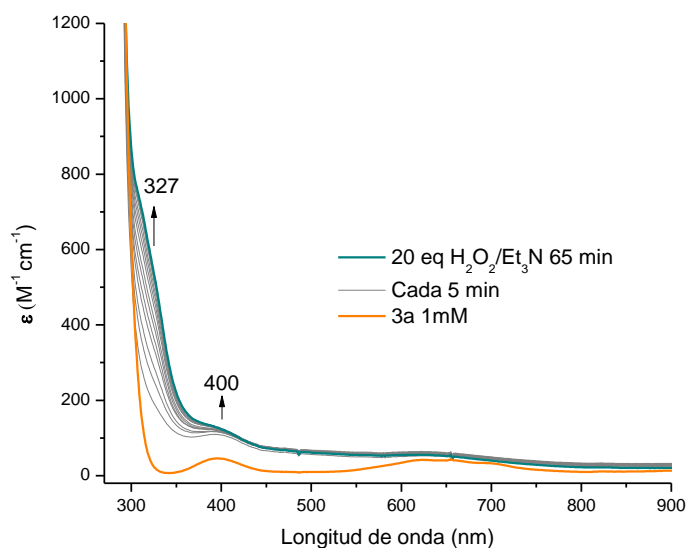


Figura 31. Espectro UV-Vis de **3a** (1 mM) y nueva especie generada por la reacción de 20 eq de H_2O_2/Et_3N en CH_3CN a $-30^\circ C$

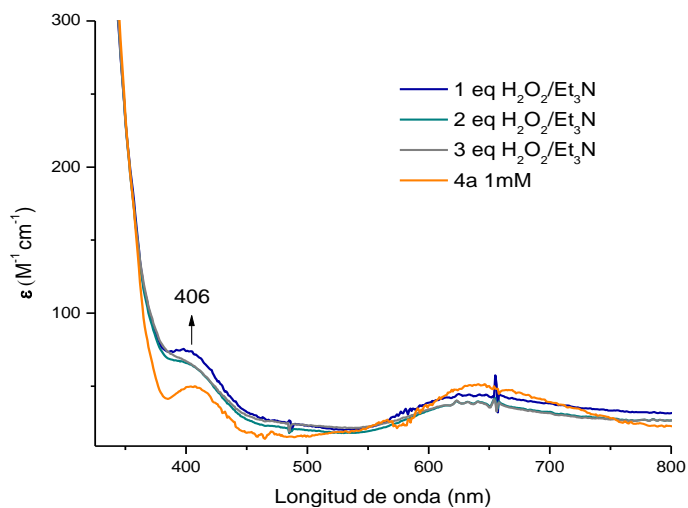


Figura 32. Espectro UV-Vis del complejo **4a** (1 mM) y los espectros obtenidos tras la adición de 1-5 eq de H_2O_2/Et_3N en CH_3CN a $-30^\circ C$

Riordan y colaboradores indican que se puede acceder a complejos bis- μ -oxo Ni_2O_2 desde precursores de Ni(II) utilizando H_2O_2 como oxidante.⁵⁷ Itoh, S. y colaboradores¹¹⁴ reportaron la síntesis y caracterización de complejos de níquel(II) soportados por ligantes tridentados, los cuales reaccionan con peróxido de hidrógeno en acetona para dar complejos bis(μ -oxo)diníquel(III) que exhiben una banda de absorción UV-vis característica a 406-420 nm

($\epsilon=4600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) la cual se ha asignado a la transición de transferencia de carga oxo-metal (LMCT). Por lo tanto se podrían asignar los cambios observados en los espectros de absorción de los complejos **3a** y **4a** a un complejo de este tipo, aunque los valores de ϵ son considerablemente menores ($< 200 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y son necesarios datos espectroscópicos y estructurales para clasificar un aducto de dióxigeno y el estado de oxidación formal del ion metálico.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se puede concluir que la reactividad de los complejos de Ni(II) aquí estudiados hacia H_2O_2 es diferente de la de los complejos de Cu(II) con los mismos ligantes los cuales forman fácilmente complejos Cu-OOH, indicando que el ion metálico juega un papel crítico, lo cual puede deberse en alguna medida a la ausencia de la pareja Ni(II)/Ni(III) o a los posibles potenciales redox para esta pareja, lo cual se observó en los estudios voltamperométricos de los complejos, que hace que la afinidad del complejo por oxígeno sea menor¹¹⁵.

3.2.2.2. Hipoclorito de sodio

En los últimos años se ha prestado atención a los complejos sintéticos a base de níquel y su potencial en la activación de moléculas pequeñas, como NaOCl, debido a que tales complejos abren la posibilidad de lograr la cloración selectiva de alcanos y la oxigenación de alcanos y alquenos, sin embargo hay relativamente poca información disponible sobre la naturaleza de las especies activas involucradas¹¹⁶. Teniendo en cuenta esto, se estudió mediante espectroscopia UV-Vis la reactividad de los complejos **1a-4a** en diferentes condiciones con hipoclorito de sodio y ácido acético, este último debido a que se ha reportado que la presencia de ácido en algunas ocasiones incrementa la tasa de formación de especies intermediarias metal-oxígeno. En todos los casos, la adición de AcOH a las disoluciones iniciales de cada complejo en acetonitrilo no altera el espectro de absorción UV-vis.

Siguiendo metodologías reportadas^{116,117}, se realizaron ensayos adicionando primero NaOCl y posteriormente ácido acético, o primero ácido y posteriormente hipoclorito de sodio. Para el compuesto **1a** la adición de 1 hasta 5 equivalentes de hipoclorito (Figura 33) dio como resultado la saturación de la disolución y como consecuencia el aumento de la línea base, este fenómeno es conocido como dispersión de Mie¹¹⁸, y causado a partir de partículas de NaCl precipitadas formadas a partir de NaOCl. La posterior adición de AcOH disminuyó la absorbancia del espectro en general, pero no se observó la formación de nuevas señales asignables a un intermediario Ni-Oxígeno.

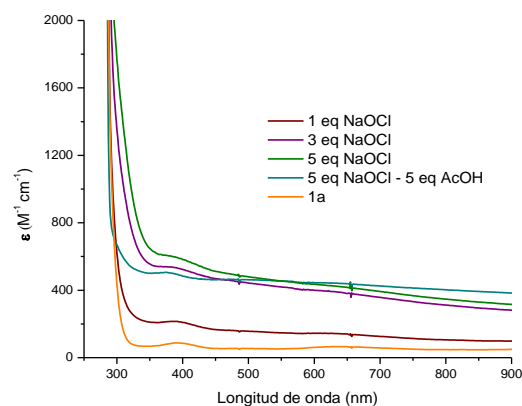


Figura 33. Espectro Uv-vis de **1a** [1 mM] en acetonitrilo a -30°C antes (naranja) y después de la adición de 1-5 eq. de NaOCl y después de la adición de 5 eq. de AcOH

En el estudio del compuesto **2a**, la adición inicial de 5 eq. de ácido acético y las siguientes adiciones de diferentes equivalentes de hipoclorito de sodio dieron como resultado al igual que con el complejo **1a**, el aumento de la línea base debido a dispersión de Mie, además la desaparición de la señal a 303 nm, la cual es asignada a la transferencia de carga Ni-S. Esto indica que posiblemente la adición de hipoclorito después de ácido induce la descoordinación del calcógeno y la posible descomposición del complejo. No obstante la adición inicial de hipoclorito a la disolución del complejo **2a** (Figura 35a), dio como resultado además de la desaparición de la banda en 303 nm (15 minutos después de la adición), la aparición de una señal débil en 416 nm. La posterior adición de ácido acético (Figura 35b), inicialmente incrementó la dispersión, la cual disminuye con el paso del tiempo, sin embargo después de 40 minutos, no se observó una señal significativa asignable a la formación de una nueva especie.

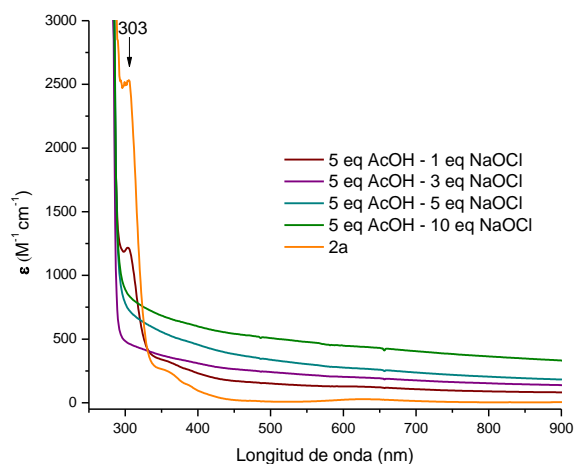


Figura 34. Espectro de absorción UV-vis de **2a** [1 mM] en acetonitrilo -30°C antes (naranja) y después de la adición de 5 eq. de AcOH y las subsecuentes adiciones de diferentes eq. de NaOCl

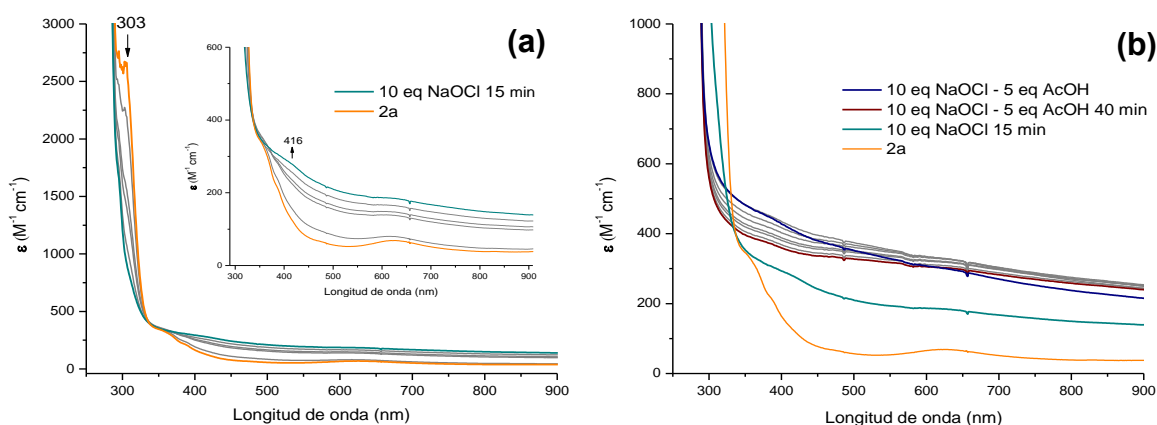


Figura 35. Espectro de absorción UV-vis de 2a en acetonitrilo -30°C, antes (naranja), a) después de la adición de 10 eq. de NaOCl monitoreado durante 15 min, b) 15 min después de la adición de NaOCl y la subsecuente adición de 5 eq. de AcOH monitoreado por 40 min.

Aunque en todos los espectros se presenta aumento de la línea base por efecto de la dispersión, los mayores cambios observados en los espectros de absorción UV-vis, en los intentos de activar NaOCl, se obtuvieron con los complejos **3a** y **4a**. En el caso del complejo **3a** (Figura 36), la adición de 10 equivalentes de NaOCl y la posterior adición de 5 eq. de ácido produjo el incremento de la banda de absorción en 400 nm ($\epsilon \sim 120 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Este comportamiento se reportó en la reacción de un complejo de níquel (II) con un ligante macrocíclico tetradentado que lleva una unidad de 2,6-piridindicarboxamido, con NaOCl que proporciona un nuevo intermediario Ni-OCl, el cual se caracterizó espectroscópicamente y por métodos teóricos¹¹⁶.

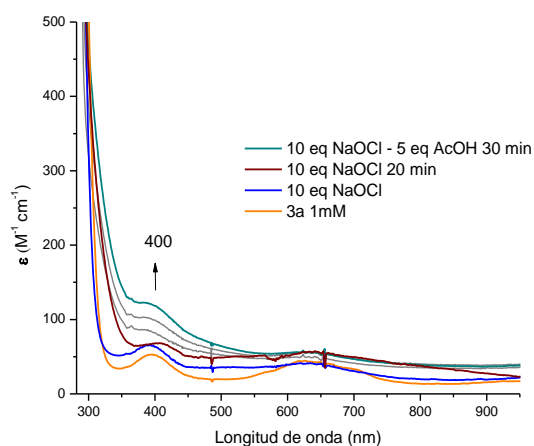


Figura 36. Espectro Uv-vis de **3a** [1 mM] en acetonitrilo a -30°C antes (naranja), inmediatamente (azul) y 20 min después de la adición de 10 eq. de NaOCl (vino tinto) y después de la adición de 5 eq. de AcOH monitoreado cada 10 min (gris) por 30 min

En cuanto al complejo **4a**, la adición de 5 eq de AcOH y la subsecuente adición de diferentes equivalentes de hipoclorito generó, al igual que con el complejo **2a**, la desaparición de la banda a 304 nm asignada a la transferencia de carga Ni-Se, sin embargo aunque la dispersión también se presenta, se observó la leve aparición de una nueva señal alrededor de 500 nm. Pero al igual que con la mezcla oxidante H₂O₂/Et₃N, para identificar los posibles intermediarios oxigenados de níquel usando NaOCl, son necesarios datos espectroscópicos y estructurales adicionales.

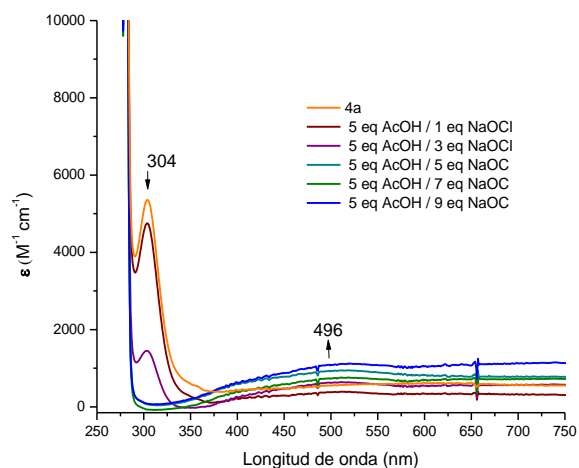


Figura 37. Espectro UV-vis del complejo **4a** [0.3 mM] en acetonitrilo -30°C, antes (naranja) y después de la adición de 5 eq. de AcOH y las siguientes adiciones de diferentes eq. de NaOCl

3.2.3. Citotoxicidad

Se evaluó la actividad antiproliferativa *in vitro* de los compuestos **1a-4a** en dos líneas celulares humanas cancerígenas, SK-LU-1 (carcinoma de pulmón) y HeLa (carcinoma cervico uterino), además con fines comparativos, en una línea celular sana, HEK (riñón embrionario humano no tumoral) 72 h después del tratamiento, utilizando el método de reducción de MTT, como un ensayo de citotoxicidad ampliamente utilizado. Las células se incubaron en presencia de concentraciones crecientes (1, 5, 10, 25, 50, 75, 100 μM) de los complejos durante 72 h y la actividad antiproliferativa se midió de acuerdo con el procedimiento descrito en la parte experimental, midiendo la absorbancia en 570 nm.

Los datos de citotoxicidad, expresados como valores de IC₅₀ se presentan en la Tabla 10. El IC₅₀ se define como la concentración de un compuesto, que inhibe el 50% del crecimiento celular. Se anexan además, a modo de comparación, los resultados de la evaluación citotóxica, en las mismas condiciones usadas para los compuestos **1a-4a**, de la sal de NiCl₂ utilizada para hacer los complejos y un complejo de Cu(II) sintetizado con el ligante (L^{3Me}) que presentó la mayor actividad en su respectivo complejo de Ni(II).

Según los valores obtenidos, la citotoxicidad de la sal NiCl₂ en todas las líneas celulares evaluadas es >100 μM, lo cual indica que el ligante en los complejos **2a** y **3a** que presentaron mayor actividad, cumple un papel fundamental en la actividad antiproliferativa de los complejos de Ni. Entre los cuatro complejos, **1a** y **4a**, no mostraron actividad para ninguna línea celular en las concentraciones estudiadas, mientras que **2a** y **3a** presentaron actividad anticancerígena con valores de IC₅₀ 25 y 18 μM para células SK-LU-1 y 37 y 19 μM para células HeLa respectivamente, siendo la línea celular SK-LU-1 más sensible para ambos complejos.

Previamente¹¹⁹ se ha demostrado que complejos de Cu(II) con ligantes derivados de bencimidazol N-metilados tienen efectos potentes contra cáncer en diferentes líneas celulares y encontraron valores de IC₅₀ para la línea HeLa de ~10 μM y para la línea celular REH (leucemia linfocítica) ~5 μM. Por tanto, en nuestro estudio se comparó la actividad de los complejos de níquel con uno de cobre (**CuL₃**). Los resultados (Tabla 10) muestran que el complejo de coordinación de Cu(II) tiene un efecto citotóxico mayor en las líneas celulares de cáncer que los complejos de Ni(II), con un valor de IC₅₀ en el mismo rango reportado. Esta diferencia significativa de la citotoxicidad puede ser atribuida a sus diferentes entornos de coordinación, así como diferencias en el potencial redox. Además, se sabe que la actividad del complejo metálico depende de la naturaleza del ion metálico central⁴¹. Como ejemplo de esto, se han reportado estudios de citotoxicidad de complejos de Cu y Ni con el mismo ligante, en donde el complejo de cobre fue más efectivo en las líneas celulares estudiadas de carcinoma humano cervical, mama, pulmón y próstata en comparación con su análogo de níquel¹²⁰, como lo observado en este estudio.

Tabla 10. Valores de IC₅₀ en tres líneas celulares para los compuestos **1a-4a** e índices de selectividad (I.S.) calculados como la relación entre los valores IC₅₀ relacionados con las líneas celulares sanas HEK y cancerígenas SK-LU-1 y HeLa

	HEK Riñón	SK-LU-1 Carcinoma de Pulmón	I.S.	HeLa Carcinoma Cervico-Uterino	I.S.
IC ₅₀ (μM) ^a					
1a	>100	>100	--	>100	--
2a	37 ± 0.1	25 ± 0.1	1.5	37 ± 0.1	1
3a	48 ± 0.1	18 ± 0.2	2.7	19 ± 0.2	2.5
4a	>100	>100	--	>100	--
NiCl₂	>100	>100	--	>100	--
CuL₃	10 ± 0.3	6 ± 0.1	1.6	11 ± 0.1	0.9
Cisplatino	10 ± 0.7 ¹²¹	3.4 ± 0.5 ^{b 122}	2.9	4.9 ± 0.3 ¹²³	2.0

^a IC₅₀: concentración de un compuesto probado requerida para reducir la fracción de células supervivientes al 50% de la observada en las células control no tratadas. Se presentan valores medios de experimentos por triplicado a 72h de incubación. ^b IC₅₀ a 48h.

Como candidatos ideales para medicamentos contra el cáncer, los compuestos no solo deben ser capaces de inhibir el crecimiento de las líneas celulares cancerosas, sino que también deben presentar una baja citotoxicidad hacia las líneas celulares normales humanas. Teniendo en cuenta esto, se observa mayor selectividad (valores de índices de selectividad, Tabla 10) hacia las líneas tumorales SK-LU-1 y HeLa en comparación con la línea celular HEK no tumoral, para el compuesto **3a**, que presenta una baja citotoxicidad micromolar contra las células cancerígenas y exhibe una selectividad de casi 3 veces. En comparación, el complejo de cobre aunque presenta una alta citotoxicidad (IC_{50} menores), su selectividad es inferior con valores de IC_{50} similares en las tres líneas celulares evaluadas.

Algunas nociones generales sobre las relaciones estructura-actividad surgieron de estos estudios sobre los compuestos de níquel probados: (a) la sustitución del grupo metilo menos voluminoso que el grupo bencilo o bencilo sustituido de **1a** resultó en actividad nula en las concentraciones estudiadas en comparación con los complejos **2a** y **3a**, (b) el cambio de S por Se en el compuesto **4a** igualmente generó una actividad nula, (c) en el anillo de fenilo, los grupos metilo de **2a** disminuyeron la actividad. En cuanto a el cambio de Ni(II) por Cu(II), se potenció la actividad pero no se mantuvo la selectividad hacia células tumorales.

Teniendo en cuenta que las disoluciones patrón de los complejos se realizaron en agua, y que ésta es el principal componente del medio de cultivo celular, la naturaleza estable en agua de los complejos es importante. Para verificar dicha estabilidad de los compuestos de níquel en solución acuosa, se registraron los espectros UV-Vis dentro del plazo utilizado para las pruebas biológicas (hasta 72 h). En los espectros (Figura 38), no se observaron cambios significativos (desplazamiento de longitudes de onda o nuevas bandas), proponiendo así la estabilidad de los complejos en estas condiciones.

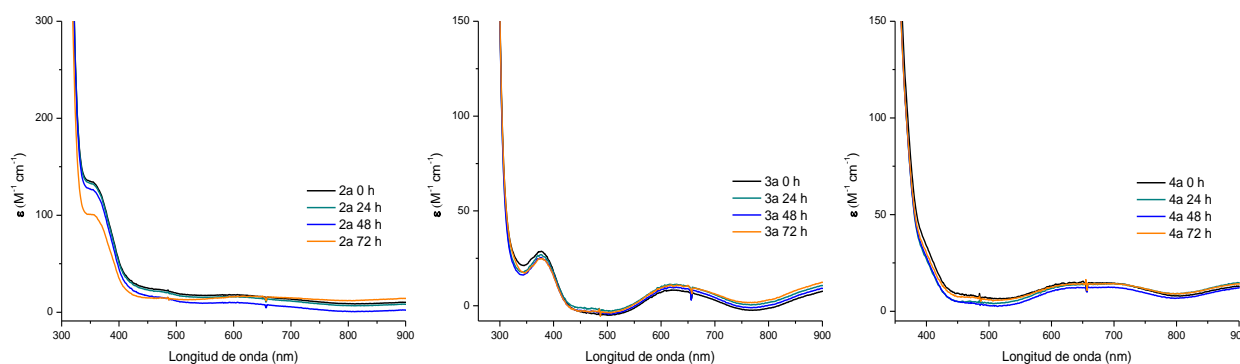


Figura 38. Espectros UV-Vis de los complejos en agua a 0, 24, 48 y 72 h después de la dilución

Por otro lado, la lipofilia es un parámetro importante en la investigación de la potencia farmacológica y toxicológica de muchos medicamentos, desempeña un papel determinante en el paso de compuestos a través de un sistema biológico¹²⁴. Esta propiedad se describe frecuentemente por el coeficiente de partición octanol-agua ($\log P$)¹²⁵. Una forma confiable de

obtener este parámetro, es mediante la predicción usando programas disponibles en línea como ALOGPS 2.1^{126,127}. Los valores calculados para los complejos **1a-4a** y el complejo de cobre **CuL₃**, se presentan en la Tabla 11.

Un valor positivo para logP denota que el compuesto es lipofílico y por tanto tienen oportunidad de atravesar la membrana lipídica de las células. De acuerdo con la "Regla de 5 de Lipinski"¹²⁸, logP de un compuesto debe ser < 5, ya que un compuesto más lipofílico tendrá baja solubilidad acuosa, comprometiendo la biodisponibilidad. En este caso, como puede verse en la Tabla 11 todos los compuestos cumplen con esta regla y como se mencionó anteriormente, son solubles en agua.

Tabla 11. Coeficiente de partición calculado usando ALOGPS 2.1. para los compuestos **1a-4a**

Compuesto	LogP
1a	2.20
2a	3.63
3a	3.63
4a	3.26
CuL₃	3.12

Relacionando los resultados obtenidos en la citotoxicidad de los compuestos, con el coeficiente de partición calculado (parámetro de lipofilia), se puede observar que en la serie de complejos de Ni(II) (**1a-4a**), la tendencia de lipofilia **2a=3a>4a>1a** es similar para la citotoxicidad, siendo los complejos **2a** y **3a** los que presentaron el menor IC₅₀ en células cancerígenas. Usando este parámetro se podría explicar la poca o nula actividad inhibitoria de los complejos **1a** y **4a** en las líneas celulares estudiadas, ya que presentan la menor lipofilia, lo que probablemente ocasiona que no ingrese a la célula una cantidad significativa de compuesto para ser citotóxico.

Aunque algunos estudios sugieren que el aumento de la lipofilia facilita la superación de la resistencia a los medicamentos, no se conoce una relación clara entre la citotoxicidad y la lipofilidad hasta la fecha, algunos estudios revelaron que la alta citotoxicidad de los complejos de platino podría correlacionarse con un alto nivel de lipofilidad. En contraste, la citotoxicidad de algunos complejos de rutenio contra líneas celulares de melanoma depende más de la estructura que de la lipofilia¹²⁹, similar a lo que se observó para el complejo **CuL₃**.

Es importante destacar que los compuestos pueden tener alta actividad antibacteriana y no se descarta esta posibilidad, al igual que lo reportado por Ravoof, T. B. y colaboradores, en donde complejos de Ni(II) con ligantes mixtos fueron inactivos contra las líneas celulares de cáncer de mama MDA-MB-231 y MCF-7. Curiosamente, el análisis antibacteriano de los compuestos mostró que tenían actividad específica y selectiva contra *Staphylococcus aureus* (S. aureus), *Bacillus subtilis* (B. subtilis), *Propionibacterium acne* (P. acne) y *Enterobacteraerogenes* (E. aerogenes)²⁵.

4. CONCLUSIONES

Los nuevos complejos de coordinación de níquel octaédricos con ligantes mixtos bisbencimidazol-calcogenoéter presentan un ambiente rico en donadores nitrógeno y azufre similares a algunas metaloenzimas dependientes de níquel. Se estableció que la sustitución en los ligantes modula las propiedades redox de los sistemas al aumentar la densidad electrónica en el níquel, lo que permitió su estudio en diferentes aplicaciones.

El potencial de reducción de la especie Ni(II/I) está directamente relacionado con la actividad electrocatalítica en la reducción de protones que muestran los complejos **1a-4a**, siendo el mejor catalizador el compuesto **2a**, cuyo potencial es el menor entre los cuatro complejos. Se establece que éste puede actuar como un posible análogo funcional de la enzima [NiFe]-hidrogenasa y mediante experimentos de lavado se determinó que la catálisis se lleva a cabo de forma homogénea. Además se validó la actividad catalítica de las especies de níquel, teniendo en cuenta que los experimentos controlados en ausencia de los complejos produjeron picos catalíticos a potenciales más negativos.

Nuevas especies oxigenadas de níquel pueden formarse en las condiciones estudiadas, y por tanto se establece que los complejos aquí sintetizados pueden actuar como potenciales activadores de moléculas pequeñas como H₂O₂ y NaOCl, sin embargo la poca estabilidad del intermediario formado y su corto tiempo de vida no permitieron la identificación de dichas especies. Por otro lado pudo determinarse que la reactividad de los complejos de Ni(II) hacia H₂O₂ es diferente de la de los complejos de Cu(II) con los mismos ligantes, indicando así que la naturaleza del centro metálico afecta la reactividad y la formación de especies intermediarias M-oxígeno, siendo un parámetro importante la geometría de cada complejo, que aumenta o disminuye la afinidad por oxígeno al tener sitios vacantes o no.

El cambio en los sustituyentes de los ligantes tiene efecto sobre la actividad citotóxica de los complejos, posiblemente debido a la variación de la lipofilia, así mismo el reemplazo de níquel por cobre, generó un mayor efecto citotóxico en todas las líneas celulares estudiadas, sin embargo el complejo de níquel **3a** que presentó mayor actividad, igualmente presentó mayor selectividad hacia células cancerígenas HeLa y SK-LU-1 en comparación con células sanas HEK, contrario a lo que se encontró para el complejo de cobre.

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. General

Todos los reactivos utilizados fueron grado analítico de proveedores comerciales y se utilizaron sin tratamiento previo. Los compuestos sensibles al aire se manejaron mediante técnicas Schlenk en línea de vacío (Nitrógeno o Argón) y en caja de guantes MBraun. Los disolventes utilizados se obtuvieron de proveedores comerciales y en los casos necesarios fueron secados utilizando métodos estándar. Para los análisis de RMN se utilizaron CDCl_3 99.8 %D, CD_2Cl_2 99.8 %D, CD_3CN 99.8 %D, obtenidos de Sigma-Aldrich o Cambridge Isotope Laboratories.

5.2. Instrumentación

Punto de Fusión (p.F.): Los puntos de fusión se determinaron con un aparato Electrothermal MelTemp y no fueron corregidos.

Espectroscopia Infrarroja (IR): Los espectros de infrarrojo se obtuvieron utilizando la técnica ATR mediante un espectrómetro Thermo Nicolet is50 FT-IR con punta de diamante.

Espectrofotometría Ultravioleta visible (UV-vis): Los experimentos UV-visibles se llevaron a cabo en un espectrofotómetro Agilent modelo 8453. Las mediciones a baja temperatura se realizaron en el mismo equipo acoplado a un criostato Unisoku USP-203-A refrigerado con nitrógeno líquido usando una celda Schlenk modificada de 1 cm de longitud óptica.

Resonancia Magnética Nuclear (RMN): Los espectros de RMN se obtuvieron a 300 (^1H) y 75 (^{13}C) MHz con un espectrómetro JEOL Eclipse 300 o un espectrómetro Bruker Advance DRX, utilizando la señal residual de disolvente TMS como referencia interna o empleando los protones residuales del disolvente (TMS $\delta = 0.00$, CDCl_3 $\delta = 7.26$ ppm).

Espectrometría de masas: Los espectros de masas (FAB – Bombardeo de átomos rápido) se obtuvieron en un espectrómetro de masas JEOL JMS-SX-102A con un voltaje de aceleración de 10keV, con una matriz de alcohol nitrobenílico y átomos de Xenon a 6keV, en un espectrómetro Bruker Daltonics Esquire 6000 con una trampa de iones (ESI-MS – Espectrometría de Masas por Electrospray), o en un espectrofotómetro JEOL The AccuTOF JMS-T100LC (DART - Análisis directo en tiempo real).

Análisis Elemental: Los análisis elementales fueron obtenidos con un analizador elemental Thermo Scientific, modelo Flash 2000, con una temperatura del horno de 950°C.

Resonancia Paramagnética Electrónica: Los espectros de Resonancia Paramagnética Electrónica (RPE) se adquirieron en tubos de cuarzo a temperatura ambiente o 77 K con espectrómetro JEOL JESTE300 de 1.4 T de campo magnético que opera en banda X (9.4 GHz).

Difracción de Rayos X de Monocristal: Para la determinación estructural mediante difracción de rayos X, se empleó un difractómetro Oxford Diffraction Gemini "A" con detector de área Apex CCD. Se emplearon los paquetes de software CrysAlis Pro y CrysAlis RED para la colección e integración de datos. Las estructuras se resolvieron con el programa SHELXS-97, y refinadas por la matriz completa de mínimos cuadrados en F² con SHELXL-97. Todos los átomos distintos de hidrogeno se refinaron con los parámetros térmicos anisotrópicos en los ciclos finales de refinamiento. Los átomos de hidrogeno se colocaron en posiciones idealizadas, con distancias de 0.93 Å y 0.98 Å para distancias C-H aromáticas y saturadas, respectivamente. Las figuras de las estructuras cristalinas fueron obtenidas con el programa Mercury versión 1.1.4 para Windows.

Susceptibilidad magnética: Las mediciones de susceptibilidad magnética en fase sólida se realizaron en una balanza de Gouy (Sherwood Scientific's) usando Hg[Co(SCN)₄] como referencia a temperatura ambiente.

Electroquímica: Los experimentos de electroquímica se realizaron bajo flujo de nitrógeno o argón, utilizando un potencióstato CH instruments 1200b, en una celda de tres electrodos; un electrodo de trabajo de carbono vítreo de 3 mm de diámetro, alambre de platino como contra-electrodo y un electrodo de referencia con una disolución de bromuro de tetra-*n*-butilamonio (Bu₄NBr). El electrolito soporte utilizado en todos los experimentos fue hexafluorofosfato de tetra-*n*-butilamonio (Bu₄NPF₆) 0.1 M en 5 mL del disolvente. Los potenciales (E) medidos al electrodo de trabajo para todos los voltamperogramas están reportados respecto al par ferricinio/ferroceno (Fc⁺/Fc). La medición del potencial del par Fc⁺/Fc se realizó adicionando ferroceno a la disolución al término de cada experimento.

5.3. Síntesis y caracterización de compuestos

5.3.1. Aminas

Las aminas precursoras de los ligantes (L^{2Me}, L^{3Me} y L^{4Me}), ASAr (2(2,4-dimetilfenil)tioetilamina), ASPH (2-feniletioetilamina) y ASe (2-fenilselenoetilamina) respectivamente, fueron sintetizadas de acuerdo a lo reportado en literatura¹³⁰ y adaptaciones de informes anteriores¹³¹. La amina 2-metiltioetilamina se obtuvo comercialmente de la marca Aldrich.

ASAr (*2(2,4-dimetilfenil)tioetilamina*). En un matraz bola de 100 mL bajo atmosfera inerte se disolvió 741 mg (3.6 mmol) de bromohidrato de 2-bromoetilamina en 20 mL de etanol seco, a ésta disolución se adicionó 165 mg (7.2 mmol) de Na⁰; en otro matraz se disolvió 500 mg (3.6 mmol) de 2,4-dimetilbencenotiol en etanol y a esta mezcla se le añadió 1.0 g (7.2 mmol) de K₂CO₃; éstas disoluciones se mezclaron a temperatura ambiente y la reacción se colocó a reflujo por 3 horas. La disolución resultante se filtró y acidificó con HCl concentrado y se filtró la sal formada, finalmente se secó a vacío y el producto se aisló como un sólido blanco de clorhidrato de ASAr. Rendimiento: 52%. p.F.: 105-108°C. DART-MS (M/Z ppm): [M+1]⁺ 182. ¹H-RMN δ ppm (CDCl₃, 400 MHz) 2.25 (s, 3H, CH₃-Ar), 2.37 (s, 3H, CH₃-Ar), 3.23 (m, 4H, CH₂-CH₂), 6.93-6.99 (m, 2H, Ar), 7.37 (d, 1H, Ar), 8.05 (s, 2H, NH₂).

ASPh (*2-feniletiltioetilamina*). En un matraz bola de 100 mL se disolvió 1.0 g (7.6 mmol) de clorhidrato de cisteamina en 20 mL de etanol seco, a ésta disolución se adicionaron 0.97 g (17 mmol) de KOH (88 %), la reacción se mantuvo en agitación a temperatura ambiente por 1 hora, pasado este tiempo se adicionaron 1.77 g (7.6 mmol) de 2-yodoetilbenceno gota a gota a la mezcla de reacción a 0°C. La reacción se mantuvo a reflujo por 3 horas. La disolución etanólica se evaporó obteniéndose un aceite que se extrajo con CH₂Cl₂. Rendimiento: 85%. DART-MS (M/Z ppm): [M+1]⁺ 182, [M-NH₂]⁺ 165. ¹H-RMN δ ppm (CDCl₃, 300 MHz) 2.69 (t, 2H, CH₂-S), 2.81 (m, 2H, CH₂N), 2.92 (m, 4H, CH₂CH₂Ph), 3.40 (s, 2H, NH₂), 7.26 (m, 3H, Ph), 7.34 (m, 2H, Ph).

ASe (*2-fenilselenoetilamina*). En un matraz bola de 100 mL provisto de agitación bajo atmosfera inerte, se disolvieron 1.0 g (3.2 mmol) de difenildiselenuro en 20 mL de etanol seco, se adicionó NaBH₄ 389 mg (10.3 mmol) hasta decoloración de la disolución. En un matraz Schlenck se disolvió 1.31 g (6.4 mmol) de bromohidrato de 2-bromoetilamina en 10 mL de etanol seco y a ésta mezcla de reacción se adicionaron 147 mg (6.4 mmol) de Na⁰; una vez que esta mezcla de reacción se decoloró, se adicionó mediante cánula a la disolución del selenolato, esta mezcla de reacción se dejó en agitación y reflujo por 3 horas. La disolución resultante se enfrió y acidificó con HCl concentrado hasta pH 4, el sólido blanco formado se filtró y la disolución se evaporó a sequedad obteniéndose un sólido amarillo el cual se disolvió en agua y se neutralizó con NaOH 3 M hasta pH 10, finalmente se realizaron 3 extracciones de 20 mL con diclorometano. El producto se aisló en la fase orgánica como un aceite amarillo de ASe. Rendimiento: 69%. DART-MS (M/Z ppm): [M+1]⁺ 202. ¹H-RMN δ ppm (CDCl₃, 300 MHz) 1.59 (s, 4H, CH₂-CH₂), 3.24 (s, 2H, NH₂), 7.29 (m, 2H, Ph), 7.59 (m, 2H, Ph), 8.13 (s, 1H, Ph). ⁷⁷Se-RMN δ (CDCl₃, 300 MHz) 256.35.

5.3.2. 2-clorometilbencimidazol

2-clorometil-1-metil-1H-benzoimidazol se sintetizó siguiendo metodologías reportadas en la literatura^{132,133}. La síntesis se llevó a cabo mediante dos reacciones consecutivas. Primero se disolvieron 7.0 g (57.3 mmol) de N-metil-1,2-fenilendiamina y 13.1 g (172 mmol) de ácido

glicolico en 50 mL de HCl 2 M y se puso a reflujo por 70 h, luego se adicionó NH₄OH hasta pH 9, el precipitado se filtró y se lavó con H₂O. El producto (1-metil-1H-bencimidazol-2-il)-metanol se aisló como sólido lila. Rendimiento 85%. DART-MS (M/Z ppm): [M+1]⁺ 163. Posteriormente en un balón provisto de agitación bajo atmosfera inerte, se disolvió (1-metil-1H-benzoimidazol-2-il)-metanol 7.8 g (48 mmol) en diclorometano (30 mL), se añadió cloruro de tionilo (18 mL) gota a gota. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Luego se eliminó el disolvente de la mezcla de reacción por concentración al vacío y el sólido oscuro se vertió en una disolución de NaHCO₃ saturada y se extrajo tres veces con Et₂O, las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄. Se obtuvo un sólido amarillo como producto. Rendimiento: 75%. DART-MS (M/Z ppm): [M+1]⁺ 181. ¹H-RMN δ ppm (CDCl₃, 300 MHz) 3.87 (s, 3H, -CH₃), 4.85 (s, 2H, -CH₂), 7.36-7.31 (m, 3H, Ph), 7.77-7.75 (m, 1H, Ph).

5.3.3. Ligantes

Los ligantes fueron sintetizados según lo reportado anteriormente por nuestro grupo de investigación^{77,134,135}.

L1^{Me} [*bis(1-metil-2-metilbencimidazolil)(metiltioetil)amina*]. En un matraz bola de 100 mL provisto de agitación se adicionaron 1.5 g (8.3 mmol) de 2-clorometilbencimidazol, 380 mg (4.2 mmol) de metiltioetilamina, K₂CO₃ (2.3 g, 16.6 mmol) y NaI (63 mg, 0.42 mmol), una vez homogeneizada la mezcla en acetonitrilo (60 mL) se mantuvo a reflujo por 6 horas. La disolución se filtró a través de celita y se lavó con diclorometano, se concentró mediante evaporación lenta dando lugar a un sólido beige. Rendimiento 50 %. p.F.: 175–177°C. DART-MS (M/Z ppm): [M+1]⁺ 380. ¹H-RMN δ ppm (CDCl₃, 300 MHz) 7.73 (m, 2H, BzIm), 7.26 (m, 6H, BzIm), 4.00 (s, 4H, BzIm-CH₂), 3.65 (s, 6H, BzIm-CH₃), 2.93 (t, 2H, N-CH₂), 2.60 (t, 2H, S-CH₂), 1.83 (s, 3H, S-CH₃).

L2^{Me} [*bis(1-metil-2-metilbencimidazolil)(2(2,4-dimetilfeniltioetil)amina*]. A una disolución de acetonitrilo (40 mL) que contenía 200 mg (1.11 mmol) de 2-clorometilbencimidazol y 100.5 mg (0.55 mmol) de ASAr se agregaron 307 mg (2.22 mmol) de K₂CO₃ y 42 mg (0.27 mmol) de NaI. La disolución se mantuvo a reflujo por 4 horas. La mezcla de reacción resultante se filtró a través de celita y se lavó con diclorometano, por evaporación lenta se obtuvieron cristales incoloros. Rendimiento 50%. p.F.: 146 -149°C. DART-MS (M/Z ppm): [M+1]⁺ 470. ¹H-RMN δ ppm (CDCl₃, 300 MHz) 7.70 (m, 2H, BzIm), 7.26 (m, 6H, BzIm), 4.09 (s, 4H, BzIm-CH₂), 3.70 (s, 6H, BzIm-CH₃), 3.00 (s, 4H, N-CH₂CH₂-S), 2.16 (s, 6H, Ph-CH₃).

L3^{Me} [*bis(1-metil-2-metilbencimidazolil)(feniltioetil)amina*]. En un matraz bola de 100 mL provisto de agitación, 1.2 g (6.6 mmol) de 2-clorometilbencimidazol, 1.8 g (13.3 mmol) de K₂CO₃ y 50 mg (0.33 mmol) de NaI se disolvieron en CH₃CN, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos; a esta disolución se le agregaron 607 mg (3.33 mmol) de ASPH. La reacción se mantuvo a reflujo por 7 horas. La disolución resultante se filtró

a través de celita y el CH₃CN se evaporó lentamente formando cristales incoloros. Rendimiento: 45 %. p.F.: 132 – 135 °C. DART-MS (M/Z ppm): [M+1]⁺ 470. ¹H-RMN δ ppm (CDCl₃, 300 MHz) 7.72 (m, 2H, BzIm), 7.29 (m, 5H, Ph), 7.19 (m, 4H, BzIm), 7.0 (d, 2H, BzIm), 4.08 (s, 4H, BzIm-CH₂), 3.69 (s, 6H, BzIm-CH₃), 2.97 (t, 2H, N-CH₂), 2.65 (m, 4H, S-CH₂CH₂-Ph), 2.53 (t, 2H, S-CH₂).

L4^{Me} [*bis(1-metil-2-metilbencimidazolil)(feniletioetil)amina*]. En un matraz bola de 100 mL provisto de agitación, se disolvieron 1.2 g (6.66 mmol) de 2-clorometilbencimidazol, 1.8 g (13.33 mmol) de K₂CO₃ y 50 mg (0.33 mmol) de NaI en CH₃CN, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos; después de que la disolución se homogeneizó se adicionaron 790 mg (3.33 mmol) de ASe. La mezcla se mantuvo a reflujo por 5 horas. La disolución resultante se filtró a través de celita y el CH₃CN se evaporó lentamente formando cristales amarillos. Rendimiento: 70 %. DART-MS (M/Z ppm): [M+1]⁺ 490. ¹H-RMN δ ppm (CDCl₃, 300 MHz) 7.71 (m, 2H, BzIm), 7.26 (m, 6H, BzIm), 7.16 (d, 2H, Ph), 7.04 (m, 1H, Ph), 6.97 (m, 2H, Ph), 4.00 (s, 4H, BzIm-CH₂), 3.65 (s, 6H, BzIm-CH₃), 3.59 (t, 4H, N-CH₂CH₂-Se). ⁷⁷Se-RMN δ (CDCl₃, 300 MHz) 239.

5.3.4. Complejos de coordinación

Las dos series de complejos de coordinación de Ni(II) se sintetizaron usando las sales [NiCl₂·6H₂O] y [Ni(OAc)₂·4H₂O] respectivamente.

1a [Ni(L1^{Me})(H₂O)(Cl)]Cl. En un matraz bola de 50 mL provisto de agitación, se añadieron 125 mg (0.53 mmol) de [NiCl₂·6H₂O] disueltos en 1 mL de metanol y 200 mg de L1^{Me} (0.53 mmol) disuelto en 10 mL de acetonitrilo. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 3 horas, tornándose verde oscura. La disolución se evaporó a presión reducida y se redisolvió en metanol/tetracloroetano, se obtuvo el complejo de Ni(II) mediante cristalización por evaporación lenta, se filtró y lavo con éter dietílico. Rendimiento: 68%. p.F.: >300°C (Desc. 280°C). IR (ATR): 3395, 3273, 3175, 2929, 1656, 1613, 1482, 1455, 1328, 1298, 1248, 1218, 1087, 1008, 995, 926, 896, 766, 749, 644, 540, 437, 427 cm⁻¹. FAB⁺ MS: m/z 472 [Ni(L1^{Me})(Cl)]⁺. UV-vis (CH₃CN): 394 (59), 615 (62). Anal. Calc. para C₂₃H₂₉Cl₆N₅NiOS [Ni(L1^{Me})(H₂O)(Cl)]Cl·C₂H₂Cl₄: N, 10.08; C, 39.75; H, 4.21; S, 4.61. Encontrado: N, 10.28; C, 39.92; H, 4.31; S, 4.74.

2a [Ni₂(L2^{Me})₂(μ-Cl)₃]Cl. En un matraz de fondo redondo de 50 mL, se añadieron 30 mg (0.12 mmol) de la sal de níquel [NiCl₂·6H₂O] disueltos en la mínima cantidad de metanol y 60 mg (0.12 mmol) de L2^{Me} disueltos en acetonitrilo. La mezcla se puso en agitación a temperatura ambiente por 4 horas. Lugo se dejó en evaporación lenta obteniéndose un sólido cristalino verde claro, el cual se filtró y los lavados posteriores con éter dietílico proporcionaron el compuesto analíticamente puro. Rendimiento: 20%. p.F.: >300°C (Desc. 300°C). IR (ATR): 3304, 3202, 2948, 2934, 1616, 1504, 1480, 1451, 1329, 1296, 1250, 1103, 1016, 1008, 979, 932, 899,

875, 763, 745, 556, 427 cm^{-1} . FAB⁺ MS: m/z 562 $[\text{Ni}(\text{L}^{\text{Me}})(\text{Cl})]^+$. UV-vis (CH_3CN): 303 (2671), 359 (321), 635 (14). Anal. Calc. Para $\text{C}_{56}\text{H}_{68}\text{Cl}_4\text{N}_{10}\text{Ni}_2\text{O}_3\text{S}_2$ $[\text{Ni}_2(\text{L}^{\text{Me}})_2(\mu\text{-Cl})_3]\text{Cl}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$: N, 11.18; C, 53.70; H, 5.47; S, 5.12. Encontrado: N, 11.19; C, 53.59; H, 5.33; S, 4.88.

3a $[\text{Ni}_2(\text{L}^{\text{Me}})_2(\mu\text{-Cl})_2][\text{NiCl}_4]$. En un matraz bola de 100 mL, provisto de agitación se colocaron 200 mg de L^{Me} (0.43 mmol) y 101 mg de $[\text{NiCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ (0.43 mmol), se disolvieron en 20 mL de CH_3CN y 1 mL de MeOH. La disolución se coloreó verde intenso a los 5 minutos de agitación; pasadas 3 horas de reacción a temperatura ambiente, el solvente se evaporó a presión reducida y el sólido se redisolvió en acetonitrilo/tetracloroetano, la disolución se dejó en evaporación lenta, obteniéndose un sólido verde azulado, que se filtró y lavó con éter dietílico. Rendimiento: 18%. p.F.: $>300^\circ\text{C}$ (Desc. 210°C). IR (ATR): 3060, 3025, 2944, 2930, 1613, 1498, 1482, 1453, 1326, 1295, 1151, 1127, 1103, 1007, 973, 926, 894, 782, 743, 697, 540, 431 cm^{-1} . FAB⁺ MS: m/z 562 $[\text{Ni}(\text{L}^{\text{Me}})(\text{Cl})]^+$. UV-vis (CH_3CN): 395 (46), 636 (41). Anal. Calc. para $\text{C}_{56}\text{H}_{70}\text{Cl}_6\text{N}_{10}\text{Ni}_3\text{O}_4\text{S}_2$ $[\text{Ni}_2(\text{L}^{\text{Me}})_2(\mu\text{-Cl})_2][\text{NiCl}_4]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$: N, 10.00; C, 48.04; H, 5.04; S, 4.58. Encontrado: N, 10.24; C, 48.01; H, 5.08; S, 4.28.

4a $[\text{Ni}_2(\text{L}^{\text{Me}})_2(\mu\text{-Cl})_2][\text{NiCl}_4]$. En un matraz bola de 100 mL, se colocaron 300 mg (0.61 mmol) de L^{Me} y una cantidad equimolar de $[\text{NiCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ (146 mg, 0.61 mmol), se agitó la disolución de acetonitrilo y metanol, durante 3 horas a temperatura ambiente; posteriormente cristalizó el complejo mediante evaporación lenta de metanol/ tetracloroetano, se filtró y lavó con éter dietílico. Rendimiento: 18%. p.F.: $>300^\circ\text{C}$ (Desc. 230°C). IR (ATR): 3356, 3053, 2942, 2912, 1616, 1500, 1481, 1453, 1327, 1294, 1101, 1108, 893, 783, 740, 684, 538, 430 cm^{-1} . FAB⁺ MS: m/z 582 $[\text{Ni}(\text{L}^{\text{Me}})(\text{Cl})]^+$. UV-vis (CH_3CN): 304 (4656), 414 (70), 651 (28). Anal. Calc. para $\text{C}_{56}\text{H}_{58}\text{Cl}_{14}\text{N}_{10}\text{Ni}_3\text{Se}_2$ $[\text{Ni}_2(\text{L}^{\text{Me}})_2(\mu\text{-Cl})_2][\text{NiCl}_4]\cdot 2\text{C}_2\text{H}_2\text{Cl}_4$: N, 8.23; C, 39.53; H, 3.44. Encontrado. N, 8.12; C 39.63; H, 3.54.

1b $[\text{Ni}(\text{L}^{\text{Me}})(\text{OAc})_2(\text{H}_2\text{O})]$. En un matraz bola de 50 mL provisto de agitación, se añadieron 20 mg (0.05 mmol) de $[\text{Ni}(\text{OAc})_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ disueltos en 1 mL de metanol y 13.2 mg (0.05 mmol) de L^{Me} disuelto en 5 mL de acetonitrilo. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 4 horas. La disolución resultante se evaporó lentamente obteniéndose cristales azul claro, que se filtraron y lavaron con éter dietílico. Rendimiento: 59%. p.F.: $>300^\circ\text{C}$ (Desc. 200°C). FAB⁺ MS: m/z 496 $[\text{Ni}(\text{L}^{\text{Me}})(\text{OAc})]^+$. UV-vis (MeOH): 379 (25), 596 (10), 970 (9). Anal. Calc. para $\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{NiO}_5\text{S}$ $[\text{Ni}(\text{L}^{\text{Me}})(\text{OAc})_2(\text{H}_2\text{O})]$: N, 12.19; C, 52.28; H, 5.79; S, 5.58. Encontrado: N, 12.57; C, 52.13; H, 5.80; S, 5.25.

3b $[\text{Ni}(\text{L}^{\text{Me}})(\text{OAc})_2(\text{H}_2\text{O})]$. En un matraz bola de 50 mL se añadieron 25 mg (0.05 mmol) de la sal $[\text{Ni}(\text{OAc})_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ disueltos en 1 mL de metanol y 13.3 mg (0.05 mmol) de L^{Me} disuelto en 5 mL de acetonitrilo. La reacción se agito a temperatura ambiente por 3 horas. La disolución se secó a vacío y el sólido resultante se recristalizó en acetonitrilo/tetracloroetano obteniéndose cristales verdes claros, que se filtraron y lavaron con éter dietílico. Rendimiento: 50%. p.F.: $>300^\circ\text{C}$ (Desc. 195°C). IR (ATR): 3239, 3059, 3023, 2927, 1650, 1614, 1496, 1453, 1319, 1292, 1249, 1105, 1006, 930, 785, 747, 698, 645, 544, 504, 434, 415 cm^{-1} . FAB⁺ MS: m/z 586 $[\text{Ni}(\text{L}^{\text{Me}})(\text{OAc})]^+$. UV-vis (MeOH): 396 (35), 657 (16), 985 (13). Anal. Calc. para $\text{C}_{38}\text{H}_{47}\text{Cl}_4\text{N}_7\text{NiO}_5\text{S}$

[Ni(L3^{Me})(OAc)₂(H₂O)] · (C₂H₂Cl₄)(CH₃CN)₂: N, 10.72; C, 49.91; H, 5.18; S, 3.71. Encontrado: N, 9.94; C, 50.48; H, 4.87; S, 4.70.

4b [Ni(L4^{Me})(OAc)₂(H₂O)]. En un matraz bola se añadieron 30 mg (0.06 mmol) de la sal [Ni(OAc)₂·4H₂O] disueltos en 1 mL de metanol y 15.3 mg (0.06 mmol) de L4^{Me} disuelto en 5 mL de acetonitrilo. La reacción se agito a temperatura ambiente por 5 horas. La disolución se cristalizó mediante evaporación lenta, obteniéndose cristales azules claros los cuales se filtraron y lavaron con éter dietílico. Rendimiento: 70%. p.F.: >300°C (Desc. 205°C). IR (ATR): 3052, 2944, 2832, 1566, 1401, 1327, 1298, 1251, 1022, 1006, 930, 876, 738, 693, 545, 466, 429 cm⁻¹. FAB⁺ MS: *m/z* 606 [Ni(L4^{Me})(OAc)]⁺. UV-vis (MeOH): 643 (7), 986 (5). Anal. Calc. para C₃₀H₃₅N₅NiO₅Se [Ni(L4^{Me})(OAc)₂(H₂O)]: N, 10.25; C, 52.73; H, 5.16. Encontrado: N, 9.97; C, 52.27; H, 5.08.

CuL3 [Cu(L3^{Me})(Cl)]Cl. En un matraz bola de 100 mL, provisto de agitación se colocaron 50 mg de L3^{Me} (0.11 mmol) y 18.2 mg de [CuCl₂·2H₂O] (0.11 mmol), se disolvieron en 10 mL de CH₃CN y 1 mL de MeOH, pasadas 3 horas de reacción a temperatura ambiente, el solvente se dejó evaporar lentamente, obteniéndose un sólido verde intenso que se filtró y lavó con éter dietílico. Rendimiento: 74%. p.F.: >200°C (Desc. 148°C). IR (ATR): 3358, 1613, 1499, 1452, 1323, 1291, 1090, 1008, 932, 746, 699, 638, 566, 543, 472 cm⁻¹. FAB⁺ MS: *m/z* 567 [Cu(L3^{Me})(Cl)]⁺. UV-vis (H₂O): 333 (550), 708 (95). RPE (77K, CH₃CN): *g* = 2.103 G. Anal. Calc. para C₂₉H₃₉Cl₂CuN₅O₃S [Cu(L3^{Me})(Cl)]Cl·(H₂O)₂(CH₃OH): N, 10.42; C, 51.82; H, 5.85; S, 4.77. Encontrado: N, 10.32; C, 51.59; H, 4.92; S, 4.91.

5.4. Citotoxicidad

Las líneas celulares SK-LU-1, HeLa y HEK se obtuvieron de la *American Type Culture Collection* (ATCC, UK). Las células se cultivaron en matraces de cultivo de tejidos en condiciones estandar: medio *Roswell Park Memorial Institute-1640* (RPMI-1640, Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) con rojo de fenol, NaHCO₃ 2.0 g/L, enriquecido con suero fetal bovino al 10% (SFB, Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) y gentamicina 50 mg/mL (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) en una incubadora humidificada con 5% de CO₂ a 37°C. Los ensayos biológicos se realizaron con células en placas de 96 pocillos, hasta alcanzar una confluencia del 80-90%, por triplicado.

Los compuestos se evaluaron a concentraciones de 1, 5, 10, 25, 50, 75, 100 µM. La actividad metabólica se determinó mediante el ensayo de bromuro de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazolio (MTT, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) a las 72 horas después de aplicar el tratamiento, pasado este tiempo el medio de cultivo fue reemplazado por 100 µL de MTT disuelto en medio RPMI (concentración final de 0.33 mg/mL) por pozo y se incubaron a 37°C en una atmósfera humidificada con CO₂ al 5% durante 1 hora en ausencia de luz. Después del tiempo de incubación, se eliminó el sobrenadante y se añadieron 100 µL de DMSO para

disolver los cristales de formazán. El valor de absorbancia de cada pozo se midió con un lector de microplacas (SPECTROstar Nano, BMG Labtech) a una longitud de onda de 570 nm.

La citotoxicidad se expresó como IC₅₀, que es la concentración del compuesto de prueba que inhibe las células cancerosas en un 50% en comparación con el control. Se incluyó el control que contenía células no tratadas para cada muestra. El IC₅₀ se determinó gráficamente empleando GraphPad Prism versión 8.0.1 para Windows¹³⁶.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Lin, C.; Power, P. P.; Lin, C. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 5347–5399.
2. Das, K.; Woyessa, G. W.; Datta, A.; Beyene, B. B.; Goswami, S.; Garribba, E.; Frontera, A.; Sinha, C. *J. Mol. Struct.* **2018**, *1173*, 462–468.
3. Shimazaki, Y.; Yamauchi, O. *Chem. Biodivers.* **2012**, *9*, 1635–1658.
4. Budagumpi, S.; Balakrishna, G. R. *Future Med. Chem.* **2015**, *7*, 1305–1333.
5. Bercot, E. A.; Rovis, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 247–254.
6. Aligholivand, M.; Shaghaghi, Z.; Bikas, R.; Kozakiewicz, A. *RSC Adv.* **2019**, *9*, 40424–40436.
7. Harmalkar, S. S.; Narulkar, D. D.; Butcher, R. J.; Deshmukh, M. S. *Inorganica Chim. Acta* **2019**, *486*, 425–434.
8. Maroney, M. J. *Nickel Bioinorganic Systems*; Elsevier Ltd., **2013**.
9. Maroney, M. J. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, *3*, 188–199.
10. Prueitt, R. L.; Goodman, J. E. In *Hamilton & Hardy's Industrial Toxicology*; **2015**; pp. 173–182.
11. Drašković, N. S.; Glišić, B. Đ.; Vojnovic, S.; Nikodinovic-Runic, J.; Djuran, M. I. *J. Serb. Chem. Soc.* **2017**, *82*, 389–398.
12. Sigel, H.; Sigel, A. In *Metal Ions in Biological Systems*; **2004**; Vol. 23, pp. 496–512.
13. Wombwell, C.; Caputo, C. A.; Reisner, E. *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 2858–2865.
14. Sinha, S.; Warren, J. *Inorg. Chem.* **2018**, *57*, 12650–12656 Article.
15. Chun-wei, H.; Kuo, C.-F.; Chuang, S.-M.; Hou, M.-H. *Biometals* **2013**, *26*, 1–12.
16. Bombicz, P.; Forizs, E.; Madarasz, J.; Deak, A.; Kalman, A. *Inorganica Chim. Acta* **2001**, *315*, 229–235.
17. Xu, B.; Shi, P.; Guan, Q.; Shi, X. *J. Coord. Chem.* **2013**, *66*, 2605–2614.
18. Alomar, K.; Landreau, A.; Allain, M.; Bouet, G.; Larcher, G. *J. Inorg. Biochem.* **2013**, *126*, 76–83.
19. Luo, W.; Meng, X.; Sun, X.; Xiao, F.; Shen, J. *Inorg. Chem. Commun.* **2007**, *10*, 1351–1354.
20. Shawish, H. B.; Wong, W. Y.; Wong, Y. L.; Loh, S. W.; Looi, C. Y.; Hassandarvish, P.; Yi, A.; Phan, L.; Wong, W. F.; Wang, H.; Paterson, I. C.; Ea, C. K.; Mustafa, M. R.; Maah, M. J. *PLoS One* **2014**, *9*, 100933–10946.
21. Perontsis, S.; Hatzidimitriou, A. G.; Papadopoulos, A. N.; Psomas, G. *J. Inorg. Biochem.* **2016**, *162*, 9–21.
22. Bisceglie, F.; Pinelli, S.; Alinovi, R.; Goldoni, M.; Mutti, A.; Camerini, A.; Piola, L.; Tarasconi, P.; Pelosi, G. *J. Inorg. Biochem.* **2014**, *140*, 111–125.
23. Barone, G.; Terenzi, A.; Lauria, A.; Maria, A. *Coord. Chem. Rev.* **2013**, *257*, 2848–2862.
24. Wang, Y.; Shyu, H.; Chang, Y.; Tseng, W.; Huang, Y.; Lin, K.; Chou, M.; Liu, H.; Chen, C. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2012**, *259*, 177–186.
25. Ishak, N. N. M.; Jamsari, J.; Ismail, A. Z.; Tahir, M. I. M.; Tiekink, E. R. T.; Veerakumarasivam, A.; Ravoof, T. B. S. A. *J. Mol. Struct.* **2019**, *1198*, 1268–1278.
26. Gupta, S. K.; Anjana, C.; Sen, N.; Butcher, R. J.; Jasinski, J. P.; Golen, J. A. *Polyhedron*

- 2015**, 89, 219–231.
27. Boer, J. L.; Mulrooney, S. B.; Hausinger, R. P. *Arch. Biochem. Biophys.* **2014**, 544, 142–152.
 28. Harrop, T. C. In *Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry. Nickel: Models of Protein Active Sites. Update based on the original article by Wen-Feng Liaw, Encyclopedia of Inorganic Chemistry Second Edition, © 2005, John Wiley & Sons, Ltd.*; **2012**.
 29. Collinson, S. R.; Schroder, M. In *Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry*; **2011**.
 30. Kargatov, A. M.; Boshkova, E. A.; Chirgadze, Y. N. *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2018**, 36, 2699–2712.
 31. Frey, M. *ChemBioChem* **2002**, 3, 153–160.
 32. Qiu, S.; Li, Q.; Xu, Y.; Shen, S.; Sun, C. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* **2020**, 10, 1422–1439.
 33. Bose, M.; Li, Z.; Matsumoto, T.; Tatsumi, K. *Inorg. Chem.* **2020**, 59, 968–971.
 34. Pelmeshnikov, V.; Siegbahn, P. E. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 7466–7475.
 35. Ryan, K. C.; Johnson, O. E.; Cabelli, D. E.; Brunold, T. C.; Maroney, M. J. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2010**, 15, 795–807.
 36. Manesis, A. C.; Musselman, B. W.; Keegan, B. C.; Shearer, J.; Lehnert, N.; Shafaat, H. S. *Inorg. Chem.* **2019**, 58, 8969–8982.
 37. Boyd, J. A.; Jungbluth, S. P.; Leu, A. O.; Evans, P. N.; Woodcroft, B. J.; Chadwick, G. L.; Orphan, V. J.; Amend, J. P.; Rappé, M. S.; Tyson, G. W.; Tyson, G. W. *ISME J.* **2019**, 13, 1269–1279.
 38. Thauer, R. K. *Biochemistry* **2019**, 58, 5198–5220.
 39. Zhao, C.; Chen, X.; Zang, D.; Lan, X.; Liao, S.; Yang, C.; Zhang, P.; Wu, J.; Li, X.; Liu, N.; Liao, Y.; Huang, H.; Shi, X.; Jiang, L.; Liu, X.; He, Z.; Dou, Q. P.; Wang, X.; Liu, J. *Oncogene* **2016**, 35, 5916–5927.
 40. Chen, J.; Huang, Y.; Liu, G.; Afrasiabi, Z.; Sinn, E.; Padhye, S.; Ma, Y. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2004**, 197, 40–48.
 41. Venugopal, N.; Krishnamurthy, G.; Bhojyanaik, H. S.; Giridhar, M. *J. Mol. Struct.* **2019**, 1191, 85–94.
 42. Ray, S.; Asthana, J.; Tanski, J. M.; Shaikh, M. M.; Panda, D.; Ghosh, P. *J. Organomet. Chem.* **2009**, 694, 2328–2335.
 43. Groysman, S.; Holm, R. H. *Biochemistry* **2009**, 48, 2310–2320.
 44. Vlugt, J. I. Van Der; Meyer, F. In *Metal Ions in Life Sciences*; Sigel, A.; Sigel, H.; Sigel, R. K. O., Eds.; **2007**; Vol. 2, pp. 181–240.
 45. Shiren, K.; Ogo, S.; Fujinami, S.; Hayashi, H.; Suzuki, M.; Uehara, A.; Watanabe, Y.; Morooka, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 254–262.
 46. Halvagar, M. R.; Salmon, D. J.; Tolman, W. B. In *Comprehensive Inorganic Chemistry II. Small Molecule Models: Cu, Ni, Co*; Elsevier Ltd., **2013**; pp. 455–486.
 47. Fiedler, A. T.; Fischer, A. A. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2017**, 22, 407–424.
 48. Duan, P.-C.; Manz, D.-H.; Dechert, S.; Demeshko, S.; Meyer, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, 140, 4929–4939.
 49. Sankaralingam, M.; Balamurugan, M.; Palaniandavar, M. *Coord. Chem. Rev.* **2020**, 403,

213085.

50. Kimura, E.; Sakonaka, A.; Machida, R. *J. Am. Chem. Soc* **1982**, *104*, 4255–4257.
51. Hikichi, S.; Yoshizawa, M.; Sasakura, Y.; Akita, M.; Moro-oka, Y. *J. Am. Chem. Soc* **1998**, *120*, 10567–10568.
52. Hikichi, S.; Yoshizawa, M.; Sasakura, Y.; Komatsuzaki, H.; Moro-oka, Y.; Akita, M. *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 5011–5028.
53. Cho, J.; Furutachi, H.; Fujinami, S.; Suzuki, M. *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 3362–3365.
54. Mandimutsira, B. S.; Yamarik, J. L.; Brunold, T. C.; Gu, W.; Cramer, S. P.; Riordan, C. G. *J. Am. Chem. Soc* **2001**, *123*, 9194–9195.
55. Fujita, K.; Rheingold, A. L.; Riordan, C. G. *Dalton Trans.* **2003**, 2004–2008.
56. Kieber-Emmons, M. T.; Schenker, R.; Yap, G. P. A.; Brunold, T. C.; Riordan, C. G. *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 6884–6886.
57. Fujita, K.; Schenker, R.; Gu, W.; Brunold, T. C.; Cramer, S. P.; Riordan, C. G. *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 3324–3326.
58. Kieber-Emmons, M. T.; Annaraj, J.; Seo, M. S.; Heuvelen, K. M. Van; Tosha, T.; Kitagawa, T.; Brunold, T. C.; Nam, W.; Riordan, C. G. *J. Am. Chem. Soc* **2006**, *128*, 14230–14231.
59. Morimoto, Y.; Takagi, Y.; Saito, T.; Ohta, T.; Ogura, T.; Tohnai, N.; Nakano, M.; Itoh, S.; *This Angew. Chem.* **2018**, *57*, 7640–7643.
60. Yap, C. P.; Chong, Y. Y.; Chwee, T. S.; Fan, W. Y. *Dalton Trans.* **2018**, *47*, 8483–8488.
61. Bergamini, G.; Natali, M. *Dalton Trans.* **2019**, *48*, 4653–14661.
62. Maher, A. G.; Liu, M.; Nocera, D. G. *Inorg. Chem.* **2019**, *58*, 7958–7968.
63. Ahmad, E.; Rai, S.; Padhi, S. K. *Int. J. Hydrogen Energy* **2019**, *44*, 16467–16477.
64. Artero, V.; Pe, J.; Fontecave, M. *Proc Natl Acad Sci USA* **2009**, *106*, 20627–20632.
65. Collin, J.-P.; Jouaiti, A.; Sauvage, J.-P. *J. Am. Chem. Soc* **1988**, *27*, 1986–1990.
66. Mccrory, C. C. L.; Uyeda, C.; Peters, J. C. *J. Am. Chem. Soc* **2012**, *134*, 3164–3170.
67. Luca, O. R.; Konezny, S. J.; Blakemore, J. D.; Colosi, D. M.; Saha, S.; Brudvig, G. W.; Batista, S.; Crabtree, R. H. *New J. Chem.* **2012**, *36*, 1149–1152.
68. Zhang, W.; Hong, J.; Zheng, J.; Huang, Z.; Xu, R. *J. Am. Chem. Soc* **2011**, *133*, 20680–20683.
69. Han, Z.; Shen, L.; Brennessel, W. W.; Holland, P. L.; Eisenberg, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 14659–14669.
70. Helm, M. L.; Stewart, M. P.; Bullock, R. M.; DuBois, M. R.; DuBois, D. L. *Science* **2011**, *333*, 863–866.
71. Ding, S.; Ghosh, P.; Lunsford, A. M.; Wang, N.; Bhuvanesh, N.; Hall, M. B.; Darensbourg, M. Y. *J. Am. Chem. Soc* **2016**, *138*, 12920–12927.
72. Carroll, M. E.; Barton, B. E.; Rauchfuss, T. B.; Carroll, P. J. *J. Am. Chem. Soc* **2012**, *134*, 18843–18852.
73. Seo, J.; Manes, T. A.; Rose, M. J. *Nat. Chem.* **2017**, *9*, 552–557.
74. Tong, L.; Duan, L.; Zhou, A.; Thummel, R. P. *Coord. Chem. Rev.* **2020**, *402*, 213079.
75. Knyazeva, I. R.; Matveeva, V. I.; Khrizanforova, V. V.; Syakaev, V. V.; Budnikova, Y. H.; Habicher, D.; Buriilov, A. R. *Mendeleev Communications* **2019**, *29*, 388–390.
76. Kirpik, H.; Kose, M. *Appl. Organomet. Chem.* **2019**, *33*, 1–10.
77. Sanchez-Eguía, B. N. Síntesis, caracterización electroquímica y reactividad de complejos de cobre con ligantes bencimidazolilaminotioéter. Tesis de doctorado, UNAM, **2017**.

78. Das, S.; Sinha, S.; Jash, U.; Sikari, R.; Saha, A.; Barman, S. K.; Branda, P.; Paul, N. D. *Inorg. Chem.* **2018**, *57*, 5830–5841.
79. Lee, W.; Tseng, H.; Kuo, T. *Dalton Trans.* **2007**, 2563–2570.
80. Flores-alamo, M.; Mart, P. R.; Aullo, G. *Inorg. Chem.* **2015**, *54*, 619–627.
81. Pirovano, P.; Twamley, B.; Mcdonald, A. R. *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 5238–5245.
82. Snider, V. G.; Farquhar, E. R.; Allen, M.; Abu-spetani, A.; Mukherjee, A. J. *Inorg. Biochem.* **2017**, *175*, 110–117.
83. Garai, M.; Dey, D.; Ram, H.; Roy, A.; Kole, N.; Biswas, B. *Polyhedron* **2017**, *129*, 114–122.
84. Kankanamalage, P. H. A.; Ekanayake, D. M.; Singh, N.; Morais, A. C. P. De; Mazumder, S.; Verani, N.; Mukherjee, A.; Lanznaster, M. *New J. Chem.* **2019**, *43*, 12795–12803.
85. Bain, G. A.; Berry, J. F. *J. Chem. Educ.* **2008**, *85*, 1–5.
86. Patel, R. N.; Shukla, K. K.; Singh, A.; Choudhary, M.; Patel, D. K.; Cartuja, C. J. *Coord. Chem.* **2010**, *63*, 3648–3661.
87. Perontsis, S.; Tialiou, A.; Hatzidimitriou, A. G.; Papadopoulos, A. N.; Psomas, G. *Polyhedron* **2017**, *138*, 258–269.
88. Bossek, U.; Nuhlen, D.; Bill, E.; Glaser, T.; Krebs, C.; Weyhermuller, T.; Wieghardt, K.; Lengen, M.; Trautwein, A. X. *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 2834–2843.
89. Hong, D.; Tsukakoshi, Y.; Kotani, H.; Ishizuka, T.; Ohkubo, K.; Shiota, Y.; Yoshizawa, K.; Fukuzumi, S.; Kojima, T. *Inorg. Chem.* **2018**, *57*, 7180–7190.
90. Ramírez-Delgado, V.; Osorio-Monreal, G.; Hernández-Ayala, L. F.; Reyes-Vidal, Y.; García-Ramos, J. C.; Ruiz-Azuara, L.; Ortiz-Frade, L. *J. Mex. Chem. Soc.* **2015**, *59*, 294–301.
91. Ourari, A.; Bougossa, I.; Bouacida, S.; Aggoun, D. *J. Iran. Chem. Soc.* **2017**, *14*, 703–715.
92. Djebbar-Sid, S.; Benali-Baitich, O.; Khan, M. A.; Bouet, G. *Synth. React. Inorg. Met. Chem.* **1997**, *27*, 1219–1233.
93. Williams, P. A.; Jones, A. C.; Bickley, J. F.; Steiner, A.; Hywel, O.; Leedham, T. J.; Impey, S. A.; Garcia, J.; Allen, S. *J. Mater. Chem.* **2001**, *11*, 2329–2334.
94. Al-riyahee, A. A. A.; Hadadd, H. H.; Jaaz, B. H. *Orient. J. Chem.* **2018**, *34*, 2927–2941.
95. Halcrow, M. A.; Christou, G. *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 2421–2481.
96. Felton, G. A. N.; Glass, R. S.; Lichtenberger, D. L.; Evans, D. H. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 9181–9184.
97. Goh, Y. X. C.; Tang, H. M.; Loke, W. L. J.; Fan, W. Y. *Inorg. Chem.* **2019**, *58*, 12178–12183.
98. Rountree, E. S.; Mccarthy, B. D.; Eisenhart, T. T.; Dempsey, J. L. *Inorg. Chem.* **2014**, *53*, 9983–10002.
99. Felton, G. A. N.; Mebi, C. A.; Petro, B. J.; Vannucci, A. K.; Evans, D. H.; Glass, R. S.; Lichtenberger, D. L. *J. Organomet. Chem.* **2009**, *694*, 2681–2699.
100. Costentin, C.; Passard, G.; Savéant, J.-M. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 5461–5467.
101. Costentin, C.; Drouet, S.; Robert, M.; Savéant, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 11235–11242.
102. Kaur-Ghumaan, S.; Hasche, P.; Spannenberg, A.; Beweries, T. *Dalton Trans.* **2019**, *48*, 16322–16329.
103. Appel, A. M.; Helm, M. L. *ACS Catal.* **2014**, *4*, 630–633.
104. Ho, M.; Rousseau, R.; Roberts, J. A. S.; Wiedner, E. S.; Dupuis, M.; Dubois, D. L.; Bullock, R. M.; Raugei, S. *ACS Catal.* **2015**, *5*, 5436–5452.

105. Parkin, A.; Goldet, G.; Cavazza, C.; Fontecilla-camps, J. C.; Armstrong, F. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13410–13416.
106. Deng, C.; Zhang, D.; Xie, B.; Lai, C.; He, L.; Hu, S. *Polyhedron* **2018**, *155*, 407–414.
107. Pan, Z.-H.; Tao, Y.-W.; He, Q.-F.; Wu, Q.-Y.; Cheng, L.-P.; Wei, Z.-H.; Ji-HuaiWu; Jin-QingLin; Sun, D.; Qi-ChunZhang; Tian, D.; Luo, G.-G. *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 8275–8280.
108. Luo, S.; Siegler, M. A.; Bouwman, E. *Organometallics* **2018**, *37*, 740–747.
109. Wang, D.; Bruner, C. O. *Inorg. Chem.* **2017**, *56*, 13638–13641.
110. Company, A.; Yao, S.; Ray, K.; Driess, M. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 9669–9675.
111. Kim, S.; Saracini, C.; Siegler, M. A.; Drichko, N.; Karlin, K. D. *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 12603–12605.
112. Chaloner, L.; Khomutovskaya, A.; Thomas, F.; Ottenwaelder, X. *Dalton Trans.* **2016**, *45*, 11109–11119.
113. Cho, J.; Kang, Y.; Liu, L. V.; Sarangi, R.; Nam, W. *Chem. Sci.* **2013**, *4*, 1502–1508.
114. Kunishita, A.; Doi, Y.; Kubo, M.; Ogura, T.; Sugimoto, H.; Itoh, S. *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 4997–5004.
115. Rybak-akimova, E. V In *Physical Inorganic Chemistry: Reactions, Processes, and Applications. Mechanisms of oxygen binding and activation at transition metal centers*; **2010**.
116. Corona, T.; Draksharapu, A.; Padamati, S. K.; Gamba, I.; Martin-Diaconescu, V.; Acuña-Parés, F.; Browne, W. R.; Company, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 12987–12996.
117. Padamati, S. K.; Angelone, D.; Draksharapu, A.; Primi, G.; Martin, D. J.; Tromp, M.; Swart, M.; Browne, W. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 8718–8724.
118. Khomenko, V. M.; Langer, K.; Wirth, R. *Phys. Chem. Miner.* **2003**, *30*, 98–107.
119. Castillo, I.; Suwalsky, M.; Gallardo, M. J.; Troncoso, V.; Sánchez-Eguía, B. N.; Santiago-Osorio, E.; Aguiñiga, I.; González-Ugarte, A. K. *J. Inorg. Biochem.* **2016**, *156*, 98–104.
120. Alper, P.; Erkisa, M.; Mutlu, H.; Sahin, S.; Ulukaya, E.; Ari, F. *J. Mol. Struct.* **2019**, *1196*, 783–792.
121. Rocco, D.; Batchelor, L. K.; Agonigi, G.; Braccini, S.; Chiellini, F.; Schoch, S.; Biver, T.; Funaioli, T.; Zacchini, S.; Biancalana, L.; Ruggeri, M.; Pampaloni, G.; Dyson, P. J.; Marchetti, F. **2019**, 14801–14816.
122. Estrada-montaño, A. S.; Ryabov, A. D.; Gries, A.; Gaiddon, C.; Le Lagadec, R. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2017**, 1673–1678.
123. Liu, M.; Song, X.; Wu, Y.; Qian, J.; Xu, J. *Dalton Trans.* **2020**, *49*, 114–123.
124. Baosic, R.; Radojevic, A.; Tripkovic, T.; Aburas, N.; Tesic, Z. *Chromatographia* **2010**, *72*, 545–549.
125. Rudnev, A. V; Foteeva, L. S.; Kowol, C.; Berger, R.; Jakupec, M. A.; Arion, V. B.; Timerbaev, A. R.; Keppler, B. K. *J. Inorg. Biochem.* **2006**, *100*, 1819–1826.
126. Tetko, I. V.; Gasteiger, J.; Todeschini, R.; Mauri, A.; Livingstone, D.; Ertl, P.; Palyulin, V. A.; Radchenko, E. V.; Zefirov, N. S.; Makarenko, A. S.; Tanchuk, V. Y.; Prokopenko, V. V. *J. Comput. Aided. Mol. Des.* **2005**, *19*, 453–463.
127. VCCLAB, Virtual Computational Chemistry Laboratory, <http://www.vcclab.org>, **2005**.
128. Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, *46*, 3–26.
129. Süleymanoglu, M.; Kaya, B.; Erdem-Kuruca, S.; Ulkuseven, B. *J. Biochem. Mol. Toxicol.*

- 2019**, 33, 1–9.
130. Kumar, A.; Rao, G. K.; Saleem, F.; Kumar, R.; Singh, A. K. *J. Hazard. Mater.* **2014**, 269, 9–17.
 131. Ghosh, S.; Tochtrop, G. P. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 1723–1726.
 132. Verma, R. K.; Ghosh, P.; Kumar, V.; Wadhwa, L. K. *J. Chem. Sci.* **2013**, 1555–1571.
 133. Flosi, W. J.; Degeoey, D. A.; Grampovnik, D. J.; Chen, H.; Klein, L. L.; Dekhtyar, T.; Masse, S.; Marsh, K. C.; Mo, H. M.; Kempf, D. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 6695–6712.
 134. Sánchez-Eguía, B. N.; Flores-Alamo, M.; Orio, M.; Castillo, I. *Chem. Commun.* **2015**, 51, 11134–11137.
 135. Castillo, I.; Sánchez-Eguía, B. N.; Martínez-Alanis, P. R.; Ugalde-Saldívar, V. M.; Flores-Alamo, M. *Polyhedron* **2015**, 85, 824–829.
 136. GraphPad Prism version 8.0.1 for Windows, GraphPad Software.

ANEXOS

Tabla A1. Datos cristalográficos de los complejos **1a**, **2a**, **3a** y **4a**

	1^a	2a	3a	4a
Formula empírica	C ₂₁ H ₂₉ Cl ₂ N ₅ NiO ₃ S	C ₅₆ H ₆₈ Cl ₄ N ₁₀ Ni ₂ O ₃ S ₂	C ₆₂ H ₇₁ Cl ₆ N ₁₃ Ni ₃ S ₂	C ₆₂ H ₆₄ Cl ₂₆ N ₁₀ Ni ₃ Se ₂
Peso molecular	561.16	1252.54	1451.26	2204.98
Temperatura	298(2) K	100(2) K	130(2) K	130(2) K
Longitud de onda	0.71073 Å	0.71073 Å	0.71073 Å	0.71073 Å
Sistema cristalino	Triclínico	Monoclínico	Monoclínico	Triclínico
Grupo espacial	P-1	C2/c	P 2 1/c	P -1
Dimensiones de la celda	a= 9.772(2) Å	a=22.1478(13) Å	a=19.1172(16) Å	a=13.2046(15) Å
	b= 11.675(3) Å	b=16.0954(9) Å	b = 21.037(3) Å	b=15.5353(16) Å
	c= 12.607(3) Å	c=15.7892(9) Å	c=16.3655(9)Å	c=23.247(2) Å
	α = 80.808(6)°	α = 90°	α = 90°	α = 76.998(9)°
	β = 71.554(6)°	β = 94.5402(12)°	β = 95.512(6)°	β = 79.473(9)°
	γ = 71.654(6)°	γ = 90°	γ = 90°	γ = 68.262(10)°
Densidad (calculada)	1.442 mg/m ³	1.483 mg/m ³	1.471 mg/m ³	1.707 mg/m ³
Volumen	1292.2(5) Å ³	5610.8(6) Å ³	6551.3(11) Å ³	4290.0(8) Å ³
Z	2	4	4	2
Coefficiente de Absorción	1.070 mm ⁻¹	0.991 mm ⁻¹	1.212 mm ⁻¹	2.355 mm ⁻¹
F(000)	584	2616	3008	2200
Tamaño del cristal	0.38x0.136x0.098 mm ³	0.400x0.139x0.062 mm ³	0.270x0.130x0.070 mm ³	0.270x0.170x0.120 mm ³
Reflexiones colectadas	19510	27398	39705	47896
Reflexiones independientes	4709	6448	15899	20268
Corrección de absorción	[R(int) = 0.0303]	[R(int) = 0.0423]	[R(int) = 0.0585]	[R(int) = 0.1042]
Método de refinamiento	Multi-scan	None	Analytical	Analytical
Datos / restricciones / parámetros	Full-matrix least-squares on F ²	Full-matrix least-squares on F ²	Full-matrix least-squares on F ²	Full-matrix least-squares on F ²
Bondad de ajuste en F²	4709 / 13 / 334	6448 / 597 / 509	15899 / 0 / 782	20268 / 0 / 932
Índices R finales [I > 2 sigma (I)]	1.078	1.026	1.056	1.021
Índices R (todos los datos)	R1 = 0.0402	R1 = 0.0321	R1 = 0.0868	R1 = 0.0721
	wR ² = 0.1119	wR ² = 0.0749	wR ² = 0.2160	wR ² = 0.1632
	R1 = 0.0444	R1 = 0.0450	R1 = 0.1105	R1=0.1539
	wR ² = 0.1164	wR ² = 0.0818	wR ² = 0.2415	wR ² = 0.2137

Tabla A2. Datos cristalográficos de los complejos 1b, 3b y 4b

	1b	3b	4b
Formula empírica	C ₂₇ H ₃₆ N ₆ NiO ₅ S	C ₃₄ H ₄₂ N ₆ NiO ₅ S	C ₃₀ H ₃₅ N ₅ Ni ₃ O ₅ Se
Peso molecular	615.39	705.50	683.30
Temperatura	200(2) K	149(2) K	100(2) K
Longitud de onda	0.71073 Å	0.71073 Å	0.71073 Å
Sistema cristalino	Monoclínico	Triclínico	Monoclínico
Grupo espacial	P 2 1/c	P-1	P 2 1/c
Dimensiones de la celda	a= 11.0287(4) Å b= 16.7037(6) Å c= 16.5341(5) Å α = 90° β = 99.4320(10)° γ = 90°	a=8.3751(5) Å b=12.6629(8) Å c=17.1964(10) Å α = 86.301(2)° β = 88.972(2)° γ = 70.925(2)°	a= 11.1511(4) Å b= 16.5276(5) Å c= 16.5831(6) Å α = 90° β = 105.0122(6)° γ = 90°
Densidad (calculada)	1.360 mg/m ³	1.362 mg/m ³	1.537 mg/m ³
Volumen	3004.74(18) Å ³	1719.99(18) Å ³	2951.97(18) Å ³
Z	4	2	4
Coefficiente de Absorción	0.761 mm ⁻¹	0.674 mm ⁻¹	1.939 mm ⁻¹
F(000)	1296	744	1408
Tamaño del cristal	0.400 x 0.294 x 0.184 mm ³	0.394x0.174x0.092 mm ³	0.204x0.121x0.042 mm ³
Reflexiones colectadas	36238	18116	49695
Reflexiones independientes	5521 [R(int) = 0.0428]	6270 [R(int) = 0.0339]	6742 [R(int) = 0.0241]
Corrección de absorción	Multi-scan	Analytical	Multi-scan
Método de refinamiento	Semi-empirical from equivalents	Semi-empirical from equivalents	Semi-empirical from equivalents
Datos / restricciones / parámetros	5521 / 3 / 375	6270 / 0 / 437	6742 / 3 / 389
Bondad de ajuste en F²	1.061	1.127	1.039
Índices R finales [I > 2 sigma (I)]	R1 = 0.0456 wR ² = 0.1000	R1 = 0.0603 wR ² = 0.1159	R1 = 0.0215 wR ² = 0.0554
Índices R (todos los datos)	R1 = 0.0653 wR ² = 0.1100	R1 = 0.0754 wR ² = 0.1240	R1=0.0251 wR ² = 0.0570

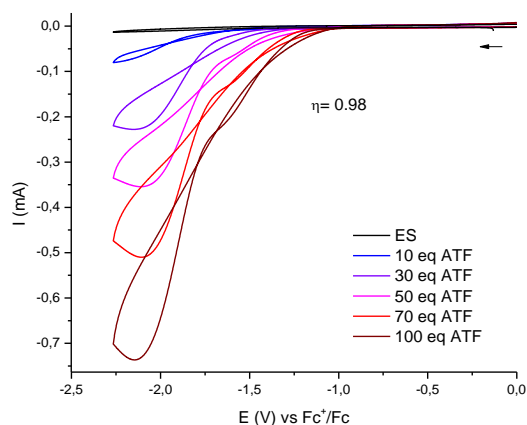


Figura A1. Voltamperograma cíclico control de la reducción de protones por el electrodo de carbón vítreo. Electrolito soporte (ES) y diferentes adiciones de ATF, sin catalizador.

$$\frac{i_{cat}}{i_p} = \frac{n}{0.446} \sqrt{\frac{RTk[acid]^2}{Fv}}$$

Ecuación A1. Cálculo de la velocidad observada k (TOF / s^{-1}), donde n es el número de electrones involucrados en la reacción catalítica y v es la velocidad de barrido ($0.1 V s^{-1}$).

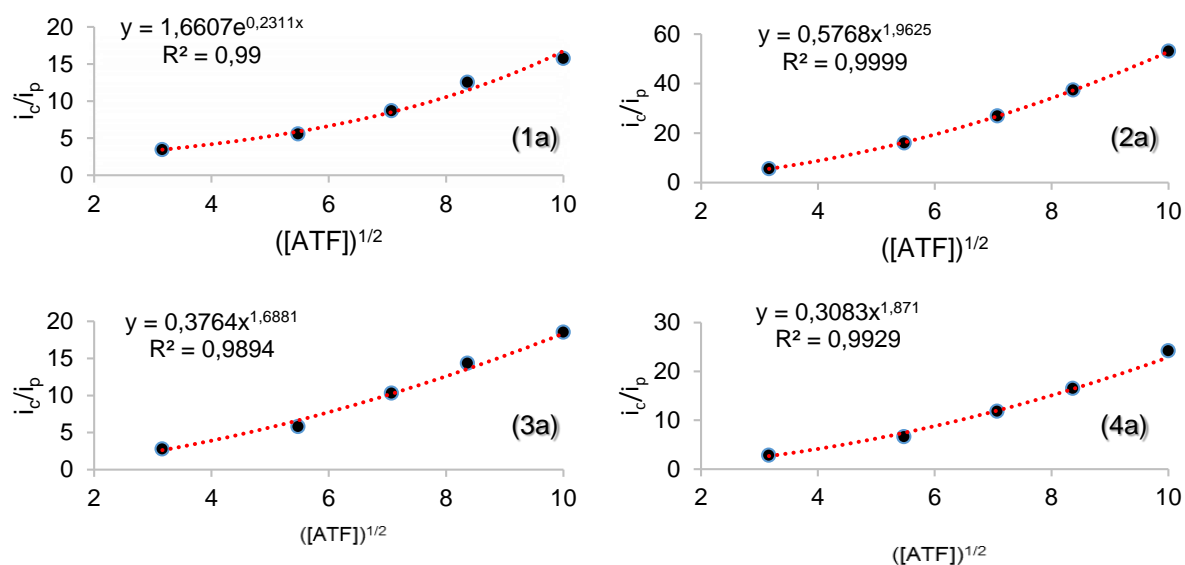


Figura A2. Gráfico de i_c/i_p vs raíz cuadrada de $[ATF]$ (mM) para los complejos **1a–4a**