



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS  
QUÍMICAS**

**“SÍNTESIS DE COMPUESTOS TERNARIOS DE CU(II) CON LIGANTES  
BASES DE SCHIFF Y SU DERIVADOS HIDROGENADOS, ESTUDIO DE SU  
ACTIVIDAD BIOLÓGICA”**

**TESIS**

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**DOCTOR EN CIENCIAS**

PRESENTA

M. en C. CYNTHIA SINAI NOVOA RAMÍREZ

TUTOR

DRA. LENA RUIZ AZUARA  
FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, ABRIL 2023



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 DE COMPUESTOS TERNARIOS DE CU(II) CON LIGANTES  
BASES DE SCHIFF Y SU DERIVADOS HIDROGENADOS, ESTUDIO DE SU  
ACTIVIDAD BIOLÓGICA”**

**T E S I S  
PARA OPTAR POR EL GRADO DE**

**DOCTOR EN CIENCIAS**

**P R E S E N T A**

**M. en C. CYNTHIA SINAI NOVOA RAMÍREZ**

**TUTOR**

**DRA. LENA RUIZ AZUARA  
FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM**



**Ciudad de México, 2023**

## **MIEMBROS DEL JURADO**

<b>PRESIDENTE:</b>	Dra. Silvia Elena Castillo Blum
<b>VOCAL:</b>	Dr. Ronan Marie Le Lagadec
<b>VOCAL:</b>	Dr. Jorge Humberto Serment Guerrero
<b>VOCAL:</b>	Dra. Claudia Paola Gómez-Tagle Chávez
<b>SECRETARIO:</b>	Dra. Martha Lydia Macias Rubalcava

### **LUGAR DONDE SE REALIZÓ EL PROYECTO:**

- Laboratorio 210, Departamento de Química Inorgánica y Nuclear,  
Facultad de Química, UNAM
- Laboratorio 05, Departamento de Química Inorgánica y Nuclear,  
Facultad de Química, UNAM

## CONGRESOS Y PUBLICACIONES

Los resultados obtenidos en esta tesis han sido presentados en los siguientes congresos:

- Estudio de la actividad biológica en células tumorales de compuestos de cobre mixtos con ligantes tridentados NNO. Congreso Internacional de la Sociedad Química de México, México, 2021.
- Compuestos mixtos de cobre(II) con ligantes tridentados NNO (Casiopeínas, cuarta generación): Estudio de su actividad en células tumorales. Simposio de Química Inorgánica Medicinal. México, 2021.
- Mixed copper(II) compound with NNO tridentate ligands: Study of their biological activity in cancer cells. VII Latin America Meeting on Biological Inorganic Chemistry. Uruguay, Virtual Meeting, 2021.

Los resultados obtenidos en este proyecto de investigación han sido publicados en:

- Cynthia Sinai Novoa-Ramírez, Areli Silva-Becerril, Mauricio Misael González-Ballesteros, Virginia Gomez-Vidal, Marcos Flores-Álamo, Luis Ortiz-Frade, Jesús Gracia-Mora, Lena Ruiz-Azuara. Biological activity of mixed chelate copper(II) complexes, with substituted diimine and tridentate Schiff bases (NNO) and their hydrogenated derivatives as secondary ligands: Casiopeína's fourth generation, *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 242, no. August 2022, p. 112097, 2022, <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2022.112097>

## **Agradecimientos**

- Al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.
- A los proyectos UNAM-PAPIIT IN230020, PAIP 5000-9047,
- Al proyecto LANCAD- UNAM-DGTIC-358 por los recursos de súper cómputo.
- A CONACYT por la beca otorgada durante el periodo 2018-2 al 2022-1 a nombre de la alumna Cynthia Sinai Novoa Ramírez con número de becario 695826.
- A la Dra. Lena Ruiz Azuara por la tutoría y su amistad en estos siete años.
- Al Dr. José de Jesús García Valdez†, por sus consejos.
- Al Dr. Jorge Humberto Serment Guerrero, por su apoyo en toda la parte biológica.
- Al Dr. Jesús Gracia Mora por la asesoría y la confianza otorgada en este proyecto.
- A los miembros del jurado por sus comentario y aportaciones.
- Al Dr. Marcos Flores Álamo por la ayuda en la elucidación de las estructuras cristalinas.
- A la M. en C. Virginia Gómez Vidales por el apoyo para la caracterización de los compuestos en resonancia paramagnética electrónica.
- Al Dr. Luis Ortiz Frade por su ayuda en la interpretación de los estudios electroquímicos.
- A la Dra. Noráh Yolanda Barba Behrens, por permitirme realizar los experimentos de susceptibilidad magnética en su laboratorio.
- Al M. en C. Mauricio Ballesteros por el apoyo técnico y su asesoramiento en el planteamiento de los experimentos de actividad biológica
- Al Q.B.C. Rogelio Hurtado Alaméa por tu apoyo en la determinación de la actividad biológica y por enseñarme electroforesis.
- Al M. en C. Adrián Espinoza Guillen por el apoyo técnico.
- A los integrantes del laboratorio 210 y 05, por sus sugerencias y comentarios a mi trabajo.

## Tabla de contenido

<b>ABREVIATURAS.....</b>	<b>8</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>12</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>14</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>16</b>
1.1 CÁNCER.....	17
1.1.1 <i>Tratamientos</i> .....	17
1.1.2 <i>Medicamentos Empleados en Quimioterapia</i> .....	19
1.1.3 <i>Moléculas de Platino Usadas en Quimioterapia</i> .....	20
1.2 DISEÑO DE METALOFÁRMACOS.....	22
1.3 COBRE .....	24
1.4 CASIOPEÍNAS.....	26
1.4.1 <i>Estudio de Relación Cuantitativa estructura Actividad</i> .....	28
1.4.2 <i>Mecanismo de Acción de las Casiopeínas</i> .....	29
1.5 BASES DE SCHIFF .....	32
1.6 LIGANTES TIPO SALEN.....	33
1.7 LIGANTES TIPO SALAN.....	35
1.8 LIGANTES TRIDENTADOS TIPO SALEN.....	38
<b>2. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>43</b>
2.1 HIPÓTESIS.....	44
2.2 OBJETIVOS.....	44
2.2.1 OBJETIVOS GENERALES .....	44
2.2.2 OBJETIVOS PARTICULARES .....	44
<b>3. DESARROLLO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>46</b>
3.1 REACTIVOS.....	47
3.2 METODOLOGÍA.....	47
3.2.1 <i>Síntesis de Ligantes Ln y LNn (n = 1 y 2) (NNO)</i> .....	47
3.2.2 <i>Síntesis de Ligantes Hidrogenados Tipo LHn y LNHn (n = 1 y 2) (NNO)</i> .....	48
3.2.3 <i>Síntesis de Compuestos de Coordinación de Cu<sup>II</sup> con Ligantes Tridentados NNO, [Cu(NNO)(NO<sub>3</sub>)]</i> .....	48
3.2.4 <i>Síntesis de Compuestos de Coordinación Mixtos [Cu(N-N)(NNO)]PF<sub>6</sub></i> .....	49
3.3 CARACTERIZACIÓN .....	50
3.4 MÉTODOS COMPUTACIONALES DFT .....	52
3.4.1 <i>Cálculo de LogP<sub>o/a</sub> Teórico</i> .....	53
3.5 VOLTAMPEROMETRÍA CÍCLICA.....	53
3.6 LÍNEAS CELULARES.....	53
3.6.1 <i>Proliferación Celular</i> .....	54
3.6.2 <i>Conteo y Comprobación de la Viabilidad</i> .....	54
3.6.3 <i>Determinación de la Concentración Inhibitoria Media de los Compuestos de Coordinación</i> .....	54
3.7 INTERACCIÓN CON ADN .....	56
3.7.1 <i>Espectroscopía Electrónica</i> .....	56
3.7.2 <i>Electroforesis en Gel</i> .....	57
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>59</b>
4.1 LIGANTES .....	60
4.1.1 <i>Espectroscopía de Infrarrojo</i> .....	62
4.1.2 <i>Espectrometría de Masas</i> .....	64
4.1.3 <i>Resonancia Magnética Nuclear</i> .....	65
4.2 COMPUESTOS DE COORDINACIÓN DE COBRE(II) .....	67

4.2.1	<i>Espectroscopía de Infrarrojo</i> .....	70
4.2.2	<i>Espectroscopía de Infrarrojo ATR</i> .....	73
4.2.3	<i>Conductividad</i> .....	75
4.2.4	<i>Análisis Elemental</i> .....	78
4.2.5	<i>Susceptibilidad Magnética</i> .....	79
4.2.6	<i>Espectrometría de Masas</i> .....	80
4.2.7	<i>Espectroscopía Electrónica</i> .....	83
4.2.8	<i>Resonancia Paramagnética Electrónica</i> .....	88
4.2.9	<i>Difracción de Rayos X de Monocristal</i> .....	95
4.2.10	<i>Voltamperometría Cíclica</i> .....	103
4.3	DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL ANIÓN HEXAFLUOROFOSFATO (KPF <sub>6</sub> ).....	110
4.4	CONCENTRACIONES INHIBITORIAS MEDIAS DE LOS COMPUESTOS DE COORDINACIÓN. .....	111
4.4.1	<i>Influencia del Ligante N-N (4,4'-dimetil-2,2'-bipiridiana y 1,10-fenantrolina) ...</i>	112
4.4.2	<i>Influencia del grupo Naftil en los Ligantes Tridentados NNO. ....</i>	113
4.4.3	<i>Influencia de la Cadena de Metilenos en los Ligantes Tridentados NNO.....</i>	114
4.4.4	<i>Influencia de la Hidrogenación del Grupo Azometino en los Ligantes Tridentado NNO. ....</i>	115
4.5	RELACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA CON DISTINTAS PROPIEDADES DEL COMPUESTO DE COORDINACIÓN.....	116
4.5.1	<i>Relación Entre el Logaritmo de la Concentración Inhibitoria Media y el Potencial de Reducción. ....</i>	117
4.5.2	<i>Relación del Logaritmo de la Concentración Inhibitoria Media y el Coeficiente de Partición (LogP<sub>o/a</sub>).....</i>	118
4.5.3	<i>Relación del Logaritmo de la Concentración Inhibitoria Media y la Aromaticidad de los Ligantes .....</i>	119
4.5.4	<i>Relación Estructura Actividad.....</i>	120
4.6	ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN CON ADN .....	123
4.6.1	<i>Estudio de la Interacción con CT-ADN Mediante Espectroscopía Electrónica... </i>	124
4.6.2	<i>Actividad de Ruptura al ADN de los Compuestos de Coordinación. ....</i>	128
<b>5.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>132</b>
	<b>PUBLICACIÓN .....</b>	<b>144</b>
	<b>ANEXO I. ESPECTROS DE INFRARROJO.....</b>	<b>161</b>
	<b>ANEXO II. ESPECTROS DE INFRARROJÓ ATR.....</b>	<b>172</b>
	<b>ANEXO III. ESPECTROMETRÍA DE MASAS APCI .....</b>	<b>176</b>
	<b>ANEXO IV. RESONANCIA MAGNÉTICA NUCELAR <sup>1</sup>H .....</b>	<b>178</b>
	<b>ANEXO V. ESPECTROMETRÍA DE MASAS FAB+ .....</b>	<b>180</b>
	<b>ANEXO VI. ESPECTROSCOPIA ELECTRÓNICA .....</b>	<b>188</b>
	<b>ANEXO VII. RESONANCIA PARAMAGNÉTICA ELECTRÓNICA .....</b>	<b>194</b>
	<b>ANEXO VIII. VOLTAMPEROMETRÍA CÍCLICA.....</b>	<b>200</b>
	<b>ANEXO IX. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MEDIA. .....</b>	<b>207</b>
	<b>ANEXO X. INTERACCIONES CON ADN POR ESPECTROSCOPIA ELECTRÓNICA. .....</b>	<b>214</b>
	<b>ANEXO XI. CÁLCULOS TEÓRICOS DEL LOGARITMO DE PARTICIÓN LOGP<sub>O/A</sub>. .....</b>	<b>217</b>

## Abreviaturas

$A_{\parallel}$	Constante de acoplamiento paralela
$A_{\perp}$	Constante de acoplamiento perpendicular
$A_{iso}$	Constante de acoplamiento isotrópica
$E^{0'}$	Potencial normal condicional
$E_{pa}$	Potencial de pico anódico
$g_{\parallel}$	Factor g paralela
$g_{\perp}$	Factor g perpendicular
$g_{iso}$	Factor g isotrópico
$i_p$	Intensidad de pico
$i_{pa}$	Intensidad de pico anódico
$i_{pc}$	Intensidad de pico catódico
$V^{1/2}$	Raíz cuadrada de la velocidad de barrido
$\varepsilon_G$	Coefficientes de extinción molar huésped
$\varepsilon_{H-G}$	Coefficientes de extinción molar huésped-invitado
$\Delta E_p$	Diferencia de potencial de pico anódico y catódico
[Cu(dmbpy)(L1)] <sup>+</sup>	(4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina)[2-[[2-(metilamino)etilimino]metil]fenolato]cobre(II)
[Cu(dmbpy)(L2)] <sup>+</sup>	(4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina)[3-[[3-(metilamino)propilimino]metil]fenolato]cobre(II)
[Cu(dmbpy)(L3)] <sup>+</sup>	(4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina)[2-[[4-(amino)butilimino]metil]fenolato]cobre(II)
[Cu(dmbpy)(LH1)] <sup>+</sup>	(4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina)[2-[[2-(metilamino)etilamina]metil]fenolato]cobre(II)
[Cu(dmbpy)(LH2)] <sup>+</sup>	(4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina) [3-[[3-(metilamino)propilamina]metil]fenolato]cobre(II)
[Cu(dmbpy)(LN1)] <sup>+</sup>	(4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina)[2-[[2-(metilamino)etilimino]metil]naftalenolato]cobre(II)
[Cu(dmbpy)(LN2)] <sup>+</sup>	(4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina)[3-[[3-(metilamino)propilimino]metil]naftalenolato]cobre(II)
[Cu(dmbpy)(LN3)] <sup>+</sup>	(4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina)[2-[[4-(amino)butilimino]metil]naftalenolato]cobre(II)
[Cu(dmbpy)(LNH1)] <sup>+</sup>	(4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina) [2-[[2-(metilamino)etilamina]metil]naftalnoolato]cobre(II)
[Cu(dmbpy)(LNH2)] <sup>+</sup>	(4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina) [3-[[3-(metilamino)propilamina]metil]naftalenolato]cobre(II)
[Cu(L1)(NO <sub>3</sub> )]	[2-[[2-(metilamino)etilimino]metil]fenolato](nitrato)cobre(II)
[Cu(L2)(NO <sub>3</sub> )]	[3-[[3-(metilamino)propilimino]metil]fenolato](nitrato)cobre(II)
[Cu(LH1)(NO <sub>3</sub> )]	[2-[[2-(metilamino)etilamina]metil]fenolato](nitrato)cobre(II)
[Cu(LH2)(NO <sub>3</sub> )]	[3-[[3-(metilamino)propilamina]metil]fenolato](nitrato)cobre(II)
[Cu(LN1)(NO <sub>3</sub> )]	[2-[[2-(metilamino)etilimino]metil]naftalenolato](nitrato)cobre(II)
[Cu(LN2)(NO <sub>3</sub> )]	[3-[[3-(metilamino)propilimino]metil]naftalenolato](nitrato)cobre(II)
[Cu(LNH1)(NO <sub>3</sub> )]	[2-[[2-(metilamino)etilamina]metil]naftalnoolato](nitrato)cobre(II)
[Cu(LNH2)(NO <sub>3</sub> )]	[3-[[3-(metilamino)propilamina]metil]naftalenolato](nitrato)cobre(II)
[Cu(phen)(L1)] <sup>+</sup>	(1,10-fenantrolina)[2-[[2-(metilamino)etilimino]metil]fenolato]cobre(II)
[Cu(phen)(L2)] <sup>+</sup>	(1,10-fenantrolina) [3-[[3-(metilamino)propilimino]metil]fenolato]cobre(II)
% I	Porcentaje de inhibición celular
°	Grados
°C	Grados Celsius
$\Delta$	Delta

$\Delta G_{sol}$	Cambio de energía libre de solvatación del estado estándar en un compuesto en n-octanol y en agua a 298.15 K
A	Absorbancia del complejo unido a ADN
Å	Armstrong
$A_0$	Absorbancia del complejo libre
acac	Acetilacetato
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ANE	Aminoácidos no esenciales
Anti-Anti,	Antibiótico y antimicótico
APCI	<i>Atmospheric pressure chemical ionization</i> (Ionización química a presión atmosférica)
ARN	Ácido ribonucleico
Atm	Atmósferas de presión
Bpy	2,2'-bipiridina
Casio II-gly	Nitrato de (4,7-dimetil-1,10-fenantrolina)(glicinato)cobre(II)
Casio III-ia	Nitrato de (4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina)(acetilacetato)cobre(II)
CDMX	Ciudad de México
$CI_{50}$	Concentración inhibitoria media
cisplatino	cis-diamino-dicloroplatino(II)
cm	Centímetro
CR	Concentración respuesta
CT-ADN	Ácido desoxirribonucleico de ternero
DFT	<i>Density Functional Theory</i> (Teoría de funcionales de la densidad)
dmbpy	4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina
DMEM-F12	<i>Dulbecco's Modified Eagle's Medium/Ham's Nutrient Mixture F-12</i>
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d <sub>6</sub>	Dimetilsulfóxido deuterado
dppz	Dipiridofenazina
dpq	Dipiridoquinoxalina
E vs. Fc <sup>+</sup> -Fc	Potencial referenciado al par ferrocenio-ferroceno
E. Coli	<i>Escherichia Coli</i>
$E_{1/2}$	Potencial de media onda
$E_{pc}$	Potencial de pico catódico
ERO	Especies reactivas de oxígeno
FAB+	<i>Fast atom bombardment</i> (Bombardeo de átomos rápido)
Fc	Ferroceno
Fc <sup>+</sup>	Ferrocenio
FDA	<i>Food and drug Administration</i> (Administración de alimentos y medicamentos)
FT-IR	Infrarrojos por transformada de Fourier
g	Gramos
GHz	Gigahertz
GSH	Glutación
h	Horas
i	Corriente normalizada
IR	Infrarrojo
IR-ATR	Infrarrojos por reflexión total atenuada
K	Kelvin
$K_b$	Constante de unión
Kcal	Kilocalorías
L	Litros

L1	(E)-3-((2-(metilamino)-etilimino)metil)fenolato
L2	(E)-4-((3-metilamino)-propilimino)metil)fenolato
L3	(E)-4-(4-(butilimino)fenolato
LH1	(E)-3-((2-(metilamino)-etilamina)metil)fenolato
LH2	(E)-4-((3-metilamino)-propilamina)metil)fenolato
LN1	(E)-3-((2-(metilamino)-etilimino)metil)naftalenolato
LN2	(E)-4-((3-(metilamino)-propilimino)metil)naftalenolato
LN3	(E)-4-(4-(butilimino)naftalenfenolato
LNH1	(E)-3-((2-(metilamino)-etilamina)metil)naftalenolato
LNH2	(E)-4-((3-(metilamino)-propilamina)metil)naftalenolato
Log D	Logaritmo de distribución
LogP <sub>o/a</sub>	Logaritmo de partición n-octanol-agua
m/z	Masa/carga
MB	Magnetones de Borh
MHz	Megahertz
min	Minutos
mL	Mililitros
mmol	Milimol
MNBA	Alcohol 3-nitrobenílico
mT	Militesla
MTT	Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5,-difeniltetrazolio
mV	Milivolt
mW	Miliwatts
Mx	México
ng	Nanogramos
nm	Nanómetros
OMS	Organización Mundial de la Salud
ORTEP	<i>Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot</i> (Gráfico de elipsoide térmico de Oak Ridge)
pE <sub>1/2</sub>	Logaritmo del potencial de media onda
pH	Potencial de iones hidrógeno
phen	1,10-fenantrolina
pka	Logaritmo de la constante de acidez
ppm	Partes por millón
QSAR	<i>Quantitative Structure-Activity Relationship</i> (Estudio la relación cuantitativa estructura actividad)
RMN- <sup>1</sup> H	Resonancia magnética nuclear de protón
RPE	Resonancia paramagnética electrónica
rpm	Revoluciones por minuto
S	Espín nuclear
s	Segundos
Salan	Bis(2-hidroxibencil)etilendiamina
salen	N-N-bis(saligidene)etilendiamina
SDS	Dodecilsulfato de sodio
SFB	Suero fetal bovino
T	Temperatura
TBAPF <sub>6</sub>	Hexafluorofosfato de tetrabutilamonio
TBE	Tris, ácido bórico, EDTA
TCLM	Transferencias de carga del ligante al metal
TCML	Transferencias de carga del metal al ligante
TMS	Tetrametilsilano
uv	Ultravioleta

Uv-vis	Uv-visible
V	Volts
$\epsilon$	Coefficientes de absorptividad
$\lambda$	Longitud de onda
$\mu\text{L}$	Microlitro
$\mu\text{M}$	Micromolar
$\mu\text{S}$	Microsiemens

## Resumen

Las Casiopeínas son un grupo de compuestos quelatos mixtos de cobre(II) con actividad antineoplásica, su fórmula general es  $[\text{Cu}(\text{N-N})(\text{L-L})]^+$ , donde el ligante primario, N-N, es una diimina aromática, como fenantrolinas o bipyridinas y el ligante secundario L-L que varía de acuerdo a la generación de las Casiopeínas.

A la especie de  $\text{Cu}^{\text{II}}$  coordinada con la diimina aromática se le ha denominado como el grupo farmacóforo, mientras que el ligante secundario sirve para modular las propiedades del compuesto, como el potencial de media onda o la lipofilidad.

Actualmente existen cuatro generaciones de Casiopeínas, las primeras tres se caracterizan por usar ligantes secundarios bidentados que pueden ser moléculas aniónicas de carga -1, ligantes neutros o moléculas que por sí solas presentan actividad biológica. A diferencia de las demás generaciones de Casiopeínas, la cuarta generación se identifica por usar ligantes secundarios tridentados tipo hemi-salen (NNO), que cambia el número de coordinación y la geometría del centro metálico que podrá influir en la actividad biológica y en el mecanismo de acción de estas nuevas moléculas.

Las Casiopeínas con ligantes secundarios tridentados NNO tipo hemi-salen, son las moléculas menos estudiadas por nuestro grupo de investigación y se desconoce el comportamiento que presentarán frente a líneas tumorales y si este tipo de moléculas presenta actividad, se desconoce si el mecanismo de acción será igual o similar al de las Casiopeínas de primera generación.

Por lo anterior, en este trabajo se presenta la síntesis y caracterización (IR, UV-Vis, RPE, difracción de rayos X y voltamperometría cíclica) de dos familias de compuestos de coordinación de cobre(II). La primera familia contiene sólo un ligante asimétrico tridentado tipo hemi-salen (NNO) cuya fórmula general es  $[\text{Cu}(\text{NNO})(\text{NO}_3)]$ . El ligante tridentado NNO contiene un fenolato simple o un sustituyente naftil (aromaticidad extendida) y el puente de metilenos que une a los átomos de nitrógeno, puede ser de dos, tres o cuatro metilenos; y también se sintetizaron los derivados hidrogenados (reducción del enlace imina  $\text{C}=\text{N}$ ).

La segunda familia, correspondiente a las Casiopeínas de cuarta generación, con fórmula general  $[\text{Cu}(\text{N-N})(\text{NNO})]^+$ , corresponde a los derivados mixtos de la primera familia de compuestos, coordinados con un ligante diimina N-N, que pueden ser 4,4'-dimetil-2,2'-bipyridina (dmbpy) o 1,10-fenantrolina (phen).

Con la finalidad de estudiar el comportamiento de estas nuevas moléculas, se exploró la actividad citotóxica en las líneas celulares cancerosas HeLa y MB-MDA-231 (cáncer cervicouterino y cáncer de pecho) mediante el ensayo de MTT calculando los valores de la  $\text{CI}_{50}$  (concentración inhibitoria media), resultando que todos los compuestos presentan actividad biológica y que los

derivados mixtos son los más activos, como se esperaba. De igual forma, se encontró que los cambios estructurales en el ligante secundario como la hidrogenación de la base de Schiff, el sustituyente naftil y la extensión de la cadena de metilenos incrementan la actividad biológica de los compuestos.

Para determinar las propiedades de que más influyen en la actividad antineoplásica de las nuevas moléculas, se analizaron los datos de  $CI_{50}$  junto con las características de la estructura del ligante y las propiedades redox de los complejos para obtener la relación estructura-actividad, la cual reveló que las especies menos oxidantes con un mayor número de anillos aromáticos conjugados en los ligantes y con una mayor lipofilia (mayor  $LogP_{o/a}$ ), son las que presentan mayor citotoxicidad.

Debido a lo encontrado en la relación estructura-actividad, se estudiaron las interacciones con ADN mediante las técnicas de espectroscopía electrónica y electroforesis en gel. Los resultados obtenidos mediante espectroscopía de absorción mostraron que los complejos pueden interactuar a través de los surcos, intercalarse y formar aductos con el ADN, y el estudio de electroforesis en gel con el plásmido pBR322 mostró que los compuestos pueden producir cambios en la forma del plásmido y que algunos complejos pueden romper el ADN en presencia de  $H_2O_2$ .

Por lo tanto, los resultados obtenidos nos llevaron a proponer que el mecanismo de acción de los complejos de cobre(II) sintetizados implica la producción de especies reactivas de oxígeno e interacciones con el ADN, similar las Casiopeínas de primera generación.

## Abstract

Casiopeínas are a group of mixed copper(II) chelate compounds with antineoplastic activity, their general formula is  $[\text{Cu}(\text{N-N})(\text{L-L})]^+$ , where the primary ligand, N-N, is an aromatic diimine, such as phenanthrolines or bipyridines; and the secondary ligand, L-L, that varies according to the generation of Casiopeínas.

The species of  $\text{Cu}^{\text{II}}$  coordinated with the aromatic diimine has been named as the pharmacophore group, while the secondary ligand can modulate properties of the compound, such as half-wave potential or lipophilicity.

Currently, there are four generations of Casiopeínas, the first three are characterized by using a bidentate secondary ligands that can be an anionic molecules with -1 charge, neutral ligands or molecules that by themselves present biological activity. Unlike the other generations of Casiopeínas, the fourth generation is identified by using hemi-salen type tridentate secondary ligands (NNO), which changes the coordination number and the geometry of the metal center that may influence the biological activity and the mechanism of action of these new molecules.

Casiopeínas with hemi-salen type tridentate secondary ligands are the least studied molecules by our research group, and their behavior that they will present against tumor cells is unknown, since the coordination number and the geometry of the complexes change, and if this type of molecules present activity, it is unknown if the mechanism of action will be the same or similar to the first generation Casiopeínas.

Therefore, in this work is presented the synthesis and characterization (IR, UV-Vis, EPR, X-ray diffraction and cyclic voltammetry) of two families of copper(II) coordination compounds. The first family contains only one hemi-salen (NNO) tridentate asymmetric ligand whose general formula is  $[\text{Cu}(\text{NNO})(\text{NO}_3)]$ . The NNO tridentate ligand contains a simple phenolate or one naphthyl substituent (extended aromaticity) and the methylene linker that joins the nitrogen atoms, can be two, three or four methylenes; and the hydrogenated derivatives (reduction of the  $\text{C}=\text{N}$  imine bond) were also synthesized.

The second family, corresponding to the fourth generation Casiopeínas, with the general formula  $[\text{Cu}(\text{N-N})(\text{NNO})]^+$ , corresponds to the mixed derivatives of the first family of compounds, coordinated to a diimine ligand (N-N), which can be 4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridine (dmbpy) or 1,10-phenanthroline (phen).

In order to study the behavior of these new molecules, the cytotoxic activity in cancer cell lines, HeLa and MB-MDA-231 (cervical cancer and breast cancer), was explored using the MTT assay, calculating the half maximal inhibitory concentration values ( $\text{IC}_{50}$ ), resulting that all the compounds present biological activity and that the mixed derivatives are the most active, as we expected.

Similarly, it was found that the structural changes in the secondary ligand such as hydrogenation of the Schiff base, the naphthyl substituent and the extension of the methylene chain, increase the biological activity of the compounds.

To determine the properties that most influence the antineoplastic activity of the new molecules, the IC<sub>50</sub> data were analyzed based on the characteristics of the ligand structure and the redox properties of the complexes to obtain a structure-activity relationship, which revealed that the less oxidizing species, with a greater number of conjugated aromatic rings in the ligands and with greater lipophilicity (greater LogP<sub>o/a</sub>), are those with superior cytotoxicity.

Due to what was found in the structure-activity relationship, interactions with DNA were studied using electronic spectroscopy and gel electrophoresis techniques. The results obtained by absorption spectroscopy showed that the complexes can interact through the grooves, intercalate and form adducts with the DNA, and gel electrophoresis studies with the plasmid pBR322 showed that the compounds can produce changes in the shape of the plasmid and that some complexes can cleavage DNA in the presence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Therefore, the results obtained led us to propose that the mechanism of action of these copper(II) complexes involves the production of reactive oxygen species and interactions with DNA similar to first generation of Casiopeínas.

# **1. Introducción**

## **1.1 Cáncer**

Cáncer es el nombre que se le da a un conjunto de enfermedades en donde las células sufren un proceso de diseminación y crecimiento descontrolado. La carcinogénesis es el nombre que se le da a la transformación de una célula sana en una cancerosa, ese proceso ocurre cuando el ADN presenta mutaciones que impiden el proceso normal de división celular. El cuerpo humano está formado por trillones de células, por lo que el cáncer puede comenzar en cualquier parte del cuerpo. Las células sanas crecen y se proliferan para formar más células sanas y cuando éstas envejecen o presentan algún daño, mueren y son reemplazadas por células nuevas y sanas. No obstante, en las células cancerosas, este proceso se descontrola, las células viejas o con daños pueden sobrevivir y continuar proliferándose sin interrupción<sup>1,2</sup>.

La constante proliferación puede generar que las células forman grandes masas llamadas tumores (aunque el cáncer de sangre, como la leucemia, no forma tumores sólidos). Los tumores formados por células cancerosas pueden ser malignos y se pueden extender e invadir órganos o tejidos circundantes o incluso provocar metástasis al desprenderse y migrar a lugares distantes del cuerpo a través de la circulación sanguínea o del sistema linfático, lo que puede generar la formación de nuevos tumores lejos del tumor original. Los tumores benignos, a diferencia de los malignos, no se extiende a otros tejidos y no los invaden, pueden extirparse y generalmente no crecen de nuevo<sup>1,2</sup>.

Las mutaciones que ocurren en los genes que intervienen en el ciclo celular pueden ocurrir a lo largo de la vida de un ser vivo, sin embargo, muchos tipos de cáncer se podrían prevenir evitando la exposición a factores de riesgo comunes como el tabaco, el consumo de bebidas alcohólicas, el consumo de hormonas, la exposición a la luz solar, el contacto con sustancias químicas que causen mutaciones, etc. Además, un porcentaje importante de cánceres pueden curarse mediante cirugía, radioterapia o quimioterapia, especialmente si se detectan en una fase temprana<sup>1,2</sup>.

### **1.1.1 Tratamientos**

Hoy en día existen diversos tratamientos para el cáncer, éste dependerá de cada paciente, el tipo de cáncer y el nivel en el que éste se encuentre. Las personas usualmente reciben únicamente un tipo de tratamiento, sin embargo, es muy común que estos se puedan combinar para obtener mejores resultados. Entre los más usados se encuentran la cirugía, la radiación y la quimioterapia, no obstante, se han desarrollado nuevos tratamientos dando a los pacientes nuevas opciones como inmunoterapia, terapia dirigida, terapia hormonal, trasplante de células madre o medicina de presión. A continuación, se dará una breve descripción de los tratamientos mencionados<sup>1</sup>.

**Cirugía:** La cirugía es un procedimiento en donde se remueve un tumor canceroso del cuerpo. Sirve para tratar cánceres sólidos y se busca extirpar todo el tumor que esté contenido en un área específica. También se puede remover sólo una parte del tumor, por ejemplo, cuando compromete algún órgano, lo cual permite disminuir su volumen y después tratar de eliminarlo con ayuda de otra terapia<sup>1</sup>.

**Radiación:** En la radioterapia se usan altas dosis de radiación para destruir células cancerosas y reducir el tamaño de los tumores al aplicar altas dosis de radiación, se pueden matar células cancerosas, además de células sanas, o ralentizar su crecimiento (efecto citotóxico o citostático), al generar daño al ADN. Al generar un daño irreparable al ADN las células dejan de proliferar o mueren.

El efecto de la radio terapia no se observa inmediatamente, se tiene que esperar días o semanas para que la acumulación del daño al ADN tenga un efecto en la supervivencia de las células, y una vez que esto sucede, las células cancerosas siguen muriendo durante semanas o meses<sup>1</sup>.

**Quimioterapia:** En la quimioterapia se utilizan medicamentos para destruir a las células cancerosas. Actúa retardando o inhibiendo la proliferación de las células cancerosas que crecen y se dividen más rápido que las células sanas. Al igual que la radioterapia, la quimioterapia genera efectos secundarios, ya que los medicamentos no sólo atacan a las células cancerosas, también pueden dañar a las células sanas. Se ha observado que con frecuencia dañan las células que recubren la boca, los intestinos y también las que están involucradas en el crecimiento del cabello. Los efectos secundarios dependen del tipo de cáncer y del medicamento usado para su tratamiento<sup>1</sup>.

Uno de los fármacos de origen inorgánico utilizados en quimioterapia es el cisplatino, principalmente se ha empleado para tratar el cáncer de testículo y ovario<sup>1</sup>.

**Inmunoterapia:** En la inmunoterapia se ayuda al sistema inmunológico a combatir el cáncer<sup>1</sup>. Puede ayudar o reforzar al sistema inmunitario utilizando sustancias producidas por el cuerpo o en un laboratorio para ayudar al cuerpo a encontrar y destruir las células cancerosas.

La inmunoterapia detiene o realenta el crecimiento de las células cancerosas, previene que se diseminen a otras partes del cuerpo e impulsa al sistema inmunológico a deshacerse de las células cancerosas.

**Terapia dirigida:** La terapia dirigida es un tipo de tratamiento del cáncer que se enfoca en inhibir los cambios en las células cancerosas que las ayudan a crecer, dividirse y diseminarse<sup>1</sup>. La mayoría de las terapias dirigidas ayudan a tratar el cáncer al interferir con las proteínas específicas que promueven el crecimiento y la diseminación de los tumores en el cuerpo utilizando fármacos

dirigidos a genes y proteínas específicos que ayudan a las células cancerosas a sobrevivir y crecer. La terapia dirigida puede afectar las condiciones del tejido en el que se desarrollan las células cancerosas o puede dirigirse a las células relacionadas con el crecimiento del cáncer, como las células de los vasos sanguíneos.

**Terapia hormonal:** Algunos tipos de cáncer usan las hormonas naturales del cuerpo para estimular su crecimiento. La terapia hormonal se utiliza principalmente para tratar tipos de cáncer que dependen de las hormonas para crecer, el medicamento utilizado fluye por el cuerpo para eliminar, bloquear o agrega hormonas específicas al cuerpo. La terapia hormonal principalmente se usa para tratar cáncer de seno y de próstata y se puede usar junto con otros tratamientos. La terapia puede hacer que la posibilidad de que el cáncer regrese disminuya o que su proliferación se detenga o sea más lenta<sup>1</sup>.

### 1.1.2 Medicamentos Empleados en Quimioterapia

Como se mencionó anteriormente, los medicamentos que se ocupan en quimioterapia interfieren con el ciclo celular destruyendo células cancerosas y evitando que se produzcan más. Varios medicamentos utilizan diferentes métodos para interrumpir el ciclo celular y combatir el cáncer, y son agrupados según su composición y cómo destruyen las células cancerosas<sup>3,4</sup>:

**Agentes alquilantes:** Actúan directamente sobre el ADN, interfieren en la formación o unión de las dobles hebras del ADN al transferir un grupo alquilo a la base guanidina en el ADN, provocando entrecruzamiento en las cadenas del ADN. El apareamiento anormal de las bases nitrogenadas o la ruptura de las cadenas del ADN impiden que la célula se divida. Los agentes alquilantes interactúan con el ADN celular y forman aductos covalentes, lo que subyace a su utilidad más amplia.

Entre los agentes alquilantes más comunes están el clorambucilo, ciclofosfamida, tiotepa, busulfán, medicamentos de platino, como el cisplatino, carboplatino y oxaliplatino, por mencionar algunos<sup>3-5</sup>.

**Antimetabolitos:** Compiten, inhiben o reemplazan metabolitos específicos dentro que la célula, alterando la función de las enzimas requeridas para el metabolismo celular y la síntesis de proteínas. En otras palabras, imitan los nutrientes que la célula necesita para crecer, engañando a la célula para que los consuma, por lo que eventualmente muere.

Los ejemplos de antimetabolitos más comunes incluyen antagonistas de purina, antagonistas de pirimidina y antagonistas de folato<sup>3-5</sup>.

**Inhibidores de la topoisomerasa:** Los inhibidores de la topoisomerasa evitan que la enzima topoisomerasa permita que el ADN se copie a sí mismo evitando que las células cancerosas se multipliquen. Dentro de los inhibidores de la topoisomerasa encontramos al etopósido, irinotecán, tenipósido, entre otros<sup>3-5</sup>.

**Inhibidores mitóticos:** Los alcaloides vegetales son agentes antitumorales derivados de las plantas. Actúan bloqueando la capacidad de una célula cancerosa para dividirse. La forma en la que inhiben la proliferación celular varía de acuerdo al fármaco.

Ejemplos de alcaloides de plantas usados en quimioterapia son actinomicina D, doxorubicina y mitomicina<sup>3-5</sup>.

**Antibióticos antitumorales:** Actúan uniéndose al ADN e impiden la síntesis del ARN (ácido ribonucleico), necesario para la síntesis de proteínas en las células. No son lo mismo que los antibióticos que se usan para tratar infecciones bacterianas, estos medicamentos hacen que las hebras del material genético que componen al ADN se desenrollen, impidiendo así que la célula se reproduzca. La doxorubicina, la mitoxantrona y la bleomicina son algunos ejemplos de antibióticos antitumorales<sup>3-5</sup>.

### 1.1.3 Moléculas de Platino Usadas en Quimioterapia

El cis-diamin-dicloroplatino(II) o mejor conocido como cisplatino (Figura 1), es un fármaco que se utiliza para el tratamiento del cáncer. Fue sintetizado por primera vez por Peyrone en 1844<sup>6</sup>. Consta de un centro metálico de platino(II) con una geometría plana cuadrada coordinado a dos cloros y dos grupos amino en posición *cis*.

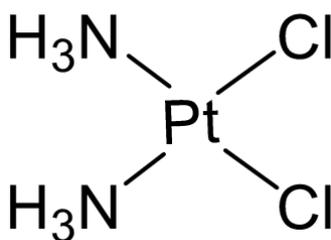


Figura 1. Cisplatino

Sus propiedades terapéuticas fueron descubiertas por Rosenberg y colaboradores en los años 1960s, pero hasta el año 1978 fue aceptado por la FDA como el primer metalofármaco antineoplásico<sup>7</sup>. Cuando se demostró su eficacia en el tratamiento de cáncer de testículo y ovario su uso produjo un cambio sustancial en los porcentajes de supervivencia en los afectados. Sin embargo, durante la terapia el paciente sufre efectos secundarios ya que el cisplatino es muy

tóxico y puede llegar a producir nefrotoxicidad, neurotoxicidad y desórdenes gástricos, limitando así la dosis que puede emplearse<sup>8</sup>.

El cisplatino ejerce actividad anticancerosa a través de múltiples mecanismos, pero el mecanismo más estudiado implica la formación de aductos con el ADN. El mecanismo de acción propuesto para el cisplatino depende de que los cloruros se intercambien por moléculas de agua dentro de las células debido a la concentración variable de ion  $\text{Cl}^-$ . La nueva especie,  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ , se une covalentemente al ADN, específicamente al N-7 de la guanina (G) o de la adenina (A) en la secuencia de los dinucleótidos GG y AG, formando enlaces entrecruzados con el ADN, como se muestra en la Figura 2<sup>9</sup>.

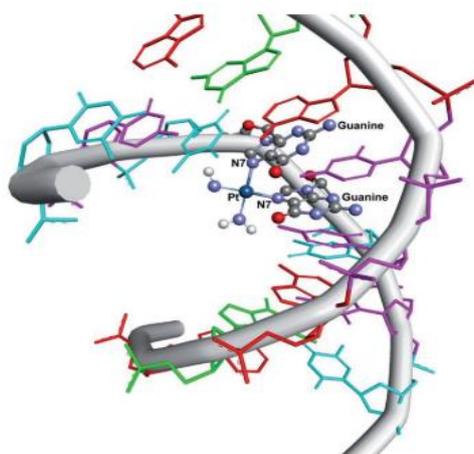


Figura 2. Aducto formado entre la especie de platino al N-7 de la guanina<sup>9</sup>.

Al cisplatino se le considera un agente alquilante bifuncional, puesto que se une covalentemente en dos sitios del ADN para formar enlaces entrecruzados, ya sea intracatenarios o intercatenarios<sup>3-5</sup>. Tales aductos conducen a la detención de la replicación, inhibición del ciclo celular, inhibición de la reparación del ADN y finalmente a la muerte celular<sup>9</sup>.

Por un lado, el éxito y las limitaciones debidas a la toxicidad del cisplatino han inspirado la síntesis de nuevos compuestos inorgánicos que puedan presentar interacciones con el ADN, que sean más solubles en agua, menos tóxicos, pero más activos y eficientes hacia distintos tumores. Las primeras modificaciones incluyeron complejos de Pt(II) análogos al cisplatino, que presentaban una geometría de plana cuadrada con fórmula general  $[\text{PtX}_2(\text{NH}_2\text{R})_2]$  donde  $\text{NH}_2\text{R}$  es una amina inerte y X es un grupo saliente iónico, denominados “segunda generación”(Figura 3)<sup>10,11</sup>.

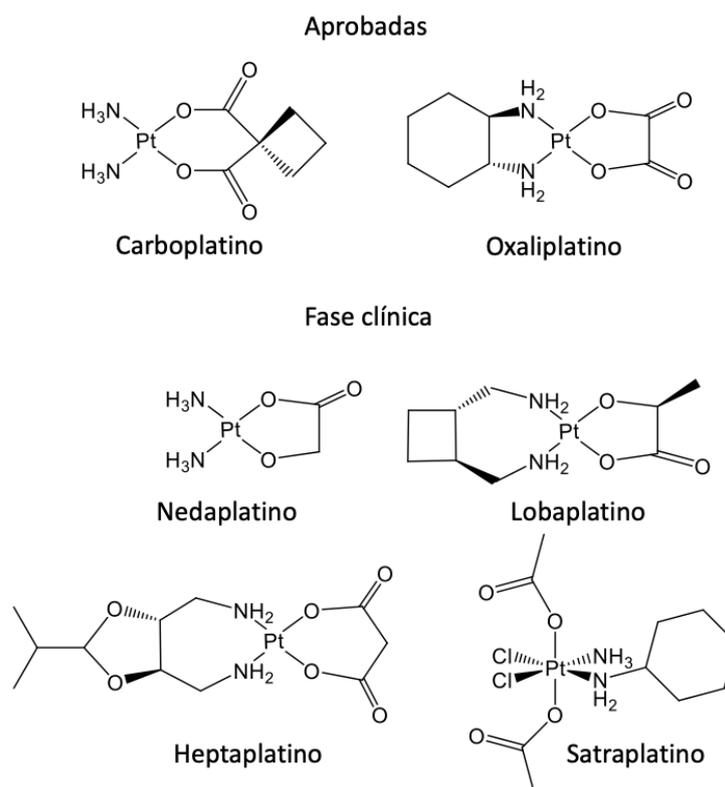


Figura 3. Segunda generación de compuestos antitumorales de platino<sup>10,11</sup>.

La segunda generación de compuestos de platino incluye moléculas como oxaliplatino y carboplatino<sup>10,11</sup> (Figura 3), aprobados por la FDA como fármacos y algunos otros como el nedaplatino, lobaplatino, heptaplatino, y satraplatino, que se encuentra aprobados actualmente para sus ensayos clínicos en EUA<sup>10,11</sup>.

El carboplatino, cis-diamina-diclorobutano-1,1-dicarboxilato-platino(II), forma un anillo quelato de seis miembros que reduce su actividad química y también disminuye los posibles efectos secundarios, como el daño al oído y riñones<sup>10,11</sup>.

El oxaliplatino, (1E,2R)-(N,N'-1,2-diaminociclohexano)-(O-O')etanodioato)platino(II), ya se encuentra en uso en Japón, China y Corea de Sur y ha sido probado en formulaciones con nanopartículas y parece reducir las reacciones adversas permitiendo una mejor explotación del fármaco<sup>12</sup>.

## 1.2 Diseño de Metalofármacos

Desde el descubrimiento de la actividad antitumoral del cisplatino, se ha buscado realizar el diseño racional de los agentes anticancerígenos a base de metales que pueden usarse potencialmente en la quimioterapia del cáncer. Una gran cantidad de complejos metálicos han

sido ampliamente investigados y evaluados *in vitro* e *in vivo*, y algunos de ellos se encuentran en diferentes etapas de estudios clínicos<sup>13</sup>. Los principales objetivos de estos estudios radican en encontrar nuevos complejos metálicos que podrían superar los obstáculos de los fármacos actuales presentes en la terapia con compuestos de platino, como la toxicidad, la resistencia a los fármacos, la baja solubilidad y otras deficiencias<sup>10,11</sup>.

El cisplatino es un fármaco de naturaleza inorgánica pura, ya que ninguno de los ligantes unido a él contienen átomos de carbono, sin embargo, hoy en día muchos de los metalofármacos diseñados para el tratamiento de enfermedades se diseñan y sintetizan con ligantes de naturaleza orgánica.

Los ligantes tienen una gran importancia en el diseño de fármacos, ya que la modificación de éstos puede variar la disponibilidad oral, pueden ayudar a dirigirse a tejidos específicos o distintas enzimas, si es el caso, pueden coordinar o quelatar a algún ion metálico en el cuerpo y esto se puede alterar según la terapia o diagnóstico que se desee realizar. Los ligantes también pueden modificar las propiedades químicas en un compuesto de coordinación como la reactividad, la inercia de sustitución o el potencial redox del metal. La adición de sustituyentes puede modificar la afinidad por ciertos receptores o puede ayudar a que el compuesto presente una mayor afinidad por cierta diana<sup>15,16</sup>.

Más allá de elegir el ion metálico correcto para una aplicación en particular, se tienen que encontrar el ligante adecuado, ya sea para apuntar a una diana molecular o para asegurar que el ion metálico permanezca coordinado dentro del organismo<sup>14</sup>.

La variabilidad de los compuestos de coordinación, ya sea por el metal, el estado de oxidación, la geometría, los ligantes coordinados o el tamaño, permiten un alto grado de selectividad hacia distintos blancos biológicos. Conociendo el blanco molecular en una enfermedad, es posible diseñar nuevas moléculas con ciertas características para que el compuesto de coordinación pueda interactuar con el sitio de acción en la biomolécula, de tal forma que el compuesto pueda tener un mayor efecto sobre la enfermedad. Se sabe además que, la inclusión de un centro metálico en el diseño de compuestos intercalantes da lugar a un mayor intervalo de diversidad geométrica y flexibilidad estructural que cualquier molécula puramente orgánica pueda lograr<sup>14</sup>.

Además, el estado de oxidación del ion metálico puede ser decisivo en la regulación de la respuesta *in vivo* inmediata de los metalofármacos, puede influir entre una respuesta beneficiosa y una respuesta tóxica usando una misma dosis administrada de un ion metálico y también dirigiéndose hacia las rutas metabólicas por las cuales se integrará el compuesto. El estado de oxidación del ion metálico también impone la geometría del centro metálico y puede presentar preferencias al coordinarse con distintos átomos donadores, por lo tanto, limita la coordinación para diferentes conjuntos de ligantes<sup>14</sup>.

Desde el descubrimiento de las propiedades terapéuticas de cisplatino, se han sintetizado una gran variedad de complejos metálicos y de otros metales del grupo del platino tales como Ru, Pd entre otros. Los compuestos de cobre se habían utilizado contra artritis, pero como antitumoral se propusieron hasta 1992 y han ganado una gran atención<sup>17</sup>.

### 1.3 Cobre

El cobre (Cu) es un elemento esencial que se encuentra en todos los organismos vivos con la capacidad de adoptar diferentes estados de oxidación: el estado oxidado ( $\text{Cu}^{\text{II}}$ ) y el reducido ( $\text{Cu}^{\text{I}}$ ). Es necesario para la supervivencia y sirve como un cofactor catalítico importante en la química redox para proteínas que llevan a cabo funciones biológicas fundamentales, en el crecimiento y desarrollo.<sup>18,19</sup>

La química de coordinación de los compuestos de cobre ha sido extensivamente estudiada con anterioridad, se sabe que existen compuestos de  $\text{Cu}^{\text{II}}$  y  $\text{Cu}^{\text{I}}$ , y en raras ocasiones se han encontrado compuestos de  $\text{Cu}^{\text{III}}$ , sin embargo, la especie más estudiada y estable es el  $\text{Cu}^{\text{II}}$ .

Los compuestos de  $\text{Cu}^{\text{I}}$  presentan una configuración  $3d^{10}$  de capa llena, por lo que los complejos no suelen ser coloridos y al ser un metal más blando que el  $\text{Cu}^{\text{II}}$  prefiere coordinarse con átomos donadores blandos, como fósforo, nitrógenos de aminas aromáticas o átomos de azufre. La geometría que suele estabilizar es tetraédrica, aunque se ha encontrado compuestos con una geometría lineal y trigonal<sup>20,21</sup>.

Los compuestos de  $\text{Cu}^{\text{II}}$ , cuya configuración electrónica corresponde a  $3d^9$ , suelen generar especies coloridas, en donde el número de coordinación puede variar desde cuatro hasta seis. Las geometrías adaptadas pueden ser planar cuadrada, pirámide de base cuadrada, bipirámide trigonal, y octaédrica, generalmente distorsionada por efecto de Jahn Teller.

La geometría de los compuestos de coordinación de  $\text{Cu}^{\text{II}}$  varía de acuerdo a los ligantes a los que se encuentre coordinado y suelen influir de manera importante en el potencial de media onda de la reacción de reducción de  $\text{Cu}^{\text{II}}$  a  $\text{Cu}^{\text{I}}$ , ya que se ha visto que al coordinarse con átomos electrodonadores los potenciales de reducción disminuyen generando especies menos oxidantes<sup>20,21</sup>.

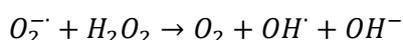
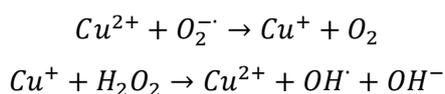
Respecto al mecanismo de acción se sabe poco, pero es claro que va por una ruta diferente al de los compuestos de platino, cuya actividad depende de interacciones covalentes con ADN, y tiene la ventaja de ser un metal más económico y menos tóxico<sup>22</sup>.

En comparación con los complejos de platino, hay menos información de cómo actúan los fármacos citotóxicos de cobre, no obstante, está claro que el centro metálico juega un papel

importante en las diversas rutas propuestas, el cobre, siendo un metal esencial es menos tóxico que el platino o que algún otro metal no esencial<sup>22</sup>.

La principal función del cobre en sistemas biológicos involucra reacciones de oxidación y reducción, en donde reacciona directamente con una molécula de oxígeno produciendo radicales libres.<sup>23</sup> La actividad terapéutica citotóxica del cobre proviene de su habilidad para reaccionar y generar especies reactivas de oxígeno (ERO), para desplazar otros iones metálicos, peroxidar lípidos y producir escisiones a ADN o ARN<sup>24</sup>.

Uno de los principales mecanismos de acción propuestos que explica la citotoxicidad del cobre es que éste es capaz de generar especies reactivas de oxígeno. En general, podemos decir que las especies de cobre(I) y cobre(II) pueden participar en reacciones redox intracelulares en presencia de  $O_2^-$  o de agentes reductores como ácido ascórbico o glutatión (GSH). Las especies de  $Cu^{II}$  pueden reducirse a  $Cu^I$ , capaz de catalizar la reacción de formación de radicales hidroxilo ( $OH^\cdot$ ) a partir de la reacción con  $H_2O_2$  vía la reacción de Haber-Weisse, como se muestra a continuación<sup>25</sup>:



El radical hidroxilo ( $OH^\cdot$ ) presenta una alta reactividad y es capaz de generar un daño oxidativo a la célula, de hecho, se ha mostrado que el cobre puede producir escisiones y daño oxidativo al ADN a partir de la generación de ERO<sup>26</sup>.

Se han estudiado nuevos complejos de cobre como agentes antineoplásicos, principalmente los complejos de cobre(II) con 1,10-fenantrolina (phen). En la década de 1970s el complejo  $[Cu(phen)_2]^{2+}$  fue estudiada por Sigman *et al.*, fue descrito como un agente capaz de degradar al ADN y ARN mediante un daño oxidativo a través del ataque a los grupos azúcar<sup>27</sup>, también se ha reportado que presenta actividad antitumoral, antifúngica y antibiótica<sup>28,29</sup>.

Los nuevos compuestos basados en  $Cu^{II}$  han mostrado un mayor potencial antineoplásico hacia los carcinomas humanos en comparación con el cisplatino. En general, se cree que los agentes activos redox que dañan el ADN *in vitro* exhiben actividades apoptóticas al inducir estrés oxidativo y/o daño en el ADN. Parecen formar especies intracelulares redox activas en las células tumorales, que generan ERO *in vivo*<sup>20</sup>.

## 1.4 Casiopeínas

Las Casiopeínas son un grupo de compuestos de cobre diseñados y sintetizados por el grupo de investigación de la Dra. Lena Ruiz Azuara, en los 1990s fueron los primeros compuestos de coordinación de cobre(II) patentados bajo las características de antitumorales<sup>17,30</sup>.

Las Casiopeínas son quelatos mixtos de cobre(II), cuya fórmula general es  $[\text{Cu}(\text{N-N})(\text{N-O})]^+$  o  $[\text{Cu}(\text{N-N})(\text{O-O})]^+$ , donde N-N, denominado como ligante primario, representa una diimina aromática que pueden ser fenantrolinas o bipyridinas sustituidas, y el ligante secundario N-O u O-O puede variar de acuerdo a la generación de Casiopeínas a la que corresponda, como se muestra en la Figura 4<sup>31-33</sup>.

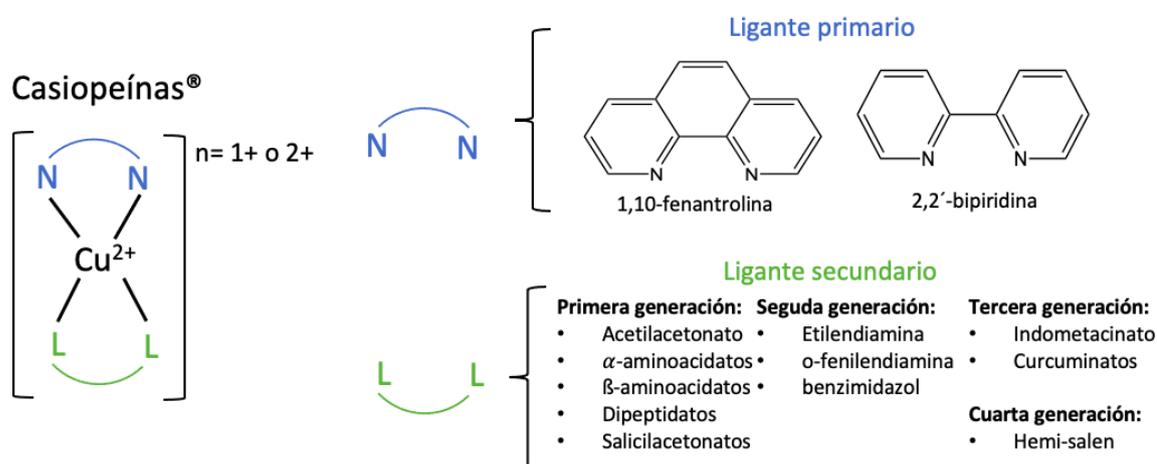


Figura 4. Fórmula general de las Casiopeínas.

Las Casiopeínas han sido ampliamente estudiadas y mediante ensayos *in vitro* e *in vivo* han presentado actividad citotóxica, genotóxica y antitumoral. Se han evaluado en distintas líneas tumorales, como carcinoma de ovario humano<sup>20</sup>, leucemia murina<sup>34</sup>, cervicouterino<sup>20,35</sup>, mama<sup>20,35</sup>, colon<sup>20</sup>, pulmón<sup>26</sup>, próstata<sup>35</sup>, entre otros.

En el diseño de las moléculas, el cobre(II) fue elegido como centro metálico con la finalidad de disminuir los efectos tóxicos, puesto que es un metal esencial y el cuerpo humano cuenta con un sistema homeostático capaz de modular las concentraciones del cobre<sup>36,37</sup>. De igual forma, el cobre presenta propiedades redox, como se mencionó anteriormente, y es un metal mucho más económico en comparación con el platino, lo que disminuiría los costos en la síntesis de los complejos.

Los ligandos primarios elegidos fueron fenantrolinas y bipyridinas sustituidas, que son ligandos con anillos aromáticos que presentan una planaridad debida a la conjugación de la molécula, favoreciendo interacciones de tipo apilamiento  $\pi \dots \pi$  con ADN<sup>38-42</sup>.

Por otra parte, el ligante secundario pueden ser distintas moléculas, la variación del ligante se ha realizado con la finalidad de modular las propiedades de los compuestos, ya que una de las hipótesis es que el ligante secundario participa en el ingreso de los compuestos a la célula al modificar la lipofilidad<sup>32</sup>. El cambio de la carga neta del complejo exhibe una gran influencia, pues los ligantes secundarios neutros generan compuestos de carga +2, menos activos que aquellos de carga +1, que se ha atribuido a su baja lipofilidad<sup>31</sup>. El potencial de media onda  $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}$ , que presenta una correlación con la actividad biológica, también se puede modificar por efecto del ligante secundario, lo que ayudaría a generar especies más reductoras, que son las que han presentado una mejor actividad citotóxica.

En la actualidad, existen cuatro generaciones de Casiopeínas, estas generaciones varían de acuerdo al ligante secundario.

La primera generación de Casiopeínas se caracteriza por tener como ligantes secundarios moléculas aniónicas como aminoacidatos, peptidatos, acetilacetonas, salicilaldehidatos, como los compuestos mostrados en Figura 5 que genera compuestos de con carga +1.<sup>32</sup>

La segunda generación de Casiopeínas se caracteriza por tener ligantes secundarios neutros, tal como 2-aminometilbencimidazol, 2-hidroximetilbenciimidazol, 1,2-fenilendiamina, generando compuestos de coordinación con carga +2<sup>31</sup>.

La tercera generación de Casiopeínas se caracteriza por presentar como ligantes secundarios moléculas que por sí solas ya tienen un comportamiento terapéutico, tal como la indometacina, la curcumina y análogos de ésta<sup>33</sup>.

La cuarta generación se caracteriza por tener un ligante secundario tridentado, se han utilizado ligantes tridentados tipo hemi-salen, con átomos donadores  $\text{N}_2\text{O}$ , estos generan complejos con carga +1, y debido a la flexibilidad de los ligantes las geometrías del compuesto de coordinación pueden variar entre una pirámide de base cuadrada o una bipirámide trigonal<sup>43</sup>. El uso de ligantes tridentados permite la generación de nuevas moléculas con propiedades distintas a las otras generaciones de Casiopeínas, ya que el número de coordinación cambia y la geometría que adapte el centro metálico dependerá del ligante secundaria, lo que podría generar un cambio importante en el mecanismo de acción de estos compuestos y en su actividad biológica.

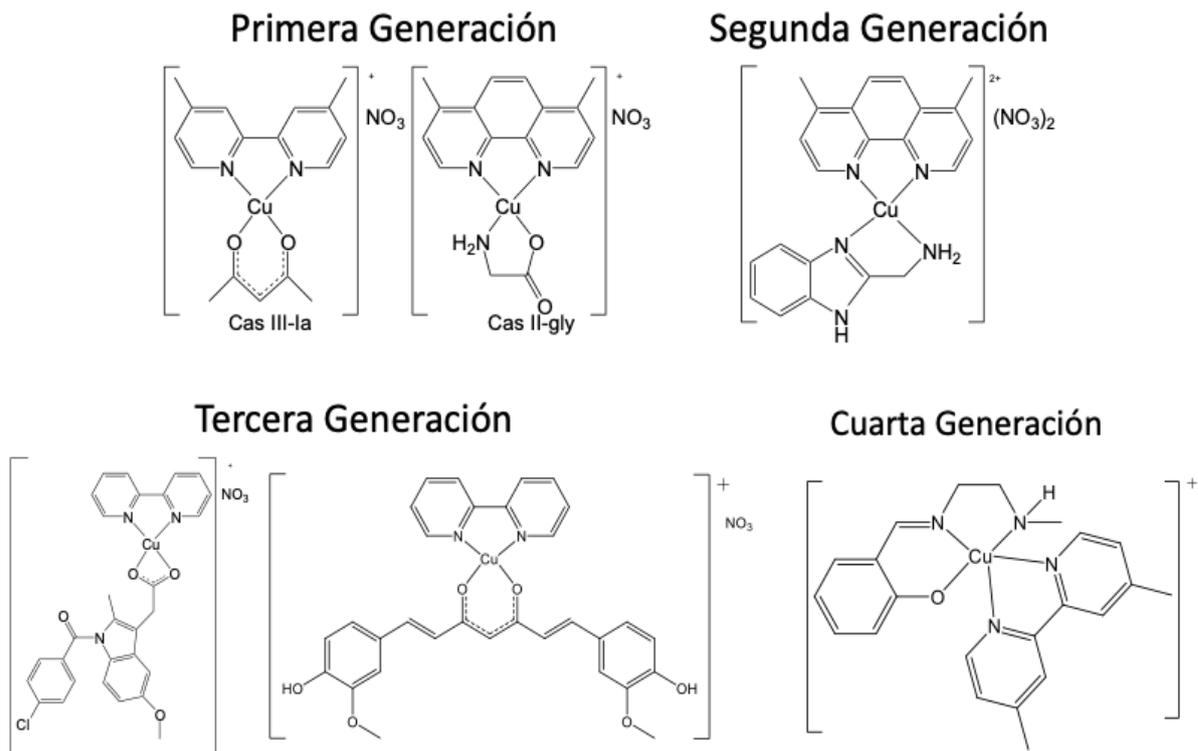


Figura 5. Variaciones del ligante secundario en las Casiopeínas, según la generación.

#### 1.4.1. Estudio de Relación Cuantitativa Estructura Actividad

Mediante un estudio de la relación cuantitativa estructura actividad (*QSAR*, por sus siglas en inglés) de las Casiopeínas de primera generación,<sup>20</sup> se encontró una correlación entre la inhibición de la proliferación celular con el  $\text{LogD}$ , como descriptor de la hidrofobicidad, el potencial de media onda del proceso  $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}$  ( $E_{1/2}$ ), como descriptor de las propiedades electrónicas del cobre, y la influencia del ligante primario, N-N, que puede ser una fenantrolina o una bipiridina.

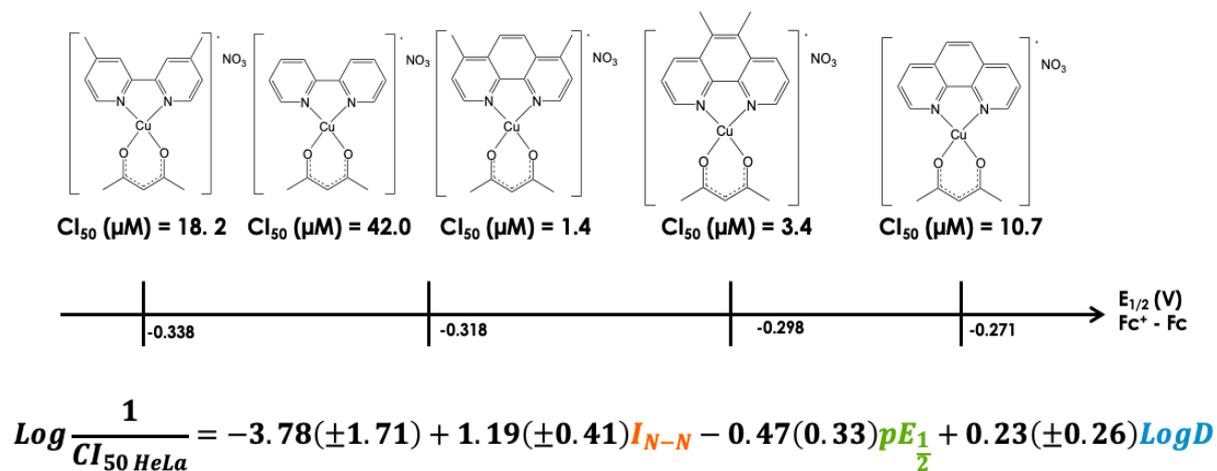


Figura 6. Parámetros que influyen en la actividad biológica de las Casiopeínas de primera generación.

Una de las ecuaciones obtenidas en el estudio *QSAR* (Figura 6) muestra que el descriptor con una mayor contribución es la presencia del ligante primario ( $I_{N-N}$ ). Los compuestos con fenantrolinas como son más activos que aquellos con bipyridinas, como se ilustra en la Figura 6. La presencia de un sistema aromático más grande provoca una mayor toxicidad en el compuesto, tanto *in vivo* como *in vitro*, debido a esto al complejo  $[Cu(N-N)]^{n+}$  se le considera como el ligante primario y el grupo farmacóforo de las Casiopeínas.

El siguiente parámetro con mayor contribución es el potencial de media onda del par  $Cu^{II}/Cu^I$  ( $pE_{1/2}$ ), que sugirió la participación del cobre en el mecanismo de reacción. Los compuestos menos oxidantes, es decir, con potenciales menores, presentan una mayor toxicidad. La adición de sustituyentes electrodonadores, como metilenos, en las diferentes posiciones del ligante primario aumenta la actividad biológica de los compuestos, puesto que aumenta la densidad electrónica del cobre, desplazando el  $E_{1/2}$  a valores más negativos, como se ilustra en la Figura 6.

La hidrofobicidad del complejo, representada por  $LogD$ , contribuye en menor proporción en la actividad citotóxica. Los complejos con acetilacetato como ligantes secundarios son más hidrófobos y ligeramente más activos que aquellos con glicinato, lo que indica que los ligantes más hidrofóbicos aumentan la actividad de los complejos.

Gracias a este estudio se optimizó la síntesis de nuevas Casiopeínas, donde se ha buscado incrementar la actividad biológica de éstas modificando el potencial de media onda, generando compuestos menos oxidantes, y modificando la hidrofobicidad cambiando el ligante secundario.

#### **1.4.2. Mecanismo de Acción de las Casiopeínas**

Las Casiopeínas son un grupo de compuestos que han mostrado un gran potencial como agentes quimioterapéuticos, por lo que se han realizado diversos estudios con la finalidad de comprender la manera en la que actúan en los organismos vivos y elucidar el mecanismo de acción. Los estudios sugieren que los principales sitios de acción son la mitocondria y/o el núcleo de la célula, existe evidencia de que son capaces de inhibir la proliferación celular e inducir la muerte celular por apoptosis. También se ha encontrado que una fracción celular puede activar la autofagia como mecanismo de muerte celular. En un estudio de expresión de genes por microarreglos en la línea tumoral HeLa, se encontró que la Casio II-gly apaga los procesos de proliferación celular y los procesos de muerte celular por apoptosis se encienden<sup>44</sup>.

Uno de los mecanismos de acción propuestos para las Casiopeínas de primera generación es la generación de especies reactivas de oxígeno, ya que el cobre(I) es un catión capaz de participar en reacciones tipo Fenton, formando radicales  $\cdot O_2$  y  $\cdot OH$ .

Un estudio realizado por Remy Kachadourian y colaboradores<sup>26</sup> propone un ciclo catalítico en donde la Casiopeína II-gly interviene provocando daño oxidativo que genera disfunción mitocondrial. La Casiopeína II-gly puede reaccionar con reductores endógenos como el glutatión y genera una especie de  $\text{Cu}^{\text{I}}$  capaz de reaccionar con peróxido de hidrógeno, generado por la dismutación del radical peróxido, regenerando la especie de  $\text{Cu}^{\text{II}}$  y a su vez el radical  $\cdot\text{OH}$  que provoca daño al ADN, causa disfunción mitocondrial y posteriormente la muerte celular, como se ilustra en la Figura 7.

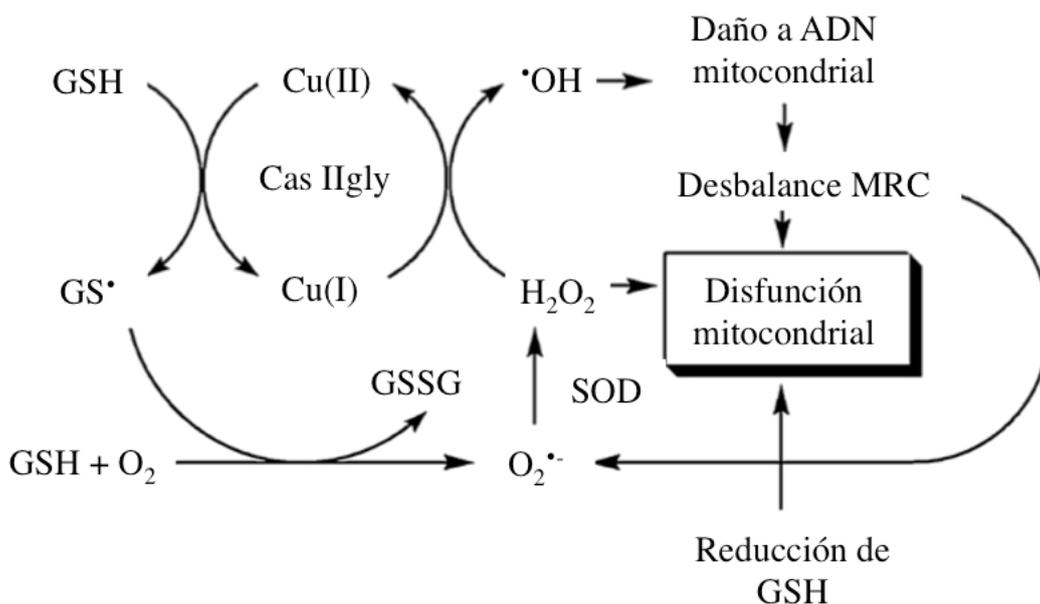


Figura 7. Propuesta de ciclo catalítico de la formación intracelular de radicales  $\cdot\text{OH}$  generado por la Cas IIgly<sup>26</sup>.

El daño al ADN no sólo puede ocurrir por un daño oxidativo, también se ha estudiado la interacción de las Casiopeínas de primera generación directamente con este blanco molecular mediante la teoría de funcionales de la densidad (*density functional theory*, *DFT* por sus siglas en inglés)<sup>45</sup> y ensayos *in vitro*, como electroforesis en gel, espectroscopía electrónica y dicroísmo circular<sup>46,47</sup>.

El estudio de dinámica molecular *in silico* realizado por el Dr. Rodrigo Galindo<sup>45</sup> sugiere que la Casiopeína  $[\text{Cu}(\text{bpy})(\text{acac})\text{H}_2\text{O}]^+$  se estabiliza principalmente en el surco menor del ADN, posteriormente se lleva a cabo la coordinación del cobre(II) con uno de los oxígenos de los fosfatos presentes en el surco menor, en la posición apical libre, como se ilustra en la Figura 8.

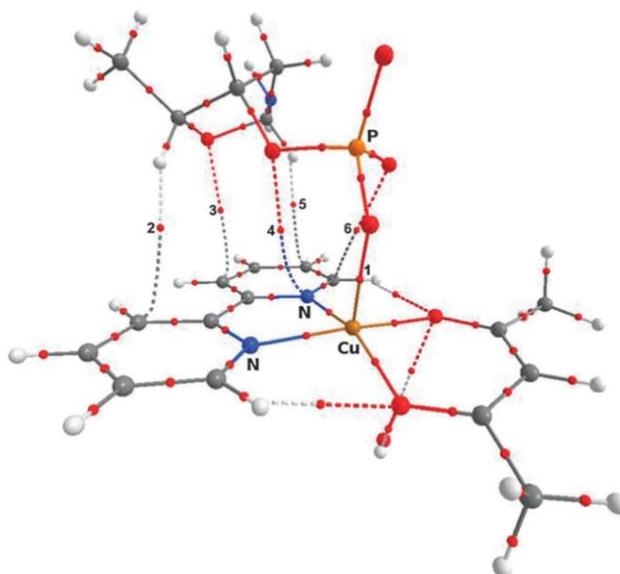


Figura 8. Representación molecular del aducto formado entre el fosfato desoxirribosa y la Casiopeína.<sup>45</sup>

Conociendo que en el sitio de reconocimiento entre el ADN y la Casiopeína se forma el aducto, Galindo realizó estudios de dinámica molecular con una duración de 10  $\mu$ s empleando el dodecámero de Dickerson-Drew ( $d(\text{CGCCAATTCGCG})_2$ ). Los resultados sugieren tres tipos de interacciones: 1) interacción en el final del dodecámero, 2) interacción en el surco menor y 3) intercalación. La interacción presente depende del ligante secundario, el compuesto  $[\text{Cu}(5\text{-metil-fen})(\text{acac})]^+$  presenta la interacción tipo A),  $[\text{Cu}(5\text{-NO}_2\text{-fen})(\text{acac})]^+$  presenta la interacción tipo B),  $[\text{Cu}(4,7\text{-difenil-fen})(\text{acac})]^+$  presenta la interacción tipo C),  $[\text{Cu}(5\text{-fenil-fen})(\text{acac})]^+$  presenta la interacción tipo D), y  $[\text{Cu}(\text{bpy})(\text{acac})]^+$  presenta la interacción tipo E) ilustradas en la Figura 9<sup>45</sup>.

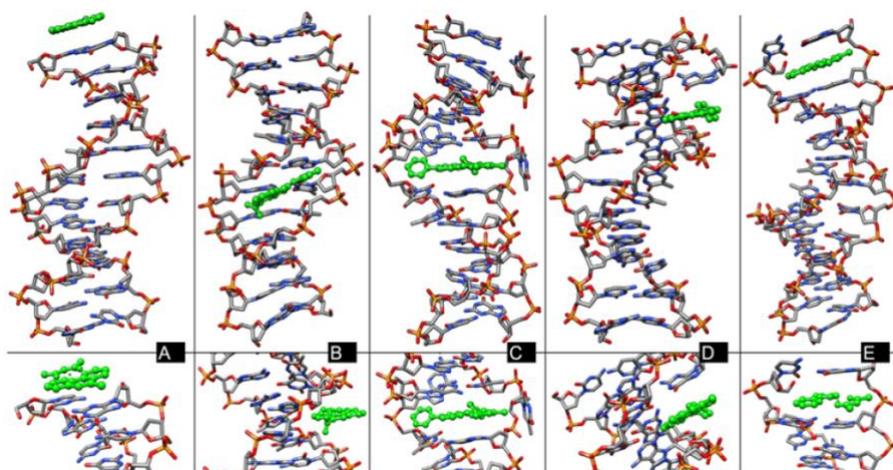


Figura 9. Representación de las distintas interacciones de las Casiopeínas con ADN. A) apilamiento en el extremo terminal del dodecámero, B) interacción en el surco menor, c) intercalación con desplazamiento de bases, d) interacción en el surco menor e intercalación con bases nitrogenadas, y E) intercalación.<sup>45</sup>

Los estudios en electroforesis mostraron que las Casiopeínas presentan interacción con el plásmido pBR322 observándose un cambio en la configuración del plásmido de su forma superenrollada a su forma circular, mientras que algunas Casiopeínas pueden escindir el ADN lográndose observar la forma lineal del plásmido. El cambio de la forma superenrollada a circular se debe a una ruptura en una de las cadenas del ADN, que permite que se pierda el superenrollamiento, cuando se presenta en forma lineal quiere decir que hubo una ruptura doble, esto es, en ambas cadenas del ADN. Mediante estudios de espectroscopía electrónica se estudió el modo de interacción y se encontró que éstas interaccionan en los surcos y también se intercalan. El modo de unión al ADN depende de los ligantes, tanto del primario como el secundario, las constantes de unión calculadas para los compuestos con el ligante secundario glicinato son ligeramente mayores en comparación que con el ligante secundario acetilacetato. El ligante secundario ha mostrado tener una participación importante en la actividad de las Casiopeínas, tanto en su actividad frente a distintas células tumorales, como en el mecanismo de acción propuesto<sup>46,47</sup>.

Como se ha visto, se han realizado bastantes estudios para elucidar el mecanismo de acción de las Casiopeínas de primera generación, sin embargo, las Casiopeínas de cuarta generación con ligantes tridentados bases de Schiff tipo hemi-salen, presentan un número de coordinación y una geometría distinta que puede influir en su mecanismo de acción, ya que los potenciales de reducción  $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}$  cambiarán y las interacciones que presenten con el ADN pueden variar debido a la modificación en la geometría.

### 1.5. Bases de Schiff

Las bases de Schiff es el nombre que se le da al grupo imina o azometino, y fueron descritas por primera vez por Hugo Schiff. La síntesis de las bases de Schiff se lleva a cabo entre una amina primaria a grupo carbonílico (puede ser una cetona o un aldehído), seguida de la transferencia de un protón del nitrógeno al oxígeno para formar un amino alcohol o un carbinolamina. El grupo -OH se protona convirtiéndose en un mejor grupo saliente ( $-\text{H}_2\text{O}^+$ ) y produce un ión imino debido a la pérdida del agua<sup>48</sup>. La pérdida de un protón del nitrógeno da como resultado un doble enlace carbono nitrógeno o una base de Schiff, como se ilustra en la Figura 10.

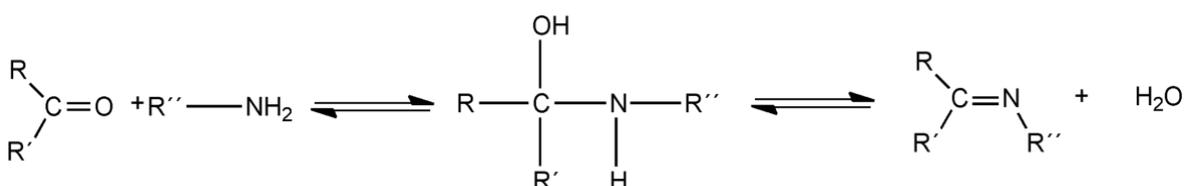


Figura 10. Formación de una base de Schiff<sup>48</sup>.

Las especies imino son un grupo funcional muy versátil debido a que la síntesis es sencilla y sus propiedades estéricas y electrónicas pueden ser modificadas por la elección de los precursores de amina, así como los sustituyentes del grupo carbonilo, creando una infinidad de diferentes compuestos.

Las bases de Schiff derivadas de aldehídos alifáticos pueden polimerizar fácilmente, mientras que las derivadas de aldehídos aromáticos poseen mayor estabilidad gracias a la conjugación electrónica del grupo azometino con el anillo aromático<sup>49</sup>.

Las bases de Schiff han generado un gran interés químico, biológico y médico, el carácter electrófilo del carbono y el nucleófilo del nitrógeno favorecen la unión con diferentes especies electrófilas y nucleófilas. En el campo de los hidratos de carbono se conocen iminas procedentes de la condensación del aldehído y azúcares con aminas y otras resultantes de la condensación de aminoazúcares con aldehídos, pueden unirse a enzimas y ADN o se ven implicados en la formación de puentes de hidrógeno.<sup>50</sup>

El átomo de nitrógeno en el grupo imino es una base de Lewis, por lo que las bases de Schiff pueden ser usadas como ligantes en química de coordinación. Debido a la versatilidad de los ligantes bases de Schiff, se pueden generar una amplia familia de complejos metálicos. Las propiedades electrónicas, estéricas y lipofílicas de estos pueden ser moduladas, estabilizando complejos con diversos estados de oxidación y distintos números de coordinación<sup>49</sup>. Las bases de Schiff y sus complejos metálicos presentan varias aplicaciones terapéuticas, entre ellas su uso como antimicrobianos<sup>51-54</sup>, antitumorales<sup>55-58</sup>, anti alzhéimer<sup>59,60</sup>, etc.

## 1.6. Ligantes Tipo Salen

Cuando dos equivalentes de salicilaldehído reaccionan con un equivalente de 1,2-etilendiamina, se forma el ligante tetradentado (Figura 11) comúnmente conocido como “salen”. Si el ligante se desprotona se genera un compuesto dianiónico, que contiene dos nitrógenos de grupos imino (bases de Schiff) y dos oxígenos fenolatos,  $N_2O_2$ , que pueden actuar como donadores de electrones, coordinando metales de transición con diferentes estados de oxidación, con un fuerte efecto quelatante.

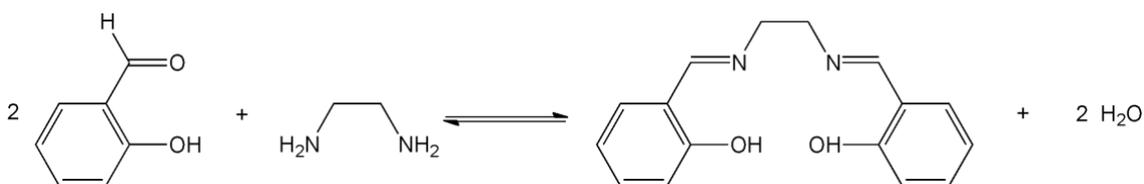


Figura 11. Síntesis de ligante salen

Se pueden usar distintos precursores de aldehídos sustituidos en las diferentes posiciones del anillo aromático o usar diferentes diiminas, que permiten aumentar la flexibilidad del ligante cambiando la geometría que puede adquirir un compuesto de coordinación. El modo de coordinarse y la geometría se ve influenciada por la rigidez y la longitud del puente de metilenos que unen los átomos de nitrógeno. En compuestos de cobre(II), una cadena corta, de dos metilenos o rígida, impone geometrías cuadradas planas, mientras que un puente más largo, de tres y cuatro metilenos, confiere flexibilidad al ligante favoreciendo geometrías cuadradas planas distorsionada, cadenas con más de cuatro metilenos generan compuestos dinucleares donde el ligante salen funge como puente entre ambos centros metálicos<sup>61-65</sup>.

El principal uso que se les ha dado es en catálisis, las bases de Schiff son capaces de transmitir información quiral para generar productos no racémicos a través de procesos catalíticos, coordinando al electrófilo al centro metálico o mediante la activación del nucleófilo<sup>65</sup>. Sin embargo, recientemente la atención se ha centrado en la aplicación de estos complejos en el campo de la química inorgánica medicinal<sup>66-68</sup>.

La mayoría de los ligantes salen son poco o nada solubles en agua, pero son solubles en disolventes orgánicos como DMF o DMSO. La baja solubilidad de estos compuestos ha sido un obstáculo para estudiarlos en sistemas biológicos. Como solución a este problema, se han sintetizado nuevos ligantes con grupos funcionales iónicos, como aminas cuaternarias cargadas<sup>69,70</sup>, o la sulfonación del anillo aromático<sup>71</sup>, que incrementan la solubilidad en agua, además del grupo sulfonato, se pueden introducir ácidos carboxílicos<sup>72</sup> y otros grupos funcionales hidrosolubles, como se muestra en la Figura 12.

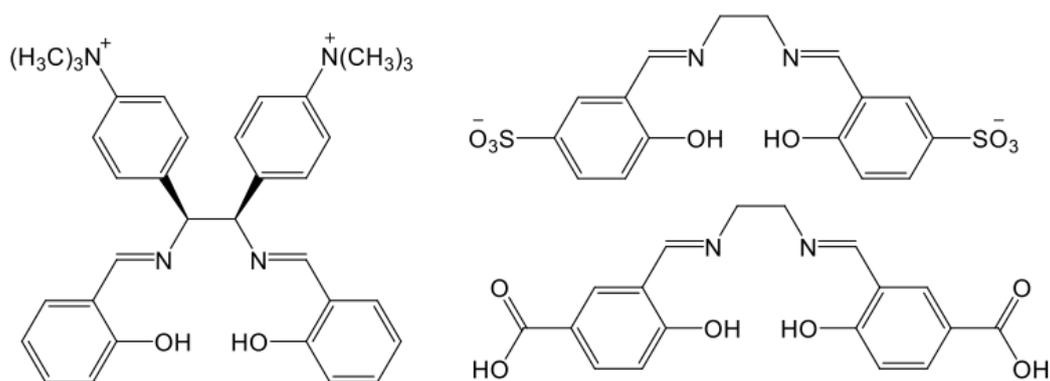


Figura 12. Ligantes tipo salen solubles en agua.

Una desventaja importante de los ligantes tipo salen es que se hidrolizan en medios acuosos o en disolventes con agua provocando su descomposición. En la Figura 11 se muestra la reacción de hidrólisis, en presencia de agua se desplaza el equilibrio a la izquierda para formar los reactivos. Por ejemplo, se han estudiado compuestos de vanadio con SO<sub>3</sub>-salen a diferentes pH y se ha encontrado que puede formar diversas especies dependiendo de éste.

Aunque no todos los ligantes bases de Schiff son igual de susceptibles a la hidrólisis, esto es un problema, ya que la mayoría de los disolventes contienen humedad y los estudios en sistemas biológicos, en su mayoría, se realizan en agua. Una solución a esta desventaja ha sido la reducción de la base de Schiff para formar una amina, como se muestra en la Figura 13, que en comparación con SO<sub>3</sub>-salen, SO<sub>3</sub>-salan es soluble en agua e hidrolíticamente estable<sup>73,74</sup>.

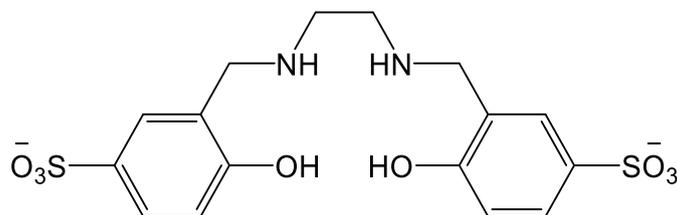


Figura 13. Ligante hidrogenado SO<sub>3</sub>-salan

### 1.7. Ligantes Tipo Salan

Una desventaja importante de las bases de Schiff es que son susceptibles a la hidrólisis<sup>48</sup>, principalmente en medios acuosos, en disolventes no anhidros o en condiciones oxidantes como en presencia de peróxido de hidrógeno, ya que éste tiene cantidades significativas de agua; lo que llevaría a la descomposición de los ligantes, y a la descoordinación de los metales en compuestos de coordinación.

Como solución al problema se han propuesto los derivados hidrogenados, donde la base de Schiff se reduce con NaBH<sub>4</sub> para generar aminas secundarias, como se muestra en el esquema de la Figura 14, este nuevo ligante, bautizado como “tetrahidrosalen” o “salan”, es estable en condiciones acuosas al igual que los compuestos de coordinación que forma.

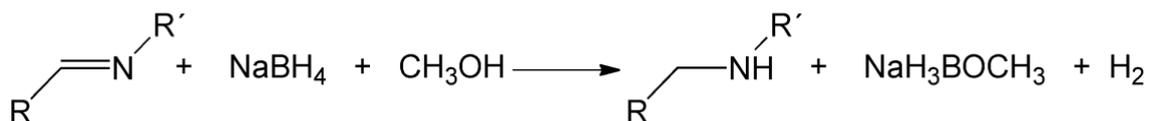
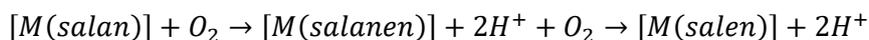


Figura 14. Reacción de hidrogenación del grupo imino.

La hidrogenación del grupo azometino cambia las propiedades del ligante, el nitrógeno se vuelve más básico ( $pK_a=10.6$ ) puesto que ahora es un mejor donador de electrones y al tener mayor carácter *s* presenta una mayor flexibilidad, se ha encontrado que los compuestos de coordinación con estos ligantes presentan una mayor distorsión en su geometría<sup>75</sup>. Los ligantes salan en comparación con las bases de Schiff son más estables en medio acuosos.

La hidrogenación del grupo imino del ligante salen, como solución a la hidrólisis de éste para generar compuestos de coordinación más estable no fue tan exitosa como se esperaba. El estudio de las especies [M(salan)] con metales de la primera serie de transición como Co<sup>II</sup>, Ni<sup>II</sup> y Cu<sup>II</sup>

mostraron que el ligante salan en presencia de O<sub>2</sub> en disolución presenta una deshidrogenación oxidativa, formando las especies [M(salen)] o [M(salannen)] (con un enlace C=N y otro C–N), como se ilustra en la siguiente reacción<sup>76</sup>:



La cinética de la reacción de deshidrogenación oxidativa depende tanto del metal, el disolvente y la geometría del complejo. Böttcher y colaboradores en el 2001 estudiaron la reacción de deshidrogenación de los compuestos [Co(salan)], [Ni(salan)] y [Cu(salan)], encontrando que la cinética de la reacción sigue el siguiente orden Co >> Ni >> Cu. El disolvente fue importante en este proceso, para [Ni(salan)] la interconversión a [Ni(salannen)] en acetona ocurrió en siete días, mientras que en DMF ocurrió mucho más lento, la misma tendencia fue observada para el compuesto [Co(salen)]. Para [Cu(salan)] se observó una mayor estabilidad llegando a dudar si ocurría lo mismo para este compuesto. Algo importante a notar es que en los casos de los complejos de níquel y cobalto en el tiempo de estudio sólo se observó la deshidrogenación de uno de los grupos amina, la oxidación de ambos grupos imino no se llevó a cabo<sup>76</sup>.

Taylor y colaboradores<sup>61</sup> estudiaron el efecto de la geometría sobre el potencial redox de los compuestos [Cu(salan)], [Cu(salpan)] y [Cu(salban)] (Figura 15), sin embargo, no lograron aislar el compuesto [Cu(salan)] obteniendo en todos los intentos a [Cu(salannen)], lo que confirma que para este compuesto también ocurre la deshidrogenación oxidativa.

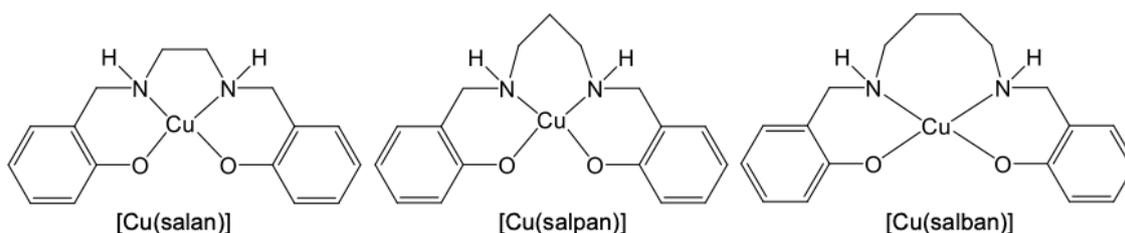


Figura 15. Estructura de compuestos [Cu(salan)], [Cu(salpan)] y [Cu(salban)].

Los ligantes con una cadena de metilenos N-N mayor no son tan susceptibles a la deshidrogenación oxidativa, en el caso de los complejos con ligantes tipo salpan y salban (cadena de tres y cuatro metilenos), los grupos amina no presentaron reacciones en disolución y se pudieron caracterizar y estudiar en diferentes disolventes. Esto se ha atribuido principalmente a la geometría de los compuestos, ya que el ligante salan impone una geometría cuadrada plana, en donde el O<sub>2</sub> disuelto se puede coordinar fácilmente en las posiciones apicales, no obstante, los ligantes salpan y salban al tener una cadena N-N de metilenos más grande son más flexibles y la geometría cuadrada plana se distorsiona, dificultando la coordinación del O<sub>2</sub> al metal<sup>61</sup>.

Pese a lo encontrado, Böttcher y colaboradores<sup>77</sup> encontraron que al usar diiminas con sustituyentes voluminosos en el puente de dos metilenos en el ligante salen se puede evitar la deshidrogenación oxidativa, puesto que el impedimento estérico de los sustituyentes evita que la molécula de oxígeno pueda coordinarse al metal.

Tanto los compuestos de coordinación con ligantes tipo salen y salan, han sido ampliamente estudiados dentro del campo de la química inorgánica medicinal, compuestos de Ni<sup>II</sup>, Cu<sup>II</sup> y Zn<sup>II</sup> han presentado actividad antibiótica frente a distintas bacterias y esto se ha atribuido a la alta lipofilidad de los ligantes que pueden favorecer la permeación a través de la capa lipídica de las membranas bacterianas<sup>68,78,79</sup>. Los compuestos tipo M-salen y M-salan también han presentado buena actividad citotóxica frente a distintas células tumorales, compuestos de V<sup>IV</sup> frente a K562 (leucemia)<sup>80</sup>, Ti<sup>IV</sup> en HeLa (cáncer cervicouterino)<sup>81</sup>, Mn<sup>III</sup> y Fe<sup>III</sup> en MCF-7 (cáncer de mama)<sup>82,83</sup>, etc.

Los mecanismos de acción propuestos para este tipo de compuestos se basan en interacciones de intercalación con blancos moleculares como el ADN o el *G-quadruplex* ADN<sup>84</sup>. Compuestos de hierro(III) han presentado actividad antibacteriana y el mecanismo de acción propuesto es la inducción de ferropoptosis que se ha asociado a la generación de especies reactivas de oxígeno<sup>85</sup>.

Dentro del grupo de investigación de la Dra. Lena Ruiz, se han estudiado los compuestos de tipo [Cu(salen)] y [Cu(salan)], se han realizado cambios en la estructura de los ligantes con la finalidad de determinar la actividad biológica de éstos. Los cambios realizados han sido en la longitud de la cadena de metilenos, por dos, tres y cuatro metilenos, el uso de diferentes precursores de salicilaldehído con diferentes sustituyentes en la posición cinco del anillo aromático y la hidrogenación de la base de Schiff<sup>86</sup>, los cambios realizados se ilustran en la Figura 16.

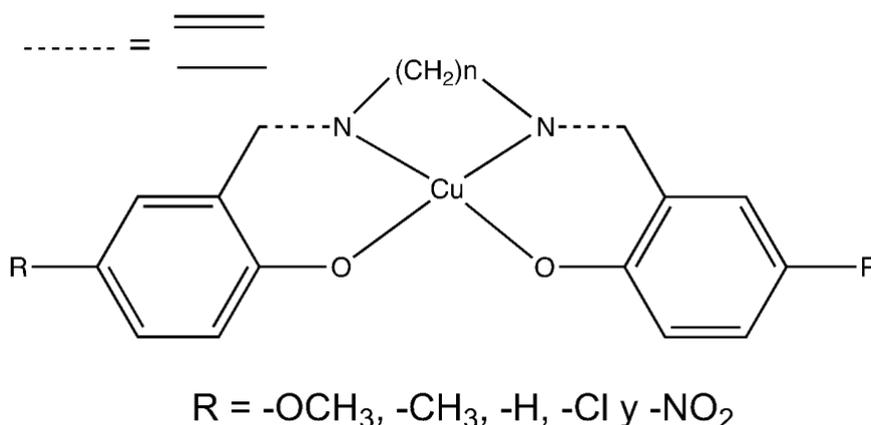


Figura 16. Modificaciones en la estructura del ligante tipo salen.

Los resultados mostraron que los compuestos [Cu(5-NO<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>salen)] y [Cu(5-NO<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>salpr)] presentaron actividad amebicida (CI<sub>50</sub> = 25.12 mM y 18.53 mM), sin embargo, ésta no fue tan buena en comparación del fármaco metronidazol (0.0068 mM)<sup>86</sup>.

Los compuestos con una cadena de 4 metilenos se probaron en las células tumorales A549, HeLa, LS180 y en ARPE-19. Los compuestos más activos fueron  $[\text{Cu}_2(5\text{-Me-salbu})_2]$  y  $[\text{Cu}(5\text{-Cl-salban})]$  presentando concentraciones inhibitorias medias en el intervalo de 20 a 8  $\mu\text{M}$ . Una desventaja es que también presentaron actividad en las células sanas<sup>87</sup>.

Los compuestos de coordinación de cobre con ligantes tipo salen han mostrado ser muy versátiles, dependiendo de las propiedades del ligante, como los sustituyentes o la cadena de metilenos, la actividad biológica de estos puede cambiar y ser más selectiva frente a una enfermedad. Debido a ello, estos compuestos se han estudiado ampliamente y se ha buscado cómo mejorar sus propiedades y la solubilidad de estos sin que se hidrolicen en medios acuosos.

Como se ha mencionado anteriormente, debido la baja solubilidad de los complejos con metales divalentes en agua se han modificado los ligantes adicionando grupos funcionales que permitan su solubilidad en medios biológicos. Otra opción encontrada ha sido la síntesis de ligantes tipo salen tridentados, que al desprotonarse y coordinarse a un metal divalente forma compuestos catiónicos con carga +1, incrementando de manera importante la solubilidad en agua.

### 1.8. Ligantes Tridentados Tipo Salen

Los ligantes bases de Schiff tridentados con átomos donadores NNO derivados de la monocondensación de salicilaldehído con diiminas son conocidos como “unidad media (half-salen) o hemi-salen,” mostrado en la Figura 17. La síntesis de los ligantes se lleva a cabo con salicilaldehído y diiminas con una estequiometría 1:1, sin embargo, si ambas aminas son primarias es posible que se lleve a cabo la doble condensación generando ligantes tipo salen  $\text{N}_2\text{O}_2$  tetracoordinados, por lo que las diiminas usadas en la síntesis de estos ligantes generalmente una es primaria y la otra secundaria o terciaria o se encuentra protegida con un grupo protector para favorecer la monocondensación. Otro método utilizado para la síntesis es mediante el método templado en la síntesis de los complejos<sup>88,89</sup>.

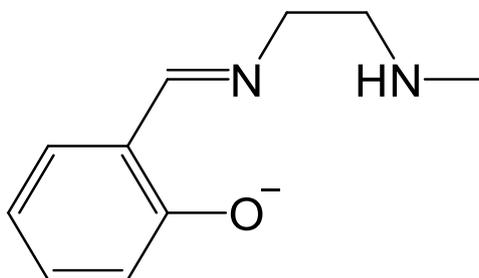


Figura 17. Estructura de ligante unidad media (half-salen) o hemi-salen.

Los ligantes salen tridentados tienen tres átomos donadores NNO, y al desprotonar el fenolato presentan una carga -1. Al coordinarse con metales divalentes generan moléculas monoiónicas solubles en agua, a diferencia de los ligantes tetradentados salen.

La síntesis de compuestos de coordinación con ligantes tipo hemi-salen no ha sido tan estudiada como la de sus compuestos análogos, sin embargo, en los últimos años se ha indagado en los beneficios que presenta el uso de estos ligantes. Presentan posiciones vacantes que pueden ser utilizadas por el disolvente o por algún otro ligante, ya sea monodentado, bidentado o tridentado, produciendo un gran número de nuevos compuestos con distintas geometrías y características. Compuestos de coordinación de Ni<sup>II</sup>, Cu<sup>II</sup>, V<sup>IV</sup>, pueden formar compuestos mononucleares, en donde la posición vacante puede ser ocupada por otros ligantes o incluso, como se muestra en la Figura 18. También, estos ligantes pueden formar compuestos dinucleares que son puenteados por el mismo ligante, o por moléculas pequeñas. Se ha visto que pueden generar estructuras polinucleares con interacciones antiferromagnéticas con iones como Fe<sup>III</sup>, Ni<sup>II</sup> y Cu<sup>II</sup>.<sup>90-92</sup>

El tipo de compuesto que se forme, ya sea mononuclear o polinuclear, depende de las sales de cobre que se utilice en la síntesis y en los sustituyentes que tenga el ligante. Das y colaboradores<sup>93</sup> estudiaron la modulación y el arreglo cristalino supramolecular de compuestos de cobre(II) con ligantes tridentados HL<sup>1</sup> y HL<sup>2</sup>, mostrados en la Figura 18. En la síntesis de los compuestos se usa la sal de cloruro de cobre, el ión cloruro se coordina en el cuarto sitio de coordinación del cobre(II) en los complejos [Cu(L<sup>1</sup>)(μ-Cl)] y [Cu<sub>2</sub>(L<sup>2</sup>)<sub>2</sub>(μ-Cl)<sub>2</sub>], mostrados en la Figura 18. Un segundo cloruro de una especie relacionada con una molécula vecina se coordina con el cobre(II) para hacer que el complejo 1 sea un polímero puenteadado por cloro y el complejo 2 que forma un polímero a partir del doble dímero puenteadado por el cloro.

En el ligante HL<sup>2</sup> la presencia de un átomo de hidrógeno forma un puente de hidrógeno que estabiliza la estructura dimérica de [Cu<sub>2</sub>(L<sup>2</sup>)<sub>2</sub>(μ-Cl)<sub>2</sub>]. La existencia de interacciones C-H...π entre las unidades diméricas da lugar a una red supramolecular en 2D.

Cuando se usa la sal Cu(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> y se añade dicianamida, ésta se coordina en cuarta posición ecuatorial entre dos átomos de cobre para producir las especies poliméricas [Cu<sub>2</sub>(L<sup>1</sup>)(μ<sub>1.5</sub>-NCNCN)]<sub>n</sub> y [Cu<sub>2</sub>(L<sup>2</sup>)(μ<sub>1.5</sub>-NCNCN)]<sub>n</sub>.<sup>93</sup>

El ligante HL<sup>1</sup> en los complejos [Cu(L<sup>1</sup>)(μ-Cl)] y [Cu<sub>2</sub>(L<sup>1</sup>)(μ<sub>1.5</sub>-NCNCN)]<sub>n</sub> no son capaces de formar puentes de hidrógeno, pero HL<sup>2</sup> en los complejos [Cu<sub>2</sub>(L<sup>2</sup>)<sub>2</sub>(μ-Cl)<sub>2</sub>] y [Cu<sub>2</sub>(L<sup>2</sup>)(μ<sub>1.5</sub>-NCNCN)]<sub>n</sub>, son capaces de formar enlaces de hidrógeno. Las interacciones supramoleculares como los puentes de hidrógeno, las interacciones π...π y C-H...π son responsables de la variación en la estructuras moleculares y cristalinas de los complejos. A pesar de que algunos de estos compuestos forman estructuras diméricas, presentan una susceptibilidad magnética cercana a 1.7 MB, lo que indica que no hay interacciones cobre-cobre a temperatura ambiente.<sup>93</sup>

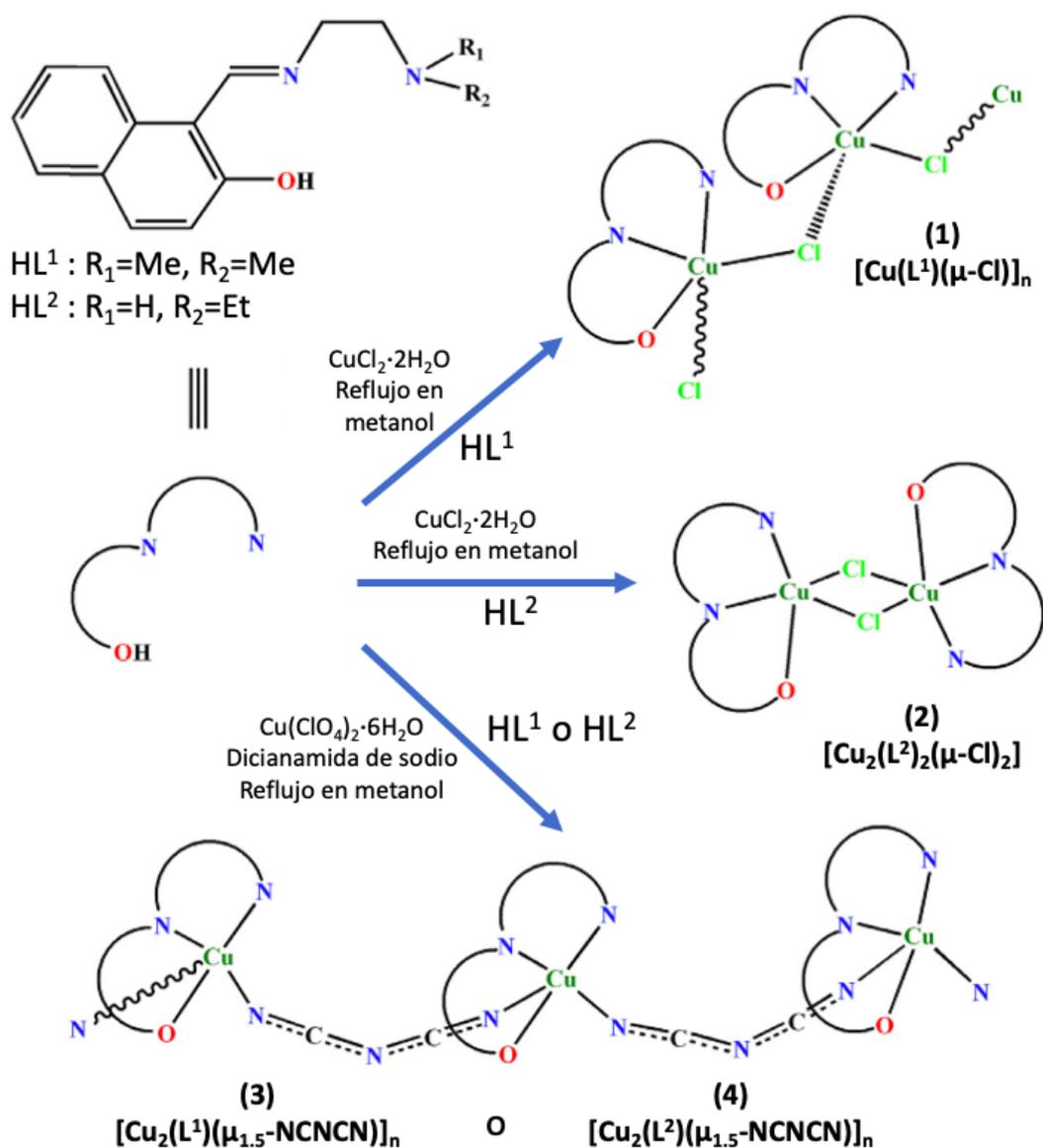


Figura 18. Distintas estructuras moleculares de compuestos de  $Cu^{II}$  con ligantes tridentados asimétricos tipo salen<sup>93</sup>.

Pragathi y Reddy<sup>94</sup>, sabiendo que los compuestos de  $Cu^{II}$  con ligantes tridentados bases de Schiff pueden formar compuestos mononucleares y polinucleares realizaron la síntesis de nuevos compuestos modificando las propiedades estéricas del ligante mostrado en la Figura 19. Al realizar la síntesis con los cuatro ligantes se percataron que al usar  $Cu(NO_3)_2$  se formaban los compuestos monodenados (Figura 19, a) y con  $Cu(ClO_4)_2$  en presencia de trietilamina se formaban compuestos dinucleares estables en disolución (Figura 19, b). Se estudió la interacción que tienen con ADN mediante uv-vis y electroforesis en gel, encontrando que presentan interacciones en los surcos y que a 30 minutos en presencia de  $H_2O_2$  son capaces de escindir el ADN plasmídico; los compuestos dinucleares son los que presentaron una mayor eficiencia<sup>94</sup>.

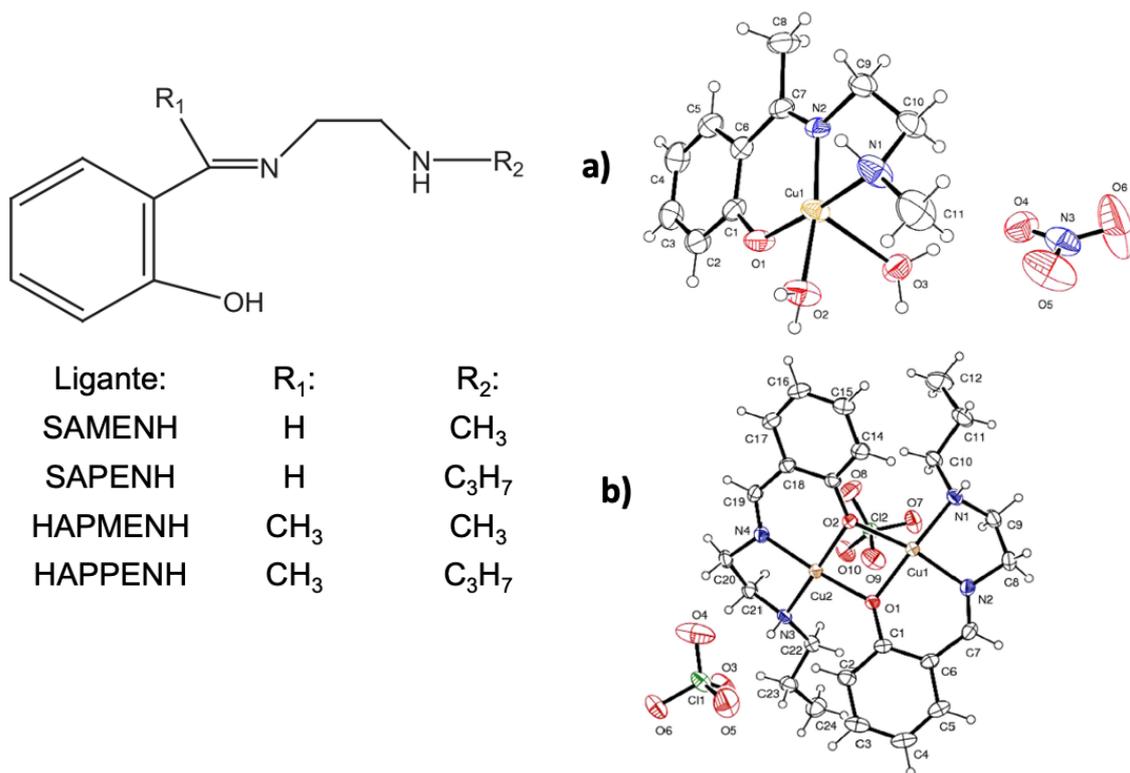


Figura 19. Compuestos de cobre con ligantes tridentados<sup>94</sup>.

Areli Silva en su tesis de maestría<sup>95</sup>, sintetizó una familia de seis compuestos de cobre con ligantes tridentados hemi-salen usando como sustituyentes en la posición 5-, al grupo -NO<sub>2</sub>, -H y -OMe; y modificando la cadena de dos y tres metilenos, con fórmula general [Cu(NNO)(NO<sub>3</sub>)], y doce Casiopeínas de cuarta generación con la fórmula general, [Cu(dmbpy)(NNO)]<sup>+</sup> y [Cu(phen)(NNO)]<sup>+</sup>. Los compuestos se evaluaron en *E. Coli*, y se observó que los compuestos no mixtos [Cu(NNO)(NO<sub>3</sub>)], resultaron ser poco o nada activos, mientras que los derivados mixtos con fenantrolina fueron los que presentaron una mejor actividad, con CI<sub>50</sub> en un rango de 59 a 26 μM, donde el más activo fue el compuesto [Cu(phen)(5-NO<sub>2</sub>-L1)]<sup>+</sup> con un sustituyente -NO<sub>2</sub> y una cadena de dos metilenos. En comparación con la ampicilina, que se utilizó como control (1.23 μM) los compuestos no fueron tan activos, sin embargo, lo que se ha observado, es que los compuestos tipo salen con sustituyentes -NO<sub>2</sub> son aquellos que presentan mejores propiedades antimicrobianas<sup>95</sup>.

La investigación orientada a los complejos metálicos con ligantes tridentados ha sido de gran interés debido a que pueden formar diversos compuestos con geometrías distintas y propiedades antiferromagnéticas. Como se mencionó anteriormente, compuestos de cobre con el ligante asimétrico salen pueden presentar interacciones con ADN y la reactividad hacia éste dependerá de las propiedades del complejo.

Los derivados mixtos con ligantes hemi-salen presentan propiedades distintas, al usar una diimina aromática se ha observado que la actividad biológica de los compuestos se incrementa y modificando el ligante tridentado se pueden sintetizar nuevos complejos con la finalidad de mejorar su actividad frente a distintas enfermedades.

## 2. Justificación

Las Casiopeínas son un grupo de compuestos que ha mostrado una buena actividad frente a distintas líneas tumorales. La actividad farmacófora se le ha atribuido a la especie de cobre coordinada a una diimina aromática, que puede ser biperidina o fenantrolina, mientras que al ligante secundario se le han atribuido propiedades importantes en la modulación del potencial de media onda y en la lipofilidad del complejo. El ligante secundario influye en la actividad biológica de las Casiopeínas al modificar propiedades como la lipofilidad y el potencial de media onda, por lo que se han sintetizado diferentes familias o generaciones de Casiopeínas modificando el ligante secundario.

En este trabajo se sintetizarán nuevas Casiopeínas de cuarta generación con fórmula general  $[\text{Cu}(\text{N-N})(\text{NNO})]^+$ , usando como ligante primario 4,4'-dimetil-2,2'-biperidina, ya que los grupos metilos son sustituyentes donadores de densidad electrónica, que generarán especies menos reductoras (puesto que en estudios previos éstas son las que han mostrado mejor actividad biológica) y como ligantes secundarios un ligante tridentado hemi-salen con átomos donadores NNO.

Los ligantes tipo salen han demostrado ser muy versátiles y por su fácil síntesis y sus propiedades frente a distintas líneas tumorales se utilizarán como ligantes secundarios. Con el objetivo con conservar las propiedades interesantes del ligante salen y sus derivados hidrogenados, e incrementar la solubilidad de éste, se sintetizarán ligantes tridentados NNO hemi-salen, que siguen siendo fáciles de sintetizar y al coordinarse con un metal divalente generan compuestos catiónicos de carga +1, incrementando su solubilidad en medios biológicos.

Se realizarán modificaciones en la estructura del ligante hemi-salen, para estudiar qué propiedades son las que pueden influenciar y mejorar la actividad biológica. Entre los cambios estructurales, ilustrados en la Figura 20, se realizarán la hidrogenación del grupo imino, para generar compuestos más que no puedan hidrolizarse en medios acuosos; se extenderá la aromaticidad de éste usando un sustituyente naftil, para favorecer interacciones intermoleculares de tipo  $\pi \dots \pi$  con blancos biológicos como el ADN. Por último, la extensión de la cadena de metilenos, que influirá en la geometría del cobre y en la lipofilidad del complejo, con la finalidad de estudiar si al cambiar el número de coordinación y la geometría los compuestos presentan una mejor o peor actividad biológica.

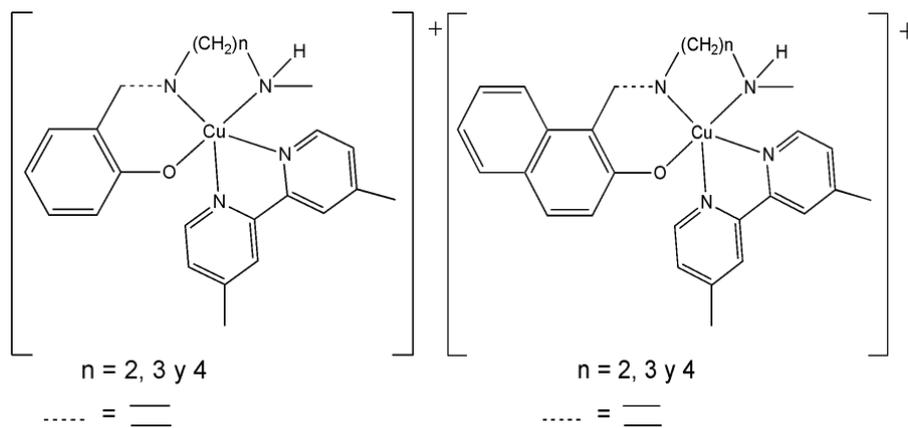


Figura 20. Cambios estructurales en el ligante tridentado tipo hemi-salen.

## 2.1 Hipótesis

El uso de ligantes tridentados hemi-salen como ligante secundario de las Casiopeínas permitirán hacer modificaciones en la coordinación del centro metálico al cambiar el número de coordinación y la geometría del centro metálico. a hidrogenación de enlace imino y el incremento de metilenos en la cadena que une a los átomos de nitrógeno en el ligante tridentado NNO, provocará una distorsión en la geometría del compuesto de coordinación, que modificará las interacciones con ADN, el potencial de media onda y la actividad biológica en células tumorales.

La coordinación del ligante primario (N-N) y la extensión de la aromaticidad en el ligante secundario (NNO) incrementarán la actividad biológica de los compuestos.

## 2.2 Objetivos

### 2.2.1 Objetivos Generales

Sintetizar compuestos de coordinación mixtos de  $\text{Cu}^{\text{II}}$  con ligantes bases de Schiff y sus derivados hidrogenados, con fórmula general  $[\text{Cu}(\text{NNO})(\text{NO}_3)]$  y los derivados mixtos usando 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina (dmbpy), con fórmula general  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{NNO})]^+$  que presenten interacciones con ADN y una posible actividad biológica en células tumorales.

### 2.2.2 Objetivos Particulares

- Sintetizar los ligantes bases de Schiff NNO modificando el número de metilenos en la cadena y el salicilaldehído.
- Realizar la reducción del grupo imino de los ligantes bases de Schiff.
- Sintetizar y caracterizar los compuestos de coordinación de  $\text{Cu}^{\text{II}}$  con los ligantes NNO bases de Schiff y sus derivados hidrogenados.

- Sintetizar y caracterizar los compuestos de coordinación de Cu<sup>II</sup> mixtos con los ligantes NNO y la diimina aromática N-N.
- Evaluar la actividad de los compuestos sobre la viabilidad de las células HeLa y MDA-MB-231 (cáncer cérvico uterino y cáncer de mamá)
- Realizar un estudio que relacione las propiedades de los complejos con su actividad biológica frente a la línea tumoral HeLa.
- Estudiar la interacción de los compuestos de coordinación con ADN mediante las técnicas de uv-vis y electroforesis en gel.

# **3. Desarrollo Experimental**

### 3.1 Reactivos

Los experimentos se realizaron en condiciones ambientales a excepción de la resonancia paramagnética electrónica (RPE) en vidrio, que se realizó a 77 K. Los reactivos: nitrato de cobre(II) hemi(pentahidratado), el salicilaldehído, el 2-hidroxi-1-naftaldehído, la N-metiletano-1,2-diamina, N-metilpropano-1,3-diamina y la 1,4-butanodiamina fueron adquiridas de Sigma Aldrich. El DMSO, fue adquirido de Sigma Aldrich, el metanol, etanol, éter etílico, cloroformo, diclorometano, fueron adquiridos de Química Alvi. Los reactivos fueron utilizados sin purificación previa.

### 3.2 Metodología

#### 3.2.1 Síntesis de Ligantes Ln y LNn (n = 1 y 2) (NNO)

Un mmol de salicilaldehído o 2-hidroxi-1-naftaldehído se disolvió en etanol anhidro, posteriormente se agregó 1.1 mmol de la diaminametilada (N-metiletano-1,2-diamina o N-metilpropano-1,3-diamina), como se muestra en la Figura 21. La disolución se tornó amarilla y se dejó reaccionar bajo agitación y calentamiento ligero por treinta minutos<sup>96</sup>. El disolvente se evaporó al vacío, al igual la diamina, que fue el reactivo en exceso, y se obtuvo un líquido color amarillo. Los ligantes se caracterizaron sin una previa purificación, puesto que se descomponían al estar a temperatura ambiente por un tiempo mayor a 2 h. Los rendimientos en crudo de las reacciones fueron de 95% para L1, 93% para LN1, 86% para L2 y 89% para LN2.

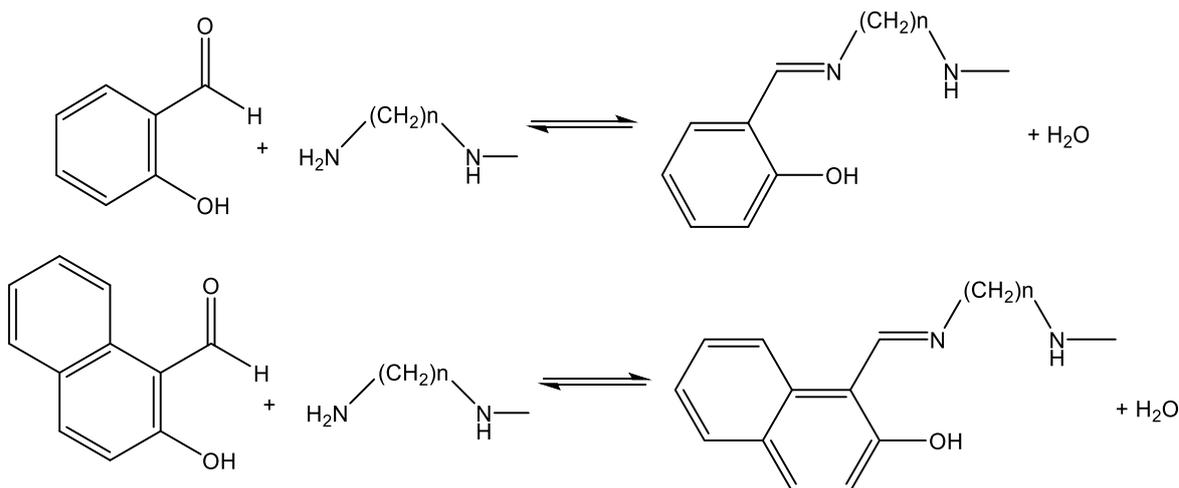


Figura 21. Síntesis de ligantes hemi-salen.

### 3.2.2 Síntesis de Ligantes Hidrogenados Tipo LHn y LNHn (n = 1 y 2) (NNO)

Un mmol de ligante Ln y L<sub>N</sub>n (n = 1,2) se disolvió en metanol, posteriormente se agregó 1.5 mmol de NaBH<sub>4</sub> dividido en cinco porciones cada veinte minutos, como se muestra en la Figura 22. La disolución color amarillo se tornó transparente, y se dejó reaccionar bajo agitación por treinta minutos. Pasado el tiempo, se agregaron 10 mL de agua y se dejó en agitación durante treinta min<sup>97</sup>.

Los ligantes no se aislaron puesto que comenzaban a descomponerse a condiciones ambientales, se caracterizaron comparando los resultados de los compuestos de coordinación con los compuestos con ligantes bases de Schiff.

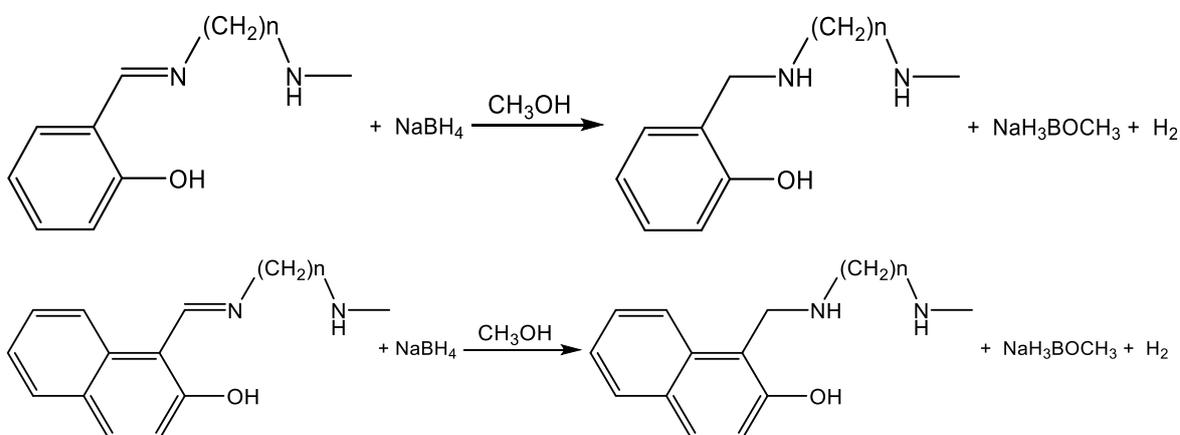


Figura 22. Síntesis de ligantes LNHn.

### 3.2.3 Síntesis de Compuestos de Coordinación de Cu<sup>II</sup> con Ligantes Tridentados NNO, [Cu(NNO)(NO<sub>3</sub>)]

Un mmol de Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O se disolvió en metanol y se agregó gota a gota un mmol del ligante (Ln, L<sub>N</sub>n, LHn o LNHn) disuelto en etanol como se muestra en la Figura 23, la disolución se tornó verde. Se agregó 0.9 equivalentes de NaOH y la reacción se dejó reaccionar por treinta min y posteriormente el disolvente se evaporó, el producto obtenido se precipitó y se purificó con lavados de metanol frío y éter.

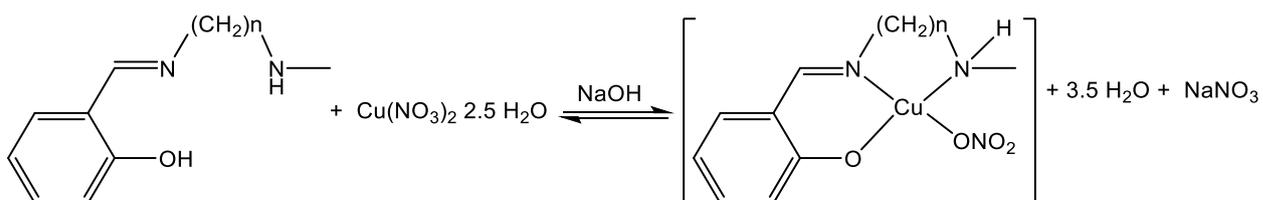


Figura 23. Síntesis de compuestos [Cu(Ln)(NO<sub>3</sub>)].

### 3.2.4 Síntesis de Compuestos de Coordinación Mixtos [Cu(N-N)(NNO)]PF<sub>6</sub>

Un mmol de Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O se disolvió en 15 mL de metanol, y se goteó lentamente 1 mmol de 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina (dmbpy) disuelto en 60 mL de etanol anhidro. Terminada la adición, un mmol del ligante secundario NNO (Ln, LNn, LHn o LNHn) se disolvió en 60 mL de etanol anhidro y se goteó lentamente sobre la mezcla de reacción y se dejó treinta min en agitación. Se agregó 0.9 mmol de NaOH diluido en etanol y se añadió gota a gota y se dejó en agitación por treinta min. Por último, se añadió 1 mmol de KPF<sub>6</sub> y se dejó en agitación durante dos horas más, como se ilustra la Figura 24. Terminada la reacción se concentró la disolución y se precipitó el compuesto añadiendo agua fría. Se lavó el producto obtenido con agua y con etanol y se filtró usando papel filtro al vacío. El compuesto obtenido se lavó con gotas de agua tibia para filtrar impurezas, el sólido obtenido se lavó con éter etílico y se secó al vacío.

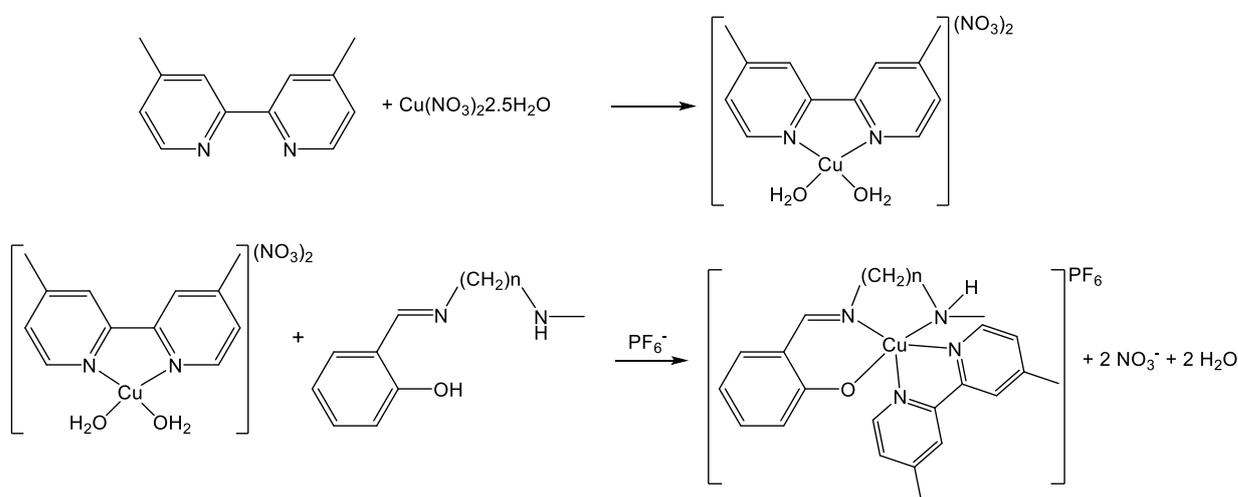


Figura 24. Síntesis de [Cu(dmbpy)(Ln)]PF<sub>6</sub>.

Para los compuestos [Cu(dmbpy)(L3)]PF<sub>6</sub> y [Cu(dmbpy)(LN3)]PF<sub>6</sub> se usó una ruta de síntesis distinta. Se disolvió nitrato en cobre en etanol y se añadió gota a gota 1 mmol de 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina disuelta en etanol, terminada la adición se agregó gota a gota 1 mmol del salicilaldehído correspondiente disuelto en etanol. Posteriormente, se agregó 0.8 mmol de NaOH y se dejó reaccionar 20 minutos. Por último, se adicionó 1 mmol de 1,4-diaminbutano y se dejó reaccionar por una hora y se añadió 1 mmol de KPF<sub>6</sub> y se dejó en agitación durante dos horas más, como se muestra en la Figura 25. La purificación de los productos obtenidos fue la misma que en el caso anterior, se concentró la mezcla de reacción al evaporar parte del disolvente, se añadió agua para precipitar el compuesto y se filtró al vacío ocupando un papel filtro, por último, al producto obtenido se lavó con gotas de agua tibia para filtrar impurezas, y el sólido obtenido se lavó con éter etílico y se secó al vacío.

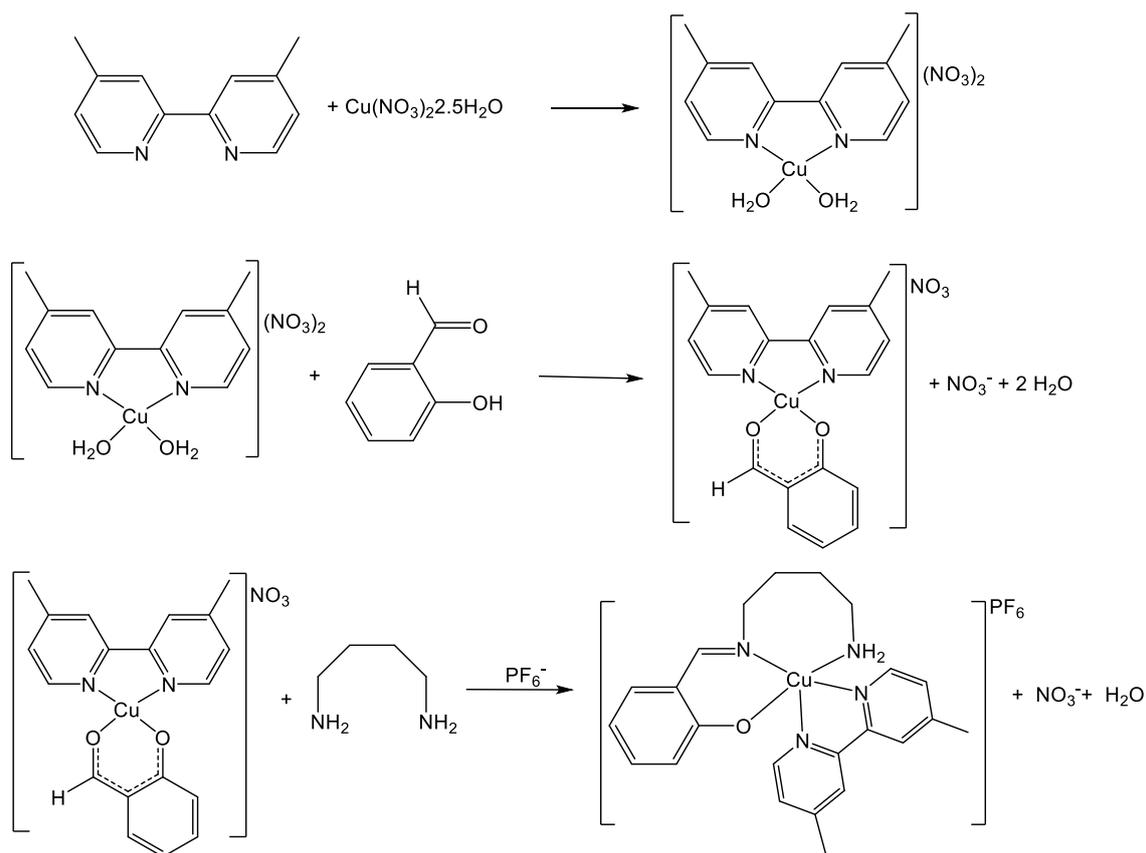


Figura 25. Síntesis de [Cu(dmbpy)(L3)]PF<sub>6</sub>.

### 3.3 Caracterización

Los espectros de IR se realizaron en un equipo Nicolet AVATAR 320 FT-IR en un intervalo de 4000 – 400  $\text{cm}^{-1}$ . Las muestras fueron previamente molidas y diluidas en KBr (Sigma Aldrich) grado espectroscópico para posteriormente preparar una pastilla.

Los experimentos de análisis elemental fueron realizados en la Unidad de Servicio de Apoyo a la Investigación y a la Industria (USAI), se empleó un analizador elemental EAGER 200 (EAGER 200 CHNS/method).

El análisis de conductividad se realizó en un conductímetro JENWAY 4350 *Conductimetry and pHmeter*, que fue previamente calibrado con disoluciones de KCl 1.0, 0.1 y 0.01  $\text{mol L}^{-1}$ . Se prepararon disoluciones de cada compuesto en una concentración de 0.001  $\text{mol L}^{-1}$  en DMSO y en metanol.

Los ligandos bases de Schiff NNO se caracterizaron por resonancia magnética nuclear de protón RMN-<sup>1</sup>H, los experimentos se realizaron en la USAI, en un equipo VARIAN VNMR 400 MHz. 20 mg de los compuestos fueron disueltos en 1 mL de DMSO deuterado, los desplazamientos químicos se reportaron en ppm relativos al estándar interno tetrametilsilano (TMS).

Los espectros electrónicos fueron obtenidos en un espectrofotómetro GENESYS 10S THERMO SCIENTIFIC de arreglos de diodos en un intervalo de 100 - 1100 nm, se utilizó una celda de cuarzo de 3 mL. Para determinar los espectros electrónicos de los compuestos de coordinación se prepara una disolución de concentración  $0.001 \text{ mol L}^{-1}$  en DMSO.

Los espectros de resonancia paramagnética electrónica fueron realizados en el Instituto de Química de la UNAM, en un equipo JEOL JES-TE300 equipado con un sistema criogénico ITC<sup>503</sup>. La muestra en sólido se midió en una celda plana a temperatura ambiente y las muestras en disolución de DMSO  $0.001 \text{ mol L}^{-1}$  se midieron a 77 K usando nitrógeno líquido para congelar la muestra. El campo externo magnético se calibró usando un gaussómetro de precisión JEOL ES-FC5 y frecuencia de microondas con un contador de frecuencia 5330B HP. El campo magnético centrado utilizado fue de 301.415 mT, un poder de microondas de 1 mW y frecuencia de 2.02 GHz.

La espectrometría de masa de los ligantes bases de Schiff se realizó en la USAII mediante la técnica de APCI acoplado a cromatografía en un equipo LECO PEGASUS III. Las muestras de los compuestos de coordinación fueron evaluadas en el Instituto de Química de la UNAM utilizando el método de ionización de FAB+ en un equipo JEOL The AccuTF JMS-T100.LC.

Para obtener los cristales se prepararon soluciones saturadas del compuesto correspondiente en metanol (Química Alvi, CDMX, Mx) y se dejaron evaporar lentamente hasta obtener cristales. Los monocristales de los compuestos  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}_3(\text{L2})_3\mu^3\text{-OH}](\text{PF}_6)_2\text{H}_2\text{O}$   $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]\text{PF}_6$  y  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN1})]\text{PF}_6$  elucidados en la USAII, se montaron sobre una fibra de vidrio; los datos cristalográficos se recogieron con un difractor Oxford Diffraction Gemini "A" con un detector de área CCD, con  $1_{\text{MoK}\alpha} = 0.71073 \text{ \AA}$ . Los parámetros de la celda unitaria se determinaron con un conjunto de tres corridas de 15 marcos ( $1^\circ$  en w). Se utilizó el método de escaneo de doble paso para excluir cualquier ruido.<sup>98</sup> Los marcos recopilados se integraron mediante el uso de una matriz de orientación determinada a partir de los escaneos de marcos estrechos. Las constantes de celda finales se determinaron mediante un refinamiento global; los datos recolectados fueron corregidos por absorción usando una corrección de absorción numérica analítica usando un modelo de cristal multifacético basado en expresiones sobre la simetría de Laue con reflejos equivalentes.<sup>99</sup> Las soluciones y el refinamiento de la estructura se realizaron con los paquetes SHELXS-2018<sup>100</sup> y SHELXL-2018.<sup>101</sup> Se utilizaron los software WinGX v2020.2<sup>102</sup> y MERCURY<sup>103</sup>. El refinamiento por mínimos cuadrados de matriz completa se llevó a cabo minimizando  $(F_o^2 - F_c^2)^2$ . Todos los átomos que no son de hidrógeno se refinaron anisotrópicamente. Los átomos de H de los grupos amina (N-H) se ubicaron en un mapa de diferencia y se refinaron isotrópicamente con  $U_{\text{iso}}(\text{H})$  de  $1.2 U_{\text{eq}}$  para N-H. Los átomos de H unidos a los átomos de C se colocaron en posiciones idealizadas geométricamente y se refinaron

como montados en sus átomos originales, con C–H = 0.93– 0,99 Å,  $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1.2U_{\text{eq}}(\text{C})$  para los grupos aromático y metileno y  $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1.5U_{\text{eq}}(\text{C})$  para grupos metilo. Los datos cristalográficos para todos los complejos se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Refinamiento de estructura y datos de cristal para los compuestos [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(dmbpy)(LN1)]PF<sub>6</sub> y [Cu<sub>3</sub>(L2)<sub>3</sub>μ-OH](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O.

Clave de identificación	[Cu(LN1)(NO <sub>3</sub> )]	[Cu(dmbpy)(LN1)]PF <sub>6</sub>	[Cu <sub>3</sub> (L2) <sub>3</sub> μ-OH](PF <sub>6</sub> ) <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O
Fórmula empírica	C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> Cu N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	C <sub>26</sub> H <sub>27</sub> Cu F <sub>6</sub> N <sub>4</sub> O P	C <sub>33</sub> H <sub>47.93</sub> Cu F <sub>12</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub> P <sub>2</sub>
Peso de la fórmula	352.83	620.02	1105.26
Temperatura	130(2) K	130(2) K	130(2) K
Longitud de onda	0.71073 Å	0.71073 Å	0.71073 Å
Sistema cristalino	Monoclínica	Triclínica	Monoclínica
Grupo espacial	<i>P</i> 21	<i>P</i> -1	<i>P</i> 21/c
Dimensiones de celda unitaria	a = 8.5848(5) Å b = 7.2794(3) Å c = 12.1840(8) Å a = 90° b = 107.658(7)° g = 90°	a = 8.7577(5) Å b = 11.4666(6) Å c = 13.5640(7) Å a = 95.388(4)° b = 98.250(4)° g = 104.041(5)°	a = 20.0874(9) Å b = 14.5416(5) Å c = 14.8448(6) Å a = 90° b = 99.978(4)° g = 90°
Volumen	725.53(8) Å <sup>3</sup>	1295.93(12) Å <sup>3</sup>	4270.6(3) Å <sup>3</sup>
Z	2	2	4
Densidad (calculada)	1.615 Mg/m <sup>3</sup>	1.589 Mg/m <sup>3</sup>	1.719 Mg/m <sup>3</sup>
Coefficiente de absorción	1.527 mm <sup>-1</sup>	0.976 mm <sup>-1</sup>	1.658 mm <sup>-1</sup>
F(000)	362	634	2244
Tamaño de cristal (mm <sup>3</sup> )	0.470 x 0.260 x 0.100	0.440 x 0.360 x 0.100	0.460 x 0.400 x 0.028 mm <sup>3</sup>
Rango theta para la recopilación de datos	3.454 a 30.127°	3.462 a 30.144°	3.392 a 29.565°
Rangos de índice	-11<=h<=11, -10<=k<=9, -17<=l<=15	-9<=h<=12, 15<=k<=15, -18<=l<=18	-25<=h<=23, -18<=k<=19, 19<=l<=16
Reflexiones recogidas	7942	11634	24033
Reflexiones independientes	3567 [R(int) = 0.0276]	6431 [R(int) = 0.0263]	10134 [R(int) = 0.0744]
Complejidad a theta = 25.242°	99.7%	99.7%	99.7%
Método de refinamiento	Mínimos cuadrados de matriz completa en F <sup>2</sup>	Mínimos cuadrados de matriz completa en F <sup>2</sup>	Mínimos cuadrados de matriz completa en F <sup>2</sup>
Datos / restricciones/ parámetros	3567 / 2 / 203	6431 / 1 / 358	10134 / 0 / 556
Bondad de ajuste en F <sup>2</sup>	1.037	1.036	1.275
Índices R finales [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0291, wR2 = 0.0620	R1 = 0.0376, wR2 = 0.0811	R1 = 0.0884, wR2 = 0.3165
Índices R	R1 = 0.0341, wR2 = 0.0655	R1 = 0.0488, wR2 = 0.0882	R1 = 0.1346, wR2 = 0.3299
Mayor diferencia pico y agujero	0.226 y -0.318 e.Å <sup>-3</sup>	0.420 y -0.382 e.Å <sup>-3</sup>	1.088 and -1.174 e.Å <sup>-3</sup>

### 3.4 Métodos Computacionales DFT

Los cálculos DFT de optimización de las estructuras se desarrollaron usando el programa Gaussian 06 para Mac, el funcional usado y la base fue M06/LANL2DZ. Para la fase solvatada se usó un modelo de solvatación SMD en dimetilsulfóxido, n-octanol y agua.

### 3.4.1 Cálculo de LogP<sub>o/a</sub> Teórico

El logaritmo de partición se calculó teóricamente, se optimizaron las geometrías de los diferentes compuestos por el método de la teoría del funcional de las densidades, usando un funcional M06, base Lanld2dz y un modelo de solvatación SMD. Las estructuras optimizadas fueron confirmadas por un análisis mínimo vibracional (ninguna frecuencia imaginaria). El logaritmo de partición teórico n-octanol agua fue calculado de acuerdo a la siguiente ecuación.<sup>104,105</sup>

$$DFT - \text{Log } P = \frac{\Delta G_{\text{Sol agua}} - G_{\text{Sol n-octanol}}}{2.303RT}$$

Donde  $\Delta G_{\text{sol}}$  es el cambio de energía libre de solvatación del estado estándar en un compuesto en n-octanol y en agua a 298.15 K. La energía libre de solvatación en estado estándar se define como la energía libre de transferencia de la fase gaseosa a la fase condensada, en las condiciones estándar. Debido a que las energías libres en fase gaseosa se calculan con respecto a un estado estándar de 1 atm, es necesario agregar un factor de corrección de  $RT \ln 24.46$  (es decir, 1.894 kcal mol<sup>-1</sup> a 298 K) para convertirlo al estado estándar de 1 mol dm<sup>-3</sup>.<sup>106,107</sup>

### 3.5 Voltamperometría Cíclica

Los experimentos de electroquímica se realizaron en un potenciostato / galvanostato PAR273 con un arreglo convencional de tres electrodos, utilizando un electrodo de trabajo de carbono vítreo, como electrodo auxiliar un alambre de Pt y como electrodo de pseudoreferencia un alambre de Ag. Como ajuste interno se referenció contra el par Fc<sup>+</sup>-Fc. Los experimentos se realizaron compensando la caída óhmica por retroalimentación positiva del sistema.

Como electrolito soporte se utilizó hexafluorofosfato de tetrabutilamonio (TBAPF<sub>6</sub>) marca sigma-aldrich (99.99% de pureza) y dimetilsulfóxido marca sigma-aldrich (99.9% de pureza) previamente secado con perlas moleculares, y ferroceno marca sigma-aldrich (99.9% de pureza).

Se prepararon 10 mL de disolución, con una concentración 0.1 mol L<sup>-1</sup> del electrolito soporte y 0.001 mol L<sup>-1</sup> del compuesto de coordinación. Los experimentos se llevaron a cabo bajo el burbujeo de nitrógeno gaseoso.

Se realizaron experimentos de inversión de potencial a diferentes velocidades de barrido, hacia potenciales positivos y negativos iniciando desde el potencial de corriente nula.

### 3.6 Líneas celulares

Se emplearon las líneas celulares HeLa y MDA-MB-231, adenocarcinoma de cérvix y de mama, obtenidas por crecimiento adherente derivadas de tumores sólidos humanos. Las células fueron cultivadas en medio DMEM-F12 por sus siglas en inglés (*Dulbecco's Modified Eagle's*

*Medium/Ham's Nutrient Mixture F-12*), que contiene L-glutamina 2.5 mM, HEPES 15 mM, piruvato de sodio 0.5 mM y bicarbonato de sodio 1200 mg L<sup>-1</sup>, con rojo fenol, suplementado con 10% de suero fetal bovino (SFB, Biowest), 1% de antibiótico y antimicótico (Anti-Anti, Biowest), y 1% de aminoácidos no esenciales (ANE, Biowest), en cajas de cultivo de plástico estériles CORNING de 75 cm<sup>2</sup> e incubadas a 37 °C y en atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5%, en una incubadora CO2cell MMM Group. Para el mantenimiento de las células, se cambió el medio cada dos días lavando las células con una solución tampón salina de fosfatos (PBS) a un pH de 7.1-7.3.

### **3.6.1 Proliferación Celular**

Las células se encontraban congeladas a una temperatura de -196 °C en un contenedor de nitrógeno, los crioviales contenían 1 mL de suspensión celular más 50 µL de DMSO. La suspensión de células se descongeló a temperatura ambiente y agregó 1 mL de medio DMEM-F12 suplementado. La suspensión se transfirió a un tubo falcon de 15 mL con 5 mL de medio y se centrifugó por 5 min a 1500 rpm. El sobrenadante se decantó y se agregó 1 mL de medio para resuspender las células. Las células se cultivaron en botellas de cultivo que contenían 8 mL de medio DMEM-F12 suplementado con SFB y se dejaron incubar a 37 °C y 5% de atmósfera de CO<sub>2</sub>. Cuando las células se adhirieron a la superficie de la botella, se cambió el medio y se dejaron proliferar hasta que hubiera un 80% de abundancia o confluencia.

### **3.6.2 Conteo y Comprobación de la Viabilidad**

Los cultivos con 80% de confluencia se trataron añadiendo 5 mL de una solución de verseno (EDTA y PBS) durante 6 min a 37 °C, obteniendo una suspensión celular que se diluyó en medio DMEM-F12 y se centrifugó a 1500 rpm. El botón celular se decantó y se resuspendió en medio nuevo y se realizó el conteo celular en una cámara de Neubauer mediante el método de exclusión con azul tripano 0.4%

### **3.6.3 Determinación de la Concentración Inhibitoria Media de los Compuestos de Coordinación**

Para la determinación de la citotoxicidad de los compuestos de coordinación se empleó el ensayo de MTT realizando modificaciones<sup>108,109</sup>. Se usaron cajas de 96 pozos, en cada uno de los pozos se cultivaron 10,000 células en medio DMEM-F12 (100 µL), se incubaron por 24 h a 37 °C en atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5%. Pasado el tiempo el medio se retiró y colocó 90 µL medio nuevo con 10 µL de las disoluciones de los compuestos a probar disueltos en una mezcla DMSO:H<sub>2</sub>O, 1:9, para

que la concentración final del DMSO en cada pozo fuera del 1%. Las concentraciones evaluadas para los compuestos no mixtos, fueron de 120, 100, 80, 40 y 20  $\mu\text{M}$ , y para los compuestos mixtos fueron de 40, 20, 10, 5 y 1  $\mu\text{M}$ , debido a que los compuestos mixtos son más activos y se tuvieron que utilizar concentraciones menores para determinar la  $\text{CI}_{50}$ .

Los resultados se compararon con el control negativo, que sólo contenía el medio de cultivo y el control positivo que contenía la mezcla de disolvente usada para disolver las muestras. Por placa se probaron cuatro compuestos y cada uno se evaluó por cuadruplicado, como se muestra en la Figura 26.

Las células estimuladas con los compuestos se dejaron incubar durante  $24 \pm 2$  h. Posteriormente, el medio con el tratamiento se retiró y se añadieron 30  $\mu\text{L}$  de una disolución de 0.5 g/mL de MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5,-difentetrazolio) disuelto en PBS. Las células se dejaron incubando por 4 h, se retiró el sobrenadante y los cristales de formazan se disolvieron en 100  $\mu\text{L}$  de una disolución de isopropanol (1620 mL de isopropanol, 300 mL de SDS al 20% y 10 mL de HCl 1N), se dejó reposar durante 10 min y la placa se leyó en el lector de microplacas Elisa (AgileReader®) en una longitud de 570 nm. El procedimiento se repitió tres veces más de manera independiente.

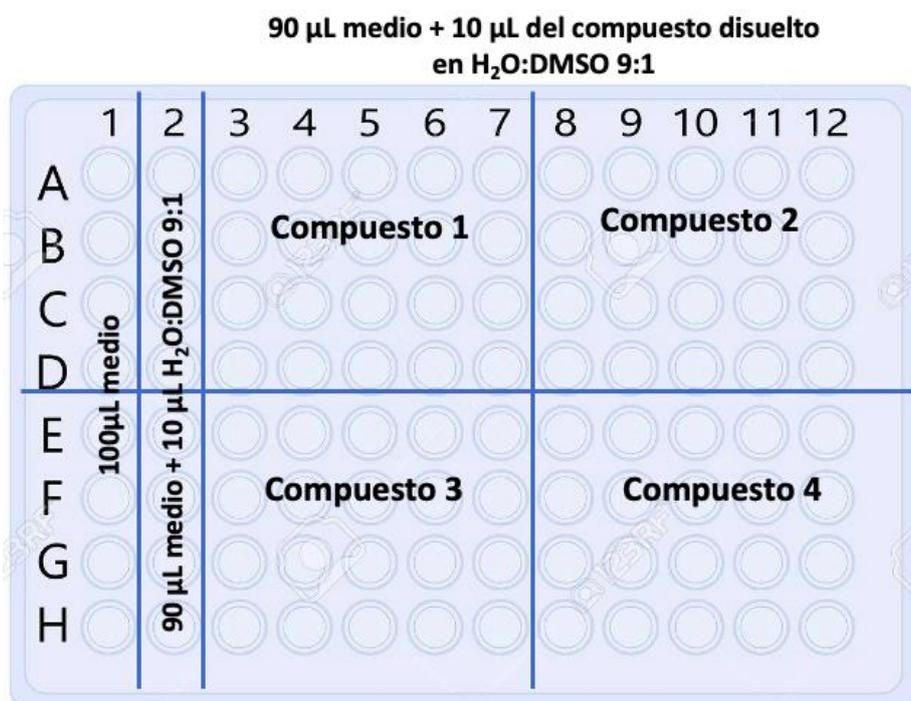


Figura 26. Esquema del ensayo de inhibición celular.

El porcentaje de inhibición celular se calculó usando la siguiente fórmula:

$$\%I = 100 - \left(100 \times \frac{T}{C}\right)$$

Donde:

$\%I$  = porcentaje de Inhibición celular

$T$  = Absorbancia del pozo con tratamiento

$C$  = Absorbancia del pozo sin tratamiento

Finalmente se construyeron curvas de concentración respuesta (CR) graficando el  $\%I$  en función del logaritmo de la concentración del compuesto a evaluar en unidades de micromolar ( $\mu\text{M}$ ). Las gráficas se ajustaron utilizando el programa Origin Pro 5. De la ecuación obtenida de los ajustes realizados se calcularon las concentraciones de inhibición media ( $\text{CI}_{50}$ ).

### 3.7 Interacción con ADN

#### 3.7.1 Espectroscopía Electrónica.

Se determinó la interacción de los complejos con ADN lineal. Se usó ADN de ternera, (CT-ADN, por sus siglas en inglés) disuelto en amortiguador, NaCl 0.5 mM / Tris-HCl 5 mM a pH = 7. Para determinar la pureza del ADN y se determinó el cociente de absorbancias en 260 nm y 280 nm, para la muestra usada fue de 1.85, indicando que el ADN se encontraba libre de proteínas. El ADN se cuantificó mediante su absorción en 260 nm usando el coeficiente de absortividad molar ( $6600 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).

Para determinar la constante de unión ( $K_b$ ) se realizaron titulaciones de los compuestos de coordinación, los detalles de los experimentos se muestran en la Tabla 2. Se prepararon 2000  $\mu\text{L}$  de la disolución de los complejos con una concentración aproximada de 10  $\mu\text{M}$ , disueltos en una disolución amortiguadora (0.5 mM NaCl/5 mM Tris-HCl a pH=7) y al 5% en DMSO. A la disolución anterior se le añadieron alícuotas de 10  $\mu\text{L}$  de la disolución de ADN, cuantificada previamente, con la finalidad de ir variando la concentración de éste, los detalles experimentales se muestran en la Tabla 2 para el compuesto  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN1})]^+$ . Posterior a cada adición se colectó un nuevo espectro de electrónico usando un espectrofotómetro Cary 60. El cociente  $r = [\text{complejo}]/[\text{ADN}]$  varió entre 9.5 – 0.4<sup>94</sup>.

La constante de formación se determinó evaluando la fuerza de interacción entre el complejo y el ADN, aplicando la ecuación de Benesi-Hildebrand<sup>110</sup>, graficando  $A_0/(A-A_0)$  vs.  $1/[\text{ADN}]$ , siguiendo la absorbancia de una de las bandas presentes entre 260- 270 nm.

$$\frac{A_0}{A - A_0} = \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G} - \varepsilon_G} + \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G} - \varepsilon_G} \frac{1}{K_b [DNA]}$$

Donde  $A_0$  y  $A$  son la absorbancia del complejo libre y el complejo unido al ADN;  $\varepsilon_G$  y  $\varepsilon_{H-G}$  son sus coeficientes de extinción molar (H y G por su traducción en inglés huésped e invitado).

Tabla 2. Detalles del experimento de la titulación de  $[Cu(dmbpy)(LN1)]^+$  con CT-ADN.

No. Titulación	Volumen añadido CT-ADN ( $\mu$ L)	Volumen total añadido de ADN ( $\mu$ L)	Volumen total ( $\mu$ L)	[Complejo] ( $\mu$ M)	[ADN] ( $\mu$ M)	r = [Complejo]/[ADN]
1	0	0	2000	0	0	---
2	10	10	2010	1.3	7.38	7.38
3	10	20	2020	2.5	3.69	3.69
4	10	30	2030	3.8	2.46	2.46
5	10	40	2040	5.0	1.85	1.85
6	10	50	2050	6.2	1.48	1.48
7	10	60	2060	7.4	1.23	1.23
8	10	70	2070	8.6	1.05	1.05
9	10	80	2080	9.8	0.92	0.92
10	10	90	2090	11.0	0.82	0.82

### 3.7.2 Electroforesis en Gel.

Para llevar a cabo los estudios de electroforesis se utilizó el plásmido pBR322 de *E. coli* (Sigma-Aldrich) que presenta dos isoformas, superenrollada (Forma I) y circular (Forma II). Su peso molecular es de  $2.9 \times 10^6$  Dalton, y contiene 4363 pares de bases.

El plásmido se suspendió en un mililitro de agua estéril y se cuantificó espectroscópicamente usando el NanoDrop marca Thermofisher, donde 1 unidad de absorbancia corresponde a  $50 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ . La concentración del plásmido fue de  $67.2 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$  y el cociente de la absorbancia ( $A_{260}/A_{280}$ ) fue de 1.91, indicando que se encuentra libre de proteínas<sup>111</sup>.

Se prepararon geles de agarosa al 1% disuelto en buffer TBE 0.5x (Tris, ácido bórico, EDTA), se usó una cámara de electroforesis acondicionada con un peine de ocho pozos.

Para la evaluación de los compuestos con el plásmido se siguió el siguiente esquema de reacción mostrado en la Tabla 3 las muestras se dejaron incubando por 30, 180 y 720 min a  $37^\circ\text{C}$ . En cada experimento se evaluaron tres compuestos distintos a una concentración de  $85 \mu\text{M}$  en presencia y ausencia de peróxido de hidrógeno  $10 \mu\text{M}$ <sup>112</sup>.

Posterior al tiempo de incubación a  $10 \mu\text{L}$  de muestra se le añadieron  $2 \mu\text{L}$  de buffer de carga (25% de azul de bromofenol y 40% de sacarosa en agua), y se añadieron  $6 \mu\text{L}$  de muestra en cada pozo. El experimento se corrió por 140 min a una corriente de 75 V.

Tabla 3. Condiciones de reacción usadas para evaluar la interacción de los compuestos de coordinación con el plásmido pBR322 en presencia y ausencia de peróxido de hidrógeno en un volumen total de 20  $\mu\text{L}$ .

Pozo	Condiciones de reacción
1	4 $\mu\text{L}$ ADN (300 ng) + 16 $\mu\text{L}$ agua estéril
2	4 $\mu\text{L}$ ADN (300 ng) + 2 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{O}_2$ (10 $\mu\text{M}$ ) + 14 $\mu\text{L}$ agua estéril
3	4 $\mu\text{L}$ ADN (300 ng) + 2 $\mu\text{L}$ Compuesto 1 (85 $\mu\text{M}$ ) + 14 $\mu\text{L}$ agua estéril
4	4 $\mu\text{L}$ ADN (300 ng) + 2 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{O}_2$ (10 $\mu\text{M}$ ) + 2 $\mu\text{L}$ Compuesto 1 (85 $\mu\text{M}$ ) + 12 $\mu\text{L}$ agua estéril
5	4 $\mu\text{L}$ ADN (300 ng) + 2 $\mu\text{L}$ Compuesto 2 (85 $\mu\text{M}$ ) + 14 $\mu\text{L}$ agua estéril
6	4 $\mu\text{L}$ ADN (300 ng) + 2 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{O}_2$ (10 $\mu\text{M}$ ) + 2 $\mu\text{L}$ Compuesto 2 (85 $\mu\text{M}$ ) + 12 $\mu\text{L}$ agua estéril
7	4 $\mu\text{L}$ ADN (300 ng) + 2 $\mu\text{L}$ Compuesto 3 (85 $\mu\text{M}$ ) + 14 $\mu\text{L}$ agua estéril
8	4 $\mu\text{L}$ ADN (300 ng) + 2 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{O}_2$ (10 $\mu\text{M}$ ) + 2 $\mu\text{L}$ Compuesto 3 (85 $\mu\text{M}$ ) + 12 $\mu\text{L}$ agua estéril

Los geles se tiñeron usando una disolución de bromuro de etidio (0.05  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) sumergiéndolos y manteniéndolos en agitación por 25 minutos, posteriormente se removió el exceso de bromuro de etidio sumergiendo los geles en agua destilada bajo agitación por 5 min. Las bandas se observaron usando un trasiluminador de UV.

# **4. Resultados y Discusión**

## 4.1 Ligantes

Se sintetizaron cuatro ligantes bases de Schiff, L1, L2, LN1 y LN2, ilustrados en la Figura 27. Se caracterizaron por las técnicas de espectroscopía de infrarrojo, espectrometría de masas por el método de ionización APCI y por resonancia magnética nuclear de protón (RMN- $^1\text{H}$ ).

La síntesis de los ligantes L3 y LN3 fue distinta a la reportada para el resto de los ligantes, esto fue debido a la diimina utilizada, ya que para los ligantes L1, LN1, L2, LN2 se partió de N-metiletano-1,2-diamina y N-metilpropano-1,3-diamina, que contiene una amina primaria y una secundaria con un metileno, por lo que la condensación con el aldehído sólo se llevaba a cabo entre el carbonilo y la amina primaria, formando al ligante asimétrico.

Para los ligantes L3 y LN3 la diamina de la cual se partió es la 1,4-butanodiamina, ambas aminas son primarias y la condensación con el aldehído puede llevarse a cabo por ambas. Experimentalmente, cuando la reacción de condensación se llevó a cabo, a pesar de intentar por rutas diferentes, siempre se obtenían los productos de la doble condensación (ligante salbu tetradentado) y no el ligante asimétrico tridentado. Para la obtención de los ligantes deseados, se realizó la síntesis templada a partir de la coordinación de los ligantes salicilaldehidato y la dmbpy al cobre; y posteriormente se añadió la 1,4-butanodiamina; como se describió anteriormente. Por este motivo los ligantes L3 y LN3 no se caracterizaron individualmente, pero se confirmó su obtención mediante la caracterización de los compuestos  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L3})]^+$  y  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN3})]^+$ .

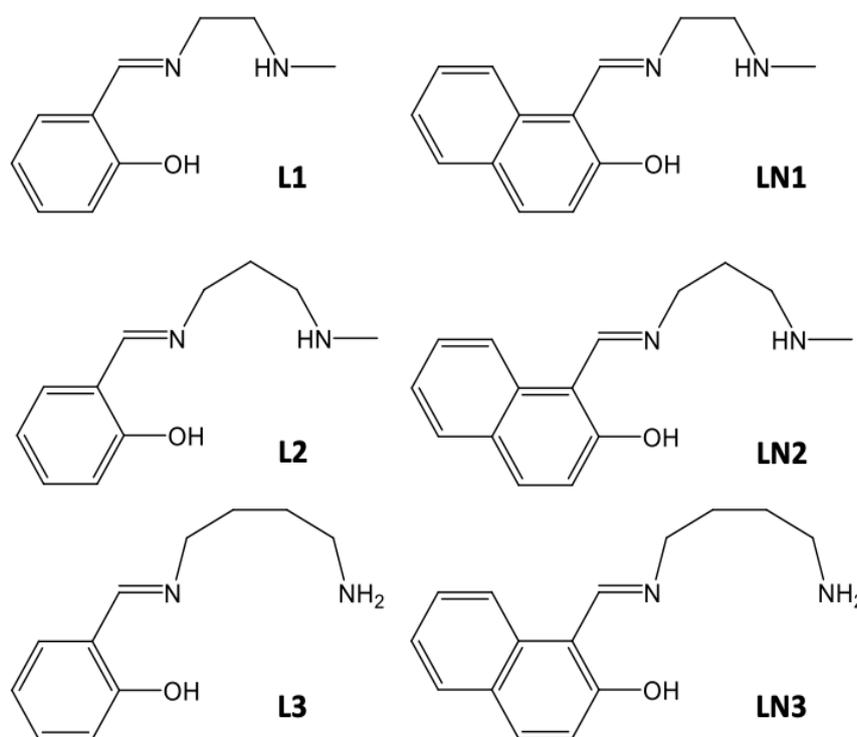


Figura 27. Estructura de los ligantes L1, LN1, L2, LN2, L3 y LN3.

Los ligandos hidrogenados derivados de las bases de Schiff ilustrados en la Figura 28 no se caracterizaron puesto que previo a su purificación, comenzaban a oxidarse si no se conservaban a temperaturas bajas. Por tal motivo, en la síntesis de los compuestos de coordinación los ligandos se sintetizaron y se utilizaron en ese mismo momento. La obtención de estos se comprobó mediante la caracterización de los compuestos de coordinación al comparar los resultados con los complejos con los ligandos bases de Schiff.

Los ligandos hidrogenados derivados de L3 y LN3 no se obtuvieron, puesto que al sintetizarse por una síntesis templada no se podía llevar a cabo la reducción de la base de Schiff cuando se encontraban coordinados al cobre, ya que el cobre también podía reaccionar con el reductor.

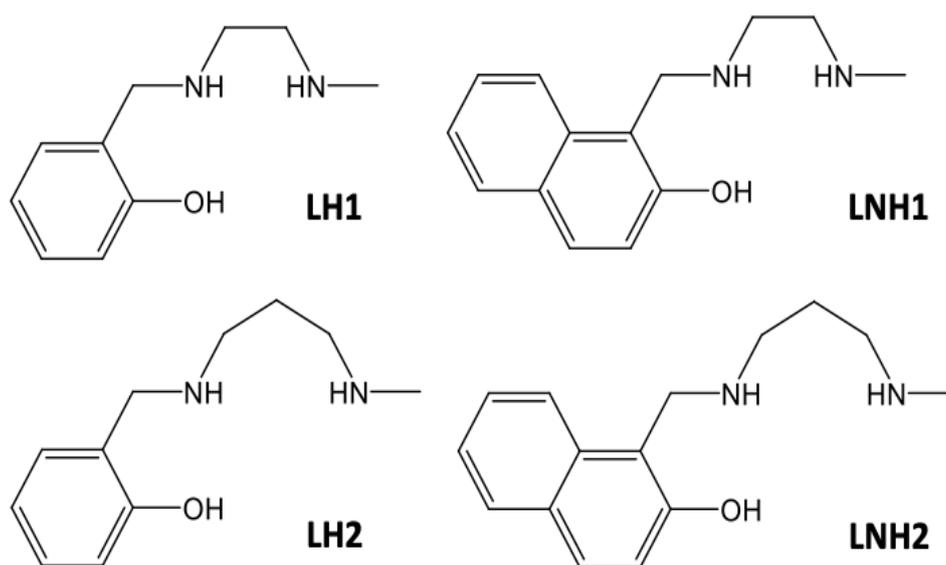


Figura 28. Estructura de los ligandos LH1, LNH1, LH2 y LNH2.

### 4.1.1 Espectroscopía de Infrarrojo

El espectro de infrarrojo del ligante L1 se ilustra en la Figura 29, en frecuencias altas se observa la señal característica del estiramiento O-H en  $3429\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al fenol, en  $3059\text{ cm}^{-1}$  encontramos las bandas del estiramiento  $C_{Ar}-H$  que corresponden a las señales del anillo aromático, en  $2914\text{ cm}^{-1}$  se observan las señales de estiramiento de C-H correspondientes a los metilenos y al metilo. En frecuencias más bajas se observa la banda característica de la vibración de estiramiento del grupo imina  $C=N$  en  $1632\text{ cm}^{-1}$  que indica que la condensación entre la amina y el aldehído se llevó a cabo correctamente. Se aprecian las vibraciones de estiramiento de  $C=C$  en  $1583\text{ cm}^{-1}$  y en  $1497\text{ cm}^{-1}$  la señal correspondiente al enlace C-N. Las vibraciones de estiramiento de Ar-O aparecen en  $1279\text{ cm}^{-1}$ .

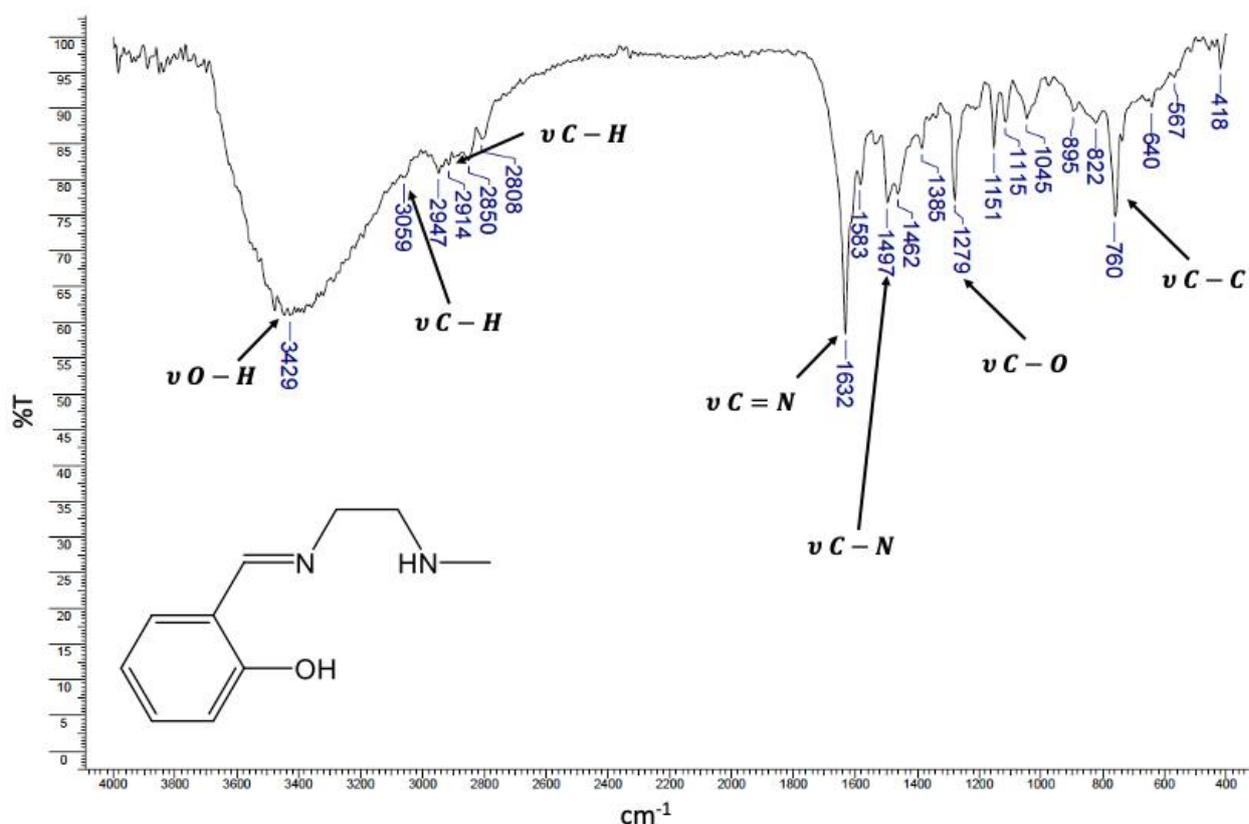


Figura 29. Espectro de infrarrojo del ligante L1.

En general, los espectros obtenidos para los ligantes L2, LN1 y LN2 son muy similares con el descrito arriba, los espectros se muestran en las Figuras I.I a I.IV del Anexo I. En la Tabla 4 se presentan los resultados de las principales bandas correspondientes a los enlaces presentes en los ligantes sintetizados.

Tabla 4. Bandas de infrarrojo seleccionadas en  $\text{cm}^{-1}$  de los ligantes bases de Schiff.

Clave	$\nu\text{O-H}$	$\nu\text{N-H}$	$\nu\text{C-H}_{\text{Ar}}$	$\nu\text{C-H}$	$\nu\text{C=N}$	$\nu\text{C=C}$	$\nu\text{C-N}$	$\nu\text{C-O}$
L1	3429	---	3059	2947	1632	1583	1497	1279
L2	3390	---	3055	2949	1632	1589	1460	1255
LN1	3425	3641	3053	2943	1633	1545	1446	1265
LN2	3396	3626	3064	2945	1633	1545	1493	1360

### 4.1.2 Espectrometría de Masas

Se realizaron los experimentos de espectrometría de masas de los ligantes L1, L2, LN1 y LN2 por el método de ionización APCI. En la Figura 30 se muestra el espectro de ligante L2, la masa exacta del compuesto corresponde a 192 y el ion molecular encontrado también a 192 m/z.

En la Tabla 5 se muestra un resumen de los resultados obtenidos para todos los ligantes, para el L1 la masa exacta es de 178 y el ion molecular corresponde a 178 m/z, para el ligante LN1 la masa exacta es de 228, sin embargo, no se encontró el ion molecular, que puede deberse a que éste no sea estable a tales condiciones o a que no sea sensible al método de ionización. Para el ligante LN2 la masa exacta corresponde a 242 y el ion molecular encontrado fue de 242 m/z.

Los espectros se encuentran en el Anexo III, en las Figuras III.I a IV.

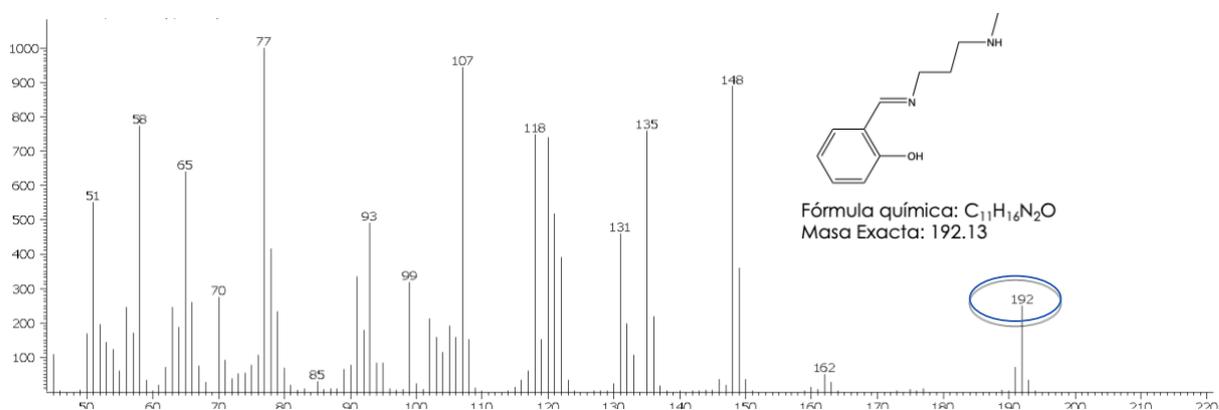


Figura 30. Espectro de masas por APCI de L2.

Tabla 5. Resultados de espectrometría de masas por APCI para los ligantes.

Clave	Masa exacta	m/z
L1	178	178
L2	192	192
LN1	228	---
LN2	242	242

### 4.1.3 Resonancia Magnética Nuclear

Se realizaron los espectros de RMN-<sup>1</sup>H de los ligantes L1, L2, LN1 y LN2, en la Figura 31 se muestra el espectro del ligante LN1 y el espectro simulado (en color negro) en el programa ChemDraw Profesional. Para LN1 el protón 1 corresponde a un metilo que aparece como un singlete en  $\delta$  3.15 ppm puesto que se encuentra vecino a un átomo de nitrógeno, el protón 2 corresponde a un metileno que aparece como un triplete en  $\delta$  2.72 ppm, el protón 3 que también corresponde a un metileno aparece como un triplete desplazado hasta  $\delta$  3.6 ppm debido a que se encuentra vecino al nitrógeno del grupo azometino. El protón 4 que corresponde al carbono del azometino aparece como un singlete desplazado hasta  $\delta$  8.29 ppm. Los demás protones que corresponden a los anillos aromáticos aparecen en un intervalo de  $\delta$  6.6 a 8.0 ppm que se asignan de acuerdo a la multiplicidad y al desplazamiento de estos. Los espectros de los demás ligantes son similares, sin embargo, presentan diferencias dependiendo del número de protones dentro de la estructura. Para el ligante L1 el protón 4, que corresponde al carbono del azometino aparece como un singlete en  $\delta$  8.28 ppm, al igual que LN1, el espectro se muestra en Anexo IV en la Figura IV.I.

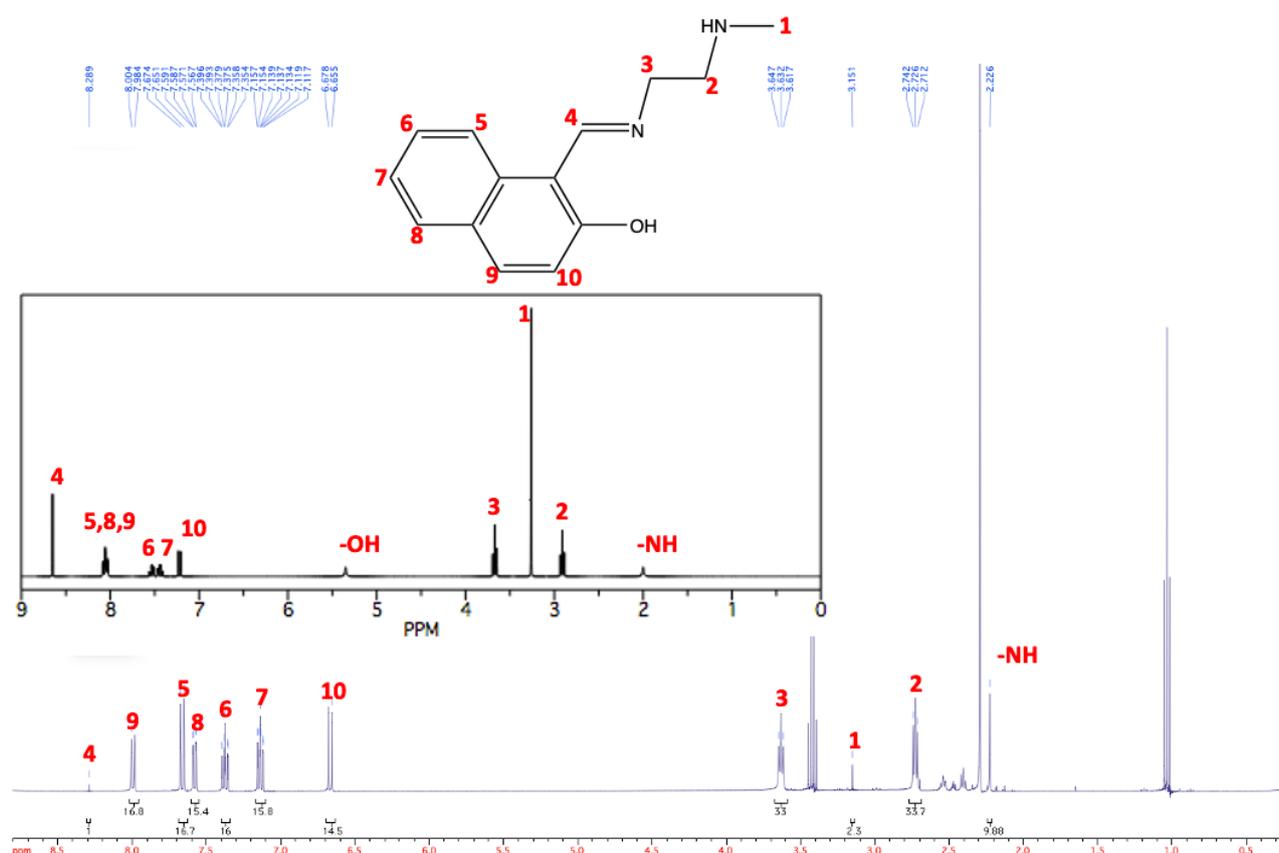


Figura 31. Espectro experimental (azul) y simulado (negro) de RMN-<sup>1</sup>H de LN1 en DMSO-d<sub>6</sub>.

En los espectros, además de las señales de los protones del ligante sintetizado, se observan señales del disolvente empleado en la síntesis, que fue etanol y también se observan otras señales, debidas a impurezas, puesto que el ligante al estar expuesto mucho tiempo al ambiente puede comenzar a descomponerse al hidrolizarse la base de Schiff.

En la Figura 32 se muestra en espectro del ligante LN2 y el espectro simulado (en color negro). La asignación de protones cambia con respecto al ligante LN1 puesto que LN2 presenta un metileno más. El protón 1 corresponde a un metilo que aparece como un singlete de muy baja intensidad en  $\delta$  2.88 ppm, el protón 2 corresponde a un metileno que aparece como un triplete en  $\delta$  2.52 ppm, el protón 3 que también corresponde a un metileno aparece como un quintuplete en  $\delta$  1.42 ppm, el protón 4, vecino al nitrógeno de la base de Schiff aparece en  $\delta$  3.53 ppm con una baja definición. El protón 5 que corresponde al hidrógeno del enlace H-C=N no se observó, sin embargo, los espectros de infrarrojo corroboraron la presencia de este enlace al mostrar una banda en  $1633\text{ cm}^{-1}$ . Los demás protones que corresponden a los anillos aromáticos aparecen en un intervalo de  $\delta$  6.7 a 8.0 ppm que se asignan de acuerdo a la multiplicidad y al desplazamiento de éstos. Para el ligante L2 el protón 5, que corresponde al carbono del azometino aparece como un singlete en  $\delta$  8.28 ppm, el espectro de L2 se muestra en Anexo IV en la Figura IV.II.

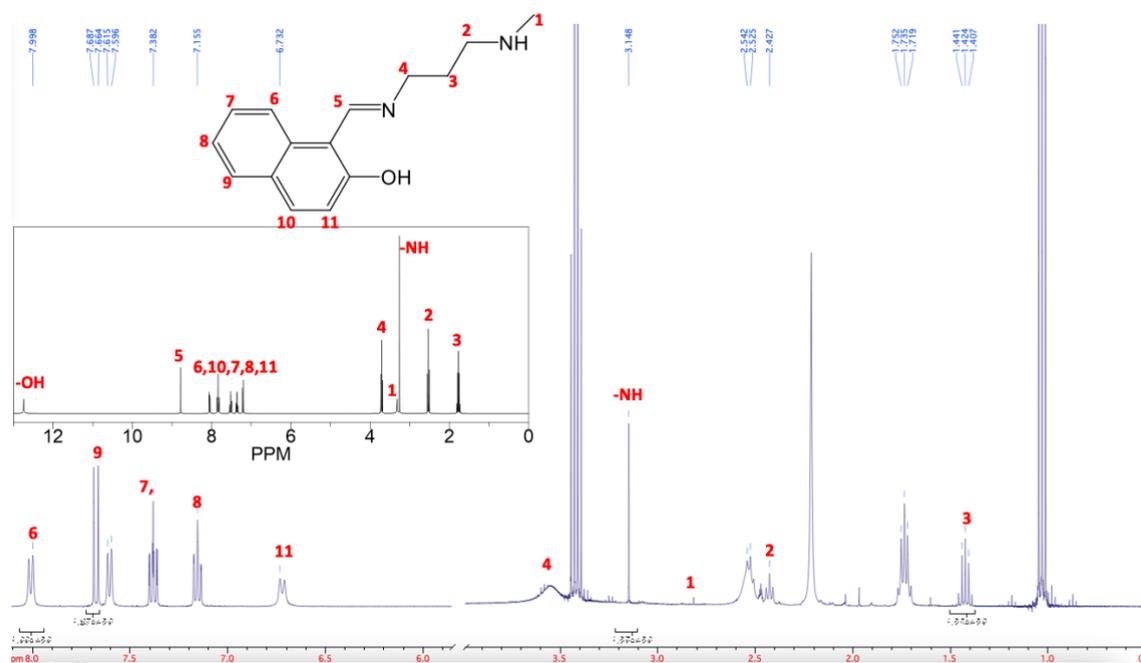


Figura 32. Espectro experimental (azul) y simulado (negro) de RMN- $^1\text{H}$  de LN2 en DMSO- $\text{d}_6$ .

## 4.2 Compuestos de Coordinación de Cobre(II)

Se sintetizaron ocho compuestos de coordinación con fórmula general  $[\text{Cu}(\text{NNO})(\text{NO}_3)]$  con ligantes bases de Schiff y sus derivados hidrogenados mostrados en la Figura 33, donde se muestran las estructuras propuestas y la nomenclatura empleada. Se caracterizaron por las técnicas de espectroscopía de infrarrojo, espectroscopía electrónica, análisis elemental, conductividad, resonancia paramagnética electrónica, espectrometría de masas por el método FAB+, por voltamperometría cíclica y para  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$  y  $[\text{Cu}_3(\text{L2})_3\mu\text{-OH}](\text{PF}_6)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  por cristalografía de rayos X de monocristal.

Además, se sintetizaron diez compuestos ternarios de cobre(II) con fórmula general  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{NNO})]\text{PF}_6$ , con ligantes bases de Schiff y sus derivados hidrogenados. Se caracterizaron por las técnicas de espectroscopía de infrarrojo, espectroscopía electrónica, análisis elemental, conductividad, resonancia paramagnética electrónica, espectrometría de masas por el método FAB+, por voltamperometría cíclica y para  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]\text{PF}_6$  y  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN1})]\text{PF}_6$  por difracción de rayos X de monocristal. Las estructuras propuestas y la nomenclatura empleada se muestran en la Figura 34.

Los dieciocho compuestos obtenidos presentaron una coloración verde en diferentes tonalidades y los rendimientos en la síntesis variaron del 53% – 82%, como se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Rendimientos de la reacción de síntesis de los compuestos de coordinación.

Clave	Rendimiento (%)
$[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$	74
$[\text{Cu}(\text{L2})(\text{NO}_3)]$	79
$[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$	82
$[\text{Cu}(\text{LN2})(\text{NO}_3)]$	57
$[\text{Cu}(\text{LH1})(\text{NO}_3)]$	78
$[\text{Cu}(\text{LH2})(\text{NO}_3)]$	65
$[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$	72
$[\text{Cu}(\text{LNH2})(\text{NO}_3)]$	79
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]\text{PF}_6$	77
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L2})]\text{PF}_6$	55
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L3})]\text{PF}_6$	82
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN1})]\text{PF}_6$	76
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN2})]\text{PF}_6$	80
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN3})]\text{PF}_6$	67
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH1})]\text{PF}_6$	59
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH2})]\text{PF}_6$	55
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH1})]\text{PF}_6$	81
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH2})]\text{PF}_6$	78

Los compuestos  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L1})]\text{PF}_6$  y  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L2})]\text{PF}_6$  fueron sintetizados por la M. en C. Areli Silva Becerril, en su tesis de maestría<sup>95</sup>, la caracterización de estos complejos se muestra en su trabajo, sin embargo, en esta tesis se utilizaron estos complejos y se realizaron los estudios de RPE, voltamperometría cíclica y la determinación de la  $\text{CI}_{50}$ , con la finalidad de comparar el efecto del ligante phen con la dmbpy sobre la actividad biológica en células tumorales.

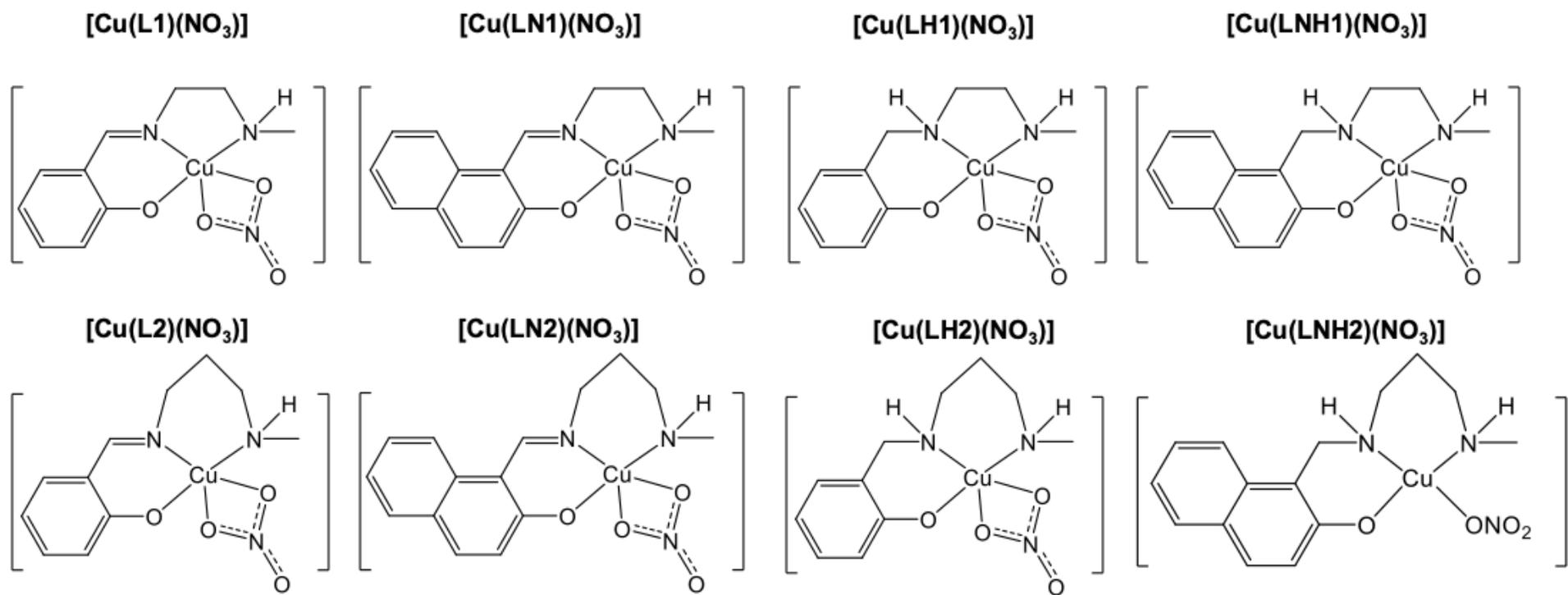


Figura 33. Compuestos de coordinación sintetizados y nomenclatura empleada para los compuestos [Cu(NNO)(NO<sub>3</sub>)].

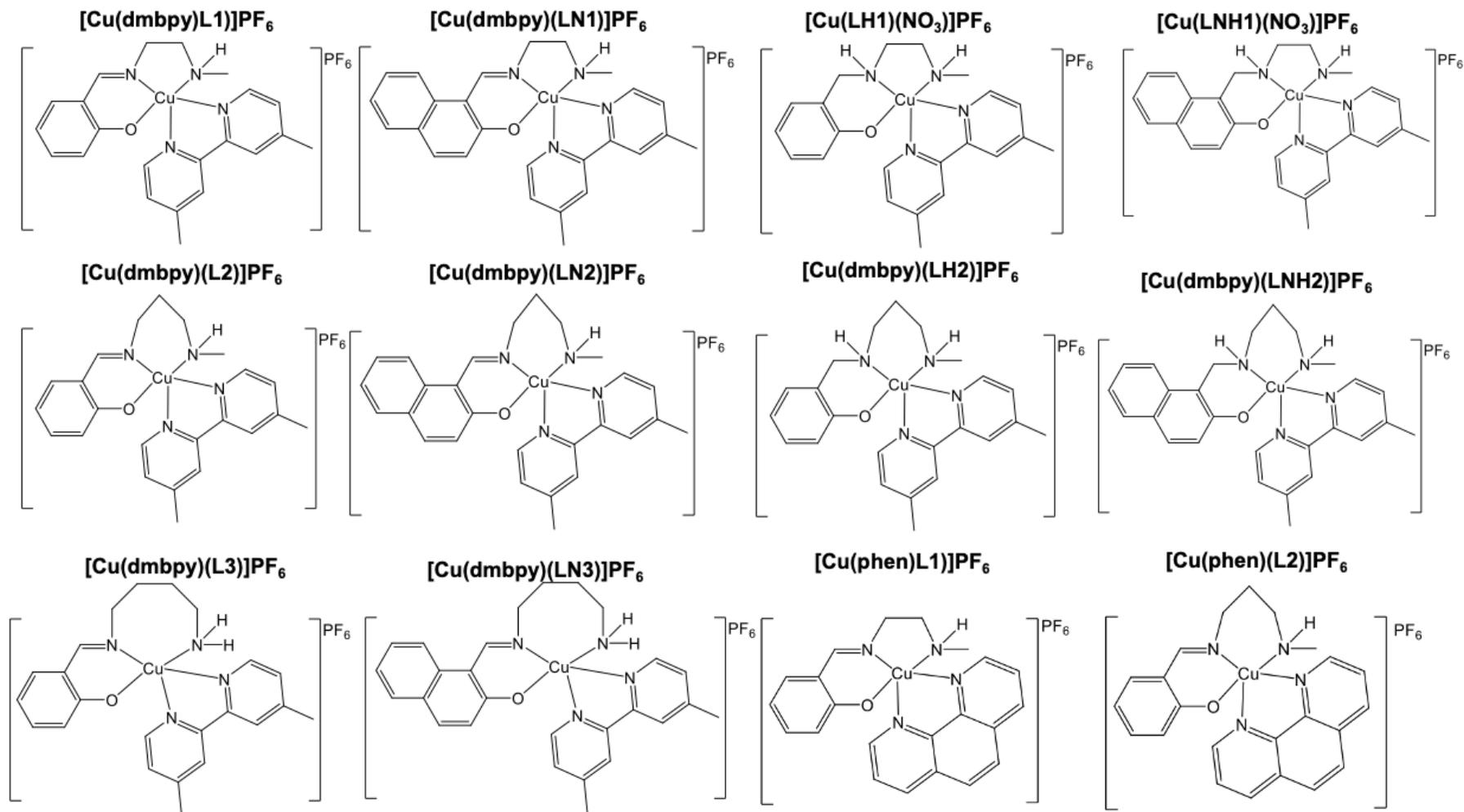


Figura 34. Compuestos de coordinación mixtos [Cu(N-N)(NNO)]PF<sub>6</sub> y nomenclatura empleada.

## 4.2.1 Espectroscopía de Infrarrojo

En la Tabla 7 se presentan los resultados de las principales bandas correspondientes a los enlaces presentes en los compuestos sintetizados. Se observa la banda característica de la vibración de estiramiento del grupo azometino en  $1630\text{ cm}^{-1}$ . El estiramiento del enlace C-H de los anillos aromáticos en  $3040\text{ cm}^{-1}$ , C=C en  $1570\text{ cm}^{-1}$ ; una banda intensa y ancha característica de las vibraciones de estiramiento del enlace O-H en  $3420\text{ cm}^{-1}$  debida a la humedad en la muestra. Con respecto al puente que une a los átomos de nitrógeno, las vibraciones de estiramiento de los metilenos en  $2945\text{ cm}^{-1}$  y las vibraciones de C-N en  $\sim 1490\text{ cm}^{-1}$ . Para los compuestos no mixtos la banda del grupo  $\text{NO}_3^-$  en  $1384\text{ cm}^{-1}$ , lo que indica que el nitrato se encuentra como contraión, en la Figura 35 se muestra el espectro de infrarrojo para el compuesto  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$  y en el Anexo I en las Figuras I.V a I.XXII se muestran los espectros para el resto de los compuestos.

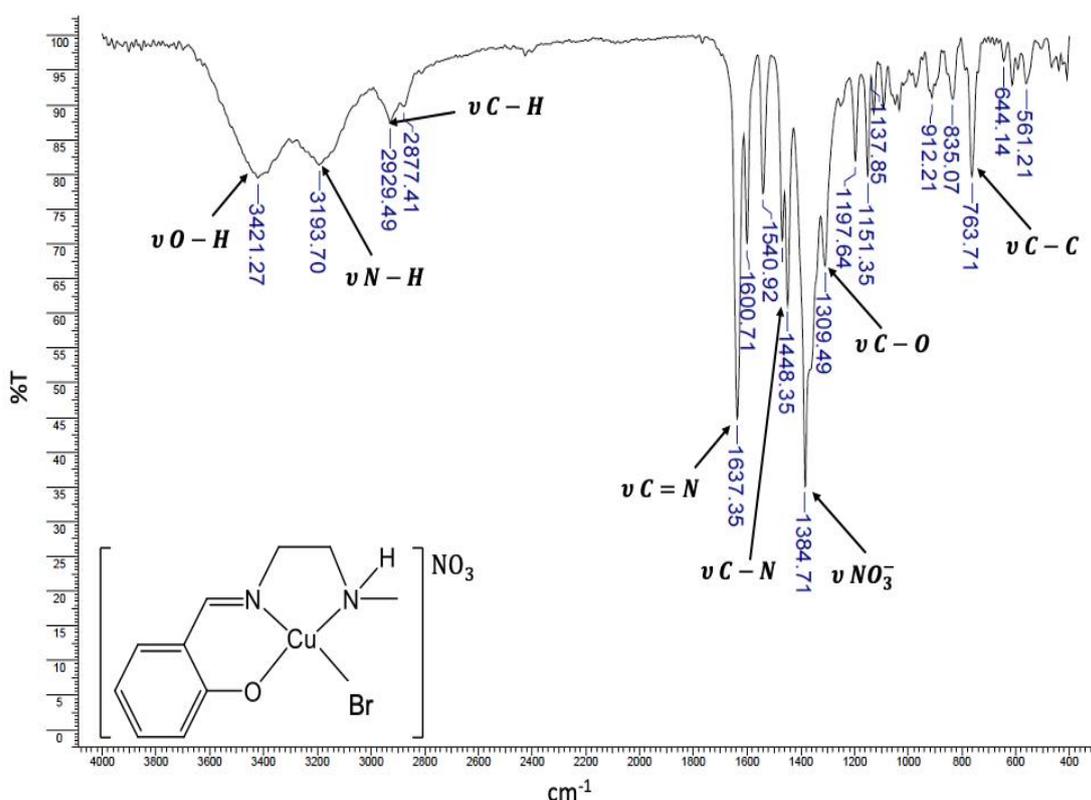


Figura 35. Espectro de infrarrojo de  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$ .

Para los compuestos de coordinación con ligandos hidrogenados LH1, LH2, LNH1 y LNH2 se observó que la banda característica del grupo azometino en  $1630\text{ cm}^{-1}$  desaparece, se distinguió una banda nueva en  $3450\text{ cm}^{-1}$  característica del estiramiento del enlace N-H para aminas primarias o secundarias, lo que indicó la hidrogenación del grupo azometino y la formación de una amina secundaria. En los espectros también se siguen apreciando las bandas características de estos ligandos, tales como Ar-O en  $1270\text{ cm}^{-1}$ , C=C en  $1600\text{ cm}^{-1}$ , C-N en  $1450\text{ cm}^{-1}$  y las

bandas características debidas a C-H de anillo aromáticos por arriba de  $3000\text{ cm}^{-1}$  y C-H de metilos en metilenos en  $2950\text{ cm}^{-1}$ .

En la síntesis de los compuestos ternarios de cobre se realizó el intercambio del contraión por  $\text{PF}_6^-$ , en los espectros de infrarrojo se observa este cambio, aparecen dos nuevas bandas en  $882\text{ cm}^{-1}$  y  $557\text{ cm}^{-1}$  que corresponden a las vibraciones del enlace P-F. También se observaron las bandas características del ligante tridentado y de la 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina, como se muestra en la Figura 36. El resumen de los resultados obtenidos se muestra en la Tabla 7.

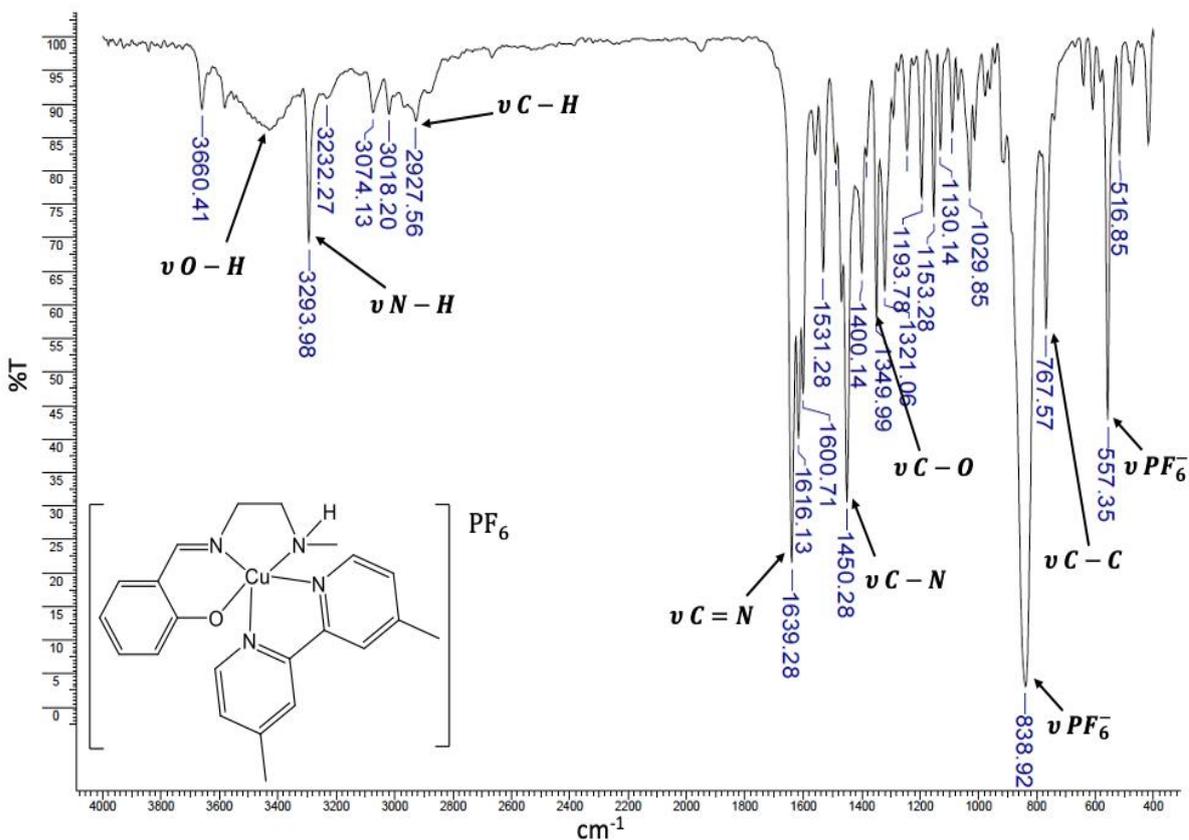


Figura 36. Espectro de infrarrojo de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]\cdot\text{PF}_6$ .

Tabla 7. Bandas de infrarrojo seleccionadas en  $\text{cm}^{-1}$  de los compuestos de coordinación con cobre(II).

Clave	$\nu\text{O-H}$	$\nu\text{N-H}$	$\nu\text{C-H}_{\text{Ar}}$	$\nu\text{C-H}$	$\nu\text{C=N}$	$\nu\text{C=C}$	$\nu\text{C-N}$	$\nu\text{C-O}$	$\nu\text{N-O}$	$\nu\text{P-F}$
[Cu(L1)(NO <sub>3</sub> )]	3421	3193	---	2929	1637	1540	1448	---	1384	---
[Cu(L2)(NO <sub>3</sub> )]	3430	3108	3025	2927	1627	1544	1450	1282	1384	---
[Cu(LN1)(NO <sub>3</sub> )]	3436	3239	3011	2933	1621	1540	1463	1278	1384	---
[Cu(LN2)(NO <sub>3</sub> )]	3438	---	3047	2933	1618	1544	1384	1292	1384	---
[Cu(LH1)(NO <sub>3</sub> )]	3425	3245	---	2933	---	1596	1483	1270	1384	---
[Cu(LH2)(NO <sub>3</sub> )]	3425	3241 3191	3012	2931	---	1594	1481	1268	1384	---
[Cu(LNH1)(NO <sub>3</sub> )]	3429	3282	3064	2927	---	1591	1465	1275	1384	---
[Cu(LNH2)(NO <sub>3</sub> )]	3428	3239	3066	2941	---	1592	---	1290	1384	---
<b>Compuestos mixtos</b>										
[Cu(dmbpy)(L1)]PF <sub>6</sub>	3421	3290	3074	2927	1639	1531	1450	1349	---	838, 557
[Cu(dmbpy)(L2)]PF <sub>6</sub>	3431	3671	3060	2923	1621	1533	1450	1351	---	842, 559
[Cu(dmbpy)(L3)]PF <sub>6</sub>	3432	3652	3060	2925	1619	1539	1448	1324	---	842, 557
[Cu(dmbpy)(LN1)]PF <sub>6</sub>	3452	3253	3061	2953	1620	1541	1419	1365	---	839, 557
[Cu(dmbpy)(LN2)]PF <sub>6</sub>	3433	3267	3066	2926	1618	1541	1439	1363	---	843, 557
[Cu(dmbpy)(LN3)]PF <sub>6</sub>	3429	---	3059	2927	1618	1542	1463	1363	---	842, 557
[Cu(dmbpy)(LH1)]PF <sub>6</sub>	3436	3646	3070	2925	1618	1517	1475	1384	---	842, 557
[Cu(dmbpy)(LH2)]PF <sub>6</sub>	3425	3627	3064	2946	1618	1598	1452	1384	---	840, 559
[Cu(dmbpy)(LNH1)]PF <sub>6</sub>	3421	3641	3079	2971	1619	1560	1415	1384	---	842, 557
[Cu(dmbpy)(LNH2)]PF <sub>6</sub>	3430	3633	3074	2948	1618	1562	1447	1382	---	842, 557

#### 4.2.2 Espectroscopía de Infrarrojo ATR

Se realizó la espectroscopía de IR-ATR de los compuestos no mixtos, es una técnica no destructiva en comparación con la preparación de la dilución de la muestra en KBr y la preparación de la pastilla. Los espectros presentan las bandas mencionadas anteriormente para los distintos tipos de enlace, sin embargo, se observó una diferencia con respecto a la técnica por pastilla. Las vibraciones para los enlaces N-O del ion nitrato aparecen en  $1384\text{ cm}^{-1}$ , que es característica para el  $\text{NO}_3^-$  como contraión, mientras que en ATR esta señal no se observa, como se ilustra en la Figura 37, por lo que se propone que el nitrato forma parte de la esfera de coordinación.

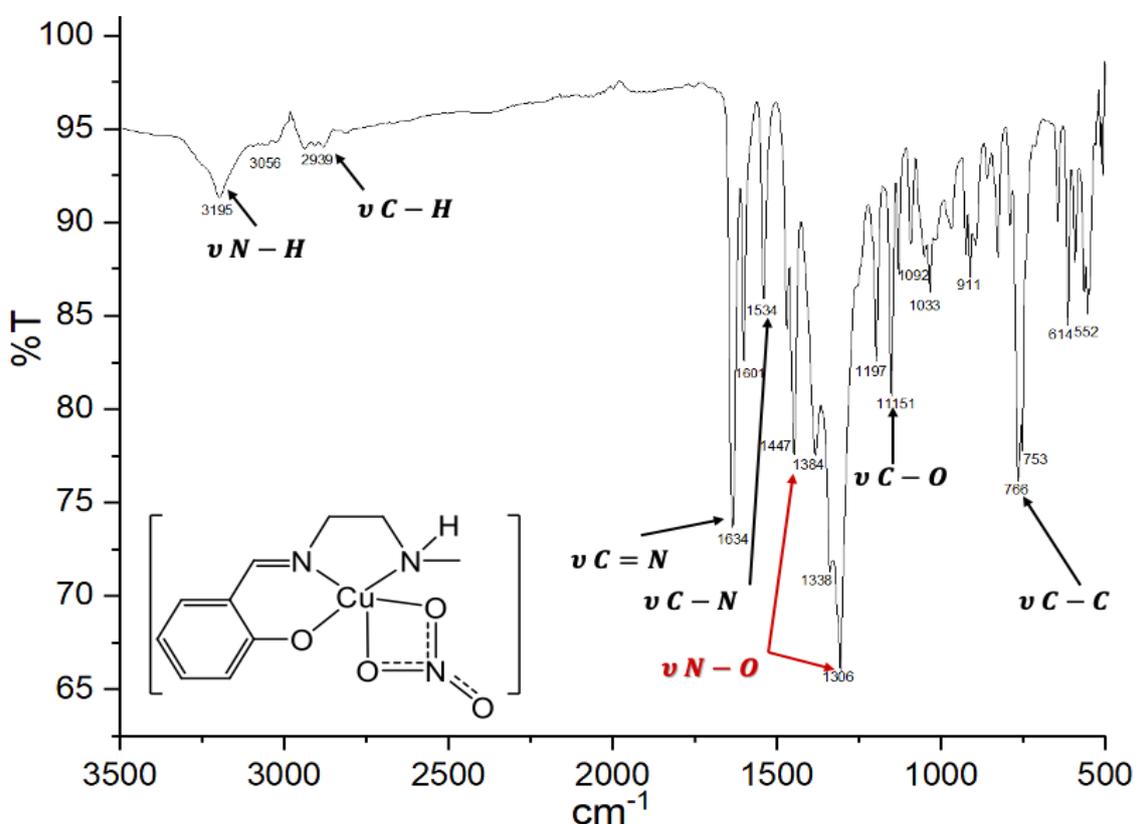


Figura 37. Espectro de infrarrojo de [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)] por ATR.

El nitrato es un ligante que se puede coordinar por los átomos de oxígeno de varias formas, en la Figura 38 se ilustran dos, de forma bidentada (a) y monodentada (b). Para poder diferenciar los  $\text{NO}_3^-$  que se coordinan de forma bidentada o monodentada la espectroscopía es una técnica muy útil. En la Figura 38 a) se observan dos tipos de enlace N-O, el primero donde los oxígenos se encuentran coordinados al metal y el segundo donde el oxígeno está libre, por lo que se observarían dos bandas distintas. Para la forma b) también presenta dos tipos de enlace N-O al igual que la forma a) y ambos presentan bandas similares. Sin embargo, la separación de las

bandas de mayor frecuencia es la que determina el modo de coordinación. Los compuestos bidentados (forma a) presentan una separación más grande en la banda de mayor frecuencia, que los monodentados. Si el  $\Delta$  es mayor a  $100\text{ cm}^{-1}$  se considera que nitrato se coordina de forma bidentada<sup>113-115</sup>.

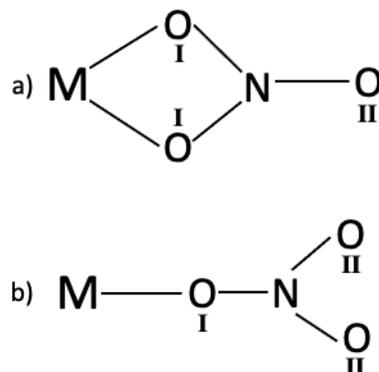


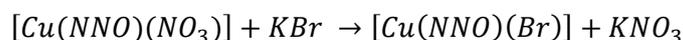
Figura 38. Formas en las que el nitrato se puede coordinar a un metal.

Por ATR se observó que la banda de los nitratos aparece desdoblada y se desplaza a  $1447\text{ cm}^{-1}$  y  $1306\text{ cm}^{-1}$ , como se muestra en la Figura 37. Para todos los compuestos excepto para  $[Cu(LNH_2)(NO_3)]$ , el  $\Delta$  es mayor a  $100\text{ cm}^{-1}$ , que indica que el nitrato se coordina de forma bidentada. Para  $[Cu(LNH_2)(NO_3)]$  las vibraciones del enlace N-O también se observa desdoblada en  $1352\text{ cm}^{-1}$  y  $1322\text{ cm}^{-1}$  y el  $\Delta$  es igual a  $30\text{ cm}^{-1}$ , que indica que el nitrato se coordina de forma monodentada. Los resultados se encuentran resumidos en la Tabla 8.

Tabla 8. Bandas de infrarrojo en  $\text{cm}^{-1}$  del grupo nitrato en compuestos de coordinación de  $\text{Cu}^{\text{II}}$ .

Clave	$\nu\text{N-O}$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\Delta$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	Modo de coordinación
$[Cu(L1)(NO_3)]$	1447, 1306	141	Bidentado
$[Cu(L2)(NO_3)]$	1449, 1281	168	Bidentado
$[Cu(LN1)(NO_3)]$	1462, 1273	189	Bidentado
$[Cu(LN2)(NO_3)]$	1418, 1288	130	Bidentado
$[Cu(LH1)(NO_3)]$	1482, 1271	194	Bidentado
$[Cu(LH2)(NO_3)]$	1427, 1268	159	Bidentado
$[Cu(LNH1)(NO_3)]$	1462, 1267	195	Bidentado
$[Cu(LNH2)(NO_3)]$	1352, 1322	30	Monodentado

Se propone que los cambios en los espectros se deben al tratamiento previo del producto, ya que se realiza una dilución en KBr en un mortero de ágata y posteriormente se prensa la muestra para hacer una pastilla, se sugiere que ocurre la siguiente reacción:



### 4.2.3 Conductividad

La conductividad electrolítica es la capacidad de una disolución para conducir corriente eléctrica, la medición de la conductividad se ve directamente afectada por el número de iones disueltos y ésta incrementa al aumentar la cantidad y movilidad de los iones.

En un estudio realizado por Geary se propone que los complejos disueltos en dimetilsulfóxido con un comportamiento de electrolito tipo 1:1 presentan valores de conductividad entre 50 - 70  $\mu\text{S}$ , los compuestos que no son electrolitos presentaron valores menores a 50  $\mu\text{S}$ . En metanol los electrolitos 1:1 presentan valores de 80-115  $\mu\text{S}$ <sup>116</sup>.

Se realizaron las mediciones de conductividad en los compuestos de coordinación para comprobar que tipo de comportamiento electrolítico presentan en disolución. En los resultados obtenidos (Tabla 9), los valores de conductividad en DMSO son menores que en metanol, que se asocian a que el metanol presenta una menor viscosidad que el DMSO, debido a esto, el movimiento de los iones a través de la disolución es más lento y se refleja en menores valores de conductividad.

Tabla 9. Conductividad de los compuestos de coordinación en una disolución 1 mM en DMSO y metanol a 25 °C.

Clave	Conductividad en DMSO ( $\mu\text{S}$ )	Electrolito	Conductividad en Metanol ( $\mu\text{S}$ )	Electrolito
[Cu(L1)(NO <sub>3</sub> )]	24	1:1	86	1:1
[Cu(L2)(NO <sub>3</sub> )]	36	1:1	114	1:1
[Cu(LN1)(NO <sub>3</sub> )]	47	1:1	146	1:1
[Cu(LN2)(NO <sub>3</sub> )]	31	1:1	111	1:1
[Cu(LH1)(NO <sub>3</sub> )]	35	1:1	105	1:1
[Cu(LH2)(NO <sub>3</sub> )]	29	1:1	114	1:1
[Cu(LNH1)(NO <sub>3</sub> )]	21	1:1	74	1:1
[Cu(LNH2)(NO <sub>3</sub> )]	20	1:1	54	1:1
<b>Compuestos mixtos</b>				
[Cu(dmbpy)(L1)]PF <sub>6</sub>	29	1:1	116	1:1
[Cu(dmbpy)(L2)]PF <sub>6</sub>	33	1:1	88	1:1
[Cu(dmbpy)(L3)]PF <sub>6</sub>	30	1:1	103	1:1
[Cu(dmbpy)(LN1)]PF <sub>6</sub>	24	1:1	105	1:1
[Cu(dmbpy)(LN2)]PF <sub>6</sub>	28	1:1	97	1:1
[Cu(dmbpy)(LN3)]PF <sub>6</sub>	32	1:1	115	1:1
[Cu(dmbpy)(LH1)]PF <sub>6</sub>	27	1:1	123	1:1
[Cu(dmbpy)(LH2)]PF <sub>6</sub>	30	1:1	114	1:1
[Cu(dmbpy)(LNH1)]PF <sub>6</sub>	29	1:1	118	1:1
[Cu(dmbpy)(LNH2)]PF <sub>6</sub>	28	1:1	115	1:1

La movilidad de los iones en disolución depende de varios factores, uno de ellos es el disolvente. Los compuestos de coordinación presentan diferentes valores de conductividad molar que depende de las estructuras que los caracterizan, estos valores pueden variar de un compuesto a otro dependiendo del disolvente utilizado para solubilizar la muestra, las propiedades de los

disolventes son responsables de causar la diferencia en la ionización y la movilidad de los iones en disolución.

La conductividad de los compuestos de coordinación en metanol se encuentra dentro de los valores esperados para un electrolito 1:1: excepto para  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$  y  $[\text{Cu}(\text{LNH2})(\text{NO}_3)]$  que no se solubilizaron completamente en metanol; lo que nos indica que en este disolvente el anión nitrato se disocia como se muestra en la Figura 39. Los compuestos mixtos también presentan un comportamiento de electrolito 1:1, lo que nos indica la ionización del  $\text{PF}_6^-$  en este disolvente.

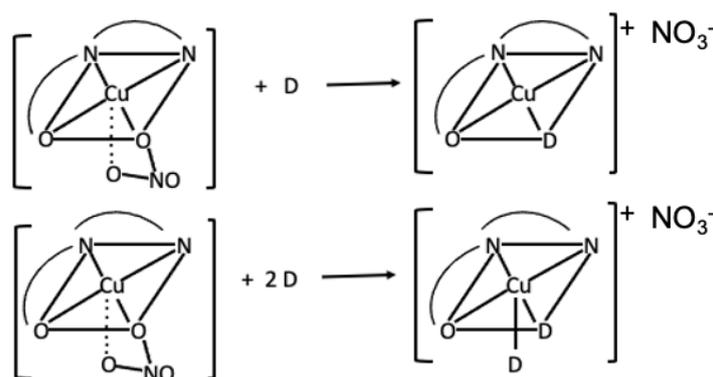


Figura 39. Disociación del ion nitrato en disolución, donde la D representa moléculas de disolvente.

En DMSO los compuestos presentan valores de conductividad menores a los esperados para un electrolito tipo 1:1. Se midió la conductividad de las disoluciones 24 h después de su preparación, y los resultados fueron los mismos. Se propone que el DMSO que es un disolvente altamente coordinante, desplaza al anión nitrato, como se ilustra en la Figura 39 para los compuestos  $[\text{Cu}(\text{NNO})(\text{NO}_3)]$ , y que se coordine el disolvente al cobre en las posiciones vacantes y genere una molécula más voluminosa. La conductividad es proporcional a la movilidad de los iones en disolución, y la velocidad de movilidad de los iones es más lenta cuando el tamaño de los iones es mayor, por lo que los valores de conductividad en DMSO obtenidos para los compuestos nos muestran que presentan una constante de difusión muy baja debido a lo mencionado anteriormente, este comportamiento se ha observado previamente en un estudio realizado por Imran Ali *et. al.* donde compuestos de  $\text{Ni}^{\text{II}}$  coordinados a macrociclos presentan valores de conductividad molar menores a los esperados debido a que las moléculas eran voluminosas<sup>117</sup>.

Para los compuestos mixtos de fórmula general  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{NNO})]\text{PF}_6$  que son más voluminosos que los no mixtos, la movilidad iónica también puede estar influenciada, por lo que los valores de conductividad también son menores a lo esperado para un electrolito tipo 1:1. Sin embargo, para ambas familias de compuestos se propone que los compuestos son electrolitos 1:1 debido a que el DMSO es más polarizante que el metanol y en metanol presentan este comportamiento<sup>117</sup>.

En comparación con las disoluciones en DMSO los valores encontrados son “normales” debido a que el metanol es un disolvente menos viscoso, por lo que la movilidad iónica no se ve reducida en este disolvente<sup>118</sup>.

#### 4.2.4 Análisis Elemental

Se realizó el análisis elemental para los compuestos sintetizados, a partir de los resultados obtenidos se propuso la fórmula mínima de los compuestos de coordinación. Los resultados se muestran en la Tabla 10. En algunos compuestos los valores se ajustaron con moléculas de disolvente, entre estos, moléculas de agua (H<sub>2</sub>O), de etanol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) y acetona (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O).

Tabla 10. Resultados teóricos y experimentales del análisis elemental de los compuestos de coordinación de Cu<sup>II</sup>.

Clave	Fórmula mínima	%C <sub>Exp</sub> %C <sub>Teo</sub>	%H <sub>Exp</sub> %H <sub>Teo</sub>	%N <sub>Exp</sub> %N <sub>Teo</sub>	%E <sub>C</sub>	%E <sub>H</sub>	%E <sub>N</sub>
[Cu(L1)(NO <sub>3</sub> )]	[CuC <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ] C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	40.1 40.9	4.7 4.7	13.4 13.2	2.1	0.5	0.9
[Cu(L2)(NO <sub>3</sub> )]	[CuC <sub>11</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ]	41.7 41.8	4.8 4.7	13.3 13.8	0.1	2.5	3.7
[Cu(LN1)(NO <sub>3</sub> )]	[CuC <sub>14</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ] H <sub>2</sub> O	45.3 43.5	4.6 4.7	11.3 11.1	4.0	1.3	1.9
[Cu(LN2)(NO <sub>3</sub> )]	[CuC <sub>15</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ]	49.1 48.3	4.7 4.4	11.4 11.7	1.6	5.3	1.8
[Cu(LH1)(NO <sub>3</sub> )]	[CuC <sub>10</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ] 2H <sub>2</sub> O	35.2 36.1	5.6 5.7	12.3 12.3	2.4	1.6	0.1
[Cu(LH2)(NO <sub>3</sub> )]	[CuC <sub>11</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ]	41.4 40.1	5.4 5.3	11.2 12.7	3.2	0.9	3.8
[Cu(LNH1)(NO <sub>3</sub> )]	[CuC <sub>14</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ] H <sub>2</sub> O	45.4 44.8	5.1 5.0	11.2 9.2	0.9	1.9	1.4
[Cu(LNH2)(NO <sub>3</sub> )]	[CuC <sub>15</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ] H <sub>2</sub> O	44.49 44.9	5.7 5.6	10.4 8.9	0.9	2.4	14.5
<b>Compuestos mixtos</b>							
[Cu(dmbpy)(L1)]PF <sub>6</sub>	[CuC <sub>22</sub> H <sub>25</sub> N <sub>4</sub> O]PF <sub>6</sub>	46.4 45.5	4.4 4.5	9.8 10.1	1.8	1.6	2.7
[Cu(dmbpy)(L2)]PF <sub>6</sub>	[CuC <sub>23</sub> H <sub>27</sub> N <sub>4</sub> O]PF <sub>6</sub>	47.3 47.4	4.7 4.6	9.6 10.3	0.2	2.4	7.7
[Cu(dmbpy)(L3)]PF <sub>6</sub>	[CuC <sub>23</sub> H <sub>27</sub> N <sub>4</sub> O]PF <sub>6</sub> 1/2C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	48.0 48.7	4.9 4.1	9.1 8.7	1.4	16.2	4.5
[Cu(dmbpy)(LN1)]PF <sub>6</sub>	[CuC <sub>26</sub> H <sub>27</sub> N <sub>4</sub> O]PF <sub>6</sub>	50.4 50.4	4.4 4.4	9.0 9.3	0	0	3.5
[Cu(dmbpy)(LN2)]PF <sub>6</sub>	[CuC <sub>27</sub> H <sub>29</sub> N <sub>4</sub> O]PF <sub>6</sub>	58.8 58.3	5.3 5.5	11.6 12.8	0.9	3.8	10.3
[Cu(dmbpy)(LN3)]PF <sub>6</sub>	[CuC <sub>27</sub> H <sub>29</sub> N <sub>4</sub> O]PF <sub>6</sub>	51.2 51.0	4.6 4.8	8.8 8.5	0.2	4.3	3.5
[Cu(dmbpy)(LH1)]PF <sub>6</sub>	[CuC <sub>22</sub> H <sub>27</sub> N <sub>4</sub> O]PF <sub>6</sub>	46.2 45.2	4.8 4.6	9.8 9.8	2.1	4.0	0.4
[Cu(dmbpy)(LH2)]PF <sub>6</sub>	[CuC <sub>23</sub> H <sub>29</sub> N <sub>4</sub> O]PF <sub>6</sub> 3H <sub>2</sub> O	43.2 42.9	5.6 5.8	8.8 8.8	0.6	4.9	0.6
[Cu(dmbpy)(LNH1)]PF <sub>6</sub>	[CuC <sub>26</sub> H <sub>29</sub> N <sub>4</sub> O]PF <sub>6</sub> H <sub>2</sub> O	48.8 47.8	4.9 5.9	8.7 8.7	2.0	19.9	0.5
[Cu(dmbpy)(LNH2)]PF <sub>6</sub>	[CuC <sub>27</sub> H <sub>31</sub> N <sub>4</sub> O]PF <sub>6</sub> 2H <sub>2</sub> O	47.55 46.06	4.53 5.01	7.61 7.9	3.2	9.4	3.7

%C<sub>Exp</sub> = Porcentaje de carbono experimental

%H<sub>Exp</sub> = Porcentaje de hidrógeno experimental

%N<sub>Exp</sub> = Porcentaje de nitrógeno experimental

%C<sub>Teo</sub> = Porcentaje de carbono teórico

%H<sub>Teo</sub> = Porcentaje de hidrógeno teórico

%N<sub>Teo</sub> = Porcentaje de nitrógeno teórico

%E = Porcentaje de error

#### 4.2.5 Susceptibilidad Magnética

La susceptibilidad magnética es una herramienta que nos permitirá conocer las propiedades magnéticas de un compuesto y nos permite diferenciar compuestos diamagnéticos y paramagnéticos. El cobre(II) al presentar una configuración electrónica  $3d^9$  tiene un electrón desapareado y es paramagnético, este tipo de compuestos presentan valores de  $\mu_{\text{eff}}$  entre 1.7 a 2.2 MB. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 11, el momento efectivo calculado para los compuestos de cobre corresponden para  $\text{Cu}^{\text{II}}$  con un electrón desapareado con una configuración electrónica de  $3d^9$ .

Los compuestos  $[\text{Cu}(\text{LN}2)(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{LH}1)(\text{NO}_3)]$  y  $[\text{Cu}(\text{LH}2)(\text{NO}_3)]$  presentaron valores de  $\mu_{\text{eff}}$  debajo de 1.7, esto podría deberse a que en estado sólido existan interacciones entre los átomos de  $\text{Cu}^{\text{II}}$ , generando un efecto antiferromagnético que provoque una disminución en el momento magnético<sup>119</sup>.

Tabla 11. Momento magnético efectivo y número de electrones desapareados de los compuestos de coordinación de  $\text{Cu}^{\text{II}}$ .

Clave de compuesto	Peso molecular (g/mol)	$X_m$ ( $\text{cm}^3/\text{mol}$ )	$X_{\text{corr}}$ ( $\text{cm}^3/\text{mol}$ )	$\mu_{\text{eff}}$ (MB)	# $e^-$ desapareados
$[\text{Cu}(\text{L}1)(\text{NO}_3)]$	348.8	$1.3 \times 10^{-3}$	$1.4 \times 10^{-3}$	1.8	1
$[\text{Cu}(\text{L}2)(\text{NO}_3)]$	315.5	$1.6 \times 10^{-3}$	$1.7 \times 10^{-3}$	2.0	1
$[\text{Cu}(\text{LN}1)(\text{NO}_3)]$	370.9	$1.1 \times 10^{-3}$	$1.2 \times 10^{-3}$	1.7	1
$[\text{Cu}(\text{LN}2)(\text{NO}_3)]$	365.5	$6.8 \times 10^{-4}$	$8.5 \times 10^{-4}$	1.4	1
$[\text{Cu}(\text{LH}1)(\text{NO}_3)]$	340.8	$3.9 \times 10^{-4}$	$5.4 \times 10^{-4}$	1.4	1
$[\text{Cu}(\text{LH}2)(\text{NO}_3)]$	318.5	$6.7 \times 10^{-4}$	$8.4 \times 10^{-4}$	1.4	1
$[\text{Cu}(\text{LNH}1)(\text{NO}_3)]$	372.9	$9.7 \times 10^{-4}$	$1.1 \times 10^{-3}$	1.7	1
$[\text{Cu}(\text{LNH}2)(\text{NO}_3)]$	386.9	$1.0 \times 10^{-3}$	$1.2 \times 10^{-3}$	1.7	1
<b>Compuestos mixtos</b>					
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L}1)]\text{PF}_6$	569.5	$1.2 \times 10^{-3}$	$1.5 \times 10^{-3}$	1.9	1
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L}2)]\text{PF}_6$	583.5	$1.1 \times 10^{-3}$	$1.4 \times 10^{-3}$	1.8	1
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L}3)]\text{PF}_6$	613.35	$1.8 \times 10^{-3}$	$2.1 \times 10^{-3}$	2.2	1
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN}1)]\text{PF}_6$	619.5	$1.1 \times 10^{-3}$	$1.4 \times 10^{-3}$	1.8	1
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN}2)]\text{PF}_6$	633.5	$1.1 \times 10^{-3}$	$1.4 \times 10^{-3}$	1.8	1
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN}3)]\text{PF}_6$	633.5	$1.0 \times 10^{-3}$	$1.3 \times 10^{-3}$	1.8	1
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH}1)]\text{PF}_6$	571.5	$1.0 \times 10^{-3}$	$1.4 \times 10^{-3}$	1.8	1
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH}2)]\text{PF}_6$	640.0	$8.3 \times 10^{-4}$	$1.1 \times 10^{-3}$	1.7	1
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH}1)]\text{PF}_6$	640.0	$9.0 \times 10^{-4}$	$1.1 \times 10^{-3}$	1.7	1
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH}2)]\text{PF}_6$	635.5	$7.4 \times 10^{-4}$	$1.1 \times 10^{-3}$	1.7	1

$X_m$  = susceptibilidad magnética

$X_{\text{corr}}$  = susceptibilidad magnética corregida

$\mu_{\text{eff}}$  = momento magnético efectivo

#### 4.2.6 Espectrometría de Masas

Se usó espectrometría de masa por el método de FAB+ para confirmar la obtención de los compuestos sintetizados. La técnica de FAB+ es muy útil para el análisis de compuestos de coordinación, ya que es recomendada para moléculas polares, de alto peso molecular y no volátiles. Se ocupó una matriz de alcohol 3-nitrobencílico (MNBA) donde se sumergen las muestras y son bombardeadas por átomos acelerados de alta energía. El MNBA es un disolvente viscoso de baja volatilidad que ayuda a ionizar las muestras. La matriz presenta señales en 136 m/z, 154 m/z, 289 m/z, 307 m/z entre otras, que no son tomadas en cuenta para la caracterización de los compuestos.

En la Figura 40 se ilustra el espectro de masa de [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)]. La señal observada no corresponde a esta especie (341 m/z), el ion molecular pertenece a la especie [Cu(L1)]<sup>+</sup> (240 m/z) donde el nitrato se encuentra fuera de la esfera de coordinación. El cobre presenta dos isótopos estables, <sup>63</sup>Cu (69.09%) y <sup>65</sup>Cu (30.91%), debido a esto las señales encontradas presentan isotopía M y M+2 debida al cobre. (240 m/z y 242 m/z). En algunos casos el ion molecular corresponde a M+1 que se asocia a la unión de un átomo de hidrógeno durante el proceso de fragmentación.

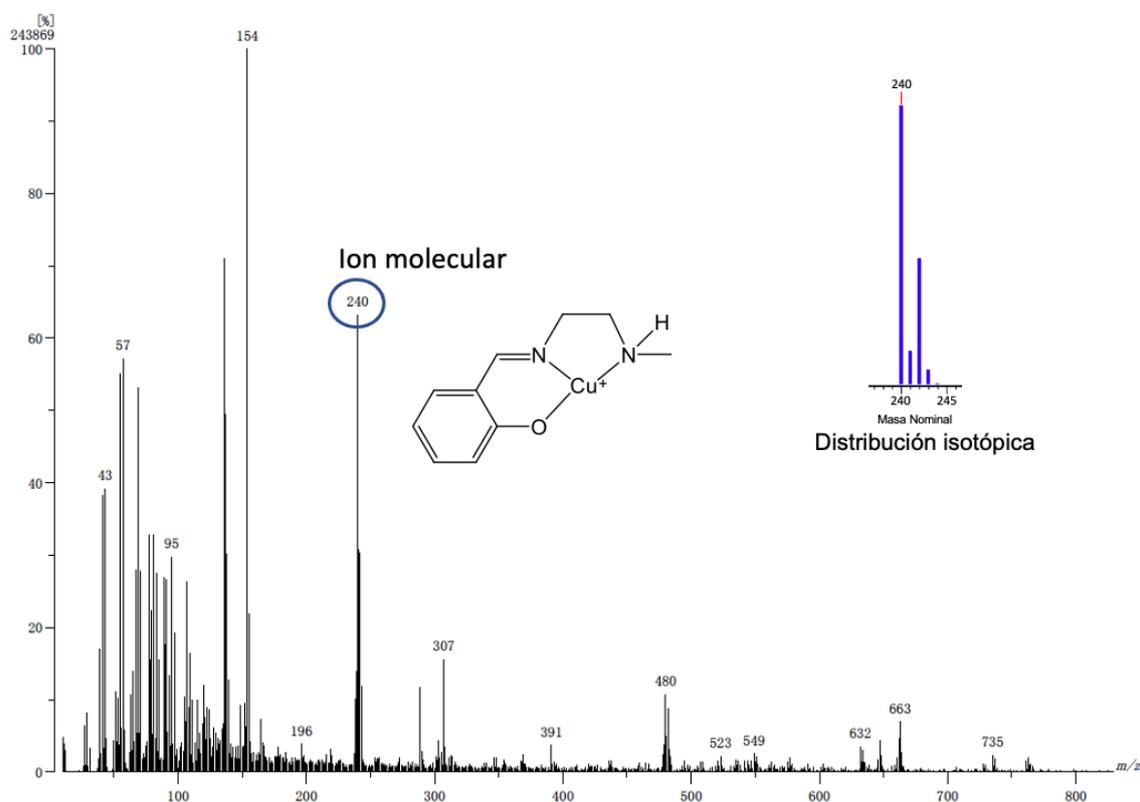


Figura 40. Espectro de masas de [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)] por el método de FAB+.

Los compuestos con fórmula general  $[\text{Cu}(\text{Ln})(\text{NO}_3)]$  y  $[\text{Cu}(\text{LNn})(\text{NO}_3)]$  presentan el mismo comportamiento que  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$ , el ion molecular observado corresponde a las especies sin el ligante  $\text{NO}_3^-$  ya que éste se disocia en disolución. Para el resto de los compuestos no mixtos los resultados se encuentran resumidos en la Tabla 12 y los espectros de masas se muestran en el Anexo V en las Figuras V.I a V.VIII.

En la Figura 41 se muestra el espectro de masas de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]^+$ , presenta un ion molecular de 424 m/z, y muestra una distribución isotópica debida al cobre, M y M+2. Se observa el pico correspondiente a la pérdida del ligante dmbpy que corresponde a la especie  $[\text{Cu}(\text{L1})]^+$  en 240 m/z y el ligante dmbpy protonada en 185 m/z.

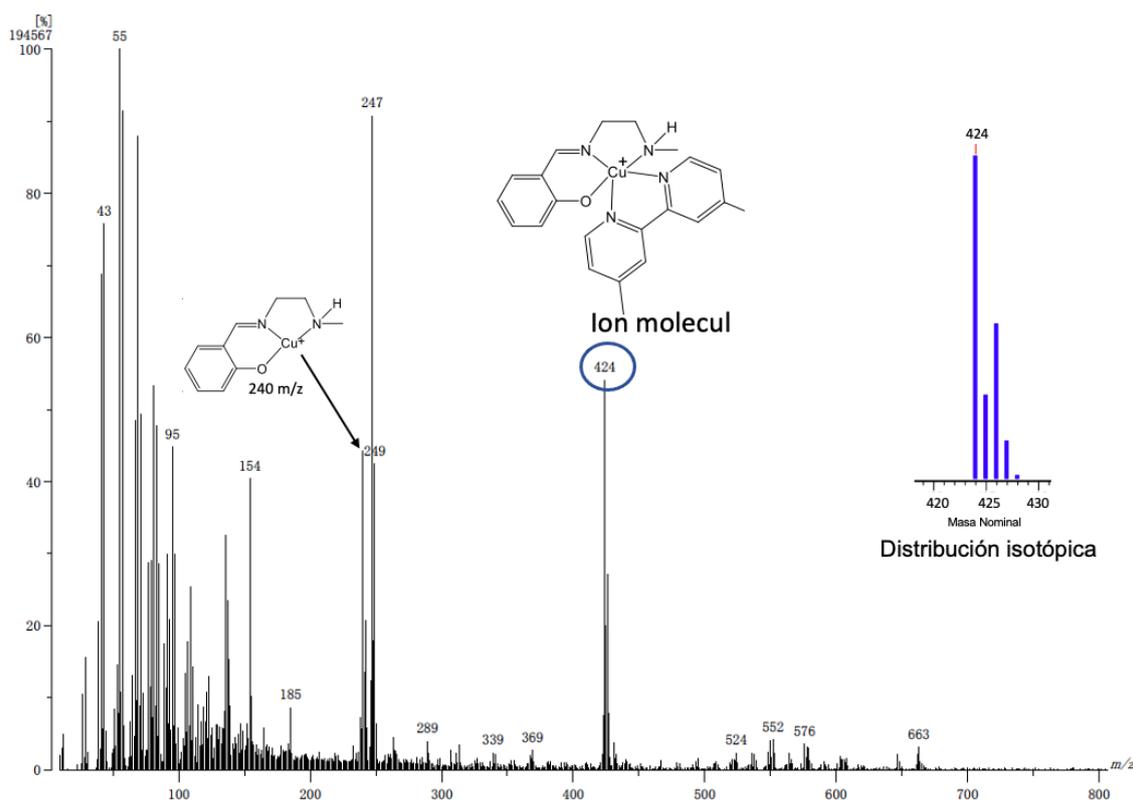


Figura 41. Espectro de masas de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]^+$  por el método de FAB+.

Todos los compuestos mixtos presentan un espectro similar al descrito y para el resto de los compuestos mixtos los resultados se encuentran resumidos en la Tabla 12 y los espectros de masas se muestran en el Anexo V en las Figuras V.IX a V.XV. En algunos casos el ion molecular corresponde a M+1 que se asocia a la unión de un átomo de hidrógeno durante el proceso de fragmentación.

Para los compuestos  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN3})]^+$  y  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH2})]^+$  no se observaron los iones moleculares por la técnica de FAB+, los resultados sólo muestran las señales de la matriz de

MNBA. Esto puede deberse a que las especies ionizadas no sean sensibles a esta técnica o que el ion molecular no sea estable.

Tabla 12. Resultados de espectrometría de masas por FAB+ para los compuestos de coordinación.

Clave de Compuesto	Masa exacta	Ion molecular m/z
[Cu(L1)(NO <sub>3</sub> )]	240	240
[Cu(L2)(NO <sub>3</sub> )]	254	254
[Cu(LN1)(NO <sub>3</sub> )]	290	290
[Cu(LN2)(NO <sub>3</sub> )]	304	304
[Cu(LH1)(NO <sub>3</sub> )]	242	242
[Cu(LH2)(NO <sub>3</sub> )]	256	256
[Cu(LNH1)(NO <sub>3</sub> )]	292	291
[Cu(LNH2)(NO <sub>3</sub> )]	306	307
<b>Compuestos mixtos</b>		
[Cu(dmbpy)(L1)]PF <sub>6</sub>	424	424
[Cu(dmbpy)(L3)]PF <sub>6</sub>	453	453
[Cu(dmbpy)(LN1)]PF <sub>6</sub>	474	474
[Cu(dmbpy)(LN3)]PF <sub>6</sub>	503	---
[Cu(dmbpy)(LH1)]PF <sub>6</sub>	426	426
[Cu(dmbpy)(LH2)]PF <sub>6</sub>	440	---
[Cu(dmbpy)(LNH1)]PF <sub>6</sub>	476	475
[Cu(dmbpy)(LNH2)]PF <sub>6</sub>	490	---

#### 4.2.7 Espectroscopía Electrónica

Los metales de transición que tienen orbitales incompletos absorben en longitudes de onda específicas dentro de la región visible del espectro, suele extenderse hasta la región de infrarrojo cercano. La interpretación de los espectros electrónicos da información del número de coordinación y de la geometría del complejo. Dentro de la región ultravioleta se observan transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$  y  $n \rightarrow \pi^*$  debidas a los ligantes que presentan enlaces  $\pi$ , y cercano al visible se observan transferencias de carga del metal al ligante (TCML) o del ligante al metal (TCLM), mientras que en la región del visible se observan las transiciones d-d debidas al metal, el máximo de absorción y el número de señales dependen de la naturaleza del metal, del número de coordinación, de los ligantes y de la geometría de éste.

Se prepararon disoluciones de los compuestos sintetizados usando DMSO como disolvente se realizaron diluciones con la finalidad de analizar todas las señales y determinar los coeficientes de absorptividad molar ( $\epsilon$ ).

En la Figura 42 se muestran los espectros electrónicos de los compuestos [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)] (arriba) y [Cu(LH1)(NO<sub>3</sub>)] (abajo), éstos presentan bandas en la región de 260 - 400 nm, la primera aparece en un intervalo de 260 a 278 nm, atribuidas a las transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$ , de los anillos aromáticos, en el caso de los compuestos con el grupo naftil, [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LNH1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LN2)(NO<sub>3</sub>)] y [Cu(LNH2)(NO<sub>3</sub>)] se observan dos bandas en esta región, puesto que aumenta la aromaticidad en la molécula y las transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$ . Los espectros se muestran en el Anexo VI en las Figuras VI.I a VI.VIII.

En el espectro de [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)] la segunda señal aparece en un intervalo de 315 a 375 nm, estas bandas son atribuidas a las transiciones  $n \rightarrow \pi^*$ <sup>120,121</sup>, en la conjugación del enlace C=N, estas transiciones son permitidas por espín y por Laporte y son características por tener un coeficiente de extinción molar alto (entre 10<sup>2</sup> a 10<sup>8</sup> L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>). Para los ligantes hidrogenados como [Cu(LH1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LNH1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LH2)(NO<sub>3</sub>)] y [Cu(LNH2)(NO<sub>3</sub>)] esta banda no se observa debido a la hidrogenación de la base de Schiff.

Para los compuestos con ligantes hidrogenados como [Cu(LH1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LNH1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LH2)(NO<sub>3</sub>)] y [Cu(LNH2)(NO<sub>3</sub>)] se observa una banda definida en un intervalo de 407 a 435 nm, esta transición corresponde a una transferencia de carga metal ligante (TCML). Para los compuestos con ligantes bases de Schiff esta banda se aprecia como un hombro junto a la segunda banda ( $n \rightarrow \pi^*$ ), no se reporta el valor del máximo de absorción, puesto que ambas señales se traslapan. La TCML se atribuye a la transferencia electrónica del cobre al oxígeno del fenolato<sup>76,122,123</sup>, esta transición en comparación con las  $\pi \rightarrow \pi^*$  tienen un coeficiente de extinción molar menor, y son permitidas por Laporte y por espín.

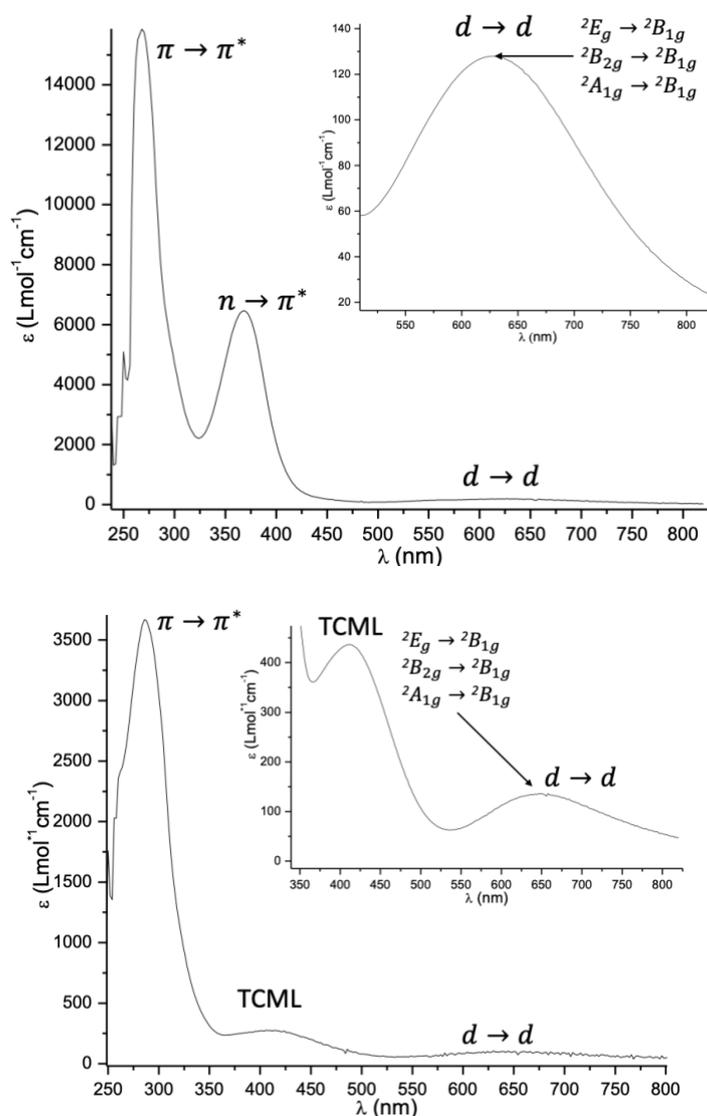


Figura. 42. Espectros electrónicos de los compuestos [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)] (arriba) y [Cu(LH1)(NO<sub>3</sub>)] (abajo) en DMSO.

Las transiciones electrónicas,  $d \rightarrow d$  debidas al metal se observan entre 615 a 656 nm; este tipo de transiciones permitidas por espín y prohibidas por Laporte se caracteriza por presentar coeficientes de absorptividad muy bajos ( $\epsilon < 200 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). En el caso de los compuestos [Cu(NNO)(NO<sub>3</sub>)] presentan un estado fundamental  $d_{x^2-y^2}$ , como se muestra en la Figura 43, presentarán tres transiciones características,  ${}^2E(d_{xz} \approx d_{yz}) \rightarrow {}^2B_{1g}(d_{x^2-y^2})$ ,  ${}^2B_{2g}(d_{z^2}) \rightarrow {}^2B_{1g}(d_{x^2-y^2})$ , y  ${}^2A_{1g}(d_{xy}) \rightarrow {}^2B_{1g}(d_{x^2-y^2})$ , sin embargo, en los espectros electrónicos obtenidos las tres señales aparecen muy cercanas entre sí y por ley de aditividad sólo se observa una banda ancha<sup>124,125</sup>. Los resultados para todos los compuestos sintetizados se encuentran resumidos en la Tabla 13.

Tabla 13. Máximos de absorción de las transiciones en uv-vis ( $\lambda_{\text{max}}$ ) en nm de los compuestos de coordinación de cobre en DMSO. Entre paréntesis se muestra el coeficiente de absortividad molar en  $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ .

Clave de compuesto	$\lambda \pi-\pi^*$	$\lambda \text{C}=\text{N}$	$\lambda \text{TCML}$	$\lambda \text{d-d}$
[Cu(L1)(NO <sub>3</sub> )]	268(14080)	368(5468)		628(125)
[Cu(L2)(NO <sub>3</sub> )]	268(11405)	368(4681)		648(116)
[Cu(LN1)(NO <sub>3</sub> )]	318(10958), 266(24347)	394(7710)		614(185)
[Cu(LN2)(NO <sub>3</sub> )]	306(10812), 264(14814)	400(7087)		634(72)
[Cu(LH1)(NO <sub>3</sub> )]	268(3634)	---	412(453)	648(161)
[Cu(LH2)(NO <sub>3</sub> )]	284(5892)	---	406(460)	638(124)
[Cu(LNH1)(NO <sub>3</sub> )]	326(3672), 282(9898), 338(3976)	---	466(242), 400(523)	650(126)
[Cu(LNH2)(NO <sub>3</sub> )]	282(11232), 260(13124)	---		656(192)
Compuestos mixtos				
[Cu(dmbpy)(L1)]PF <sub>6</sub>	276(24981)	368(5184)		630(141)
[Cu(dmbpy)(L2)]PF <sub>6</sub>	275(10350)	368(2009)		655(130)
[Cu(dmbpy)(L3)]PF <sub>6</sub>	276(22532)	374(5681)		652(176)
[Cu(dmbpy)(LN1)]PF <sub>6</sub>	258(39511)	395(7444) 317(10641)		623(169)
[Cu(dmbpy)(LN2)]PF <sub>6</sub>	286(47081), 264(20306)	386(4188)		632(117)
[Cu(dmbpy)(LN3)]PF <sub>6</sub>	286(18683), 262(18398)	362(4661)		--
[Cu(dmbpy)(LH1)]PF <sub>6</sub>	298(10061), 286(9292)	358(2554)		--
[Cu(dmbpy)(LH2)]PF <sub>6</sub>	288(14352), 266(15395)	373(2911)		--
[Cu(dmbpy)(LNH1)]PF <sub>6</sub>	288(14352), 266(15395)	372(2911)		---
[Cu(dmbpy)(LNH2)]PF <sub>6</sub>	298(12052), 262(10738)			648(66)
4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina	284(10142)			

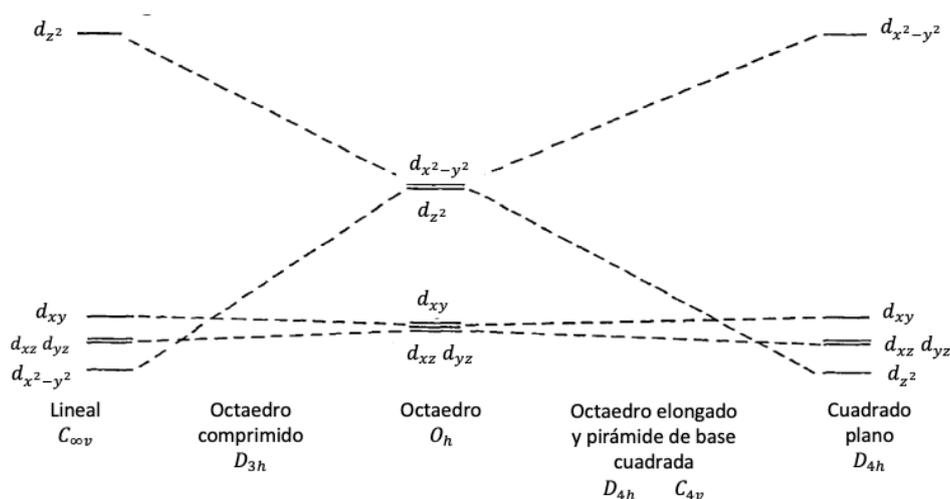


Figura 43. Desdoblamiento de los niveles energéticos para el ion de Cu<sup>II</sup> en una simetría axial.

Se obtuvo el espectro electrónico de la 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina para comparar los espectros de los compuestos mixtos con los no mixtos. Al igual que los compuestos la dmbpy se disolvió en DMSO y el espectro se muestra en la Figura 43. Al ser un compuesto orgánico con anillos aromáticos conjugados, la dmbpy sólo presentó una transición en 284 nm debida a transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$  debidas a los orbitales  $p$  del ligante.

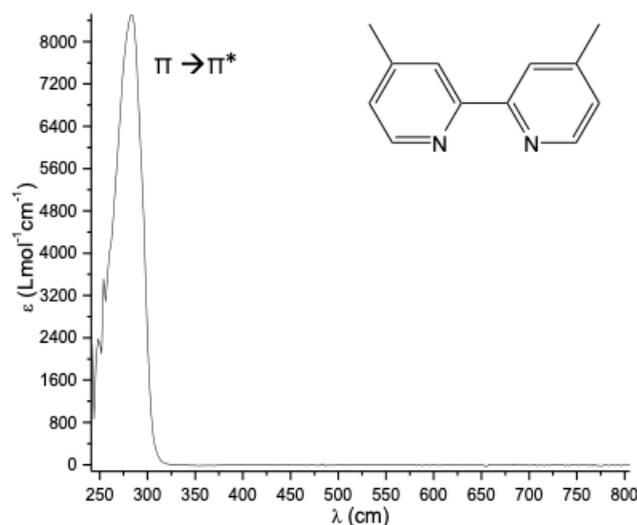


Figura 44. Espectro electrónico de 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina

Se obtuvieron los espectros electrónicos de los compuestos mixtos con fórmula general  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{NNO})]^+$ . Los espectros son parecidos a los de los compuestos no mixtos, como se muestra en la Figura 45 para  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]^+$  (arriba) y  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH1})]^+$  (abajo), sin embargo, existen diferencias. Al coordinar el ligante dmbpy, el número de transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$  en el intervalo de 260 – 298 nm aumenta y se observa un incremento en el coeficiente de absorptividad molar en estas bandas, puesto al traslape de transiciones, en algunos casos sólo se observa una señal con una  $\epsilon$  mayor que en los compuestos no mixtos y para otros compuestos se alcanzan a separar las señales y se observan hombros que no permiten asociar un máximo de absorción. Los espectros del resto de los compuestos mixtos se encuentran en el Anexo VI en las Figuras VI.IX a VI.XVIII.

En todos los compuestos, bases de Schiff y ligantes hidrogenados, se observa una transición atribuida a  $n \rightarrow \pi^*$ , debida a la conjugación del enlace C=N en los ligantes NNO y al enlace C=N en el ligante dmbpy.

Las transiciones electrónicas,  $d \rightarrow d$  debidas al metal se observan entre 620 y 656 nm, con coeficientes de absorptividad muy bajos ( $\epsilon < 200 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Al igual que los compuestos no mixtos, el estado fundamental de estos compuestos corresponde a  $d_{x^2-y^2}$ , donde  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]^+$  y  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN1})]^+$  presentan una geometría de pirámide de base cuadrada, y los compuestos mixtos restantes presentan una geometría de octaédrica alargada. Las transiciones permitidas por spin corresponden a  ${}^2E(d_{xz} \approx d_{yz}) \rightarrow {}^2B_{1g}(d_{x^2-y^2})$ ,  ${}^2B_{2g}(d_{z^2}) \rightarrow {}^2B_{1g}(d_{x^2-y^2})$ , y  ${}^2A_{1g}(d_{xy}) \rightarrow {}^2B_{1g}(d_{x^2-y^2})$ , sin embargo, al igual que en los compuestos no mixtos, sólo se observa una señal<sup>124,125</sup>.

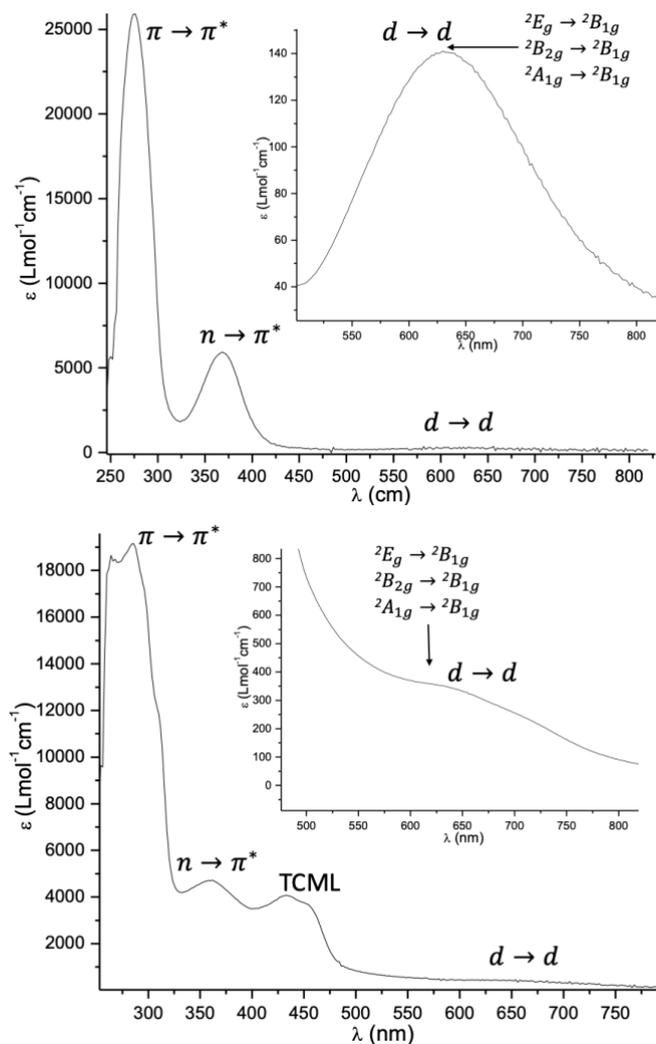


Figura 45. Espectros electrónicos de los compuestos [Cu(dmbpy)(L1)]<sup>+</sup> (arriba) y [Cu(dmbpy)(LH1)]<sup>+</sup> (abajo) en DMSO.

Con ayuda de los experimentos de RPE se asignaron las geometrías de los compuestos en disolución, [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LNH1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LH2)(NO<sub>3</sub>)] y [Cu(LNH2)(NO<sub>3</sub>)] (614 nm, 650nm, 656 nm, y 638 nm) presentan una geometría plana cuadrada. [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(dmbpy)(L1)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LN1)]<sup>+</sup> y [Cu(dmbpy)(LH1)]<sup>+</sup> (628 nm, 630 nm y 623 nm) una geometría de pirámide de base cuadrada. [Cu(L2)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(dmbpy)(L2)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(L3)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LN2)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LN3)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LH1)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LH2)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LNH1)]<sup>+</sup> y [Cu(dmbpy)(LNH2)]<sup>+</sup> (634 nm, 655 nm, 652 nm, 632 nm, y 648 nm) una geometría octaédrica elongada.

## 4.2.8 Resonancia Paramagnética Electrónica

La resonancia paramagnética electrónica (RPE) es una técnica muy empleada en compuestos de coordinación paramagnéticos, brinda información sobre el entorno electrónico del ion metálico y sobre la geometría que éste puede llegar a adoptar.

Los compuestos de coordinación sintetizados presentan un átomo de  $\text{Cu}^{\text{II}}$ , con configuración electrónica  $3d^9$  con un electrón desapareado ( $S = 1/2$ ). Estos compuestos son paramagnéticos, como se confirmó en la sección de susceptibilidad magnética, lo que los hace activos a la técnica de RPE. Se obtuvieron los espectros en estado sólido a temperatura ambiente y en vidrio en DMSO, congelando la muestra a 77 K con nitrógeno líquido. Se realizaron las simulaciones de los espectros obtenidos utilizando la herramienta Easy Spin 6.0 del programa MatLab para Windows; los espectros simulados se grafican superpuestos a los experimentales en color verde, como se observa en el Anexo VII.

### 4.2.8.1 Resonancia Paramagnética Electrónica en Sólido

Los espectros en sólido se midieron a temperatura ambiente y en la mayoría de los casos se obtiene una señal isotrópica, como se muestra en la Figura 46 para  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$  (izquierda) y  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]\text{PF}_6$  (derecha), excepto para  $[\text{Cu}(\text{LH2})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$  y  $[\text{Cu}(\text{LNH2})(\text{NO}_3)]$ , mostrados en el Anexo VII en las Figuras VII.VI a VII.VIII que se logra observar un desdoblamiento en las señales debido al acoplamiento hiperfino del electrón desapareado de Cu con el núcleo de éste ( $I=3/2$ ).

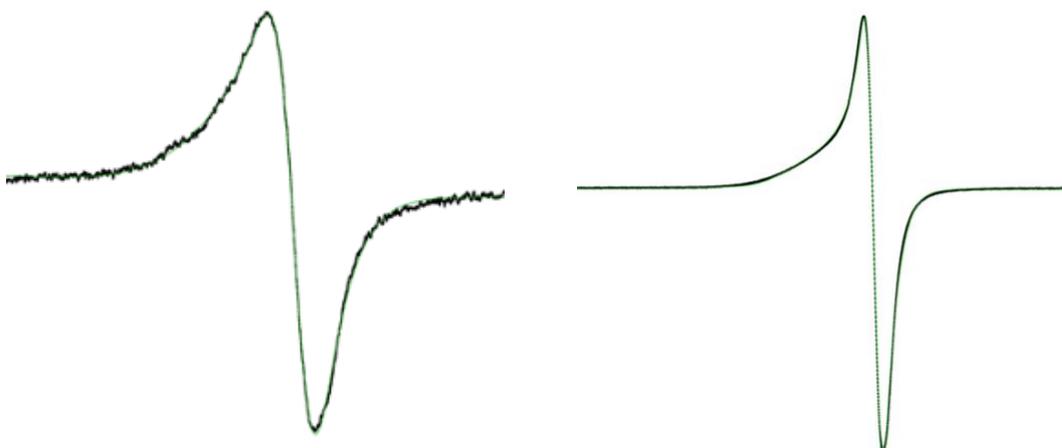


Figura 46. Espectro de resonancia paramagnética electrónica en banda X de la primera derivada experimental (línea negra) y simulado (línea verde) de  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]^+$  (izquierda), y  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]^+$  (derecha), en estado sólido a temperatura ambiente.

Para la mayoría de los compuestos sólo se aprecia una absorción puesto que los experimentos en sólido la señal se vuelve más ancha debido a que hay muchas moléculas distribuidas aleatoriamente que dan una respuesta distinta según su orientación, lo que se observa es la suma de todas esas señales. También en sólido el tiempo de relajación de las señales es menor que en disolución debido a interacciones espín-espín con las moléculas vecinas, hay compuestos que presentan una señal más ancha que otros y esto es debido a que las interacciones espín-espín varían dependiendo la distancia entre las especies paramagnéticas.

Para [Cu(LH2)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LNH1)(NO<sub>3</sub>)] y [Cu(LNH2)(NO<sub>3</sub>)] se realizó una dilución magnética, que permitió evitar las interacciones espín-espín entre los átomos de Cu<sup>II</sup> vecinos permitiendo que el tiempo de relajación fuera mayor y se lograra apreciar el acoplamiento hiperfino del electrón desapareado de Cu con núcleo activo del cobre (<sup>63</sup>Cu (69.09%) y <sup>65</sup>Cu (30.91%) con I=3/2), siguiendo la regla [2nI+1], donde *n* representa el número de núcleos activos, sin embargo, en todos los espectros, la cuarta señal del desdoblamiento paralelo se traslapa con la parte perpendicular del espectro y sólo se aprecian tres señales del acoplamiento hiperfino.

A partir de los experimentos se realizaron las simulaciones de los espectros y se obtuvieron los valores de los parámetros de  $g_{\parallel}$ ,  $g_{\perp}$ ,  $A_{\parallel}$  y  $A_{\perp}$ , mostrados en la Tabla 14.

Tabla 14. Parámetros de RPE obtenidos mediante la simulación de los espectros en sólido.

Clave	$g_{\perp}$	$g_{\parallel}$	$A_{\perp}$ [a]	$A_{\parallel}$ [a]	$g_{iso}$	$A_{iso}$ [a]	$\frac{g_{\parallel}}{A_{\parallel}}$
[Cu(L1)(NO <sub>3</sub> )]	2.1520	2.2952	20.06	331.69	2.0321	95	69
[Cu(L2)(NO <sub>3</sub> )]	2.2002	2.2773	31.68	282.52	2.2259	115	81
[Cu(LN1)(NO <sub>3</sub> )]	2.1846	2.2792	29.13	216.69	2.0293	99	105
[Cu(LN2)(NO <sub>3</sub> )]	2.1343	2.3051	35.51	288.29	2.1912	119	80
[Cu(LH1)(NO <sub>3</sub> )]	2.1353	2.3495	12.15	266.09	2.0411	90	88
[Cu(LH2)(NO <sub>3</sub> )]	2.1287	2.8053	7.05	446.85	2.2552	153.65	56
[Cu(LNH1)(NO <sub>3</sub> )]	2.1257	2.3855	80.00	309.00	2.0347	86	77
[Cu(LNH2)(NO <sub>3</sub> )]	2.1050	2.5376	239.98	151.53	2.2492	210	167
<b>Compuestos mixtos</b>							
[Cu(dmbpy)(L1)]PF <sub>6</sub>	2.1474	2.2690	36.19	303.36	2.0355	91	75
[Cu(dmbpy)(L2)]PF <sub>6</sub>	2.0578	2.2903	10.46	100.02	2.1353	40.3	229
[Cu(dmbpy)(L3)]PF <sub>6</sub>	2.1857	2.2404	20	117.17	2.2051	52.39	192
[Cu(dmbpy)(LN1)]PF <sub>6</sub>	2.0418	2.3004	25.00	334.96	2.0300	92	69
[Cu(dmbpy)(LN2)]PF <sub>6</sub>	2.0372	2.3067	25	278.27	2.1270	109	83
[Cu(dmbpy)(LN3)]PF <sub>6</sub>	2.1543	2.2947	30	130.16	2.2011	63.39	176
[Cu(dmbpy)(LH1)]PF <sub>6</sub>	2.1657	2.2632	56.00	210.00	2.1317	93	108
[Cu(dmbpy)(LH2)]PF <sub>6</sub>	2.1619	2.2710	98.7	324.47	2.1983	170.62	70
[Cu(dmbpy)(LNH1)]PF <sub>6</sub>	2.1494	2.3146	30.00	295.40	2.1251	95	78
[Cu(dmbpy)(LNH2)]PF <sub>6</sub>	2.1415	2.3308	47.97	225.23	2.2046	107.06	103

[a] Unidades en  $1 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ .

Los espectros en sólido presentaron una anisotropía axial donde los valores de  $g_{\parallel}$  son mayores  $g_{\perp}$ , con un estado fundamental  $d_{x^2-y^2}$ , que indica que electrón desapareado se encuentra en el orbital  $d_{x^2-y^2}$  que concuerda con las geometrías de pirámide de base cuadrada, octaédrico elongado y plana cuadrada<sup>125-127</sup>.

El cociente  $\frac{g_{\parallel}}{A_{\parallel}} = f$  es un índice empírico que muestra la distorsión en complejos tetracoordinados de cobre(II), un compuesto con geometría cuadrada plana presenta valores entre 105 a 135 cm, este valor aumenta al incrementar la distorsión a una geometría tetraédrica, entre 200 a 247 cm<sup>128</sup>. Para los complejos [Cu(LNH2)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(dmbpy)(L2)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(L3)]<sup>+</sup> y [Cu(dmbpy)(LN3)]<sup>+</sup> el cociente se encuentra entre 167 - 229 cm<sup>-1</sup>, que indica que presentan un número de coordinación de cuatro con una geometría cuadrada plana distorsionada y para [Cu(dmbpy)(LN3)]<sup>+</sup> la distorsión es mayor, adaptando una geometría distorsionada tetraédrica. Para el compuesto [Cu(LNH2)(NO<sub>3</sub>)] el número de coordinación asignado coincide con lo observado en espectroscopía de infrarrojo por ATR.

Para [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(dmbpy)(LH1)]<sup>+</sup> y [Cu(dmbpy)(LH2)]<sup>+</sup>, el cociente  $f$  varía entre 103 - 108 cm<sup>-1</sup>, con un número de coordinación de cuatro y una geometría cuadrada plana, que para [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)] coincide con lo observado en difracción de rayos X.

Los compuestos [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(L2)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LN2)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LH1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LH2)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LNH1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(dmbpy)(L1)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LN1)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LN2)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LH2)]<sup>+</sup> y [Cu(dmbpy)(LNH1)]<sup>+</sup>, presentaron valores del cociente  $f$  menores a 100 cm<sup>-1</sup>, se propone que presentan una geometría de pirámide de base cuadrada, puesto que en este caso los valores  $g_{\parallel} > g_{\perp} > g_e$ , que corresponde a compuestos de cobre pentacoordinados con un estado fundamental  $d_{x^2-y^2}$ . Estas geometrías coinciden con lo observado en difracción de rayos X para los compuestos [Cu(dmbpy)(LN1)]<sup>+</sup> y [Cu(dmbpy)(L1)]<sup>+</sup> y con los resultados de espectroscopía de infrarrojo por ATR para los compuestos [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(L2)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LN2)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LH1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LH2)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LNH1)(NO<sub>3</sub>)].

#### 4.2.8.2 Resonancia Paramagnética Electrónica en Vidrio

Para obtener más información sobre el entorno de coordinación del Cu<sup>II</sup> se realizaron los espectros de RPE en disolución en DMSO de los compuestos a 77 K. Los espectros obtenidos presentan una anisotropía axial prolata, como se observa en la Figura 47 para los compuestos [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)]<sup>+</sup> y [Cu(dmbpy)(L1)]<sup>+</sup>. Las señales se desdoblán en cuatro debido al acoplamiento hiperfino del electrón con el núcleo activo del cobre (<sup>63</sup>Cu (69.09%) y <sup>65</sup>Cu (30.91%) con I=3/2) siguiendo la regla [2nI+1], donde  $n$  representa el número de núcleos activos, sin embargo, en

todos los espectros, la cuarta señal del desdoblamiento paralelo se traslapa con la parte perpendicular del espectro, por lo que sólo se aprecian tres señales del acoplamiento hiperfino. A partir de los valores obtenidos de la simulación se obtuvieron los parámetros de  $g_{\parallel}$ ,  $g_{\perp}$ ,  $A_{\parallel}$  y  $A_{\perp}$ , mostrados en la Tabla 15.

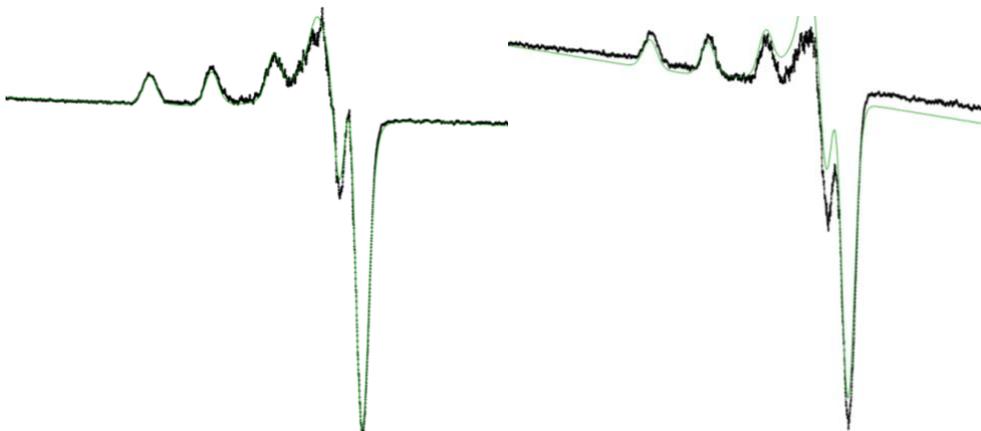


Figura 47. Espectro de resonancia paramagnética electrónica de banda X de la primera derivada, experimental (línea negra) y simulado (línea verde) de  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]^+$  (izquierda), y  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]^+$  (derecha), preparado en disolución en DMSO a 77 K.

Los espectros presentaron una anisotropía axial donde los valores de  $g_{\parallel}$  son mayores  $g_{\perp}$ , que indica que el estado fundamental corresponde a  $d_{x^2-y^2}$ , donde el electrón desapareado se encuentra en el orbital  $d_{x^2-y^2}$ . Esto es consistente con lo observado en espectroscopía electrónica, que concuerda con las geometrías de pirámide de base cuadrada, octaédrico elongado y cuadrada plana<sup>125-127</sup>.

El cociente  $\frac{g_{\parallel}}{A_{\parallel}} = f$  para los complejos  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{LH2})(\text{NO}_3)]$  y  $[\text{Cu}(\text{LNH2})(\text{NO}_3)]$  se encuentra entre  $100-107 \text{ cm}^{-1}$ ; se propone que estos compuestos presentan una geometría de pirámide de base cuadrada, donde el nitrato se descoordina y en una de las posiciones vacantes se coordina una molécula de DMSO, como se había propuesto anteriormente en los estudios de conductividad. El resto de los compuestos presenta valores del cociente  $f$  menores a  $100 \text{ cm}^{-1}$ , lo que indica un cambio en el número de coordinación<sup>129</sup>.

Para asignar las geometrías del resto de los compuestos se graficaron los valores de  $A_{\parallel}$  vs.  $g_{\parallel}$ ,<sup>129</sup> como se muestra en la Figura 48. Los compuestos se dividen en tres grupos, el primer grupo corresponde a los compuestos  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{LH2})(\text{NO}_3)]$  y  $[\text{Cu}(\text{LNH2})(\text{NO}_3)]$  con una menor constante de acoplamiento y un cociente  $f$  de  $100-107 \text{ cm}^{-1}$ , cuya geometría corresponde a una cuadrada plana.

Tabla 15. Parámetros de RPE obtenidos mediante la simulación de los espectros en vidrio en DMSO a 77 K.

Clave	$g_{\perp}$	$g_{\parallel}$	$A_{\perp}^{[a]}$	$A_{\parallel}^{[a]}$	$g_{iso}$	$A_{iso}^{[a]}$	$\frac{g_{\parallel}}{A_{\parallel}}$ (cm)	$\alpha^2$
[Cu(L1)(NO <sub>3</sub> )]	1.9549	2.1864	20.6	242.6	2.0321	94.6	90	0.75
[Cu(L2)(NO <sub>3</sub> )]	2.0383	2.3081	16.3	236.5	2.1282	94.9	98	0.86
[Cu(LN1)(NO <sub>3</sub> )]	1.9466	2.1947	38.4	221.3	2.0293	99.4	100	0.68
[Cu(LN2)(NO <sub>3</sub> )]	2.0398	2.3005	17.5	244.4	2.1267	89.7	94	0.88
[Cu(LH1)(NO <sub>3</sub> )]	1.9609	2.2015	16.8	237.2	2.0411	90.3	93	0.74
[Cu(LH2)(NO <sub>3</sub> )]	2.0318	2.3094	23.3	216.7	2.1244	93.1	107	0.80
[Cu(LNH1)(NO <sub>3</sub> )]	1.9495	2.2050	21.7	213.6	2.0347	85.6	103	0.67
[Cu(LNH2)(NO <sub>3</sub> )]	2.0453	2.3092	17.0	228.1	2.1333	87.8	101	0.85
<b>Compuestos mixtos</b>								
[Cu(dmbpy)(L1)]PF <sub>6</sub>	1.9598	2.1870	16.2	240.1	2.0355	90.8	91	0.74
[Cu(dmbpy)(L2)]PF <sub>6</sub>	2.0380	2.2912	15.9	250.0	2.1224	87.4	92	0.92
[Cu(dmbpy)(L3)]PF <sub>6</sub>	2.0513	2.3007	15.8	247.9	2.1344	88.3	93	0.91
[Cu(dmbpy)(LN1)]PF <sub>6</sub>	1.9560	2.1781	18.0	238.5	2.0300	91.5	91	0.73
[Cu(dmbpy)(LN2)]PF <sub>6</sub>	2.0409	2.3001	16.5	246.0	2.1273	93.9	92	0.89
[Cu(dmbpy)(LN3)]PF <sub>6</sub>	2.0532	2.3037	11.9	250.4	2.1367	94.5	91	0.92
[Cu(dmbpy)(LH1)]PF <sub>6</sub>	2.0477	2.2998	14.0	251.5	2.1317	93.2	91	0.91
[Cu(dmbpy)(LH2)]PF <sub>6</sub>	2.0507	2.3094	2.4	250.4	2.1369	93.0	93	0.89
[Cu(dmbpy)(LNH1)]PF <sub>6</sub>	2.0437	2.2881	16.4	251.2	2.1251	94.7	91	0.90
[Cu(dmbpy)(LNH2)]PF <sub>6</sub>	2.0512	2.3141	10.1	244.8	2.1389	85.0	92	0.92
[Cu(phen)(L1)]PF <sub>6</sub>	2.0393	2.2886	15.99	252.79	2.1224	94.90	91	0.90
[Cu(phen)(L2)]PF <sub>6</sub>	2.0432	2.2926	21.56	240.39	2.1263	94.50	95	0.87

<sup>[a]</sup>Unidades en  $1 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ .

El segundo grupo corresponde a los compuestos [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LH1)(NO<sub>3</sub>)] [Cu(dmbpy)(L1)]<sup>+</sup> y [Cu(dmbpy)(LN1)]<sup>+</sup>, con una cadena de dos metilenos en el puente de las aminas y el tercer grupo corresponde a los compuestos [Cu(dmbpy)(LH1)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LNH1)]<sup>+</sup>, [Cu(L2)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LN2)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LH2)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LNH2)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(dmbpy)(L2)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LN2)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LH2)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LNH2)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(L3)]<sup>+</sup> y [Cu(dmbpy)(LN3)]<sup>+</sup>, con dos, tres y cuatro metilenos en el puente de las aminas.

Para los compuestos del segundo grupo se propone que presentan una geometría de pirámide de base cuadrada, puesto que en este caso los valores  $g_{\parallel} > g_{\perp} < g_e$ , que corresponde a compuestos de cobre pentacoordinados con un estado fundamental  $d_{x^2-y^2}$ . A los compuestos del tercer grupo se les asigna una geometría octaédrica elongada, donde el disolvente DMSO se coordina en las posiciones vacantes resultando en compuestos con un número de coordinación de seis, en este grupo se encuentra que  $g_{\parallel} > g_{\perp} > g_e$  que corresponde para compuestos octaédricos con un estado fundamental de  $d_{x^2-y^2}$ <sup>125-127,129-131</sup>.

En los resultados obtenidos podemos observar ciertas tendencias que están relacionadas con el ambiente electrónico del cobre y de la geometría adquirida por cada complejo. Por ejemplo, para el grupo de compuestos [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)] y [Cu(LNH1)(NO<sub>3</sub>)]; que presentan una geometría cuadrada plana, para [Cu(LNH1)(NO<sub>3</sub>)] el valor de  $A_{\parallel}$  se reduce y  $g_{\parallel}$  incrementa en comparación

con de  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$  que es su compuesto análogo con una base de Schiff, esto indica que la hidrogenación del enlace imina incrementa la distorsión de la geometría. Este comportamiento se observa de manera general al comparar los valores de  $A_{\parallel}$  y  $g_{\parallel}$  de compuestos con ligantes bases de Schiff con los derivados hidrogenados y se observa el mismo comportamiento al comparar a los compuestos mixtos.

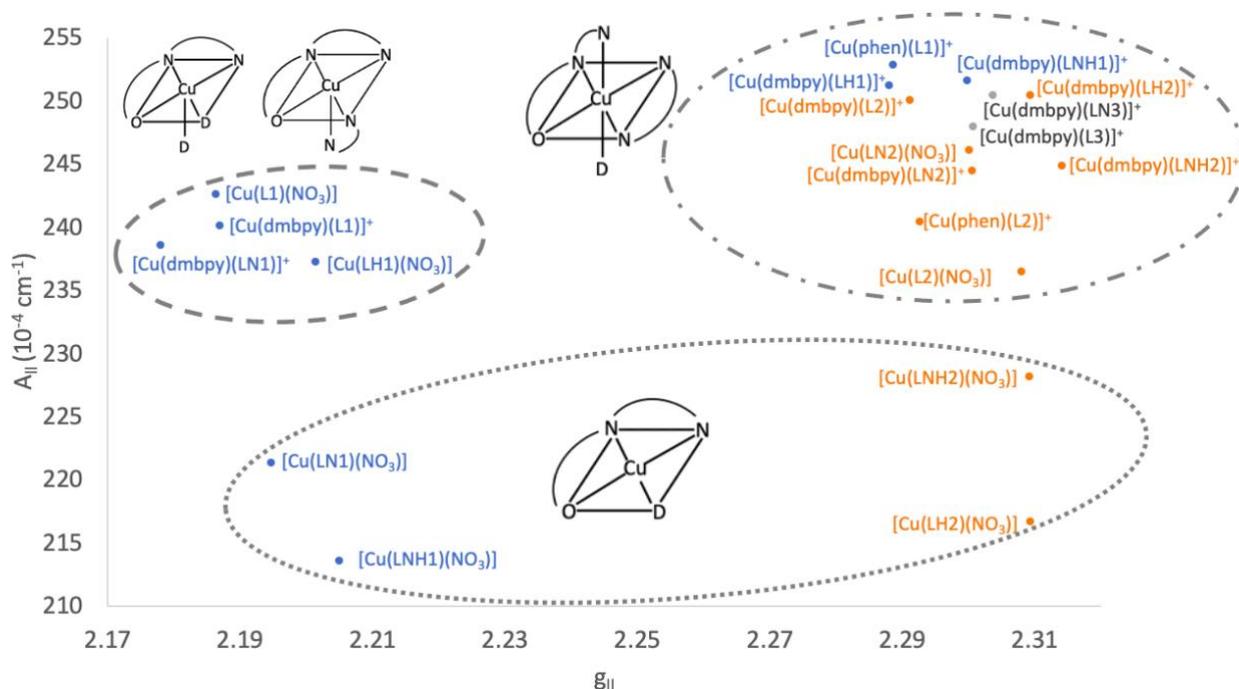


Figura 48. Correlación de los valores de  $A_{\parallel}$  y  $g_{\parallel}$  para los compuestos de cobre(II), los puntos azules representan a los compuestos con una cadena de dos metilenos; los puntos naranjas, los compuestos de tres metilenos y los puntos grises cuatro metilenos<sup>129</sup>.

Los valores de  $g_{\parallel}$  menores también indican una mayor deslocalización de los electrones sobre el átomo de cobre, que se interpreta como un incremento en la covalencia de los enlaces metal-ligante. Los valores menores de  $g_{\parallel}$  se presentan para los compuestos con ligantes bases de Schiff en comparación con los derivados hidrogenados, por ejemplo,  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$  y  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$  con 2.1947 y 2.2050, el par de electrones del doble enlace del grupo azometino se encuentra conjugado con el anillo aromático y existe una transferencia de carga metal-ligante, que se realiza mediante los oxígenos del fenolato enlazados al cobre. La densidad electrónica del cobre se reparte en todo el ligante generando una mayor deslocalización de los electrones y un mayor carácter covalente en el enlace coordinado.

Kivelson y Nieman sugiere emplear el valor de  $g_{\parallel}$  para diferenciar un entorno puramente iónico del enlace M-L<sup>132</sup>. La Tabla 16 muestra que de los compuestos  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{LH1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]^+$  y  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN1})]$  tuvieron valores

de  $g_{\parallel} < 2.3$ , que implica un mayor carácter covalente en sus enlaces debido a una mayor deslocalización de los electrones desapareados del núcleo de cobre con el ligante.

[Cu(L2)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LN2)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LH2)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LNH2)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(dmbpy)(L2)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(L3)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LN2)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LN3)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LH1)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LH2)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LNH1)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LNH2)]<sup>+</sup>, [Cu(phen)(L1)]<sup>+</sup> y [Cu(phen)(L2)]<sup>+</sup>, presentaron valores de  $g_{\parallel}$  cercanos a 2.3, indicando un mayor carácter iónico, donde los electrones desapareados del cobre están cerca de su núcleo.

El carácter covalente de un enlace también se evaluó calculando el parámetro  $\alpha^2$  utilizando la siguiente ecuación<sup>132</sup>:

$$\alpha^2 = -\left(\frac{A_{\parallel}}{P}\right) + (g_{\parallel} - 2.0023) + \frac{3}{7}(g_{\perp} - 2.0023) + 0.04$$

Donde el coeficiente dipolar  $P = -0.036 \text{ cm}^{-1}$ <sup>132</sup>. Se observó la misma tendencia que con los valores de  $g_{\parallel}$ , los compuestos [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LH1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LNH1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(dmbpy)(L1)]<sup>+</sup> y [Cu(dmbpy)(LN1)], presentaron valores de  $\alpha^2$  dentro de un intervalo de 0.68 – 0.75, que indica que el enlace M-L es de naturaleza covalente y los ligantes están fuertemente unidos al centro metálico. Los valores para el resto de los compuestos fueron más cercanos a 1, que indica un mayor carácter iónico y que el enlace M-L está débilmente unido. Esto puede deberse a que los complejos coordinados a un ligante hidrogenado, que es más flexible, presentan una mayor distorsión, por lo que el traslape entre los orbitales  $\sigma$  es menor, que implica un menor carácter covalente en el enlace M-L, como se ha observado en trabajos previos<sup>133</sup>.

El carácter iónico también presenta una relación con la longitud de la cadena de metilenos en el ligante NNO, la diimina con cadena de tres y cuatro metilenos al coordinarse forma un anillo de seis y siete miembros, generando un mayor impedimento estérico y una mayor distorsión en la geometría, al igual que en los ligantes hidrogenados, que son más flexibles el traslape entre los orbitales  $\sigma$  es menor, incrementando el carácter iónico del enlace coordinado.

También se observó que los complejos con el sustituyente naftil en el ligante NNO presentaron valores de  $\alpha^2$  más bajos, el sustituyente naftil incrementa la aromaticidad del ligante y favorece la deslocalización de la densidad electrónica del cobre hacia el ligante, aumentando el carácter covalente del enlace<sup>134</sup>.

#### 4.2.9 Difracción de Rayos X de Monocristal

La difracción de rayos X de monocristal indica que el compuesto [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)] cristaliza en el sistema monoclinico, con el grupo espacial P<sub>21</sub>, como se muestra en la Figura 49. Las distancias de enlace y los ángulos seleccionados se enumeran en la Tabla 16. La unidad está compuesta por un ion Cu<sup>II</sup>, un ligante base de Schiff desprotonado LN1 y un anión nitrato. El centro metálico Cu<sup>II</sup> se coordina a través de tres átomos donadores (N<sub>amina</sub>, N<sub>imina</sub>, O<sub>fenolato</sub>) del ligante base de Schiff (E)-3-((2-(metilamino)etilimino)metil)naftalenolato (LN1) desprotonado y un átomo de oxígeno del ligante del anión nitrato. La geometría del centro del metal muestra una disposición cuadrada plana ligeramente distorsionada. Esta distorsión también puede medirse convenientemente mediante los ángulos trans O(1)–Cu(1)–N(1) = 173.70(11)° y N(2)–Cu(1)–O(2) = 178.96(10)°, (que idealmente son de 180° para una geometría cuadrada plana cuadrada).

Para los compuestos de cobre tetracoordinados existe un parámetro,  $\tau_4$ , que ayuda a comparar las geometrías que el centro metálico puede llegar a adoptar, al igual que sirve para examinar la distorsión de éstas. Se calcula usando la siguiente ecuación<sup>135</sup>:

$$\tau_4 = \frac{360^\circ - (\alpha + \beta)}{141^\circ}$$

Los ángulos  $\alpha$  y  $\beta$ , son los ángulos más grandes en una especie tetracoordinada. Los valores de  $\tau_4$  oscilaran entre 1.00 para una geometría tetraédrica perfecta, de cero para una geometría cuadrada plana perfecta. Para el compuesto [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)] valor del parámetro  $\tau_4$  de 0.052, que indica que la geometría es cuadrada plana distorsionada, sin embargo, la distorsión es muy poca.

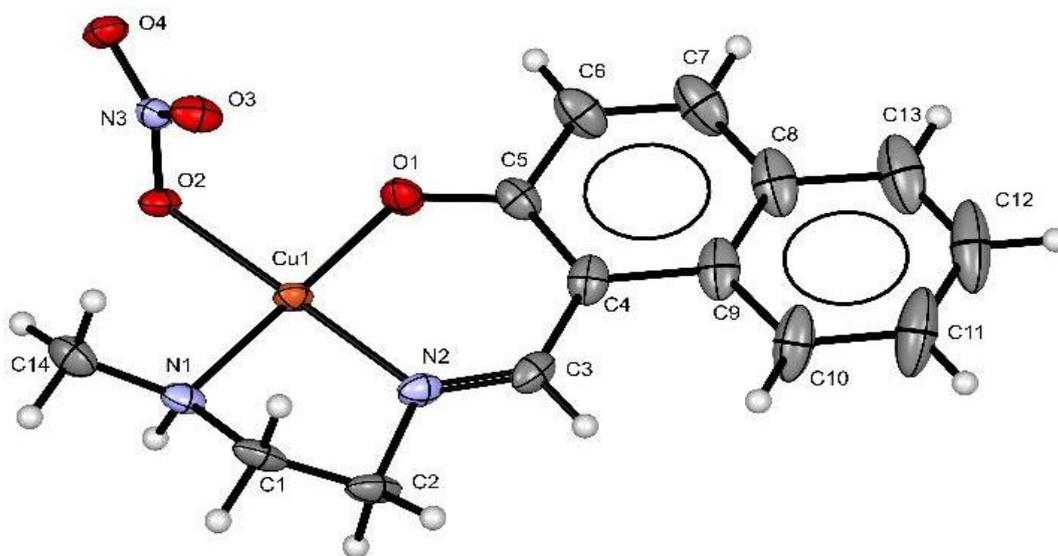


Figura 49. Representación ORTEP de la unidad asimétrica para el compuesto [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)].

Tabla 16. Longitudes de enlace [Å] y ángulos [°] seleccionados para [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)].

[Cu(LN1)(NO <sub>3</sub> )]			
<b>Longitudes de enlace (Å)</b>			
C(1)-N(1)	1.472(4)	C(14)-N(1)	1.463(5)
C(1)-C(2)	1.511(6)	Cu(1)-O(1)	1.897(2)
C(2)-N(2)	1.469(4)	Cu(1)-N(2)	1.919(3)
C(3)-C(4)	1.425(5)	Cu(1)-O(2)	2.005(2)
C(4)-C(5)	1.420(5)	Cu(1)-N(1)	2.024(3)
C(8)-C(9)	1.405(7)		
<b>Longitudes de ángulos (°)</b>			
O(1)-Cu(1)-N(2)	92.64(11)	O(1)-Cu(1)-N(1)	173.70(11)
O(1)-Cu(1)-O(2)	87.76(10)	N(2)-Cu(1)-N(1)	85.28(12)
N(2)-Cu(1)-O(2)	178.96(10)	O(2)-Cu(1)-N(1)	94.42(10)

Cabe señalar que el átomo de oxígeno O(2) del ligante nitrato coordinado con el ion Cu<sup>II</sup> tiene una fuerte interacción intermolecular formando puentes de hidrógeno con el grupo amina del ligante LN1 [N(1) –H(1)···O (2) = 2.22(3) Å], de la misma manera, el átomo de oxígeno O4 establece puentes de hidrógeno con el grupo amina [N(1) –H(1)···O(4) = 2.58(3) Å]. Estas interacciones supramoleculares dan lugar a una cadena 1D a lo largo del eje b (Ver Figura 50).

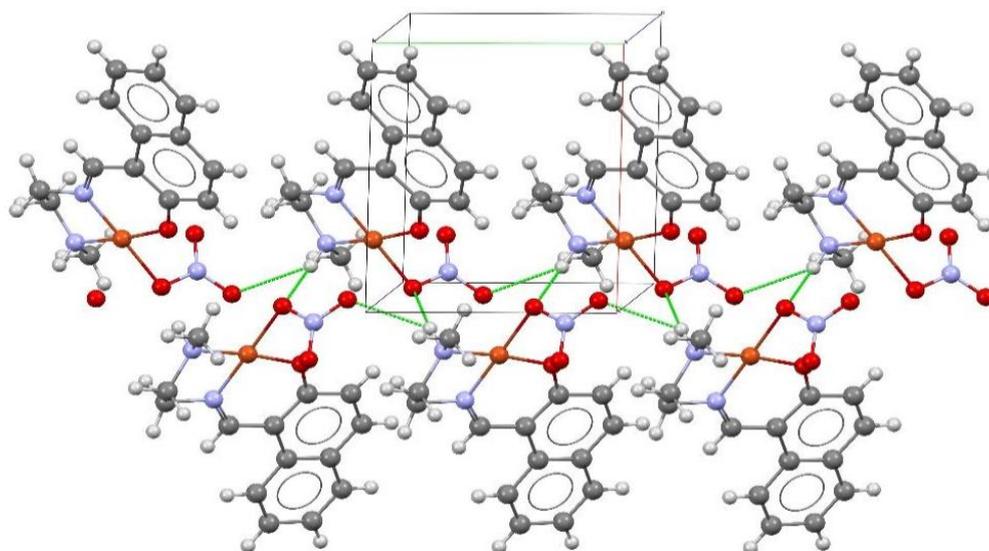


Figura 50. Red cristalina del compuesto [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)].

El compuesto [Cu(dmbpy)(LN1)]PF<sub>6</sub> cristaliza en el grupo espacial triclinico P<sub>1</sub>, con Z = 2. En la unidad asimétrica, el complejo catiónico está formado por el centro metálico de Cu<sup>II</sup>, una molécula del ligante base de Schiff desprotonado LN1 y una molécula de 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina, mientras que el anión corresponde a hexafluorofosfato PF<sub>6</sub><sup>-</sup>. Una vista en perspectiva que se muestra en la Figura 51, las distancias de enlace y los ángulos seleccionados se enumeran en la Tabla 17. El Cu<sup>II</sup> presenta una esfera de coordinación de cinco, con una geometría de

pirámide de base cuadrada distorsionada, la base de la pirámide está formada por dos átomos de nitrógeno N(1), N(2), un átomo de oxígeno O(1) del ligante tridentado base de Schiff LN1 y un átomo de nitrógeno N(4) del ligante bidentado dmbpy, mientras que en la posición apical está ocupada por un átomo de nitrógeno N(3) del dmbpy. Los ángulos O(1)–Cu(1)–N(1) = 160,16(7)° y N(2)–Cu(1)–O(2) = 173.31(7)°.

Para compuestos pentacoordinados existe el parámetro  $\tau_5$ , que se utiliza para analizar las geometrías que el centro metálico puede adoptar. El parámetro  $\tau_5$  se calcula con la siguiente ecuación<sup>136</sup>:

$$\tau_5 = \frac{\beta - \alpha}{60^\circ}$$

Los ángulos  $\alpha$  y  $\beta$ , son los ángulos más grandes en una especie pentacoordinada. Para un sistema con geometría de pirámide de base cuadrada  $\alpha = \beta = 180^\circ$ , para una geometría de bipirámide trigonal  $\alpha = 120^\circ$ . Para una geometría de pirámide de base cuadrada,  $\tau_5$  es igual a cero, mientras que se convierte en la unidad para una geometría de bipirámide trigonal. El valor de  $\tau_5$  para [Cu(dmbpy)(LN1)]PF<sub>6</sub> es de 0.2191 que corresponde a una geometría de pirámide cuadrada distorsionada<sup>136</sup>.

La coordinación del dmbpy genera una mayor distorsión en la geometría del cobre en comparación con el ligante NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en el cristal [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)], debido a que dmbpy se coordina de forma bidentada, mientras que NO<sub>3</sub><sup>-</sup> de forma monodentada. El dmbpy forma un anillo quelato de cinco miembros y los ángulos de enlace distorsionan la planaridad en la geometría de [Cu(dmbpy)(LN1)]PF<sub>6</sub>.

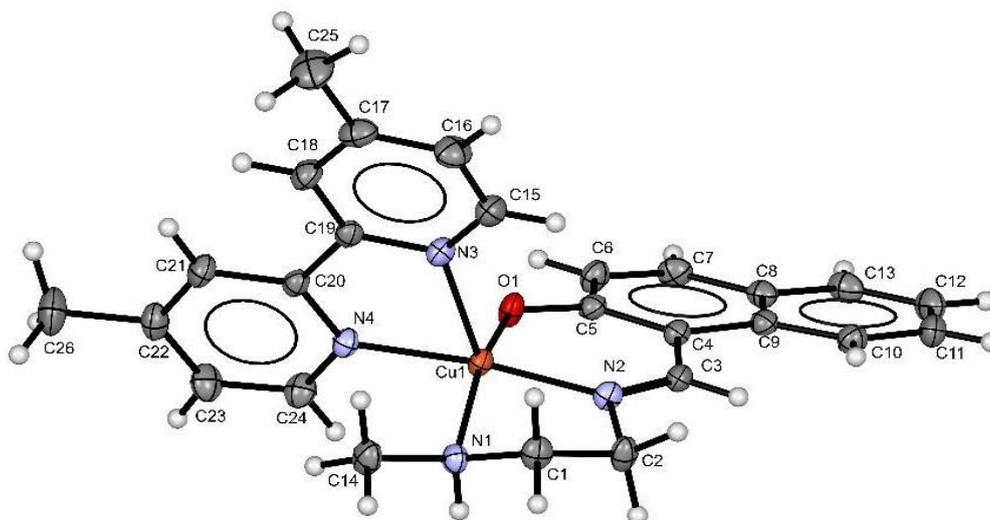


Figura 51. Representación ORTEP de la unidad asimétrica para el compuesto [Cu(dmbpy)(LN1)]PF<sub>6</sub>. El contraión hexafluorofosfato se omitió para mayor claridad.

Tabla 17. Longitudes de enlace [Å] y ángulos [°] seleccionados para [Cu(dmbpy)(LN1)]PF<sub>6</sub>.

[Cu(dmbpy)(LN1)]PF <sub>6</sub>			
Longitud de enlace (Å)			
C(1)-N(1)	1.479(3)	C(8)-C(9)	1.422(3)
C(1)-C(2)	1.515(3)	C(14)-N(1)	1.478(2)
C(2)-N(2)	1.476(2)	C(15)-N(3)	1.345(3)
C(3)-C(4)	1.432(3)	C(17)-C(25)	1.504(3)
C(4)-C(5)	1.415(3)	C(19)-C(20)	1.487(3)
C(5)-O(1)	1.304(2)		
Ángulos de enlace (°)			
N(2)-Cu(1)-O(1)	92.09(6)	N(4)-Cu(1)-N(1)	93.92(6)
N(2)-Cu(1)-N(4)	173.31(7)	N(2)-Cu(1)-N(3)	109.01(7)
O(1)-Cu(1)-N(4)	89.23(6)	O(1)-Cu(1)-N(3)	108.36(6)
N(2)-Cu(1)-N(1)	82.65(7)	N(4)-Cu(1)-N(3)	76.72(6)
O(1)-Cu(1)-N(1)	160.16(7)	N(1)-Cu(1)-N(3)	91.41(6)

En la red cristalina (Ver Figura 52), el compuesto de coordinación [Cu(dmbpy)(LN1)]PF<sub>6</sub> involucra contactos intermoleculares C-H...F y C-H...O del tipo de enlace de hidrógeno e interacciones  $\pi$ ... $\pi$  entre los anillos aromáticos del ligante LN1 y el ligante dmbpy. La interacción débil dentro de la celda unitaria C(21) -H(21)...O(1) con un ángulo de 145.68° a 2.67 Å forma el motivo R<sub>2</sub>2 (12), el C(23) -H(23)...F (3) y C(23) -H(23)...F(6) forman el motivo R<sup>1</sup>2 (4), al mismo tiempo se observa el contacto intermolecular de los centroides Cg4...Cg5 a 3.568 Å. Los centroides Cg4 formados por N(3) -C(15) -C(16) -C(17) -C(18) -C(19), y el resultado Cg5 de N(4)-C(20)-C(21)-C(22)-C(23)-C(24). Todas las interacciones intermoleculares se observan en una matriz supramolecular tridimensional.

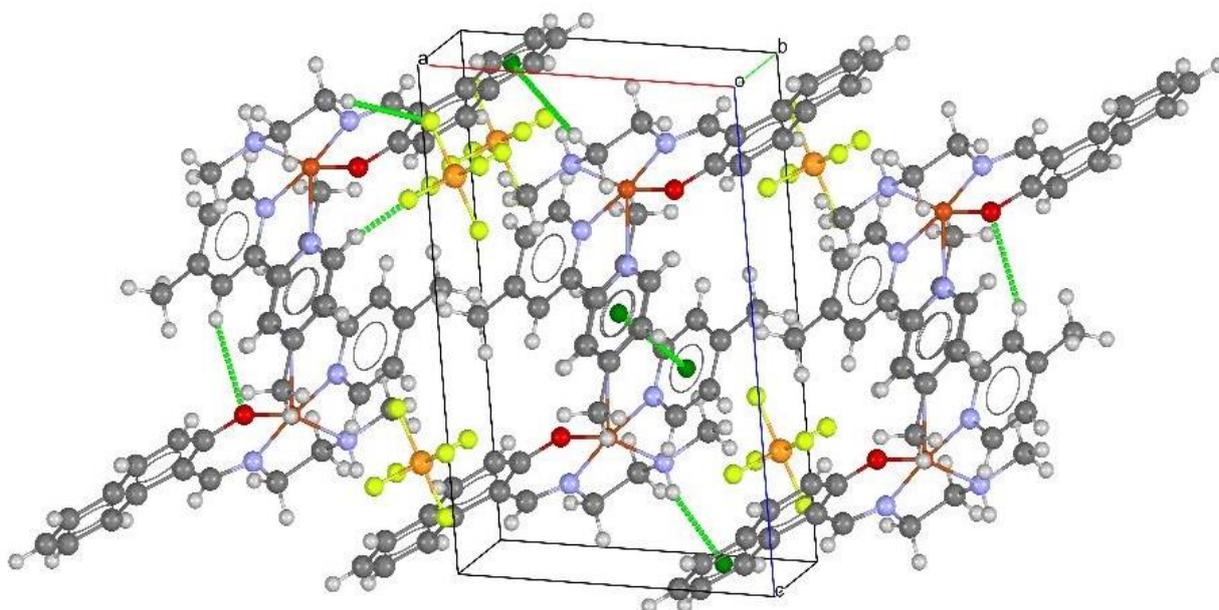
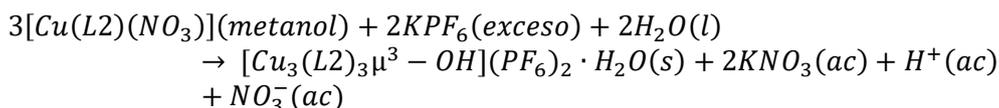


Figura 52. Red cristalina del compuesto [Cu(dmbpy)(LN1)]PF<sub>6</sub>.

Anteriormente se ha comentado la versatilidad de los ligantes tridentados hemi-salen y que dependiendo de la sal de cobre con la que se realice la síntesis se pueden estabilizar estructuras mononucleares, dinucleares o trinucleares. La síntesis del compuesto  $[Cu(L2)(NO_3)]$  ha sido confirmada mediante las técnicas de espectroscopía de infrarrojo, análisis elemental y espectrometría de masas.

El compuesto  $[Cu(L2)(NO_3)]$  se disolvió en metanol y se agregó un exceso de  $KPF_6$  para cambiar el contraión, con la finalidad de obtener cristales, como se muestra en la siguiente reacción:



Los resultados de difracción de rayos X revelaron que la estructura formada corresponde al compuesto trinuclear  $[Cu_3(L2)_3\mu^3-OH](PF_6)_2 \cdot H_2O$ , mostrada en la Figura 53. La estructura obtenida sólo se caracterizó usando esta técnica.

En los compuestos  $[Cu(Ln)(NO_3)]$  el ligante nitrato se coordina al átomo de cobre y favorece la formación de estructuras mononucleares, como la observada para  $[Cu(L1)(NO_3)]$ , donde el nitrato forma interacciones supramoleculares en uno de sus ejes. Cuando se realiza el cambio del contraión por  $PF_6^-$ , el contraión no funge como ligante, favoreciendo la formación del compuesto trinuclear, donde los tres átomos de cobre presentan un número de coordinación de cinco y las posiciones vacantes son completadas por átomos donadores de los ligantes L2 vecinos y por un  $OH^-$  que puentea a los tres centros metálicos.

La formación del ligante puente  $OH^-$  en disolución es difícil de explicar, sin embargo, se propone que éste proviene de una molécula de agua  $H_2O$  que pudo coordinarse a los centros metálicos, provocando que aumentará la acidez de los hidrógenos, perdiendo uno en disolución, que explicaría la formación del ligante  $OH^-$ . Este ligante tienen tres pares de electrones libres que pueden coordinarse y puentear a los tres centros metálicos.

El compuesto  $[Cu_3(L2)_3\mu^3-OH](PF_6)_2 \cdot H_2O$  cristaliza en el grupo espacial monoclinico  $P_{21/c}$ , con  $Z = 4$ . En la unidad asimétrica, el complejo catiónico está formado por tres centros metálicos de  $Cu^{II}$ , tres moléculas del ligante base de Schiff desprotonado L2 (E)-3-((3-metilamino)-propilimino)metilfenolato, una molécula de 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina y un grupo  $OH^-$  que puentea a los tres átomos de cobre, el anión corresponde a dos hexafluorofosfatos  $PF_6^-$ . Una vista en perspectiva que se muestra en la Figura 53, las distancias de enlace y los ángulos seleccionados se enumeran en la Tabla 18.

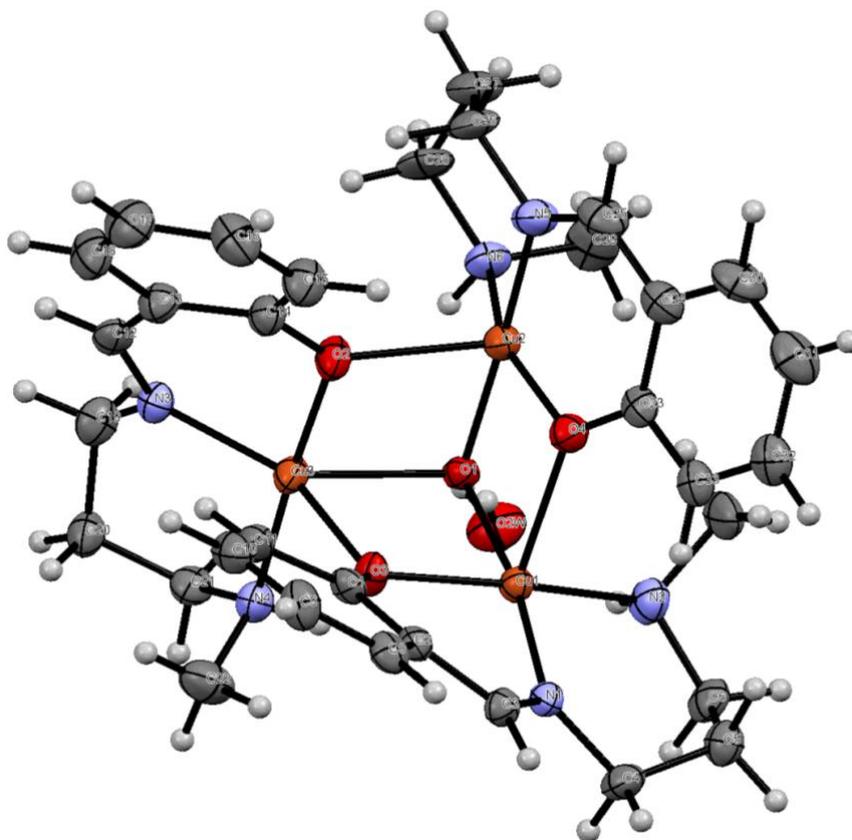


Figura 53. Representación ORTEP de la unidad asimétrica para el compuesto  $[\text{Cu}_3(\text{L}2)_3\mu^3\text{-OH}](\text{PF}_6)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . El contraión hexafluorofosfato se omitió para mayor claridad.

El Cu(1) presenta una esfera de coordinación de cinco, con una geometría de pirámide de base cuadrada distorsionada, la base de la pirámide está formada por dos átomos de nitrógeno N(1) y N(2), uno un átomo de oxígeno O(3) del ligante tridentado base de Schiff L2 y un átomo de oxígeno O(1), que pertenece al  $\text{OH}^-$ , mientras que en la posición apical está ocupada por un átomo de oxígeno O(4) de uno de los ligantes L2 vecinos. Los ángulos  $\text{O}(1)\text{-Cu}(1)\text{-N}(1) = 170.6(4)^\circ$  y  $\text{N}(2)\text{-Cu}(1)\text{-O}(3) = 166.2(7)^\circ$  y el valor de  $\tau_5$  de 0.07.

El Cu(2) presenta una esfera de coordinación de cinco, con una geometría de pirámide de base cuadrada distorsionada, la base de la pirámide está formada por dos átomos de nitrógeno N(5) y N(6), un átomo de oxígeno O(4) del ligante tridentado base de Schiff L2 y un átomo de oxígeno O(1), que pertenece al  $\text{OH}^-$ , mientras que en la posición apical está ocupada por un átomo de oxígeno O(2) de uno de los ligantes L2 vecinos. Los ángulos  $\text{O}(1)\text{-Cu}(2)\text{-N}(5) = 175.5(4)^\circ$  y  $\text{N}(6)\text{-Cu}(2)\text{-O}(4) = 156.7(4)^\circ$  y el valor del parámetro  $\tau_5$  es de 0.31.

El Cu(3) presenta una esfera de coordinación de cinco, con una geometría de bipirámide trigonal distorsionada, la base de la pirámide está formada por dos átomos de oxígeno O(3) de un ligante L2 vecino y O(1) que pertenece al  $\text{OH}^-$ ; y un átomo de nitrógeno N(3) del ligante L2, las

posiciones apicales están ocupadas por un átomo de oxígeno O(2) y un átomo de nitrógeno N(4) del ligante L2. Los ángulos O(2)–Cu(1)–N(4) = 176.4(4)° y N(3)–Cu(1)–O(3) = 145.5(7)° y el valor  $\tau_5$  es de 0.59.

Tabla 18. Longitudes de enlace [Å] y ángulos [°] seleccionados para [Cu<sub>3</sub>(L2)<sub>3</sub>μ-OH](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O.

[Cu <sub>3</sub> (L2) <sub>3</sub> μ-OH](PF <sub>6</sub> ) <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O					
Longitudes de enlace (Å)					
C(3)-N(1)	1.291(1)	C(25)-N(5)	1.287(2)	N(3)-C(12)	1.298(2)
C(3)-C(2)	1.451(2)	C(25)-C(24)	1.428(2)	C(12)-C(13)	1.437(2)
C(2)-C(1)	1.410(2)	C(24)-C(23)	1.420(2)	C(13)-C(14)	1.401(2)
C(1)-O(3)	1.432(1)	C(23)-O(4)	1.314(1)	C(14)-O(2)	1.324(1)
N(1)-C(4)	1.483(1)	N(5)-C(26)	1.464(2)	N(3)-C(19)	1.475(2)
Ángulos de enlace (°)					
N(1)-Cu(1)-O(3)	90.0(4)	O(1)-Cu(1)-N(2)			91.3(4)
N(1)-Cu(1)-O(1)	170.6(4)	N(1)-Cu(1)-O(4)			107.5(3)
O(3)-Cu(1)-O(1)	80.9(3)	O(3)-Cu(1)-O(4)			92.0(3)
N(1)-Cu(1)-N(2)	97.0(4)	O(1)-Cu(1)-O(4)			75.1(3)
O(3)-Cu(1)-N(2)	166.2(7)	N(2)-Cu(1)-O(4)			97.1(4)
O(4)-Cu(2)-N(5)	93.1(4)	O(1)-Cu(2)-N(6)			91.0(4)
O(4)-Cu(2)-O(1)	84.8(3)	O(4)-Cu(2)-O(2)			100.2(4)
N(5)-Cu(2)-O(1)	175.5(4)	N(5)-Cu(2)-O(2)			97.8(4)
O(4)-Cu(2)-N(6)	156.7(4)	O(1)-Cu(2)-O(2)			78.7(3)
N(5)-Cu(2)-N(6)	92.5(5)	N(6)-Cu(2)-O(2)			101.4(4)
O(2)-Cu(3)-N(3)	89.1(4)	N(4)-Cu(3)-O(3)			87.6(4)
O(2)-Cu(3)-N(4)	176.4(4)	O(2)-Cu(3)-O(1)			81.3(3)
N(3)-Cu(3)-N(4)	94.4(4)	N(3)-Cu(3)-O(1)			141.1(3)
O(2)-Cu(3)-O(3)	89.2(4)	N(4)-Cu(3)-O(1)			96.3(4)
N(3)-Cu(3)-O(3)	145.5(3)	O(3)-Cu(3)-O(1)			72.4(3)

En la red cristalina (Ver Figura 54), el compuesto de coordinación [Cu<sub>3</sub>(L2)<sub>3</sub>μ-OH](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub> involucra contactos intermoleculares C–H...F y C–H...O del tipo de enlace de hidrógeno e interacciones π...π entre los anillos aromáticos del ligante L2 y el ligante vecino L2. El oxígeno O(1) forma puentes de hidrógeno O...H-O-H con una molécula de agua con una distancia de 1.936 Å.

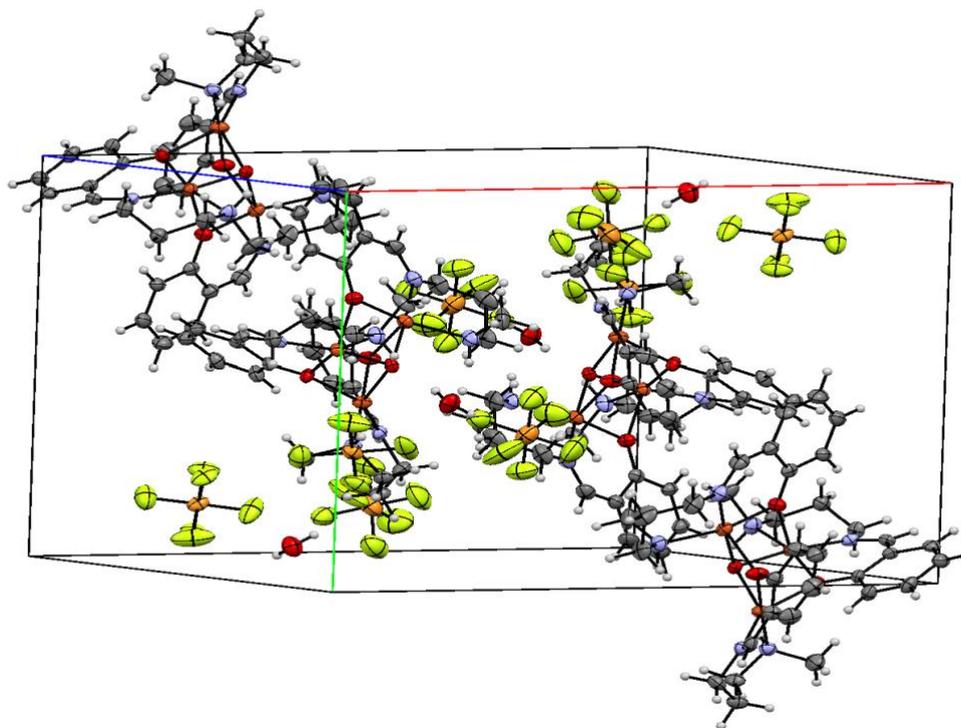


Figura 54. Red cristalina del compuesto  $[\text{Cu}_3(\text{L}2)_3\mu^3\text{-OH}](\text{PF}_6)_2$ .

Por último, se obtuvo un cristal del compuesto  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L}1)]\text{PF}_6$  mostrado en la Figura 55, sin embargo, éste no tuvo la calidad requerida para obtener su resolución completa. A pesar de eso, nos ayudó como caracterización y para comprobar la obtención del compuesto. El átomo de cobre presenta un número de coordinación de cinco, con una geometría de pirámide de base cuadrada distorsionada, la base de la pirámide está formada por dos átomos de nitrógeno y uno de oxígeno del ligante (E)-3-((2-(metilamino)etilimino)metil)fenolato (L1) y un átomo de nitrógeno del ligante dmbpy, en la posición apical se coordina un segundo átomo de nitrógeno del ligante dmbpy. El compuesto catiónico tiene como contraión al anión  $\text{PF}_6^-$  y una molécula de agua de hidratación.

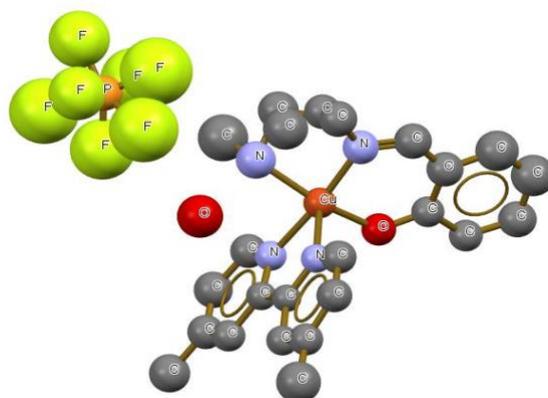


Figura 55. Estructura cristalina de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L}1)]\text{PF}_6$ .

#### 4.2.10 Voltamperometría Cíclica

La voltamperometría cíclica es una técnica electroquímica en donde a un electrodo de trabajo se le impone un potencial cíclico generando un cambio en la corriente, obteniendo una gráfica de la corriente leída a cierto potencial asociado. Esta técnica permite electrolizar una especie e invertir el potencial para comprobar la formación de su par redox. Al variar la velocidad de barrido se puede estudiar la cinética de las reacciones o detectar la aparición de especies intermedias en procesos redox. Es una de las técnicas más empleadas para estudiar mecanismos de reacción, puesto que brindan información acerca del comportamiento redox de la especie<sup>137</sup>.

La ecuación de Randler-Sevcik establece una proporcionalidad entre el perfil de la corriente obtenida en el barrido del primer ciclo y la intensidad de corriente, concentración y velocidad de barrido.

$$i_p = (2.69 \times 10^5) n^{\frac{3}{2}} A D^{\frac{1}{2}} V^{\frac{1}{2}} C$$

Donde

$i_p$  = intensidad de corriente de pico [A]

$n$  = número de electrones que participan en la reacción

$A$  = área de la superficie del electrodo [cm<sup>2</sup>]

$D$  = coeficiente de difusión de la especie electroactiva [cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>]

$C$  = concentración de la especie electroactiva [mol cm<sup>-3</sup>]

$V$  = velocidad de barrido [V s<sup>-1</sup>]

Para un sistema cuyo comportamiento es reversible, si se grafica la intensidad de corriente ( $i_p$ ) en función de la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $V^{1/2}$ ) presenta un comportamiento lineal, cuya pendiente permite extraer información, como el número de electrones intercambiados o el valor del coeficiente de difusión de la especie electroactiva.

Un criterio que se usa para conocer la reversibilidad de los sistemas es el cociente de las señales de corriente anódica y catódica a diversas concentraciones o velocidades de barrido. Se debe cumplir que  $\frac{i_{pa}}{i_{pc}} = 1$ , en el caso de una electrorreducción, y  $\frac{i_{pc}}{i_{pa}} = 1$  para una electrooxidación.

El potencial de media onda ( $E_{1/2}$ ) se aproxima al valor del potencial normal condicional ( $E^{0'}$ ) para un sistema reversible, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$E^{0'} \cong E_{\frac{1}{2}} = \frac{E_{pc} + E_{pa}}{2}$$

Los sistemas reversibles deben ser lo suficientemente rápidos para mantener las concentraciones de reactivos y productos en la superficie del electrodo, éstas muestran un comportamiento típico pues el potencial donde se manifiestan los picos anódicos y catódicos presentan una diferencia constante:

$$\Delta E = E_{pc} - E_{pa} = \frac{59.0 \text{ mV}}{n}$$

Se realizaron estudios de inversión de potencial, que consiste en estudiar los procesos electroquímicos del compuestos en diferentes intervalos de potencial, comenzando en un intervalo de -2.5 a 1.5 V vs. Fc<sup>+</sup>-Fc y sucesivamente se realizaron los voltamperogramas en un menor intervalo de potencial (-2.3 V a 1.5 V; -2.0 V a 1.5 V, -1.8 V a 1.5 V, etc) , con la finalidad de conocer los diferentes procesos redox y para asignar la dependencia de cada señal.

En la Figura 56 se muestra el estudio de inversión del compuestos [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)] en DMSO. Se observan dos señales de reducción (I<sub>b</sub> y II<sub>a</sub>) y cuatro señales de oxidación (I<sub>a</sub>, II<sub>b</sub>, II<sub>c</sub>, y II<sub>d</sub>).

El proceso de oxidación I<sub>a</sub> y de reducción I<sub>b</sub> son atribuidos al par redox Cu<sup>II</sup>L/Cu<sup>I</sup>L,<sup>94</sup> mientras que las señales restantes son adsorciones al electrodo, que son eliminadas al trabajar en una ventana de potenciales mayores, para el estudio electroquímico de estos compuestos sólo se estudiaron las señales del par redox Cu<sup>II</sup>L/Cu<sup>I</sup>L.

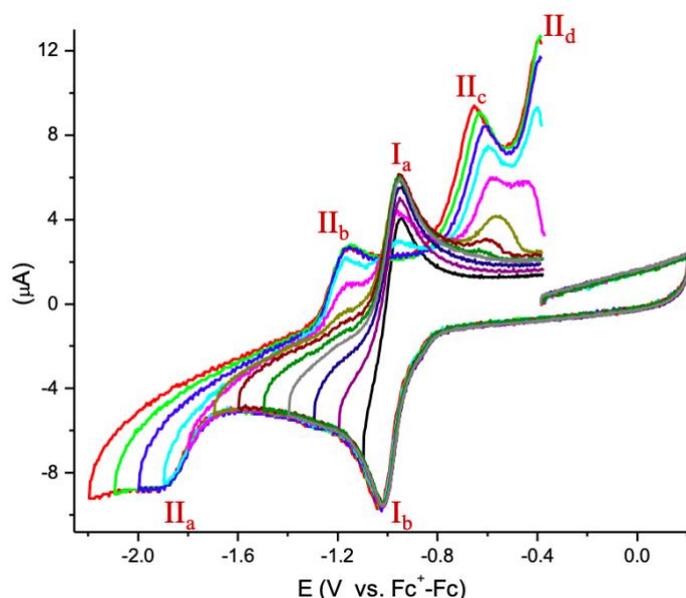


Figura 56. Estudio de inversión de potencial de [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)] a 100 mVs<sup>-1</sup> en DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 mmol L<sup>-1</sup> en dirección catódica. Electrodo de trabajo: Carbono vitreo. Velocidad de barrido: 100 mVs<sup>-1</sup>.

En la Figura 57 se muestra el voltamperograma de [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)], este proceso redox Cu<sup>II</sup>L/Cu<sup>I</sup>L. [74] Presenta un potencial de media onda de -0.98 V vs. Fc<sup>+</sup>-Fc y un valor ΔE<sub>p</sub> = 0.077 V, lo que nos permite identificar la transferencia reversible de un electrón. El mismo comportamiento

reversible se observó para  $[\text{Cu}(\text{L}2)(\text{NO}_3)]$  con un potencial de media onda de  $-0.96 \text{ V}$  vs.  $\text{Fc}^+/\text{Fc}$  y un valor  $\Delta E_p = 0.075 \text{ V}$ .

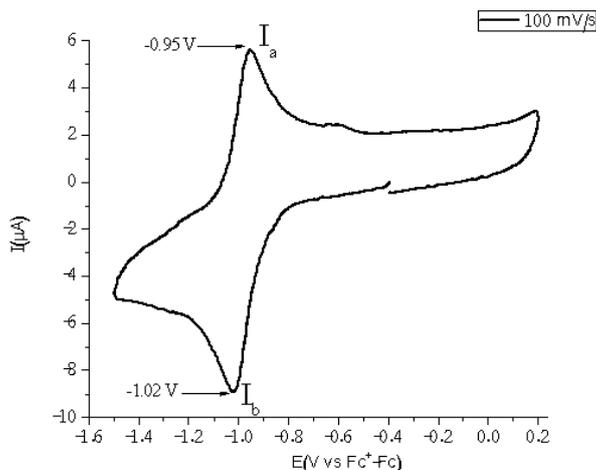


Figura 57. Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{L}1)(\text{NO}_3)]$  DMSO + TBAPF<sub>6</sub>  $0.1 \text{ mmol L}^{-1}$  en dirección catódica. Electrodo de trabajo: Carbono vitreo. Velocidad de barrido:  $100 \text{ mVs}^{-1}$ .

Para  $[\text{Cu}(\text{LN}1)(\text{NO}_3)]$  se observó la señal del proceso  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{L} + e^- \rightarrow \text{Cu}^{\text{I}}\text{L}$  más dos señales adicionales,  $I_b^*$  y  $I_a^*$ , mostradas en la Figura 58. De acuerdo a la literatura y considerando que para  $[\text{Cu}(\text{LN}1)(\text{NO}_3)]$  presenta mayor aromaticidad en comparación con  $[\text{Cu}(\text{L}1)(\text{NO}_3)]$ , los procesos  $I_b^*$  y  $I_a^*$  pueden atribuirse a procesos de adsorción al electrodo por interacciones  $\pi \dots \pi$  entre los anillos aromáticos del ligante con el grupo naftil y el electrodo de carbono vitreo.<sup>138</sup> Un comportamiento similar fue observado para los compuestos  $[\text{Cu}(\text{LN}2)(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{LH}1)(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{LH}2)(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{LNH}1)(\text{NO}_3)]$  y  $[\text{Cu}(\text{LNH}2)(\text{NO}_3)]$  (Anexo IX). El resumen de los resultados obtenidos se encuentra en la Tabla 19.

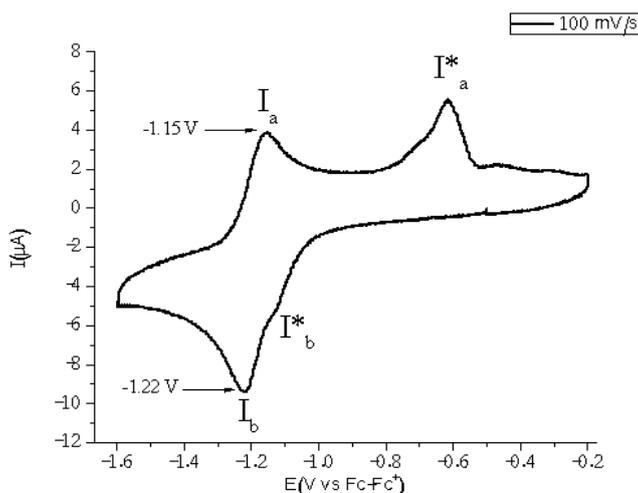


Figura 58. Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{LN}1)(\text{NO}_3)]$  en DMSO + TBAPF<sub>6</sub>  $0.1 \text{ mmol L}^{-1}$  en dirección catódica. Electrodo de trabajo: Carbono vitreo. Velocidad de barrido:  $100 \text{ mVs}^{-1}$ .

Para  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]^+$  se observó la señal del proceso  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{L} + e^- \rightarrow \text{Cu}^{\text{I}}\text{L}$ , ilustrada en la Figura 59. Presenta un potencial de media onda de  $-1.20 \text{ V}$  vs.  $\text{Fc}^+/\text{Fc}$  y un valor  $\Delta E_p = 0.080 \text{ V}$ , lo que nos permite identificar la transferencia reversible de un electrón. En un potencial aproximado de  $-0.6 \text{ V}$  vs.  $\text{Fc}^+/\text{Fc}$  se observó una señal de menor intensidad debida a absorciones al electrodo. El mismo comportamiento se observó para los compuestos  $[\text{Cu}(\text{L2})(\text{dmbpy})]^+$ ,  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{dmbpy})]^+$  y  $[\text{Cu}(\text{LN2})(\text{dmbpy})]^+$ , mostrados en el Anexo IX.

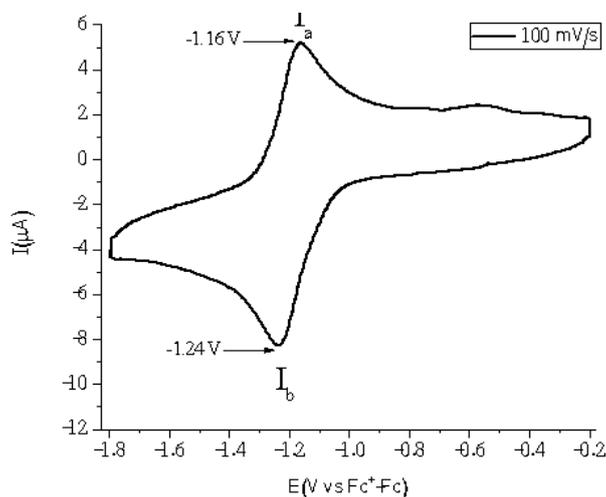


Figura 59. Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]^+$  DMSO +  $\text{TBAPF}_6$   $0.1 \text{ mmol L}^{-1}$  en dirección catódica. Electrodo de trabajo: Carbono vitreo. Velocidad de barrido:  $100 \text{ mV s}^{-1}$ .

Tabla 19. Datos del estudio electroquímico de los complejos de cobre(II) ( $0.1 \text{ mmol L}^{-1}$ ) en DMSO. Los experimentos fueron referenciados contra el par  $\text{Fc}^+/\text{Fc}$ .

Proceso	$\text{Cu}^{\text{II}}\text{L} + e^- \rightarrow \text{Cu}^{\text{I}}\text{L}$		
Clave	$E_{pc}(V)$	$\Delta E_p(mV)$	$E_{1/2}(V)$
$[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$	-1.02	77	-0.98
$[\text{Cu}(\text{L2})(\text{NO}_3)]$	-0.99	75	-0.96
$[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$	-1.22	79	-1.19
$[\text{Cu}(\text{LN2})(\text{NO}_3)]$	-1.03	68	-1.00
$[\text{Cu}(\text{LH1})(\text{NO}_3)]$	-1.12	116	-1.06
$[\text{Cu}(\text{LH2})(\text{NO}_3)]$	-1.03	102	-0.98
$[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$	-1.22	147	-1.15
$[\text{Cu}(\text{LNH2})(\text{NO}_3)]$	-1.15	90	-1.11
Compuestos mixtos			
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]\text{PF}_6$	-1.23	80	-1.20
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L2})]\text{PF}_6$	-1.14	76	-1.10
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L3})]\text{PF}_6$	-1.54	96	-1.50
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN1})]\text{PF}_6$	-1.24	85	-1.20
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN2})]\text{PF}_6$	-1.11	79	-1.01
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN3})]\text{PF}_6$	-1.57	139	-1.50
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH1})]\text{PF}_6$	-1.37	---	---
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH2})]\text{PF}_6$	---	---	---
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH1})]\text{PF}_6$	-1.37	125	-1.30
$[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH2})]\text{PF}_6$	---	---	---
$[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L1})]\text{PF}_6$	-1.30	59	-1.27
$[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L2})]\text{PF}_6$	-1.02	87	-0.97

En el caso de los compuestos  $[\text{Cu}(\text{LH1})(\text{dmbpy})]^+$ ,  $[\text{Cu}(\text{LH2})(\text{dmbpy})]^+$ ,  $[\text{Cu}(\text{LNH2})(\text{dmbpy})]^+$ ,  $[\text{Cu}(\text{L3})(\text{dmbpy})]^+$  y  $[\text{Cu}(\text{LN3})(\text{dmbpy})]^+$ , a valor de potencial de circuito abierto los compuestos presentaron un fuerte proceso de adsorción al electrodo acompañado de un proceso redox  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}_{(\text{elec})} + e^- \rightarrow \text{Cu}^{\text{I}}\text{L}_{(\text{elec})}$ , que bloquean la superficie del electrodo y disminuyen la cantidad del complejo soluble en disolución. Como consecuencia, para  $[\text{Cu}(\text{LH1})(\text{dmbpy})]^+$ ,  $[\text{Cu}(\text{LH2})(\text{dmbpy})]^+$  y  $[\text{Cu}(\text{LNH2})(\text{dmbpy})]^+$ , sólo el proceso de reducción  $I_b$  de  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}$  a  $\text{Cu}^{\text{I}}\text{L}$  fue observado.

Los compuestos con fenantrolina  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{phen})]^+$  y  $[\text{Cu}(\text{L2})(\text{phen})]^+$  sintetizados por Areli Silva en su tesis de maestría,<sup>95</sup> también fueron analizados por la técnica de voltamperometría cíclica, con la finalidad de comparar su comportamiento con los compuestos con dmbpy. El  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{phen})]^+$  presentó una transferencia de electrones cuasi-reversible  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{L} + e^- \rightarrow \text{Cu}^{\text{I}}\text{L}$  en combinación con procesos de adsorción a potencial de circuito abierto y un proceso controlado por difusión. Se observó el mismo comportamiento para el compuesto  $[\text{Cu}(\text{L2})(\text{phen})]^+$ . los resultados para los compuestos mixtos de cobre se encuentran resumidos en la Tabla 19.

Para asignar los procesos como controlados por difusión, se trazó la corriente normalizada entre la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial ( $E(\text{V})$ ). Cuando los gráficos se superponen a diferentes velocidades el proceso puede atribuirse como controlado por difusión, como se muestra en la Figura 60 para los compuestos  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$  y  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$ , y en las figuras del Anexo IX para todos los complejos. La ventaja de usar la representación de corriente normalizada en lugar de las corrientes  $i_{pc}$  e  $i_{pa}$  típicas frente a  $V^{1/2}$  es que se requiere una línea base, que muchas veces por una estimación inadecuada da una desviación de la ecuación de Randles-Sevcik.

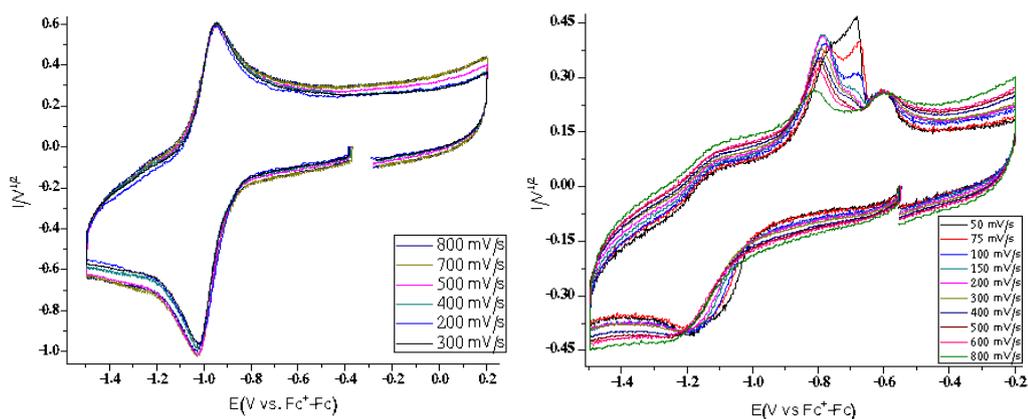


Figura 60. Gráfico de corriente dividida por la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial ( $E(\text{V})$ ) para  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$  (izquierda) y  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$  (derecha).

Además, se observan señales electroquímicas con diferente comportamiento a un proceso rápido de transferencia de electrones controlados por difusión. En la Figura 60 para  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$ ,

la forma y los potenciales máximos cambian con  $V^{1/2}$  que se pueden atribuir a la adsorción de especies químicas.

Para corroborar esta premisa, se cambió el electrodo de trabajo de carbón vítreo por uno de platino, las imágenes se muestran en la Figura 61 para  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$ , se corrieron los voltamogramas a diferentes velocidades y en diferentes ventanas de potencial, observando la señal cada vez más intensa.

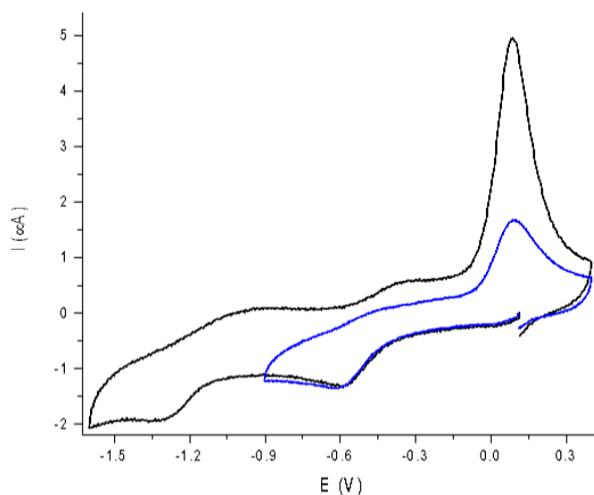


Figura 61. Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$ , 1 mM en DMSO +  $\text{TBAPF}_6$  0.1 mmol  $\text{L}^{-1}$ , dirección catódica. Electrodo de trabajo: platino. Velocidad de barrido =  $100 \text{ mVs}^{-1}$ .

Se compararon los voltamperogramas a  $100 \text{ mVs}^{-1}$  y se observó que las señales atribuidas a las absorciones se modificaban con el electrodo de platino, en algunas ocasiones éstas desaparecían, probablemente esto está relacionado con las interacciones  $\pi \dots \pi$  entre los compuestos de coordinación y la superficie del electrodo. De esta forma, estas señales fueron atribuidas a absorciones al electrodo como se muestra en la Figura 62. Las señales controladas por difusión y que no cambiaron de forma cuando se cambió el electrodo, fueron las señales atribuidas al proceso  $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}$ .

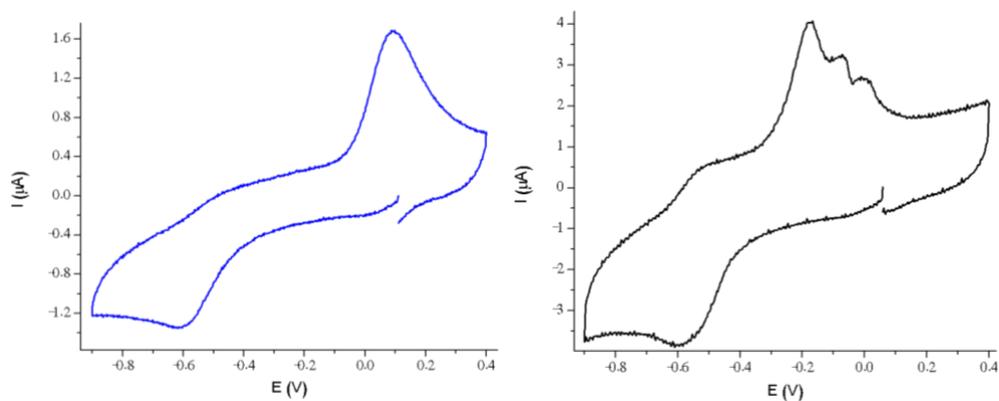


Figura 62. Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$ , 1 mM en DMSO +  $\text{TBAPF}_6$  0.1 mmol  $\text{L}^{-1}$ , dirección catódica. Electrodo de trabajo: platino (izquierda) y carbono vítreo (derecha). Velocidad de barrido =  $100 \text{ mVs}^{-1}$ .

Una descripción detallada de los procesos de adsorción está más allá del alcance de este trabajo. En un trabajo futuro se realizará un estudio para comprender la naturaleza de estos procesos utilizando espectroscopía de impedancia electroquímica.

En los resultados obtenidos se observaron tendencias relacionadas con la estructura de los compuestos. Los valores de  $\Delta E_p$  para los compuestos con ligantes bases de Schiff, varían entre 59 y 85 mV; para compuestos con ligantes hidrogenados, entre 116 y 147 lo que indica que la transferencia de electrones en el proceso de reducción fue más lenta en los compuestos con ligantes hidrogenados. En todos los complejos,  $\Delta E_p$  supera el requisito nerstiano de 59 mV para un electrón, lo que sugiere sistemas cuasi-reversibles.

Como podemos ver en los estudios RPE, los ligantes hidrogenados son más flexibles que las bases de Schiff y generan una mayor distorsión en la geometría del centro metálico. La flexibilidad de los ligantes hidrogenados favorece un reordenamiento en la esfera de coordinación y estabiliza las especies de  $Cu^I$ , ya que pueden adoptar una geometría tetraédrica distorsionada, haciéndolos sistemas menos reversibles o irreversibles como  $[Cu(dmbpy)(LH1)]^+$ .<sup>133,139</sup>

Una tendencia observada para el  $E_{1/2}$  calculado es que los compuestos con ligantes hidrogenados presentan un potencial de reducción menor, esto se atribuye a que los átomos de nitrógeno de una amina tienen mayor carácter *p*, es decir, son más básicos que un nitrógeno de una base de Schiff,<sup>140</sup> por lo que son mejores electrodonadores, generando que el cobre(II) tenga una mayor densidad electrónica y sea una especie menos oxidante. De igual forma se observó que los compuestos con estos ligantes son sistemas menos reversibles, incluso algunos son irreversibles, lo que se ha atribuido a la capacidad del ligante, que es más flexible y es capaz de estabilizar una geometría cuadrada plana para los compuestos de  $Cu^I$ .<sup>133,139</sup>

Los compuestos mixtos presentaron valores menores de  $E_{1/2}$  que los complejos no mixtos, estos fueron mejores agentes reductores debido al ligante dmbpy que tiene dos sustituyentes de metileno en posiciones 4,4', que actúan como electrodonadores por efecto inductivo, aumentando la densidad electrónica en el átomo de cobre (II).

El potencial de media onda se ve influenciado principalmente por la longitud de la cadena de metilenos en el ligante tridentado, siguiendo la siguiente tendencia:  $[Cu(dmbpy)(L3)]^+ < [Cu(dmbpy)(L1)]^+ < [Cu(dmbpy)(L2)]^+$  y  $[Cu(dmbpy)(LN3)]^+ < [Cu(dmbpy)(LN1)]^+ < [Cu(dmbpy)(LN2)]^+$ . Esta tendencia se ha atribuido a la distorsión en la geometría de los compuestos, ya que el traslape de los orbitales en el enlace coordinado disminuye al incrementar la distorsión, que desfavorece la retrodonación de la densidad electrónica del cobre al ligante, desplazando los potenciales a valores mayores. Como se observó en RPE en disolución en DMSO, los compuestos con los ligantes L2 y LN2 presentan una mayor distorsión en la geometría del centro metálico.

### 4.3 Determinación de la Toxicidad del Anión Hexafluorofosfato ( $KPF_6$ )

Durante la síntesis de los compuestos de coordinación se utilizó como sal  $Cu(NO_3)_2$ , el ion nitrato funge como contraión en las disoluciones de los complejos tipo  $[Cu(NNO)(NO_3)]$ . En los compuestos mixtos se cambió el contraión por hexafluorofosfato ( $PF_6^-$ ) para favorecer la precipitación de los complejos en las síntesis y la formación de cristales para su futura caracterización. Estudios han mostrado que la sal de nitrato de cobre(II) no presenta actividad biológica frente a células tumorales<sup>20</sup> y una pregunta que surgió fue conocer si el hexafluorofosfato podría presentar alguna actividad biológica frente a las células tumorales e influenciar a la toxicidad de los complejos, por lo que se decidió estudiar al contraión  $PF_6^-$ .

La concentración inhibitoria media de la sal hexafluorofosfato de potasio usando el ensayo de MTT en células HeLa fue mayor a  $1000 \mu M$ . Se preparó una disolución *stock* de  $10000 \mu M$  de  $KPF_6$  en una mezcla  $H_2O:DMSO$  9:1. Se realizaron cuatro diluciones más con la finalidad de probar cinco concentraciones diferentes, las cuales fueron:  $1000 \mu M$ ,  $100 \mu M$ ,  $10 \mu M$ ,  $1 \mu M$  y  $0.1 \mu M$ . Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 63.

En las concentraciones probadas no se logró obtener la  $CI_{50}$ , y la viabilidad celular no se encuentra afectada en comparación con los controles, donde sólo se probó el medio de cultivo y la mezcla de disolventes usada para preparar las disoluciones. Los resultados indican que el ion  $PF_6^-$  no presenta actividad biológica en las células tumorales HeLa.

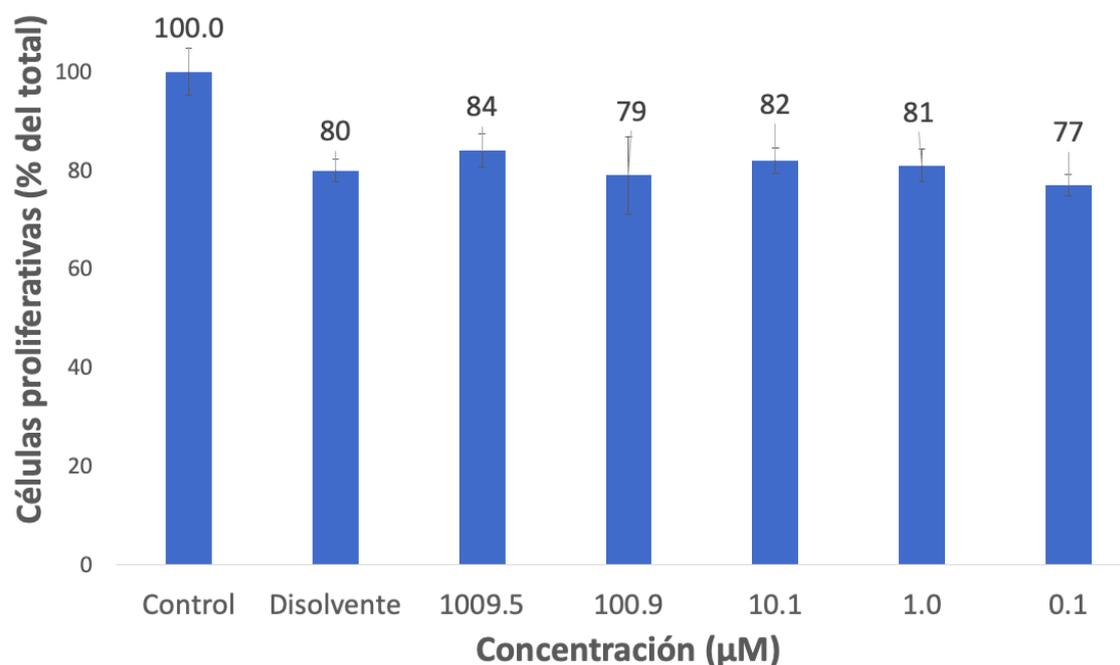


Figura 63. Evaluación de la proliferación celular por el ensayo del MTT de la sal  $KPF_6$  en células HeLa a 24 h de incubación a  $37^\circ C$  y 5% de  $CO_2$ .

#### 4.4 Concentraciones Inhibitorias Medias de los Compuestos de Coordinación.

Se evaluó la citotoxicidad de los compuestos de coordinación sintetizados mediante el ensayo de MTT utilizando como disolvente una mezcla de H<sub>2</sub>O:DMSO (9:1) frente a las líneas tumorales HeLa (cáncer cervicouterino) y MDA-MB-231 (cáncer de mama). Se determinó la concentración inhibitoria media (CI<sub>50</sub>) a partir de las curvas de concentración respuesta, los valores obtenidos se muestran en la Tabla 20 en concentraciones de μM, sin embargo, los resultados reportados en MDA-MB-231 aún son preliminares, puesto que sólo se ha realizado una de las tres réplicas necesarias para obtener resultados más precisos. Se evaluaron los compuestos [Cu(phen)(L1)]PF<sub>6</sub> y [Cu(phen)(L2)]PF<sub>6</sub>, sintetizados y caracterizados previamente por la M. en C. Areli Silva Becerril<sup>95</sup>. Las CI<sub>50</sub> del cisplatino y la Casiopeína III-ia fueron determinadas por el M. en C. Mauricio Misael González Ballesteros.

Tabla 20. Concentración inhibitoria media (CI<sub>50</sub>) de los compuestos de coordinación de cobre(II) evaluados a 24 h en células HeLa y MDA-MB-231 por el ensayo de MTT.

Línea tumoral	HeLa	MDA-MB-231
Clave	CI <sub>50</sub> (μM)	CI <sub>50</sub> (μM)
[Cu(L1)(NO <sub>3</sub> )]	82.7 ± 5.4	77.9
[Cu(L2)(NO <sub>3</sub> )]	93.8 ± 1.7	87.4
[Cu(LN1)(NO <sub>3</sub> )]	59.6 ± 4.0	49.8
[Cu(LN2)(NO <sub>3</sub> )]	77.2 ± 5.5	58.6
[Cu(LH1)(NO <sub>3</sub> )]	70.5 ± 4.1	136.0
[Cu(LH2)(NO <sub>3</sub> )]	138.2 ± 12.1	125.4
[Cu(LNH1)(NO <sub>3</sub> )]	33.2 ± 1.6	22.5
[Cu(LNH2)(NO <sub>3</sub> )]	47.2 ± 2.5	40.8
<b>Compuestos mixtos</b>		
[Cu(dmbpy)(L1)]PF <sub>6</sub>	23.9 ± 1.1	35.5
[Cu(dmbpy)(L2)]PF <sub>6</sub>	24.2 ± 2.4	28.5
[Cu(dmbpy)(L3)]PF <sub>6</sub>	11.2 ± 0.3	11.0
[Cu(dmbpy)(LN1)]PF <sub>6</sub>	13.0 ± 0.1	28.1
[Cu(dmbpy)(LN2)]PF <sub>6</sub>	51.7 ± 2.3	40.9
[Cu(dmbpy)(LN3)]PF <sub>6</sub>	8.0 ± 2.0	11.1
[Cu(dmbpy)(LH1)]PF <sub>6</sub>	15.2 ± 1.3	24.6
[Cu(dmbpy)(LH2)]PF <sub>6</sub>	30.6 ± 1.9	34.1
[Cu(dmbpy)(LNH1)]PF <sub>6</sub>	7.9 ± 0.4	8.7
[Cu(dmbpy)(LNH2)]PF <sub>6</sub>	14.3 ± 2.0	22.8
[Cu(phen)(L1)]PF <sub>6</sub>	6.1 ± 1.3	6.1
[Cu(phen)(L2)]PF <sub>6</sub>	21.5 ± 1.3	38.6
Casiopeína III-ia*	17.2 ± 0.8	61.5
Cisplatino*	20.0 ± 2.1	21.7

Los resultados obtenidos muestran que los compuestos sintetizados presentar una buena actividad citotóxica como cisplatino o la Casiopeína III-ia y dependiendo de los ligantes usados, esta actividad puede ser mejor que la de los compuestos de referencia.

Con los resultados preliminares obtenidos en ambas líneas tumorales se pueden comparar los valores de CI<sub>50</sub>, de manera general los valores son similares y siguen las mismas tendencias, sin

embargo, se observa que los compuestos mixtos son más activos en HeLa puesto que las  $CI_{50}$  son menores.

En función del ligante primario (N-N) y del ligante secundario (NNO) se encontraron tendencias que presentan los compuestos de coordinación, estas tendencias son muy similares en la línea tumoral HeLa y MDA-MB-231. Se observó que con el sustituyente naftil, la actividad biológica aproximadamente se duplicó. Cuando se coordinó la 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina, la actividad mejoró aproximadamente cuatro veces y para los compuestos con ligantes hidrogenados, la  $CI_{50}$  disminuyó casi dos veces.

#### 4.4.1 Influencia del Ligante N-N (4,4'-dimetil-2,2'-bipiridiana y 1,10-fenantrolina)

La coordinación de los ligantes phen y dmbpy aumenta la actividad biológica de los compuestos mixtos. En las Casiopeínas de primera generación, se ha atribuido un efecto farmacóforo a los complejos  $[Cu(bpy)(L)]^{2+}$  y  $[Cu(phen)(L)]^{2+}$ <sup>20,141</sup>, debido a la capacidad del ligante para interactuar con blancos moleculares como el ADN de forma no covalente, las diiminas aromáticas son capaces de intercalarse y estabilizar interacciones de apilamiento  $\pi \dots \pi$  con el ADN<sup>142</sup>.

Jaividhya *et al.*, sintetizaron complejos de cobre(II) con ligantes base de Schiff tridentados NNO  $[Cu(NNO)(H_2O)_2]^+$  y sus derivados mixtos  $[Cu(NNO)(N-N)]^+$  donde N-N = bpy, phen, dpq, dppz y dmdppz (Figura 64). Reportaron la interacción con el ADN mediante la técnica de uv-vis, la adición de la diimina aromática permite la intercalación parcial del ligante a través de interacciones de apilamiento  $\pi \dots \pi$ , la constante de unión  $K_b$  (que indica la fuerza de unión del complejo con el ADN) aumentó cuando los ligante diimina eran más planos, incrementándose en la siguiente forma  $bpy < phen < dpq < dmdppz < dppz$ <sup>143,144</sup>. El cambio del ligante bpy por phen mejora la actividad de los complejos, el ligante phen se intercala con el ADN debido a que presenta un tercer anillo aromático en su estructura, las constantes de unión  $K_b$  son más altas en comparación con los complejos con bpy<sup>145</sup>. Además, se ha atribuido una actividad nucleasa al complejo  $[Cu(phen)(L)]^{(n+)}$  mediante estudios de electroforesis en gel, en presencia de una especie reductora el complejo es capaz de escindir el ADN a través de daño oxidativo causado por la generación de especies reactivas de oxígeno en una reacción tipo Fenton<sup>143,146</sup>.

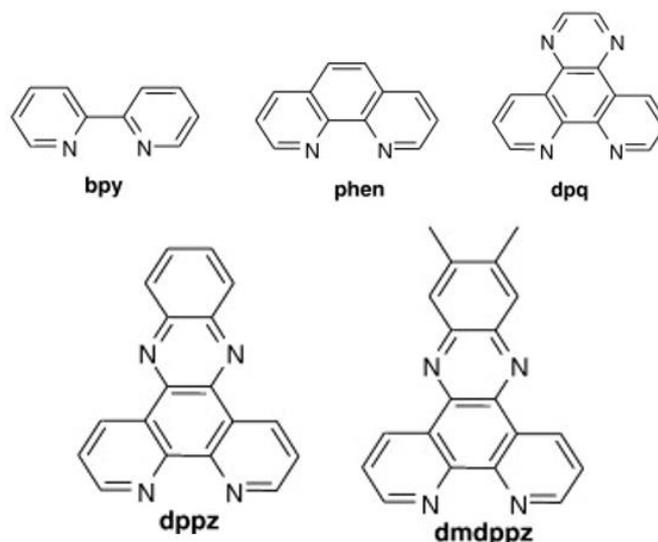


Figura 64. Estructura de diferentes diiminas aromáticas.

En la Tabla 20 se observa que los compuestos mixtos presentan una mayor actividad que los que sólo se encuentran coordinando al ligante tridentado NNO. Los valores de la  $CI_{50}$  de los compuestos mixtos con 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina son aproximadamente cuatro veces menores. Los compuestos con 1,10-fenantrolina presentan mayor actividad y menores valores de  $CI_{50}$ , siendo dieciséis y diez veces menores que los no mixtos, y aproximadamente cuatro y dos veces más activos que con la bipiridina dimetilada, lo que se atribuye a la presencia del tercer anillo aromático.

La fenantrolina provoca una mayor toxicidad del compuesto  $[Cu(phen)(L1)]^+$ , en comparación con el sustituyente naftil en el ligante tridentado de  $[Cu(LN1)(dmbpy)]^+$ , debido a la actividad nucleasa del complejo Cu-phen y la mayor aromaticidad en el ligante con los tres anillos aromáticos conjugados en lugar de dos anillos.

#### 4.4.2 Influencia del grupo Naftil en los Ligantes Tridentados NNO.

El ADN es uno de los objetivos moleculares más estudiados en el diseño de fármacos antitumorales, las moléculas pueden presentar interacciones electrostáticas, unión por surco y unión intercalante con ADN, que son interacciones no covalentes. La intercalación ocurre cuando un anillo aromático plano se intercala dentro de los pares de bases de la doble hélice del ADN. Este tipo de interacción puede inhibir o retardar los procesos de replicación, transcripción y reparación del ADN, lo que convierte a los intercaladores en potentes mutágenos<sup>147</sup>.

Se han examinado complejos análogos con ligantes de tipo salen, como  $[Cu(salen-NMe_3)]^{2+}$ ,  $[Cu(salphen-NMe_3)]^{2+}$  y  $[Cu(salnaph-NMe_3)]^{2+}$ , utilizando la técnica de RPE en fibras de ADN

(DNA-fiber EPR). Los resultados mostraron que los compuestos presentaban diferentes interacciones con el ADN. Los complejos con ligantes (salphen-NMe<sub>3</sub>) y (salnaph-NMe<sub>3</sub>), que presentan mayor aromaticidad y generan compuestos más planos, potencian la intercalación del apilamiento  $\pi\cdots\pi$  con el ADN y presentan una constante de unión  $K_b$  mayor ( $K_b > 10^7$ ) en comparación con salen que interactúa en los surcos del ADN<sup>148,149</sup>.

Como se observó anteriormente, la adición de un anillo aromático en el ligante fenantrolina incrementa drásticamente la actividad citotóxica de los compuestos. En el ligante tridentado se observa la misma tendencia, tanto para los compuestos no mixtos y los mixtos al extender la aromaticidad de éste con el sustituyente naftil. Añadir el grupo naftil incrementa la actividad aproximadamente el doble, con excepción de [Cu(dmbpy)(LN2)]<sup>+</sup> que presenta una CI<sub>50</sub> mayor que su análogo [Cu(dmbpy)(L2)]<sup>+</sup>.

El grupo naftil en el ligante tridentado aumenta la planaridad, la aromaticidad y la lipofilicidad en los ligantes (Tabla 20). La aromaticidad extendida puede favorecer interacciones de tipo apilamiento  $\pi\cdots\pi$ , que son más fuertes en comparación con las interacciones electrostáticas. El aumento en la lipofilicidad del ligante puede mejorar la permeación de los compuestos a través de la membrana lipídica celular lo que se refleja en un aumento en la actividad de los complejos<sup>94,142,150</sup>.

#### **4.4.3 Influencia de la Cadena de Metilenos en los Ligantes Tridentados NNO.**

Para los compuestos no mixtos se observó que ligantes con dos metilenos en el puente de los nitrógenos son aproximadamente dos veces más activos que con tres metilenos. Para los compuestos mixtos se observó la misma tendencia, sin embargo, cuando el puente de los nitrógenos presenta cuatro metilenos, los compuestos son más activos que con una cadena de dos metilenos, la actividad de los compuestos sigue la siguiente tendencia: L2<L1<L3.

La longitud de la cadena tiene un efecto importante en la geometría del centro metálico, siendo que la cadena más corta (dos metilenos) favorece una geometría de pirámide de base cuadrada, mientras que la cadena de tres y cuatro metilenos distorsiona la geometría y los compuestos presentan una geometría de octaédrica. Para los ligantes tridentados uno de los átomos donadores se puede descoordinar, generando compuestos cuadrados planos, que son mejores agentes intercalantes del ADN, en comparación con las otras geometrías, esto debido a que los compuestos planos no presentan ningún impedimento estérico para apilarse entre las bases nitrogenadas del ADN<sup>144</sup>.

#### 4.4.4 Influencia de la Hidrogenación del Grupo Azometino en los Ligantes Tridentado NNO.

Los ligantes hidrogenados presentan dos aminas secundarias con átomos de hidrógeno que pueden formar enlaces de hidrógeno con átomos de oxígeno, nitrógeno o azufre.

Se ha observado que compuestos como la equinomicina, que es un antibiótico biopeptídico y los complejos organometálicos tipo “*piano-stool*”  $[(\eta^6\text{-areno})\text{Ru}(\text{en})\text{Cl}]^{151}$ , presentan diferentes interacciones con el ADN y estas uniones mejoradas por la interacción de los enlaces de hidrógeno que forman las moléculas con los átomos de nitrógeno de las bases nitrogenadas del ADN.

Los ligantes hidrogenados pueden favorecer y formar enlaces de H con alguna diana molecular, provocando interferencias en el ciclo celular<sup>152</sup>, los enlaces de H mejoran la fuerza de unión con proteínas, enzimas o ADN, lo que se refleja en un aumento de la actividad de los compuestos, como se observa en la Tabla 20.

Los compuestos con ligantes hidrogenados como  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH1})]^+$  y  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH1})]^+$  tuvieron una mayor actividad biológica en comparación con los compuestos análogos con bases de Schiff. Esto también se puede atribuir al hecho de que los enlaces M-L tienen un carácter iónico, como se observó en los estudios RPE, lo que significa que los ligantes están débilmente unidos al cobre (el enlace puede romperse fácilmente debido a la distorsión generada por el ligante hidrogenado, que es más flexible), uno de los átomos donantes, como el nitrógeno terminal, podría descoordinarse, y cambiar la geometría del complejo a cuadrado plano cuadrado favoreciendo las interacciones  $\pi\cdots\pi$  con el ADN, según lo informado por Chikira et al. en varios estudios de RPE de fibras de ADN<sup>153,154</sup>.

Para los compuestos con una cadena de tres metilenos, la hidrogenación disminuye la actividad en los compuestos mixtos y no mixtos. Cuando el ligante tridentado es LN2, se observa el mismo comportamiento anterior, donde la hidrogenación favorece la actividad citotóxica y disminuye la  $\text{CI}_{50}$ .

#### 4.5 Relación de la actividad biológica con distintas propiedades del compuesto de coordinación.

La relación estructura actividad es un modelo teórico matemático que permite predecir la relación entre la estructura química de una molécula y su actividad biológica. Permite determinar una propiedad fisicoquímica responsable de provocar un efecto biológico. Esto permite el diseño racional de fármacos mediante la modificación de la estructura para mejorar el efecto del fármaco. Para los compuestos de coordinación sintetizados en este trabajo se realizó un estudio de relación estructura actividad, esto nos permitió determinar las propiedades que son responsables de la actividad biológica del compuesto.

Los complejos se separaron en grupos, con base en la cadena de metilenos y en ligantes con el grupo imino e hidrogenados:

Grupo 1: [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(dmbpy)(L1)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LN1)]<sup>+</sup>, [Cu(phen)(L1)]<sup>+</sup>.

Grupo 2: [Cu(LH1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LNH1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(dmbpy)(LH1)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LNH1)]<sup>+</sup>.

Grupo 3: [Cu(L2)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LN2)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(dmbpy)(L2)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LN2)]<sup>+</sup>, [Cu(phen)(L2)]<sup>+</sup>.

Grupo 4: [Cu(LH2)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LNH2)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(dmbpy)(LH2)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LNH2)]<sup>+</sup>.

Se realizaron correlaciones de logaritmo de la concentración inhibitoria media (LogCI<sub>50</sub>) en función del potencial de pico catódico (E<sub>pc</sub>), del logaritmo de partición n-octanol-agua teórico (LogP<sub>o/a</sub>) y del número de anillos aromáticos conjugados en los ligantes. Los parámetros se encuentran en la Tabla 21.

El logaritmo de partición (LogP<sub>o/a</sub>) se calculó teóricamente, se optimizaron las geometrías de los diferentes compuestos por el método de la teoría del funcional de las densidades, usando un funcional M06, base Lanld2dz en fase gas y un modelo de solvatación SMD para optimizar las estructuras en fase acuosa y en fase solvatada en octanol. El logaritmo de partición teórico n-octanol agua fue calculado de acuerdo con la siguiente ecuación<sup>104,105</sup>:

$$DFT - \text{Log } P = \frac{\Delta G_{\text{Sol agua}} - G_{\text{Sol n-octanol}}}{2.303RT}$$

Donde  $\Delta G_{\text{sol}}$  es el cambio de energía libre de solvatación del estado estándar en un compuesto en n-octanol y en agua a 298.15 K. La energía libre de solvatación en estado estándar se define como la energía libre de transferencia de la fase gaseosa a la fase condensada, en las condiciones estándar. Debido a que las energías libres en fase gaseosa se calculan con respecto a un estado estándar de 1 atm, es necesario agregar un factor de corrección de  $RT \ln 24.46$  (es decir, 1.894

kcal mol<sup>-1</sup> a 298 K) para convertirlo al estado estándar de 1 mol dm<sup>-3</sup> 106,107. Los valores calculados se muestran en la Tabla 21 y en la Tabla mostrada en el Anexo XII.

Tabla 21. Concentración inhibitoria media (CI<sub>50</sub>) en células HeLa; logaritmo de la concentración inhibitoria media (LogCI<sub>50</sub>); potencial de pico catódico (E<sub>pc</sub>) calculado por la técnica de voltamperometría cíclica; logaritmo de partición n-octanol/agua teórico (LogP<sub>o/a</sub>) calculado computacionalmente; y el parámetro asignado que representa la conjugación de los ligante de los compuestos de coordinación de cobre(II).

Clave	CI <sub>50</sub> (μM)	Log(CI <sub>50</sub> )	E <sub>pc</sub> (V)	LogP <sub>o/a</sub>	Anillos
[Cu(L1)(NO <sub>3</sub> )]	82.7	1.918	-1.02	-3.7	0
[Cu(L2)(NO <sub>3</sub> )]	93.8	1.972	-0.99	-4.1	0
[Cu(LN1)(NO <sub>3</sub> )]	59.6	1.775	-1.22	-3.5	1
[Cu(LN2)(NO <sub>3</sub> )]	77.2	1.888	-1.03	-4.5	1
[Cu(LH1)(NO <sub>3</sub> )]	70.5	1.848	-1.12	-4.3	0
[Cu(LH2)(NO <sub>3</sub> )]	138.2	2.141	-1.03	-3.4	0
[Cu(LNH1)(NO <sub>3</sub> )]	33.2	1.521	-1.22	-3.8	1
[Cu(LNH2)(NO <sub>3</sub> )]	47.2	1.674	-1.15	-3.7	1
<b>Compuestos mixtos</b>					
[Cu(dmbpy)(L1)]PF <sub>6</sub>	23.9	1.378	-1.23	1.8	2
[Cu(dmbpy)(L2)]PF <sub>6</sub>	24.2	1.384	-1.14	0.9	2
[Cu(dmbpy)(L3)]PF <sub>6</sub>	11.2	1.049	-1.54	1.1	2
[Cu(dmbpy)(LN1)]PF <sub>6</sub>	13.0	1.114	-1.24	-4.9	3
[Cu(dmbpy)(LN2)]PF <sub>6</sub>	51.7	1.713	-1.11	-4.8	3
[Cu(dmbpy)(LN3)]PF <sub>6</sub>	8.0	0.903	-1.57	2.3	3
[Cu(dmbpy)(LH1)]PF <sub>6</sub>	15.2	1.182	-1.37	-0.2	2
[Cu(dmbpy)(LH2)]PF <sub>6</sub>	30.6	1.486	---	0.2	2
[Cu(dmbpy)(LNH1)]PF <sub>6</sub>	7.9	0.898	-1.37	7.7	3
[Cu(dmbpy)(LNH2)]PF <sub>6</sub>	14.3	1.155	---	9.0	3
[Cu(phen)(L1)]PF <sub>6</sub>	6.1	0.785	-1.30	-0.25	4
[Cu(phen)(L2)]PF <sub>6</sub>	21.5	1.332	-1.02	-0.90	4

#### 4.5.1 Relación Entre el Logaritmo de la Concentración Inhibitoria Media y el Potencial de Reducción.

En estudios de relación cuantitativa estructura actividad (QSAR por sus siglas en inglés) para compuestos de coordinación se ha observado una fuerte correlación entre el potencial de media onda y la actividad biológica de complejos metálicos de cobre y de rutenio,<sup>20,155</sup> directamente involucrada con la capacidad de los metales para participar en reacciones tipo Fenton y generar especies reactivas de oxígeno que pueden causar daño al ADN o simplemente generar un desbalance redox dentro de la célula tumoral llevándola posteriormente a la muerte celular<sup>26</sup>.

El LogCI<sub>50</sub> y el potencial de pico catódico (E<sub>pc</sub>) siguen una tendencia lineal, en los grupos 1 y 2 (ver ecuaciones 1 y 2). En el grupo 3 potencial de pico catódico (E<sub>pc</sub>) no presenta una buena correlación (ver ecuación 3).

$$\text{Grupo 1} \quad \text{Log}(CI_{50}) = 3.46(E_{pc}) + 5.55 \quad R^2 = 0.632 \quad (1)$$

$$\text{Grupo 2} \quad \text{Log}(CI_{50}) = 3.32(E_{pc}) + 5.57 \quad R^2 = 0.904 \quad (2)$$

$$\text{Grupo 3} \quad \text{Log}(CI_{50}) = 0.64(E_{pc}) + 2.35 \quad R^2 = 0.053 \quad (3)$$

En los tres grupos se observó que los complejos no mixtos son más oxidantes ( $E_{pc}$  entre -1.22 a -1.02 V vs.  $\text{Fc}^+/\text{Fc}$ ) en comparación con los compuestos mixtos ( $E_{pc}$  entre -1.23 a -1.37 V vs.  $\text{Fc}^+/\text{Fc}$ ). Las especies menos oxidantes son las que presentan mayor citotoxicidad (menor  $\text{Log}CI_{50}$ ), y se ha atribuido a que los compuestos  $\text{Cu}^{\text{II}}$  pueden reaccionar con reductores celulares endógenos, generando especies de  $\text{Cu}^{\text{I}}$  que podrían participar en la reducción de  $\text{H}_2\text{O}_2$  y formar el radical  $\cdot\text{OH}$ . Aunque los oxidantes más débiles son más difíciles de reducir, la especie reducida  $\text{Cu}^{\text{I}}$  es más fácil de oxidar, favoreciendo la participación en reacciones de tipo Fenton.

En comparación con las Casiopeínas de primera generación, que tienen potenciales de reducción entre -0.35 a -0.21 V vs.  $\text{Fc}^+/\text{Fc}$ <sup>20</sup>, la cuarta generación tienen potenciales redox más bajos, entre -1.30 V y -0.98 V vs.  $\text{Fc}^+/\text{Fc}$ , lo que las convierte en especies menos oxidantes. En el estudio QSAR de las Casiopeínas de primera generación se observó que las especies menos oxidantes son las que presentan una mayor actividad biológica en las células cancerosas, en este trabajo no se favoreció tanto la reducción de los complejos sintetizados, sin embargo, la reacción entre  $\text{Cu}^{\text{I}}$  y  $\text{H}_2\text{O}_2$  para la generación del radical  $\cdot\text{OH}$  es más cuantitativa en comparación con las Casiopeínas de primera generación.

#### 4.5.2 Relación del Logaritmo de la Concentración Inhibitoria Media y el Coeficiente de Partición ( $\text{Log}P_{o/a}$ ).

El logaritmo del coeficiente de partición n-octanol-agua ( $\text{Log}P_{o/a}$ ) indica la capacidad hidrofílica o hidrofóbica de un compuesto, valores menores a cero indican que las moléculas presentan un carácter hidrofílico, es decir, están presente mayormente en la fase acuosa, mientras que un valor mayor a cero indica que las moléculas presentan un carácter hidrofóbico, es decir, que se encuentran mayormente en la fase orgánica. Lipinsky sugirió usar el  $\text{Log}P_{o/a}$  para predecir la actividad biofarmacéutica de un compuesto orgánico, los medicamentos deben ser lo suficientemente hidrofóbicos para poder penetrar la membrana celular, pero lo suficientemente hidrofílicos para no quedar atrapados en ella. Lipinsky reporta que el coeficiente de partición  $\text{Log}P_{o/a}$  debe encontrarse entre -0.4 y +5.6, para que un compuesto orgánico presente una buena actividad farmacéutica<sup>156-158</sup>.

Los compuestos de coordinación no siguen las reglas de Lipinsky, pero su actividad biológica también ha mostrado una tendencia con  $\text{Log}P_{o/a}$ ; los complejos iónicos con carácter catiónico y valores de  $\text{Log}P_{o/a}$  superiores a +5.6 también son capaces de presentar una buena actividad biológica<sup>20</sup>.

La coordinación de los ligantes a un metal afecta la toxicidad de los compuestos, no sólo modulando el potencial de reducción, como se observó anteriormente, sino que también pueden modificar su permeabilidad al interior de la célula. Los complejos con mayor lipofilia han presentado una citotoxicidad superior a los que son más hidrofílicos.

El gráfico de  $\text{LogCI}_{50}$  en función de  $\text{LogP}_{o/a}$  mostró que los compuestos más hidrofóbicos ( $\text{LogP}_{o/a}$  más alto) eran más activos en la línea celular HeLa, ver ecuaciones 4, 5, 6 y 7

$$\text{Group 1} \quad \text{Log}(CI_{50}) = -0.14(\text{LogP}_{o/a}) + 1.28 \quad R^2 = 0.542 \quad (4)$$

$$\text{Group 2} \quad \text{Log}(CI_{50}) = -0.071(\text{LogP}_{o/a}) + 1.34 \quad R^2 = 0.848 \quad (5)$$

$$\text{Group 3} \quad \text{Log}(CI_{50}) = -0.099(\text{LogP}_{o/a}) + 1.39 \quad R^2 = 0.745 \quad (6)$$

$$\text{Group 4} \quad \text{Log}(CI_{50}) = -0.057(\text{LogP}_{o/a}) + 1.64 \quad R^2 = 0.730 \quad (7)$$

Los complejos no mixtos presentaron valores inferiores de  $\text{LogP}_{o/a}$  (entre -4.3 a -3.5) en comparación con sus derivados mixtos (entre -4.9 a + 7.7), la adición de la diimina aromática aumenta la lipofilia. Los ligantes NNO con el sustituyente naftil (LNn y LNHn) presentan valores mayores de  $\text{LogP}_{o/a}$  lo que indica que son más hidrofóbicos que aquellos con el ligante NNO sin sustituir. La actividad citotóxica está influenciada por el coeficiente de partición y los compuestos más hidrofóbicos, que son más permeables, exhiben mayor toxicidad.

### 4.5.3 Relación del Logaritmo de la Concentración Inhibitoria Media y la Aromaticidad de los Ligantes

De igual forma se ha encontrado que los compuestos de coordinación con ligantes aromáticos suelen presentar una buena actividad biológica debido a que se favorecen las interacciones de tipo apilamiento  $\pi$ - $\pi$  con blancos moleculares. En las tendencias observadas en este trabajo se encontró que la actividad de los complejos incrementó cuando en el ligante primario y secundario incrementaba el número de anillos aromáticos conjugados, como se ilustra en la Figura 65.

Para estudiar la influencia de la aromaticidad se asignó la siguiente numeración, que depende de los anillos aromáticos conjugados en los ligantes. Se asignó como 0 aquellos compuestos coordinados al ligantes NNO sin sustituyente; como 1 a aquellos donde se añadía el sustituyente naftil al ligante NNO; como 2 a los complejos mixtos con biperidina donde el ligante NNO no presenta ningún sustituyente; como 3 a los complejos mixtos con biperidina donde el ligante NNO se encuentra sustituido con naftil; y como 4 a los compuestos mixtos con fenantrolina donde el ligante NNO no presenta sustituciones. Los valores asignados se encuentran en la Tabla 21.

El  $\text{LogCI}_{50}$  se graficó en función de los anillos aromáticos conjugados; la actividad biológica aumenta cuando el ligante NNO tiene el grupo naftil, así como cuando el ligante primario N-N está coordinado (ecuaciones 8, 9, 10 y 11).

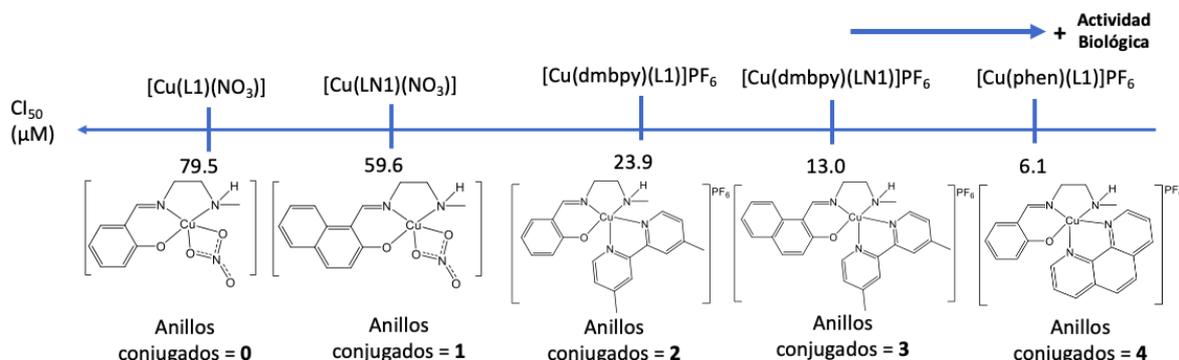


Figura 65. Efecto de los anillos aromáticos de los ligantes en la actividad biológica y asignación del parámetro empírico del número de anillos conjugados.

$$\text{Group 1} \quad \text{Log}(\text{CI}_{50}) = -0.29(\text{Anillos conjugados}) + 1.97 \quad R^2 = 0.982 \quad (8)$$

$$\text{Group 2} \quad \text{Log}(\text{CI}_{50}) = -0.33(\text{Anillos conjugados}) + 1.85 \quad R^2 = 0.999 \quad (9)$$

$$\text{Group 3} \quad \text{Log}(\text{CI}_{50}) = -0.30(\text{Anillos conjugados}) + 2.07 \quad R^2 = 0.630 \quad (10)$$

$$\text{Group 4} \quad \text{Log}(\text{CI}_{50}) = -0.14(\text{Anillos conjugados}) + 1.95 \quad R^2 = 0.977 \quad (11)$$

Como se discutió anteriormente, la relación de la actividad citotóxica con la aromaticidad de los ligantes se ha atribuido a su capacidad para interactuar con dianas moleculares, como el ADN, a través de interacciones de apilamiento  $\pi \dots \pi$ .

#### 4.5.4 Relación Estructura Actividad

En la correlación con una variable en función de  $\text{LogCI}_{50}$ , el número de anillos aromáticos fue el parámetro que mejor relación mostró para los grupos 1 y 2 ( $R^2 = 0.982$  y  $0.999$ ), seguido del potencial de pico catódico ( $R^2 = 0.632$  y  $0.904$ ) y por último el  $\text{LogP}_{o/a}$  ( $R^2 = 0.542$  y  $0.848$ ). Para el grupo 3 fue el  $\text{LogP}_{o/a}$  ( $R^2 = 0.745$ ), el número de anillos aromáticos ( $R^2 = 0.630$ ) y por último el potencial de pico catódico ( $R^2 = 0.053$ ). Para el grupo 4 el parámetro con una mejor correlación fue el número de anillos aromáticos ( $R^2 = 0.977$ ) y después el  $\text{LogP}_{o/a}$  ( $R^2 = 0.730$ ).

El uso de un solo parámetro para encontrar una correlación con la actividad biológica potencial es una aproximación inexacta, porque un modelo matemático que describa completamente la relación estructura-actividad debe tener en cuenta todos los parámetros de la molécula que influyen en la actividad biológica. Sin embargo, nos permite saber si la modulación del descriptor

influye en la actividad farmacéutica de la molécula. Para encontrar una mejor correlación, se combinaron dos descriptores y por el método de regresión lineal múltiple se obtuvieron tres ecuaciones para cada grupo de compuestos (excepto el grupo 4), que se muestran en la Tabla 22.

Para el grupo 1 ([Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(dmbpy)(L1)]<sup>+</sup>, [Cu(dmbpy)(LN1)]<sup>+</sup> y [Cu(phen)(L1)]<sup>+</sup>) y el grupo 2 ([Cu(LH1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(LNH1)(NO<sub>3</sub>)], [Cu(dmbpy)(LH1)]<sup>+</sup> y [Cu(dmbpy)(LNH1)]<sup>+</sup>) la ecuación que presenta una mejor correlación y que describe mejor la actividad de los compuestos es  $\text{Log}(CI_{50}) = X(E_{pc}) + Y(\text{Log}P) + Z$ . Las correlaciones se ilustran en la Figura 66.

Tabla 22. Ecuaciones obtenidas por de la relación estructura actividad de los compuestos de coordinación de cobre(II).

	$\text{Log}(CI_{50}) = X(E_{pc}) + Y(\text{Anillos conjugados}) + Z$	$R^2$
Grupo 1	$\text{Log}(CI_{50}) = -1.01(E_{pc}) - 0.35(\text{Anillos conjugados}) + 0.87$	0.998
Grupo 2	$\text{Log}(CI_{50}) = 0.078(E_{pc}) - 0.32(\text{Anillos conjugados}) + 1.94$	1.0
Grupo 3	$\text{Log}(CI_{50}) = -0.32(E_{pc}) - 0.15(\text{Anillos conjugados}) + 1.62$	0.640
	$\text{Log}(CI_{50}) = X(E_{pc}) + Y(\text{Log}P) + Z$	$R^2$
Grupo 1	$\text{Log}(CI_{50}) = 3.33(E_{pc}) - 0.012(\text{Log}P) + 5.36$	0.637
Grupo 2	$\text{Log}(CI_{50}) = 2.07(E_{pc}) - 0.035(\text{Log}P) + 3.98$	0.987
Grupo 3	$\text{Log}(CI_{50}) = 0.69(E_{pc}) - 0.099(\text{Log}P) + 2.13$	0.806
	$\text{Log}(CI_{50}) = X(\text{Anillos}) + Y(\text{Log}P) + Z$	$R^2$
Grupo 1	$\text{Log}(CI_{50}) = -0.29(\text{Anillos}) - 0.0062(\text{Log}P) + 1.95$	0.984
Grupo 2	$\text{Log}(CI_{50}) = -0.33(\text{Anillos}) + 0.00051(\text{Log}P) + 1.85$	0.999
Grupo 3	$\text{Log}(CI_{50}) = -0.10(\text{Anillos}) - 0.075(\text{Log}P) + 1.66$	0.999
Grupo 4	$\text{Log}(CI_{50}) = -0.35(\text{Anillos}) + 0.011(\text{Log}P) + 2.13$	0.982

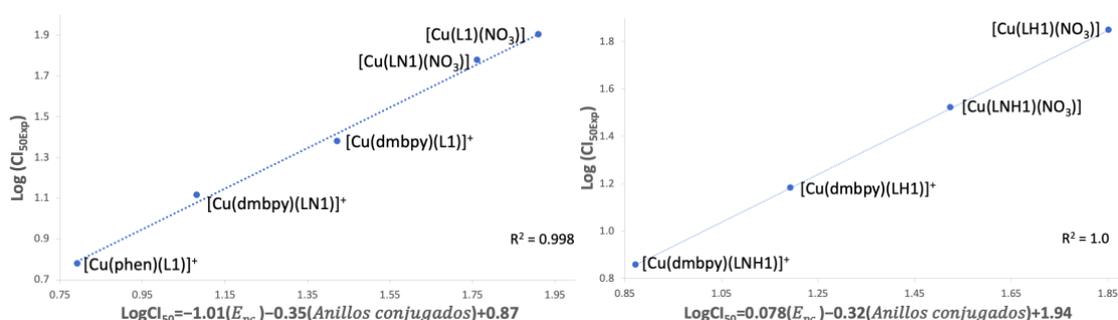


Figura 66. Gráfico de  $\text{Log}CI_{50}$  obtenido experimentalmente frente a  $\text{Log}CI_{50}$  calculado para el grupo 1 (izquierda) y el grupo 2 (derecha).

Para el grupo 1 el coeficiente que multiplica el potencial del pico catódico (1.01) fue mayor que el coeficiente que multiplica el número de anillos aromáticos en el ligante (0.35); mientras que para el grupo 2 el coeficiente que multiplica el potencial del pico catódico (0.078) fue menor que el coeficiente que multiplica el número de anillos aromáticos en el ligantes (0.32). Para los compuestos con ligantes de base de Schiff o del grupo 1, el  $E_{pc}$  fue el parámetro que provoca la

mayor contribución sobre la actividad biológica de los complejos y en menor medida la aromaticidad del ligante. Para los compuestos con ligantes hidrogenados o del grupo 2, el principal parámetro que aportó la actividad biológica fue la aromaticidad de los ligantes y en menor medida el  $E_{pc}$ , lo que concuerda con lo observado en estudios electroquímicos, ya que el proceso redox del par  $Cu^{II}/Cu^I$  se presentó en sistemas menos reversibles.

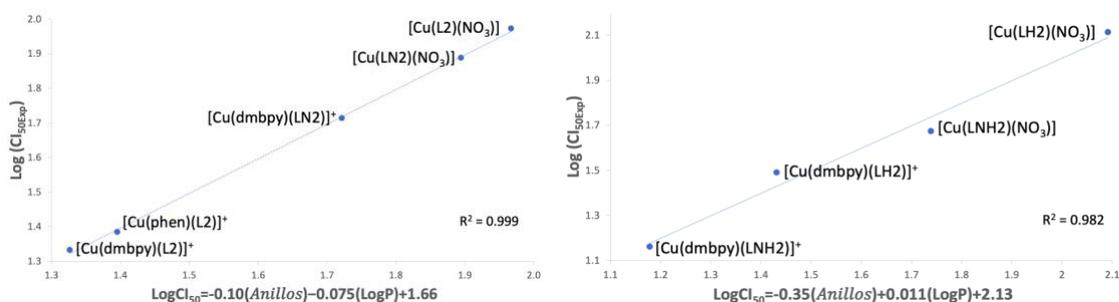


Figura 67. Gráfico de  $\text{Log}CI_{50}$  obtenido experimentalmente frente a  $\text{Log}CI_{50}$  calculado del grupo 3 (izquierda) y el grupo 4 (derecha).

Para el grupo 3 ( $[Cu(L2)(NO_3)]$ ,  $[Cu(LN2)(NO_3)]$ ,  $[Cu(dmbpy)(L2)]^+$ ,  $[Cu(dmbpy)(LN2)]^+$  y  $[Cu(phen)(L2)]^+$ ) y el grupo 4 ( $[Cu(LH2)(NO_3)]$ ,  $[Cu(LNH2)(NO_3)]$ ,  $[Cu(dmbpy)(LH2)]^+$ , y  $[Cu(dmbpy)(LNH1)]^+$ ) la ecuación que presenta una mejor correlación y que describe mejor la actividad de los compuestos es  $\text{Log}(CI_{50}) = X(\text{Anillos}) + Y(\text{Log}P) + Z$ . Las correlaciones se ilustran en la Figura 67. Para ambos grupos, el coeficiente que multiplica el número de anillos aromáticos conjugados (0.10 y 0.35) fue mayor que el coeficiente que multiplica al logaritmo de partición (0.075 y 0.11).

De la ecuación obtenida se puede concluir que el potencial de media onda y la aromaticidad del ligante son los principales descriptores de la actividad biológica de los compuestos sintetizados, por lo que se propone que el mecanismo de reacción involucra reacciones redox endógenas que participan en la generación de especies reactivas de oxígeno y la interacción con blancos moleculares como el ADN.

#### 4.6 Estudio de la Interacción con ADN

El ADN es un blanco molecular ampliamente estudiado en el diseño de fármacos, ya que moléculas pequeñas pueden presentar interacciones con éste afectando el funcionamiento de las células y causando la muerte de éstas. Las interacciones entre las moléculas y el ADN pueden ser de tipo covalente o no covalente<sup>142</sup>.

Dentro de las interacciones covalentes encontramos la formación de aductos con ADN, como es el caso del cis-platino, que se coordina a los nitrógenos de las bases nitrogenadas o las Casiopeínas de primera generación, que pueden formar aductos con los oxígenos de los fosfatos<sup>45</sup>.

Las interacciones no covalentes son interacciones electrostáticas, unión en los surcos o unión intercalante. La unión electrostática se produce debido a la interacción entre la carga negativa del ADN y moléculas pequeñas cargadas positivamente. La unión en los surcos puede ser en el surco mayor o menor del ADN, e implica enlaces de hidrógeno o interacciones débiles de Van der Waals entre la molécula pequeña con las bases de ácido nucleico. La intercalación ocurre cuando las moléculas pequeñas se intercalan dentro de los pares de bases del ácido nucleico y está favorecida para moléculas planas de alta aromaticidad, puesto que la interacción se estabiliza por interacciones de tipo  $\pi \dots \pi$ <sup>142,159</sup>.

El estudio de las interacciones entre una molécula y el ADN es importante para la comprensión del mecanismo de acción de varios medicamentos contra el cáncer. Los resultados previos en este trabajo nos han mostrado que la citotoxicidad de los compuestos de coordinación de cobre(II) está relacionada con la aromaticidad de los ligantes y con el potencial de media onda, que sugiere que uno de los blancos moleculares de las Casiopeínas de cuarta generación es el ADN y la formación de especies reactivas de oxígeno<sup>20</sup>. Para corroborar que estos compuestos presentan interacciones con ADN se eligió estudiar la familia de compuestos  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{LH1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]^+$ ,  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN1})]^+$ ,  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH1})]^+$ ,  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH1})]^+$  y  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L1})]^+$  que presentan una cadena de dos metilenos en el puente de las iminas. Los estudios se realizaron mediante la técnica de espectroscopía electrónica y electroforesis en gel. La perspectiva de este trabajo es estudiar el resto de los compuestos.

#### 4.6.1 Estudio de la Interacción con CT-ADN Mediante Espectroscopía Electrónica.

La interacción de las moléculas y el ADN se estudió por la técnica de espectroscopía de uv-vis observando el cambio en los espectros de absorción del ADN. En este caso, se agregó una concentración creciente de CT-ADN (ADN de ternera) a una concentración fija de los compuestos de coordinación. Al aumentar la concentración del CT-ADN se observa un cambio en los espectros que es interpretado con base en lo reportado en la literatura que se describe a continuación<sup>160</sup>.

Las interacciones entre las moléculas y el ADN pueden ser de tipo covalente, este efecto se observa con la aparición de un punto isobéptico, como se ilustra en la Figura 68 a), que se interpreta como la formación de un aducto entre la molécula y el ADN (Figura 68)<sup>160</sup>.

En las interacciones de tipo no covalente se observa un efecto hipercrómico o hipocrómico, que surgen debido a un cambio en la estructura de la doble hélice del ADN. La estructura secundaria del ADN puede desestabilizarse al interactuar con moléculas en los surcos, lo que se observa como un efecto hipercrómico (Figura 68)<sup>160</sup>.

La estabilización de la estructura secundaria, por efectos electrostáticos o por intercalación con moléculas se observa como un efecto hipocrómico. Cuando el espectro de absorción presenta un desplazamiento batocrómico acompañado de hipocromismo se asocia a la intercalación de la molécula del ADN. Moléculas que se unen a los surcos menores también pueden llegar a presentar un efecto batocrómico, sin embargo, el desplazamiento es menor, en comparación con un intercalante<sup>160</sup>.

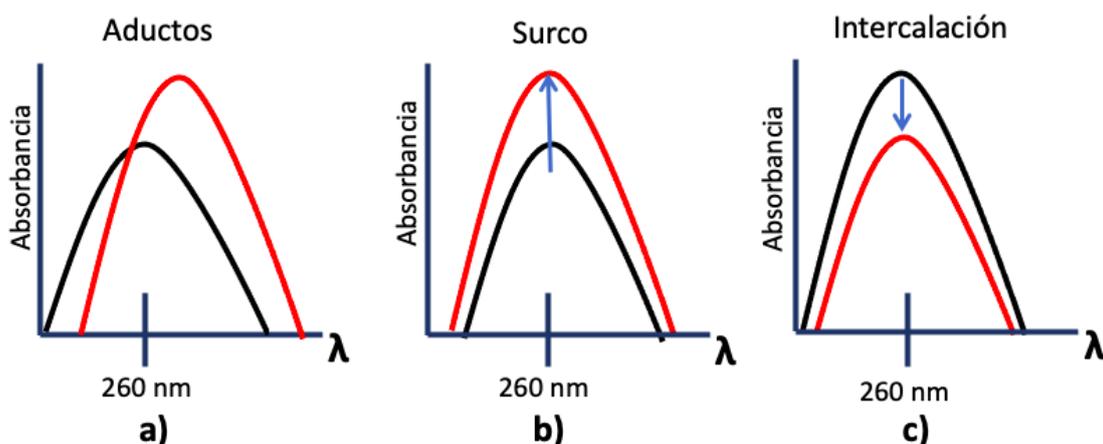


Figura 68. Representación del efecto observado por espectroscopía de uv-vis de la interacción entre ADN y una molécula. La gráfica negra representa al ADN y la línea roja representa a el ADN-molécula. a) Formación de punto isobéptico producida por interacciones covalentes, b) efecto hipercrómico producido interacciones no covalentes en el surco, c) efecto hipocrómico producido por interacciones de intercalación<sup>160</sup>.

Se monitorearon los espectros de los complejos en disolución acuosa y en presencia de diferentes cantidades de CT-ADN mostrados en el Anexo XI. Las constantes de unión se calcularon usando la ecuación de Benesi-Hildebrand, graficando  $A_0/(A-A_0)$  vs.  $1/[ADN]^{110}$ ; los valores se encuentran en la Tabla 23.

Tabla 23. Efecto observado en los espectros electrónicos de los compuestos de coordinación después de la adición de diferentes cantidades de CT-ADN y constantes de unión ( $K_b$ ) calculadas.

Clave	Efecto	Tipo de interacción	$K_b$ ( $M^{-1}$ )
[Cu(L1)NO <sub>3</sub> ]	Hipercromismo, desplazamiento a azul	Unión al surco	$3.8 \times 10^4$
[Cu(LN1)NO <sub>3</sub> ]	Hipercromismo, punto isobéptico	Unión covalente	$8.5 \times 10^3$
[Cu(LH1)NO <sub>3</sub> ]	Hipercromismo, desplazamiento a azul	Unión al surco	$3.6 \times 10^4$
[Cu(LNH1)NO <sub>3</sub> ]	Hipercromismo, punto isobéptico	Unión covalente	$5.7 \times 10^4$
[Cu(dmbpy)(L1)] <sup>+</sup>	Hipercromismo, punto isobéptico	Unión covalente	$1.9 \times 10^4$
[Cu(dmbpy)(LN1)] <sup>+</sup>	Hipercromismo, punto isobéptico	Unión covalente	$3.3 \times 10^4$
[Cu(dmbpy)(LH1)] <sup>+</sup>	Hipercromismo, punto isobéptico	Unión covalente	$2.1 \times 10^4$
[Cu(dmbpy)(LNH1)] <sup>+</sup>	Hipercromismo, punto isobéptico	Unión covalente	$3.7 \times 10^4$
[Cu(phen)(L1)] <sup>+</sup>	Hipocromismo	Intercalante	$7.0 \times 10^4$

Los compuestos [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)] y [Cu(LH1)(NO<sub>3</sub>)] en presencia de CT-ADN muestran un comportamiento similar; al incrementar la concentración de CT-ADN, las bandas de absorción de los complejos fueron afectadas, resultando en una tendencia de hipercromismo y un desplazamiento hacia el azul, como se muestra en la Figura 69 para [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)]. Esto puede ser el resultado de interacciones electrostáticas con la carga negativa del ADN o el resultado de la interacción de los complejos en los surcos<sup>94</sup>. Las constantes de unión calculadas para estos compuestos fueron  $3.8 \times 10^4 M^{-1}$  ([Cu(L1)(NO<sub>3</sub>))] y  $3.6 \times 10^4 M^{-1}$  ([Cu(LH1)(NO<sub>3</sub>)]).

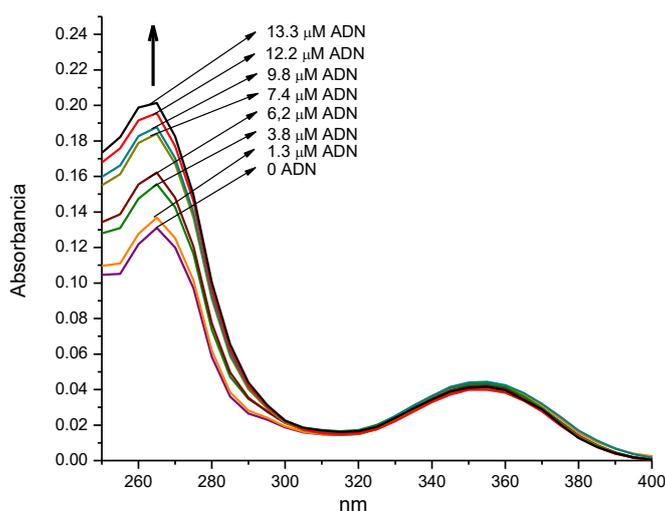


Figura 69. Espectro electrónico de [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)] 12  $\mu$ M en ausencia y en presencia de diferentes concentraciones de CT-ADN en tampón Tris-HCl (0.5 mM NaCl / 5 mM Tris-HCl a pH = 7. El primer espectro (morado) fue tomado en

ausencia de ADN y posteriormente se adicionaron alícuotas de 10  $\mu\text{L}$  del CT-ADN hasta que la concecentración final de éste fue 13.3  $\mu\text{M}$ .

Los compuestos  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]^+$ ,  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN1})]^+$ ,  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH1})]^+$  y  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH1})]^+$ , en presencia de CT-ADN también se ven afectados y se observa un punto isobéptico y un efecto hipercrómico, como se muestra en la Figura 70 para el compuesto  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]^+$ . Para complejos de  $\text{Zn}^{\text{II}}$  este efecto se le ha atribuido a la formación de aductos, donde se generan nuevas especies durante la interacción con CT-ADN<sup>161</sup>, por lo que se propone el mismo tipo de interacción para estos complejos. Las constantes de unión calculadas para estos compuestos fueron  $8.5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$  ( $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$ )  $5.7 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  ( $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$ ),  $1.9 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  ( $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]^+$ ),  $3.3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  ( $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN1})]^+$ ),  $2.1 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  ( $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH1})]^+$ ) y  $3.7 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  ( $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH1})]^+$ ). Los compuestos mixtos se unen más fuertemente al ADN en comparación con el no mixto. Para los compuestos mixtos se observa que con el sustituyente naftil presentan una mayor  $K_b$ , que se interpreta como una interacción más fuerte con ADN probablemente por interacciones tipo  $\pi \dots \pi$ . También los compuestos hidrogenados presentan una mayor  $K_b$ , su unión con ADN es más fuerte que para aquellos con el grupo azometino.

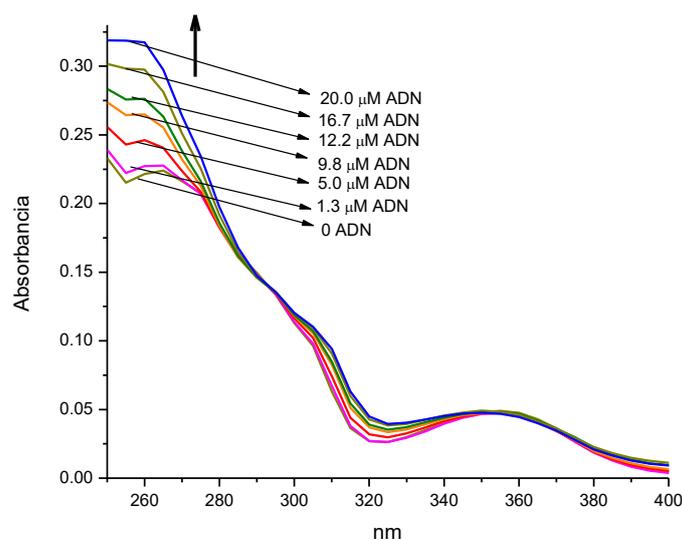


Figura 70. Espectro electrónico de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]^+$  12  $\mu\text{M}$  en ausencia y en presencia de diferentes concentraciones de CT-ADN en tampón Tris-HCl (0.5 mM NaCl / 5 mM Tris-HCl a pH = 7). El primer espectro (verde) fue tomado en ausencia de ADN y posteriormente se adicionaron alícuotas de 10  $\mu\text{L}$  del CT-ADN hasta que la concecentración final de éste fue 20  $\mu\text{M}$ .

El compuesto  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L1})]^+$  presentó un efecto hipocrómico, como se ilustra en la Figura 71, que puede deberse a una interacción de intercalación. La constante de unión determinada para este compuesto fue de  $7.0 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ , que es el mayor en comparación con los demás compuestos.

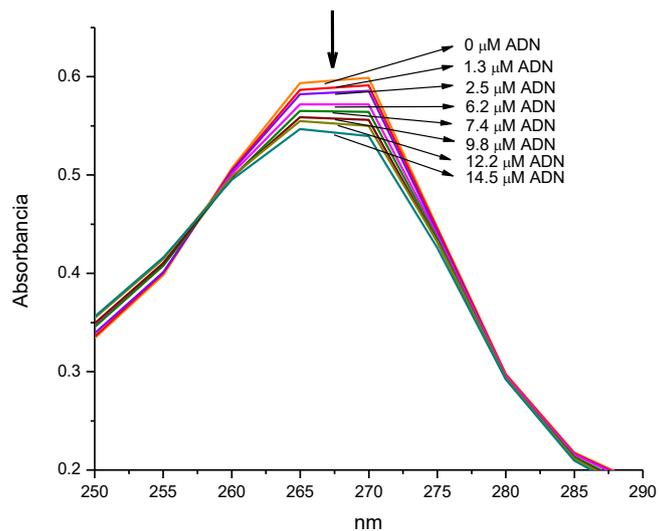


Figura 71. Espectro electrónico de  $[Cu(phen)(L1)]^+$   $13.5 \mu M$  en ausencia y en presencia de diferentes concentraciones de CT-ADN en tampón Tris-HCl ( $0.5 \text{ mM NaCl} / 5 \text{ mM Tris-HCl}$  a  $pH = 7$ ). El último espectro (naranja) fue tomado en ausencia de ADN y posteriormente se adicionaron alícuotas de  $10 \mu L$  del CT-ADN hasta que la concecntración final de éste fue  $20 \mu M$ .

#### 4.6.2 Actividad de Ruptura al ADN de los Compuestos de Coordinación.

La electroforesis en gel de agarosa es una de las técnicas más utilizadas para estudiar el efecto de una molécula sobre el ácido nucleico, ya que permite separar moléculas cargadas de acuerdo a su tamaño y forma. Un plásmido es una pequeña molécula de ADN circular que existe naturalmente en las células bacterianas y también en algunas eucariotas. Cuando el ADN plasmídico se corre en un gel de agarosa, se observan bandas características que representan las diferentes conformaciones en las que se encuentra, como se ilustra en la Figura 72<sup>162</sup>.

El ADN plasmídico superenrollado es la conformación de ADN nativo que se encuentra *in vivo* y se produce cuando se introducen giros en la hebra de doble hélice, esta tensión superhelicoidal no se puede aliviar porque los extremos del plásmido están unidos. El ADN superenrollado migra más rápido de lo previsto en un gel de agarosa debido a su conformación<sup>162</sup>.

El ADN plasmídico circular se forma cuando se corta una hebra de la hélice del ADN y se relaja la tensión superhelicoidal. El ADN circular migra más lento en el gel de agarosa en comparación con la forma superenrollada<sup>162</sup>.

El ADN lineal se produce cuando la hélice del ADN se corta en ambas hebras en el mismo lugar. El ADN lineal generalmente migra y forma una banda entre la forma circular y superenrollada. Si obtiene la forma circular o lineal se debe a la capacidad de cortar el ADN de alguna de las moléculas usadas<sup>162</sup>.

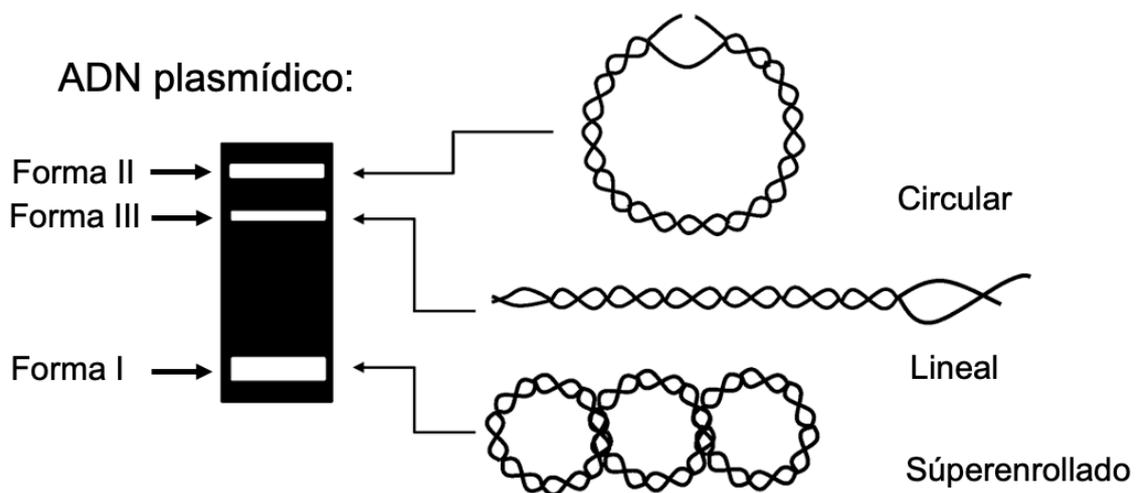


Figura 72. Diferentes formas del ADN y su corrimiento en electroforesis en gel de agarosa<sup>162</sup>.

El ADN es sensible a la ruptura oxidativa; estudios sobre ADNasas o nucleasas artificiales se han centrado en moléculas capaces de cortar el ADN mediante un mecanismo oxidativo usando agentes de ruptura eficientes que involucran radicales libres u otras especies reactivas de oxígeno (ERO) capaces de inducir una vía oxidativa<sup>26</sup>. Un sistema comúnmente utilizado, es la molécula

a evaluar en presencia de peróxido de hidrógeno u oxígeno molecular y un agente reductor, con la finalidad de estudiar si se generan radicales responsables de la ruptura del ADN<sup>26</sup>.

La capacidad de romper al ADN de los complejos mixtos y no mixtos (85  $\mu\text{M}$ ) se evaluó por electroforesis en gel utilizando el plásmido pBR322 (300 ng), en presencia y ausencia de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (10  $\mu\text{M}$ ), después de 30 minutos, 90 minutos y 12 horas de incubación a 37 °C. La capacidad de romper el ADN se evaluó cualitativamente a través de la formación de ADN circular (Forma II) y la formación de una forma de ADN lineal (Forma I) a partir de la forma superenrollada (forma I) que puede disminuir su intensidad o algunas veces desaparecer.

Posterior a los 30 minutos de incubación, se observó la presencia del ADN superenrollado (Forma I) y circular (Forma II) en los controles del plásmido y el plásmido en presencia de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (carril 1 y 2 de Figura 73). Los compuestos  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]^+$ ,  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN1})]^+$ ,  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH1})]^+$ ,  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH1})]^+$  y  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L1})]^+$ , evaluados a 30 min no muestran ningún efecto significativo en comparación con los controles, ya que la intensidad de las bandas no presenta ningún cambio.

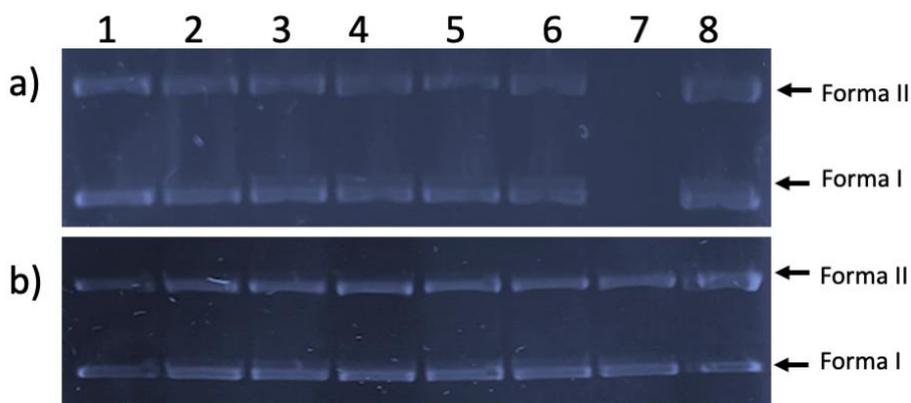


Figura 73. Resultados de electroforesis de gel de agarosa (1%) a 30 min. 4  $\mu\text{L}$  del plásmido pBR322, 2  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (10  $\mu\text{M}$ ), 2  $\mu\text{L}$  del complejo disuelto en DMSO (85  $\mu\text{M}$ ) y agua estéril hasta un volumen de 20  $\mu\text{L}$ . a) Carril 1: plásmido pBR322 + agua estéril; carril 2: plásmido pBR322 +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + agua estéril; carril 3: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$  + agua estéril; carril 4: plásmido pBR 322 +  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$  +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + agua estéril; carril 5: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]^+$  + agua estéril; carril 6: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]^+$  +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + agua estéril; carril 7: no se colocó muestra; carril 8: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN1})]^+$  +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + agua estéril. b) Carril 1: plásmido pBR322 + agua estéril; carril 2: plásmido pBR322 +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + agua estéril; carril 3: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH1})]^+$  + agua estéril; carril 4: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH1})]^+$  +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + agua estéril; carril 5: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH1})]^+$  + agua estéril; carril 6: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH1})]^+$  +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + agua estéril; carril 7: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L1})]^+$  + agua estéril; carril 8: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L1})]^+$  +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + agua estéril.

Los resultados a 90 minutos de incubación, se muestran en la Figura 74, para los compuestos  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]^+$ ,  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN1})]^+$  en ausencia y en presencia de peróxido de hidrógeno, se observó la presencia del ADN superenrollado y circular, aunque no hay ningún

efecto significativo en comparación con los controles, ya que la intensidad de las bandas no presenta ningún cambio.

En este tiempo, para los compuestos  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH1})]^+$ ,  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH1})]^+$  y  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L1})]^+$ , en ausencia y en presencia de peróxido de hidrógeno, también se observaron las bandas del ADN superenrollado (Forma I) y circular (Forma II), sin embargo, se comienza a observar el impacto sobre el ADN plasmídico. En ausencia de peróxido de hidrógeno se observa un incremento en la intensidad de la circular (Forma II). En presencia de peróxido de hidrógeno la banda del ADN circular incrementa en intensidad, lo que indica que la capacidad de romper al ADN incrementa.

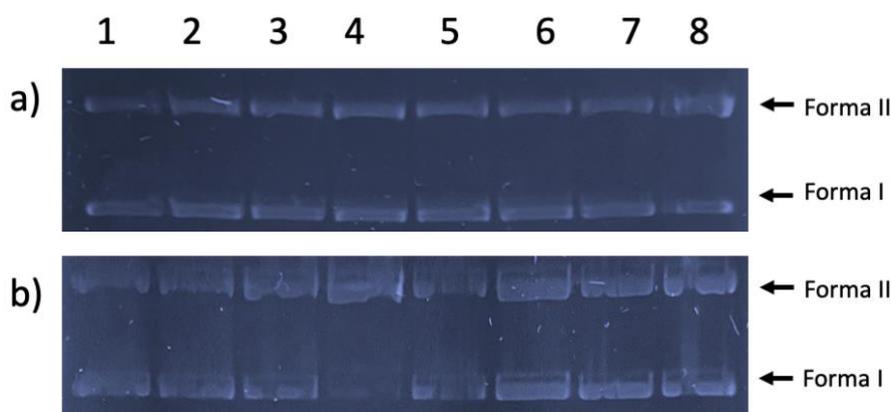


Figura 74. Resultados de electroforesis de gel de agarosa (1%) a 90 min. 4  $\mu\text{L}$  del plásmido pBR322, 2  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (10  $\mu\text{M}$ ), 2  $\mu\text{L}$  del complejo disuelto en DMSO (85  $\mu\text{M}$ ) y agua estéril hasta un volumen de 20  $\mu\text{L}$ . a) Carril 1: plásmido pBR322 + agua estéril; carril 2: plásmido pBR322 +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + agua estéril; carril 3: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$  + agua estéril; carril 4: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$  +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + agua estéril; carril 5: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]^+$  + agua estéril; carril 6: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]^+$  +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + agua estéril; carril 7: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN1})]^+$  + agua estéril; carril 8: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN1})]^+$  +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + agua estéril. b) Carril 1: plásmido pBR322 + agua estéril; carril 2: plásmido pBR322 +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + agua estéril; carril 3: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH1})]^+$  + agua estéril; carril 4: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH1})]^+$  +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + agua estéril; carril 5: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH1})]^+$  +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + agua estéril; carril 6: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH1})]^+$  + agua estéril; carril 7: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L1})]^+$  + agua estéril; carril 8: plásmido pBR322 +  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L1})]^+$  +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + agua estéril.

A las 12 horas de incubación, se observó que la forma de ADN superenrollada (Forma I) disminuye en presencia de todos los complejos evaluados  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{LH1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]^+$ ,  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN1})]^+$ ,  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH1})]^+$ ,  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH1})]^+$  y  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L1})]^+$ , aumentando la intensidad de la banda del ADN circular (Forma II). Este efecto se incrementó para los compuestos mixtos y para los compuestos con los ligantes hidrogenados (Figura 75).

En presencia de  $\text{H}_2\text{O}_2$  se observó que la formación de la Forma II aumenta en comparación con los estudios sin  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Para los compuestos  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN1})]^+$ ,  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH1})]^+$  y  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L1})]^+$  se observó la formación de ADN lineal (Forma III). En

presencia de  $H_2O_2$ , la capacidad de los complejos para romper el ADN fue más eficaz, lo que puede deberse a la reacción del radical hidroxilo con el ADN.<sup>24</sup> Además, está claro que los complejos mixtos e hidrogenados exhiben una mayor capacidad de romper el ADN en comparación con los complejos no mixtos.

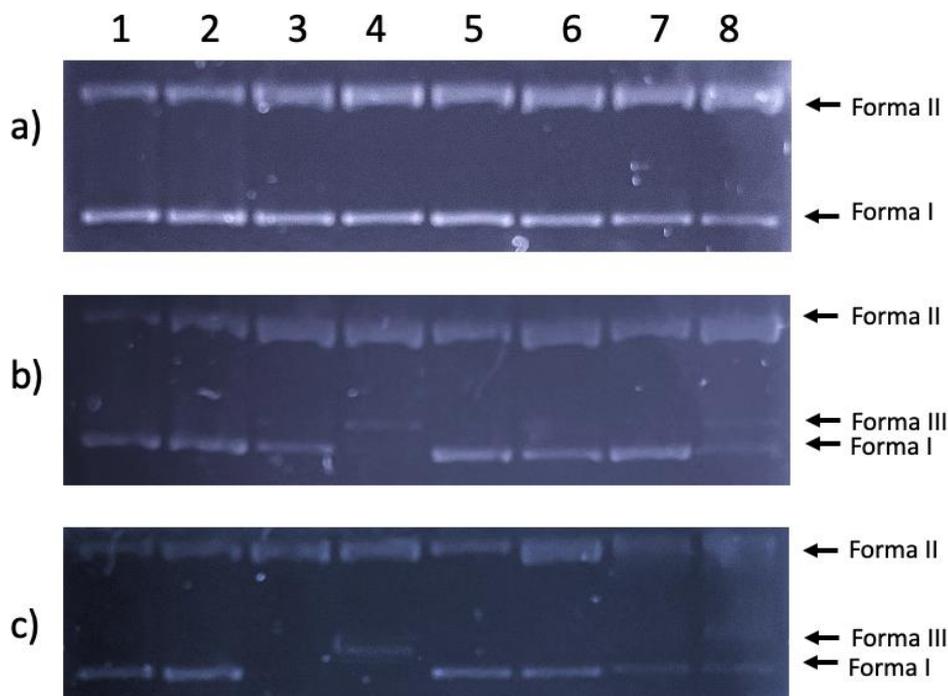


Figura 75. Resultados de electroforesis de gel de agarosa (1%) a 12h. 4  $\mu$ L del plásmido pBR322, 2 $\mu$ L de  $H_2O_2$  (10  $\mu$ M), 2  $\mu$ L del complejo disuelto en DMSO (85  $\mu$ M) y agua estéril hasta un volumen de 20  $\mu$ L. a) Carril 1: plásmido pBR322 + agua estéril; carril 2: plásmido pBR322 +  $H_2O_2$  + agua estéril; carril 3: plásmido pBR322 +  $[Cu(L1)(NO_3)]$  + agua estéril; carril 4: plásmido pBR322 +  $[Cu(L1)(NO_3)]$  +  $H_2O_2$  + agua estéril; carril 5: plásmido pBR322 +  $[Cu(LN1)(NO_3)]$  + agua estéril; carril 6: plásmido pBR322 +  $[Cu(LN1)(NO_3)]$  +  $H_2O_2$  + agua estéril; carril 7: plásmido pBR322 +  $[Cu(LH1)(NO_3)]$  + agua estéril; carril 8: plásmido pBR322 +  $[Cu(LH1)(NO_3)]$  +  $H_2O_2$  + agua estéril. b) Carril 1: Plásmido pBR322 + agua estéril; carril 2: plásmido pBR322 +  $H_2O_2$  + agua estéril; carril 3: plásmido pBR322 +  $[Cu(LNH1)(NO_3)]$  + agua estéril; carril 4: plásmido pBR322 +  $[Cu(LNH1)(NO_3)]$  +  $H_2O_2$  + agua estéril; carril 5: Plásmido pBR322 +  $[Cu(dmbpy)(L1)]^+$  + agua estéril; carril 6: Plásmido pBR322 +  $[Cu(dmbpy)(L1)]^+$  +  $H_2O_2$  + agua estéril; carril 7: plásmido pBR322 +  $[Cu(dmbpy)(LN1)]^+$  + agua estéril; carril 8: plásmido pBR322 +  $[Cu(dmbpy)(LN1)]^+$  +  $H_2O_2$  + agua estéril. c) Carril 1: plásmido pBR322 + agua estéril; carril 2: plásmido pBR322 +  $H_2O_2$  + agua estéril; carril 3: plásmido pBR322 +  $[Cu(dmbpy)(LH1)]^+$  + agua estéril; carril 4: plásmido pBR322 +  $[Cu(dmbpy)(LH1)]^+$  +  $H_2O_2$  + agua estéril; carril 5: plásmido pBR322 +  $[Cu(dmbpy)(LNH1)]^+$  + agua estéril; carril 6: plásmido pBR322 +  $[Cu(dmbpy)(LNH1)]^+$  +  $H_2O_2$  + agua estéril; carril 7: plásmido pBR322 +  $[Cu(phen)(L1)]^+$  + agua estéril; carril 8: plásmido pBR322 +  $[Cu(phen)(L1)]^+$  +  $H_2O_2$  + agua estéril.

# **5. Conclusiones**

El análisis de los productos obtenidos de las síntesis y caracterización de los compuestos planteados en los objetivos se derivan los siguientes hallazgos:

- El efecto de la hidrogenación de enlace imino de las bases de Schiff y el incremento en la cadena de metilenos confieren una mayor flexibilidad al ligante, generando una mayor distorsión, lo que se refleja en las geometrías de los compuestos de coordinación.
- La citotoxicidad de los compuestos frente a la línea celular tumoral HeLa y MDA-MD-231 mostró que todos los compuestos presentan actividad biológica. Las Casiopeínas de cuarta generación fueron más activas que los compuestos no mixtos, incluso tan activas como el cisplatino y la Casiopeína III-ia.
- Los compuestos ternarios presentan mejor actividad biológica frente a la línea tumoral HeLa debido a la adición de la bipyridina en la estructura, que puede incrementar interacciones con ADN y a su vez añadir el segundo ligante hace a los compuestos menos oxidantes, lo que se puede significar que el mecanismo de acción de los compuestos puede ser a través de especies reactivas de oxígeno, como se ha demostrado para las otras generaciones de Casiopeínas.
- El  $E_{pc}$ ,  $\text{Log}P_{o/a}$  y el número de anillos aromáticos conjugados en el ligante se utilizaron como descriptores de la actividad biológica, lo que permitió proponer que el posible mecanismo de acción de los compuestos involucra la generación de ERO e interacciones moleculares con blancos moleculares como el ADN, similar a la primera generación de Casiopeínas, que pudo ser corroborado por estudios de interacción de los complejos con CT-ADN y por electroforesis en gel utilizando el plásmido pBr322 en presencia y ausencia de  $\text{H}_2\text{O}_2$ .
- Los estudios de interacción del ADN mediante espectroscopía electrónica y electroforesis en gel nos permitieron comprobar que los compuestos pueden presentar diferentes interacciones con el ADN, como interacciones en el surco, formación de aductos e intercalación y éstas dependen de los ligantes coordinados.
- Los cambios estructurales en los ligantes tridentados (L1, LN1, LH1 y LNH1) y en la diamina aromática (dmbpy o phen) que mejoran la actividad de los compuestos fueron la hidrogenación de los ligantes base de Schiff (LH1 y LNH1) que podrían favorecer enlaces de hidrógeno con dianas moleculares y que presentaron una  $K_b$  mayor; el incremento en la aromaticidad en los ligantes, ya sea usando el sustituyente naftil en el ligante tridentado o coordinando una diamina aromática (LN1, LNH1, dmbpy y phen), debido a que podrían favorecer las interacciones con el ADN de tipo intercalación  $\pi \dots \pi$ .
- La electroforesis en gel permitió comprobar que los compuestos pueden estar involucrados en la generación de especies reactivas de oxígeno, ya que la capacidad de romper el ADN aumenta

en presencia de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , de igual forma permitió observar que los compuestos mixtos e hidrogenados generan mayor daño en el ADN en comparación con los no mixtos.

- La adición de los ligantes secundarios tridentados confiere una gran versatilidad a las Casiopeínas de cuarta generación, debido a que la fácil síntesis y la elección de precursores de aminas y aldehídos nos permite generar un gran número de nuevos ligantes, con los que se pueden modular las propiedades de los complejos, como el potencial redox, la lipofilicidad, e incluso la adición de grupos funcionales que favorecen las interacciones intermoleculares con dianas biológicas. El uso de ligantes tridentados como ligantes secundarios podrá ayudar a generar nuevos compuestos que sean más activos en células tumorales al modular las propiedades del complejo que intervienen en la actividad biológica.

## 6. Referencias

1. Organización Mundial de la Salud. Cancer. *web* <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer> (2020).
2. Botelho, M. C., Teixeira, J. P. and Oliveira, P. A. Carcinogenesis. *Encycl. Toxicol. Third Ed.* 713–729 (2014).
3. Cleveland Clinic. Chemotherapy Drugs. (2032).
4. National Cancer Institute. Types of Chemotherapy Drugs. (2023).
5. Anand, U. Dey, A., Singh Chandel, A. K., Sandyal, R., Mishra, A., Pamdey, D. K., De Falco, V., Upadhyay, A., Kandimall, R., Chaudhary, A., Dhanjal, J. K., Dewanjee, S., Vallamkoondur, J. and Perez de la Laztra J. M. Cancer chemotherapy and beyond: Current status, drug candidates, associated risks and progress in targeted therapeutics. *Genes Dis.* (2022)
6. Von Sommaruga, E. and Reichardt, E. Ueber die Einwirkung des Ammoniaks auf Isatin. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **10**, 432–434 (1877).
7. Rosenberg, B. Platinum complexes for the treatment of Cancer. *Interdiscip. Sci. Rev.* **3**, 134–147 (1978).
8. Oun, R., Moussa, Y. E. and Wheate, N. J. The side effects of platinum-based chemotherapy drugs: A review for chemists. *Dalt. Trans.* **47**, 6645–6653 (2018).
9. Berners-Price, S. J., Ronconi, L. and Sadler, P. J. Insights into the mechanism of action of platinum anticancer drugs from multinuclear NMR spectroscopy. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **49**, 65–98 (2006).
10. Kidani, Y., Noji, M. and Tashiro, T. Antitumor activity of platinum(II) complexes of 1,2-diamino-cyclohexane isomers. *Gann, Japanese J. Cancer Res.* **71**, 637–643 (1980).
11. Cleare, M. J. and Hoeschele, J. D. Studies on the antitumor activity of group VIII transition metal complexes. Part I. Platinum (II) complexes. *Bioinorg. Chem.* **2**, 187–210 (1973).
12. Boulikas, T. Clinical overview on Lipoplatin™: A successful liposomal formulation of cisplatin. *Expert Opin. Investig. Drugs* **18**, 1197–1218 (2009).
13. Huang, R., Wallqvist, A. and Covell, D. G. Anticancer metal compounds in NCI's tumor-screening database: Putative mode of action. *Biochem. Pharmacol.* **69**, 1009–1039 (2005).
14. Mjos, K. D. and Orvig, C. Metallodrugs in medicinal inorganic chemistry. *Chem. Rev.* **114**, 4540–4563 (2014).
15. Páez-Franco, J. C., Zermelo-Ortega, M. R., de la O-Contreras C. M., Canseco-Gonzales, D., Parra-Unda J. R., Ávila-Sorrosa, A., Enríquez, R. G., Germán-Acasio, J. M. and Morales-Morales, D. Relevance of Fluorinated Ligands to the Design of Metallodrugs for Their Potential Use in Cancer Treatment. *Pharmaceutics* **14**, 1–36 (2022).
16. Yousuf, I., Bashir, M., Arjmand, F. and Tabassum, S. Advancement of metal compounds as therapeutic and diagnostic metallodrugs: Current frontiers and future perspectives. *Coord. Chem. Rev.* **445**, 214104 (2021).
17. Ruiz-Azuara, L. United States Patent. (1989).
18. Li, J., Davis, I., Griffith, W. P. and Liu, A. Formation of Monofluorinated Radical Cofactor in Galactose Oxidase through Copper-Mediated C-F Bond Scission. *J. Am. Chem. Soc.* **142**, 18753–18757 (2020).
19. Harris, E. D. Symposium: Regulation of Antioxidant Enzymes Copper as a Cofactor and Regulator of Copper, Zinc Superoxide Dismutase<sup>12</sup>. *J. Nutr.* **122**, 636–640 (1992).
20. Bravo-Gómez, M. E., García-Ramos, J. C., Gracia-Mora, I. and Ruiz-Azuara, L. Antiproliferative activity and QSAR study of copper(II) mixed chelate [Cu(N–N)(acetylacetonato )]NO<sub>3</sub> and [Cu(N–N)(glycinato )]NO<sub>3</sub> complexes. *J. Inorg. Biochem.* **103**, 299–309 (2009).
21. Novoa-Ramirez, C. S., Silva-Becerril, A., Olivera-Venturo, F. L., García-Ramos, J. C., Flores-Alamo, M. and Ruiz-Azuara, L. N / N Bridge Type and Substituent Effects on Chemical and Crystallographic Properties of Schiff-Base. *Crystals* **10**, 616 (2020).
22. Royer, A. and Sharman, T. Copper Toxicity. *StatPearls* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557456/>

- (2022).
23. Aust, S. D., Morehouse, L. A. and Thomas, C. E. Role of metals in oxygen radical reactions. *J. Free Radicals Biol. Med.* **1**, 3–25 (1985).
  24. Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Methods Enzymol.* **186**, 1–85 (1990).
  25. Koppenol, W. H. The Haber-Weiss cycle - 70 years later. *Redox Rep.* **6**, 229–234 (2001).
  26. Kachadourian, R., Brechbuhl, H. M., Ruiz-Azuara, L., Gracia-Mora, I. and Day, B. J. Casiopeína II-gly-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction in human lung cancer A549 and H157 cells. *Toxicology* **268**, 176–183 (2010).
  27. Pope, L. aur. M., Reich, K. A., Graham, D. R. and Sigman, D. avi. S. Products of DNA cleavage by the 1,10-phenanthroline-copper complex. Inhibitors of Escherichia coli DNA polymerase I. *J. Biol. Chem.* **257**, 12121–12128 (1982).
  28. Kellett, A., O’Connor, M., McCann, M., McNamara, M., Lynch, P., Rasair, G., McKee, V., Creaven, B., Walsh, M., McClean, S., Foltyn, A., O’Shea, O. & Devereux, M. Bis-phenanthroline copper(II) phthalate complexes are potent in vitro antitumour agents with ‘self-activating’ metallo-nuclease and DNA binding properties. *Dalt. Trans.* **40**, 1024–1027 (2011).
  29. Saha, D. K., Sandbhor, U., Shirisha, K., Padhye, S., Deobagkar, D., Anson, C. E., Powell, A. K. A novel mixed-ligand antimycobacterial dimeric copper complex of ciprofloxacin and phenanthroline. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **14**, 3027–3032 (2004).
  30. Lena Ruiz-Azuara. MX172967B - Procedimiento para la obtencion de nuevos complejos aminoacidatos de cobre mixtos a base de fenantrolinas y sus derivados alquilados como agentes anticancerigenos - Google Patents. *Patente* (1989).
  31. Reina, M., Hernández-Ayala, L. F., Bravo-Gómez, M. E., Gómez, V. and Ruiz-Azuara, L. Second generation of Casiopeinas®: A joint experimental and theoretical study. *Inorganica Chim. Acta* **517**, 120201 (2020).
  32. Elena Bravo-Gómez, M., Dávila-Manzanilla, S., Flood-Garibay, J., Muciño-Hernandez, M. A., Mendoza, A., García-Ramos, J. C., Moreno-Esparza, R., and Ruiz-Azuara, L. Secondary Ligand Effects on the Cytotoxicity of Several Casiopeína’s Group II Compounds. *J. Mex. Chem. Soc.* **56**, 85–92 (2012).
  33. Figueroa-DePaz, Y., Perez-Villanueva, J., Soria-Arteche, O., Martinez-Otero, D., Gómez-Vidales, V., Ortiz-Frade, L., and Ruiz-Azuara, L. Cytotoxic Activity and Structure – Activity Relationships of Mixed Chelate Compounds with Bioactive Secondary Ligands. *Molecules* **27**, 3504 (2022).
  34. De Vizcaya-Ruiz, A., Rivero-Muller, A., Ruiz-Ramirez, L., Kass, G. E. N., Kelland, L. R., Orr, R. M., and Dobrota, M. Induction of apoptosis by a novel copper-based anticancer compound, Casiopeina II, in L1210 murine leukaemia and CH1 human ovarian carcinoma cells. *Toxicol. Vitr.* **14**, 1–5 (2000).
  35. Xu, Y., Zhang, Q., Lin, F., Zhu, L. Huang, F., Zhao, L. and Ou, R. Casiopeina II-gly acts on lncRNA MALAT1 by miR-17-5p to inhibit FZD2 expression via the Wnt signaling pathway during the treatment of cervical carcinoma. *Oncol. Rep.* **42**, 1365–1379 (2019).
  36. Hordyjewska, A., Popiolek, L. and Kocot, J. The many ‘‘faces’’ of copper in medicine and treatment. *BioMetals* **27**, 611–621 (2014).
  37. Iakovidis, I., Delimaris, I. and Piperakis, S. M. Copper and Its Complexes in Medicine: A Biochemical Approach. *Mol. Biol. Int.* **2011**, 1–13 (2011).
  38. Marverti, G., Gozzi, G., Lauriola, A. and Ponterini, G. The 1, 10-Phenanthroline Ligand Enhances the Antiproliferative Activity of DNA-Intercalating Thiourea-Pd(II) and -Pt(II) Complexes Against Cisplatin-Sensitive and -Resistant Human Ovarian Cancer Cell Lines. *Int. J. Mol. Sci.* **20**, 6122–6135 (2019).
  39. Pich, C. T., dosSantos, P. R., Fortunato, T. V. O., Chiarello, M., de Oliveira, I.M., and Soares, B. Q.,

- Ghermani, N. E., Machado, M., Roesch-Ely, M., Dumas, F., Ternzi, H., Henriques, J. A. P. & Moura, S. Mixed ternary mononuclear copper(II) complexes based on valproic acid with 1,10-phenanthroline and 2,2'-bipyridine ligands: DNA interaction and cytotoxicity in V79 cells. *J. Braz. Chem. Soc.* **30**, 597–613 (2019).
40. Barton, J. K. Tris (Phenanthroline) metal complexes: Probes for dna helicity. *J. Biomol. Struct. Dyn.* **1**, 621–632 (1983).
  41. Barton, J. K., Goldberg, J. M., Kumar, C. V. and Turro, N. J. Binding Modes and Base Specificity of Tris(phenanthroline)ruthenium(II) Enantiomers with Nucleic Acids: Tuning the Stereoselectivity. *J. Am. Chem. Soc.* **108**, 2081–2088 (1986).
  42. Prabhakara, M. C. and Bhojya Naik, H. S. Mixed ligand Ni(II) complexes: DNA binding, oxidative and photocleavage studies. *Main Gr. Chem.* **7**, 97–107 (2008).
  43. Novoa-Ramírez, C. S., Silva-Becerril, A., Gonzalez-Ballesteros, M., Gomez-Vidales, V., Flores-Alamo, M., Ortiz-Frade, L., Gracias-Mora, J., and Ruiz-Azuara, L.. Biological activity of mixed chelate copper(II) complexes, with substituted diimine and tridentate Schiff bases (NNO) and their hydrogenated derivatives as secondary ligands: Casiopeína's fourth generation. *J. Inorg. Biochem.* **242**, 112097 (2022).
  44. Valencia-Cruz, A. I., Uribe-Figueroa, L. I., Galindo-Murillo, R., Baca-López, C., Gutierrez, G. Vazquez-Aguirre, A., Ruiz-Azuara, L., Hernandez-Lemus. E., and Mejía, C.. Whole Genome Gene Expression Analysis Reveals Casiopeína-Induced Apoptosis Pathways. *PLoS One* **8**, e54664 (2013).
  45. Galindo-Murillo, R., García-Ramos, J. C., Ruiz-Azuara, L., Cheatham, T. E. and Cortés-Guzmán, F. Intercalation processes of copper complexes in DNA. *Nucleic Acids Res.* **43**, 5364–5376 (2015).
  46. Figueroa-DePaz, Y., Resendiz-Acevedo, K., Dávila-Manzanilla, S. G., Garcia-Ramos, J. C., Ortiz-Frade, L., Serment-Guerrero, J., and Ruiz-Azuara, L. DNA, a target of mixed chelate copper(II) compounds (Casiopeinas®) studied by electrophoresis, UV–vis and circular dichroism techniques. *J. Inorg. Biochem.* **231**, 111772 (2022).
  47. Bravo-Gómez, M. E., Campero-Peredo, C., García-Conde, D., Mosqueria-Santillán, M. J., Serment-Guerrero, J. and Ruiz-Azuara, L. DNA-binding mode of antitumoral copper compounds (Casiopeinas®) and analysis of its biological meaning. *Polyhedron* **102**, 530–538 (2015).
  48. Cordes, E. ugen. H. and Jencks, W. P. On the Mechanism of Schiff Base Formation and Hydrolysis. *J. Am. Chem. Soc.* **84**, 832–837 (1962).
  49. Raczuk, E., Dmochowska, B., Samaszko-Fiertek, J. and Madaj, J. Different Schiff Bases—Structure, Importance and Classification. *Molecules* **27**, 787–801 (2022).
  50. Hameed, A., al-Rashida, M., Uroos, M., Abid Ali, S. and Khan, K. M. Schiff bases in medicinal chemistry: a patent review (2010-2015). *Expert Opin. Ther. Pat.* **27**, 63–79 (2017).
  51. da Silva, C. M., da Silva, D. L., Modolo, L. V., Alves, R. B., de Resende, M. A., Martis, C. V. B. and da Fátima, A.. Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities. *J. Adv. Res.* **2**, 1–8 (2011).
  52. Tümer, M., Köksal, H., Sener, M. K. and Serin, S. Antimicrobial activity studies of the binuclear metal complexes derived from tridentate Schiff base ligands. *Transit. Met. Chem.* **24**, 414–420 (1999).
  53. Shi, L. Ge, H. Tan, S., Li, H. Song, Y., Zhu, H. and Tan, R. Synthesis and antimicrobial activities of Schiff bases derived from 5-chloro-salicylaldehyde. *Eur. J. Med. Chem.* **42**, 558–564 (2007).
  54. Raman, N. and Selvan, A. Studies on DNA binding, electrochemical activation, DNA photocleavage, and biopotency of N and O donor bidentate ligands with Cu(II), Co(II), and Zn(II). *J. Coord. Chem.* **64**, 534–553 (2011).
  55. Uddin, N., Rashid, F., Ali, S., Tirmizi, S. A., Ahmad, I., Zaib, S., Zubir, M., Diaconescu, P. L., Nawaz, M., Iqbal, J. and Haider, A. Synthesis, characterization, and anticancer activity of Schiff bases. *J. Biomol. Struct. Dyn.* **38**, 3246–3259 (2020).

56. Neelima, Poonia, K., Siddiqui, S., Arshad, M. and Kumar, D. In vitro anticancer activities of Schiff base and its lanthanum complex. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **155**, 146–154 (2016).
57. Mahmoud, W. H., Deghadi, R. G. and Mohamed, G. G. Novel Schiff base ligand and its metal complexes with some transition elements. Synthesis, spectroscopic, thermal analysis, antimicrobial and in vitro anticancer activity. *Appl. Organomet. Chem.* **30**, 221–230 (2016).
58. Abd-Elzaher, M. M., Labib, A. A., Mousa, H. A., Moustafa, S. A., Ali, M. M. and El-Rashedy, A. A.. Synthesis, anticancer activity and molecular docking study of Schiff base complexes containing thiazole moiety. *Benu-Suef J. Basic Appl. Sci.* **5**, 85–96 (2016).
59. Boulguemh, I. E., Beghidja, A., Khattabi, L., Long, J. and Beghidja, C. Monomeric and dimeric copper (II) complexes based on bidentate N'-(propan-2-ylidene) thiophene carbohydrazide Schiff base ligand: Synthesis, structure, magnetic properties, antioxidant and anti-Alzheimer activities. *Inorganica Chim. Acta* **507**, 119519 (2020).
60. Koçyiğit, Ü. M., Gezegen, H. and Taslimi, P. Synthesis, characterization, and biological studies of chalcone derivatives containing Schiff bases: Synthetic derivatives for the treatment of epilepsy and Alzheimer's disease. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **353**, 1–11 (2020).
61. Taylor, M. K., Reglinski, J., Berlouis, L. E. and Kennedy, A. R. The effect of donor groups and geometry on the redox potential of copper Schiff base complexes. *Inorganica Chim. Acta* **359**, 2455–2464 (2006).
62. Taylor, M. K., Reglinski, J. and Wallace, D. Coordination geometry of tetradentate Schiff's base nickel complexes: The effects of donors, backbone length and hydrogenation. *Polyhedron* **23**, 3201–3209 (2004).
63. Ananth, K. M., Kanthimathi, M. and Nair, B. U. An e . p . r . study of tetradentate Schiff base copper complexes with an N-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-N , n = 3-6 backbone. *Transit. Met. Chem.* **26**, 333–338 (2001).
64. Taylor, M. K., Stevenson, D. E., Berlouis, L. E. A., Kennedy, A. R. and Reglinski, J. Modelling the impact of geometric parameters on the redox potential of blue copper proteins. *J. Inorg. Biochem.* **100**, 250–259 (2006).
65. Wezenberg, S. J. and Kleij, A. W. Minireviews Material Applications for Salen Frameworks. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **47**, 2354–2364 (2008).
66. Zoubi, W. Al. Biological Activities of Schiff Bases and Their Complexes: A Review of Recent Works. *Int. J. Org. Chem.* **3**, 73–95 (2013).
67. Pragathi, M. and Reddy, K. H. Synthesis , spectral characterization and DNA interactions of copper (II) and nickel (II) complexes with unsymmetrical Schiff base ligands. *Indian J. Chem.* **52**, 845–853 (2013).
68. Jeslin Kanaga Inba, P., Annaraj, B., Thalamuthu, S. and Neelakantan, M. A. Cu(II), Ni(II), and Zn(II) complexes of salan-type ligand containing ester groups: Synthesis, characterization, electrochemical properties, and in vitro biological activities. *Bioinorg. Chem. Appl.* **2013**, 439848 (2013).
69. Muller, J. G., Paikoff, S. J., Rokita, S. E. and Burrows, C. J. DNA modification promoted by water-soluble nickel(II) salen complexes: a switch to DNA alkylation. *J. Inorg. Biochem.* **54**, 199–206 (1994).
70. Shearer, J. M. and Rokita, S. E. Diamine preparation for synthesis of a water soluble Ni(II) salen complex. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **9**, 501–504 (1999).
71. Zhou, L., Cai, P., Feng, Y., Cheng, J., Xiang, H., Liu, J., Wu, D. and Zhou, X. Synthesis and photophysical properties of water-soluble sulfonato-Salen-type Schiff bases and their applications of fluorescence sensors for Cu<sup>2+</sup> in water and living cells. *Anal. Chim. Acta* **735**, 96–106 (2012).
72. Allard, M., Ricoux, R., Guillot, R. and Mahy, J. P. Reactivity and X-ray structure of a new water-soluble manganese-salen complex. *Inorganica Chim. Acta* **382**, 59–64 (2012).
73. Correia, I. Pessoa, J. C, Duarte, M. T., Henriques, R. T., Piedade, M. F. M., Veiros, L. F., Jakusch, T., Kiss, T., Dörneyei, A., Castro, M. M.C. A., Geraldes, C. F. G. C. and Aveçilla F. N,N'-Ethylenebis(pyridoxylideneiminato) and N,N' -Ethylenebis(pyridoxylaminato): Synthesis, Characterization,

- Potentiometric, Spectroscopic, and DFT Studies of Their Vanadium(IV) and Vanadium(V) Complexes. *Chem. - A Eur. J.* **10**, 2301–2317 (2004).
74. Correia, I., Pessoa, J. C., Duarte, M. T., Minas, M. F., Jackush, T., Kiss, T., Castro, M. M. C. A., Gealdes, C. F. G. C. and AVECILLA, F.. Vanadium(IV and V) complexes of Schiff bases and reduced Schiff bases derived from the reaction of aromatic o-hydroxyaldehydes and diamines: Synthesis, characterisation and solution studies. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2005**, 732–744 (2005).
  75. Trotter, K. D., Taylo, M. K., Forgie, J. C., Reglisnki, J., Berlouis, L. E. A., Kennedy, A. R. Spickett, C. M and Sowden, R. J.. The structural and electrochemical consequences of hydrogenating copper N2S2 Schiff base macrocycles. *Inorganica Chim. Acta* **363**, 1529–1538 (2010).
  76. Butsch, K., Günter, T., Klein, A., Stirnat, K. Berkessel, A. and Neudörfl, J. Redox chemistry of copper complexes with various salen type ligands. *Inorganica Chim. Acta* **394**, 237–246 (2013).
  77. Bottcher, A., Elias, H., Jäger, E., Langfelderova, H., Mazur, M., Muller, L., Paulus, H., Pelikan, P., Rudolph, M. and Valko, M. Comparative study on the coordination chemistry of cobalt(II), nickel(II), and copper(II) with derivatives of salen and tetrahydrosalen: metal-catalyzed oxidative dehydrogenation of the carbon-nitrogen bond in coordinated tetrahydrosalen. *Inorg. Chem.* **32**, 4131–4138 (1993).
  78. Hang, Z. X., Dong, B. and Wang, X. W. Synthesis, crystal structures, and antibacterial activity of zinc(II) complexes with bis-schiff bases. *Synth. React. Inorganic, Met. Nano-Metal Chem.* **42**, 1345–1350 (2012).
  79. Fasina, T. M., Ogundele, O., Ejiah, F. N. and Dueke-Eze, C. U. Biological activity of copper (II), cobalt (II) and nickel (II) complexes of Schiff base derived from O-phenylenediamine and 5-bromosalicylaldehyde. *Int. J. Biol. Chem.* **6** 24–30 (2012).
  80. Meshkini, A. and Yazdanparast, R. Chemosensitization of human leukemia K562 cells to taxol by a Vanadium-salen complex. *Exp. Mol. Pathol.* **89**, 334–342 (2010).
  81. Immel, T. A., Grützke, M., Batroff, E., Groth, U. & Huhn, T. Cytotoxic dinuclear titanium-salan complexes: Structural and biological characterization. *J. Inorg. Biochem.* **106**, 68–75 (2012).
  82. Ansari, K. I., Grant, J. D., Kasiri, S., Woldemariam, G., Shrestha, B. & Mandal, S. S. Manganese(III)-salens induce tumor selective apoptosis in human cells. *J. Inorg. Biochem.* **103**, 818–826 (2009).
  83. Dvořák, Z., Štarha, P., Šindelář, Z. & Trávníček, Z. Evaluation of in vitro cytotoxicity of one-dimensional chain [Fe(salen)(L)]<sub>n</sub> complexes against human cancer cell lines. *Toxicol. Vitro.* **26**, 480–484 (2012).
  84. Zhou, C. Q., Liao, T., González-García, J., Reynolds, M., Zou, M. and Vilar, R. Dinickel-Salphen Complexes as Binders of Human Telomeric Dimeric G-Quadruplexes. *Chem. - A Eur. J.* **23**, 4713–4722 (2017).
  85. Baecker, D., Sesli, O., Knabl, L., Huber, S. and Orth-Höller, D. Investigating the antibacterial activity of salen/salophene metal complexes: Induction of ferroptosis as part of the mode of action. *Eur. J. Med. Chem.* **209**, 112907 (2021).
  86. Said Yemille Rosales Ortega. Síntesis y caracterización de compuestos de coordinación de Cu(II) con ligantes tipo salen y salpen con posible actividad biológica. (Universidad Nacional Autónoma de México, 2016).
  87. Cynthia Sinai Novoa Ramirez. Estudio de la variación del sustituyente y la hidrogenación del ligante 5-X-H<sub>2</sub>salbu en ompuestos de coordinación de Cu(II) y su efecto en la actividad biológica. (Universidad Nacional Autónoma de México, 2017).
  88. Sousa, C., Freire, C. and De Castro, B. Synthesis, spectroscopic and electrochemical characterisation of nickel complexes with two N2O tridentate, unsymmetrical Schiff base ligands. *J. Coord. Chem.* **54**, 1–12 (2001).
  89. Elder, R. C. Tridentate and unsymmetrical tetradentate schiff base ligands from salicylaldehydes and diamines: Their monomeric and dimeric nickel(II) complexes. *Aust. J. Chem.* **31**, 35–45 (1978).
  90. Naiya, S., Giri, S., Biswas, S., Drew, M. G. B. and Ghosh, A. Structural and theoretical investigation on two dinuclear Fe(III) complexes of tridentate NNO-donor Schiff base ligands. *Polyhedron* **73**, 139–145 (2014).

91. Biswas, R., Kar, P., Song, Y. and Ghosh, A. The importance of an additional water bridge in making the exchange coupling of bis( $\mu$ -phenoxo) dinickel(II) complexes ferromagnetic. *Dalt. Trans.* **40**, 5324–5331 (2011).
92. Naiya, S., Giri, S., Biswas, S., Drew, M. G. B. and Ghosh, A. A unique example of structural and magnetic diversity in four interconvertible copper(II)-azide complexes with the same schiff base ligand: A monomer, a dimer, a chain, and a layer. *Inorg. Chem.* **49**, 6616–6627 (2010).
93. Das, M., Ghosh, B. N., Valkonen, A., Rissanen, K. and Chattopadhyay, S. Copper(II) complexes with tridentate N2O donor Schiff base isomers: Modulation of molecular and crystalline architectures through supramolecular interactions. *Polyhedron* **60**, 68–77 (2013).
94. Pragathi, M. and Hussain Reddy, K. Synthesis, crystal structures, DNA binding and cleavage activity of water soluble mono and dinuclear copper(II) complexes with tridentate ligands. *Inorganica Chim. Acta* **413**, 174–186 (2014).
95. Areli Silva Becerril. Síntesis y caracterización de compuestos de coordinación mixtos de Cu(II) con ligandos tridentados con átomos donadores N2O y su posible actividad biológica. (Universidad Nacional Autónoma de México, 2019).
96. Tidwell, T. T. Hugo (Ugo) Schiff, Schiff bases, and a century of  $\beta$ -lactam synthesis. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **47**, 1016–1020 (2008).
97. Reglinski, J., Taylor, M. K. and Kennedy, A. R. Hydrogenated Schiff base ligands: Towards the controlled organisation of open metal frameworks. *Inorg. Chem. Commun.* **9**, 736–739 (2006).
98. Agilent. CrysAlisPro Data Collection and Processing Software for Agilent X-ray Diffractometers. *Technologies UK Ltd, Yarnton, Oxford, UK*, **44** 1–53 (2014).
99. Clark, R. C. and Reid, J. S. The analytical calculation of absorption in multifaceted crystals. *Acta Crystallogr. Sect. A* **51**, 887–897 (1995).
100. Sheldrick, G. M. SHELXT - Integrated space-group and crystal-structure determination. *Acta Crystallogr. Sect. A Found. Crystallogr.* **71**, 3–8 (2015).
101. Sheldrick, G. M. Crystal structure refinement with SHELXL. *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.* **71**, 3–8 (2015).
102. Farrugia, L. J. WinGX and ORTEP for Windows: An update. *J. Appl. Crystallogr.* **45**, 849–854 (2012).
103. Macrae, C. F. *et al.* Mercury CSD 2.0 - New features for the visualization and investigation of crystal structures. *J. Appl. Crystallogr.* **41**, 466–470 (2008).
104. Vlahovic, F., Ivanovic, S., Zlatar, M. and Gruden, M. Density functional theory calculation of lipophilicity for organophosphate type pesticides. *J. Serbian Chem. Soc.* **82**, 1369–1378 (2017).
105. Michalík, M. and Lukeš, V. The validation of quantum chemical lipophilicity prediction of alcohols. *Acta Chim. Slovaca* **9**, 89–94 (2016).
106. Farrokhpour, H. and Manassir, M. Approach for predicting the standard free energy solvation of H<sup>+</sup> and acidity constant in nonaqueous organic solvents. *J. Chem. Eng. Data* **59**, 3555–3564 (2014).
107. Kelly, C. P., Cramer, C. J. and Truhlar, D. G. Aqueous solvation free energies of ions and ion-water clusters based on an accurate value for the absolute aqueous solvation free energy of the proton. *J. Phys. Chem. B* **110**, 16066–16081 (2006).
108. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* **65**, 55–63 (1983).
109. Denizot, F. & Lang, R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J. Immunol. Methods* **89**, 271–277 (1986).
110. Kuntz, I. D., Gasparro, F. P., Johnston, M. D. and Taylor, R. P. Molecular Interactions and the Benesi-

- Hildebrand Equation. *J. Am. Chem. Soc.* **90**, 4778–4781 (1968).
111. Thermo Scientific. 260/280 and 260/230 Ratios. T042-TECHNICAL BULLETIN NanoDrop Spectrophotometers (1975).
  112. Schaith, L. M. T., Hanson, R. S. and Que, L. Double-Stranded Cleavage of pBR322 by a Diiron Complex via a " Hydrolytic " Mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **91**, 569–573 (1994).
  113. Addison, C. C., Logan, N., Wallwork, S. C. and Garner, C. D. Structural aspects of co-ordinated nitrate groups. *Q. Rev. Chem. Soc.* **25**, 289–322 (1971).
  114. Karayannis, N. M. Sonsino, S. D., Mikuski, C. M., Strocko, M. J., Pytlewski, L. L. and Labes, M. M. Mono- and bi-dentate nitrate and cationic 4-ethoxypyridine N-oxide complexes with metal nitrates. *Inorganica Chim. Acta* **4**, 141–144 (1970).
  115. Lever, A. B. P., Mantovani, E. and Ramaswamy, B. S. Nitrate Groups in various Coordination Environments.
  116. Geary, W. J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds. *Coord. Chem. Rev.* **7**, 81–122 (1971).
  117. Ali, I., Wani, W. A. and Saleem, K. Empirical formulae to molecular structures of metal complexes by molar conductance. *Synth. React. Inorganic, Met. Nano-Metal Chem.* **43**, 1162–1170 (2013).
  118. Archer, M. D. and Gasser, R. P. H. Electrolyte solutions in dimethyl sulphoxide: Part 2. - Caesium iodide. *Trans. Faraday Soc.* **62**, 3451–3458 (1966).
  119. Romero, M. J., Pedrido, R., Gonzales-Noya, A. M., Maneiro, M., Fernandez-García, M. I. Zaragoza, G. and Bermejo, M. R.. Versatile coordination behaviour of an asymmetric half-salen ligand bearing a dansyl fluorophore. *Dalt. Trans.* **41**, 10832–10844 (2012).
  120. Kathiresan, S., Anand, T., Muges, S. and Annaraj, J. Synthesis, spectral characterization and DNA bindings of tridentate N2O donor Schiff base metal(II) complexes. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **148**, 290–301 (2015).
  121. Yang, C. J. and Jenekhe, S. A. Conjugated Aromatic Poly(azomethines). 1. Characterization of Structure, Electronic Spectra, and Processing of Thin Films from Soluble Complexes. *Chem. Mater.* **3**, 878–887 (1991).
  122. Adão, P., Barroso, S., Aveçilla, F., Oliveira, M. C. and Pessoa, J. C. CuII-salan compounds: Synthesis, characterization and evaluation of their potential as oxidation catalysts. *J. Organomet. Chem.* **760**, 212–223 (2014).
  123. Tedim, J., Patrício, S., Bessada, R., Morais, R., Sousa, C., Marques, M. B. and Freire, C.. Third-order nonlinear optical properties of DA-salen-type nickel(II) and copper(II) complexes. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, 3425–3433 (2006).
  124. Hathaway, B. J. A new look at the stereochemistry and electronic properties of complexes of the copper(II) ion. *Complex Chem.* **57**, 55–118 (1984).
  125. Hathaway, B. J. and Billing, D. E. The electronic properties and stereochemistry of mono-nuclear complexes of the copper(II) ion. *Coord. Chem. Rev.* **5**, 143–207 (1970).
  126. Garribba, E. and Micera, G. The Determination of the Geometry of Cu(II) Complexes: An EPR Spectroscopy Experiment. *J. Chem. Educ.* **83**, 1229–1232 (2006).
  127. Basu, P. Use of EPR Spectroscopy in Elucidating Electronic Structures of Paramagnetic Transition Metal Complexes. *J. Chem. Educ.* **78**, 666–669 (2001).
  128. Labanowska, M., Bidzińska, E., Para, A. and Kurdziel, M. EPR investigation of Cu(II)-complexes with nitrogen derivatives of dialdehyde starch. *Carbohydr. Polym.* **87**, 2605–2613 (2012).
  129. Sakaguchi, U. and Addison, A. W. Spectroscopic and Redox Studies of Some Copper(II) Complexes with Bio- mimetic Donor Atoms : Implications for Protein Copper Centres. *J. Chem. Soc. Dalt. Trans.* **1979**, 600–608 (1979).

130. Szabó-Plánka, T., Rockenbauer, A., GyÖR, M. and Gaizer, F. ESR study of copper(II) complexes of  $\alpha$ -amino acids. Coordination modes and metal-ligand bonds in frozen aqueous solutions. *J. Coord. Chem.* **17**, 69–83 (1988).
131. Murav'ev, V. I. Interpretation of the parameters of the EPR spectra of transition metal complexes. *Russ. J. Coord. Chem.* **31**, 837–848 (2005).
132. Kivelson, D. and Neman, R. ESR studies on the bonding in copper complexes. *J. Chem. Phys.* **35**, 149–155 (1961).
133. Klement, R., Stock, F., Elias, H., Paulus, H., Pelikán, P., Valko, M. and Mazúr, M. Copper(II) complexes with derivatives of salen and tetrahydrosalen: a spectroscopic, electrochemical and structural study. *Polyhedron* **18**, 3617–3628 (1999).
134. García-Ramos, J. C., Galindo-Murillo, R., Tovar-Tovar, A., Alonso-Saenz, A. L., Gómez-Vidales, V., Flores-Alamo, M., Ortiz-Frade, L., Cortes-Guzmán, F., Moreno-Esparza, R., Campero, A. and Ruiz-Azuara, L. The  $\pi$ -back-bonding modulation and its impact in the electronic properties of Cu(II) antineoplastic compounds: an experimental and theoretical study. *Chem. - A Eur. J.* **20**, 13730–13741 (2014).
135. Yang, L., Powell, D. R. and Houser, R. P. Structural variation in copper(I) complexes with pyridylmethylamide ligands: Structural analysis with a new four-coordinate geometry index,  $\tau_4$ . *Dalt. Trans.* **2007**, 955–964 (2007).
136. Addison, A. W., Rao, T. N., Reedijk, J., Rijn, J. van and Verschoor, G. C. Synthesis, Structure, and Spectroscopic Properties of Copper(II) Compounds containing Nitrogen-Sulphur Donor Ligands. *J. Chem. Soc. Dalt. Transitions* **7**, 1349–1356 (1984).
137. Mabboil, G. A. An Introduction to Cyclic Voltammetry. *J. Chem. Educ.* **60**, 697–702 (1983).
138. Montilla, F., Huerta, F., Morallon, E. & Vazquez, J. L. Electrochemical behaviour of benzene on platinum electrodes. *Electrochim. Acta* **45**, 4271–4277 (2000).
139. Mustapha, A., Duckmanton, P., Reglinski, J. and Kennedy, A. R. N-donor ligand complexes of nickel, zinc and copper: Comparisons with tetradentate N-donor ligands derived from Schiff bases. *Polyhedron* **29**, 2590–2594 (2010).
140. Pessoa, J. C. and Correia, I. Salan vs. salen metal complexes in catalysis and medicinal applications: Virtues and pitfalls. *Coord. Chem. Rev.* **388**, 227–247 (2019).
141. Masuri, S., Vanhara, P., Cabiddu, M. G., Morán, L., Havel, J., Cadoni, E. and Pivatta, T. Copper(II) phenanthroline-based complexes as potential anticancer drugs: A walkthrough on the mechanisms of action. *Molecules* **27**, 1–26 (2022).
142. Pages, B. J., Ang, D. L., Wright, E. P. and Aldrich-Wright, J. R. Metal complex interactions with DNA. *Dalt. Trans.* **44**, 3505–3526 (2015).
143. Jaividhya, P., Dhivya, R., Akbarsha, M. A. and Palaniandavar, M. Efficient DNA cleavage mediated by mononuclear mixed ligand copper(II) phenolate complexes: The role of co-ligand planarity on DNA binding and cleavage and anticancer activity. *J. Inorg. Biochem.* **114**, 94–105 (2012).
144. Iwasaki, Y., Kimura, M., Yamada, A., Mutoh, T., Arai, H., Kitamura, Y. and Chikira, M. Conformational change of ternary copper(II) complexes of cationic Schiff-bases and N-heteroaromatic amines induced by intercalative binding to DNA. *Inorg. Chem. Commun.* **14**, 1461–1464 (2011).
145. Wheate, N. J., Brodie, C. R., Collins, J. G., Kemp, S. and Aldrich-Wright, J. R. DNA Intercalators in Cancer Therapy: Organic and Inorganic Drugs and Their Spectroscopic Tools of Analysis. *Mini-Reviews Med. Chem.* **7**, 627–648 (2007).
146. Villarreal, W., Colina-Vega, L., Visbal, G., Corona, O., Correa, R. S., Ellana, J., Cominetti, M. R., Batista, A. A. and Navarro, M. Copper(I)-Phosphine Polypyridyl Complexes: Synthesis, Characterization, DNA/HSA

- Binding Study, and Antiproliferative Activity. *Inorg. Chem.* **56**, 3781–3793 (2017).
147. Rescifina, A., Zagni, C., Varrica, M. G., Pistarà, V. and Corsaro, A. Recent advances in small organic molecules as DNA intercalating agents: Synthesis, activity, and modeling. *Eur. J. Med. Chem.* **74**, 95–115 (2014).
148. Bhattacharyya, A. A polynuclear and two dinuclear copper(II) Schiff base complexes: Synthesis, characterization, self-assembly, magnetic property and DFT study. *Polyhedron* **137**, 332–346 (2017).
149. Terenzi, A., Bonsignore, R., Spinello, A., Gentile, C., Martorana, A. Ducani, C., Högberg, B., Almerico, A. M. Lauria, A. and Barone, G. Selective G-quadruplex stabilizers: Schiff-base metal complexes with anticancer activity. *RSC Adv.* **4**, 33245–33256 (2014).
150. Liu, H.-K. and Sadler, P. J. Metal Complexes as DNA Intercalators. *Acc. Chem. Res.* **44**, 349–359 (2011).
151. Chen, H., Parkinson, J. A., Pearson, S., Coxall, R. A., Gould, R. O. & Sadler, P. J. Organometallic ruthenium(II) diamine anticancer complexes: Arene-nucleobase stacking and stereospecific hydrogen-bonding in guanine adducts. *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 3064–3082 (2002).
152. Hmoud Alotaibi, S. and Abdalla Momen, A. Anticancer Drugs' Deoxyribonucleic Acid (DNA) Interactions. *Biophys. Chem. - Adv. Appl.* 1–23 (2020) doi:10.5772/intechopen.85794.
153. Chikira, M., Ng, C. H. and Palaniandavar, M. Interaction of DNA with simple and mixed ligand copper(II) complexes of 1,10-phenanthrolines as studied by DNA-fiber EPR spectroscopy. *Int. J. Mol. Sci.* **16**, 22754–22780 (2015).
154. Chikira, M., Tomizawa, Y., Fukita, D., Sugizaki, T., Sugawara, N., Yamazaki, T., Sasano, A., Shindo, H., Palaniandavar, M. and Antholine, W. E. DNA-fiber EPR study of the orientation of Cu(II) complexes of 1,10-phenanthroline and its derivatives bound to DNA: Mono(phenanthroline)-copper(II) and its ternary complexes with amino acids. *J. Inorg. Biochem.* **89**, 163–173 (2002).
155. Cedillo-Gutiérrez, E. L., Hernandez-Ayala, L. F., Torres-Gutierrez, C., Reina, M., Flores-Alamo, M., Carrero, J. C., Ugalde-Saldivar, V. M. and Ruiz-Azuara, Lena. Identification of descriptors for structure-activity relationship in ruthenium (II) mixed compounds with antiparasitic activity. *Eur. J. Med. Chem.* **189**, 112084 (2020).
156. Lalitha, P. and Sivakamasundari, S. Calculation of molecular lipophilicity and drug likeness for few heterocycles. *Orient. J. Chem.* **26**, 135–141 (2010).
157. Lipinski, C. A. Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* **44**, 235–249 (2000).
158. Pugh, W. J., Degim, I. T. and Hadgraft, J. Epidermal permeability-penetrant structure relationships: 4, QSAR of permeant diffusion across human stratum corneum in terms of molecular weight, H-bonding and electronic charge. *Int. J. Pharm.* **197**, 203–211 (2000).
159. García-ramos, J. C. Galindo-Murillo, R., Cortes-Guzmán, F. and Ruiz-Azuara, L. Metal-Based Drug-DNA Interactions. **57**, 245–259 (2013).
160. Rehman, S. U., Sarwar, T., Husain, M. A., Ishqi, H. M. and Tabish, M. Studying non-covalent drug-DNA interactions. *Arch. Biochem. Biophys.* **576**, 49–60 (2015).
161. Sirajuddin, M., Ali, S. and Badshah, A. Drug-DNA interactions and their study by UV-Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **124**, 1–19 (2013).
162. Meyers, J. A., Sanchez, D., Elwell, L. P. and Falkow, S. Simple agarose gel electrophoretic method for the identification and characterization of plasmid deoxyribonucleic acid. *J. Bacteriol.* **127**, 1529–1537 (1976).



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Inorganic Biochemistry

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jinorgbio](http://www.elsevier.com/locate/jinorgbio)

## Biological activity of mixed chelate copper(II) complexes, with substituted diimine and tridentate Schiff bases (NNO) and their hydrogenated derivatives as secondary ligands: Casiopeína's fourth generation

Cynthia Sinai Novoa-Ramírez<sup>a</sup>, Areli Silva-Becerril<sup>b</sup>, Mauricio Misael González-Ballesteros<sup>a</sup>, Virginia Gomez-Vidal<sup>b</sup>, Marcos Flores-Álamo<sup>c</sup>, Luis Ortiz-Frade<sup>d</sup>, Jesús Gracia-Mora<sup>a</sup>, Lena Ruiz-Azuara<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Química Inorgánica y Nuclear, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 3000, Circuito Exterior S/N, Coyoacán, 04510 Ciudad de México, México

<sup>b</sup> Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 3000, Circuito Exterior S/N, Coyoacán, 04510 Ciudad de México, México

<sup>c</sup> Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 3000, Circuito Exterior S/N, Coyoacán, 04510 Ciudad de México, México

<sup>d</sup> Departamento de Electroquímica, Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica S.C. Parque Tecnológico, Sanfandila, Pedro de Escobedo, 76703 Querétaro, México

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Mixed copper(II) complexes  
cancer  
Schiff Base  
EPR  
Electrochemical studies  
Structure-activity relationship

### ABSTRACT

We synthesize and characterize nine copper(II) compounds. Four with general formula  $[\text{Cu}(\text{NNO})(\text{NO}_2)]$  and five mixed chelates  $[\text{Cu}(\text{NNO})(\text{N-N})]^+$ , where NNO corresponds to asymmetric salen ligands (E)-2-((2-(methylamino)ethylimino)methyl)phenolate (L1) and (E)-3-((2-(methylamino)ethylimino)methyl)naphthalenolate (LN1); and their hydrogenated derivatives 2-((2-(methylamino)ethylamino)methyl)phenolate (LH1) and 3-((2-(methylamino)ethylamino)methyl)naphthalenolate (LNH1); and N-N correspond to 4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridine (dmby) or 1,10-phenanthroline (phen). Using EPR, the geometries of the compounds in solution in DMSO were assigned,  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_2)]$  and  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_2)]$  a square-planar,  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_2)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{LH1})(\text{NO}_2)]$ ,  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{dmby})]^+$  and  $[\text{Cu}(\text{LH1})(\text{dmby})]^+$  a square-based pyramid; and  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{dmby})]^+$ ,  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{dmby})]^+$  and  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{phen})]^+$  and elongated octahedral. By X-ray it was observed that  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{dmby})]^+$  and  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{dmby})]^+$  presented a square-based pyramidal, and  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_2)]^+$  a square-planar geometry. The electrochemical study showed that copper reduction process is a quasi-reversible system, where the complexes with hydrogenated ligands were less oxidizing. The cytotoxicity of the complexes was tested by MTT assay, all the compounds showed biological activity in HeLa cell line, the mixed compounds were the more active ones. Naphthalene moiety, imine hydrogenation and aromatic diimine coordination, increased biological activity. A structure-activity relationships were found:  $\text{Log}(IC_{50}) = -1.01(E_{pc}) - 0.35(\text{Conjugated Rings}) + 0.87$ , for Schiff base complexes and  $\text{Log}(IC_{50}) = 0.078(E_{pc}) - 0.32(\text{Conjugated Rings}) + 1.94$ , for hydrogenated complexes; the less oxidizing species with a great number of conjugated rings presented the best biological activity. Complex-DNA binding constants were obtained by uv-vis studies using CT-DNA, the results suggested that the complexes can interact through the grooves, except the phenanthroline mixed complex that intercalate with DNA. Gel electrophoresis study with pBR 322 showed that compounds can produce changes in the form of DNA and some complexes can cleave DNA in the presence of  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

### 1. Introduction

Since the discovery of the antitumor activity of cisplatin, the rational design of metal-based anticancer agents that can potentially be used in

cancer chemotherapy has been carried out as a novel therapeutic alternative with less secondary effects [1].

Copper molecules used as antitumor drugs have been shown to be less toxic than platinum compounds, since copper is an essential metal.

\* Corresponding author.

E-mail address: [lenar701@quimica.unam.mx](mailto:lenar701@quimica.unam.mx) (L. Ruiz-Azuara).

<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2022.112097>

Received 31 August 2022; Received in revised form 29 November 2022; Accepted 7 December 2022

Available online 9 December 2022

0162-0134/© 2022 Published by Elsevier Inc.

Copper(I) and copper(II) molecules can participate in intracellular redox reactions in the presence of  $O_2^{\bullet-}$  or reducing agents, such as ascorbic acid or glutathione (GSH) [2],  $Cu^{II}$  species can be reduced to  $Cu^I$ , that is able to catalyze the formation of hydroxyl radicals ( $OH^{\bullet}$ ) from the reaction with  $H_2O_2$ , via the Haber-Weiss reaction [3]. Hydroxyl radical has a high reactivity and it is capable of generating oxidative damage within the cell, and copper compounds can cause excisions and oxidative damage to DNA via the generation of ROS [4–6].

Casiopeinas® are a group of copper compounds with antitumor activity, designed and synthesized by Lena Ruiz-Azuara research group. They are based on mixed chelates copper (II) compounds, whose general formula is  $[Cu(N-N)(N-O)]^+$ , and  $[Cu(N-N)(O-O)]^+$ , where N-N is referred to primary ligand, that represents an aromatic diimine, such as a substituted phenanthrolines (phen) or bipyridines (bpy). The secondary ligand, N-O or O-O, can vary according to the generation of Casiopeinas®. Currently, there are three generations, the first generation is characterized by having as secondary ligand aminoacids, peptides, acetylacetonate or salicylaldehydes [7]. In second generation, the secondary ligand is a neutral molecule, such as benzimidazole [8]. In the third generation, the secondary ligands are molecules that already have biological activity, such as curcumin and its derivatives [9].

Casiopeinas® have shown antiproliferative activity against different tumor cell lines, in vitro and in vivo [10,11], the proposed mechanisms of action includes intercalating and minor groove interactions with DNA [12], they also have shown nuclease activity and generation of reactive oxygen species, which cause oxidative damage to DNA [13].

A quantitative structure activity relationship (QSAR) study has shown that the activity of these compounds is mainly due to diimine ligands, compounds with phenanthrolines are more active than those with bipyridine, this is because aromatic diimines can interact with DNA in the minor groove or in an intercalating manner. Biological activity also showed a correlation with the  $E_{1/2}$  of  $Cu^{II}/Cu^I$ , demonstrating that copper is involved in the mechanism of action through the ROS generation of and subsequently a DNA oxidative damage. The least oxidizing compounds are the ones that showed the highest activity, dimethylated bipyridines and phenanthrolines show higher activity than those without substitution [7,11].

The tetradentate ligand N-N-bis(salicylene)ethylenediamine (salen), with two imino nitrogen's and two phenolate oxygen's ( $N_2O_2$ ), can coordinate to transition metals with a strong chelating effect. M-salen complexes are very versatile in coordination chemistry, a large number of salen type metal-complexes have been synthesized using different precursors of amines and salicylaldehydes, which allows to modulate the steric and electronic properties [14,15].

Most of the  $M^{II}$ -salen complexes are little to not soluble in water, but they are soluble in organic solvents such as DMSO and DMF. To increase the solubility in water, the ligands have been functionalized adding quaternary ammonium salts [16]. However, it has been observed that some of these complexes decompose in aqueous solution due to the hydrolysis of the azomethine group [17]. For this reason, "tetrahydro-salen" ligands have been proposed, where the Schiff bases are hydrogenated to generate secondary amines, this ligand is stable to hydrolysis in aqueous conditions. The hydrogenation of the azomethine group changes the properties of the ligand, the nitrogen becomes more basic and more flexible [18], therefore, it has been found that the complexes present a greater distortion in their geometry [19,20]. In recent years, attention has been focused on the study of complexes with salen and tetrahydrosalen ligands and their biological properties. Ligand itself can act as an inhibitor of carbonic anhydrase [21], and the metal complexes have shown antitumor [22], and antibacterial activity [23].

Tridentate salen type ligands NNO, derivatives of the monocondensation of salicylaldehyde with amines are known as "half unit" [24]. When the ligand gets deprotonated, it generates a monoionic ligand that can react with a divalent metal, it gives as a product a cationic complex with better solubility than the tetracoordinate salen complexes. Compounds  $[M^{II}(NNO)(R)]^+$  present a vacant position,

where it can be coordinate with a solvent molecules or with another monodentate, bidentate or tridentate ligand, generating a mixed complex.

In this work, two sets of copper(II) complexes were synthesized, the monocharged, non-mixed copper complexes, using a tridentate salen type ligand and their hydrogenated derivatives (NNO) with the general formula  $[Cu(NNO)(NO_3)]$  and the mixed chelates copper complexes named as Casiopeinas fourth generation, with the general formula  $[Cu(NNO)(N-N)]^+$ , where N-N was 4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridine or 1,10-phenanthroline, and a tridentate salen type ligand and their hydrogenated derivatives (NNO) as secondary ligand (Fig. 1). To improve the cytotoxic activity and favor  $\pi \dots \pi$  stacking type interactions with molecular targets, the naphthalene group was added to tridentate ligand NNO, and bipyridine was replaced by phenanthroline. The biological activity of these compounds against the tumor line HeLa and the effect of modifications in the tridentate ligand (such as the addition of a naphthalene group, azomethine hydrogenation and the addition of the second ligand like dmbpy or phen) were studied. Finally, electronic and physicochemical parameters, that allow describing the biological activity of the complexes, were found through a structure-activity study.

## 2. Materials and methods

The experiments were carried out in standard conditions, except EPR in solution, which was performed at 77 K. Cupric nitrate, salicylaldehyde, 2-hydroxy-1-naphthaldehyde, N-methylethylenediamine, 4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridine, 1,10-phenanthroline and sodium borohydride were acquired from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). The solvents were obtained from Quimica Alvi (CDMX, Mx). All reactants were used without further purification. Elemental analysis was carried out in the Reach and Industry Support Services Unit (USAII for its Spanish abbreviations), using an EAGER 200 elemental analyzer (EAGER 200 CHNS/method, CDMX, Mx). IR (infrared) spectra were performed on a Nicolet AVATAR 320 FT-IR (CDMX, Mx) in an interval of 4000–400  $cm^{-1}$ . The samples incorporated onto a KBr disk in the range of 3500–500. UV-VIS (ultraviolet-visible) spectra were collected in DMSO from 190 nm to 1100 nm on a GENESYS 10S THERMO SCIENTIFIC diode-array spectrometer in dimethyl sulfoxide (DMSO) solutions Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

Mass spectra were acquired in the Chemistry Institute (UNAM, Mexico) using a JEOL The AccuTF JMS-T100.LC equipment, using the FAB<sup>+</sup> ionization technique. The EPR's spectra were collected in a JEOL JES-TE300 spectrometer operating in the X-band in DMSO (99.995, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA).

## 3. Experimental

### 3.1. Synthesis of tridentate Schiff bases and hydrogenated ligands

1 mmol of salicylaldehyde or 2-dihydroxy-1-naphthaldehyde was dissolved in anhydrous ethanol. Subsequently, 1 mmol of the methylated diamine (N-methylethane-1,2-diamine) was added. The solution turned yellow and was let to react under stirring and mild heating for 30 min. The solvent was evaporated and a yellow liquid product was obtained.

For hydrogenated ligands 1 mmol of Schiff base NNO was dissolved in anhydrous ethanol, and 1.5 mmol of  $NaBH_4$  divided in five fractions, was added every 20 min. The reaction turns colorless and left to react under stirring for 30 min, then 10 mL of water was added and let to stir for 30 min. The synthesized ligand was not isolated and was used without prior purification.

L1  $C_{10}H_{14}N_2O$ . FT-IR ( $cm^{-1}$ ):  $\nu_{C=N}$ , 1633;  $\nu_{C-O}$ , 1278. NMR  $^1H$  (ppm, DMSO- $d_6$ ): 8.28 (s, CH=N); 2.48 (s, NH-CH<sub>3</sub>). M ( $m/z$ ): 178 (178). LN1  $C_{14}H_{18}N_2O$ . FT-IR ( $cm^{-1}$ ):  $\nu_{C=N}$ , 1632;  $\nu_{C-O}$ , 1265. NMR  $^1H$  (ppm, DMSO- $d_6$ ): 8.28 (s, CH=N); 2.22 (s, NH-CH<sub>3</sub>). M ( $m/z$ ): 228 (228).

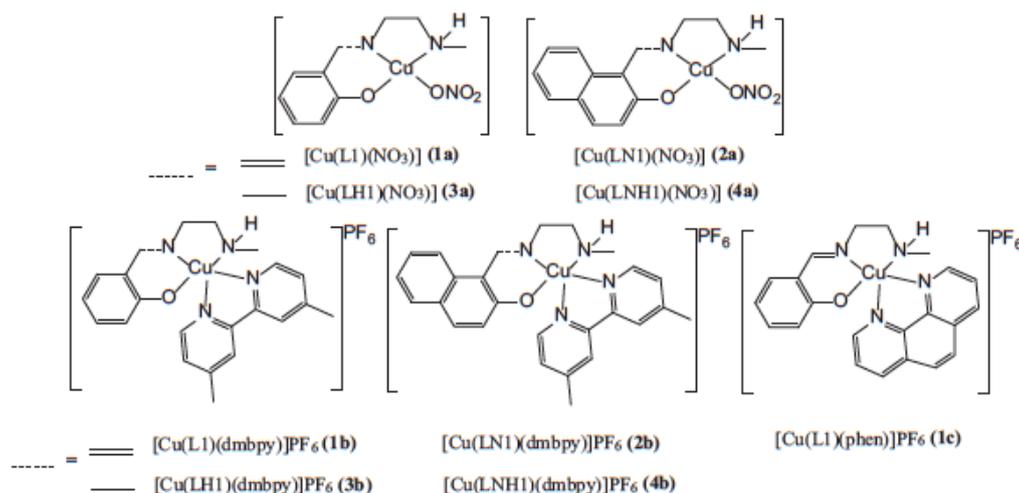


Fig. 1. Synthesized coordination copper(II) compounds.

### 3.2. Synthesis of $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$ (1a), $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$ (2a), $[\text{Cu}(\text{LH1})(\text{NO}_3)]$ (3a) and $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$ (4a)

1 mmol of copper nitrate was dissolved in methanol and 1 mmol of NNO ligand dissolved in ethanol was added dropwise. The reaction was stirred for 30 min and then it turned green, the solvent was evaporated and the product obtained was vacuum filtered and purified with cold methanol and ether washes [25,26].  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$  (1a) Anal. Calc for  $[\text{CuC}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_4] \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  (% C, N, H) 40.9, 13.2, 4.7. Found: 40.1, 13.4, 4.7. FT-IR ( $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ , 1629. FT-IR, values were comparable to those reported [26].  $M^+$  ( $m/z$ ): 240 (240).  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$  (2a) Anal. Calc for  $[\text{CuC}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$  (% C, N, H) 43.5, 11.1, 4.7. Found: 45.3, 11.3, 4.6. FT-IR ( $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ , 1629. FT-IR, values were comparable to those reported [27].  $M^+$  ( $m/z$ ): 290 (290).  $[\text{Cu}(\text{LH1})(\text{NO}_3)]$  (3a) Anal. Calc for  $[\text{CuC}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_4] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (% C, N, H) 36.1, 12.3, 5.7. Found: 35.2, 12.3, 5.6. FT-IR ( $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ , 1629. FT-IR  $M^+$  ( $m/z$ ): 242 (242).  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$  (4a) Anal. Calc for  $[\text{CuC}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$  (% C, N, H) 44.8, 9.2, 5.3. Found: 45.4, 10.2, 5.4. FT-IR ( $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ , 1629. FT-IR.  $M^+$  ( $m/z$ ): 292 (291).

### 3.3. Synthesis of mixed complexes $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{dmbpy})]^+$ (1b), $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{dmbpy})]^+$ (2b), $[\text{Cu}(\text{LH1})(\text{dmbpy})]^+$ (3b), $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{dmbpy})]^+$ (4b) and $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{phen})]^+$ (1c)

1 mmol of NNO ligand, copper nitrate and 4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridine (dmbpy) or 1,10-phenanthroline (phen), were dissolved separately in anhydrous ethanol, dmbpy was slowly dripped onto the copper nitrate solution, once the addition had finished the NNO ligand was added dropwise. The reaction stirred for 30 min and 1 mmol of NaOH was added. Finally, 1 mmol of  $\text{KPF}_6$  (or  $\text{KNO}_3$ ) was added and it was stirred for 2 h. After the reaction was complete, the solution was concentrated and the compound was precipitated by adding water. The product obtained was washed with water and ethanol, then vacuum filtered. The solid obtained was washed with ethyl ether and dried under vacuum. The reaction scheme is shown in Fig. 2.

$[\text{Cu}(\text{L1})(\text{dmbpy})] \text{PF}_6$  (1b), Anal. Calc for  $[\text{CuC}_{22}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{O}] \text{PF}_6$  (% C, N, H) 45.5, 10.1, 4.5. Found: 46.4, 9.8, 4.4. FT-IR ( $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ , 1629.  $M^+$  ( $m/z$ ): 424 (424).  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{dmbpy})] \text{PF}_6$  (2b), Anal. Calc for  $[\text{CuC}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}] \text{PF}_6$  (% C, N, H) 50.4, 9.0, 4.4. Found: 50.4, 9.4, 4.4. FT-

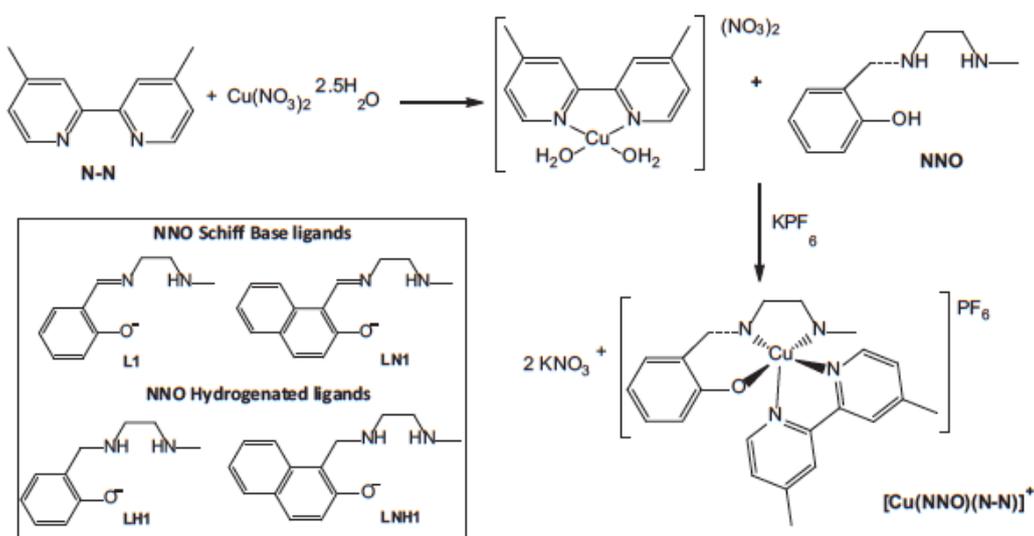


Fig. 2. Mixed complexes synthesis scheme.

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ , 1629.  $M^+$  ( $m/z$ ): 474 (474). **[Cu(LH1)(dmbpy)] PF<sub>6</sub>** (**3b**), Anal. Calc for  $[\text{CuC}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}]\text{PF}_6$  (% C, N, H) 45.2, 9.8, 4.6. Found: 46.2, 9.8, 4.8. FT-IR ( $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ , 1629.  $M^+$  ( $m/z$ ): 426 (426). **[Cu(LNH1)(dmbpy)] PF<sub>6</sub>** (**4b**), Anal. Calc for  $[\text{CuC}_{26}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}]\text{PF}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (% C, N, H) 47.8, 8.7, 5.9. Found: 48.8, 8.7, 5.9. FT-IR ( $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ , 1629.  $M^+$  ( $m/z$ ): 476 (475). **[Cu(L1)(phen)] PF<sub>6</sub>** (**1c**), Anal. Calc for  $[\text{CuC}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}]\text{PF}_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (% C, N, H) 42.6, 9.0, 4.4. Found: 46.5, 8.9, 4.6. FT-IR ( $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ , 1629  $M^+$  ( $m/z$ ): 420 (420).

### 3.4. X-ray

To obtain the crystals, saturated solutions of the corresponding compound in methanol (Química Alvi, CDMX, Mx.) were prepared and allowed to evaporate slowly until suitable crystals were obtained. Suitable single crystals of compounds  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$  **1b**,  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{dmbpy})]\text{NO}_3$  **4a** and  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{dmbpy})]\text{PF}_6$  **4b** were mounted on a glass fiber; crystallographic data were collected with an Oxford Diffraction Gemini "A" diffractometer with a CCD area detector, with  $\lambda_{\text{MoK}\alpha} = 0.71073 \text{ \AA}$ . Unit cell parameters were determined with a set of three runs of 15 frames ( $1^\circ$  in  $w$ ). The double pass method of scanning was used to exclude any noise [28]. The collected frames were integrated by using an orientation matrix determined from the narrow frame scans. Final cell constants were determined by a global refinement; collected data were corrected for absorbance by using analytical numeric absorption correction using a multifaceted crystal model based on expressions upon the Laue symmetry with equivalent reflections [29]. Structure's solutions and refinement were carried out with the SHELXS-2018 [30] and SHELXL-2018 [31] packages. WinGX v2020.2 [32] and MERCURY [33] software were used to prepare material for publication. Full-matrix least-squares refinement was carried out by minimizing  $(F_o^2 - F_c^2)^2$ . All non-hydrogen atoms were refined anisotropically. H atoms of amine (N-H) groups were located in a difference map and refined isotropically with  $U_{\text{iso}}(\text{H})$  of  $1.2 U_{\text{eq}}$  for N-H. H atoms attached to C atoms were placed in geometrically idealized positions and refined as riding on their parent atoms, with C-H =  $0.93\text{--}0.99 \text{ \AA}$ ,  $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1.2 U_{\text{eq}}$  (C) for aromatic and methylene groups and  $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1.5 U_{\text{eq}}$  (C) for methyl groups. In compound **1b** the atoms O(3), O(5), N(5) and O(3a), O(5a), N(5a) are disordered over two sites with occupancies 0.74:0.26, additionally for this compound, attempts made to model the solvent molecule were not successful; the SQUEEZE [34] option in PLATON indicated there was a large solvent cavity of  $217 \text{ \AA}^3$ . In the final cycles of refinement, this contribution of 52 electrons to the electron density were removed from the observed data. For the electron density,  $F(000)$  value in the molecular weight and the formula are given without taking into account the results obtained with SQUEEZE. The absolute configuration of compound **4a**, was corroborated by analysis of 1500 Bijvoet pairs, although, the refined Flack parameter  $x = 0.020$  (2) [35] is not definitive, the Hooft parameter  $y = 0.019$  (8) and Hooft  $P2(\text{true}) = 1.000$  [36] are strong indicators that the reported configuration is correct. Crystallographic data for all complexes are presented in Table 1. The crystallographic data for the structures reported in this paper have been deposited in the Cambridge Crystallographic Data Centre as supplementary publication no. CCDC [2201035–2,201,037] Copies of the data can be obtained free of charge on application to CCDC, 12 Union Road, Cambridge, CB2 1EZ, UK (fax: (+44) 1223–336-033, e-mail: [dep.osit@ccdc.cam.ac.uk](mailto:dep.osit@ccdc.cam.ac.uk)).

### 3.5. Cyclic voltammetry

Cyclic voltammetry was performed using PAR27 potentiostat/galvanostat (CDMX, Mx). Tetrabutylammonium hexafluorophosphate was used as a supporting electrolyte (99.995, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) in DMSO solutions (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). All voltammogram were referenced using ferrocene 1 mM (99.99%, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA).

The cyclic voltammetry was carried out with a conventional

**Table 1**  
Crystal data and structure refinement for compounds **4a**, **4b** and **1b**.

Identification code	4a	4b	1b
Empirical formula	$\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{CuN}_3\text{O}_4$	$\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{CuF}_6\text{N}_4$ O P	$\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{CuN}_5\text{O}_4$
Formula weight	352.83	620.02	487.01
Temperature	130(2) K	130(2) K	298(2) K
Wavelength	0.71073 Å	0.71073 Å	0.71073 Å
Crystal system	Monoclinic	Triclinic	Monoclinic
Space group	$P 2_1$	$P -1$	$P 2_1/c$
Unit cell dimensions	$a = 8.5848(5) \text{ \AA}$	$a = 8.7577(5) \text{ \AA}$	$a = 10.0103(6) \text{ \AA}$
	$b = 7.2794(3) \text{ \AA}$	$b = 11.4666(6) \text{ \AA}$	$b = 11.3654(7) \text{ \AA}$
	$c = 12.1840(8) \text{ \AA}$	$c = 13.5640(7) \text{ \AA}$	$c = 22.8183(12) \text{ \AA}$
	$\alpha = 90^\circ$	$\alpha = 95.388(4)^\circ$	$\alpha = 90^\circ$
	$\beta = 107.658(7)^\circ$	$\beta = 98.250(4)^\circ$	$\beta = 91.292(5)^\circ$
	$\gamma = 90^\circ$	$\gamma = 104.041(5)^\circ$	$\gamma = 90^\circ$
Volume	$725.53(8) \text{ \AA}^3$	$1295.93(12) \text{ \AA}^3$	$2595.4(3) \text{ \AA}^3$
Z	2	2	4
Density (calculated)	$1.615 \text{ Mg/m}^3$	$1.589 \text{ Mg/m}^3$	$1.246 \text{ Mg/m}^3$
Absorption coefficient	$1.527 \text{ mm}^{-1}$	$0.976 \text{ mm}^{-1}$	$0.875 \text{ mm}^{-1}$
F(000)	362	634	1012
Crystal size ( $\text{mm}^3$ )	$0.470 \times 0.260 \times 0.100$	$0.440 \times 0.360 \times 0.100$	$0.350 \times 0.240 \times 0.040$
Theta range for data collection	$3.454$ to $30.127^\circ$	$3.462$ to $30.144^\circ$	$3.572$ to $29.508^\circ$
Index ranges	$-11 \leq h \leq 11$ , $-10 \leq k \leq 9$ , $-17 \leq l \leq 15$	$-9 \leq h \leq 12$ , $-15 \leq k \leq 15$ , $-18 \leq l \leq 18$	$-12 \leq h \leq 13$ , $-15 \leq k \leq 15$ , $-31 \leq l \leq 28$
Reflections collected	7942	11,634	28,109
Independent reflections	3567 [R(int) = 0.0276]	6431 [R(int) = 0.0263]	6517 [R(int) = 0.0439]
Completeness to theta = $25.242^\circ$	99.7%	99.7%	99.7%
Refinement method	Full-matrix least-squares on $F^2$	Full-matrix least-squares on $F^2$	Full-matrix least-squares on $F^2$
Data / restraints / parameters	3567 / 2 / 203	6431 / 1 / 358	6517 / 7 / 317
Goodness-of-fit on $F^2$	1.037	1.036	1.013
Final R indices [ $I > 2\text{sigma}(I)$ ]	R1 = 0.0291, wR2 = 0.0620	R1 = 0.0376, wR2 = 0.0811	R1 = 0.0403, wR2 = 0.0964
R indices (all data)	R1 = 0.0341, wR2 = 0.0655	R1 = 0.0488, wR2 = 0.0882	R1 = 0.0655, wR2 = 0.1082
Largest diff. Peak and hole	0.226 and $-0.318 \text{ e.\AA}^{-3}$	0.420 and $-0.382 \text{ e.\AA}^{-3}$	0.293 and $-0.318 \text{ e.\AA}^{-3}$

arrangement of three electrodes: a vitreous carbon working electrode, a platinum counter electrode, and a silver pseudo-electrode. As internal adjustment, it was referenced against the pair  $\text{Fc}^+/\text{Fc}$ . The experiments were performed in 0.001 M DMSO solutions under nitrogen atmosphere. The voltammograms were carried out within the range  $-1.4$  to  $-0.2 \text{ V}/\text{Fc}^+/\text{Fc}$ , and they were run at different scan speeds, at 25, 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600, 800 and  $1000 \text{ mVs}^{-1}$ .

### 3.6. LogP theoretical calculation

The logarithm of partition coefficient was theoretically calculated, the geometries of the different compounds were optimized by the method of the functional theory of densities, using M06/LanL2DZ level of theory, and a SMD solvation model [37], using Gaussian 09. The optimized structures were confirmed by minimal vibrational analysis (no imaginary frequency). The theoretical partition logarithm n-octanol-water was calculated according to the following eq. [38]:

$$\text{DFT} - \text{Log} P = \frac{\Delta G_{\text{Sd water}} - \Delta G_{\text{Sd n-octanol}}}{2.303RT}$$

where  $\Delta G_{\text{sol}}$  is the change of free energy of solvation from the standard state in a compound in *n*-octanol and in water at 298.15 K. The free energy of solvation in the standard state is defined as the free energy of transfer from the gas phase to the condensed phase, under standard conditions. Since the free energies in the gas phase are calculated with respect to a standard state of 1 atm, it is necessary to add a correction factor of  $RT \ln 24.46$  ( $1.894 \text{ kcal mol}^{-1}$  at 298 K) to convert it to the standard state of  $1 \text{ mol dm}^{-3}$  [39,40].

### 3.7. Cell culture

The evaluation of the cytotoxic (viability) effect of the compounds was performed in HeLa cells, that were purchased from the American Type Culture Collection (ATCC Rockville, MD, USA) and cultured in DMEM-F12 medium (Dulbecco's Modified Eagle's Medium/Ham's Nutrient Mixture F-12) with phenol red, containing 10% of fetal bovine serum (FBS, Biowest, Paris, France) supplemented with 1% benzylpenicillin (Gibco, UK) and 1% non-essential amino acids (Gibco, UK). Cultures were maintained in a humidified atmosphere with 5%  $\text{CO}_2$ , at 37 °C in an incubator  $\text{CO}_2$  cell MMM Group. All cell-based assays were performed using cells in the exponential growth phase.

### 3.8. Biological activity assay

A modified MTT assay was used to determine the biological activity of the copper complexes [41]. Assays were performed by seeding 10,000 cells/well in 96-well tissue culture plates at a volume of 100  $\mu\text{L}$  of DMEM-F12 medium supplemented with 10% FBS per well. Cells were grown for 24 h in culture medium, after this time, the medium was removed and 90  $\mu\text{L}$  of new medium was placed with 10  $\mu\text{L}$  of the solutions of the compounds. The complexes tested were dissolved in a DMSO:H<sub>2</sub>O mixture (1:9), the concentrations used were 140, 100, 60, 20 and 10  $\mu\text{M}$  for non-mixed complexes, and 60, 40, 20, 10 and 1  $\mu\text{M}$ , for mixed complexes. The treated cells were left to incubate for  $24 \pm 2$  h, finally, the medium with the treatment was removed and 30  $\mu\text{L}$  of a 0.5 g / mL solution of MTT, dissolved in phosphate buffer, was added. The cells were left to incubate for 4 h, subsequently, the supernatant was removed and the formazan crystals were dissolved in 100  $\mu\text{L}$  of an isopropanol solution (SDS / HCl, 1620 mL of isopropanol, 300 mL of 20% SDS and 10 mL of 1 N HCl), let it stand for 10 min and the plate was read in the Elisa microplate reader (AgileReader®) at a length of 570 nm. The procedure was repeated three more times independently.

### 3.9. DNA binding experiments

DNA Ultraviolet-visible spectra (UV-vis) were carried out on a Cary 60 ultraviolet-visible spectrophotometer with system diode array spectrophotometer in a range from 200 nm to 800 nm using 3 mL quartz microcell.

The interaction of the complexes with DNA was determined using Calf thymus-DNA (CT-DNA) dissolved in buffer (0.5 mM NaCl/5 mM Tris-HCl at pH = 7). The absorbance ratio at 260 nm and 280 nm was 1.85, indicating that the DNA was protein-free. DNA was quantified by its absorption at 260 nm using the molar absorptivity coefficient ( $6600 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Titration curves were made for the complexes (dissolved in the same buffer in which the DNA solutions was prepared), varying the concentration of CT-DNA, after each addition a new spectrum was collected. The ratio of  $r = [\text{complex}]/[\text{DNA}]$  values varied from 9.5 to 0.4. The formation constant ( $K_b$ ) was determined to evaluate the force of interaction between complexes and CT-DNA, applying Benesi-Hildebrand equation, plotting  $A_0/(A-A_0)$  vs.  $1/[\text{DNA}]$ ;

$$\frac{A_0}{A - A_0} = \frac{\epsilon_G}{\epsilon_{H-G} - \epsilon_G} + \frac{\epsilon_G}{\epsilon_{H-G} - \epsilon_G} \frac{1}{K_b[\text{DNA}]}$$

where  $A_0$  and  $A$  are the absorbance's of free and bound complex,  $\epsilon_G$  and

$\epsilon_{H-G}$  are their molar extinction coefficients, respectively (H and G correspond to host and guest).

### 3.10. DNA cleavage experiments

Electrophoresis was carried out in a HE33 mini-horizontal agarose electrophoresis unit (Hoefler, Inc) with Power Pac HC power supply (BIO-RAD).

The cleavage DNA ability of complexes was monitored using agarose gel electrophoresis with pBR 322 DNA. The samples were incubated for 12 h at 37 °C, subsequently, loading buffer was added (0.25% bromophenol blue and 40% sucrose). Samples were analyzed by 1% agarose gel electrophoresis in TBE 0.5× (Tris, Boric acid and EDTA buffer, pH = 8) at 75 V. Agarose gels were stained using ethidium bromide solution (5  $\mu\text{L}/50 \text{ mL}$ ) for 20 min and the bands were observed in a UV Transilluminator and were photographed with a conventional camera.

The efficiency of the complexes to cleavage DNA was qualitatively determined by their ability to form nicked circular DNA (form II) and linear DNA (form III), from the supercoiled (form I).

## 4. Results and discussion

### 4.1. IR and electronic spectra

The FT-IR spectra shows the characteristic band of the stretching vibration of the azomethine, which was observed at approximately  $1630 \text{ cm}^{-1}$ , which indicates that the condensation between the aldehyde and the amine was carried out correctly. The reduction of the Schiff base was carried out to form a secondary amine, the characteristic band of the azomethine group disappeared, and a new band appeared at  $3450 \text{ cm}^{-1}$ , which is a characteristic of the stretching of the N-H bond. In compounds **1a**, **2a**, **3a**, and **4a** a band corresponding to the group  $\text{NO}_3^-$  was observed, this band appears as a doublet between  $1447$  and  $1306 \text{ cm}^{-1}$ , indicating that, in a solid state, the nitrate is coordinated in a bidentate way [42–45]. The results are summarized in Table 2.

The synthesis of the mixed copper compounds was performed and the exchange of the anion by  $\text{PF}_6^-$  was carried out, in the infrared spectra this change was observed by two new bands that appeared at  $882$  and  $557 \text{ cm}^{-1}$ , that correspond to the vibrations of the P-F bond. For the hydrogenated compounds, a new band was observed at  $1618$ – $1619 \text{ cm}^{-1}$ , that corresponds to the C=N bond of the aromatic diimine.

The electronic spectra were performed in DMSO solution, all electronic spectra presented bands in the region of  $260$ – $400 \text{ nm}$ , the first one appeared in an interval of  $260$ – $278 \text{ nm}$ , attributed to the  $\pi$ - $\pi^*$  transitions of the aromatic rings. The second one in a range of  $315$ – $375 \text{ nm}$ , attributed to  $n$ - $\pi^*$  of the C=N bond [46,47], in compounds **3a** and **4a** the second band disappeared due to the hydrogenation of the azomethine group, however, a band was observed in a range from  $407$  to  $435 \text{ nm}$ , as for **1a**, **2a**, **1b**, **2b**, **3b**, **4b** and **1c**, a shoulder was observed next to second band, as seen in Table 2 (and Supplementary material, Figs. S1–S9). This transition corresponds to MLCT (metal ligand charge transfer), from copper to phenolate oxygen with a low molar extinction coefficient.

Electronic transitions d-d due to metal were observed between  $614$  and  $650 \text{ nm}$ , assigned to  ${}^2E_g \rightarrow {}^2T_{2g}$ , characteristic for a  $d_{x^2-y^2}$  ground state. This type of transitions is characterized by presenting very low absorptivity coefficients ( $\epsilon < 200 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) [48].

The mixed compounds **1b**, **2b**, **3b**, **4b** and **1c**, have similar spectra to those of the non-mixed compounds, however, when coordinating the dmby the number of  $\pi$ - $\pi^*$  transitions in the range of  $260$ – $298 \text{ nm}$  increases, and the molar absorptivity coefficient also increases due to the overlapping of transitions in the same range.

### 4.2. X-ray crystallography discussion

Single crystal X-ray diffraction indicates that compound [Cu(LN1)

**Table 2**  
IR and electronic spectra data in DMSO, in parentheses the molar extinction coefficient ( $\epsilon_0$ ).

Code	$\nu$ N-O	$\nu$ P-F	$\nu$ C=N	$\nu$ N-H	$\lambda$ , $\pi$ - $\pi^*$	$\lambda$ , C=N	$\lambda$ , MLCT	$\lambda$ , d-d
[Cu(L1)(NO <sub>3</sub> )] (1a)	1447, 1306		1637	3193	268(14080)	368(5468)		628(125)
[Cu(LN1)(NO <sub>3</sub> )] (2a)	1462, 1273		1621	3239	266(24347), 318(10958)	394(7710)		614(185)
[Cu(LH1)(NO <sub>3</sub> )] (3a)	1482, 1271		–	3245	268(3634)		412(453)	648(161)
[Cu(LNH1)(NO <sub>3</sub> )] (4a)	1462, 1267		–	3289	282(9898), 326(3672), 338(3976)		466(242), 400(523)	650(126)
[Cu(L1)(dmbpy)] <sup>+</sup> (1b)		838, 557	1639	3290	276(24981)	368(5184)		630(141)
[Cu(LN1)(dmbpy)] <sup>+</sup> (2b)		839, 557	1620	3235	258(39511)	317(10641), 395(7444)		623(169)
[Cu(LH1)(dmbpy)] <sup>+</sup> (3b)		842, 557	1618	3646	262(18398), 286(18683)	362(4661)		–
[Cu(LNH1)(dmbpy)] <sup>+</sup> (4b)		842, 557	1619	3641	266(15395), 288(14352)	373(2911)		–
[Cu(L1)(phen)] <sup>+</sup> (1c)		842, 557	1637	3247	225(32400), 268(28900)	369(3260)		626(90)
dmbpy			1618		284(10142)			

Vibrations in units of cm<sup>-1</sup>,  $\lambda$  in nm,  $\epsilon_0$  in L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>.

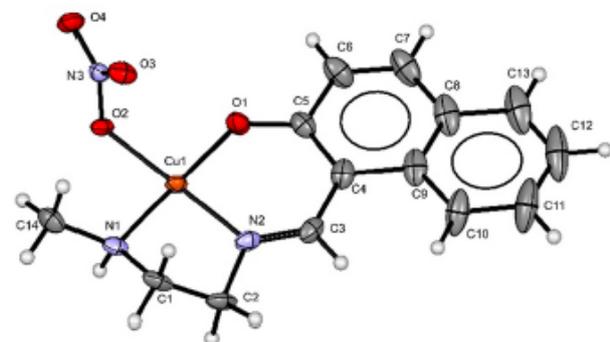
– Absorption maximum no defined.

(NO<sub>3</sub>) 4a crystallizes in the monoclinic crystal system, with space group *P*<sub>21</sub>. Selected bond distances and angles are listed in Table 3, the asymmetric unit is composed of one Cu<sup>II</sup> ion, one deprotonated Schiff base ligand and one nitrate anion. The metal center Cu<sup>II</sup> is four-coordinate through three donor atoms (N<sub>amine</sub>, N<sub>imine</sub>, O<sub>phen</sub>) of the deprotonated (E)-3-(2-(methylamino)ethylimino)methylnaphthalenolate (LN1) Schiff base ligand and one oxygen atom of the nitrate anion ligand, as shown in Fig. 3. The geometry of metal center shows a slightly distorted square planar arrangement, this distortion may also be conveniently measured by the *trans* angles O(1)–Cu(1)–N(1) = 173.70 (11)° and N(2)–Cu(1)–O(2) = 178.96 (10)°, which are ideally 180° for a square-planar geometry and the value of the  $\tau_4$  parameter of 0.052 [49]. (See Fig. 3.)

Deviations of the least-square mean planes passing through N(1), N(2), O(1), O(2) donor atoms are –0.0654, 0.0528, –0.0693 and 0.0481 Å, respectively.

It is noteworthy that the oxygen atom O(2) of the nitrate ligand group coordinated to Cu<sup>II</sup> ion has a strong intermolecular interaction of typical hydrogen bonding with the amine group of LN1 ligand [N(1)–H(1)⋯O(2) = 2.22 (3) Å], in the same way, the oxygen atom O4 establishes the hydrogen bond with amine group [N(1)–H(1)⋯O(4) = 2.58 (3) Å], these intermolecular contacts give rise to a 1D chain along the *b* axis with base vector [010] (See Fig. 3).

Compound 4b crystallizes in the triclinic space group *P*<sub>–1</sub>, with *Z* = 2. In the asymmetric unit of [Cu(LN1)(dmbpy)]PF<sub>6</sub> 4b, the cationic complex is formed by the metallic center of Cu<sup>II</sup>, one molecule of deprotonated Schiff base ligand LN1 and one molecule of 4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridyne (dmbpy), while the anion corresponds to hexafluorophosphate PF<sub>6</sub><sup>–</sup>. A perspective view shown in Fig. 5, selected bond distances and angles are listed in Table 3. In the pentacoordinate sphere to Cu<sup>II</sup>, the base of distorted square pyramidal geometry is formed by two nitrogen atoms N(1), N(2), one oxygen atom O(1) from the tridentate LN1 ligand and one nitrogen atom N(4) of the bidentate dmbpy



**Fig. 3.** ORTEP drawing of the asymmetric unit for compound [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)] (4a), with the thermal ellipsoids drawn at the 50% of probability.

**Table 3**  
Selected bond lengths [Å] and angles [°] for compounds 4a, 4b and 1b.

[Cu(LN1)(NO <sub>3</sub> )] (4a)			
Bond lengths (Å)			
C(1)–N(1)	1.472(4)	C(14)–N(1)	1.463(5)
C(1)–C(2)	1.511(6)	Cu(1)–O(1)	1.897(2)
C(2)–N(2)	1.469(4)	Cu(1)–N(2)	1.919(3)
C(3)–C(4)	1.425(5)	Cu(1)–O(2)	2.005(2)
C(4)–C(5)	1.420(5)	Cu(1)–N(1)	2.024(3)
C(8)–C(9)	1.405(7)		
Bond angles (°)			
O(1)–Cu(1)–N(2)	92.64(11)	O(1)–Cu(1)–N(1)	173.70(11)
O(1)–Cu(1)–O(2)	87.76(10)	N(2)–Cu(1)–N(1)	85.28(12)
N(2)–Cu(1)–O(2)	178.96(10)	O(2)–Cu(1)–N(1)	94.42(10)
[Cu(LN1)(dmbpy)]PF <sub>6</sub> (4b)			
Bond lengths (Å)			
C(1)–N(1)	1.479(3)	C(8)–C(9)	1.422(3)
C(1)–C(2)	1.515(3)	C(14)–N(1)	1.478(2)
C(2)–N(2)	1.476(2)	C(15)–N(3)	1.345(3)
C(3)–C(4)	1.432(3)	C(17)–C(25)	1.504(3)
C(4)–C(5)	1.415(3)	C(19)–C(20)	1.487(3)
C(5)–O(1)	1.304(2)		
Bond angles (°)			
N(2)–Cu(1)–O(1)	92.09(6)	N(4)–Cu(1)–N(1)	93.92(6)
N(2)–Cu(1)–N(4)	173.31(7)	N(2)–Cu(1)–N(3)	109.01(7)
O(1)–Cu(1)–N(4)	89.23(6)	O(1)–Cu(1)–N(3)	108.36(6)
N(2)–Cu(1)–N(1)	82.65(7)	N(4)–Cu(1)–N(3)	76.72(6)
O(1)–Cu(1)–N(1)	160.16(7)	N(1)–Cu(1)–N(3)	91.41(6)
[Cu(L1)(dmbpy)]NO <sub>3</sub> (1b)			
Bond lengths (Å)			
C(1)–N(1)	1.472(3)	C(15)–N(3)	1.334(3)
C(1)–C(2)	1.502(4)	C(17)–C(25)	1.516(3)
C(2)–N(2)	1.468(3)	C(19)–C(20)	1.490(3)
C(3)–C(4)	1.434(3)	Cu(1)–O(1)	1.9362(14)
C(4)–C(5)	1.422(3)	Cu(1)–N(2)	1.9392(16)
C(5)–O(1)	1.308(2)	Cu(1)–N(4)	2.0258(16)
C(8)–C(9)	1.367(4)	Cu(1)–N(1)	2.0693(18)
C(14)–N(1)	1.473(3)	Cu(1)–N(3)	2.2907(17)
Bond angles (°)			
O(1)–Cu(1)–N(2)	92.76(7)	N(4)–Cu(1)–N(1)	94.80(7)
O(1)–Cu(1)–N(4)	89.70(6)	O(1)–Cu(1)–N(3)	98.05(6)
N(2)–Cu(1)–N(4)	177.40(7)	N(2)–Cu(1)–N(3)	102.43(7)
O(1)–Cu(1)–N(1)	166.12(7)	N(4)–Cu(1)–N(3)	76.39(6)
N(2)–Cu(1)–N(1)	82.99(7)	N(1)–Cu(1)–N(3)	95.77(7)

ligand, while in the apical position is occupied by a nitrogen atom N(3) of the dmbpy. The angles O(1)–Cu(1)–N(1) = 160.16 (7)° and N(2)–Cu(1)–O(2) = 173.31 (7)° and the value of the  $\tau_5$  parameter of 0.2191 that correspond to a distorted square pyramidal geometry [50]. The coordination of the dmbpy generates a greater distortion in the copper geometry in comparison with the ligand NO<sub>3</sub><sup>–</sup> in [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)] 4a crystal, due dmbpy coordinates in a bidentate way, while NO<sub>3</sub><sup>–</sup> in a monodentate way. The dmbpy forms a five-membered chelate ring, and

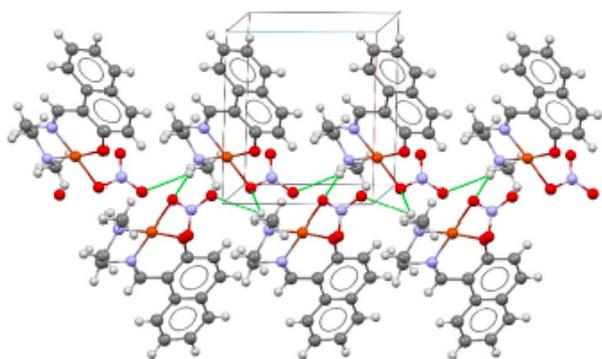


Fig. 4. Crystal network of compound  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$  (**4a**), view along the  $a$ - $b$  plane, emphasizing the  $C_1^1$  (6) and  $R_1^1$  (4) motifs.

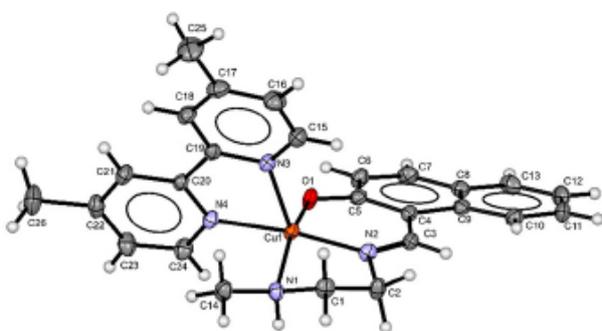


Fig. 5. ORTEP drawing of the asymmetric unit for compound  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{dmbpy})]\text{PF}_6$  (**4b**) with the thermal ellipsoids drawn at the 60% of probability. The counterion hexafluorophosphate was omitted for clarity.

the bond angles distort the planarity in the geometry of  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{dmbpy})]$  **4b**.

In the crystal lattice (See Fig. 6), the coordination compound **4b** involves intermolecular contacts C-H...F and C-H...O of the hydrogen-bonding type and  $\pi$ ... $\pi$  interactions between the aromatic rings of LN1 and dmbpy ligands. The weak interaction inside the unit cell C(21)-H(21)...O(1) with an angle of  $145.68^\circ$  at  $2.67 \text{ \AA}$  form the  $R_2^2$  (12) motif, the C(23)-H(23)...F(3) and C(23)-H(23)...F(6) form the  $R_2^2$  (4) motif, at the same time, the intermolecular contact of centroids Cg4...Cg5 at  $3.568 \text{ \AA}$  is observed. The centroids Cg4 formed by N(3)-C(15)-C(16)-C(17)-C(18)-C(19), and the Cg5 result of N(4)-C(20)-C(21)-C(22)-C(23)-C(24). All intermolecular interactions are observed in tridimensional supramolecular array.

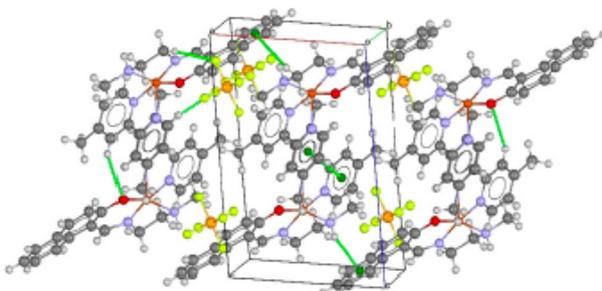


Fig. 6. Crystal network of compound  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{dmbpy})]\text{PF}_6$  (**4b**), view along the  $a$ - $b$  plane, emphasizing the  $C_1^1$  (6) and  $R_1^1$  (4) motifs.

Compound **1b** crystallizes in the monoclinic space group  $P_{21/c}$  with  $Z = 4$ . As shown in Fig. 7, the coordination compound **1b** is cationic  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{dmbpy})]^+$ , with  $\text{L1} = (\text{E})\text{-2-}[(2\text{-}(\text{methylamino})\text{ethylimino})\text{methyl}]\text{phenolate}$ , and one molecule of 4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridine (dmbpy); the anion corresponds to one molecule of nitrate  $\text{NO}_3^-$ . L1 acts as a tridentate ligand bound through  $\text{N}_{\text{amine}}$ ,  $\text{N}_{\text{imine}}$ ,  $\text{O}_{\text{phen}}$  atoms. The fourth and fifth coordination sites are occupied by two nitrogen atoms of the bidentate dmbpy ligand. The trans angles for N(2)-Cu(1)-N(4) ( $177.40(7)^\circ$ ) and O(1)-Cu(1)-N(1) ( $166.12(7)^\circ$ ), the angles in the basal plane [ $82.99(7)$ – $94.80(7)^\circ$ ] and the apical to basal angles [ $76.39(6)$ – $102.43(7)^\circ$ ], all indicate a slightly distorted square pyramidal geometry with the value of the  $\tau_5$  parameter of 0.171 [50].

There are intermolecular interactions in the crystal network (See Fig. 8) N—H...O of hydrogen bond. Particularly the interactions N(1)-H(1)...O(2) ( $2.57(3) \text{ \AA}$ ), and N(1)-H(1)...O(3) ( $2.23(2) \text{ \AA}$ ), form the  $R_2^2$  (4) motif, additionally, there are intermolecular contacts of type hydrogen bond C—H...O [ $2.43$ – $2.65 \text{ \AA}$ ]. All intermolecular interactions are observed along the  $b$ - $c$  plane and leads to infinite tridimensional array in the supramolecular network.

#### 4.3. Electronic paramagnetic resonance

The Table 4 summarizes the results obtained for EPR, all spectra presented an axial anisotropy, where the values of  $g_{\parallel} > g_{\perp}$ , (supplementary materials, Figs. S10-S18) indicate that the ground state corresponds to  $d_{x^2-y^2}$  (Fig. 9), this is consistent with what was observed in Section 3.1 in electronic spectra, which agrees with square-planar, elongated octahedral, and square-base pyramidal geometries [51,52].

For the compounds with hydrogenated ligands, **3a**, **4a**, **3b** and **4b**, the  $A_{\parallel}$  values decreased and the  $g_{\parallel}$  values increased, that suggest a greater distortion in the geometry of the metal center due to the greater flexibility of the ligand. Similarly, the same behavior was observed when comparing mixed compounds.

The quotient  $\frac{A_{\parallel}}{A_{\perp}} = f$  is an empirical index that shows the distortion in tetracoordinated copper(II) complexes, a compound with a square planar geometry presents values between 105 and 135 cm, this value increases when the distortion changes to a tetrahedral geometry between 200 at  $247 \text{ cm}$  [53]. To  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$  **2a** and  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]^+$  **4a** the quotient was between 99 and  $103 \text{ cm}$ , so it was proposed that these compounds present a square-planar geometry, where the nitrate is uncoordinated and in one of the vacant positions a DMSO molecule is coordinated. That was verified by measuring the conductivity in DMSO and methanol solution, which present a conductivity in

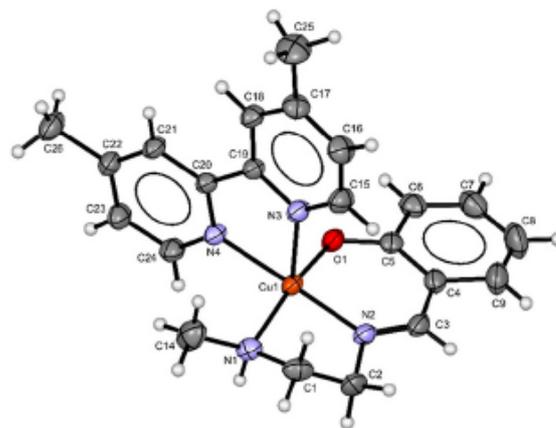


Fig. 7. ORTEP drawing of the asymmetric unit for compound  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{dmbpy})]\text{NO}_3$  (**1b**) with the thermal ellipsoids drawn at the 50% of probability. The counterion nitrate was omitted for clarity.

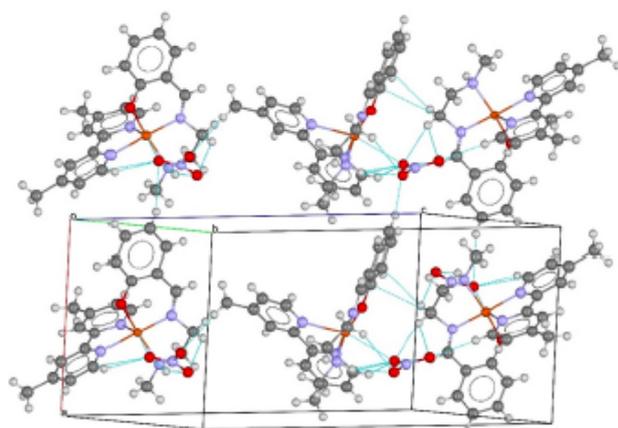


Fig. 8. Crystal network for compound  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{dmbpy})]\text{NO}_3$  (**1b**), emphasizing the  $R_2^2(4)$  motif.

the range of 47–21  $\mu\text{S}$  and 74–86  $\mu\text{S}$  characteristic for 1:1 type electrolytes [54].

The values of  $A_{\parallel}$  and  $g_{\parallel}$  were plotted to assign the geometry of the rest of the complexes, as shown in Fig. 10. The compounds were divided into three groups, the first group corresponds to **2a** and **4a** with a lower coupling constant whose geometry corresponds to a square planar. The second group corresponds to **1a**, **3a**, **1b** and **4b**. It was proposed that they present a square-based pyramid geometry, since in this case the values of  $g_{\parallel} > g_{\perp} < g_e$  (2.0023), correspond to pentacoordinate copper compounds with a ground state  $d_{x^2-y^2}$ . The third group, **3b**, **4b**, and **1c**, were assigned an elongated octahedral geometry, where the DMSO solvent coordinates in the vacant positions resulting in compounds with a coordination number of six, in this group it is found that  $g_{\parallel} > g_{\perp} > g_e$  corresponding to octahedral compounds with a ground state of  $d_{x^2-y^2}$  [52,55].

The results in glass in DMSO were compared with the spectra in solid (Figs. S10–S18 and Table S1), in both cases  $g_{\parallel} > g_{\perp} > g_e$ , which indicates that the transition state corresponds to  $d_{x^2-y^2}$ . For **2a** the geometry is conserved, the quotient  $f$  is 105, which corresponds to a square planar geometry. For **3b**, the quotient  $f$  is 108, which corresponds to a square planar too. For **3b** the geometry change, in DMSO solution presented an elongated octahedral geometry, in solid state the coordination number change, which suggests that one of the donor atoms is uncoordinated. For the rest of the compounds, the quotient  $f$  is  $< 100$ , they have a square-based pyramid geometry. For compounds **1a**, **3a** and **4a** the nitrate is coordinates as a bidentate way.

Kivelson and Nieman suggest employing the  $g_{\parallel}$  value to differentiate a purely ionic environment of the M-L bond [56]. The Table 4 shows that most of the compounds had values of  $g_{\parallel} < 2.3$ , which implies a greater

covalent character in their bonds due to a greater delocalization of the unpaired electrons away from the copper nucleus with the ligand. In comparison **3b**, **4b** and **1c** presented values close to 2.3, indicating an ionic character, where the unpaired electrons of copper are close to its nucleus.

The covalent character of a bond also was evaluated by calculating the parameter  $\alpha^2$  using the following equation:

$$\alpha^2 = -\left(\frac{A_{\parallel}}{P}\right) + (g_{\parallel} - 2.0023) + \frac{3}{7}(g_{\perp} - 2.0023) + 0.04$$

where the dipole coefficient  $P = -0.036 \text{ cm}^{-1}$ . A similar trend was observed with  $g_{\parallel}$  values, all the compounds, except **3b**, **4b** and **1c**, were in the range between 0.68 and 0.75, which indicates that the M-L bond is



Fig. 9. (Black) Experimental and (green) simulated first derivative X-band EPR spectra of  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]^+$  (**1a**) (left), and  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{dmbpy})]^+$  (**1b**) (right), prepared in DMSO solution at a 70 K. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

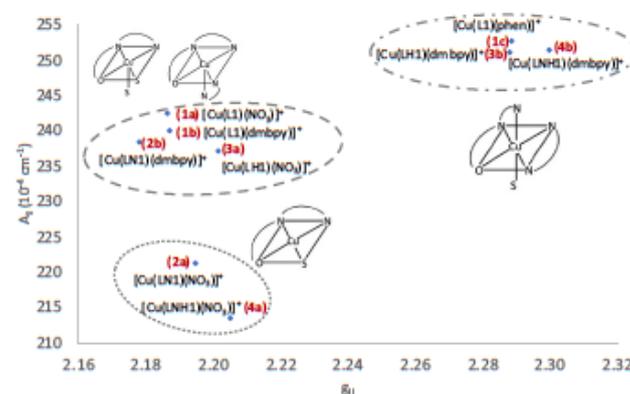


Fig. 10. Correlation of  $A_{\parallel}$  and  $g_{\parallel}$ .

Table 4

RPE parameters obtained by simulating the spectra on glass in DMSO at 77 K.

Code	$g_{\perp}$	$g_{\parallel}$	$A_{\perp}$	$A_{\parallel}$	$g_{iso}$	$A_{iso}$	$\frac{g_{\parallel}}{A_{\parallel}}$	$\alpha^2$
$[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$ ( <b>1a</b> )	1.9549	2.1864	20.6	242.6	2.0321	94.6	90	0.75
$[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$ ( <b>2a</b> )	1.9466	2.1947	38.4	221.3	2.0293	99.4	99	0.68
$[\text{Cu}(\text{LH1})(\text{NO}_3)]$ ( <b>3a</b> )	1.9609	2.2015	16.8	237.2	2.0411	90.3	93	0.74
$[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$ ( <b>4a</b> )	1.9495	2.2050	21.7	213.6	2.0347	85.6	103	0.67
$[\text{Cu}(\text{L1})(\text{dmbpy})]^+$ ( <b>1b</b> )	1.9598	2.1870	16.2	240.1	2.0355	90.8	91	0.74
$[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{dmbpy})]^+$ ( <b>2b</b> )	1.9560	2.1781	18.0	238.5	2.0300	91.5	91	0.73
$[\text{Cu}(\text{LH1})(\text{dmbpy})]^+$ ( <b>3b</b> )	2.0477	2.2998	14.0	251.5	2.1317	93.2	91	0.91
$[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{dmbpy})]^+$ ( <b>4b</b> )	2.0437	2.2881	16.4	251.2	2.1251	94.7	91	0.90
$[\text{Cu}(\text{L1})(\text{phen})]^+$ ( <b>1c</b> )	2.0393	2.2886	16.0	252.8	2.1224	94.9	91	0.90

A in units of  $\times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ ,  $\frac{g_{\parallel}}{A_{\parallel}}$  in cm.

covalent in nature and the ligands are strongly bonded to the metal center. The values for compounds **3b**, **4b** and **1c** were closer to 1, which indicates a higher ionic character, and that the M-L bond is weakly bound, the greater ionic character was also observed in the compounds with the highest value of  $g_{\parallel}$ . This may be due to the fact that the complexes coordinated to a hydrogenated ligand are more distorted, so there is less overlap of the  $\sigma$  orbitals, which implies a lower covalent character in the M-L bond, as has been observed in previous works such as the one developed by Klement et al. [57].

It was also observed that the complexes with the naphthalene moiety substituent in the NNO ligand presented lower  $\alpha^2$  values than those without the substituent, the higher aromaticity of the naphthalene enhances the delocalization of the electronic density of copper towards the ligand, increasing the covalent character of the bond [58].

#### 4.4. Cyclic voltammetry

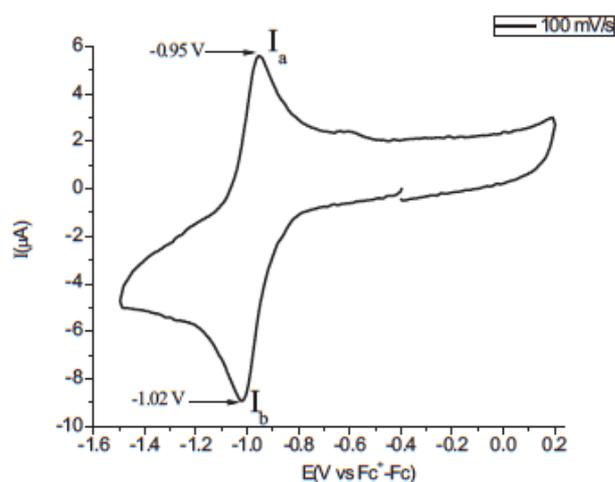
The redox behavior of compounds was studied by cyclic voltammetry from open circuit potential to negative direction using a scan rate, the results are summarized in Table 5. Fig. 11 shows a typical voltammogram for [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)] (**1a**), where one oxidation signal  $I_a$  and one reduction signal  $I_b$  were observed. This redox processes can be attributed to the copper redox couple Cu<sup>II</sup>L/Cu<sup>I</sup>L [42]. From potential peak their corresponding values  $\Delta E_p = 0.077$  V and  $E_{1/2} = -0.98$  V vs Fc<sup>+</sup>/Fc were calculated, which allows us to identify reversible electron transfer. In the case of compound [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)] (**2a**), see Fig. S20, the electron transfer Cu<sup>II</sup>L + e<sup>-</sup> → Cu<sup>I</sup>L was observed with two additional signals  $I_b^*$  and  $I_a^*$ . According to the literature and considering the increase of aromatic ring in [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)] (**2a**) in comparison with [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)] (**1a**) processes are  $I_b^*$  and  $I_a^*$  can be related to adsorption processes with  $\pi \dots \pi$  interactions between naphthyl moiety and vitreous carbon electrode [59]. Same behavior is observed in compounds [Cu(LH1)(NO<sub>3</sub>)] (**3a**) and of [Cu(LNH1)(NO<sub>3</sub>)] (**4a**), (Figs. S21 and S22) where additional signals are associated to adsorption processes.

For compounds [Cu(L1)(dmbpy)]<sup>+</sup> (**1b**) and [Cu(LN1)(dmbpy)]<sup>+</sup> (**2b**) see Figs. S23 and S24, the electron transfer process Cu<sup>II</sup>L + e<sup>-</sup> → Cu<sup>I</sup>L are also observed. In the case of [Cu(LH1)(dmbpy)]<sup>+</sup> (**3b**) at open circuit potential value compound presented a strong adsorption processes at the electrode accompanied with a redox process Cu<sup>II</sup>L<sub>(elec)</sub> + e<sup>-</sup> → Cu<sup>I</sup>L<sub>(elec)</sub>, which block the electrode surface and decrease the amount of soluble [Cu(LH1)(dmbpy)]<sup>+</sup> (**3b**), see Fig. S25. As a consequence, only reduction process  $I_b$  from Cu<sup>II</sup>L to Cu<sup>I</sup>L was observed. For compound [Cu(L1)(phen)]<sup>+</sup> (**1c**) see Fig. S27, a quasi-reversible electron transfer Cu<sup>II</sup>L + e<sup>-</sup> → Cu<sup>I</sup>L in combination with adsorption processes at open circuit potential and close the diffusion control process were observed.

To assign as a diffusion-controlled process, the current divided by the square root of the sweep speed ( $I/v^{1/2}$ ) normalized current vs. the potential (E(V vs Fc<sup>+</sup>/Fc)) was plotted, when the graphs overlap at different speeds, can be attributed to the diffusion-controlled process, as shown in Fig. 12 for compounds [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)] **1a** and [Cu(LNH1)(NO<sub>3</sub>)] **4a**, and

**Table 5**  
Electrochemical data of copper(II) complexes (0.1 molL<sup>-1</sup>) in DMSO. The experiments were reference to the pair Fc<sup>+</sup>/Fc.

Process	Cu <sup>II</sup> L + e <sup>-</sup> → Cu <sup>I</sup> L		
Code	$E_{pc}(V)$	$\Delta E_p(mV)$	$E_{1/2}(V)$
[Cu(L1)(NO <sub>3</sub> )] ( <b>1a</b> )	-1.02	77	-0.98
[Cu(LN1)(NO <sub>3</sub> )] ( <b>2a</b> )	-1.22	79	-1.19
[Cu(LH1)(NO <sub>3</sub> )] ( <b>3a</b> )	-1.12	116	-1.06
[Cu(LNH1)(NO <sub>3</sub> )] ( <b>4a</b> )	-1.22	147	-1.15
[Cu(L1)(dmbpy)]PF <sub>6</sub> ( <b>1b</b> )	-1.23	80	-1.20
[Cu(LN1)(dmbpy)]PF <sub>6</sub> ( <b>2b</b> )	-1.24	85	-1.20
[Cu(LH1)(dmbpy)]PF <sub>6</sub> ( <b>3b</b> )	-1.37	-	-
[Cu(LNH1)(dmbpy)]PF <sub>6</sub> ( <b>4b</b> )	-1.37	125	-1.30
[Cu(L1)(phen)]PF <sub>6</sub> ( <b>1c</b> )	-1.30	59	-1.27



**Fig. 11.** Voltammogram of [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)] (**1a**) in DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, cathodic direction. Working electrode: vitreous carbon. Scan rate = 0.1 V/s.

Figs. S19-S27 for all complexes. The use advantage of use normalized current representation instead typical  $I_{pc}$  and  $I_{pa}$  currents vs  $v^{1/2}$  is that base line is required, that many times by an inadequate estimation gives deviation of Randles-Sevcik equation.

Furthermore, electrochemical signal with different behavior that fast electron transfer processes controlled by diffusion are observed. It can be seen in the graph in Fig. 12 for [Cu(LNH1)(NO<sub>3</sub>)] **4a**, that the shape and maximum potentials change with  $v^{1/2}$  that can be attributed to adsorption of chemical species.

To corroborate this premise, the vitreous carbon working electrode was changed for a platinum one, the images are shown following Fig. 13 for [Cu(LNH1)(NO<sub>3</sub>)] **4a**, the voltammograms were run at different speeds and at different potential windows, observing the signal becoming more intense.

The voltammograms at 100 mV/s were compared and it was observed that the signals attributed to the absorptions, with the platinum electrode, were modified, these disappeared, probably related to  $\pi \dots \pi$  interactions between coordination compounds and the electrode surface. In this way, these signals were attributed to absorptions of the electrode as shown in Fig. 14. The signals controlled by diffusion and that did not change their shape or shift when the electrode was changed, were the signals attributed to the Cu<sup>II</sup>/Cu<sup>I</sup> process.

A detailed description of adsorption processes are beyond the scope of this work. A study to understand the nature of these processes using electrochemical impedance spectroscopy will be presented in a future work.

The  $\Delta E_p$  values for **1a**, **2a**, **1b**, **2b** and **1c**, varies between 59 and 85 mV; for compounds with hydrogenated ligands, **3a**, **4a** and **4b**, between 116 and 147 which indicates that the electron transfer in the reduction process was slower in those. In all complexes  $\Delta E_p$  exceeds the Nernstian requirement of 59 mV for one electron, which suggests quasi-reversible systems.

As we can see in EPR studies, the hydrogenated ligands are more flexible than the Schiff bases and generate a greater distortion in the metal center geometry. The flexibility of the hydrogenated ligands favor a rearrangement in the coordination sphere and stabilize the Cu<sup>I</sup>L species since they can adopt a tetrahedral distorted geometry, causing them to be less reversible or irreversible systems as **3b** [57, 60].

The calculated  $E_{1/2}$  were between the range of -1.30 – -0.98 V, compounds with hydrogenated ligands have a lower  $E_{1/2}$ , this was attributed to the fact that the nitrogen atom in the hydrogenated ligands is more basic and a best electron-donor [17], which induces a higher electron density in the copper(II) atom, making it a less oxidizing

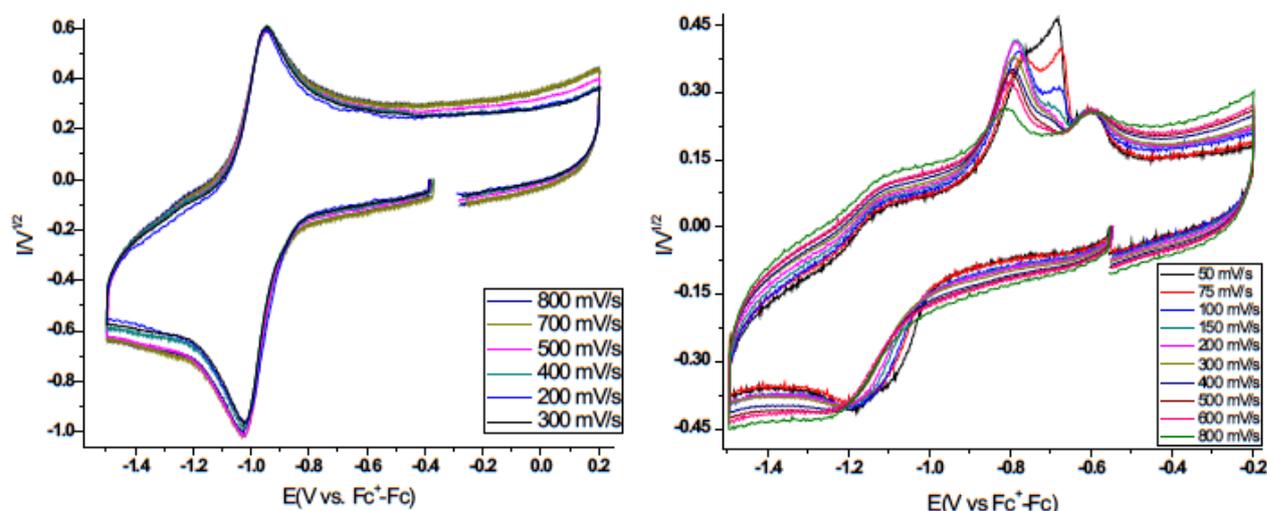


Fig. 12. Graph of current divided by the square root of the sweep speed ( $I/V^{1/2}$ ) vs. the potential ( $E(V \text{ vs } \text{Fc}^+/\text{Fc})$ ) for  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$  **1a** (left) and  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$  **4a** (right).

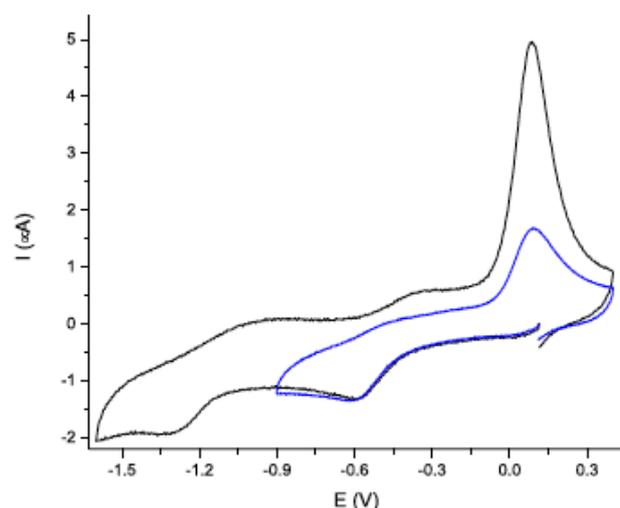


Fig. 13. Voltammogram of  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$  **4a**, 1 mM in DMSO + TBAPF<sub>6</sub>, 0.1 M, cathodic direction. Working electrode: platinum. Scan rate = 0.1 V/s.

species. The mixed compounds presented lower  $E_{1/2}$  values than the non-mixed, mixed complexes were better reducing agents due to the dmbpy that has two methylene's substituents in 4,4' positions, that act as electron-donors by inductive effect, increasing electron density in the copper(II) atom.

#### 4.5. Half maximal inhibitory concentrations ( $IC_{50}$ ) of copper(II) complexes

$IC_{50}$  values are shown in Table 6 in  $\mu\text{M}$  concentrations, all the complexes presented cytotoxic activity, and it is shown that in some cases, such as in mixed complexes or Casiopeinas fourth generation, the compounds have an enhanced cytotoxic activity compared to cisplatin (20.0  $\mu\text{M}$ ) and Casiopeina III-ia (17.2  $\mu\text{M}$ ), the latter belonging to Casiopeina's first generation.

It was observed that with the naphthalene moiety the biological activity had a twofold increase approximately. When the 4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridine was coordinated, the activity had a fourfold

improvement approximately, and when the Schiff base was hydrogenated the  $IC_{50}$  decreases almost twofold, the obtained results are illustrated in Fig. 15.

The naphthene moiety substituent in the tridentate ligand NNO increases the cytotoxic activity of the complexes: DNA is one of the most studied molecular targets in the antitumor drug design, molecules can present electrostatic interactions, groove binding and intercalative binding, which are non-covalent interactions. Intercalation occurs when a planar heterocyclic aromatic ring intercalates within the base pairs of the DNA double helix. This type of interaction can inhibit DNA replication, transcription and repair processes, making intercalators potent mutagens [61].

Analogous complexes with *salen* type ligands, such as  $[\text{Cu}(\text{salen}-\text{NMe}_3)]^{2+}$ ,  $[\text{Cu}(\text{salphen}-\text{NMe}_3)]^{2+}$  and  $[\text{Cu}(\text{salnaph}-\text{NMe}_3)]^{2+}$ , were examined using the DNA-fiber EPR technique. The results showed that they presented different interactions with DNA. Complexes with ligands (*salphen*-NMe<sub>3</sub>) and (*salnaph*-NMe<sub>3</sub>), present greater aromaticity and generate more planar complexes that enhance the  $\pi \dots \pi$  stacking intercalation with DNA and a greater binding constant  $K_b$ , compared to *salen* that interacts in the DNA grooves [25,62].

The naphthalene moiety group in the tridentate ligand increased the planarity and aromaticity, favoring  $\pi \dots \pi$  stacking type interactions, which are stronger compared to electrostatic interactions, that is reflected in an increase in the activity of the complexes [25,27].

Hydrogenated ligands also improve the cytotoxicity of the compounds because they could form H-bonds with different molecular targets: The hydrogenated ligands present two secondary amines with a hydrogen atom that can form hydrogen bonds with oxygen, nitrogen or sulfur atoms.

It has been observed that compounds such as echinomycin, which is a biopeptidic antibiotic, and organometallic complexes "piano-stool" type  $[(\eta^6\text{-arene})\text{Ru}(\text{en})\text{Cl}]$  [63], presented different interactions with DNA and these union are enhanced by the interaction of hydrogen-bonds that forms the molecules with the nitrogen base pair atoms.

Hydrogenated ligands can form H-bonds with some molecular target, causing interference in the cell cycle [64], H-bonds improves the binding force with proteins, enzymes or DNA, which is reflected in an increase in the activity of the compounds, as observed in Fig. 15.

Compounds with hydrogenated ligands such as  $[\text{Cu}(\text{LH1})(\text{dmbpy})]^+$  **3b** and  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{dmbpy})]^+$  **4b** had a greater biological activity. This can also be attributed to the fact that the M-L bonds have an ionic character, as observed in the EPR studies, which means that the ligands are weakly bound to copper, one of the donor atoms, such as the

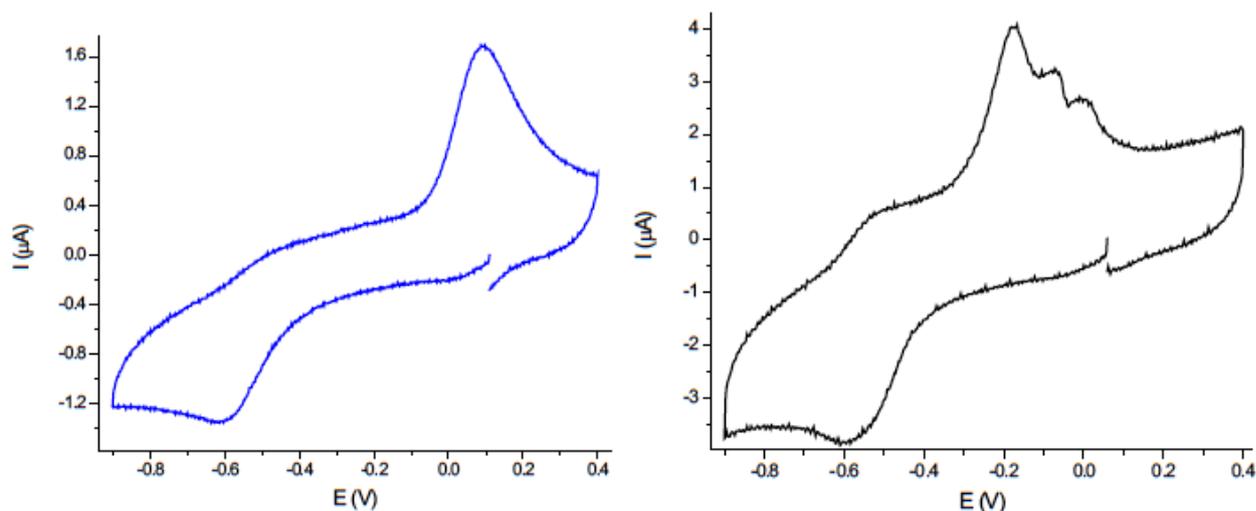


Fig. 14. Voltammogram of Graph of  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$  **4a**, 1 mM in DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, cathodic direction. Working electrode: platinum (left) and vitreous carbon (right). Scan rate = 0.1 V/s.

Table 6

Half inhibitory concentration ( $\text{IC}_{50}$ ) in HeLa cells, logarithm of half inhibitory concentration ( $\text{LogIC}_{50}$ ), cathodic peak potential ( $E_{pc}$ ), theoretical n-octanol-water partition coefficient ( $\text{LogP}$ ), and conjugated rings of the copper(II) complexes.

Code	$\text{IC}_{50}$ HeLa ( $\mu\text{M}$ )	$\text{LogIC}_{50}$ HeLa	$E_{pc}$ (V)	$\text{LogP}$	Conjugated rings
$[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$ <b>1a</b>	79.5 ±5.5	1.90	-1.02	-3.7	0
$[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$ <b>2a</b>	59.6 ±4.0	1.77	-1.22	-3.5	1
$[\text{Cu}(\text{LH1})(\text{NO}_3)]$ <b>3a</b>	70.5 ±4.1	1.85	-1.12	-4.3	0
$[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$ <b>4a</b>	33.2 ±1.6	1.52	-1.22	-3.8	1
$[\text{Cu}(\text{L1})(\text{dmbpy})]^+$ <b>1b</b>	23.9 ±1.1	1.38	-1.23	1.8	2
$[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{dmbpy})]^+$ <b>2b</b>	13.0 ±0.1	1.11	-1.24	-4.9	3
$[\text{Cu}(\text{LH1})(\text{dmbpy})]^+$ <b>3b</b>	15.2 ±1.3	1.18	-1.37	-0.2	2
$[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{dmbpy})]^+$ <b>4b</b>	7.2±0.4	0.86	-1.37	7.7	3
$[\text{Cu}(\text{L1})(\text{phen})]^+$ <b>1c</b>	6.1 ± 1.3	0.78	-1.30	-0.25	4
Casiopeina III-ia	17.2 ±0.8	1.23	-	-	-
Cisplatin	20.0 ±2.1	1.30	-	-	-

terminal nitrogen, could uncoordinated, and change the geometry of the complex to square planar favoring intercalating interactions with DNA, as reported by Iwasaki et al. in various studies of DNA-fiber EPR [65].

**Mixed compounds are more active than non-mixed ones:** The coordination of the ligands phen and dmbpy increases the biological activity of the mixed compounds. In Casiopeinas first generation, a pharmacophore effect has been attributed to the complexes  $[\text{Cu}(\text{bpy})(\text{L})]^{2+}$  and  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L})]^{2+}$  [11,66] due to the ligand's ability to interact with molecular targets such as DNA in a non-covalent manner, aromatic diimines are capable of intercalating and stabilizing  $\pi\cdots\pi$  stacking interactions with DNA [67].

Jaividhya et al., synthesized copper(II) complexes with tridentate Schiff base ligands NNO  $[\text{Cu}(\text{NNO})(\text{H}_2\text{O})_2]^+$  and their mixed derivatives  $[\text{Cu}(\text{NNO})(\text{N-N})]^+$  where N-N = bpy, phen, dpq, dppz and dmdppz. They

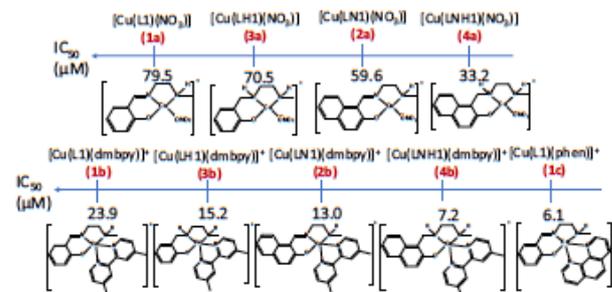


Fig. 15. Biological activity of the non-mixed compounds  $[\text{Cu}(\text{NNO})(\text{NO}_3)]$  and the fourth generation of Casiopeinas  $[\text{Cu}(\text{NNO})(\text{N-N})]^+$ , obtained by the MMT assay in  $\mu\text{M}$ .

reported the interaction with DNA by uv-vis technique, the addition of the aromatic diimine allows the partial intercalation of the ligand through  $\pi\cdots\pi$  stacking interactions, the binding constant  $K_b$  increased when the diimine ligands were more planar, augmenting in the next form  $\text{bpy} < \text{phen} < \text{dpq} < \text{dmdppz} < \text{dppz}$  [68,69]. The change of the bpy ligand for phen improves the activity of the complexes, the phen ligand presents intercalative interaction with DNA, due to the fact that it presents a third aromatic ring in its structure, the binding constants  $K_b$  are higher compared to the complexes with bpy [70]. Also, a nuclease activity has been attributed to the  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L})n]^{n\pm}$  by gel electrophoresis studies, in presence of a reducing species the complex is capable of cleaving DNA through the oxidation damage caused by the generation of reactive oxygen species (ROS) in a Fenton-type reaction [68,71].

Phenanthroline causes a greater toxicity of the compound  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{phen})]^+$  **1c**, compared to the naphthalene moiety substituent in the tridentate ligand to  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{dmbpy})]^+$  **1b**, due to the nuclease activity of the Cu-phen complex and the greater aromaticity in the ligand with the three conjugated aromatic rings rather than two rings in naphthalene.

#### 4.6. Structure-activity relationship

The structure-activity relationship is a mathematical theoretical model that allows predicting the relationship between a molecule's chemical structure and its biological activity. It allows to determine a

physicochemical property responsible for causing a biological effect. This allows for rational drug design by modifying the structure and enhances the effect of the drug.

Different parameters were found as descriptors of the biological activity of the copper coordination compounds. The complexes were separated in two groups, group 1, Schiff base's ligands (1a, 2a, 1b, 2b, and 1c); and hydrogenated ligands (3a, 4a, 3b, and 4b). LogIC<sub>50</sub> values were plotted as a function of different parameters, such as the cathodic peak potential ( $E_{pc}$ ), the theoretical log P, and the number of conjugated aromatic rings.

The reduction potential is an electronic parameter that describes the reducing or oxidizing capacity of a metal. For coordination compounds, a strong correlation has been observed between the half-wave potential and the biological activity of copper in Casiopeina's first and third generation; and ruthenium metal complexes [9,11,72]. This relationship is involved in the ability of metals to participate in Fenton-type reactions and generate reactive oxygen species (ROS) that cause DNA damage or simply generate a redox imbalance within the tumor cell, subsequently leading to cell death [3,4].

The LogIC<sub>50</sub> and the cathodic peak potential ( $E_{pc}$ ) follow a proportional trend, see Eqs. (1) and (2) (supplementary materials, Figs. S28 and S29), which suggests that copper may be involved in the mechanism of action of these compounds, through the generation of ROS, which could lead to oxidative DNA damage [73].

$$\text{Group 1 } \text{Log}(IC_{50}) = 3.46(E_{pc}) + 5.55 R^2 = 0.632 \quad (1)$$

$$\text{Group 2 } \text{Log}(IC_{50}) = 3.32(E_{pc}) + 5.57 R^2 = 0.904 \quad (2)$$

In both groups, it was observed that non-mixed complexes [Cu(NNO)(NO<sub>2</sub>)]<sup>+</sup> were more oxidizing (−1.22—−1.02 V) compared to the mixed compounds (−1.23 - -1.37 V), [Cu(NNO)(N-N)]<sup>+</sup>. The less oxidizing species are those that present greater cytotoxicity, and it has been attributed to the fact that Cu<sup>II</sup> compounds can react with endogenous cellular reductants, generating Cu<sup>I</sup> species that could participate in the reduction of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and form the •OH radical. Although, the weaker oxidants are more difficult to reduce, the reduced species Cu<sup>I</sup> is easier to oxidize, favoring participation in Fenton-type reactions [4–6].

Compared to first generation Casiopeinas, which have reduction potentials between −0.35 - -0.21 V, fourth generation Casiopeinas have lower redox potentials, between −1.30 V - -0.98 V [11], which makes them less oxidizing species. In the QSAR study of the first generation Casiopeinas, it was observed that the less oxidizing species are those that present a greater biological activity in cancer cells, in this work the reduction of the synthesized complexes was not so favored, however, the reaction between Cu<sup>I</sup> species with the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for the generation of •OH radical is more quantitative compared to the first generation Casiopeinas.

The logarithm of n-octanol-water partition coefficient (LogP) indicates the hydrophilic or hydrophobic capacity of a compound. Lipinsky suggested to use the LogP to predict the biopharmaceutical activity of an organic compound, drugs have to be hydrophobic enough to be able to penetrate the cell membrane, but hydrophilic enough not to get trapped in it [74,75]. Coordination compounds do not follow Lipinsky rules, but their biological activity has also shown a trend with LogP; ionic complexes with a cationic character and LogP values >5.6 are also capable of presenting good biological activity [11].

The coordination of the ligands to a metal affects the toxicity of the compounds, not only modulating the reduction potential, as it was observed in Section 4.4, they can also modify their permeability into the cell. Complexes with greater lipophilicity have presented superior cytotoxicity compared to those that are more hydrophilic.

LogP values were calculated theoretically as described in Section 3.5, results are shown in Table 6. The graph of LogIC<sub>50</sub> as a function of LogP showed that the more hydrophobic compounds (higher LogP) were more active in the HeLa cell line, see Eqs. (3) and (4) (supplementary

materials, Figs. S30 and S31).

$$\text{Group 1 } \text{Log}(IC_{50}) = -0.14(\text{Log}P) + 1.28 R^2 = 0.542 \quad (3)$$

$$\text{Group 2 } \text{Log}(IC_{50}) = -0.071(\text{Log}P) + 1.34 R^2 = 0.848 \quad (4)$$

Non-mixed complexes [Cu(NNO)(NO<sub>2</sub>)], presented lower LogP values (−4.3 to −3.5) compared to their mixed derivatives (−4.9–7.7), [Cu(NNO)(bpy)]<sup>+</sup>, where the addition of the aromatic diimine increases the lipophilicity. The cytotoxic activity is influenced by the partition coefficient and the more hydrophobic compounds, that are more permeable, will exhibit greater toxicity.

Coordination compounds with aromatic ligands usually have good antitumor activity, not only do they increase the lipophilicity of the complexes, they also favor π...π stacking-type interactions with molecular targets. In this work, the activity of the complexes was enhanced when the aromaticity of the primary and secondary ligands increased. To study the influence of aromaticity, the following numbering was assigned, which depends on the conjugated aromatic rings in the ligands: compounds coordinated to the NNO ligand without substituents (1a and 3a) were assigned a 0. Those with the naphthalene moiety in the NNO ligand a 1 (2a and 4a). The mixed complexes with dmbpy, where the NNO ligand did not present naphthalene moiety a 2 (1b and 3b). The mixed complexes with dmbpy, with naphthalene moiety in the NNO ligand a 3 (3b and 4b). And the mixed compounds with phen where the NNO ligand did not present a naphthalene substituent was assigned a 4 (1c).

The LogIC<sub>50</sub> was plotted as a function of the conjugated aromatic rings; the biological activity increased when NNO ligand have the naphthalene moiety group, as well as when the primary ligand N-N was coordinated, see Eqs. (5) and (6) (supplementary materials, Figs. S32 and S33).

$$\text{Group 1 } \text{Log}(IC_{50}) = -0.29(\text{Conjugated Rings}) + 1.97 R^2 = 0.982 \quad (5)$$

$$\text{Group 2 } \text{Log}(IC_{50}) = -0.33(\text{Conjugated Rings}) + 1.85 R^2 = 0.999 \quad (6)$$

As discussed above, the relationship of cytotoxic activity with the aromaticity of the ligands has been attributed to their ability to interact with molecular targets, such a DNA, through π...π stacking-interactions [76,77].

In the correlation with one variable as a function of LogIC<sub>50</sub>, the number of aromatic rings was the parameter that showed the best relationship for both groups (R<sup>2</sup> = 0.982 and 0.999), followed by the cathodic peak potential (R<sup>2</sup> = 0.632 and 0.904) and lastly the LogP (R<sup>2</sup> = 0.542 and 0.848). The use of only one parameter to find a correlation with potential biological activity is an inexact approximation, because a mathematical model that fully describes the structure-activity relationship must take into account all the parameters of the molecule that influence the biological activity. However, it allows us to know if the modulation of the descriptor influences the pharmaceutical activity of the molecule. In order to find a better correlation, two descriptors were combined and by the multiple linear regression method three equations were obtained for each group of compounds, shown in Table S1.

In both groups, the best relationship was found when the cathodic peak potential and the aromatic rings were used as biological activity descriptors (R<sup>2</sup> = 0.998 and 1.0), seen Eqs. (7) and (8); and Fig. 16.

$$\begin{aligned} \text{Group 1 } \text{Log}(IC_{50}) &= -1.01(E_{pc}) - 0.35(\text{Conjugated Rings}) + 0.87 R^2 \\ &= 0.998 \end{aligned} \quad (7)$$

$$\begin{aligned} \text{Group 2 } \text{Log}(IC_{50}) &= 0.078(E_{pc}) - 0.32(\text{Conjugated Rings}) + 1.94 R^2 \\ &= 1.00 \end{aligned} \quad (8)$$

For group 1 the coefficient that multiplies the cathodic peak potential was greater than the coefficient that multiplies the number of aromatic rings in the ligand; while, for group 2 the coefficient that

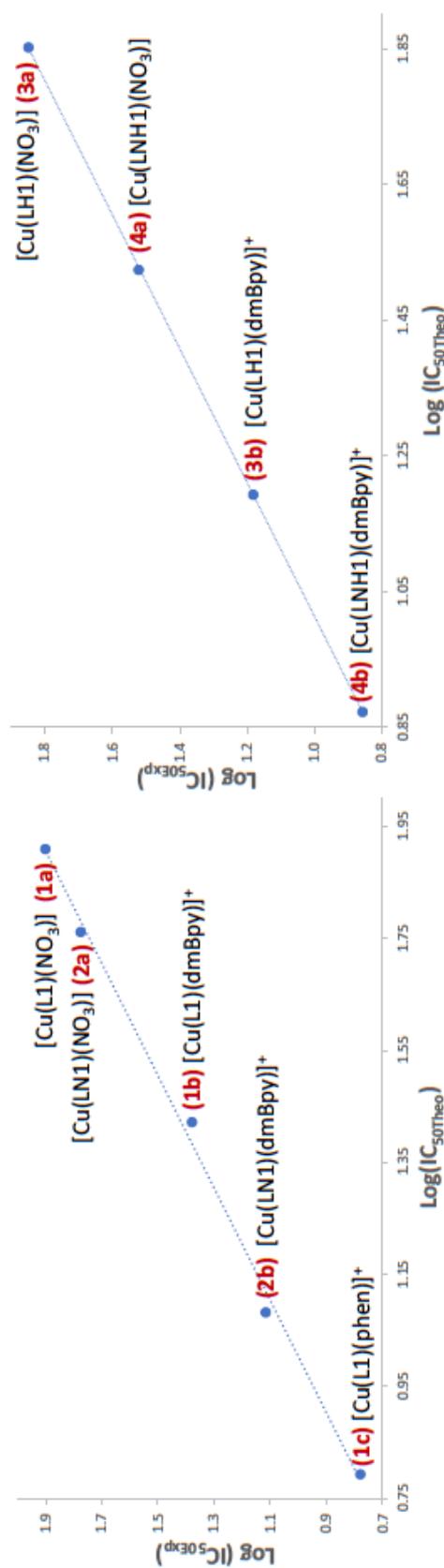


Fig. 16. Plot of experimentally obtained  $IC_{50}$  vs. calculated  $IC_{50}$  of group 1 (left) and group 2 (right).

multiplies the cathodic peak potential was smaller than the coefficient that multiplies the number of aromatic rings in the ligand. For compounds with Schiff base ligands or group 1, the  $E_{pc}$  was the parameter that causes the greater contribution on the biological activity of the complexes, and to a lesser extent the aromaticity of the ligand. For compounds with hydrogenated ligands or group 2, the main parameter that contributed the biological activity was the aromaticity of the ligands and to a lesser extent the  $E_{pc}$ , which agrees with what was observed in electrochemical studies, since the compounds of group 2 were less reversible systems, the catalytic cycle of ROS generation is not favored because the  $Cu^{II}$  species do not regenerate as Schiff base ligands do.

#### 4.7. DNA binding studies

Given the obtained results from the structure-activity relationship, the DNA interaction of the complexes was evaluated with titrations using CT-DNA and varying the concentration of these. The complexes' spectra in aqueous solution in presence of different amounts of CT-DNA were monitored. Binding constants ( $K_b$ ) were calculated using the Benesi-Hildebrand equation, plotting  $A_0/(A-A_0)$  vs.  $1/[DNA]$ ; the values are summarized in the Table 7 and the interactions graphs are shown in Figs. S34–S42.

Compounds 1a, and 3a in presence of CT-DNA showed a similar behavior, with increasing concentrations of DNA, the absorption bands of the complex were affected, resulting in the tendency of hyperchromism and a slight blue shift as shown in Fig. 17 for 1a. This can be result of interactions in DNA grooves [42]. The binding constant values determined for these compounds were  $3.8 \times 10^4$  (1a), and  $3.6 \times 10^4$  (2a).

2a, 4a, 1b, 2b, 3b and 4b, presented an isobestic point, a blue shift and an hyperchromism effect, as shown in Fig. 17 for 1b. For  $Zn^{II}$  complexes this effect has been attributed of the formation of covalent bindings with DNA, a new species is form with DNA [78]. The covalent interaction can be carry out through the phosphate oxygens, and subsequently joined the minor groove of the DNA, as proposed by Galindo et al. through its molecular dynamics [79]. The binding constant value determined for these compounds were  $8.5 \times 10^3$  (2a),  $5.7 \times 10^4$  (4a),  $1.9 \times 10^4$  (1b),  $3.3 \times 10^4$  (2b),  $2.1 \times 10^4$  (3b) and  $3.7 \times 10^4$  (4b). It was observed that the complexes with naphthalene moiety had a higher  $K_b$ , so they have a stronger interaction with DNA. Also, the hydrogenated compounds 3b and 4b had a higher  $K_b$  than 1b and 2b, due to their union with DNA is stronger than for those with the azomethine group.

Compound 1c presented a hypochromic effect, shown in fig. S42,

Table 7

Effect observed on the absorption spectra of the complexes after the addition of different amounts of CT-DNA, type of interaction assigned and binding constants ( $K_b$ ) calculated.

Code	Effect	Type of interaction	$K_b$ ( $M^{-1}$ )
[Cu(L1)NO <sub>3</sub> ] (1a)	Hyperchromism, blue shift	Groove binding	$3.8 \times 10^4$
[Cu(LN1)NO <sub>3</sub> ] (2a)	Hyperchromism, isobestic point	Covalent binding	$8.5 \times 10^3$
[Cu(LH1)NO <sub>3</sub> ] (3a)	Hyperchromism, blue shift	Groove binding	$3.6 \times 10^4$
[Cu(LNH1)NO <sub>3</sub> ] (4a)	Hyperchromism, isobestic point	Covalent binding	$5.7 \times 10^4$
[Cu(L1)(dmBpy)] <sup>+</sup> (1b)	Hyperchromism, isobestic point	Covalent binding	$1.9 \times 10^4$
[Cu(LN1)(dmBpy)] <sup>+</sup> (2b)	Hyperchromism, isobestic point	Covalent binding	$3.3 \times 10^4$
[Cu(LH1)(dmBpy)] <sup>+</sup> (3b)	Hyperchromism, isobestic point	Covalent binding	$2.1 \times 10^4$
[Cu(LNH1)(dmBpy)] <sup>+</sup> (4b)	Hyperchromism, isobestic point	Covalent binding	$3.7 \times 10^4$
[Cu(L1)(phen)] <sup>+</sup> (1c)	Hypochromism	Intercalative	$7.0 \times 10^4$

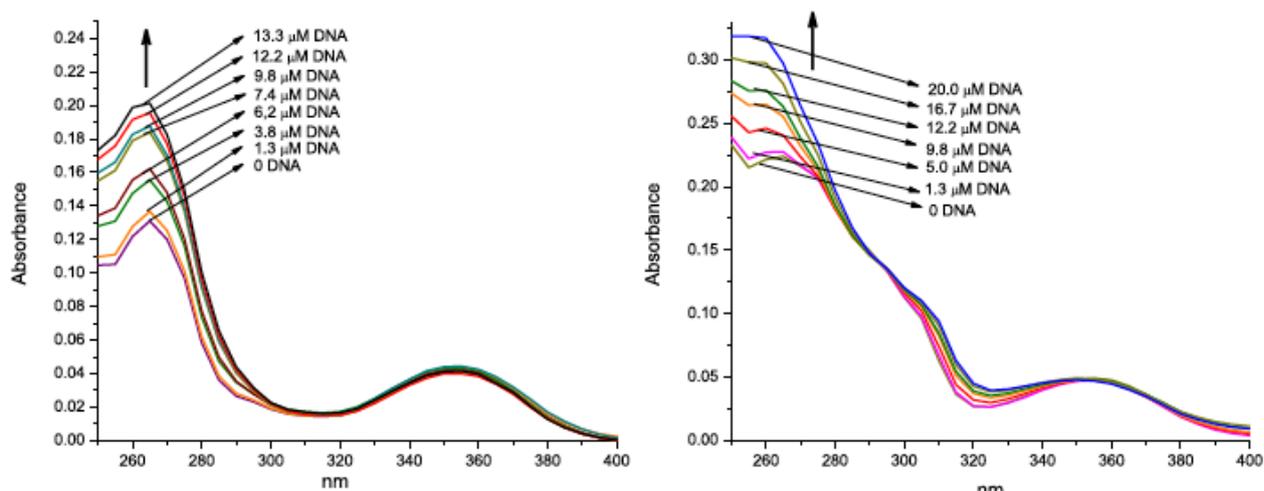


Fig. 17. Absorption spectra of  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$  **1a** (left) and  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{dmbpy})]^+$  **1b** (right) in the absence and in the presence of increasing concentration of CT-DNA.

attributed to the intercalation into the DNA base pairs [80]. The binding constant value determined for this compound was  $7.0 \times 10^4$ , which is the highest value compared to the others compounds, so **1c** binds more strongly than the rest of the complexes.

#### 4.8. DNA cleavage activity

The nuclease activity of the mixed and non-mixed complexes was evaluated by gel electrophoresis using plasmid pBr 322, in presence and absence of  $\text{H}_2\text{O}_2$ , after 12 h of incubation at  $37^\circ\text{C}$ . The results are shown in the Fig. 18, the ability to cleave DNA was qualitatively evaluated through the formation of nicked circular DNA form (form II) and linear DNA form (form III) from the supercoiled form (form I).

It was observed that the supercoiled DNA form (form I) decreases in the presence of the complexes, increasing the intensity of the nicked circular DNA form (form II), this effect augmented for the mixed compounds and for the compounds with the hydrogenated ligands.

In the presence of  $\text{H}_2\text{O}_2$ , it was observed that the formation of form II increases compared to the studies without  $\text{H}_2\text{O}_2$ . For compounds **4a**, **2b**, **3b** and **1c** the formation of linear DNA (form III) was observed. In presence of  $\text{H}_2\text{O}_2$  complexes cleave DNA ability was more effective, which may be due to the reaction of hydroxyl radical with DNA [4]. Furthermore it is clear that mixed and hydrogenated complexes exhibit higher nuclease activity when compared with non-mixed complexes.

#### 5. Conclusion

The synthesis and characterization of four coordination compounds with tridentate salen-type ligands, their hydrogenated derivatives  $[\text{Cu}(\text{NNO})(\text{NO}_3)]$  and five mixed chelate Casiopeina's fourth generation. Four of those with dmbpy and one with phen;  $[\text{Cu}(\text{NNO})(\text{N-N})]^+$ , are reported. The characterization by different techniques allowed knowing their geometry in solution in DMSO, **1a**, **3a**, **1b**, and **2b** presented a square-based pyramid geometry, **2a**, and **4a** a square planar, and **3b**, **4b** and **1c** octahedral.

Using the MMT assay, the cytotoxicity of the compounds against HeLa tumor cell line was determined. All the compounds presented a biological activity. The fourth generation Casiopeinas were more active than the non-mixed compounds, even as active as cisplatin and Casiopeina III-ia.

Epc, LogP and the aromaticity were used as descriptors of the biological activity, the main descriptor parameters were  $E_{\text{pc}}$  and the aromaticity of the ligand, which allowed us to propose that the possible

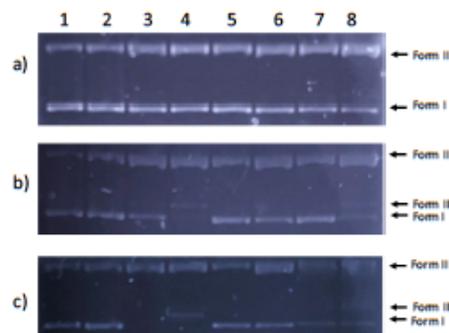


Fig. 18. Agarose gel (1%) showing results of electrophoresis at 12 h. 4  $\mu\text{L}$  of pBR 322 Plasmid, 2  $\mu\text{L}$  of  $\text{H}_2\text{O}_2$  (10  $\mu\text{M}$ ), 2  $\mu\text{L}$  of complexes in DMSO (85  $\mu\text{M}$ ), until 20  $\mu\text{L}$  of total volume with sterilized water. a) Lane 1: pBR 322 Plasmid DNA + sterilized water; Lane 2: pBR 322 Plasmid DNA +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + sterilized water; Lane 3: pBR 322 Plasmid DNA +  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$  **1a** + sterilized water; Lane 4: pBR 322 Plasmid DNA +  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$  **1a** +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + sterilized water; Lane 5: pBR 322 Plasmid DNA +  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$  **2a** + sterilized water; Lane 6: pBR 322 Plasmid DNA +  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$  **2a** +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + sterilized water; Lane 7: pBR 322 Plasmid DNA +  $[\text{Cu}(\text{LH1})(\text{NO}_3)]$  **3a** + sterilized water; Lane 8: pBR 322 Plasmid DNA +  $[\text{Cu}(\text{LH1})(\text{NO}_3)]$  **3a** +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + sterilized water. b) Lane 1: pBR 322 Plasmid DNA + sterilized water; Lane 2: pBR 322 Plasmid DNA +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + sterilized water; Lane 3: pBR 322 Plasmid DNA +  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$  **4a** + sterilized water; Lane 4: pBR 322 Plasmid DNA +  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$  **4a** +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + sterilized water; Lane 5: pBR 322 Plasmid DNA +  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{dmbpy})]^+$  **1b** + sterilized water; Lane 6: pBR 322 Plasmid DNA +  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{dmbpy})]^+$  **1b** +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + sterilized water; Lane 7: pBR 322 Plasmid DNA +  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{dmbpy})]^+$  **2b** + sterilized water; Lane 8: pBR 322 Plasmid DNA +  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{dmbpy})]^+$  **2b** +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + sterilized water. c) Lane 1: pBR 322 Plasmid DNA + sterilized water; Lane 2: pBR 322 Plasmid DNA +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + sterilized water; Lane 3: pBR 322 Plasmid DNA +  $[\text{Cu}(\text{LH1})(\text{dmbpy})]^+$  **3b** + sterilized water; Lane 4: pBR 322 Plasmid DNA +  $[\text{Cu}(\text{LH1})(\text{dmbpy})]^+$  **3b** +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + sterilized water; Lane 5: pBR 322 Plasmid DNA +  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{dmbpy})]^+$  **4b** + sterilized water; Lane 6: pBR 322 Plasmid DNA +  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{dmbpy})]^+$  **4b** +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + sterilized water; Lane 7: pBR 322 Plasmid DNA +  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{phen})]^+$  **1c** + sterilized water; Lane 8: pBR 322 Plasmid +  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{phen})]^+$  **1c** in +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + of sterilized water.

mechanism of action involves the generation of ROS and non-covalent interactions molecular targets, similar to Casiopeina's first generation, which could be corroborated by studies of the interaction of the complexes with CT-DNA and by gel electrophoresis using the plasmid pBR 322.

DNA interaction studies using uv-spectra and gel electrophoresis allow us to verify that the compounds can present different interactions with DNA, these will depend on the type of ligands. The structural changes in the tridentate ligands (L1, LN1, LH1 and LNH1) and in the aromatic diamine (dmbpy or phen) improved the activity of the compounds, changes such as the hydrogenation of the Schiff base ligands (LH1 and LNH1) could favor hydrogen-bonds with molecular targets; and the naphthalene group and the aromatic diamine (LN1, LNH1, dmbpy and phen), could favored interactions with DNA, that it was observed that these compounds have a higher  $K_b$  compared to their analogues

Gel electrophoresis allowed us to verify that the compounds may be involved in the generation of reactive oxygen species, since the ability to split DNA increases in the presence of  $H_2O_2$ , just as it allowed us to observe that mixed compounds generate greater DNA damage compared to non-mixed ones.

The synthesis of tridentate secondary ligands confers a great versatility on fourth generation Casiopeinas, due to the fact that easy synthesis and the choice of amine and aldehyde precursors allows us to generate a great number of new ligands, which will allow us to modulate the properties of the complexes, such as the redox potential, lipophilicity, and even the addition of functional groups that favor intermolecular interactions with biological targets.

#### Funding

This work was supported by UNAM-PAPIIT IN230020 and UNAM-PAIP 5000–9047. C. S. N. R (grant no. 695826), thanks to CONACyT.

#### CRediT authorship contribution statement

**Cynthia Sinai Novoa-Ramírez:** Conceptualization, Methodology, Software, Formal analysis, Data curation, Investigation, Writing – original draft. **Arelí Silva-Becerril:** Methodology. **Mauricio Misael González-Ballesteros:** Methodology, Formal analysis. **Virginia Gomez-Vidal:** Methodology, Formal analysis. **Marcos Flores-Álamo:** Methodology, Software, Formal analysis, Data curation, Writing – original draft. **Luis Ortiz-Frade:** Formal analysis, Writing – review & editing. **Jesús Gracia-Mora:** Supervision, Writing – review & editing. **Lena Ruiz-Azuara:** Resources, Project administration, Supervision, Funding acquisition, Writing – review & editing.

#### Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

#### Data availability

Data will be made available on request.

#### Acknowledgment

We thank USAII for nuclear magnetic resonance tests, chromatography coupled to mass spectrometry tests and monocrystal X-ray. To Chemistry Institute for FAB+ mass spectrums, elemental analysis and electronic paramagnetic resonance. To LANCAD-UNAM-DGTIC-358 for supercomputer services. To Dra. Laura Padiema and M. Karyna Perez from the Laboratorios de Especialidades Inmunológicas S.A. de C.V. for the donating material. Thank to Adrian Espinoza-Guillén and Rogelio Hurtado-Alamea for technical support.

#### Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2022.112097>.

<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2022.112097>.

#### References

- J. Wang, Z. Xin Li, C. Xiang Qiu, D. Wang, Q. Hua Cui, The relationship between rational drug design and drug side effects, *Brief Bioinform.* 13 (3) (2012) 377–382, <https://doi.org/10.1093/bib/bbr061>.
- R. Alemón-Medina, J.L. Muñoz-Sánchez, L. Ruiz-Azuara, I. Gracia-Mora, Casiopeína Igly induced cytotoxicity to HeLa cells depletes the levels of reduced glutathione and is prevented by dimethyl sulfoxide, *Toxicol. In Vitro* 22 (3) (2008) 710–715, <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2007.11.011>.
- W.H. Koppenol, The Haber-Weiss cycle - 70 years later, *Redox Rep.* 6 (4) (2001) 229–234, <https://doi.org/10.1179/135100001101536373>.
- R. Kachadourian, H.M. Brechbuhl, L. Ruiz-Azuara, I. Gracia-Mora, B.J. Day, Casiopeína Igly-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction in human lung cancer A549 and H157 cells, *Toxicology* 268 (3) (2010) 176–183, <https://doi.org/10.1016/j.tox.2009.12.010>.
- S.D. Aust, L.A. Morehouse, C.E. Thomas, Role of metals in oxygen radical reactions, *J. Free Radicals Biol. Med.* 1 (1) (1985) 3–25, [https://doi.org/10.1016/0748-5514\(85\)90025-X](https://doi.org/10.1016/0748-5514(85)90025-X).
- B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge, Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview, *Methods Enzymol.* 186, no. C (1990) 1–85, [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)86093-B](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)86093-B).
- M. Elena Bravo-Gómez, et al., Secondary ligand effects on the cytotoxicity of several Casiopeína's group II compounds secondary ligand effects on the cytotoxicity of several Casiopeína's group II compounds article, *Chem. Soc.* 2012 (1) (2012) 85–92.
- M. Reina, L.F. Hernández-Ayala, M.E. Bravo-Gómez, V. Gómez, L. Ruiz-Azuara, Second generation of Casiopeinas®: a joint experimental and theoretical study, *Inorg. Chim. Acta* 517 (October) (2020), <https://doi.org/10.1016/j.ica.2020.120201>.
- Y. Figueroa-depaz, et al., Cytotoxic activity and structure – activity relationships of mixed chelate compounds with bioactive secondary ligands, *Molecules* (2022), <https://doi.org/10.3390/molecules27113504>.
- A. De Vizaaya-Ruiz, A. Rivero-Müller, L. Ruiz-Ramírez, J.A. Howarth, M. Dobrota, Hematotoxicity response in rats by the novel copper-based anticancer agent: Casiopeína II, *Toxicology* 194 (1–2) (2003) 103–113, <https://doi.org/10.1016/j.tox.2003.08.009>.
- Ó. Casiopeinas, M.E. Bravo-gómez, J.C. García-ramos, I. Gracia-mora, L. Ruiz-azuara, Antiproliferative activity and QSAR study of copper (II) mixed chelate [Cu (N–N)(acetylacetonato)] NO 3 and [Cu (N – N)(glycinato)] NO 3 complexes, *J. Inorg. Biochem.* 103 (2) (2009) 299–309, <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2008.10.006>.
- L. Becco, J.C. García-Ramos, L.R. Azuara, D. Gambino, B. Garat, Analysis of the DNA interaction of copper compounds belonging to the Casiopeinas® Antitumoral series, *Biol. Trace Elem. Res.* 161 (2) (2014) 210–215, <https://doi.org/10.1007/s12011-014-0098-1>.
- A. Rivero-Müller, A. De Vizaaya-Ruiz, N. Plant, L. Ruiz, M. Dobrota, Mixed chelate copper complex, Casiopeína Igly®, binds and degrades nucleic acids: a mechanism of cytotoxicity, *Chem. Biol. Interact.* 165 (3) (2007) 189–199, <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2006.12.002>.
- C.S. Novoa-Ramírez, A. Silva-becerril, L.R.-A. Olivera-venturo, Fiorella L. Olivera-Venturo, Juan Carlos García-Ramos, Crystals N / N bridge type and substituent effects on chemical and crystallographic properties of schiff base, *Cryst. Eng. Comm.* 10 (2020) 616.
- H. Naeimi, M. Moradian, Efficient synthesis and characterization of some novel nitro-schiff bases and their complexes of nickel(II) and copper(II), *J. Chemother.* 2013 (2013), <https://doi.org/10.1155/2013/701826>.
- K. Sato, M. Chikira, Y. Fujii, A. Komatsu, Stereospecific binding of chemically modified salen-type Schiff base complexes of copper(II) with DNA [salen = bis(salicylidene)ethylenediamine], *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 5 (1994) 625–626, <https://doi.org/10.1039/C39940000625>.
- J.C. Pessoa, I. Correia, Salen vs. salen metal complexes in catalysis and medicinal applications: virtues and pitfalls, *Coord. Chem. Rev.* 388 (2019) 227–247, <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2019.02.035>.
- P. Adão, S. Barroso, F. Aveçilla, M.C. Oliveira, J.C. Pessoa, CuII-salen compounds synthesis, characterization and evaluation of their potential as oxidation catalysts, *J. Organomet. Chem.* 760 (2014) 212–223, <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2013.10.019>.
- M.K. Taylor, J. Reglinski, L.E.A. Berlouis, A.R. Kennedy, The effect of donor groups and geometry on the redox potential of copper Schiff base complexes, *Inorg. Chim. Acta* 359 (8) (2006) 2455–2464, <https://doi.org/10.1016/j.ica.2006.01.039>.
- J. Reglinski, M.K. Taylor, A.R. Kennedy, Hydrogenated Schiff base ligands: towards the controlled organisation of open metal frameworks, *Inorg. Chem. Commun.* 9 (7) (2006) 736–739, <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2006.04.013>.
- S. Carradori, et al., Salen and tetrahydrosalen derivatives act as effective inhibitors of the tumor-associated carbonic anhydrase XII - A new scaffold for designing isoform-selective inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 23 (24) (2013) 6759–6763, <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.10.026>.
- P. Gurumoorthy, D. Mahendiran, D. Prabhu, C. Anilvasu, A.K. Rahiman, Mixed-ligand copper(II) phenolate complexes: synthesis, spectral characterization, phosphate-hydrolysis, antioxidant, DNA interaction and cytotoxic studies, *J. Mol. Struct.* 1080 (2015) 88–98, <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2014.09.070>.
- T.M. Fasina, O. Ogundeke, F.N. Ejah, C.U. Dueke-Eze, Biological activity of copper (II), cobalt (II) and nickel (II) complexes of Schiff base derived from O-

- phenylenediamine and 5-bromosalicylaldehyde, *Int. J. Biol. Chem.* 6 (1) (2012) 24–30, <https://doi.org/10.3923/ijbc.2012.24.30>.
- [24] J.P. Costes, F. Dahan, M.B. Fernandez, M.I. Fernandez Garcia, A. M. Garcia Deibe, J. Sanmartín, General synthesis of 'salicylaldehyde half-unit complexes': structural determination and use as synthon for the synthesis of dimetallic or trimetallic complexes and of 'self-assembling ligand complexes', *Inorg. Chim. Acta* 274 (1) (1998) 73–81, [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(97\)05991-4](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(97)05991-4).
- [25] A. Bhattacharyya, A. Bauzá, S. Sproules, L.S. Natrajan, A. Frontera, S. Chattopadhyay, A polynuclear and two dinuclear copper(II) Schiff base complexes: synthesis, characterization, self-assembly, magnetic property and DFT study, *Polyhedron* 137, no. II (2017) 332–346, <https://doi.org/10.1016/j.poly.2017.08.010>.
- [26] I. Somasundaram, M. Palaniandavar, Factors influencing the stability of ATP in ternary complexes: spectroscopic investigation of the interaction of certain biomimetic copper(II) complex with ATP and AMP, *J. Inorg. Biochem.* 53 (2) (1994) 95–107, [https://doi.org/10.1016/0162-0134\(94\)85024-0](https://doi.org/10.1016/0162-0134(94)85024-0).
- [27] M. Das, B.N. Ghosh, A. Valkonen, K. Rissanen, S. Chattopadhyay, Copper(II) complexes with tridentate N2O donor Schiff base isomers: modulation of molecular and crystalline architectures through supramolecular interactions, *Polyhedron* 60 (2013) 68–77, <https://doi.org/10.1016/j.poly.2013.04.045>.
- [28] Agilent, CrysAlisPro Data Collection and Processing Software for Agilent X-ray Diffractometers 44, Technol. UK Ltd, Yarnton, Oxford, UK, 2014, pp. 1–53.
- [29] R.C. Clark, J.S. Reid, The analytical calculation of absorption in multifaceted crystals, *Acta Crystallogr. Sect. A* 51 (6) (1995) 887–897, <https://doi.org/10.1107/S0108767395007367>.
- [30] G.M. Sheldrick, SHELXT - Integrated space-group and crystal-structure determination, *Acta Crystallogr. Sect. A Found. Crystallogr.* 71 (1) (2015) 3–8, <https://doi.org/10.1107/S2053227314026370>.
- [31] G.M. Sheldrick, Crystal structure refinement with SHELXL, *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.* 71 (M4) (2015) 3–8, <https://doi.org/10.1107/S2053229614024218>.
- [32] L.J. Farrugia, WinGX and ORTEP for windows: an update, *J. Appl. Crystallogr.* 45 (2012) 849–854, <https://doi.org/10.1107/S0021889812029111>.
- [33] C.F. Macrae, et al., Mercury CSD 2.0 - new features for the visualization and investigation of crystal structures, *J. Appl. Crystallogr.* 41 (2) (2008) 466–470, <https://doi.org/10.1107/S0021889807067908>.
- [34] A.L. Spek, PLATON SQUEEZE: a tool for the calculation of the disordered solvent contribution to the calculated structure factors, *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.* 71 (2015) 9–18, <https://doi.org/10.1107/S2053229614024929>.
- [35] S. Parsons, H.D. Rack, T. Wagner, Use of intensity quotients and differences in absolute structure refinement, *Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Sci. Cryst. Eng. Mater.* 69 (3) (2013) 249–259, <https://doi.org/10.1107/S2052519213010014>.
- [36] R.W.W. Hooft, L.H. Straver, A.L. Spek, Determination of absolute structure using Bayesian statistics on Bijvoet differences, *J. Appl. Crystallogr.* 41 (1) (2008) 96–103, <https://doi.org/10.1107/S0021889807059870>.
- [37] L. Yan, Y. Lu, X. Li, A density functional theory protocol for the calculation of redox potentials of copper complexes, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 18 (Jan. 2016), <https://doi.org/10.1039/C5CP06638G>.
- [38] F. Vlahovic, S. Ivanovic, M. Zlatar, M. Gruden, Density functional theory calculation of lipophilicity for organophosphate type pesticides, *J. Serbian Chem. Soc.* 82 (12) (2017) 1369–1378, <https://doi.org/10.2298/JSC170725104V>.
- [39] H. Farrokhpour, M. Manasir, Approach for predicting the standard free energy of H<sup>+</sup> and acidity constant in nonaqueous organic solvents, *J. Chem. Eng. Data* 59 (11) (2014) 3555–3564, <https://doi.org/10.1021/je500459x>.
- [40] C.P. Kelly, C.J. Cramer, D.G. Truhlar, Aqueous solvation free energies of ions and ion-water clusters based on an accurate value for the absolute aqueous solvation free energy of the proton, *J. Phys. Chem. B* 110 (32) (2006) 16066–16081, <https://doi.org/10.1021/jp063552y>.
- [41] T. Mosmann, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, *J. Immunol. Methods* 65 (1–2) (1983) 55–63, [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4).
- [42] M. Pragathi, K. Hussain Reddy, Synthesis, crystal structures, DNA binding and cleavage activity of water soluble mono and dinuclear copper(II) complexes with tridentate ligands, *Inorg. Chim. Acta* 413 (2014) 174–186, <https://doi.org/10.1016/j.ica.2014.01.010>.
- [43] C.C. Addison, N. Logan, S.C. Wallwork, C.D. Garner, Structural aspects of coordinated nitrate groups, *Q. Rev. Chem. Soc.* 25 (2) (1971) 289–322, <https://doi.org/10.1039/qr9712500289>.
- [44] N.M. Karayannis, S.D. Sansino, C.M. Mikulski, M.J. Strocko, L.L. Pytlewski, M. M. Labes, Mono- and bi-dentate nitrate and cationic 4-ethoxypyridine N-oxide complexes with metal nitrates, *Inorg. Chim. Acta* 4 (C) (1970) 141–144, [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(00\)93257-2](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(00)93257-2).
- [45] A.B.P. Lever, E. Mantovani, B.S. Ramaswamy, Nitrate groups in various coordination environments, *Can. J. Chem.* 49 (7) (1971) 1957–1963.
- [46] S. Kathiresan, T. Anand, S. Mugesh, J. Annamji, Synthesis, spectral characterization and DNA bindings of tridentate N2O donor Schiff base metal(II) complexes, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 148 (2015) 290–301, <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.04.016>.
- [47] C.J. Yang, S.A. Jenekhe, Conjugated aromatic poly(azomethines). I. Characterization of structure, electronic spectra, and processing of thin films from soluble complexes, *Chem. Mater.* 3 (5) (1991) 878–887, <https://doi.org/10.1021/cm00017a025>.
- [48] B.J. Hathaway, A new look at the stereochemistry and electronic properties of complexes of the copper(II) ion, *Complex Chem. no. II* (2007) 55–118, <https://doi.org/10.1007/bf0111454>.
- [49] L. Yang, D.R. Powell, R.P. Houser, Structural variation in copper(I) complexes with pyridylmethylamide ligands: structural analysis with a new four-coordinate geometry index,  $\tau(\text{inf}) > 4 < /inf >$ , *Dalton Trans.* 9 (2007) 955–964, <https://doi.org/10.1039/b617136b>.
- [50] A.W. Addison, T.N. Rao, J. Reedijk, J. van Rijn, G.C. Verschoor, Synthesis, structure, and spectroscopic properties of copper(II) compounds containing nitrogen-sulphur donor ligands, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 7 (1) (1984) 1349–1356.
- [51] E. Garribba, G. Micera, The determination of the geometry of Cu(II) complexes: an EPR spectroscopy experiment, *J. Chem. Educ.* 83 (8) (2006) 1229, <https://doi.org/10.1021/ed083p1229>.
- [52] B.J. Hathaway, D.E. Billing, The electronic properties and stereochemistry of mono-nuclear complexes of the copper(II) ion, *Coord. Chem. Rev.* 5 (2) (1970) 143–207, [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(00\)80135-6](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(00)80135-6).
- [53] M. Iabonowska, E. Bidzińska, A. Para, M. Kurzdziel, EPR investigation of Cu(II)-complexes with nitrogen derivatives of dialdehyde starch, *Carbohydr. Polym.* 87 (4) (2012) 2605–2613, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.11.034>.
- [54] I. Ali, W.A. Wani, K. Saleem, Empirical formulae to molecular structures of metal complexes by molar conductance, *Synth. React. Inorganic, Met. Nano-Metal Chem.* 43 (9) (2013) 1162–1170, <https://doi.org/10.1080/15533174.2012.756898>.
- [55] V.I. Murav'ev, Interpretation of the parameters of the EPR spectra of transition metal complexes, *Russ. J. Coord. Chem. Khimiya* 31 (12) (2005) 837–848, <https://doi.org/10.1007/s11173-005-0179-y>.
- [56] D. Kivelson, R. Neman, ESR studies on the bonding in copper complexes, *J. Chem. Phys.* 35 (1) (1961) 142–148, <https://doi.org/10.1063/1.1731880>.
- [57] R. Klement, et al., Copper(II) complexes with derivatives of salen and tetrahydro-salen: a spectroscopic, electrochemical and structural study, *Polyhedron* 18 (27) (1999) 3617–3628, [https://doi.org/10.1016/S0277-5387\(99\)00291-0](https://doi.org/10.1016/S0277-5387(99)00291-0).
- [58] J.C. Añó García-Ramos, et al., The  $\pi$ -back-bonding modulation and its impact in the electronic properties of Cu(II) antineoplastic compounds: an experimental and theoretical study, *Chemistry* 20 (42) (2014) 13730–13741, <https://doi.org/10.1002/chem.201402775>.
- [59] F. Montilla, F. Huerta, E. Morallon, J.L. Vazquez, Electrochemical behaviour of benzene on platinum electrodes, *Electrochim. Acta* 45 (2000) 4271–4277, [https://doi.org/10.1016/S0013-4686\(00\)00560-0](https://doi.org/10.1016/S0013-4686(00)00560-0).
- [60] A. Mustapha, P. Duckmanton, J. Reglinski, A.R. Kennedy, N-donor ligand complexes of nickel, zinc and copper: comparisons with tetradentate N-donor ligands derived from Schiff bases, *Polyhedron* 29 (13) (2010) 2590–2594, <https://doi.org/10.1016/j.poly.2010.06.001>.
- [61] A. Rescifina, C. Zagni, M.G. Varrica, V. Pitarà, A. Corsaro, Recent advances in small organic molecules as DNA intercalating agents: synthesis, activity, and modeling, *Eur. J. Med. Chem.* 74 (2014) 95–115, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.11.029>.
- [62] A. Terenzi, et al., Selective G-quadruplex stabilizers: Schiff-base metal complexes with anticancer activity, *RSC Adv.* 4 (63) (2014) 33245–33256, <https://doi.org/10.1039/c4ra05355a>.
- [63] H. Chen, J.A. Parkinson, S. Parsons, R.A. Coxall, R.O. Gould, P.J. Sadler, Organometallic ruthenium(II) diamine anticancer complexes: Arene-nucleobase stacking and stereospecific hydrogen-bonding in guanine adducts, *J. Am. Chem. Soc.* 124 (12) (2002) 3064–3082, <https://doi.org/10.1021/ja017482e>.
- [64] S. Hmoud Alotaibi, A. Abdalla Momen, Anticancer drugs' deoxyribonucleic acid (DNA) interactions, *Biophys. Chem. - Adv. Appl.* (2020) 1–23, <https://doi.org/10.5772/intechopen.85794>.
- [65] M. Chikina, C.H. Ng, M. Palaniandavar, Interaction of DNA with simple and mixed ligand copper(II) complexes of 1,10-phenanthrolines as studied by DNA-fiber EPR spectroscopy, *Int. J. Mol. Sci.* 16 (9) (2015) 22754–22780, <https://doi.org/10.3390/ijms160922754>.
- [66] S. Masuni, et al., Copper(II) phenanthroline-based complexes as potential anticancer drugs: a walkthrough on the mechanisms of action, *Molecules* 27 (1) (2022), <https://doi.org/10.3390/molecules27010049>.
- [67] B.J. Pages, D.L. Ang, E.P. Wright, J.R. Aldrich-Wright, Metal complex interactions with DNA, *Dalton Trans.* 44 (8) (2015) 3505–3526, <https://doi.org/10.1039/C4DT02700K>.
- [68] P. Jaividhya, R. Dhivya, M.A. Akbarsha, M. Palaniandavar, Efficient DNA cleavage mediated by mononuclear mixed ligand copper(II) phenolate complexes: the role of co-ligand planarity on DNA binding and cleavage and anticancer activity, *J. Inorg. Biochem.* 114 (2012) 94–105, <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2012.04.018>.
- [69] Y. Iwasaki, et al., Conformational change of ternary copper(II) complexes of cationic Schiff-bases and N-heteroaromatic amines induced by intercalate binding to DNA, *Inorg. Chem. Commun.* 14 (9) (2011) 1461–1464, <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2011.05.047>.
- [70] Nial J. Wheate, Craig R. Brodie, J. Grant Collins, Sharon Kemp, Janice R. Aldrich-Wright, DNA intercalators in cancer therapy: organic and inorganic drugs and their spectroscopic tools of analysis, *Mini-Reviews Med. Chem.* 7 (6) (2007) 627–648, <https://doi.org/10.2174/138955707780859413>.
- [71] W. Villarreal, et al., Copper(I)-phosphine Polypyridyl complexes: synthesis, characterization, DNA/HSA binding study, and Antiproliferative activity, *Inorg. Chem.* 56 (7) (2017) 3781–3793, <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.6b02419>.
- [72] E.L. Cedillo-Gutiérrez, et al., Identification of descriptors for structure-activity relationship in ruthenium (II) mixed compounds with antiparasitic activity, *Eur. J. Med. Chem.* 189 (II) (2020), 112084, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112084>.

- [73] K. Jomova, et al., Protective role of quercetin against copper(II)-induced oxidative stress: a spectroscopic, theoretical and DNA damage study, *Food Chem. Toxicol.* no. 11 (2017), <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.10.042>.
- [74] P. Lalitha, S. Sivakamarundari, Calculation of molecular lipophilicity and drug likeness for few heterocycles, *Orient. J. Chem.* 26 (1) (2010) 135–141.
- [75] C.A. Lipinski, Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability, *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 44 (1) (2000) 235–249, [https://doi.org/10.1016/S1056-8719\(00\)00107-6](https://doi.org/10.1016/S1056-8719(00)00107-6).
- [76] A. Rauf, A. Shah, Synthesis, physicochemical elucidation, biological screening and molecular docking studies of a Schiff base and its metal(II) complexes, *Arab. J. Chem.* no. 11 (2017), <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.09.015>.
- [77] M. Dehkhodaei, et al., Synthesis, characterization, crystal structure and DNA, HSA-binding studies of four Schiff base complexes derived from salicylaldehyde and isopropylamine, *Inorg. Chim. Acta* 466 (2017) 48–60, <https://doi.org/10.1016/j.ica.2017.05.035>.
- [78] M. Sirajuddin, S. Ali, A. Badshah, Drug-DNA interactions and their study by UV-visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 124 (2013) 1–19, <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2013.03.013>.
- [79] R. Galindo-Murillo, J.C. García-Ramos, L. Ruiz-Azuara, T.E. Cheatham, F. Cortés-Guzmán, Intercalation processes of copper complexes in DNA, *Nucleic Acids Res.* 43 (11) (2015) 5364–5376, <https://doi.org/10.1093/nar/gkv467>.
- [80] Q. Wang, et al., Synthesis, characterization, DNA interaction, and antitumor activities of mixed-ligand metal complexes of kaempferol and 1,10-phenanthroline/2,2'-bipyridine, *Med. Chem. Res.* 23 (5) (2014) 2659–2666, <https://doi.org/10.1007/s00044-013-0863-2>.

## Anexo I. Espectros de infrarrojo

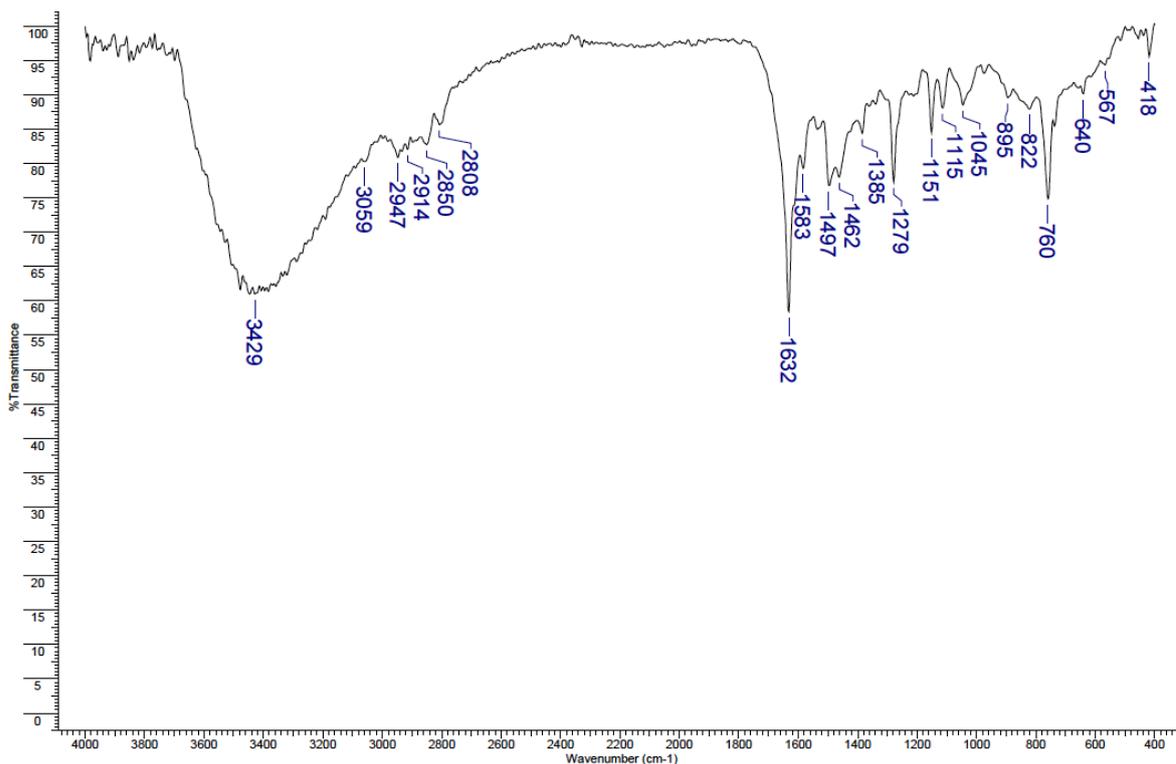


Figura I.I Espectro de infrarrojo FT del ligante L1.

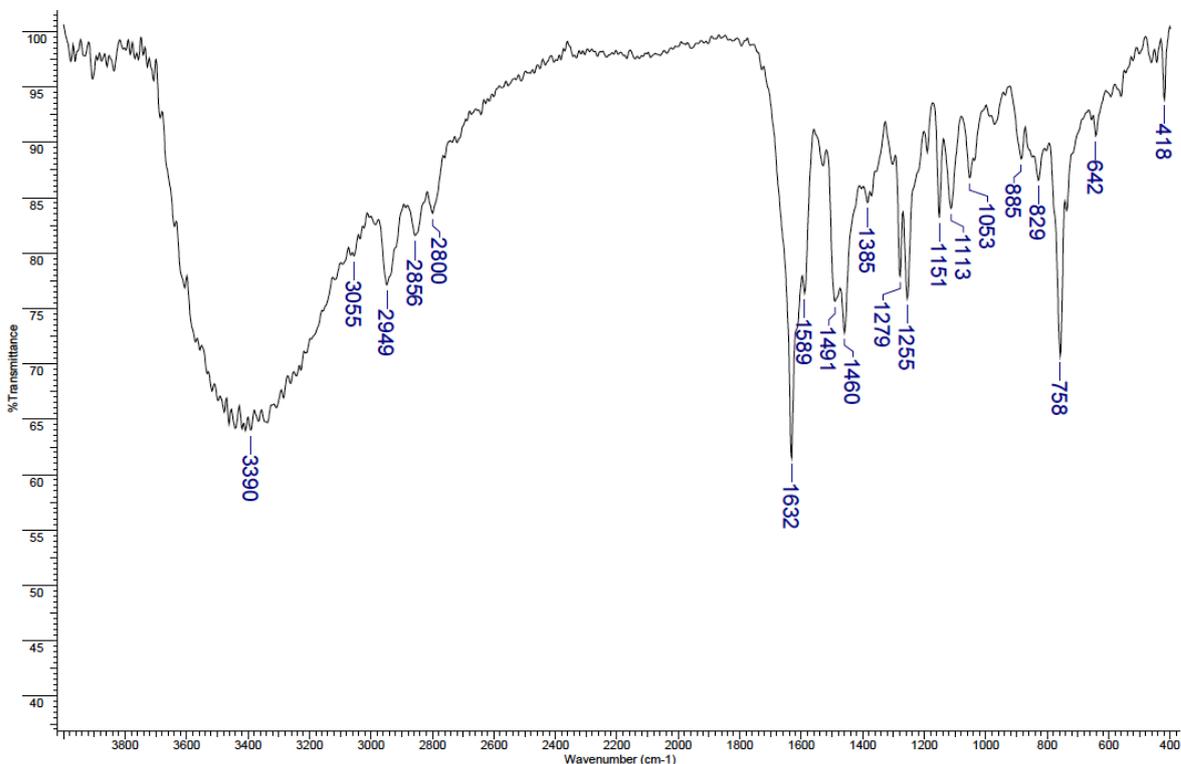


Figura I.II Espectro de infrarrojo FT del ligante L2.

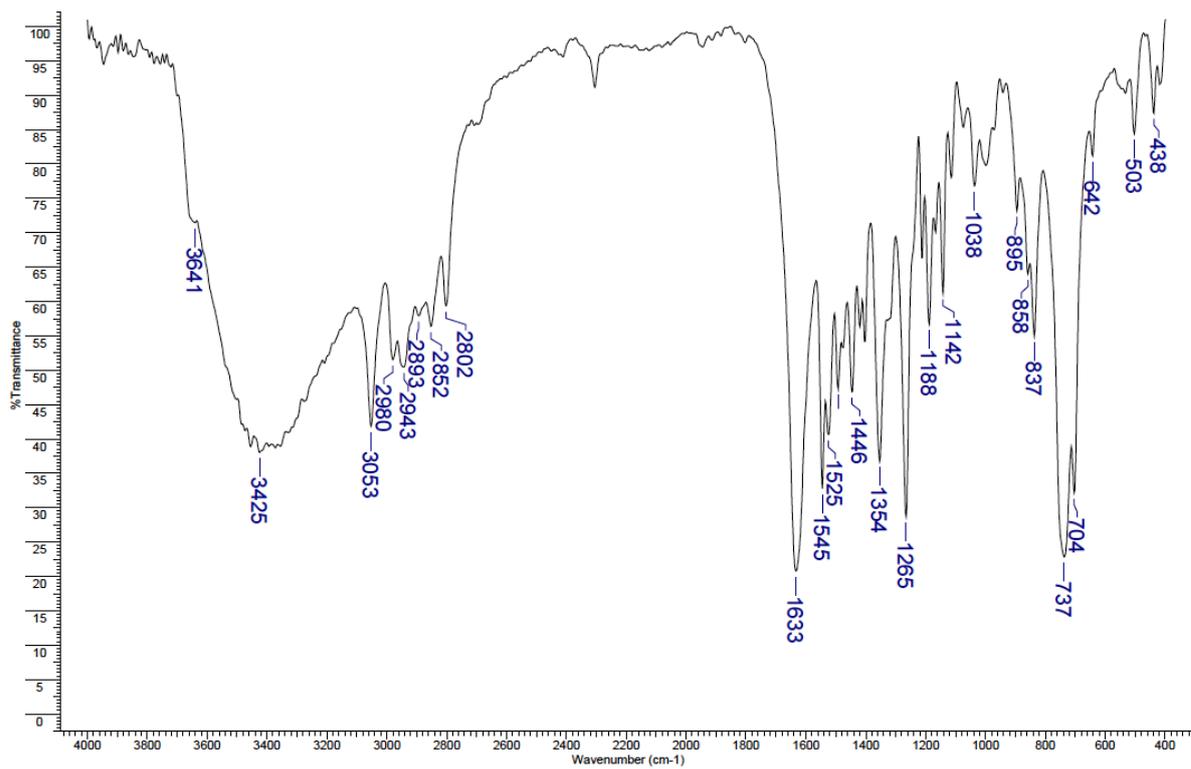


Figura I.III Espectro de infrarrojo FT del ligante LN1.

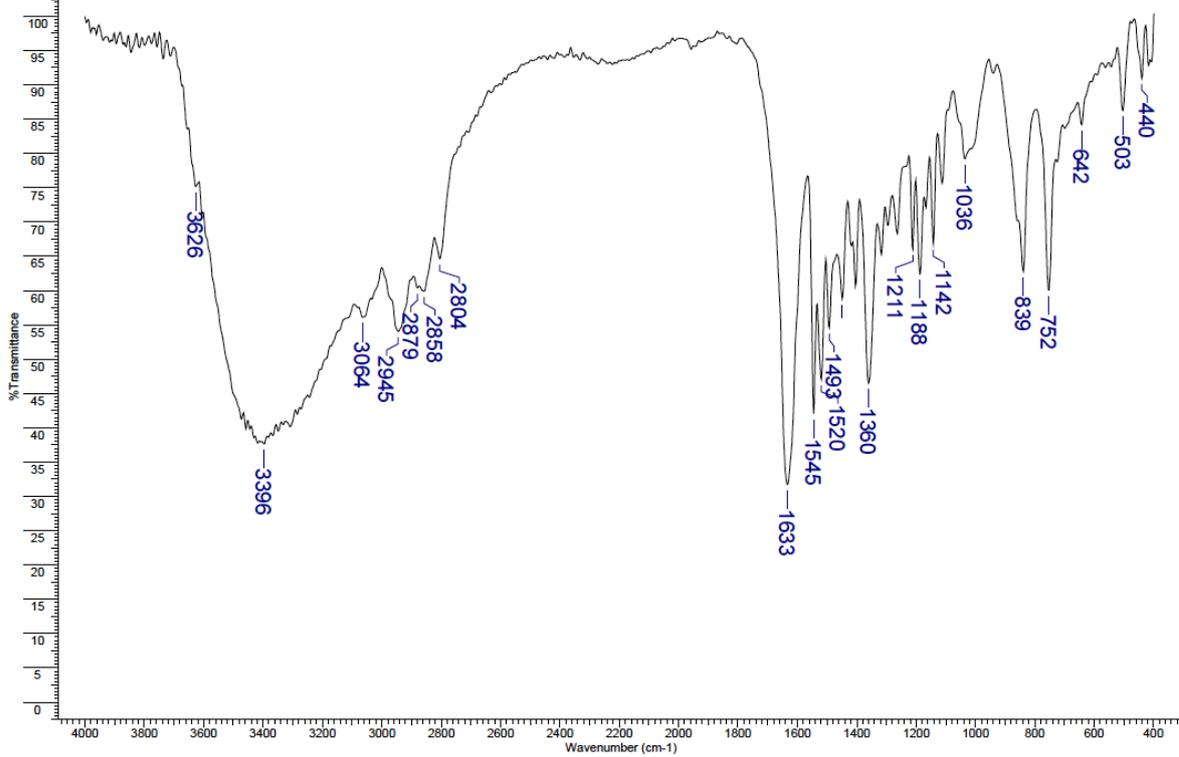


Figura I.IV Espectro de infrarrojo FT del ligante LN2.

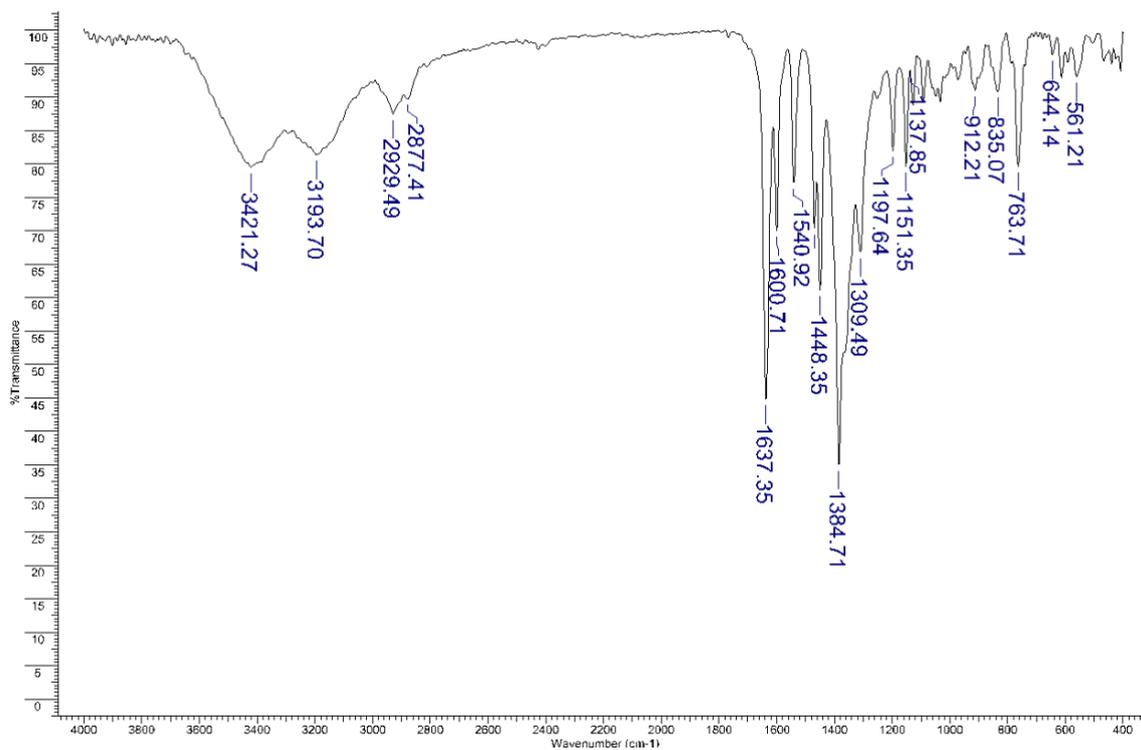


Figura I.V Espectro de infrarrojo FT del compuesto [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)].

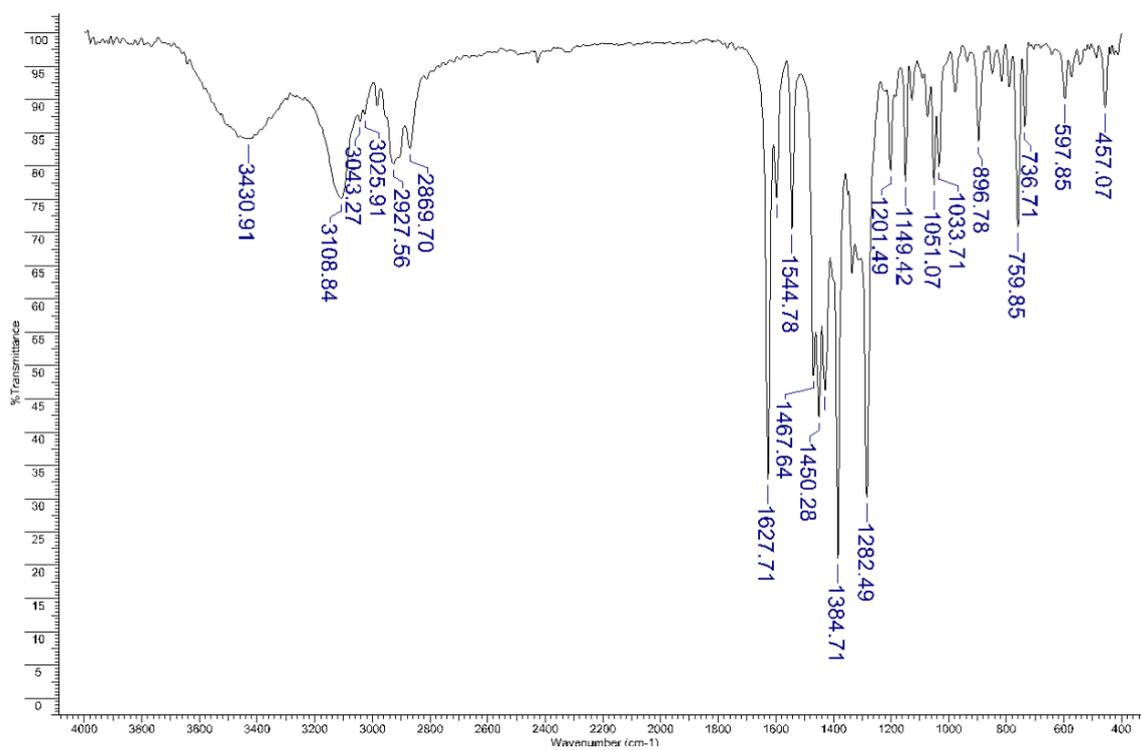


Figura I.VI Espectro de infrarrojo FT del compuesto [Cu(L2)(NO<sub>3</sub>)].

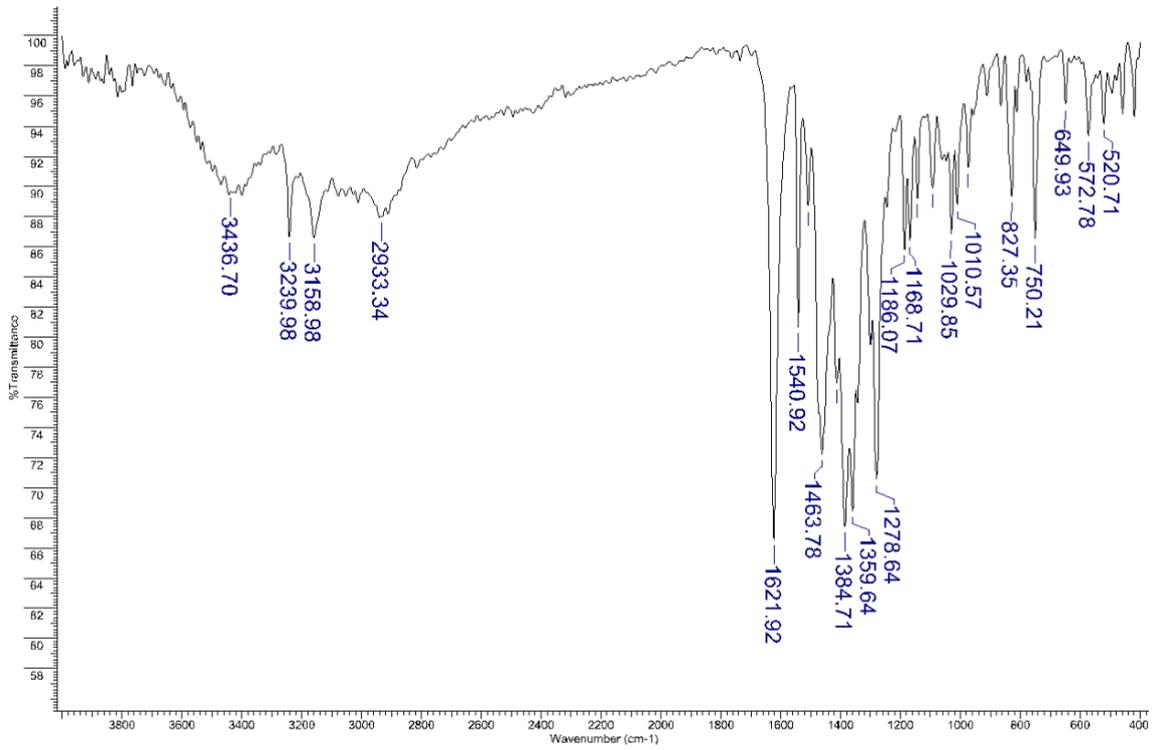


Figura I.VII Espectro de infrarrojo FT del compuesto [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)].

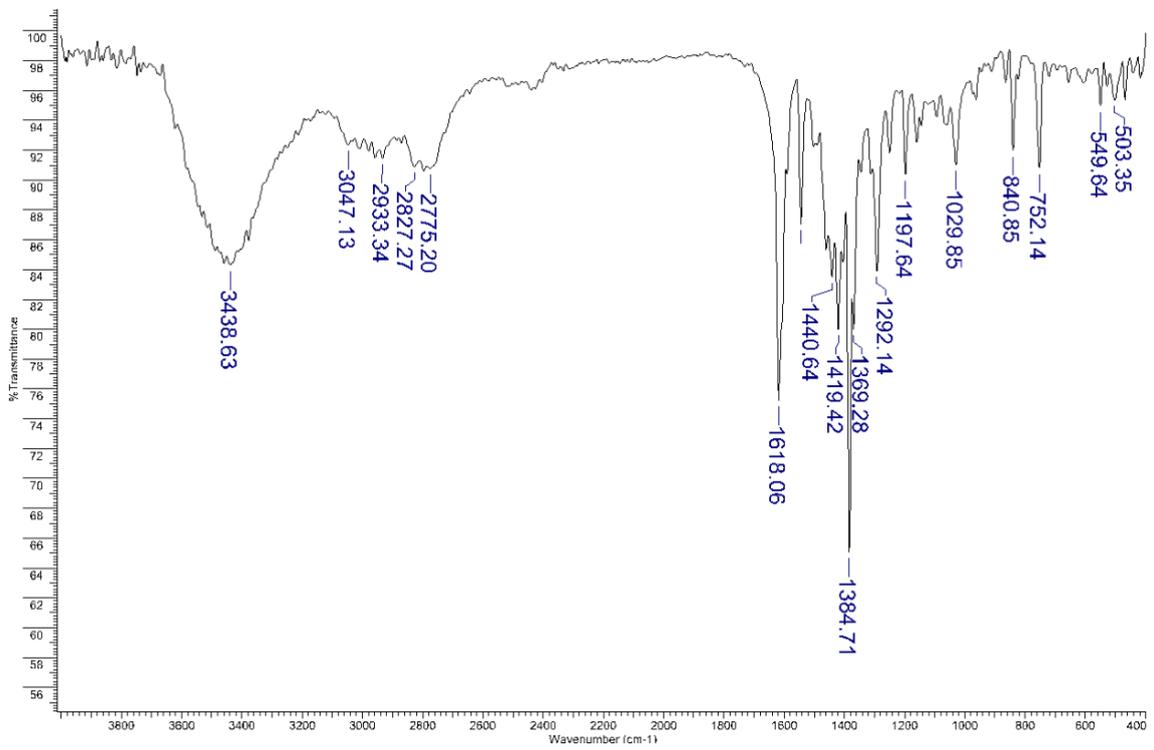


Figura I.VIII Espectro de infrarrojo FT del compuesto [Cu(LN2)(NO<sub>3</sub>)].

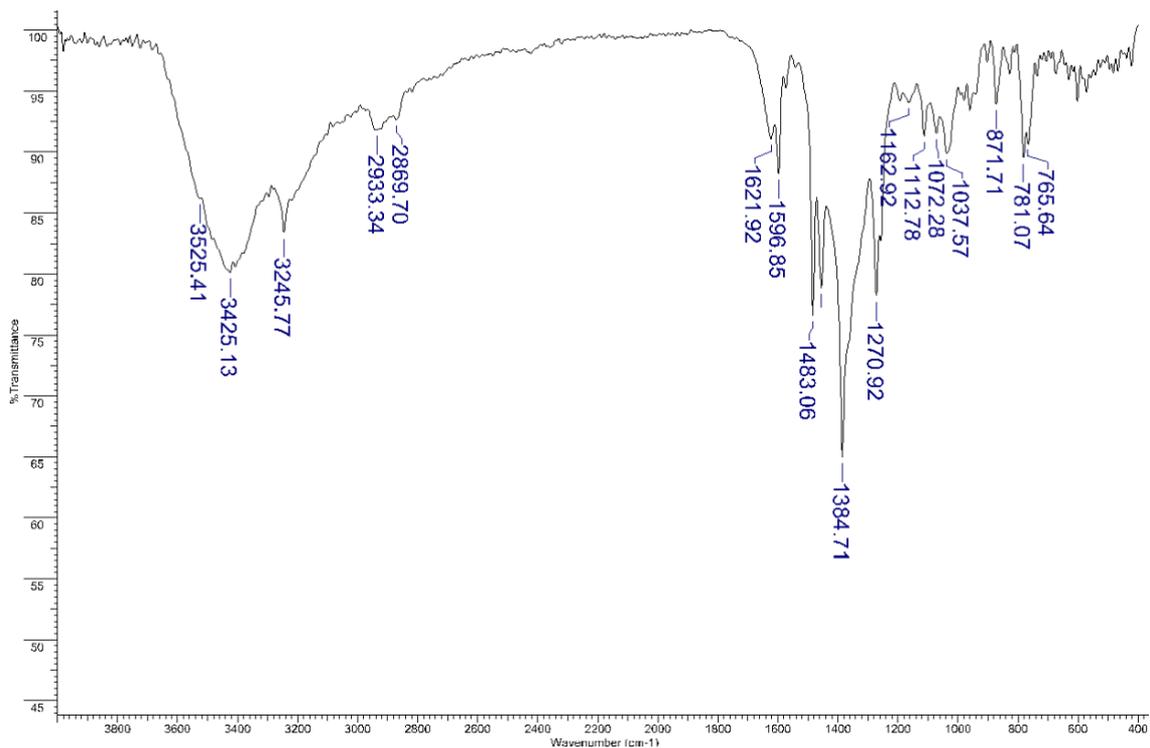


Figura I.X Espectro de infrarrojo FT del compuesto [Cu(LH1)(NO<sub>3</sub>)].

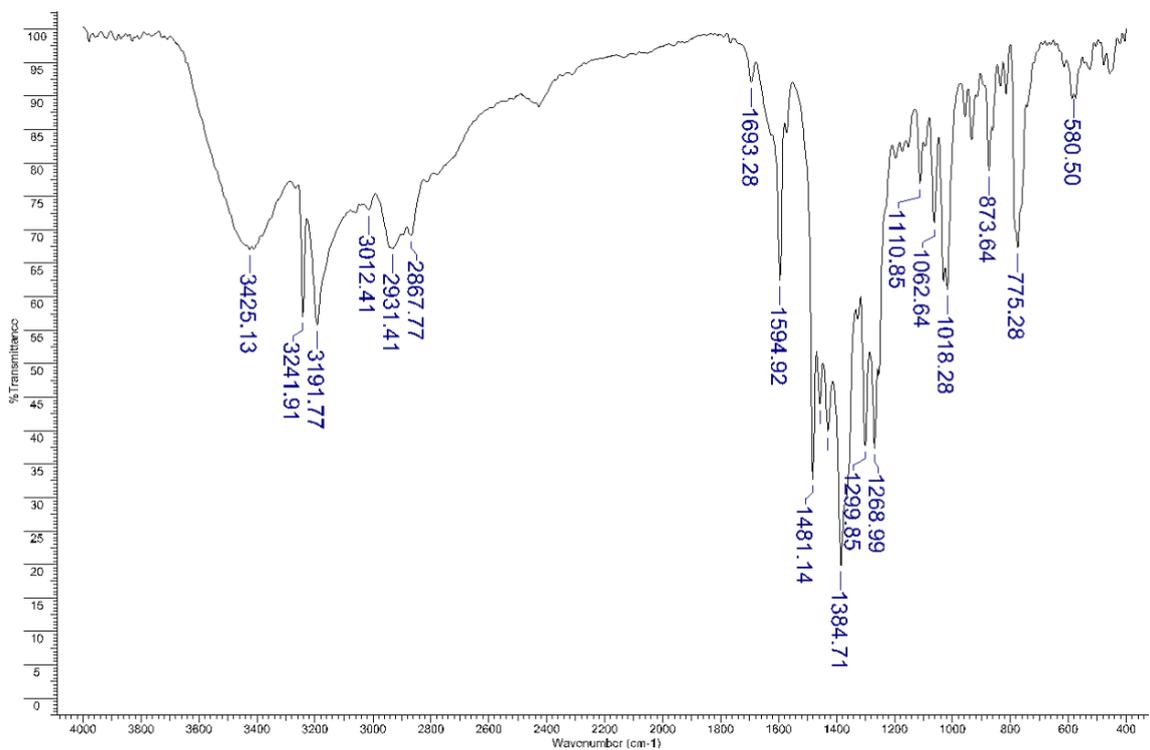


Figura I.X Espectro de infrarrojo FT del compuesto [Cu(LH2)(NO<sub>3</sub>)].

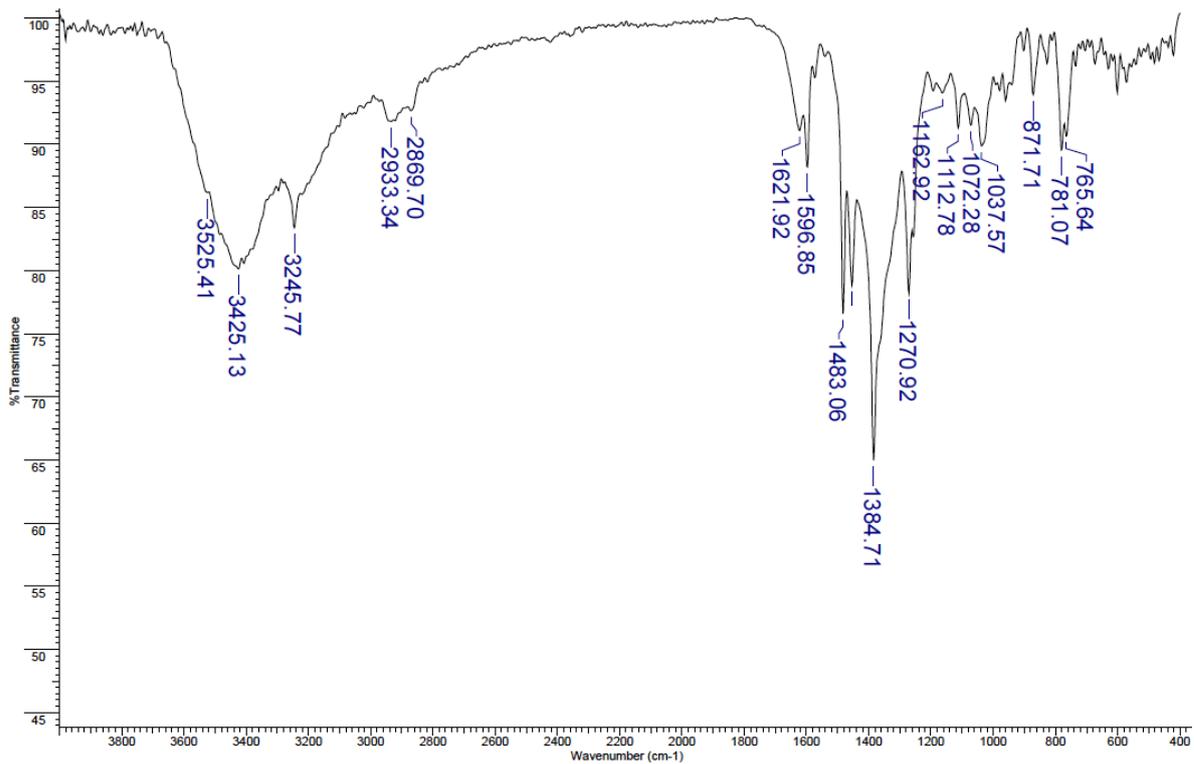


Figura I.XI Espectro de infrarrojo FT del compuesto [Cu(LNH1)(NO<sub>3</sub>)].

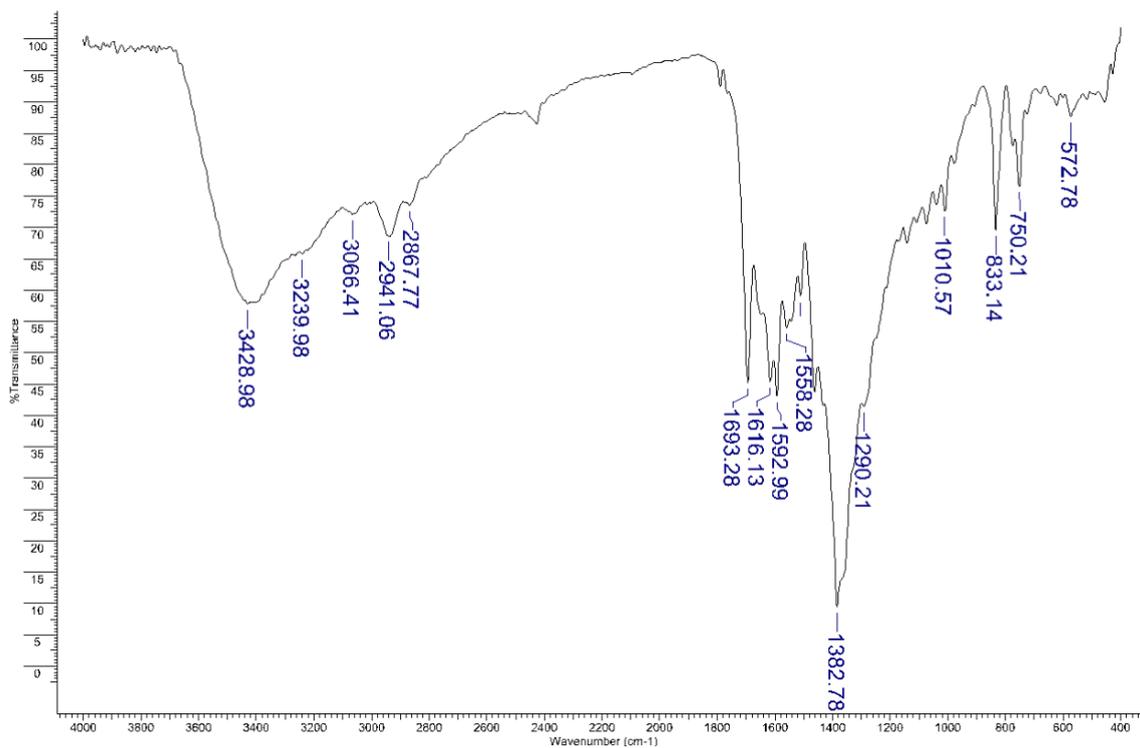


Figura I.XII Espectro de infrarrojo FT del compuesto [Cu(LNH2)(NO<sub>3</sub>)].

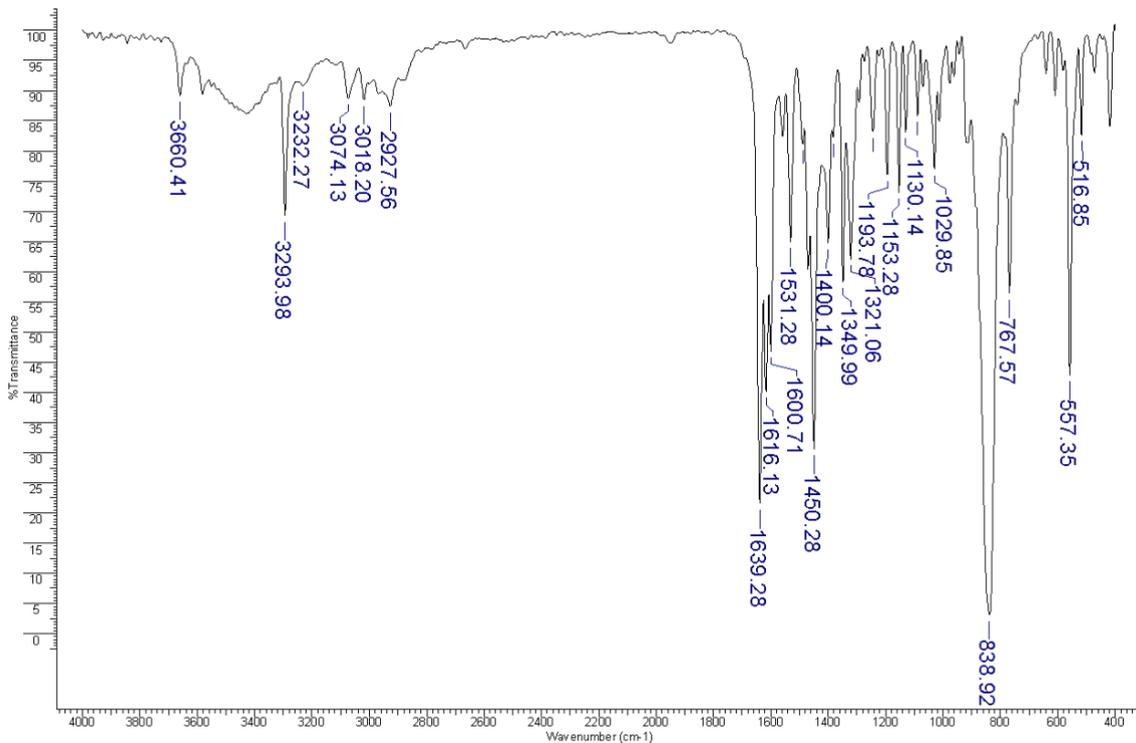


Figura I.XIII Espectro de infrarrojo FT del compuesto [Cu(dmbpy)(L1)]PF<sub>6</sub>.

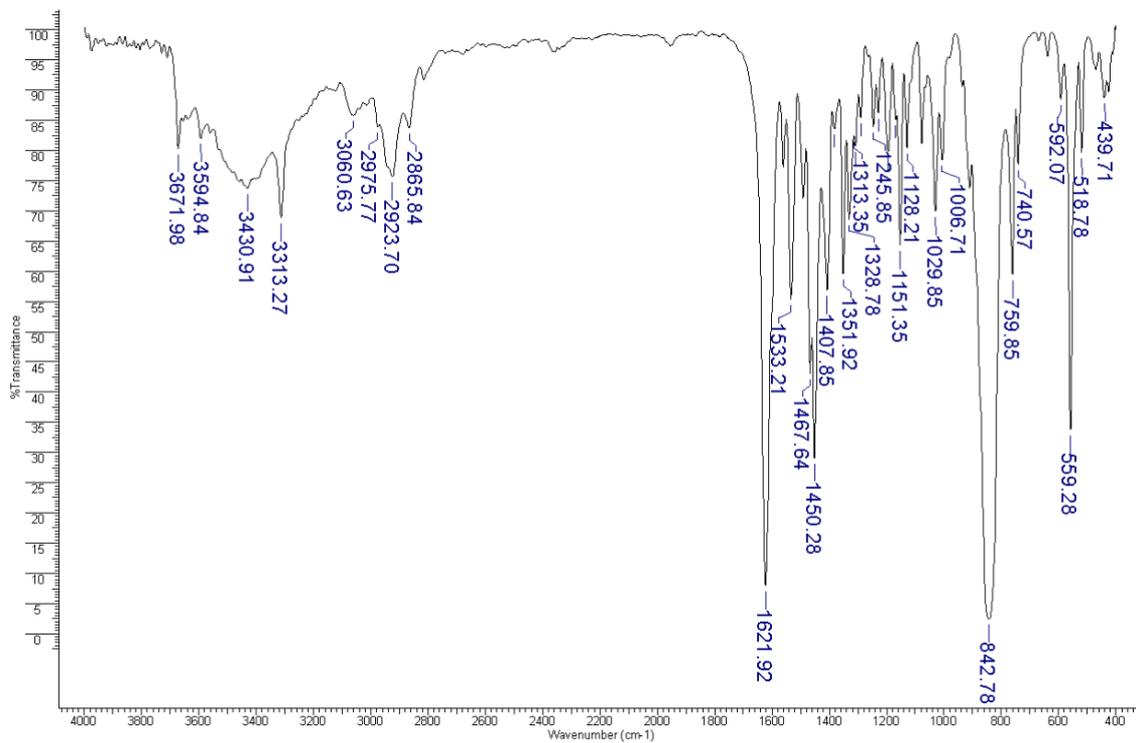


Figura I.XIV Espectro de infrarrojo FT del compuesto [Cu(dmbpy)(L2)]PF<sub>6</sub>.

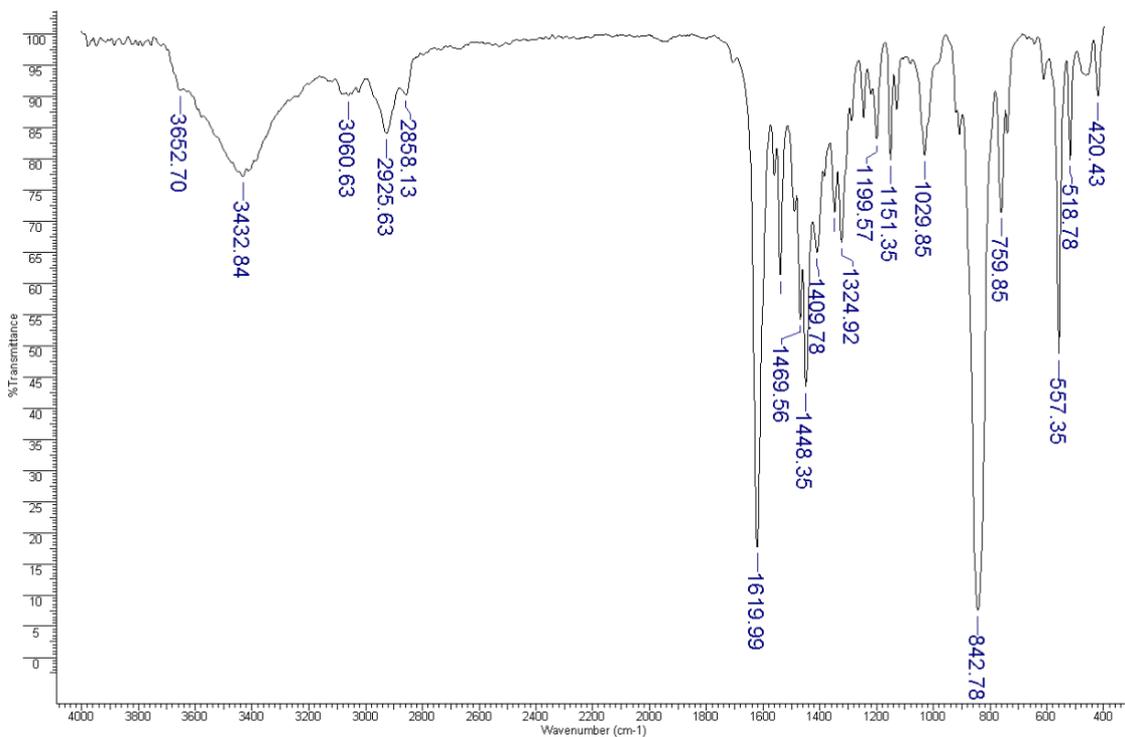


Figura I.XV Espectro de infrarrojo FT del compuesto [Cu(dmbpy)(L3)]PF<sub>6</sub>.

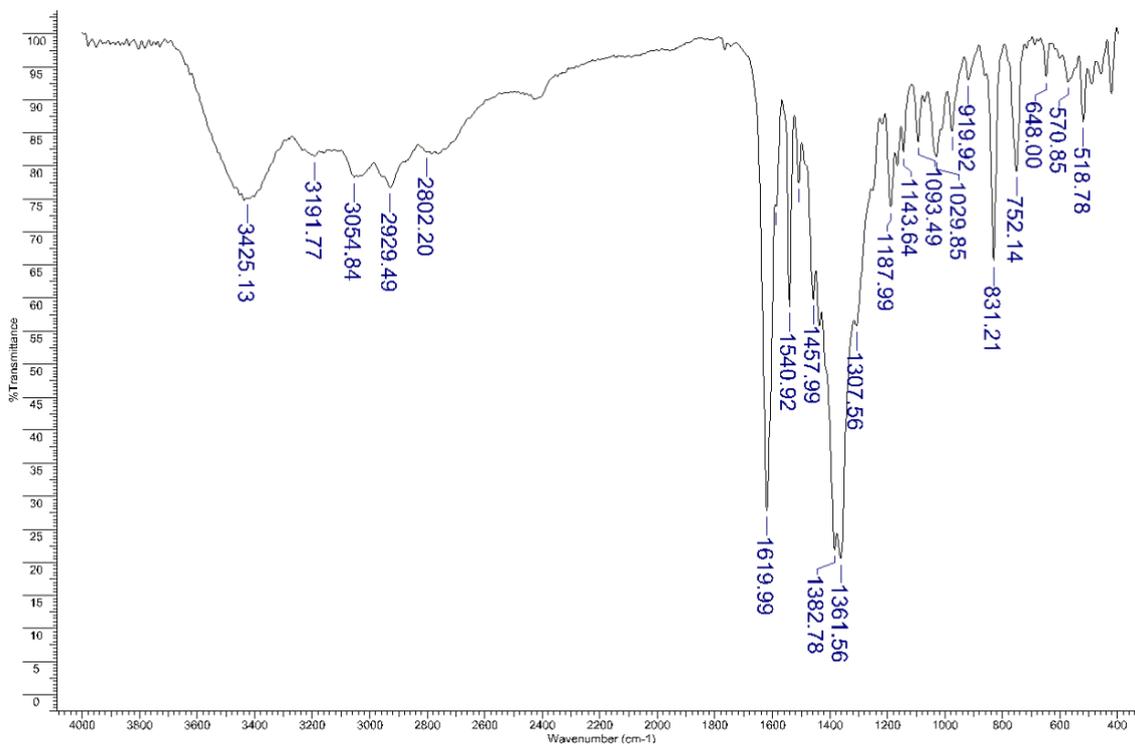


Figura I.XVI Espectro de infrarrojo FT del compuesto [Cu(dmbpy)(LN1)]PF<sub>6</sub>.

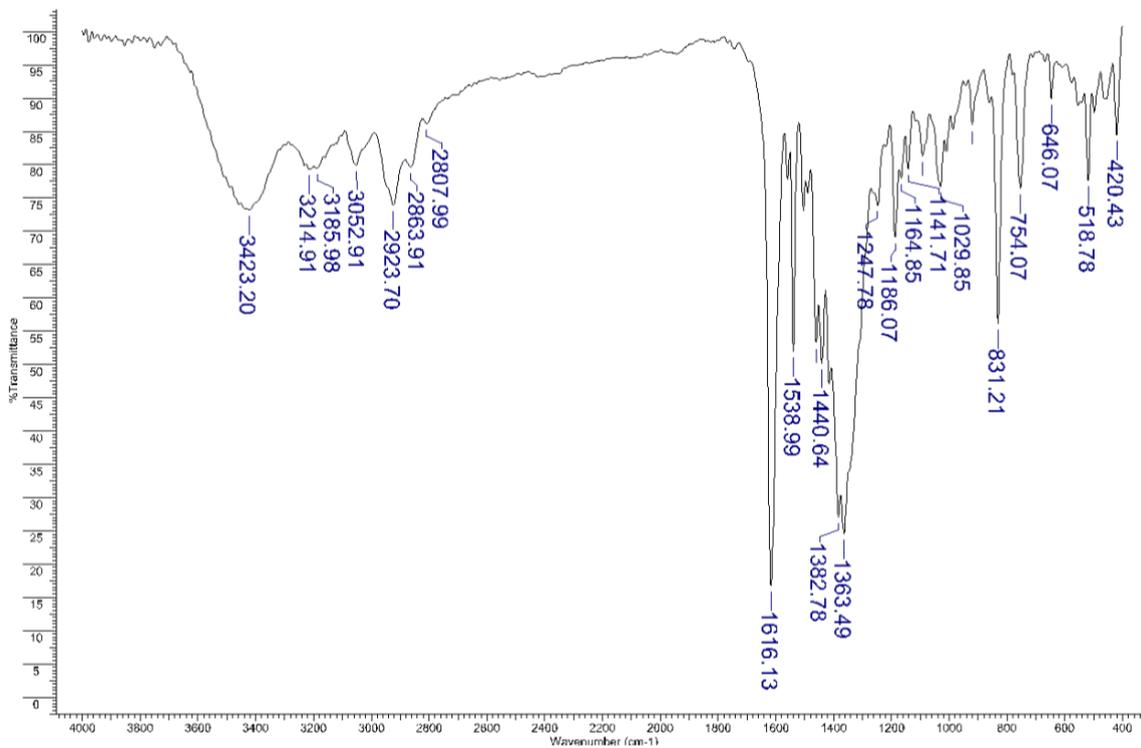


Figura I.XVII Espectro de infrarrojo FT del compuesto [Cu(dmbpy)(LN2)]PF<sub>6</sub>.

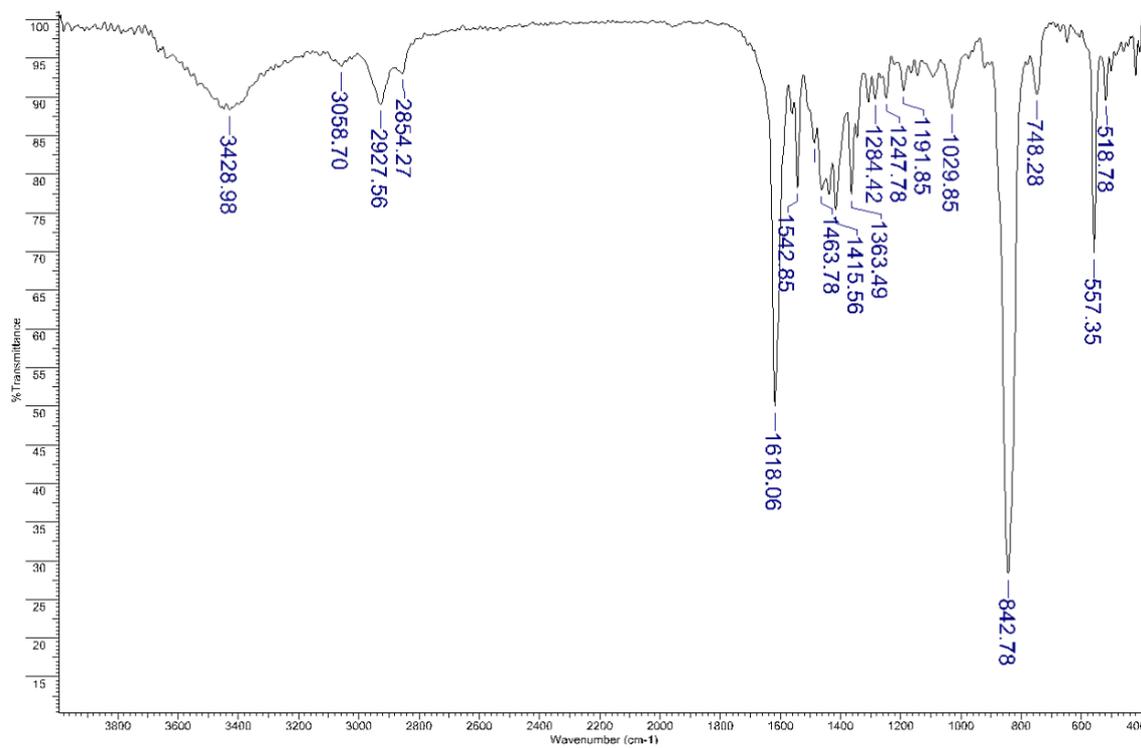


Figura I.XVIII Espectro de infrarrojo FT del compuesto [Cu(dmbpy)(LN3)]PF<sub>6</sub>.

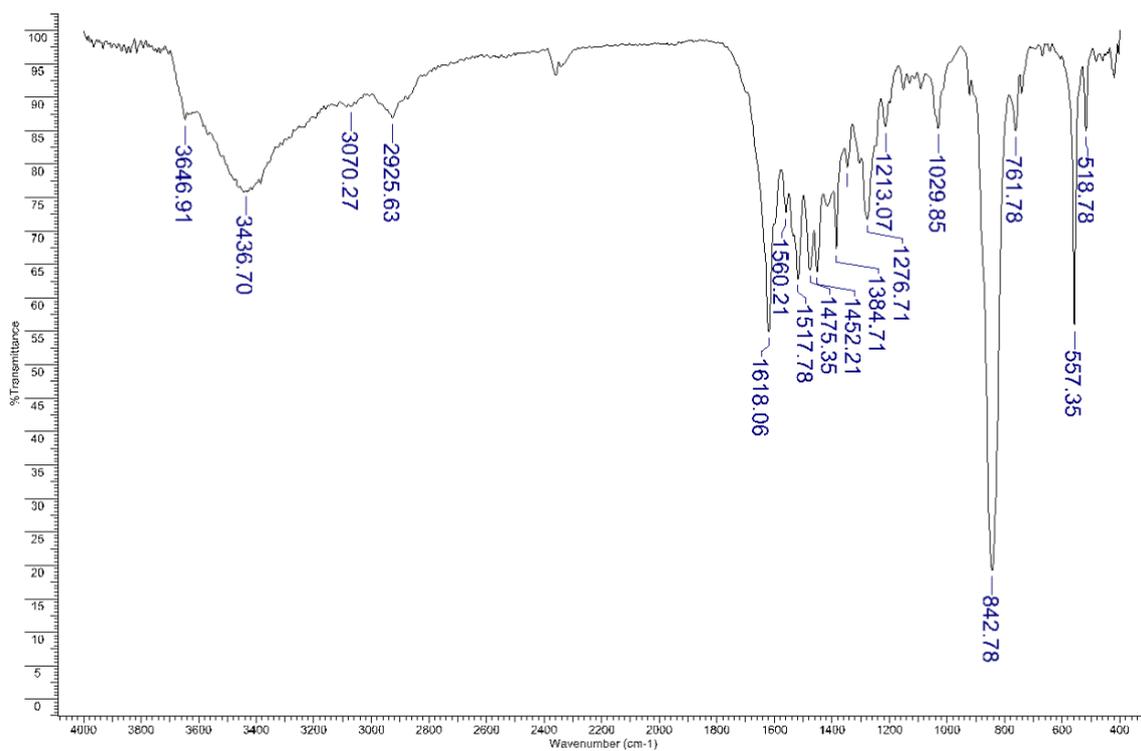


Figura I.XIX Espectro de infrarrojo FT del compuesto [Cu(dmbpy)(LH1)]PF<sub>6</sub>.

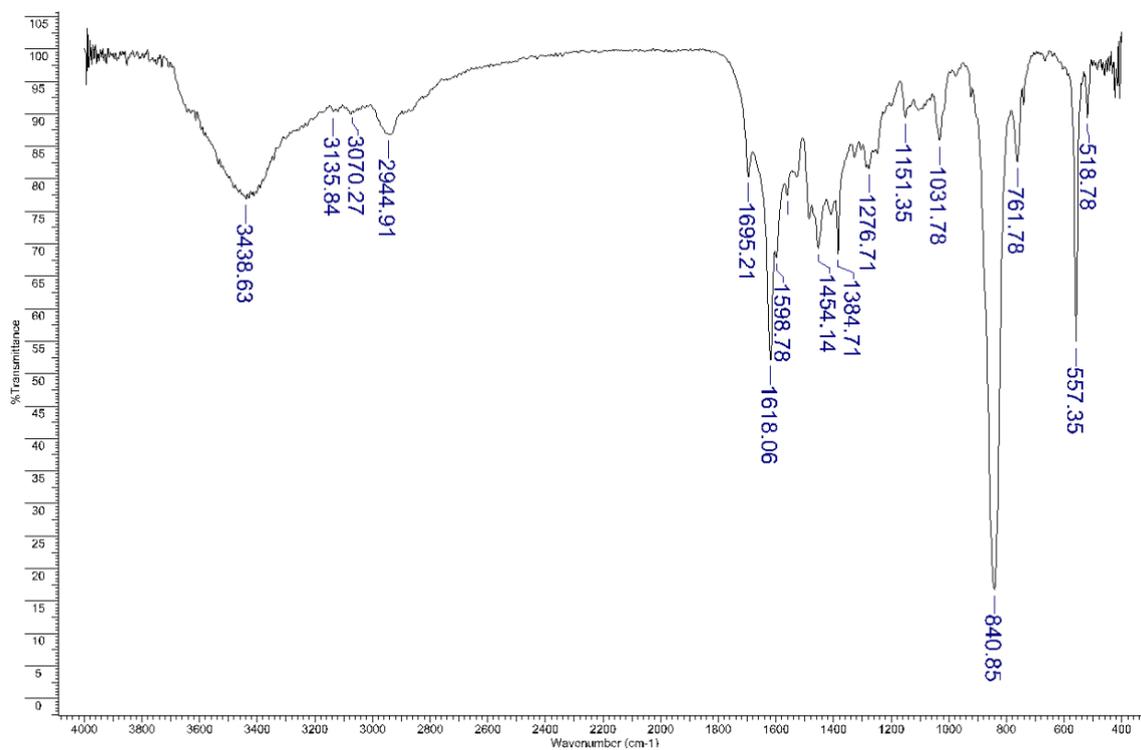


Figura I.XX Espectro de infrarrojo FT del compuesto [Cu(dmbpy)(LH2)]PF<sub>6</sub>.

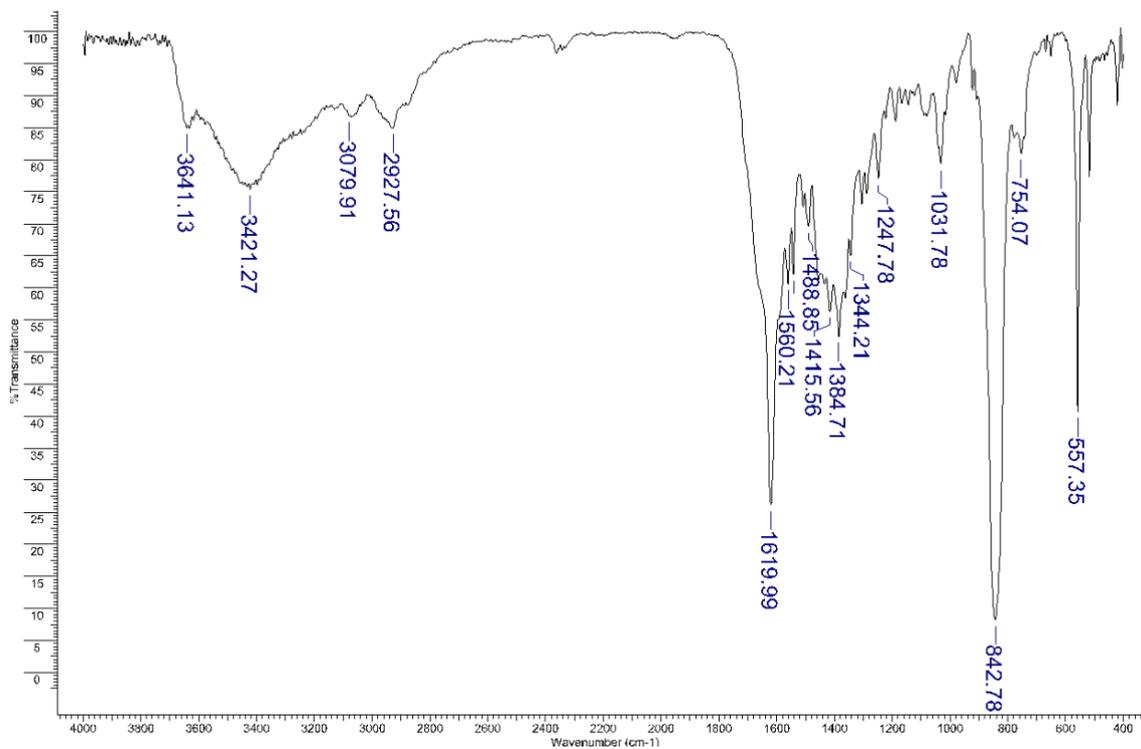


Figura I.XXI Espectro de infrarrojo FT del compuesto [Cu(dmbpy)(LNH1)]PF<sub>6</sub>.

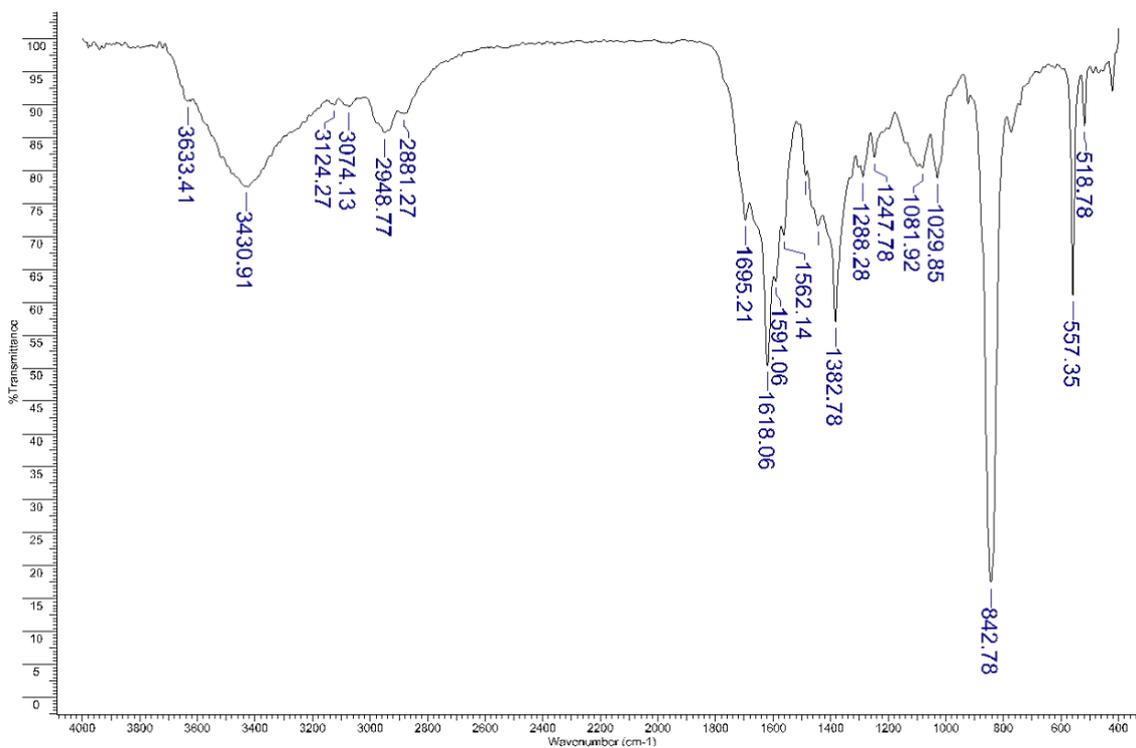


Figura I.XXII Espectro de infrarrojo FT del compuesto [Cu(dmbpy)(LNH2)]PF<sub>6</sub>.

## Anexo II. Espectros de Infrarrojo ATR

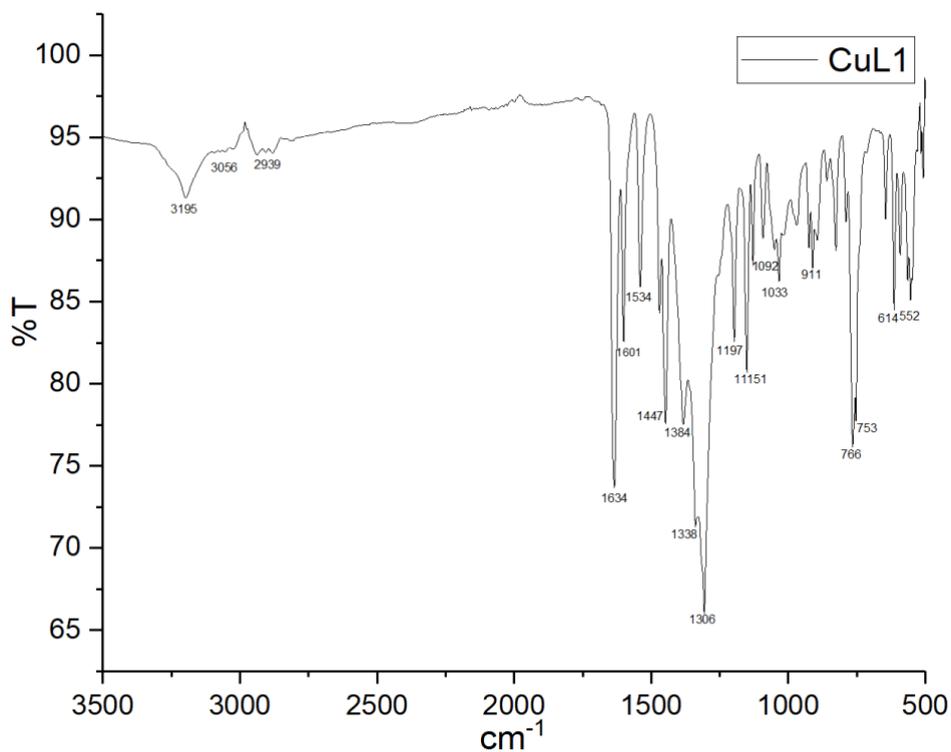


Figura II.I Espectro de infrarrojo ATR del compuesto [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)].

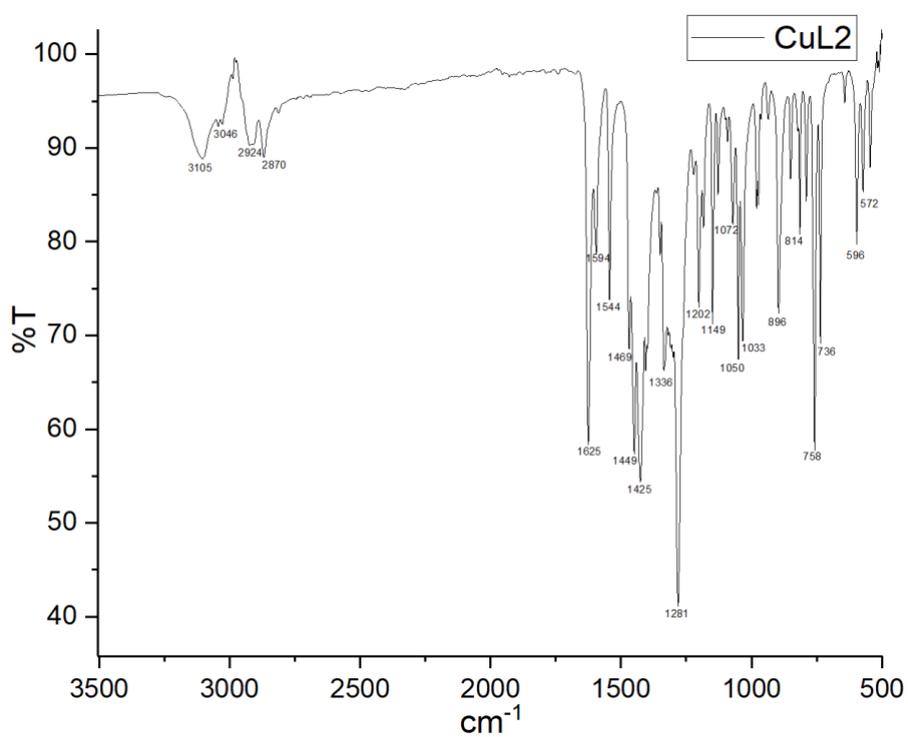


Figura II.II Espectro de infrarrojo ATR del compuesto [Cu(L2)(NO<sub>3</sub>)].

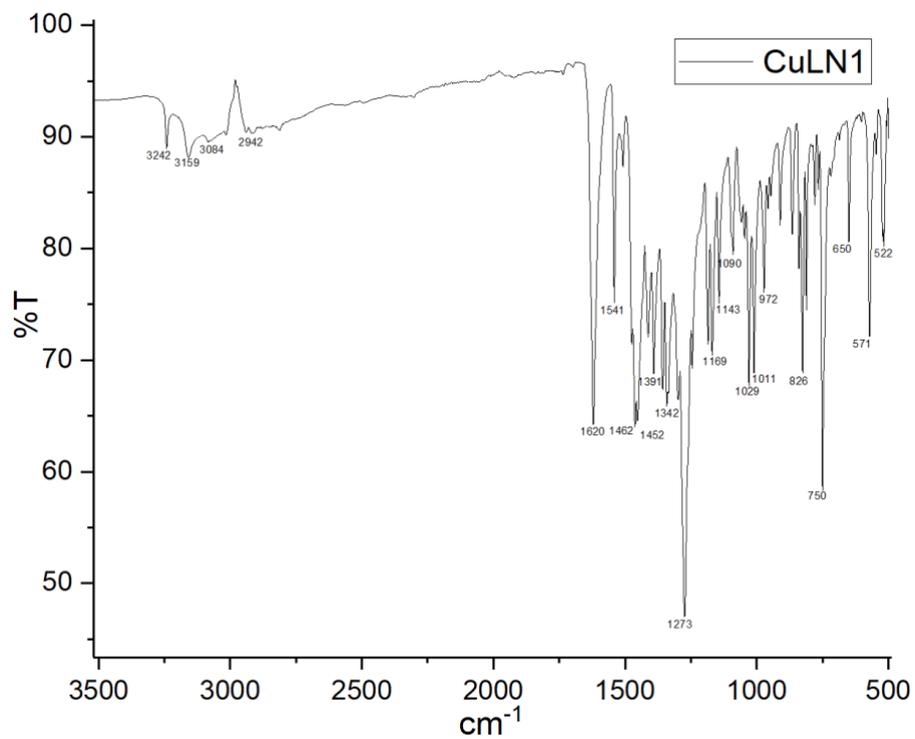


Figura II.III Espectro de infrarrojo ATR del compuesto [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)].

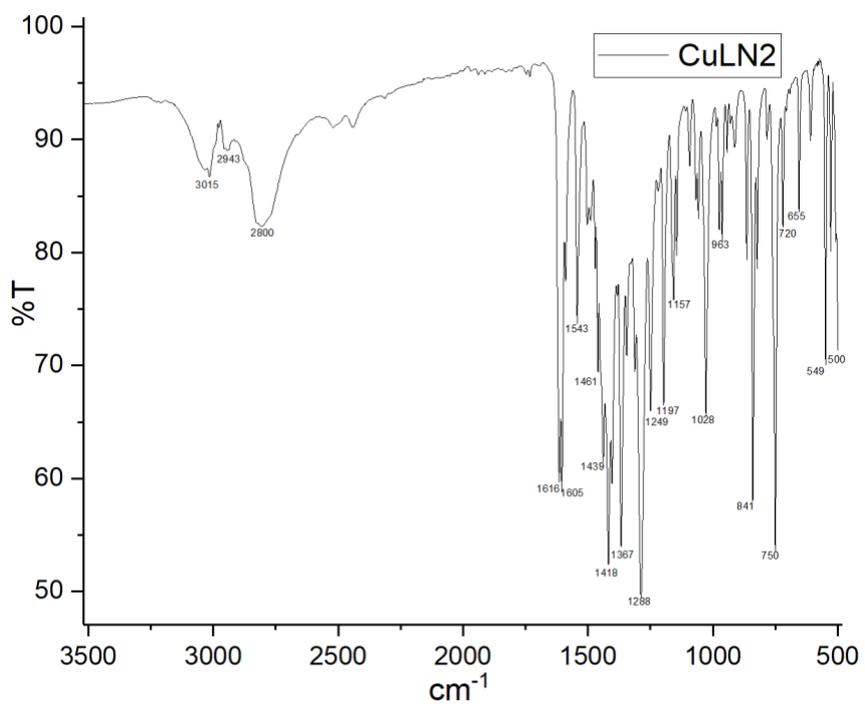


Figura II.IV Espectro de infrarrojo ATR del compuesto [Cu(LN2)(NO<sub>3</sub>)].

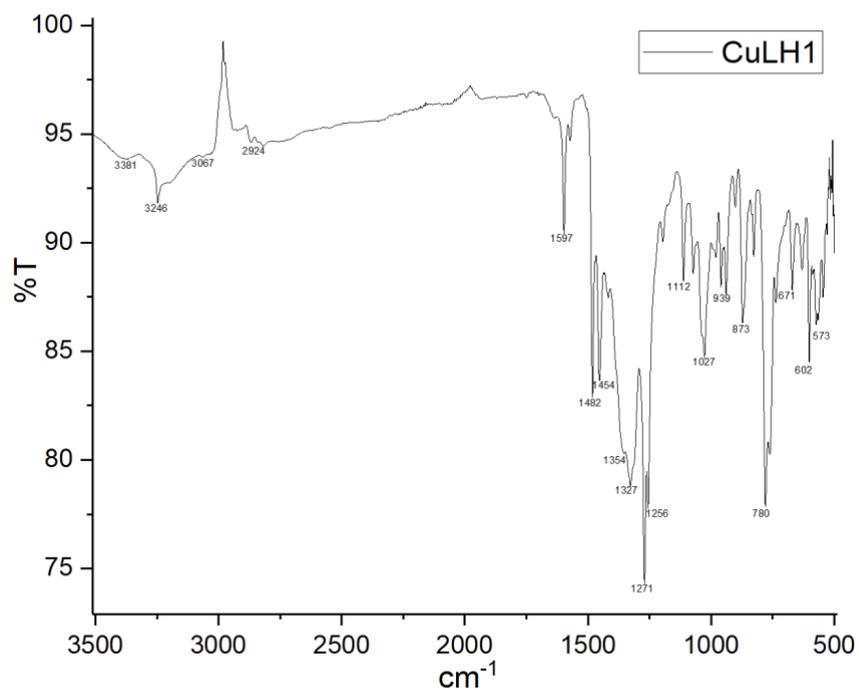


Figura II.V Espectro de infrarrojo ATR del compuesto [Cu(LH1)(NO<sub>3</sub>)].

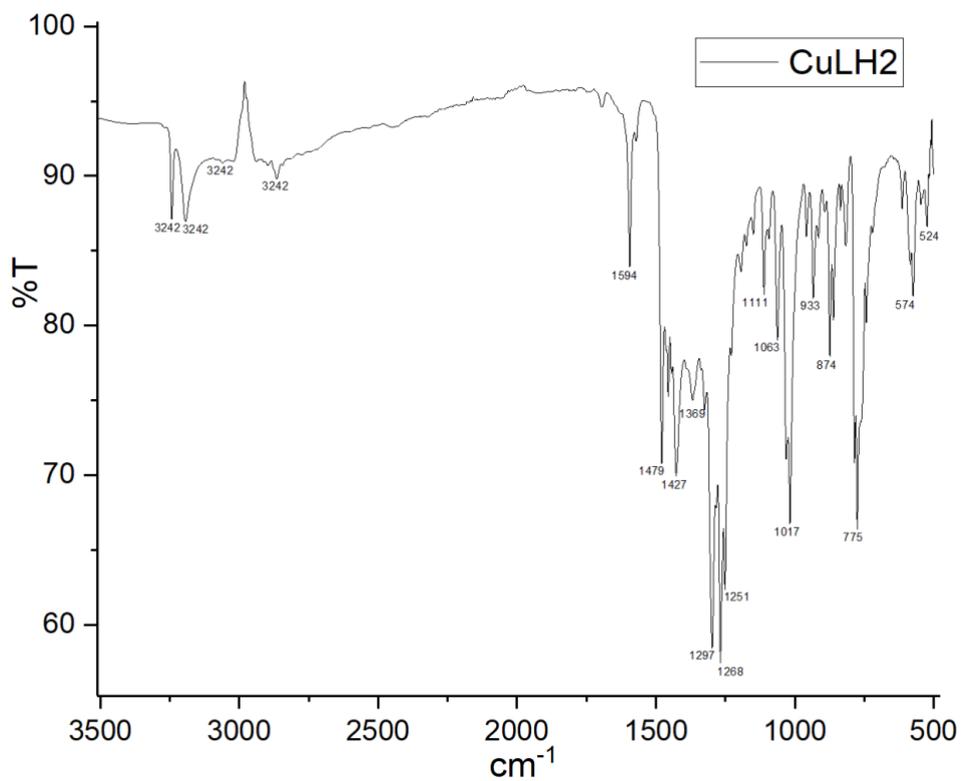


Figura II.VI Espectro de infrarrojo ATR del compuesto [Cu(LH2)(NO<sub>3</sub>)].

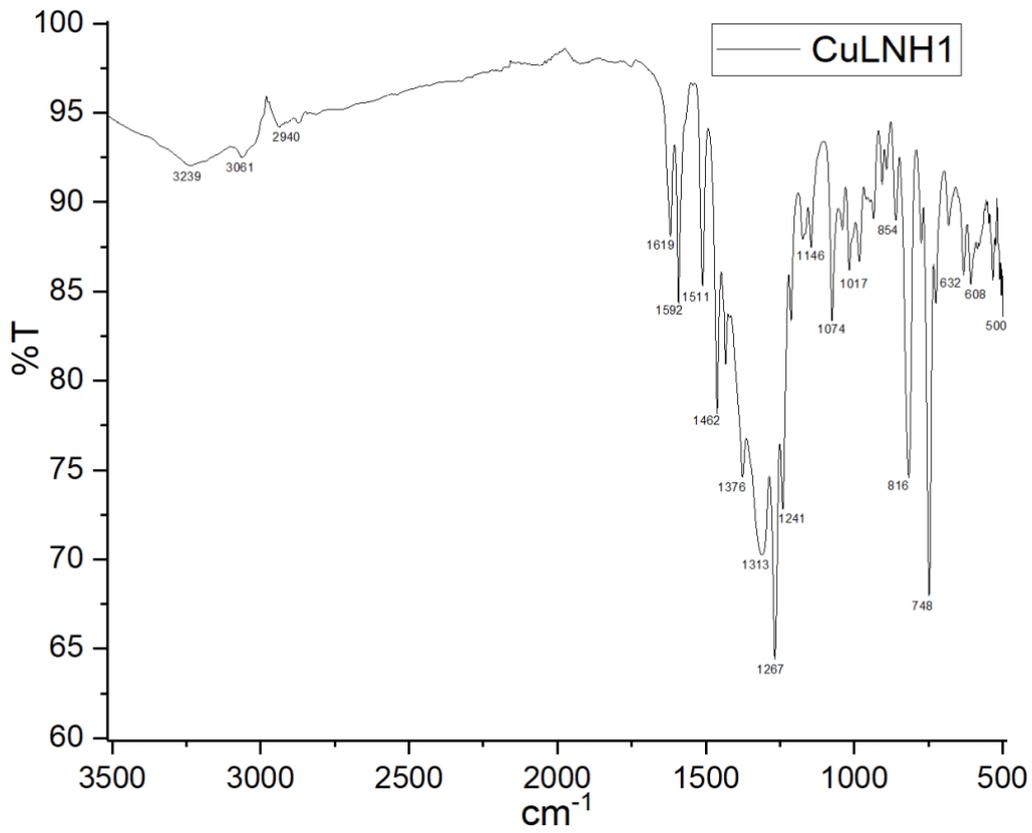


Figura II.VII Espectro de infrarrojo ATR del compuesto  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$ .

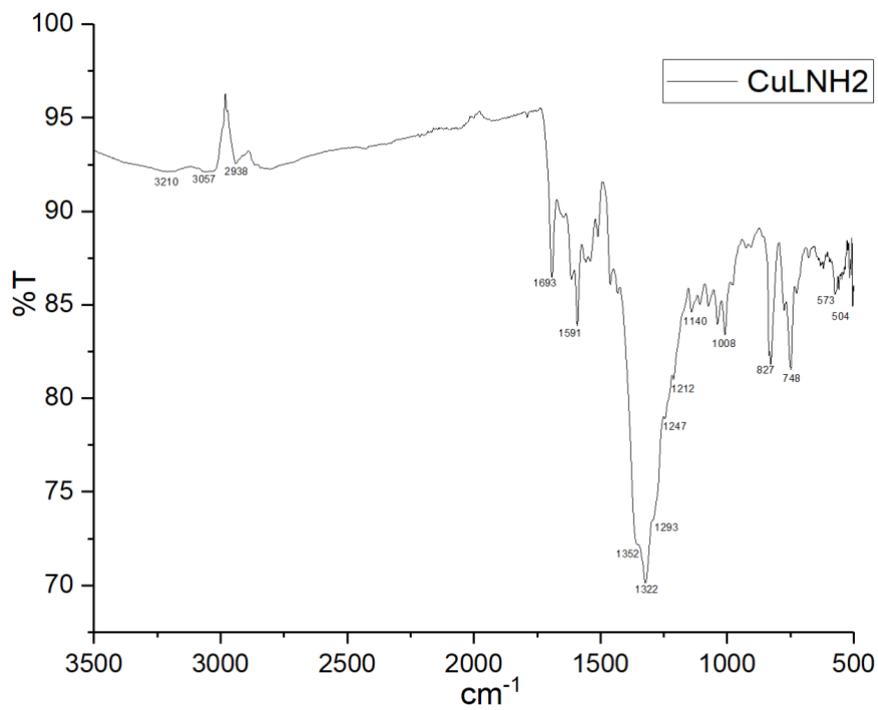


Figura II.VIII Espectro de infrarrojo ATR del compuesto  $[\text{Cu}(\text{LNH2})(\text{NO}_3)]$ .

### Anexo III. Espectrometría de Masas APCI

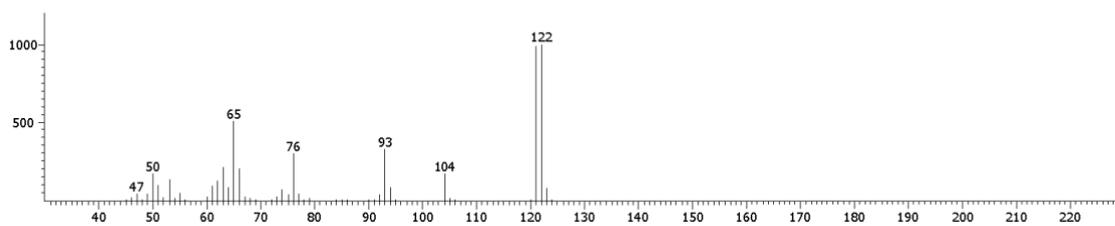


Figura III.I Espectro de masas del ligante L1.

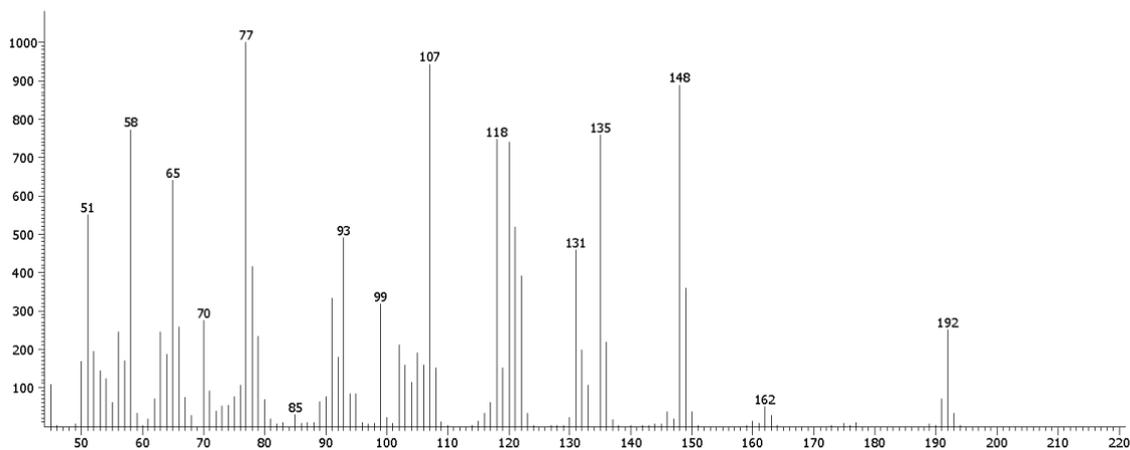


Figura III.II Espectro de masas del ligante L2.

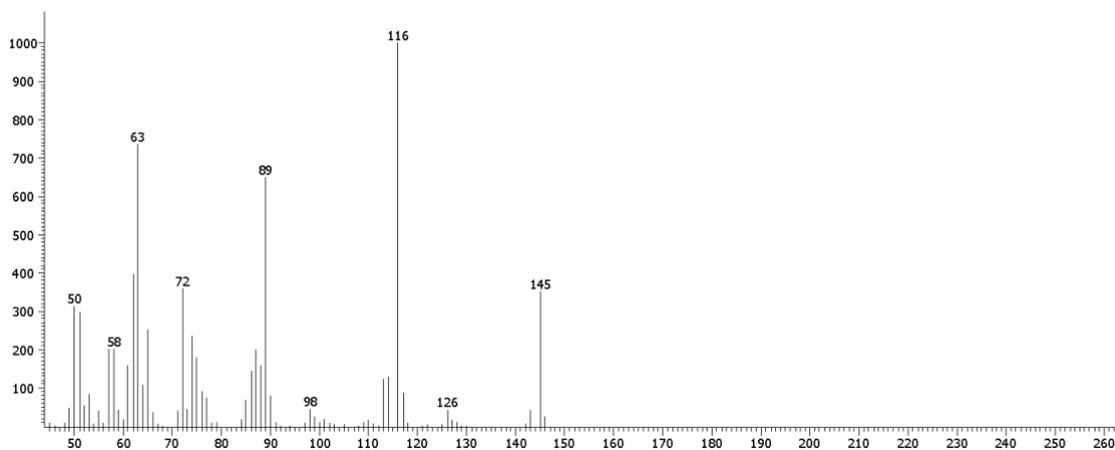


Figura III.III Espectro de masas del ligante LN1.

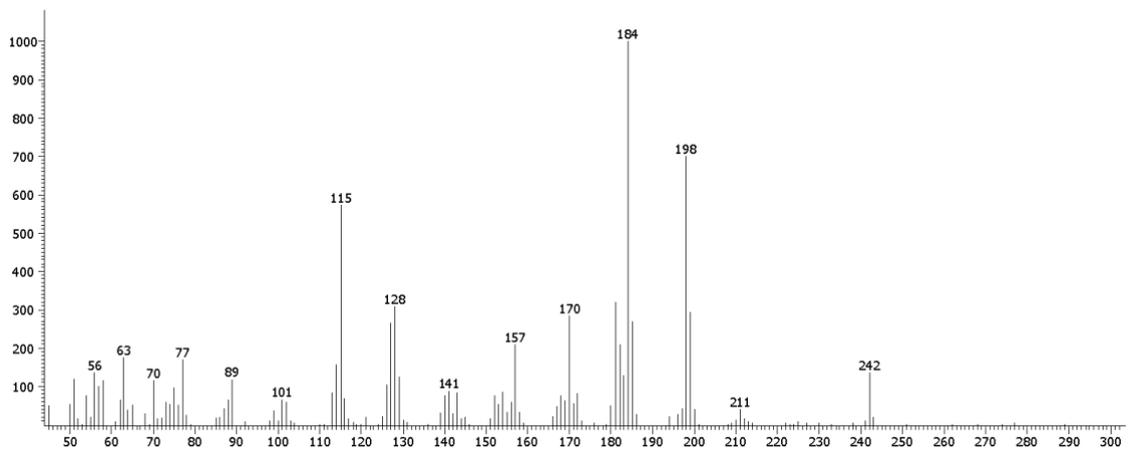


Figura III.IV Espectro de masas del ligante LN2.

## Anexo IV. Resonancia Magnética Nuclear $^1\text{H}$

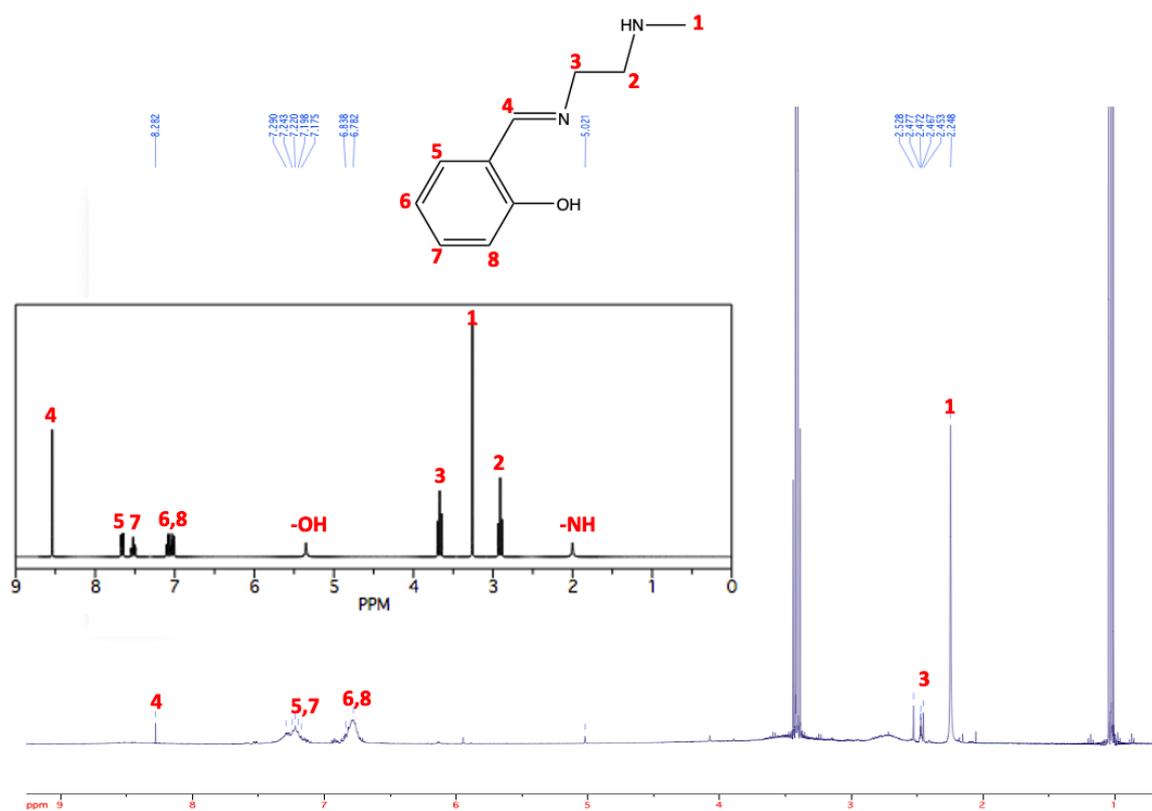


Figura IV.I Espectro de RMN- $^1\text{H}$  simulado (negro) y experimental (azul) del ligante L1 en DMSO- $\text{d}_6$ .

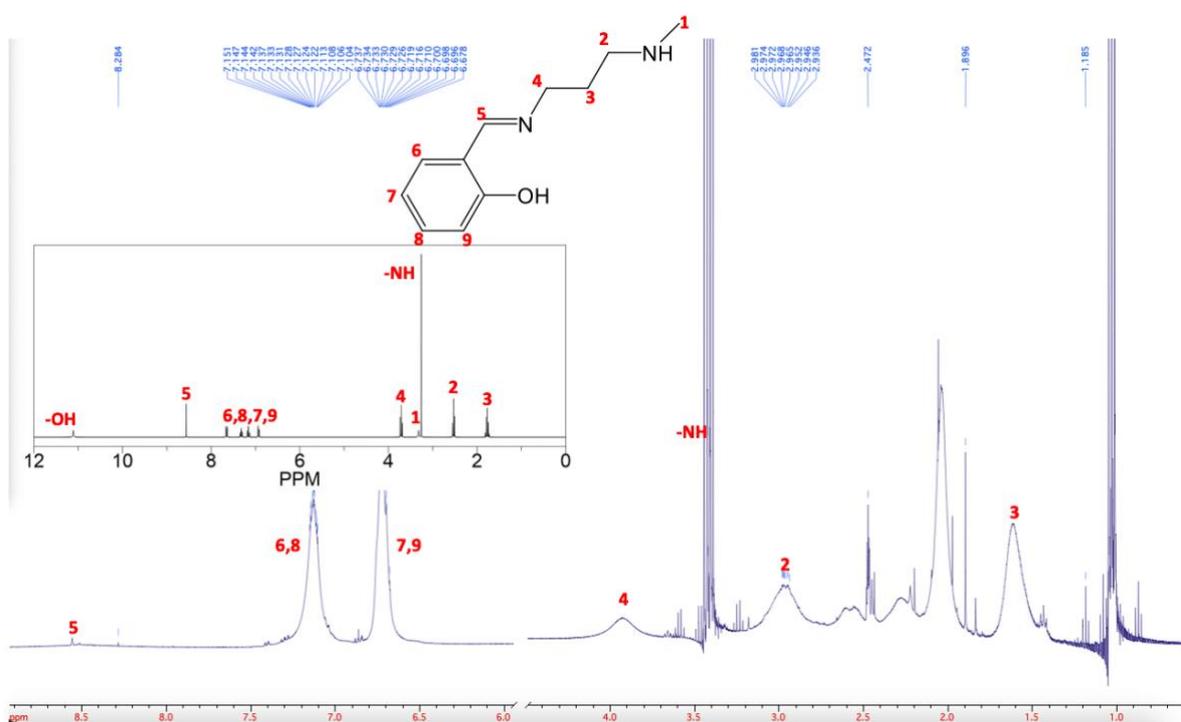


Figura IV.II Espectro de RMN- $^1\text{H}$  simulado (negro) y experimental (azul) del ligante L2 en DMSO- $\text{d}_6$ .

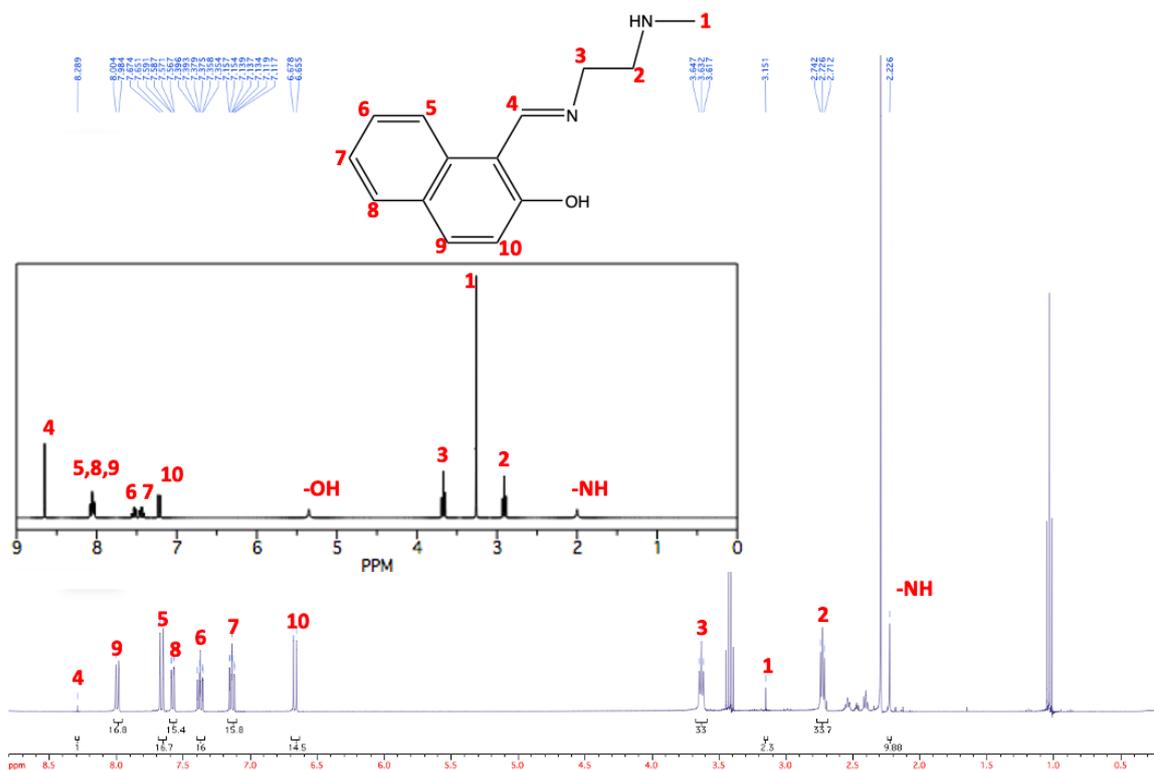


Figura IV.III Espectro de RMN- $^1\text{H}$  simulado (negro) y experimental (azul) del ligante LN1 en  $\text{DMSO-d}_6$ .

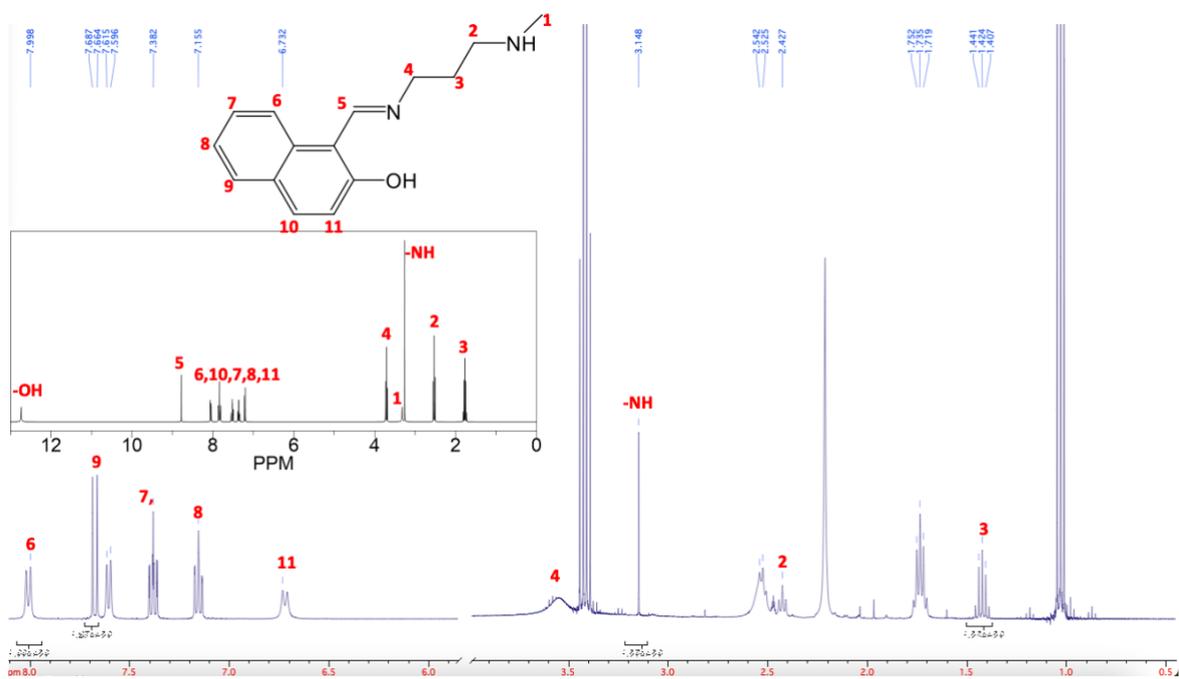


Figura IV.IV Espectro de RMN- $^1\text{H}$  simulado (negro) y experimental (azul) del ligante LN2 en  $\text{DMSO-d}_6$ .

## Anexo V. Espectrometría de Masas FAB+

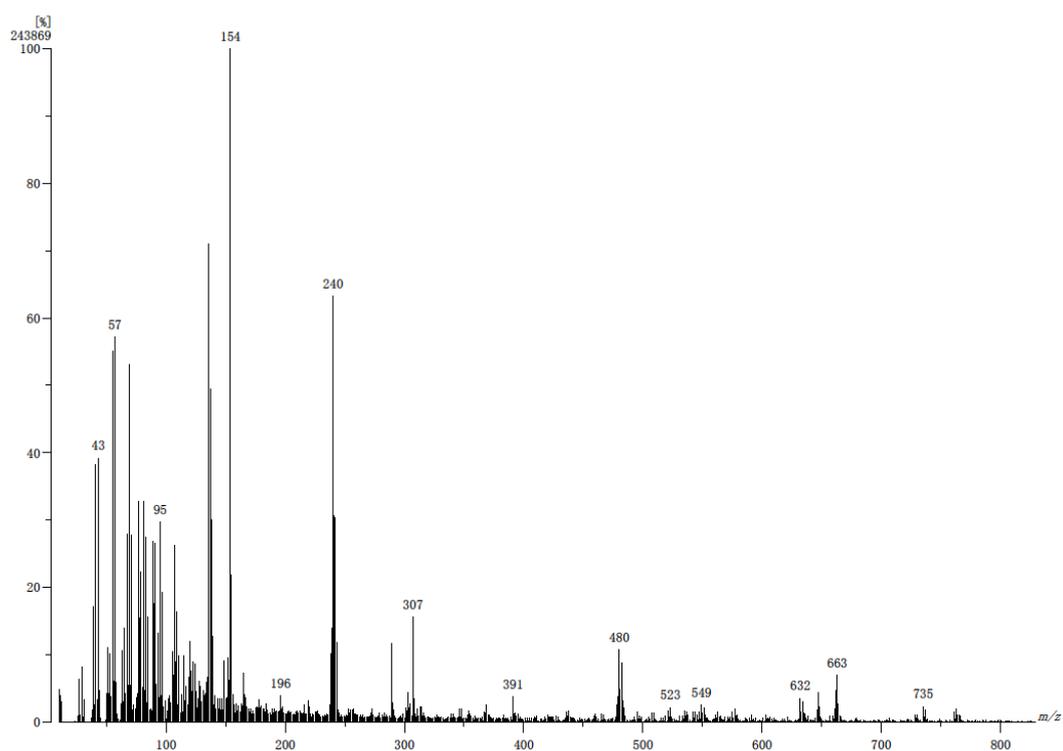


Figura V.I Espectro de masas del compuesto [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)] por la técnica de FAB+.

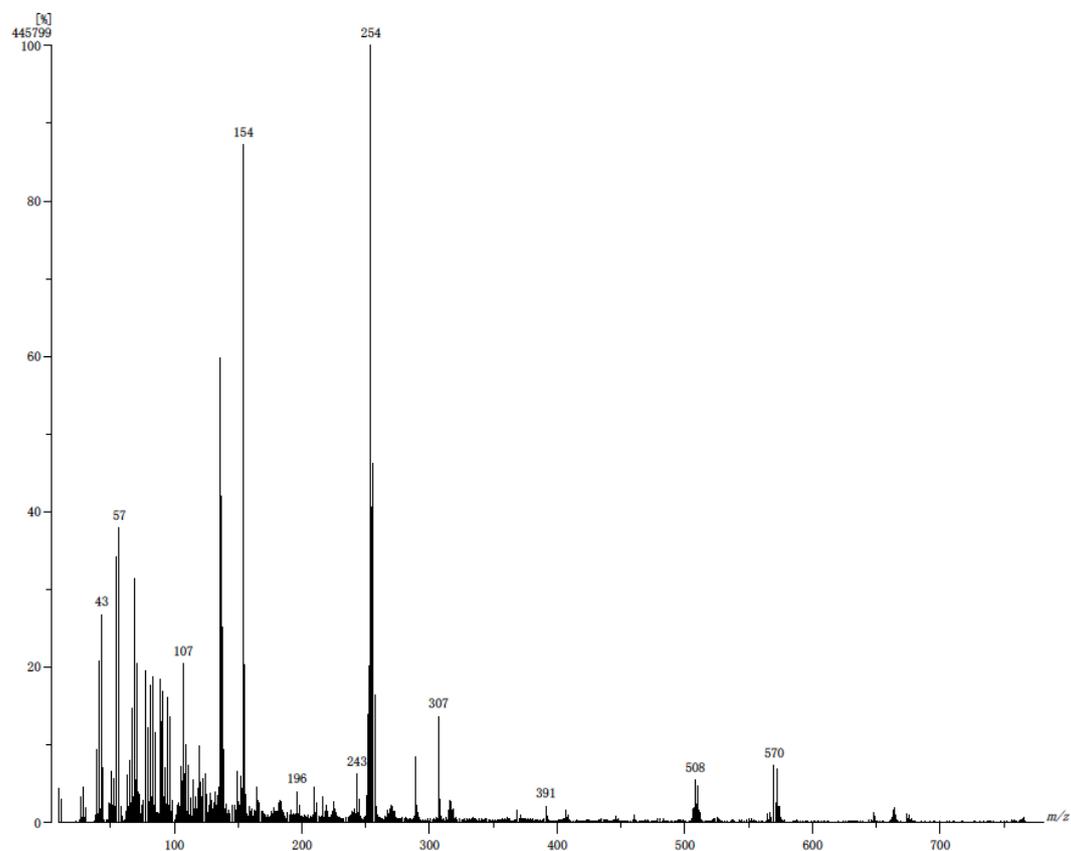


Figura V.II Espectro de masas del compuesto [Cu(L2)(NO<sub>3</sub>)] por la técnica de FAB+.

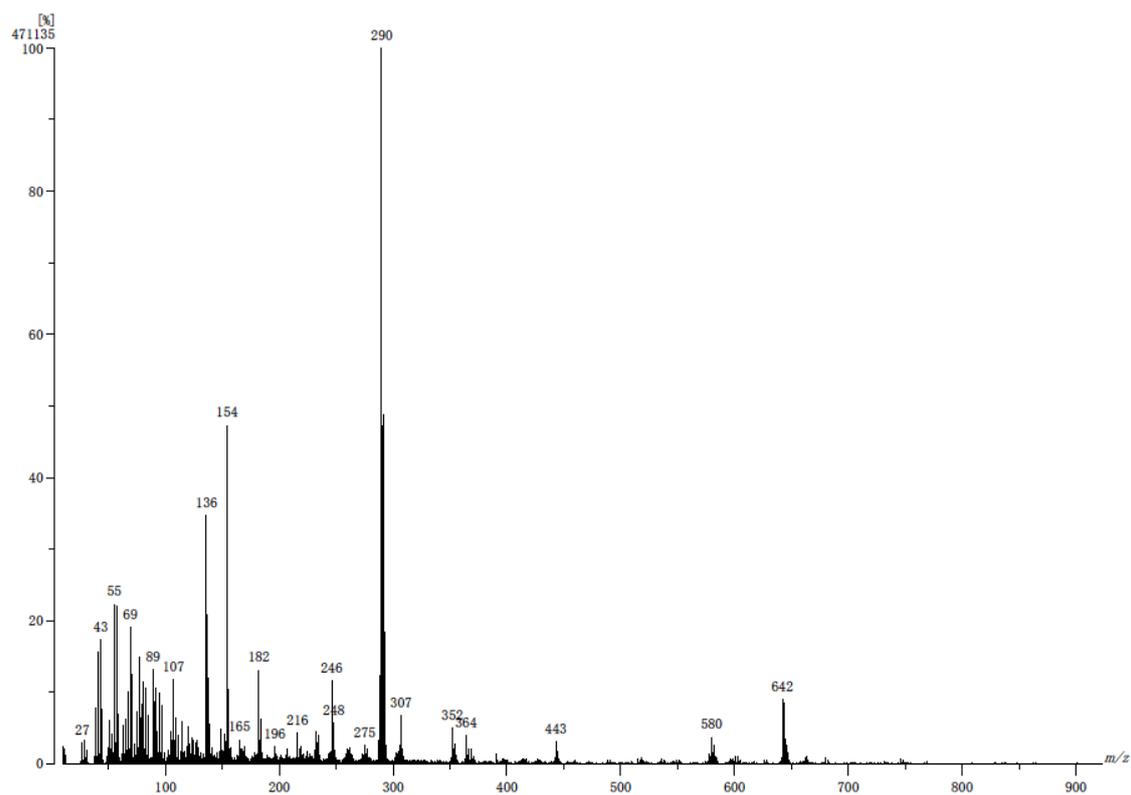


Figura V.III Espectro de masas del compuesto [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)] por la técnica de FAB+.

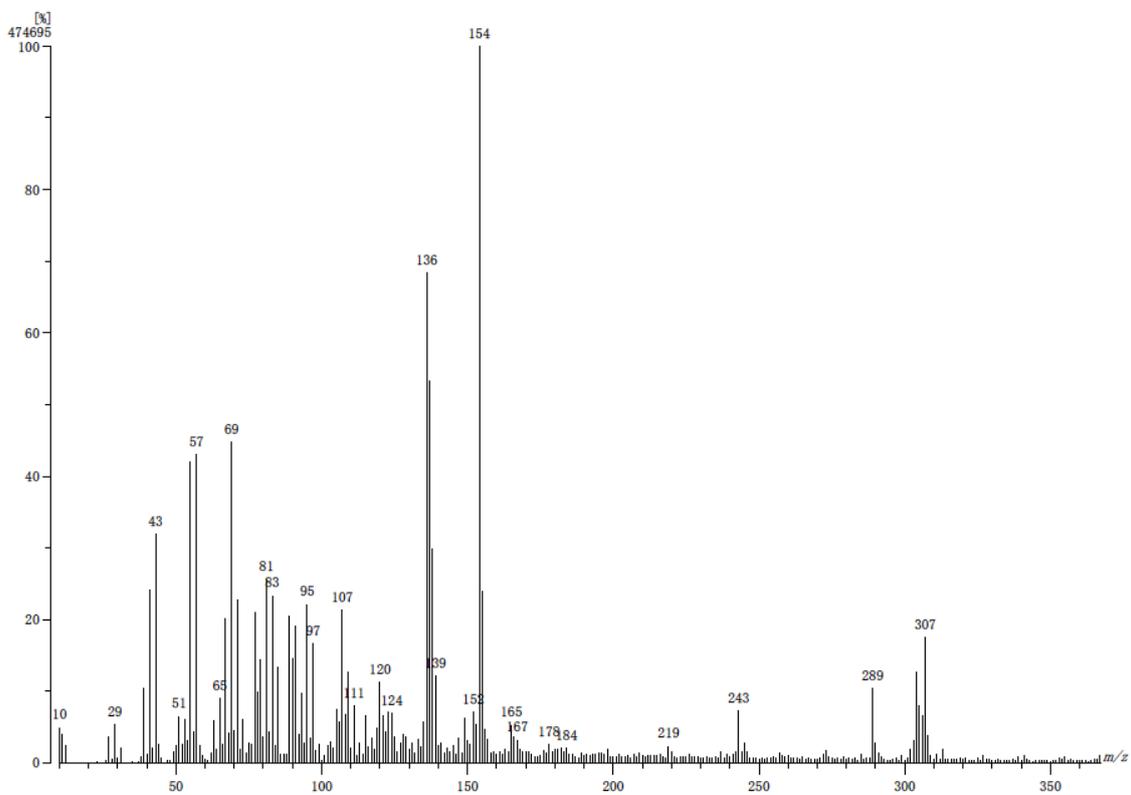


Figura V.IV Espectro de masas del compuesto [Cu(LN2)(NO<sub>3</sub>)] por la técnica de FAB+.

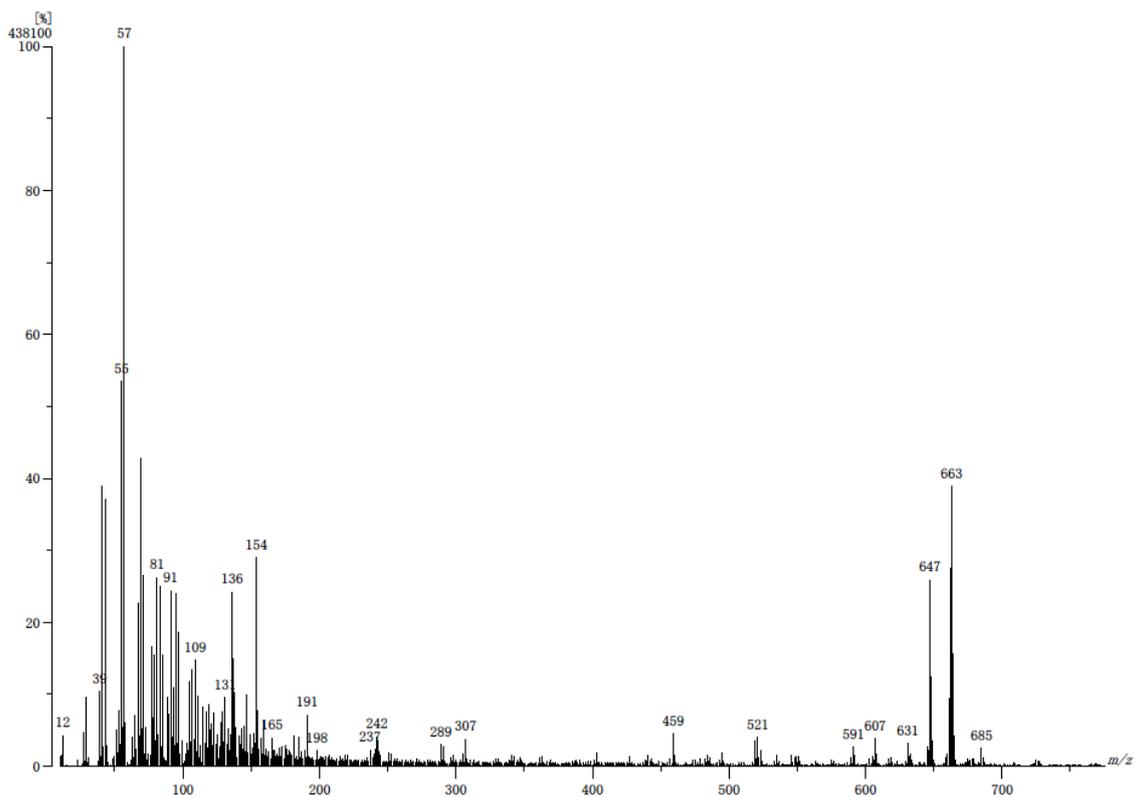


Figura V.V Espectro de masas del compuesto [Cu(LH1)(NO<sub>3</sub>)] por la técnica de FAB+.

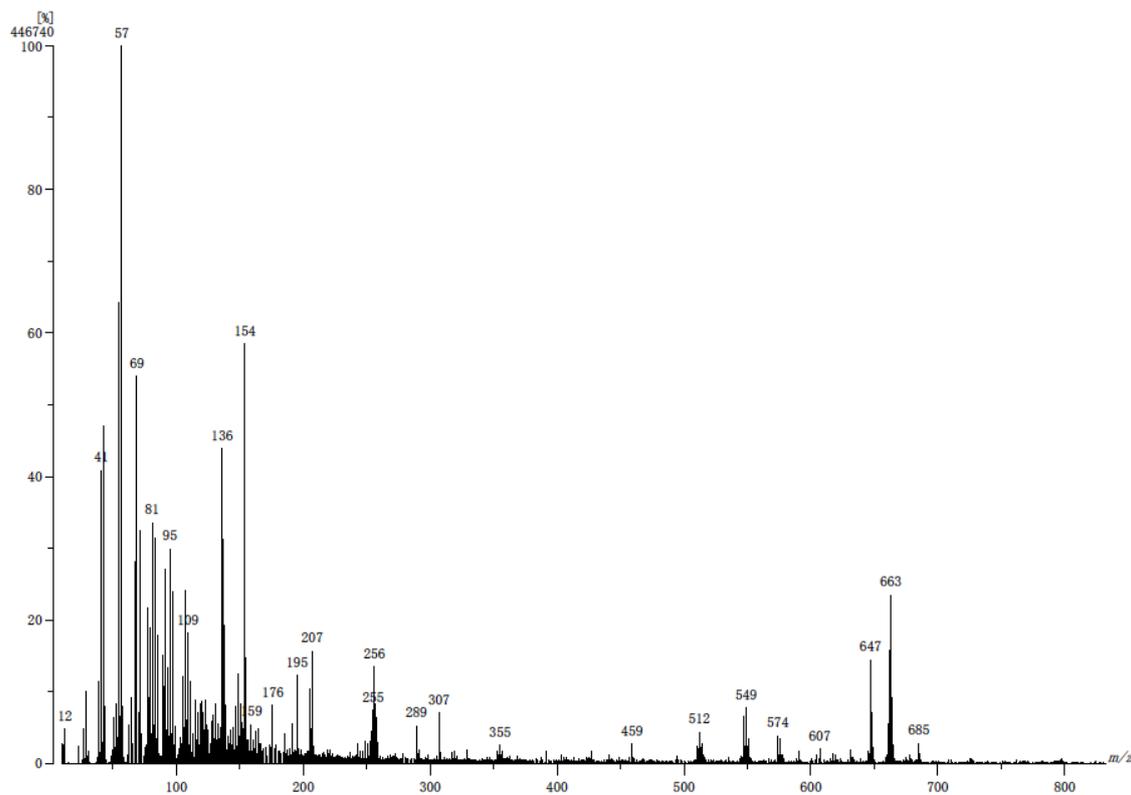


Figura V.VI Espectro de masas del compuesto [Cu(LH2)(NO<sub>3</sub>)] por la técnica de FAB+.

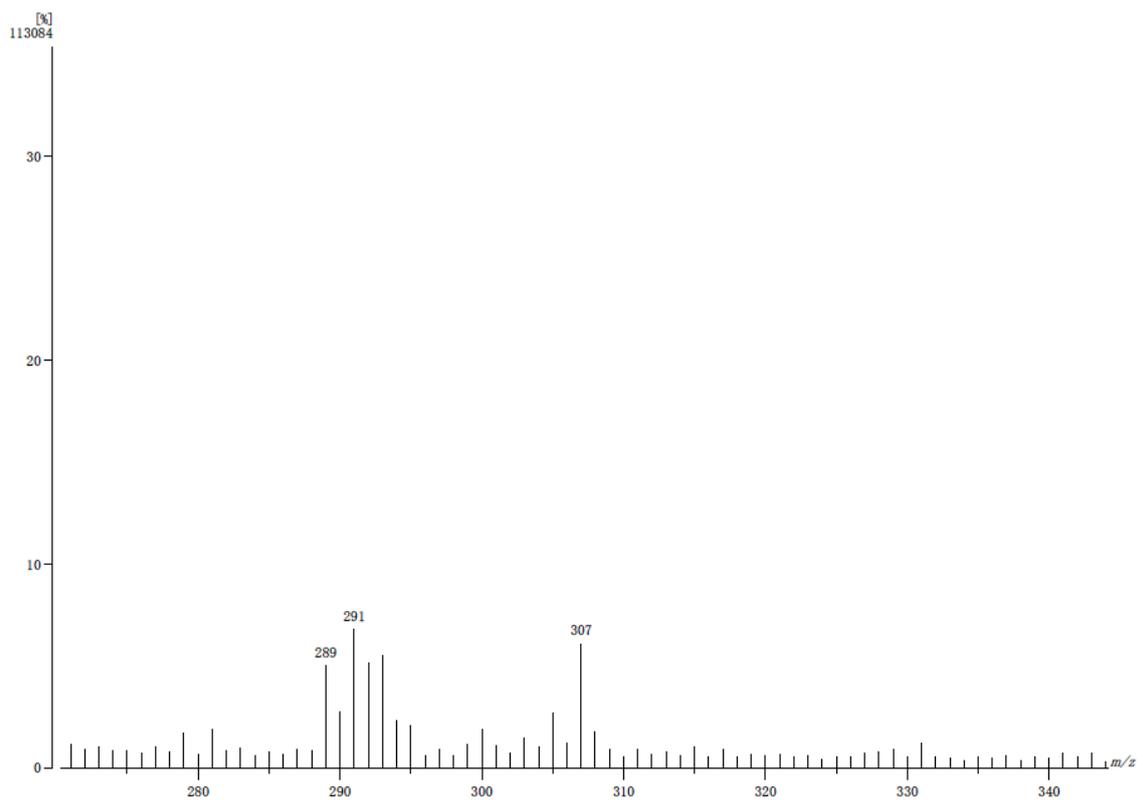


Figura V.VII Espectro de masas del compuesto [Cu(LNH1)(NO<sub>3</sub>)] por la técnica de FAB+.

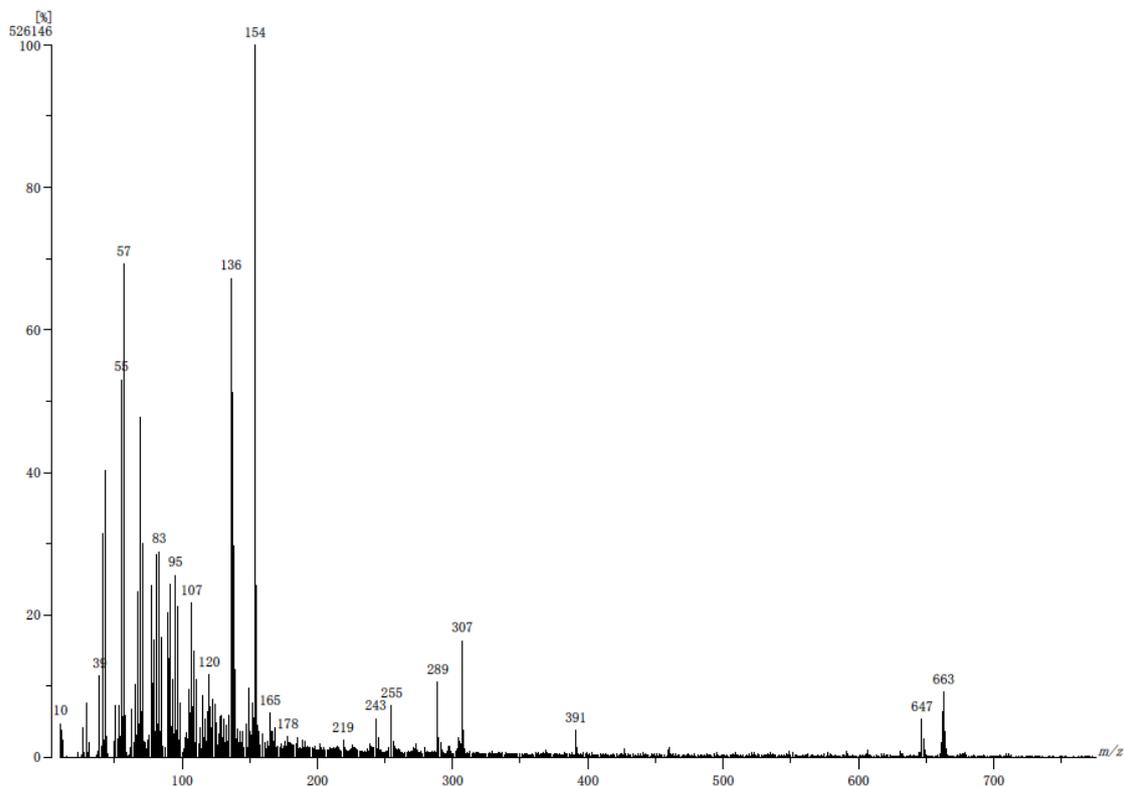


Figura V.VIII Espectro de masas del compuesto [Cu(LNH2)(NO<sub>3</sub>)] por la técnica de FAB+.

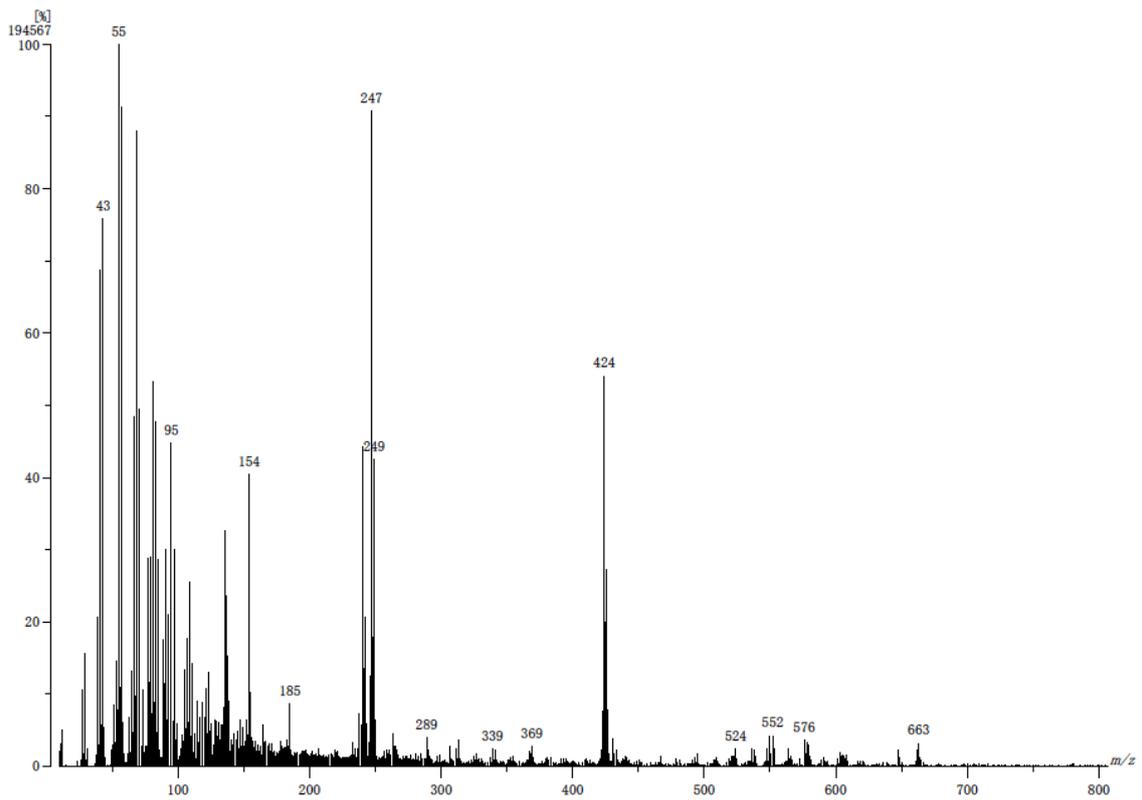


Figura V.IX Espectro de masas del compuesto [Cu(dmbpy)(L1)]PF<sub>6</sub> por la técnica de FAB+.

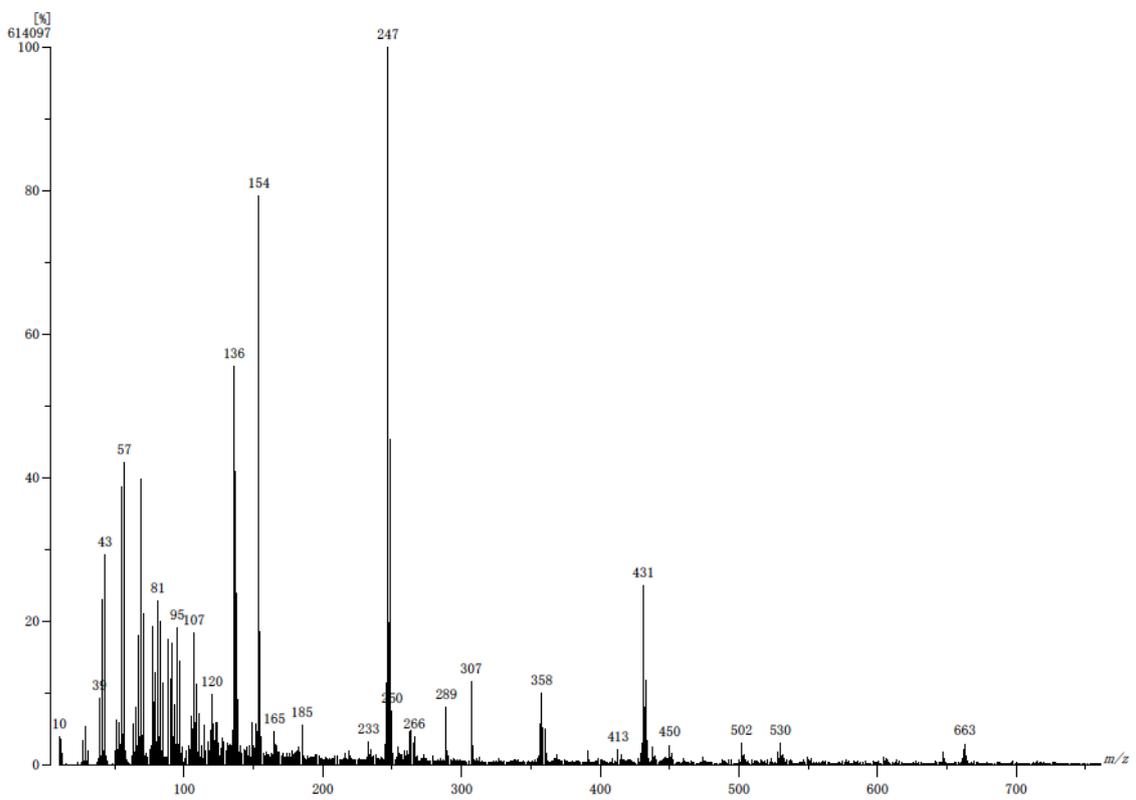


Figura V.XI Espectro de masas del compuesto [Cu(dmbpy)(L3)]PF<sub>6</sub> por la técnica de FAB+.

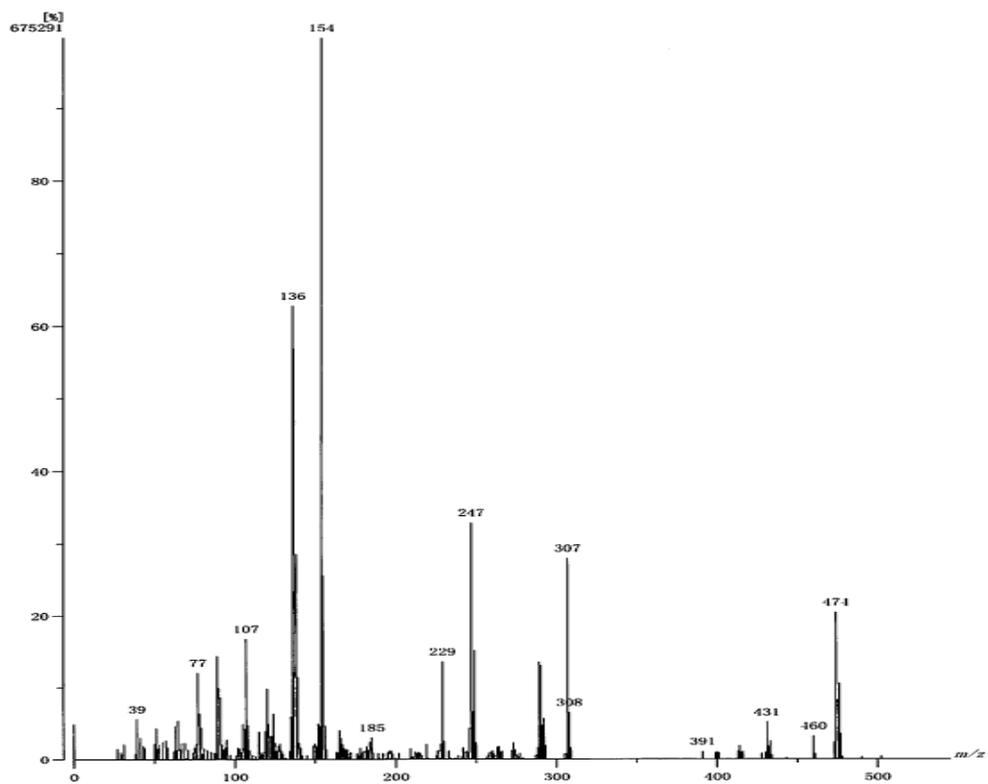


Figura V.XII Espectro de masas del compuesto [Cu(dmbpy)(LN1)]PF<sub>6</sub> por la técnica de FAB+.

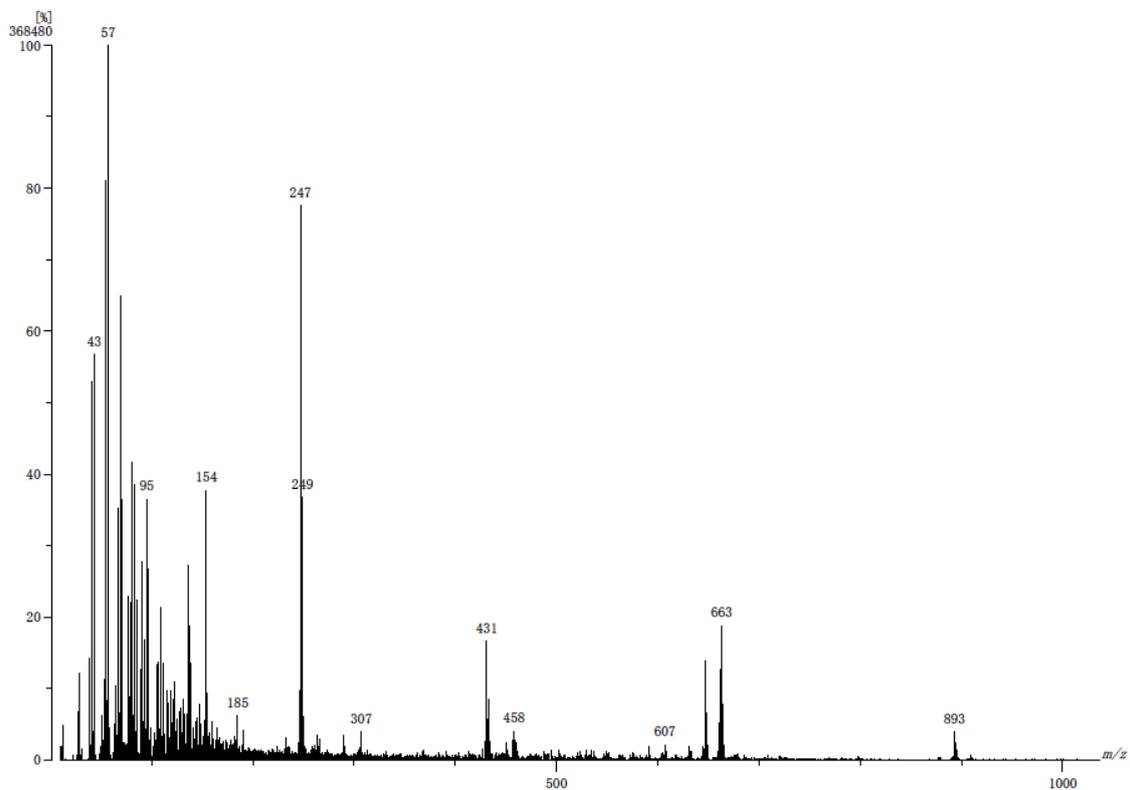


Figura V.XIII Espectro de masas del compuesto [Cu(dmbpy)(LN3)]PF<sub>6</sub> por la técnica de FAB+.

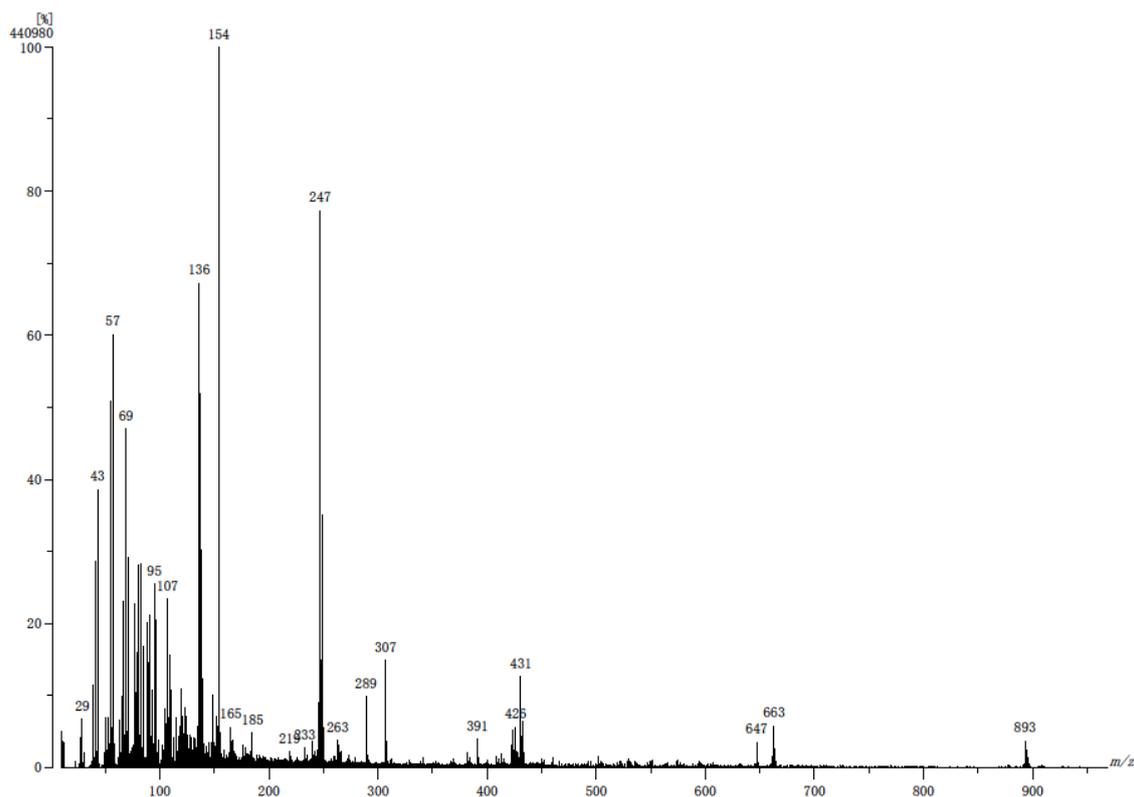


Figura V.XIV Espectro de masas del compuesto [Cu(dmbpy)(LH1)]PF<sub>6</sub> por la técnica de FAB+.

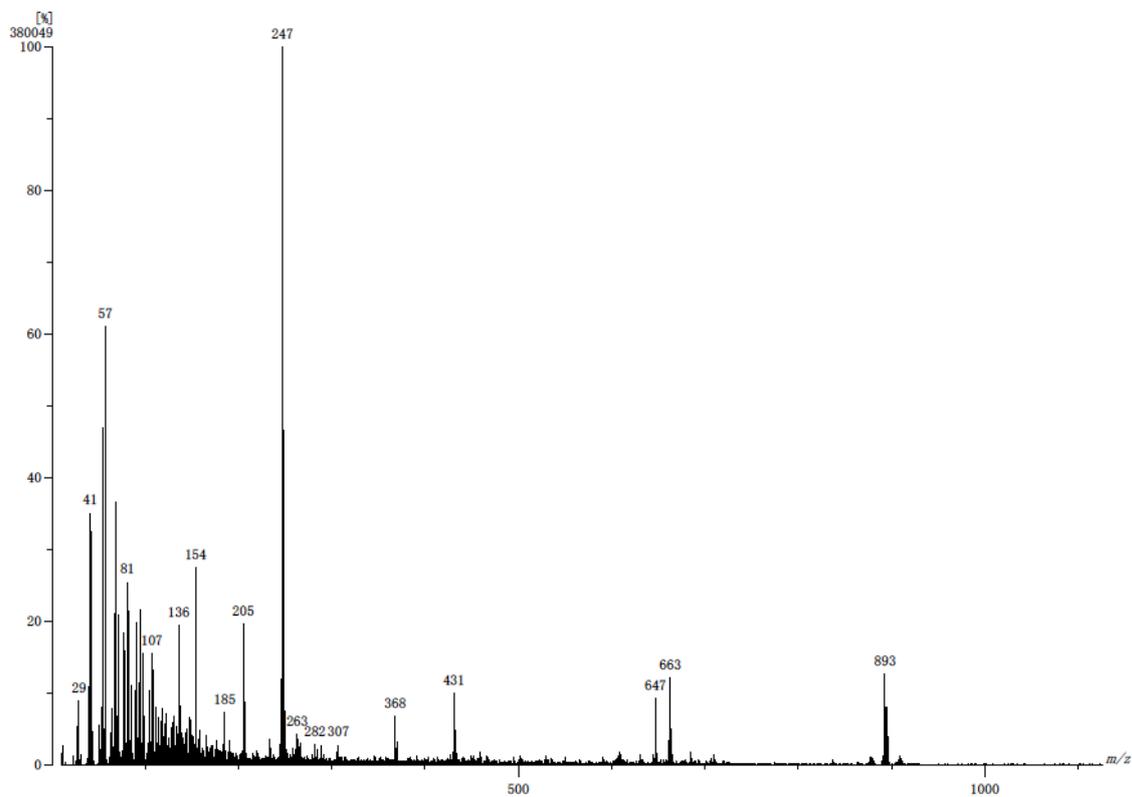


Figura V.XV Espectro de masas del compuesto [Cu(dmbpy)(LH2)]PF<sub>6</sub> por la técnica de FAB+.

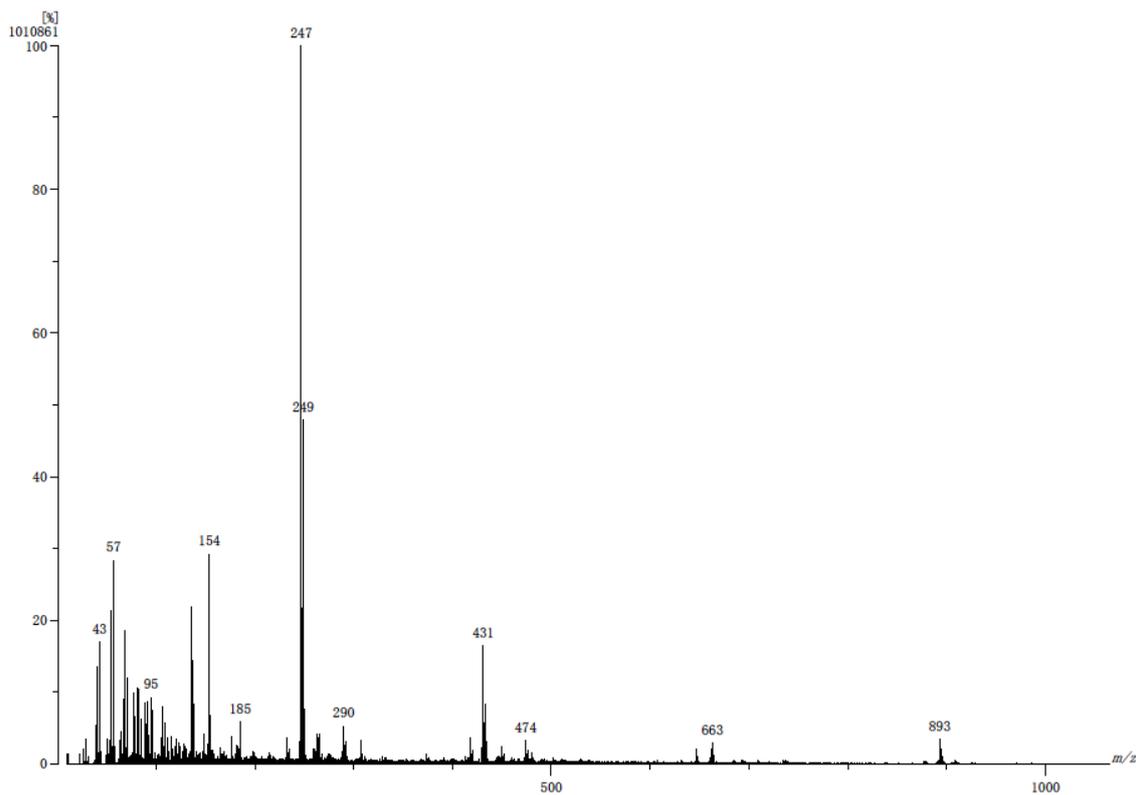


Figura V.XVI Espectro de masas del compuesto [Cu(dmbpy)(LNH1)]PF<sub>6</sub> por la técnica de FAB+.

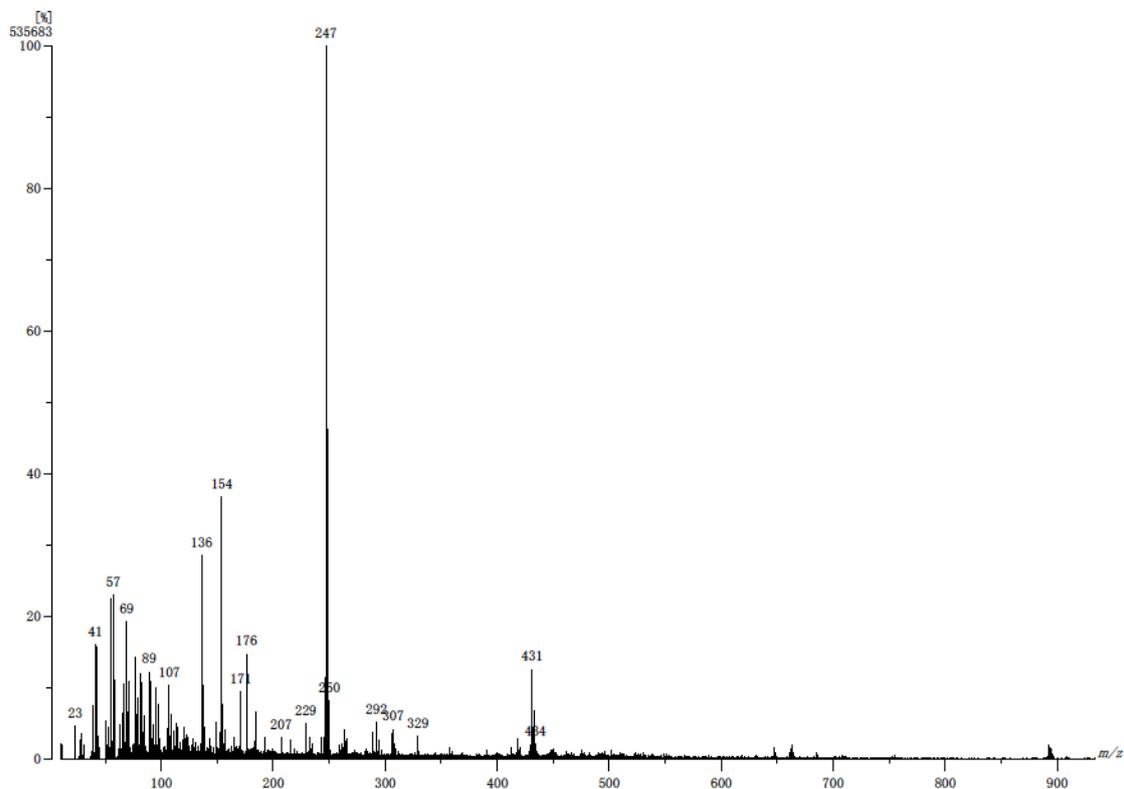


Figura V.XVII Espectro de masas del compuesto [Cu(dmbpy)(LNH2)]PF<sub>6</sub> por la técnica de FAB+.

## Anexo VI. Espectroscopía Electrónica

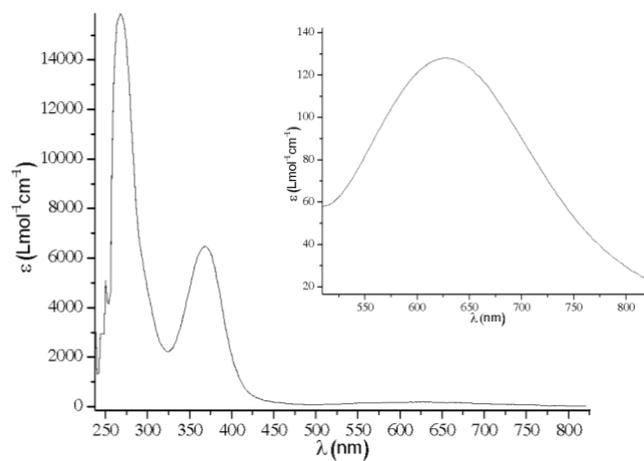


Figura VI.I Espectro electrónico del compuesto [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)] en DMSO.

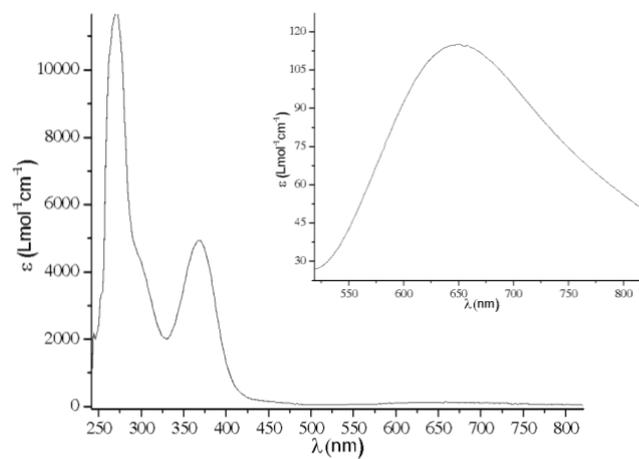


Figura VI.II Espectro electrónico del compuesto [Cu(L2)(NO<sub>3</sub>)] en DMSO.

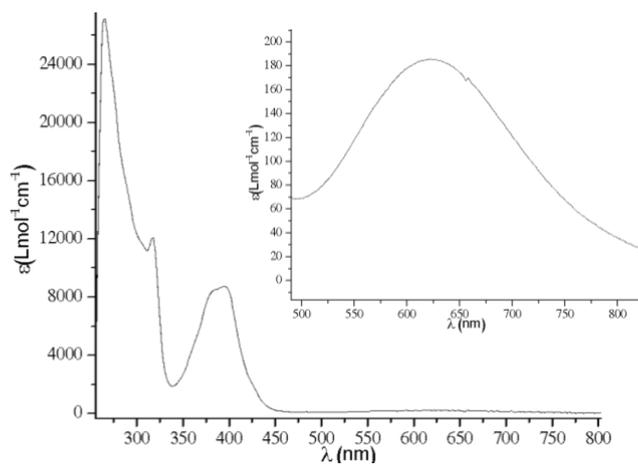


Figura VI.III Espectro electrónico del compuesto [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)] en DMSO.

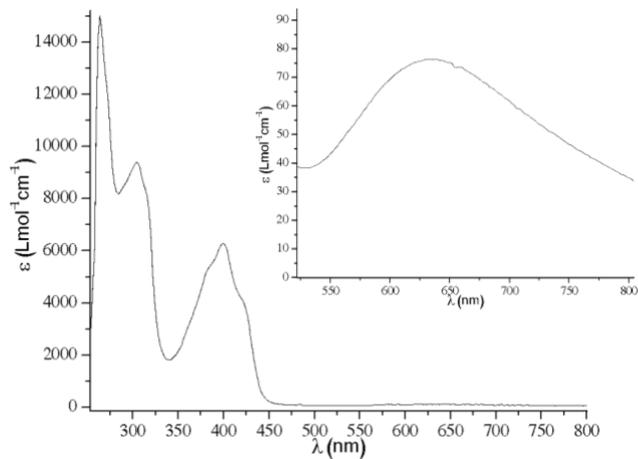


Figura VI.IV Espectro electrónico del compuesto  $[\text{Cu}(\text{LN}2)(\text{NO}_3)]$  en DMSO.

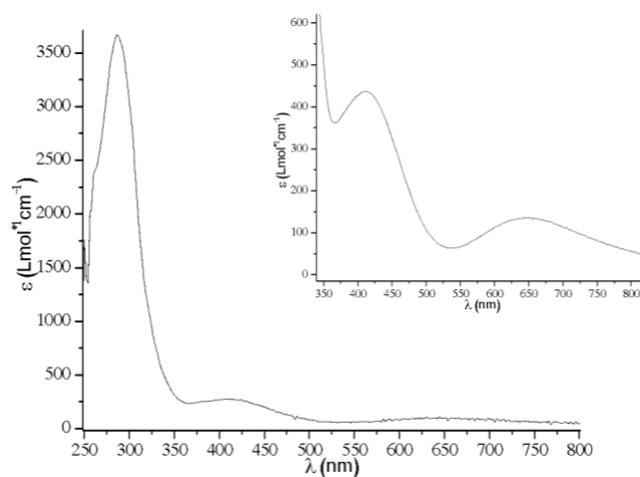


Figura VI.V Espectro electrónico del compuesto  $[\text{Cu}(\text{LH}1)(\text{NO}_3)]$  en DMSO.

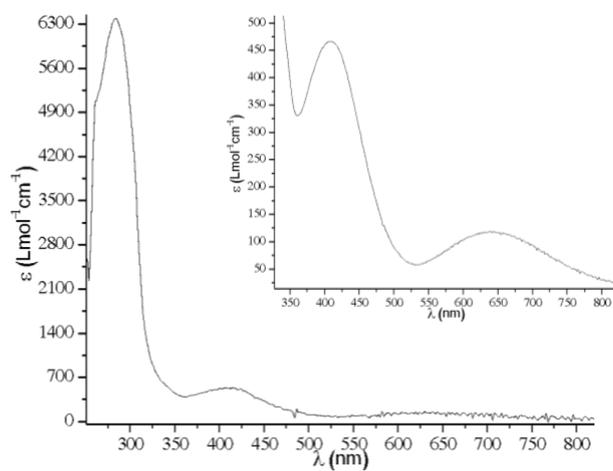


Figura VI.VI Espectro electrónico del compuesto  $[\text{Cu}(\text{LH}2)(\text{NO}_3)]$  en DMSO.

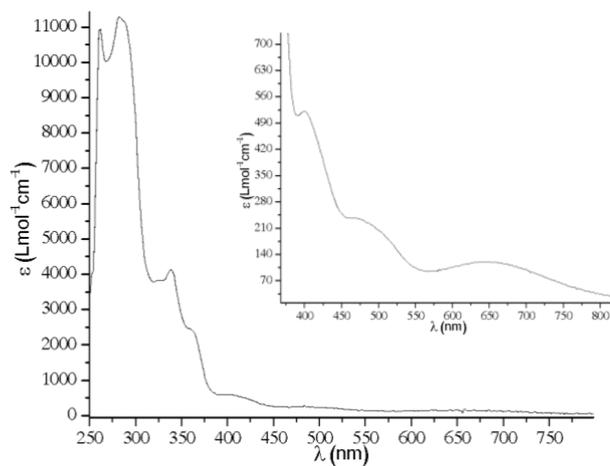


Figura VI.VII Espectro electrónico del compuesto  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$  en DMSO.

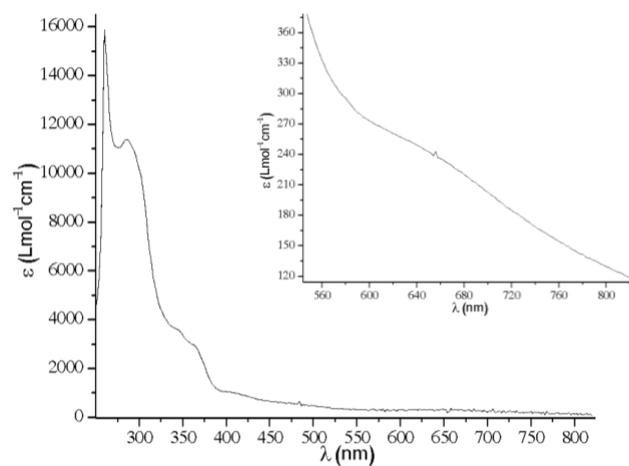


Figura VI.VIII Espectro electrónico del compuesto  $[\text{Cu}(\text{LNH2})(\text{NO}_3)]$  en DMSO.

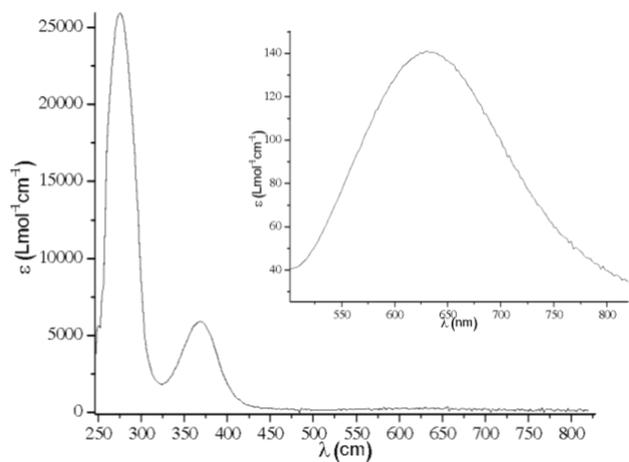


Figura VI.IX Espectro electrónico del compuesto  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]\text{PF}_6$  en DMSO.

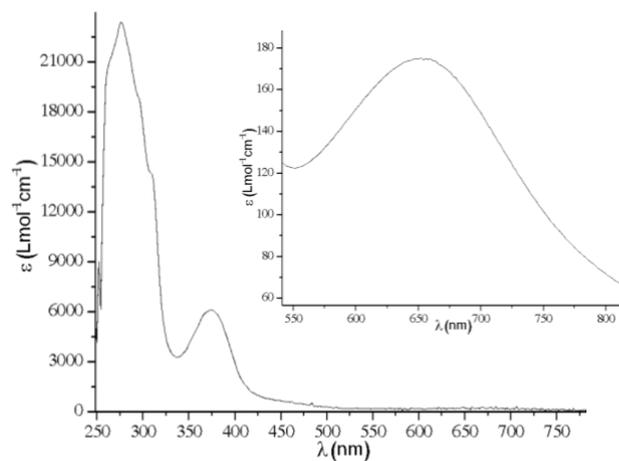


Figura VI.X Espectro electrónico del compuesto  $[Cu(dmbpy)(L3)]PF_6$  en DMSO.

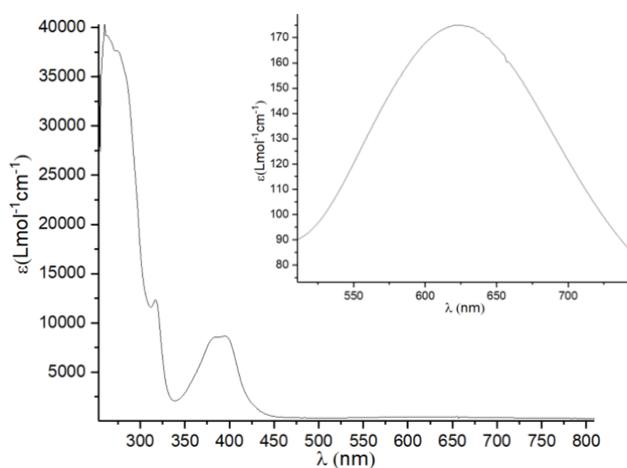


Figura VI.XI Espectro electrónico del compuesto  $[Cu(dmbpy)(LN1)]PF_6$  en DMSO.

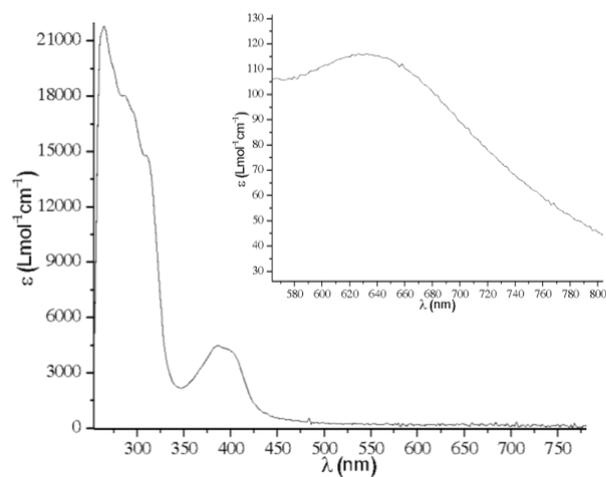


Figura VI.XII Espectro electrónico del compuesto  $[Cu(dmbpy)(LN3)]PF_6$  en DMSO.

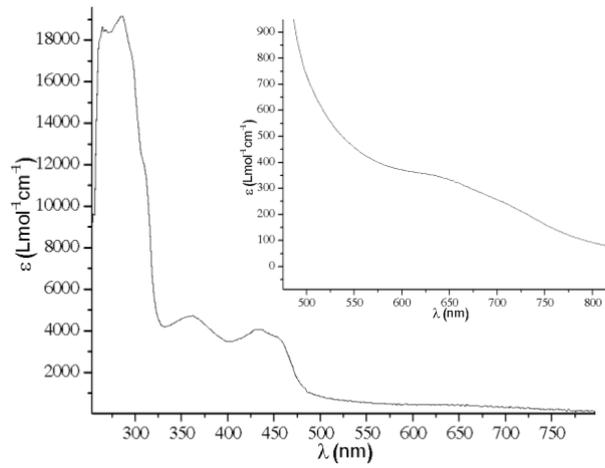


Figura VI.XIII Espectro electrónico del compuesto  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH1})]\text{PF}_6$  en DMSO.

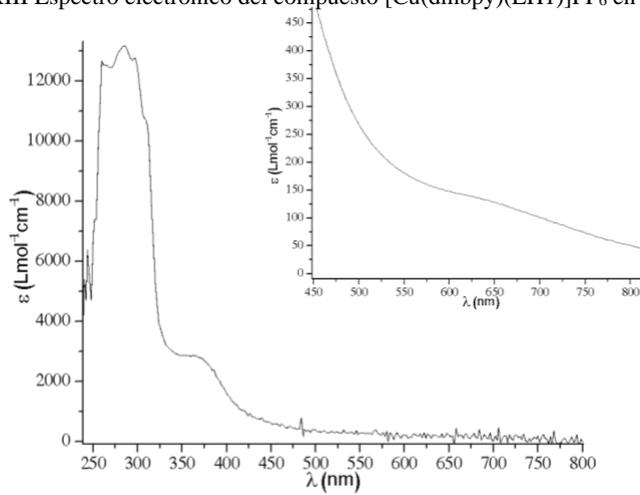


Figura VI.XIV Espectro electrónico del compuesto  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH2})]\text{PF}_6$  en DMSO.

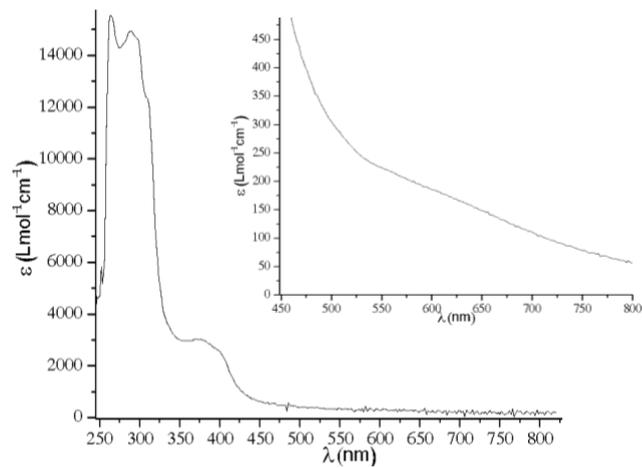


Figura VI.XV Espectro electrónico del compuesto  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH1})]\text{PF}_6$  en DMSO.

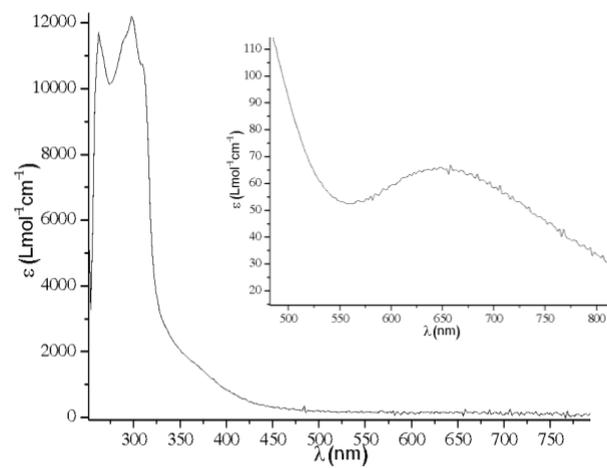


Figura VI.XVI Espectro electrónico del compuesto [Cu(dmbpy)(LNH<sub>2</sub>)]PF<sub>6</sub> en DMSO.

## Anexo VII. Resonancia Paramagnética Electrónica

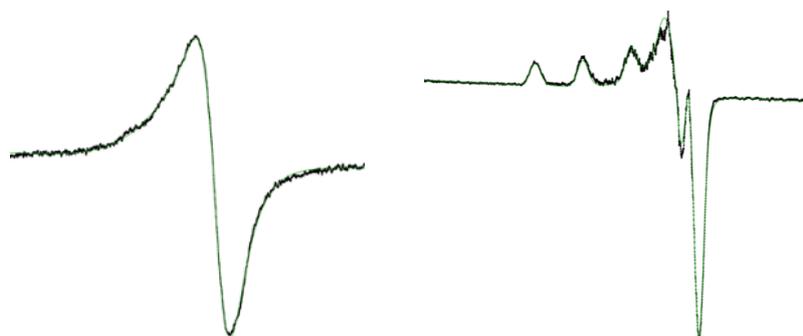


Figura VII.I Espectro de resonancia paramagnética electrónica de [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)] en estado sólido a temperatura ambiente (izquierda) y en vidrio a 77K en DMSO (derecha). Los espectros simulados se muestran en color verde.

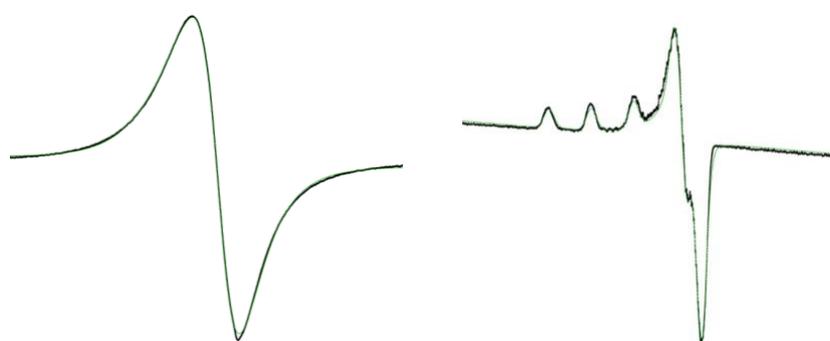


Figura VII.II Espectro de resonancia paramagnética electrónica de [Cu(L2)(NO<sub>3</sub>)] en estado sólido a temperatura ambiente (izquierda) y en vidrio a 77K en DMSO (derecha). Los espectros simulados se muestran en color verde.

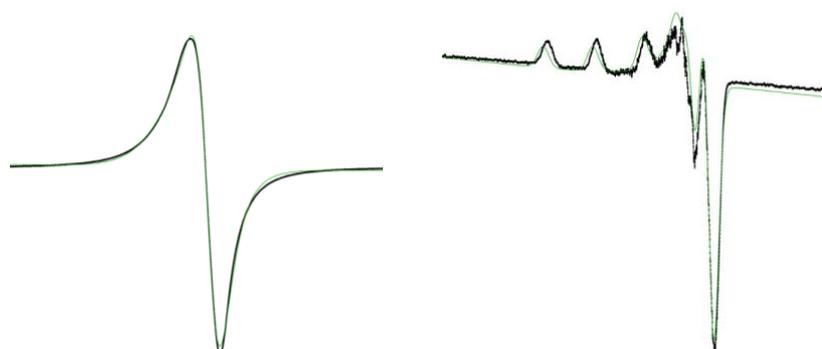


Figura VII.III Espectro de resonancia paramagnética electrónica de [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)] en estado sólido a temperatura ambiente (izquierda) y en vidrio a 77K en DMSO (derecha). Los espectros simulados se muestran en color verde.

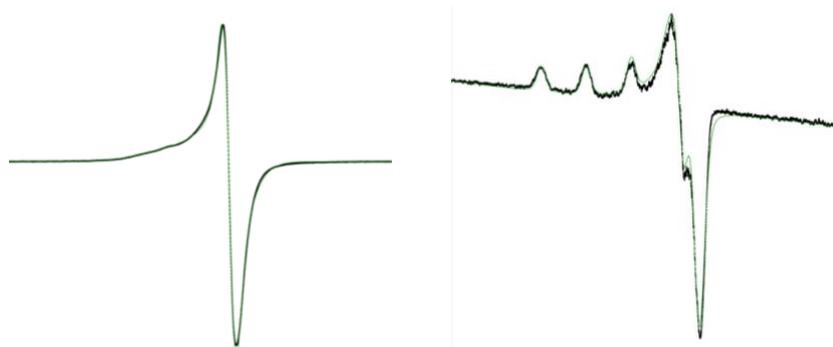


Figura VII.IV Espectro de resonancia paramagnética electrónica de  $[\text{Cu}(\text{LN}2)(\text{NO}_3)]$  en estado sólido a temperatura ambiente (izquierda) y en vidrio a 77K en DMSO (derecha). Los espectros simulados se muestran en color verde.

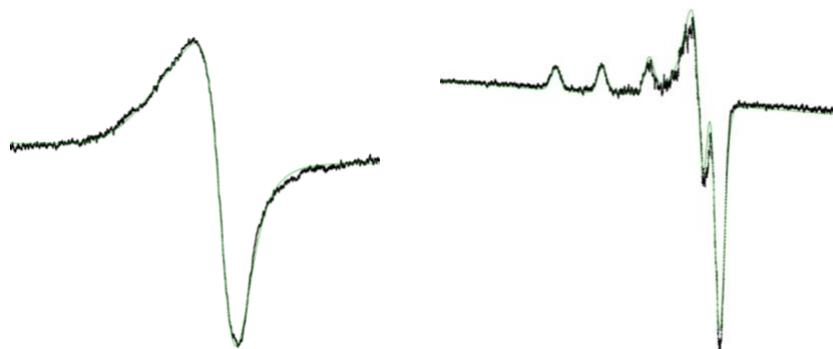


Figura VII.V Espectro de resonancia paramagnética electrónica de  $[\text{Cu}(\text{LH}1)(\text{NO}_3)]$  en estado sólido a temperatura ambiente (izquierda) y en vidrio a 77K en DMSO (derecha). Los espectros simulados se muestran en color verde.

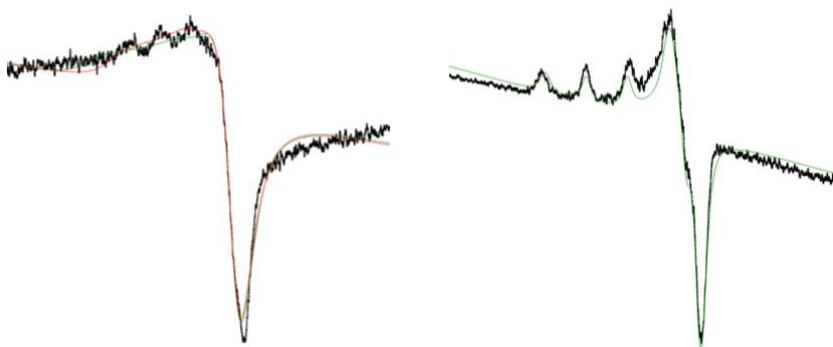


Figura VII.VI Espectro de resonancia paramagnética electrónica de  $[\text{Cu}(\text{LH}2)(\text{NO}_3)]$  en estado sólido a temperatura ambiente (izquierda) y en vidrio a 77K en DMSO (derecha). Los espectros simulados se muestran en color verde.

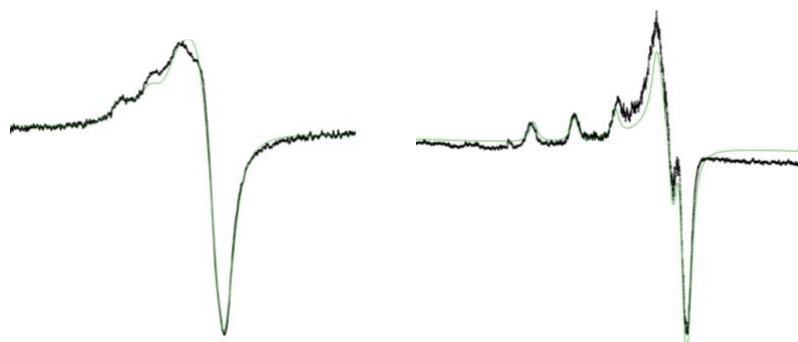


Figura VII.VII Espectro de resonancia paramagnética electrónica de  $[\text{Cu}(\text{LNH1})(\text{NO}_3)]$  en estado sólido a temperatura ambiente (izquierda) y en vidrio a 77K en DMSO (derecha). Los espectros simulados se muestran en color verde.

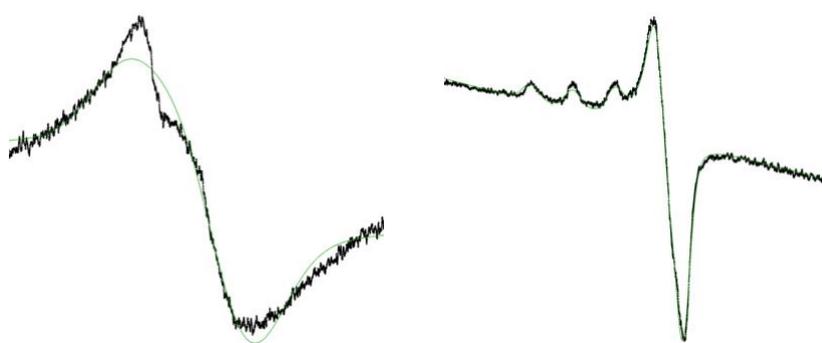


Figura VII.VIII Espectro de resonancia paramagnética electrónica de  $[\text{Cu}(\text{LNH2})(\text{NO}_3)]$  en estado sólido a temperatura ambiente (izquierda) y en vidrio a 77K en DMSO (derecha). Los espectros simulados se muestran en color verde.

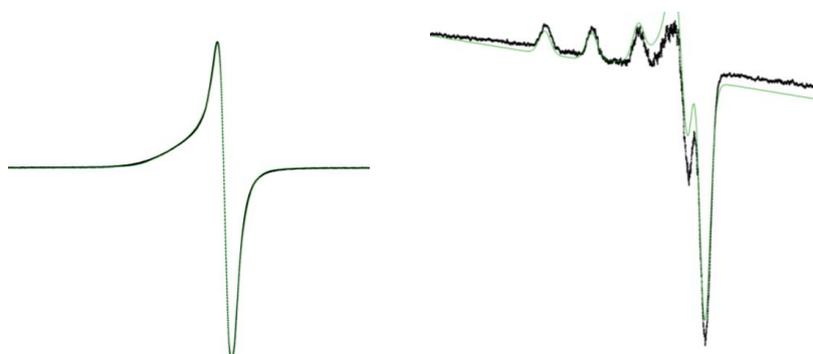


Figura VII.IX Espectro de resonancia paramagnética electrónica de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L1})]\text{PF}_6$  en estado sólido a temperatura ambiente (izquierda) y en vidrio a 77K en DMSO (derecha). Los espectros simulados se muestran en color verde.

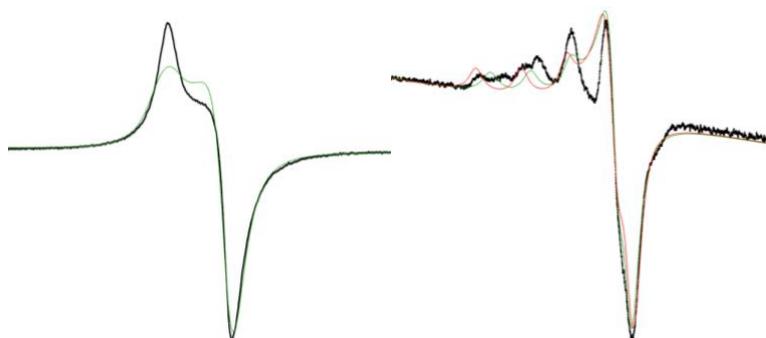


Figura VII.X Espectro de resonancia paramagnética electrónica de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L2})]\text{PF}_6$  en estado sólido a temperatura ambiente (izquierda) y en vidrio a 77K en DMSO (derecha). Los espectros simulados se muestran en color verde.

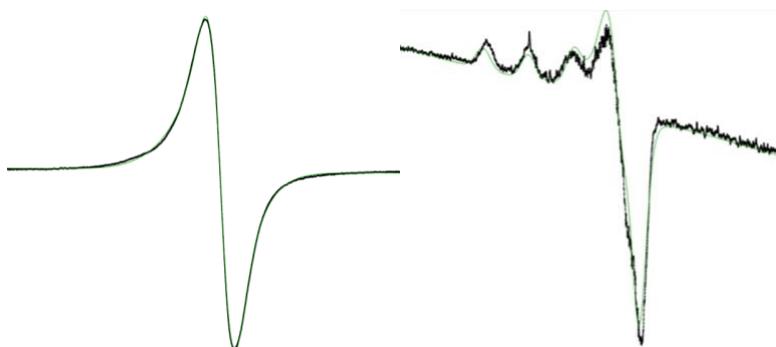


Figura VII.XI Espectro de resonancia paramagnética electrónica de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L3})]\text{PF}_6$  en estado sólido a temperatura ambiente (izquierda) y en vidrio a 77K en DMSO (derecha). Los espectros simulados se muestran en color verde.

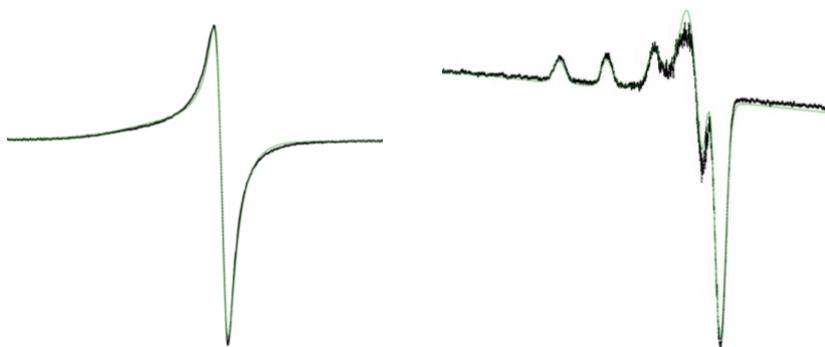


Figura VII.XII Espectro de resonancia paramagnética electrónica de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN1})]\text{PF}_6$  en estado sólido a temperatura ambiente (izquierda) y en vidrio a 77K en DMSO (derecha). Los espectros simulados se muestran en color verde.

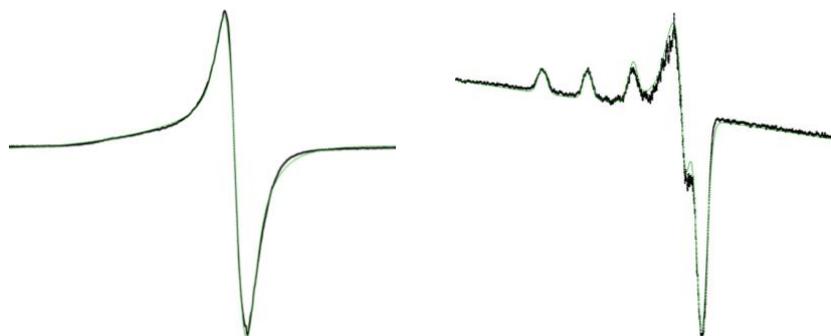


Figura VII.XIII Espectro de resonancia paramagnética electrónica de [Cu(dmbpy)(LN2)]PF<sub>6</sub> en estado sólido a temperatura ambiente (izquierda) y en vidrio a 77K en DMSO (derecha). Los espectros simulados se muestran en color verde.

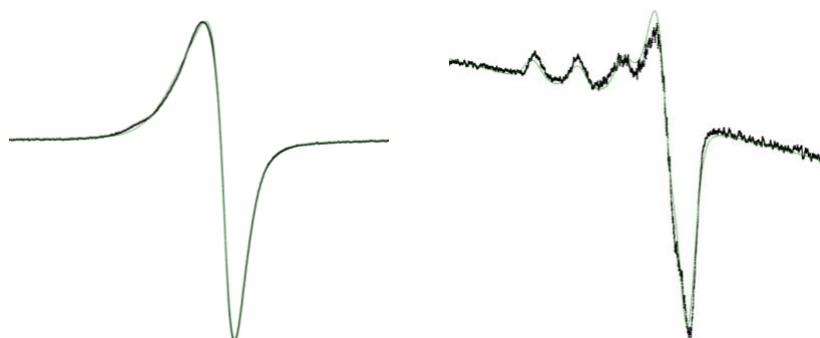


Figura VII.XIV Espectro de resonancia paramagnética electrónica de [Cu(dmbpy)(LN3)]PF<sub>6</sub> en estado sólido a temperatura ambiente (izquierda) y en vidrio a 77K en DMSO (derecha). Los espectros simulados se muestran en color verde.

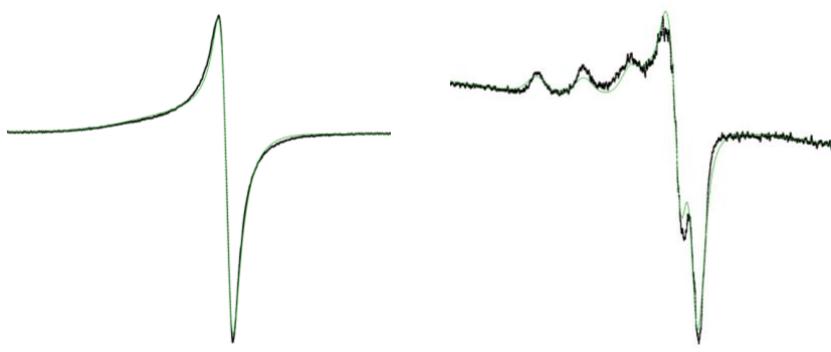


Figura VII.XV Espectro de resonancia paramagnética electrónica de [Cu(dmbpy)(LH1)]PF<sub>6</sub> en estado sólido a temperatura ambiente (izquierda) y en vidrio a 77K en DMSO (derecha). Los espectros simulados se muestran en color verde.

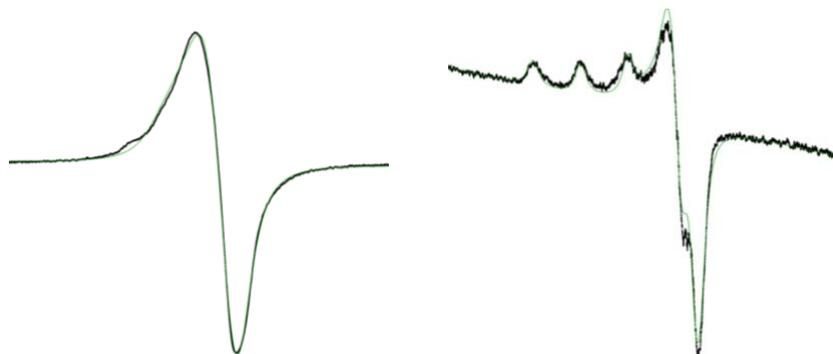


Figura VII.XVI Espectro de resonancia paramagnética electrónica de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH}_2)]\text{PF}_6$  en estado sólido a temperatura ambiente (izquierda) y en vidrio a 77K en DMSO (derecha). Los espectros simulados se muestran en color verde.

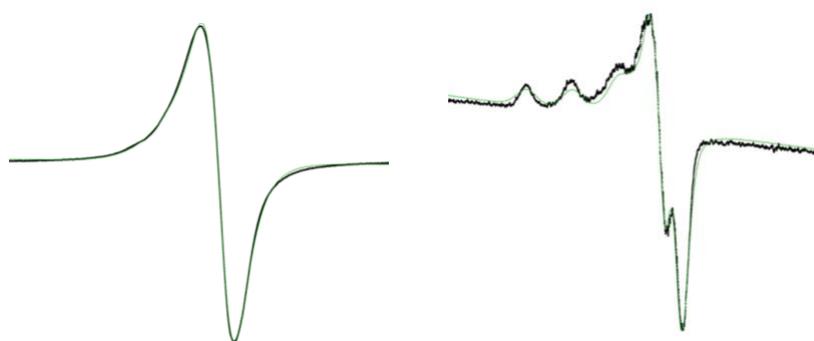


Figura VII.XVII Espectro de resonancia paramagnética electrónica de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH}_1)]\text{PF}_6$  en estado sólido a temperatura ambiente (izquierda) y en vidrio a 77K en DMSO (derecha). Los espectros simulados se muestran en color verde.

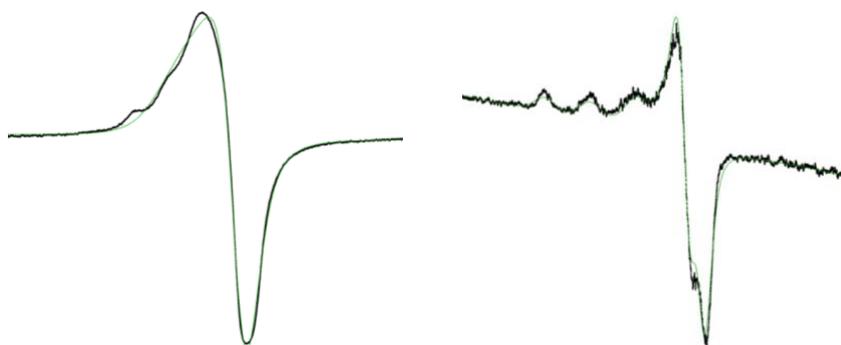


Figura VII.XVIII Espectro de resonancia paramagnética electrónica de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH}_2)]\text{PF}_6$  en estado sólido a temperatura ambiente (izquierda) y en vidrio a 77K en DMSO (derecha). Los espectros simulados se muestran en color verde.

## Anexo VIII. Voltamperometría Cíclica.

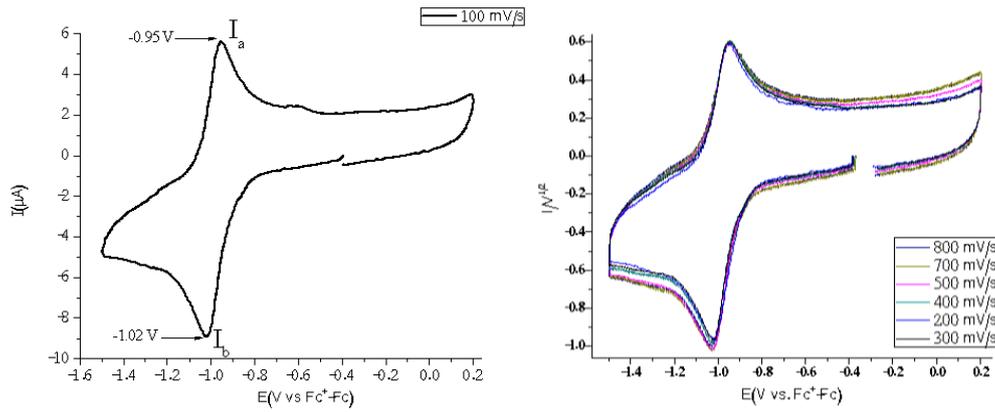


Figura VIII.I (izquierda) Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{L1})(\text{NO}_3)]$  a 0.1 V/s. (Derecha) Gráfica de la corriente dividida entre la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial (E(V)). Complejo 1 mM en DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, dirección catódica. Electrodo de trabajo: carbono vitreo.

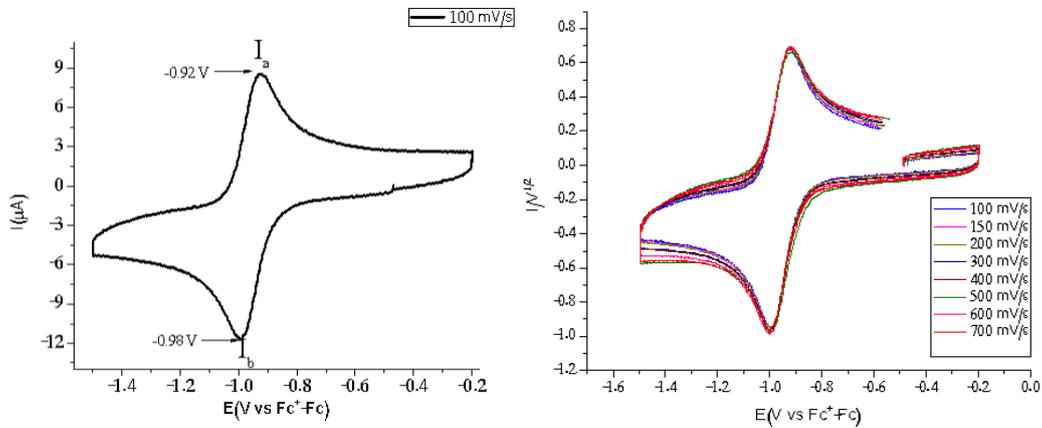


Figura VIII.II (izquierda) Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{L2})(\text{NO}_3)]$  a 0.1 V/s. (Derecha) Gráfica de la corriente dividida entre la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial (E(V)). Complejo 1 mM en DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, dirección catódica. Electrodo de trabajo: carbono vitreo.

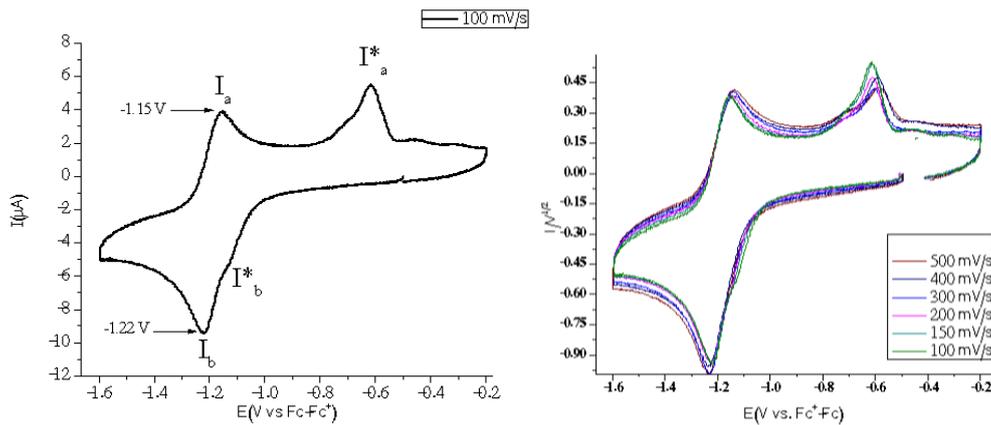


Figura VIII.III (izquierda) Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{LN1})(\text{NO}_3)]$  a 0.1 V/s. (Derecha) Gráfica de la corriente dividida entre la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial (E(V)). Complejo 1 mM en DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, dirección catódica. Electrodo de trabajo: carbono vitreo.

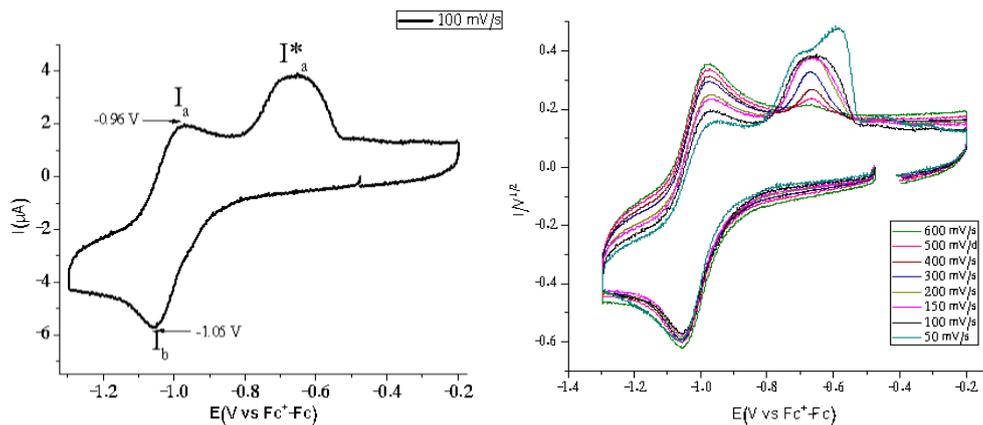


Figura VIII.IV (izquierda) Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{LN}2)(\text{NO}_3)]$  a 0.1 V/s. (Derecha) Gráfica de la corriente dividida entre la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial ( $E(V)$ ). Complejo 1 mM en DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, dirección catódica. Electrodo de trabajo: carbono vitreo.

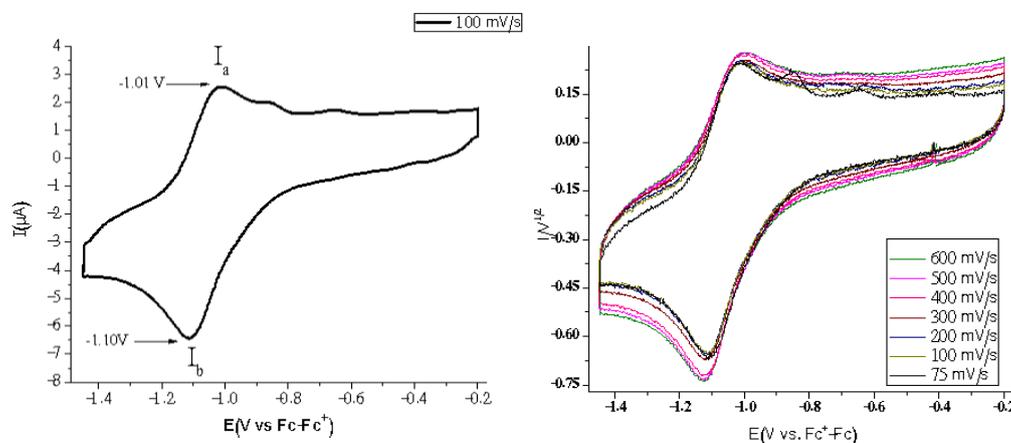


Figura VIII.V (izquierda) Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{LH}1)(\text{NO}_3)]$  a 0.1 V/s. (Derecha) Gráfica de la corriente dividida entre la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial ( $E(V)$ ). Complejo 1 mM en DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, dirección catódica. Electrodo de trabajo: carbono vitreo.

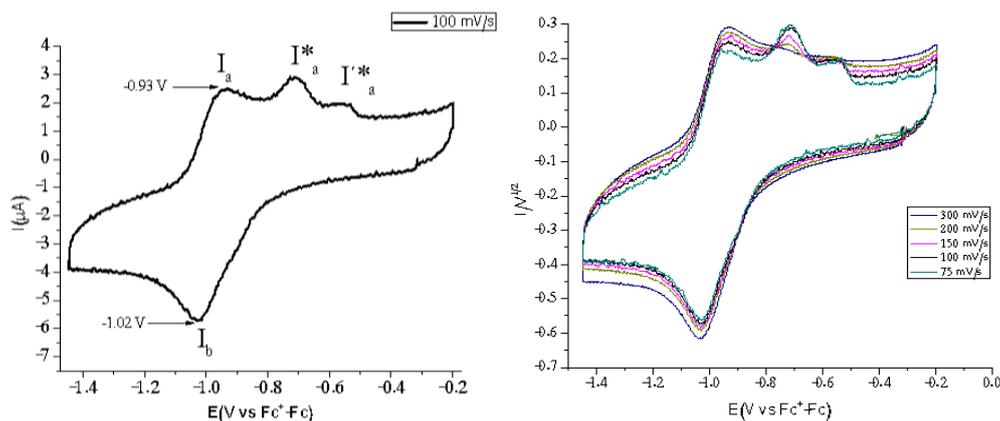


Figura VIII.VI (izquierda) Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{LH}2)(\text{NO}_3)]$  a 0.1 V/s. (Derecha) Gráfica de la corriente dividida entre la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial ( $E(V)$ ). Complejo 1 mM en DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, dirección catódica. Electrodo de trabajo: carbono vitreo.

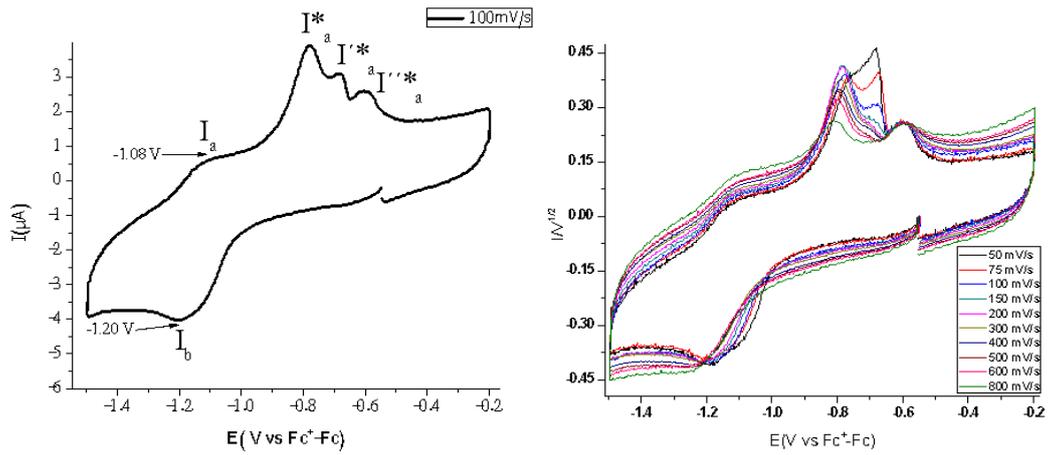


Figura VIII.VII (izquierda) Voltamperograma de  $[Cu(LNH1)(NO_3)]$  a 0.1 V/s. (Derecha) Gráfica de la corriente dividida entre la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial (E(V)). Complejo 1 mM en DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, dirección catódica. Electrodo de trabajo: carbono vitreo.

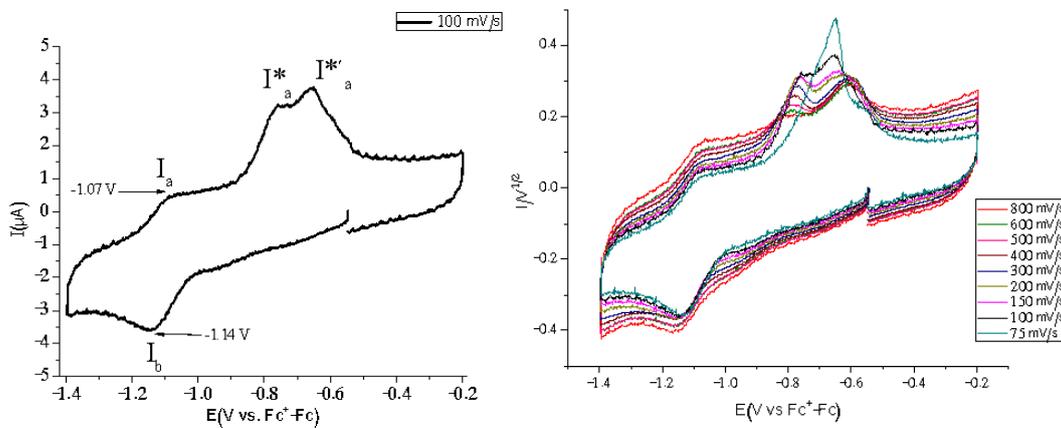


Figura VIII.VIII (izquierda) Voltamperograma de  $[Cu(LNH2)(NO_3)]$  a 0.1 V/s. (Derecha) Gráfica de la corriente dividida entre la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial (E(V)). Complejo 1 mM en DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, dirección catódica. Electrodo de trabajo: carbono vitreo.

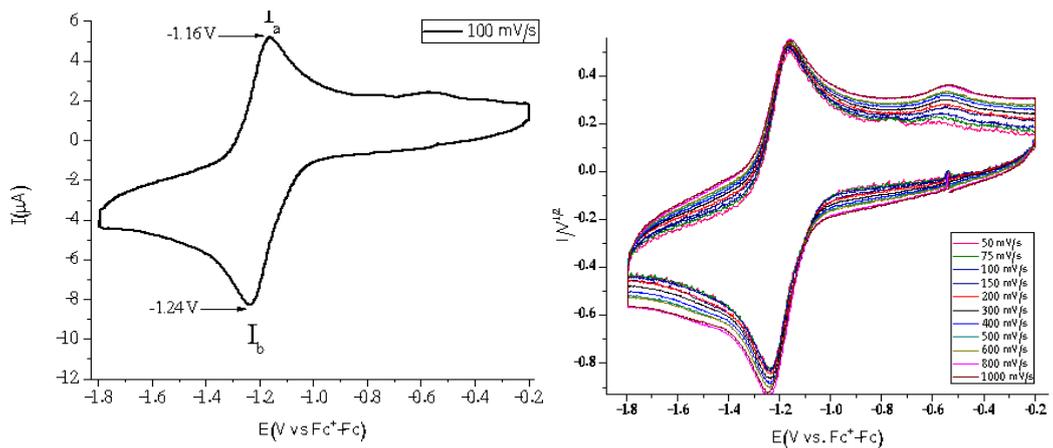


Figura VIII.IX (izquierda) Voltamperograma de  $[Cu(dmbpy)(L1)]PF_6$  a 0.1 V/s. (Derecha) Gráfica de la corriente dividida entre la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial (E(V)). Complejo 1 mM en DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, dirección catódica. Electrodo de trabajo: carbono vitreo.

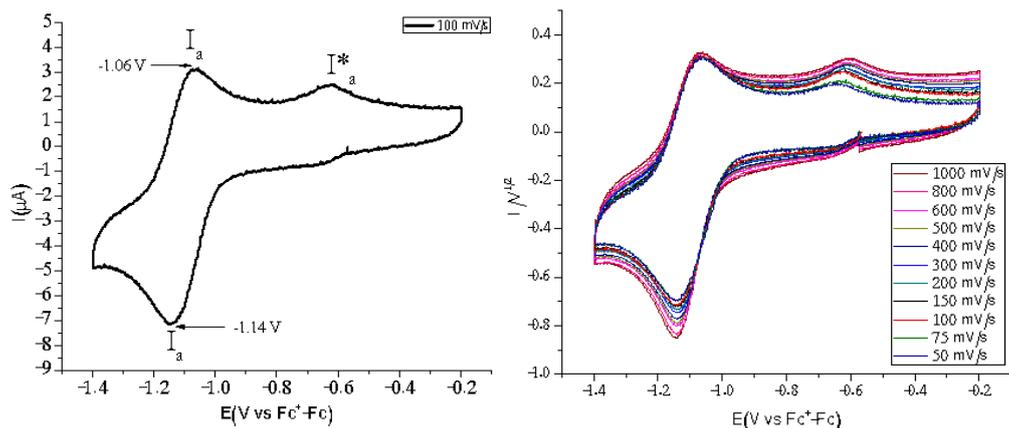


Figura VIII.X (izquierda) Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L2})]\text{PF}_6$  a 0.1 V/s. (Derecha) Gráfica de la corriente dividida entre la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial (E(V)). Complejo 1 mM en DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, dirección catódica. Electrodo de trabajo: carbono vitreo.

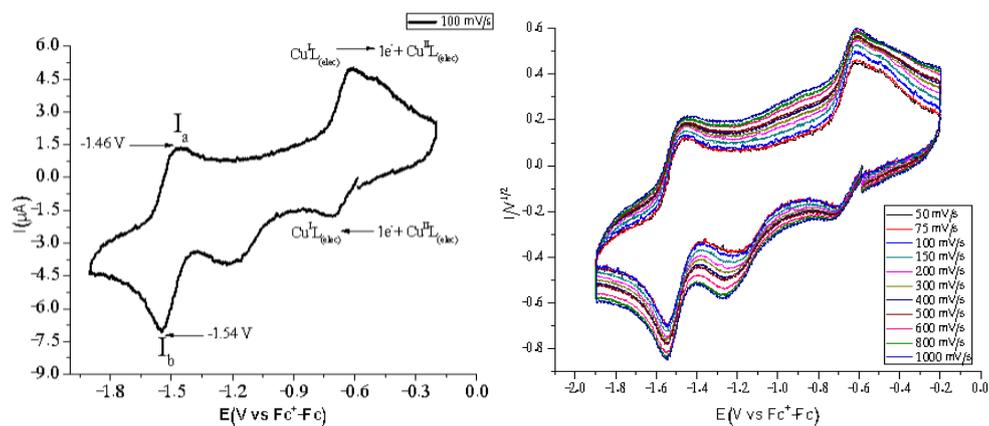


Figura VIII.XI (izquierda) Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{L3})]\text{PF}_6$  a 0.1 V/s. (Derecha) Gráfica de la corriente dividida entre la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial (E(V)). Complejo 1 mM en DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, dirección catódica. Electrodo de trabajo: carbono vitreo.

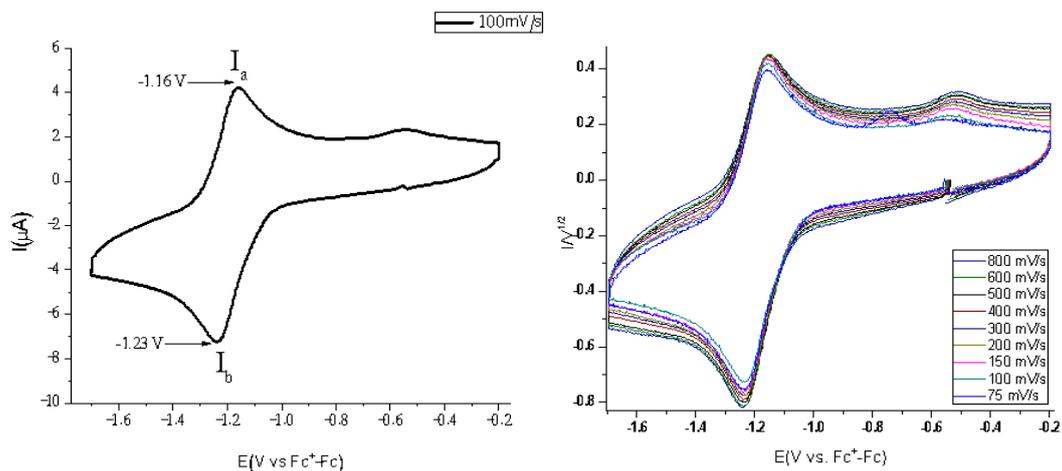


Figura VIII.XII (izquierda) Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN1})]\text{PF}_6$  a 0.1 V/s. (Derecha) Gráfica de la corriente dividida entre la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial (E(V)). Complejo 1 mM en DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, dirección catódica. Electrodo de trabajo: carbono vitreo.

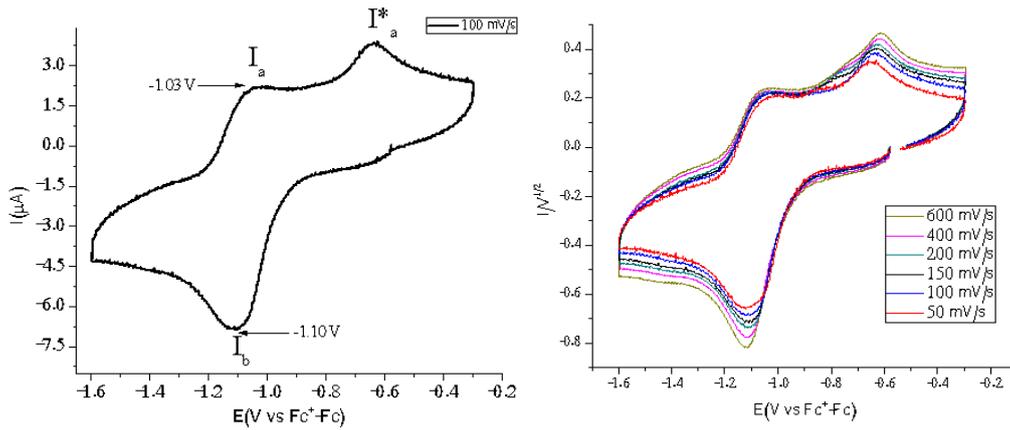


Figura VIII.XIII (izquierda) Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN}2)]\text{PF}_6$  a 0.1 V/s. (Derecha) Gráfica de la corriente dividida entre la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial (E(V)). Complejo 1 mM en DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, dirección catódica. Electrodo de trabajo: carbono vitreo.

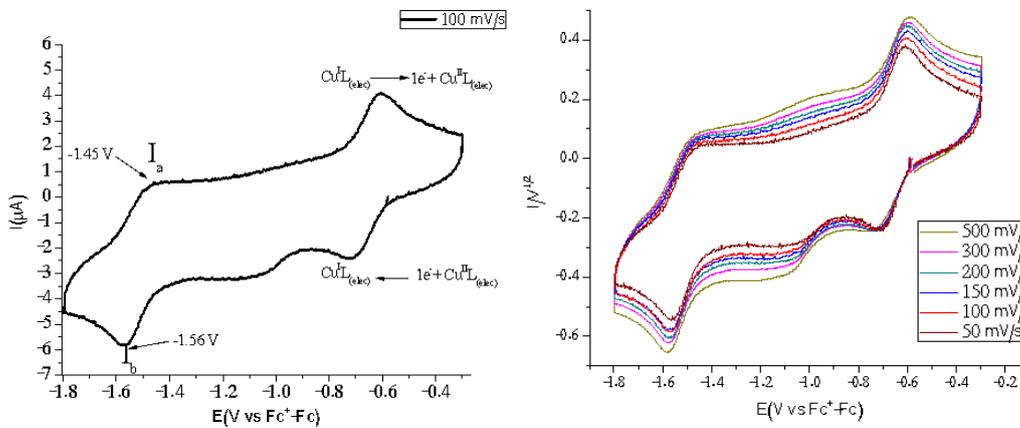


Figura VIII.XIV (izquierda) Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LN}3)]\text{PF}_6$  a 0.1 V/s. (Derecha) Gráfica de la corriente dividida entre la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial (E(V)). Complejo 1 mM en DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, dirección catódica. Electrodo de trabajo: carbono vitreo.

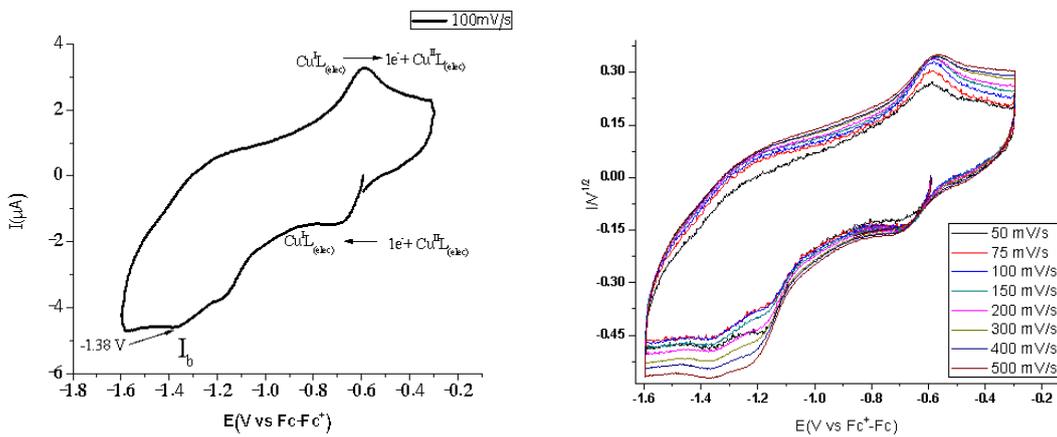


Figura VIII.XV (izquierda) Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH}1)]\text{PF}_6$  a 0.1 V/s. (Derecha) Gráfica de la corriente dividida entre la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial (E(V)). Complejo 1 mM en DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, dirección catódica. Electrodo de trabajo: carbono vitreo.

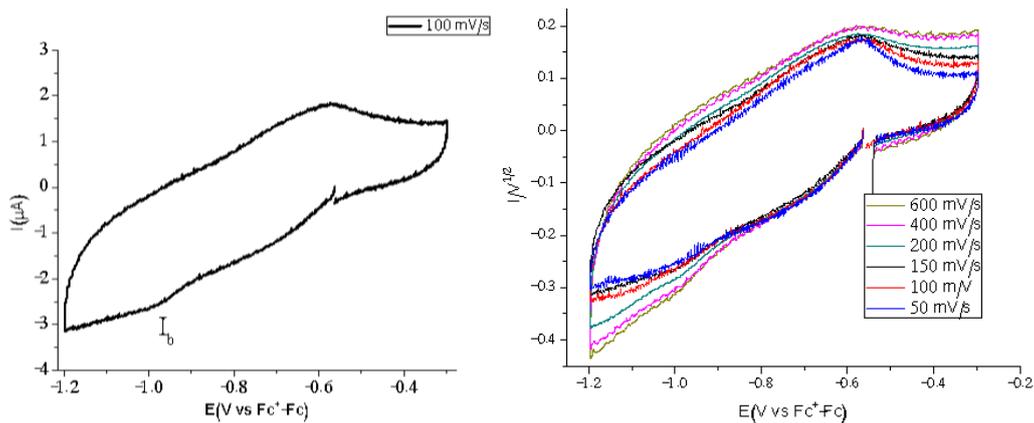


Figura VIII.XVI (izquierda) Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LH2})]\text{PF}_6$  a 0.1 V/s. (Derecha) Gráfica de la corriente dividida entre la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial (E(V)). Complejo 1 mM en DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, dirección catódica. Electrodo de trabajo: carbono vitreo.

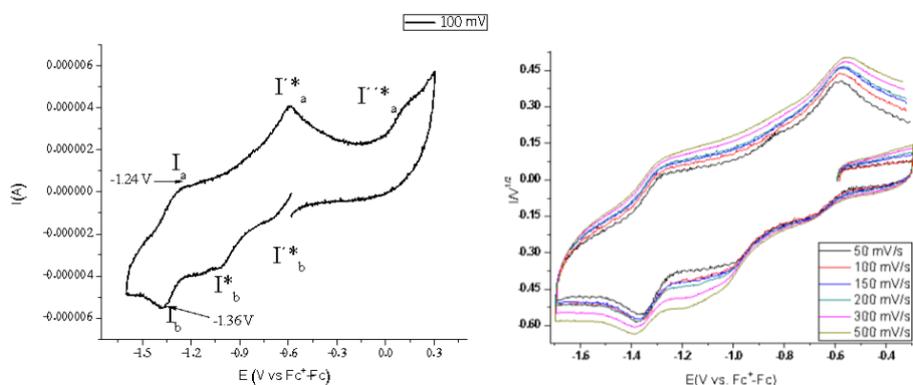


Figura VIII.XVII (izquierda) Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH1})]\text{PF}_6$  a 0.1 V/s. (Derecha) Gráfica de la corriente dividida entre la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial (E(V)). Complejo 1 mM en DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, dirección catódica. Electrodo de trabajo: carbono vitreo.

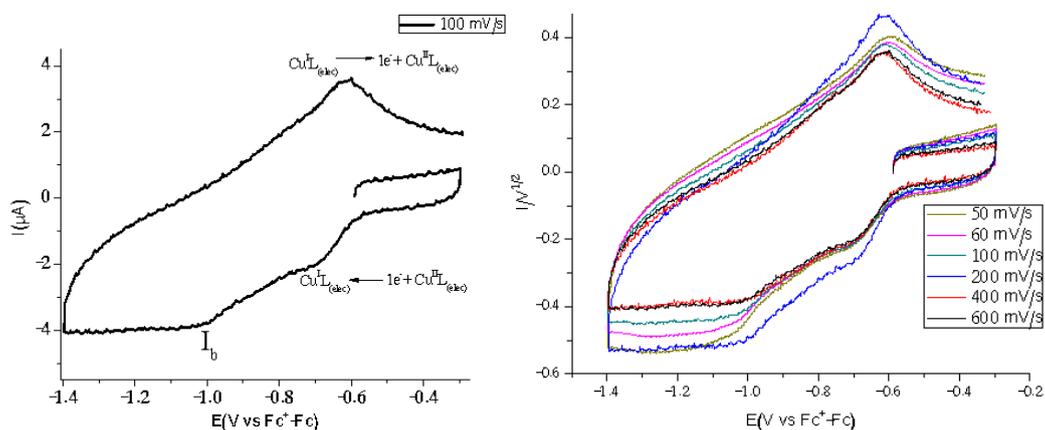


Figura VIII.XVIII (izquierda) Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{dmbpy})(\text{LNH2})]\text{PF}_6$  a 0.1 V/s. (Derecha) Gráfica de la corriente dividida entre la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial (E(V)). Complejo 1 mM en DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, dirección catódica. Electrodo de trabajo: carbono vitreo.

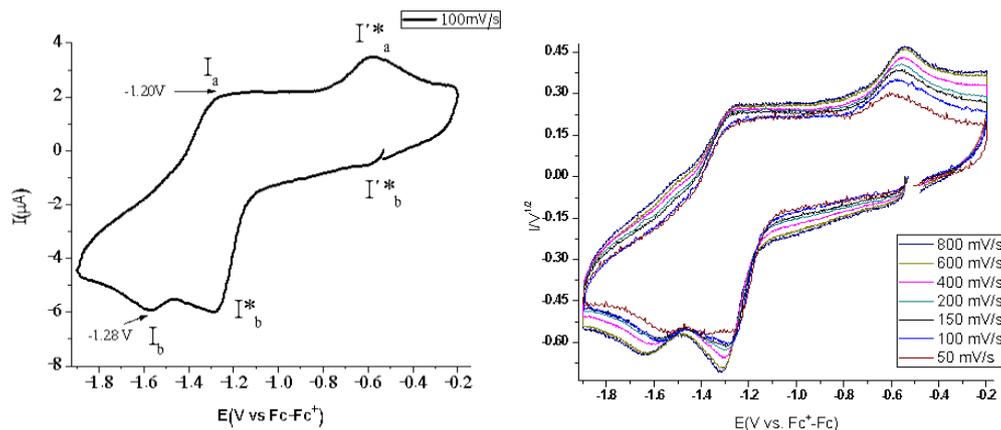


Figura VIII.XIX (izquierda) Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L1})]\text{PF}_6$  a 0.1 V/s. (Derecha) Gráfica de la corriente dividida entre la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial ( $E(\text{V})$ ). Complejo 1 mM en DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, dirección catódica. Electrodo de trabajo: carbono vitreo.

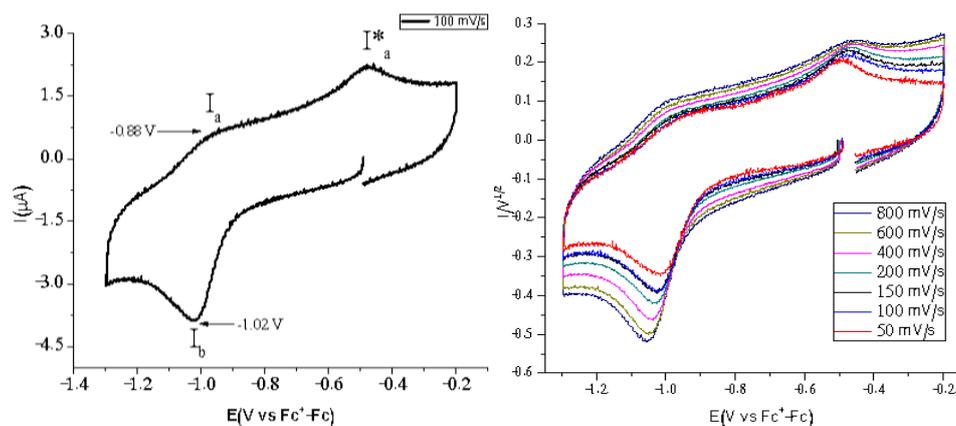


Figura VIII.XX (izquierda) Voltamperograma de  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L2})]\text{PF}_6$  a 0.1 V/s. (Derecha) Gráfica de la corriente dividida entre la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I/V^{1/2}$ ) vs. el potencial ( $E(\text{V})$ ). Complejo 1 mM en DMSO + TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, dirección catódica. Electrodo de trabajo: carbono vitreo.

## Anexo IX. Determinación de la Concentración Inhibitoria Media.

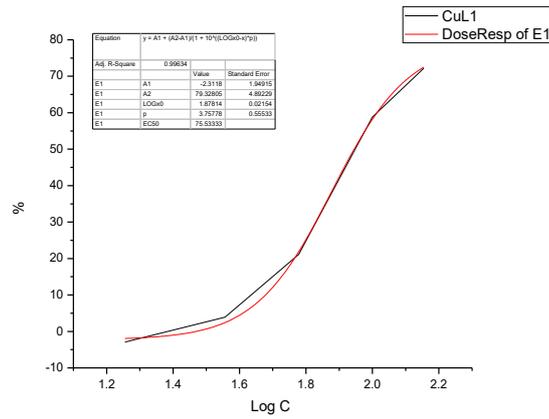


Figura IX.I Gráficas % de inhibición vs. logC de [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>) en células HeLa.

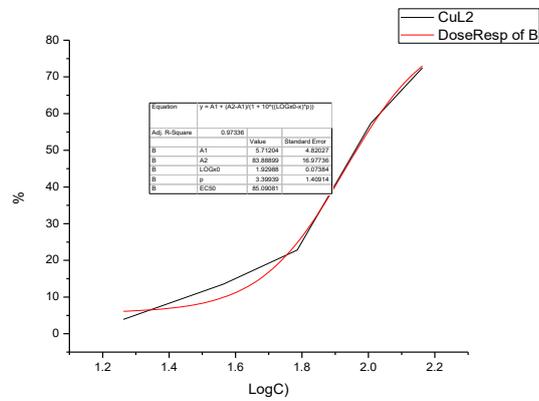


Figura IX.II Gráficas % de inhibición vs. logC de [Cu(L2)(NO<sub>3</sub>) en células HeLa.

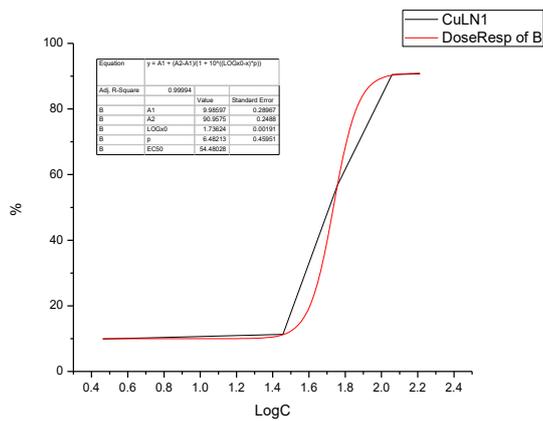


Figura IX.III Gráficas % de inhibición vs. logC de [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>) en células HeLa.

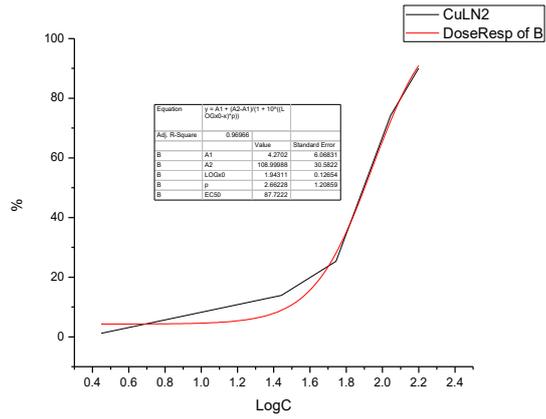


Figura IX.IV Gráficas % de inhibición vs. logC de [Cu(LN2)(NO<sub>3</sub>)] en células HeLa.

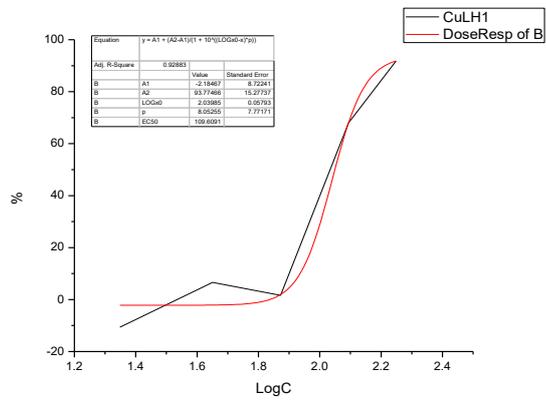


Figura IX.V Gráficas % de inhibición vs. logC de [Cu(LH1)(NO<sub>3</sub>)] en células HeLa.

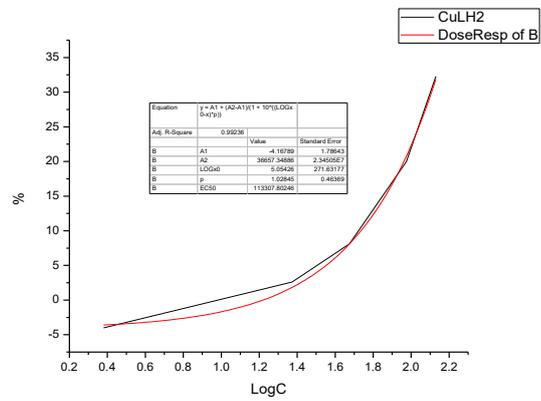


Figura IX.VI Gráficas % de inhibición vs. logC de [Cu(LH2)(NO<sub>3</sub>)] en células HeLa.

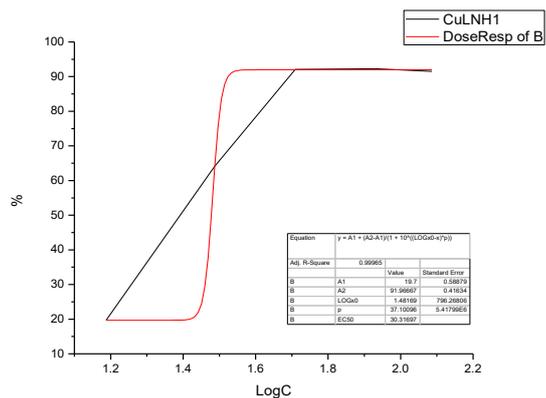


Figura IX.VII Gráficas % de inhibición vs. logC de [Cu(LNH1)(NO<sub>3</sub>)] en células HeLa.

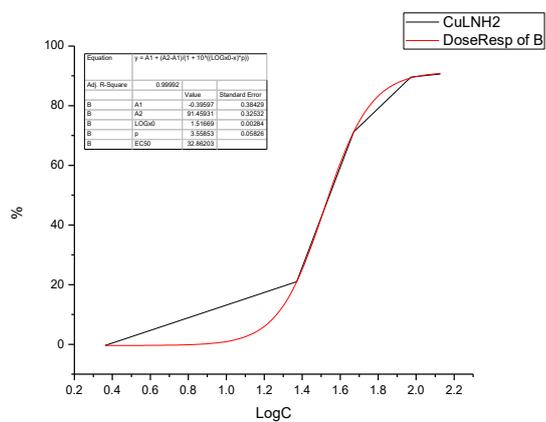


Figura IX.VIII Gráficas % de inhibición vs. logC de [Cu(LNH2)(NO<sub>3</sub>)] en células HeLa.

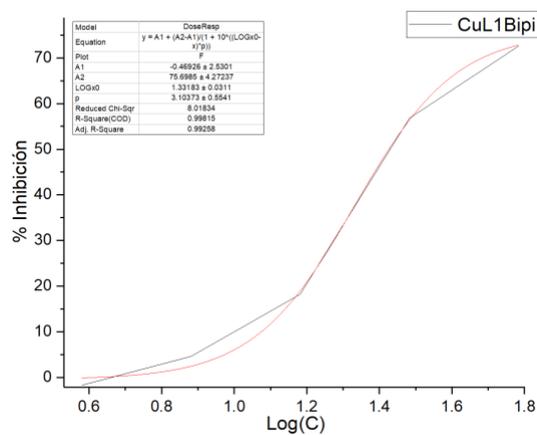


Figura IX.IX Gráficas % de inhibición vs. logC de [Cu(dmbpy)(L1)]PF<sub>6</sub> en células HeLa.

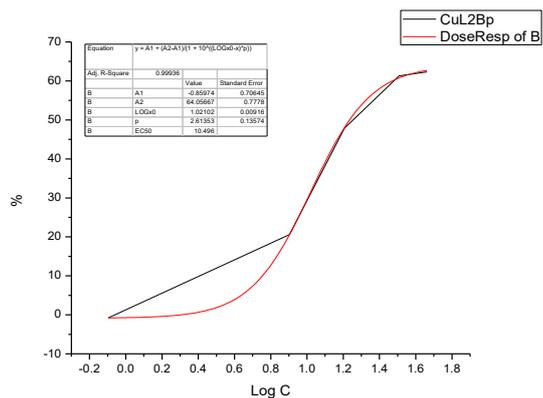


Figura IX.X Gráficas % de inhibición vs. logC de [Cu(dmbpy)(L2)]PF<sub>6</sub> en células HeLa.

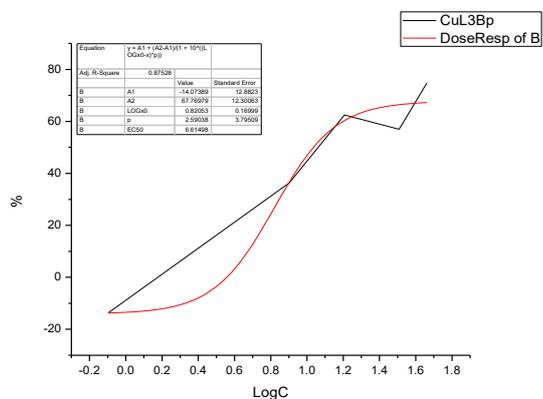


Figura IX.XI Gráficas % de inhibición vs. logC de [Cu(dmbpy)(L3)]PF<sub>6</sub> en células HeLa.

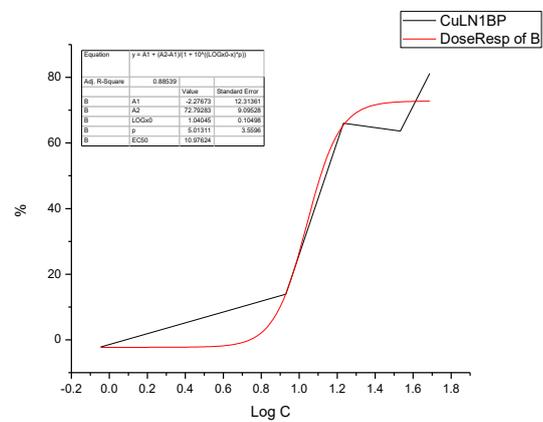


Figura IX.XII Gráficas % de inhibición vs. logC de [Cu(dmbpy)(LN1)]PF<sub>6</sub>.

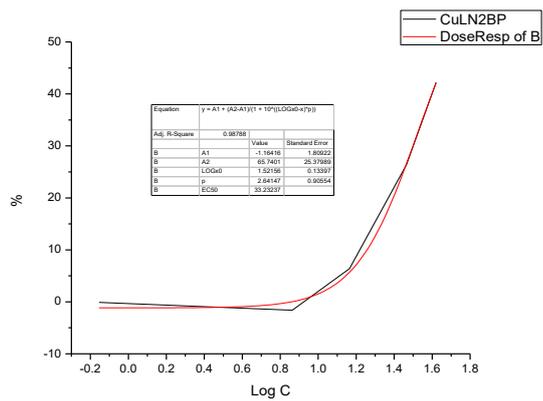


Figura IX.XIII Gráficas % de inhibición vs. logC de [Cu(dmbpy)(LN2)]PF<sub>6</sub> en células HeLa.

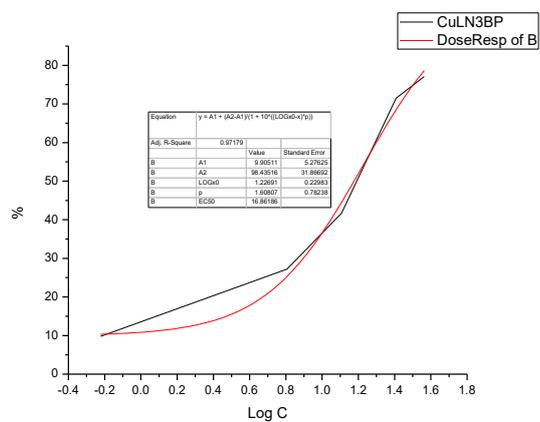


Figura IX.XIV Gráficas % de inhibición vs. logC de [Cu(dmbpy)(LN3)]PF<sub>6</sub> en células HeLa.

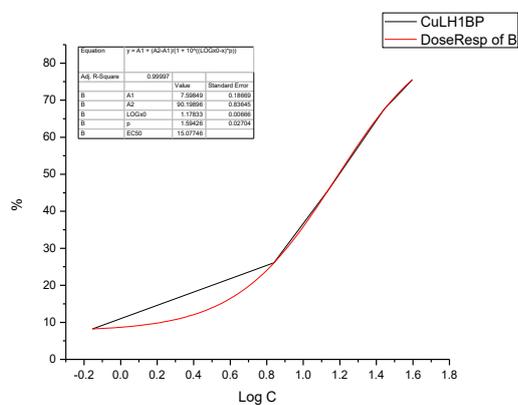


Figura IX.XV Gráficas % de inhibición vs. logC de [Cu(dmbpy)(LH1)]PF<sub>6</sub> en células HeLa.

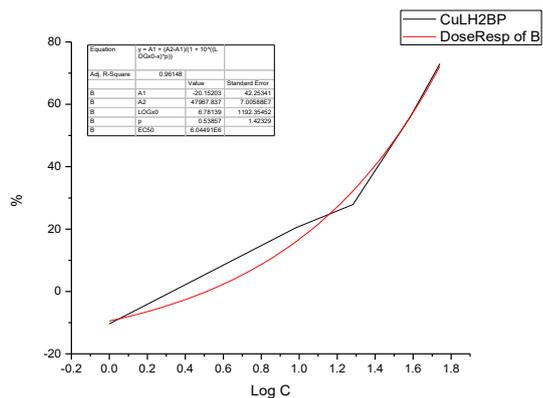


Figura IX.XVI Gráficas % de inhibición vs. logC de [Cu(dmbpy)(LH2)]PF<sub>6</sub> en células HeLa.

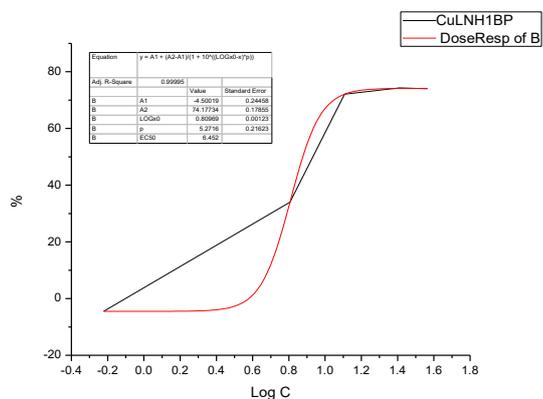


Figura IX.XVII Gráficas % de inhibición vs. logC de [Cu(dmbpy)(LNH1)]PF<sub>6</sub> en células HeLa.

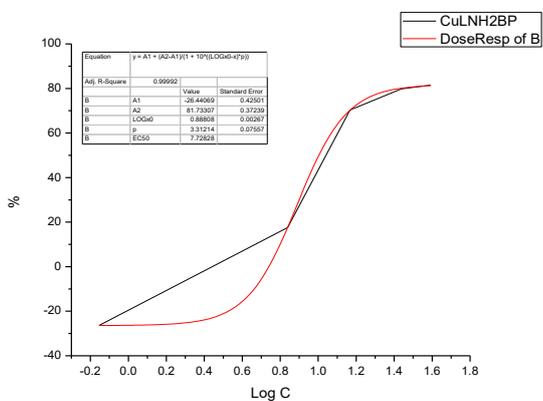


Figura IX.XVIII Gráficas % de inhibición vs. logC de [Cu(dmbpy)(LNH2)]PF<sub>6</sub>.

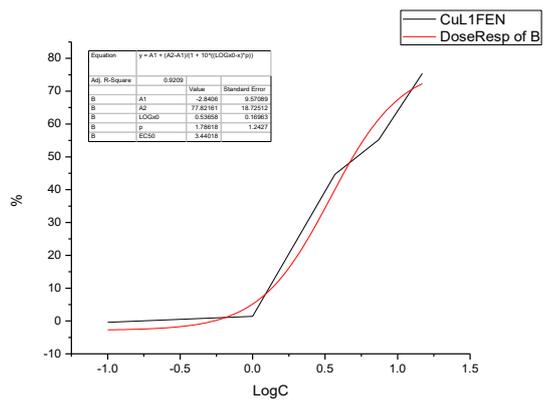


Figura IX.XIX Gráficas % de inhibición vs. logC de [Cu(phen)(L1)]PF<sub>6</sub> en células HeLa.

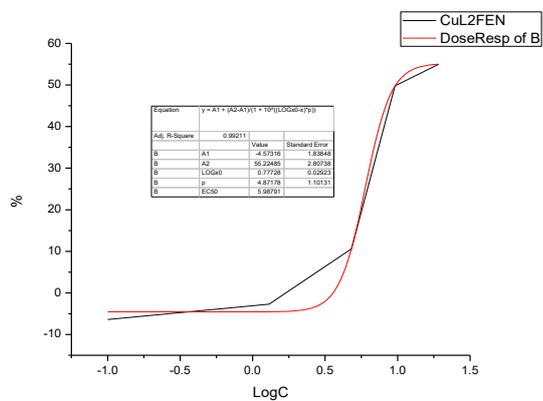


Figura IX.XX Gráficas % de inhibición vs. logC de [Cu(phen)(L2)]PF<sub>6</sub> en células HeLa.

## Anexo X. Interacciones con ADN por Espectroscopía Electrónica.

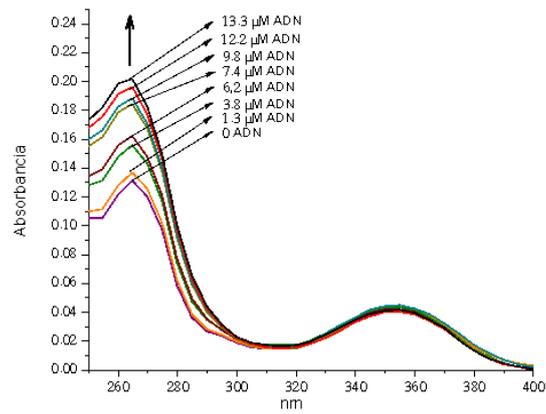


Figura X.I. Espectro de absorción de [Cu(L1)(NO<sub>3</sub>)] (11.87 μM) en ausencia y presencia de concentraciones crecientes de CT-ADN.

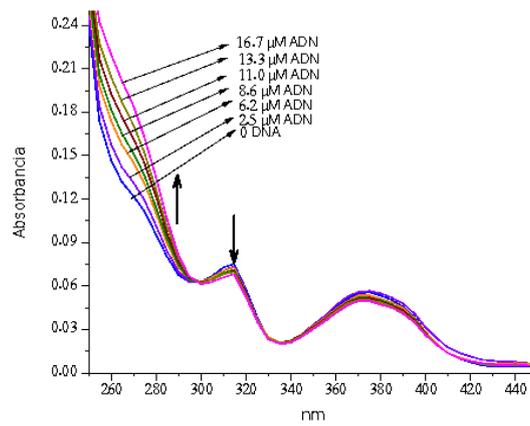


Figura X.II. Espectro de absorción de [Cu(LN1)(NO<sub>3</sub>)] (10.37 μM) en ausencia y presencia de concentraciones crecientes de CT-ADN.

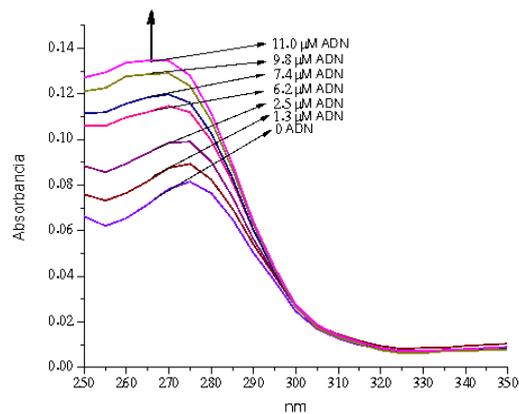


Figura X.III. Espectro de absorción de [Cu(LH1)(NO<sub>3</sub>)] (16.26 μM) en ausencia y presencia de concentraciones crecientes de CT-ADN.

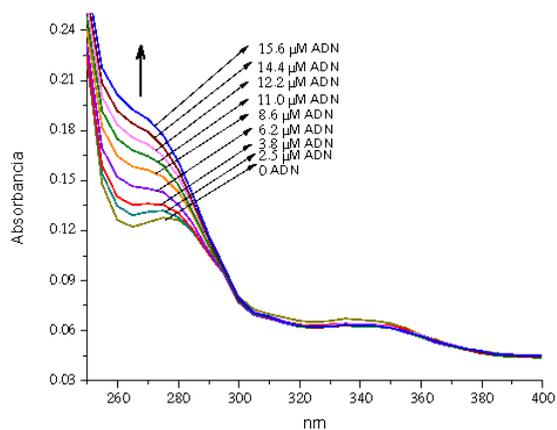


Figura X.IV. Espectro de absorción de [Cu(LNH1)(NO<sub>3</sub>)] (10.52 μM) en ausencia y presencia de concentraciones crecientes de CT-ADN.

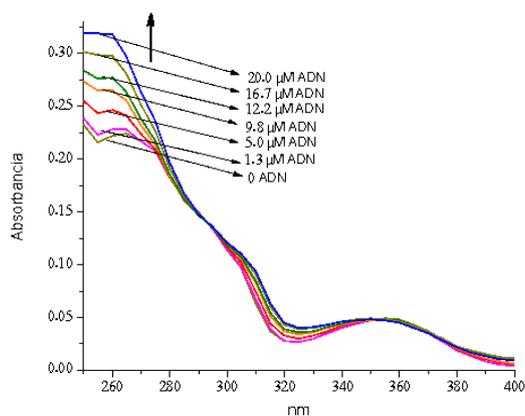


Figura X.V. Espectro de absorción de [Cu(dmbpy)(L1)]<sup>+</sup> (11.77 μM) en ausencia y presencia de concentraciones crecientes de CT-ADN.

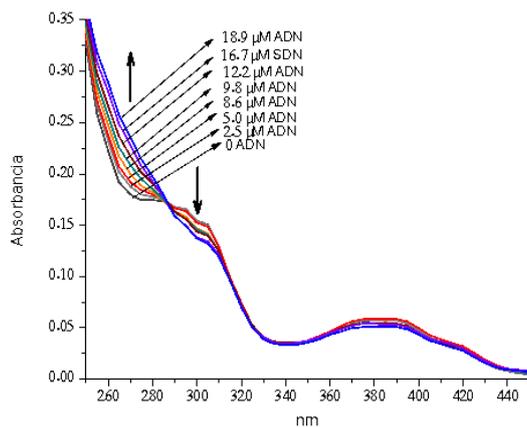


Figura X.VI. Espectro de absorción de [Cu(dmbpy)(LN1)]<sup>+</sup> (9.42 μM) en ausencia y presencia de concentraciones crecientes de CT-ADN.

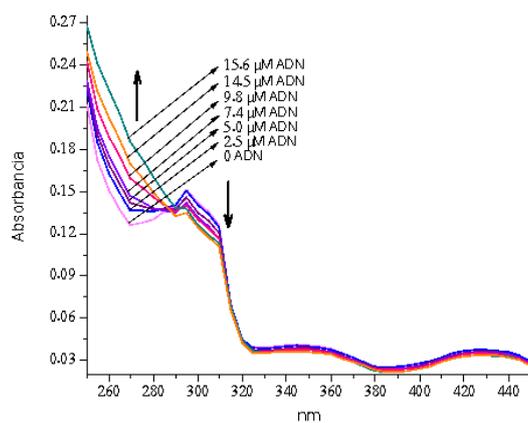


Figura X.VII. Espectro de absorción de [Cu(dmbpy)(LH1)]<sup>+</sup> (10.72 μM) en ausencia y presencia de concentraciones crecientes de CT-ADN.

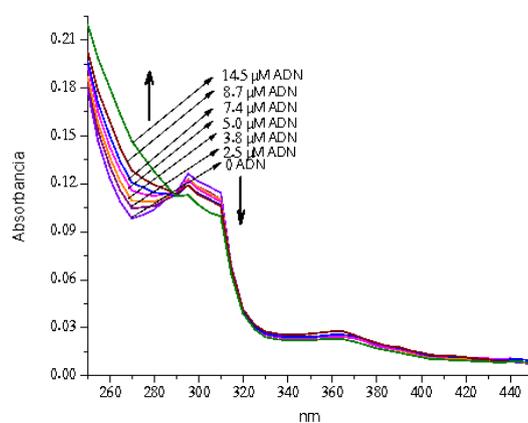


Figura X.VIII. Espectro de absorción de [Cu(dmbpy)(LNH1)]<sup>+</sup> (9.43 μM) en ausencia y presencia de concentraciones crecientes de CT-ADN.

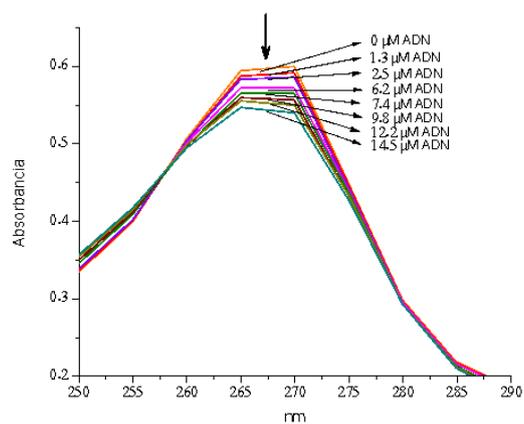


Figura X.IX. Espectro de absorción de [Cu(phen)(L1)]<sup>+</sup> (13.46 μM) en ausencia y presencia de concentraciones crecientes de CT-ADN.

## Anexo XI. Cálculos Teóricos del Logaritmo de Partición $\text{LogP}_{o/a}$ .

Tabla XI. Valores obtenidos de  $\Delta G$  en fase gas, fase acuosa y fase solvada en octanol; y cálculos del  $\text{LogP}_{o/a}$  teórico.

Clave	$\Delta G_{\text{gas}}$ (Hartrees)	$\Delta G_{\text{agua}}$ (Hartrees)	$\Delta G_{\text{octanol}}$ (Hartrees)	$\Delta G_{\text{solv-agua}}$ (Hartrees)	$\Delta G_{\text{solv-octanol}}$ (Hartrees)	$\Delta G_{\text{solv-agua}}$ (Kcal)	$\Delta G_{\text{solv-octanol}}$ (Kcal)	$\Delta G_{\text{solv-agua}} - \Delta G_{\text{solv-octanol}}$ (Kcal)	LogP
[Cu(L1)(NO <sub>3</sub> )]	-1049.3173	-1049.3703	-1049.3652	-0.0530	-0.0479	-3.33E+01	-3.01E+01	-5.0692	-3.72
[Cu(L2)(NO <sub>3</sub> )]	-1088.5660	-1088.6179	-1088.612	-0.0519	-0.0460	-3.26E+01	-2.89E+01	-5.6007	-4.11
[Cu(LN1)(NO <sub>3</sub> )]	-1202.7804	-1202.8321	-1202.8276	-0.0517	-0.0472	-3.24E+01	-2.96E+01	-4.7429	-3.48
[Cu(LN2)(NO <sub>3</sub> )]	-1242.0278	-1242.0614	-1242.0547	-0.0335	-0.0268	-2.10E+01	-1.68E+01	-6.0933	-4.47
[Cu(LH1)(NO <sub>3</sub> )]	-1050.4938	-1050.5547	-1050.5483	-0.0609	-0.0545	-3.82E+01	-3.42E+01	-5.8875	-4.32
[Cu(LH2)(NO <sub>3</sub> )]	-1089.7480	-1089.8032	-1089.7987	-0.0551	-0.0507	-3.46E+01	-3.18E+01	-4.6952	-3.44
[Cu(LNH1)(NO <sub>3</sub> )]	-1203.9532	-1204.015	-1204.0097	-0.0618	-0.0565	-3.88E+01	-3.54E+01	-5.2091	-3.82
[Cu(LNH2)(NO <sub>3</sub> )]	-1243.2053	-1243.2639	-1243.259	-0.0586	-0.0537	-3.68E+01	-3.37E+01	-5.0014	-3.67
[Cu(dmbpy)(L1)]PF <sub>6</sub>	-1342.3347	-1342.4115	-1342.4185	-0.0768	-0.0837	-4.82E+01	-5.25E+01	2.4528	1.80
[Cu(dmbpy)(L2)]PF <sub>6</sub>	-1381.5849	-1381.6618	-1381.6666	-0.0769	-0.0818	-4.83E+01	-5.13E+01	1.1689	0.86
[Cu(dmbpy)(L3)]PF <sub>6</sub>	-1381.5890	-1381.6639	-1381.6693	-0.0749	-0.0803	-4.70E+01	-5.04E+01	1.5215	1.12
[Cu(dmbpy)(LN1)]PF <sub>6</sub>	-1495.7972	-1495.8633	-1495.8556	-0.0661	-0.0584	-4.15E+01	-3.66E+01	-6.7239	-4.93
[Cu(dmbpy)(LN2)]PF <sub>6</sub>	-1535.0468	-1535.1093	-1535.1018	-0.0625	-0.0550	-3.92E+01	-3.45E+01	-6.5865	-4.83
[Cu(dmbpy)(LN3)]PF <sub>6</sub>	-1535.0504	-1535.1248	-1535.1329	-0.0745	-0.0826	-4.67E+01	-5.18E+01	3.1813	2.33
[Cu(dmbpy)(LH1)]PF <sub>6</sub>	-1343.5117	-1343.5988	-1343.6014	-0.0871	-0.0897	-5.47E+01	-5.63E+01	-0.2750	-0.20
[Cu(dmbpy)(LH2)]PF <sub>6</sub>	-1382.7600	-1382.8409	-1382.8443	-0.0809	-0.0843	-5.08E+01	-5.29E+01	0.2163	0.16
[Cu(dmbpy)(LNH1)]PF <sub>6</sub>	-1496.9706	-1497.044	-1497.0639	-0.0734	-0.0933	-4.61E+01	-5.85E+01	10.5633	7.74
[Cu(dmbpy)(LNH2)]PF <sub>6</sub>	-1536.2191	-1536.2866	-1536.3092	-0.0675	-0.0901	-4.24E+01	-5.66E+01	12.2783	9.00
[Cu(phen)(L1)]PF <sub>6</sub>	-1339.9708	-1340.0522	-1340.0557	-0.0813	-0.0849	-5.10E+01	-5.33E+01	0.3399	0.25
[Cu(phen)(L2)]PF <sub>6</sub>	-1379.2207	-1379.3008	-1379.3019	-0.0801	-0.0812	-5.03E+01	-5.10E+01	-1.2232	-0.90