

210
20j.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA

**SINTESIS Y CARACTERIZACION DE NUEVOS
COMPUESTOS DE COORDINACION CON
NOVOBIOCINA**



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

T E S I S
PARA OBTENER EL TITULO DE
Q U I M I C O
P R E S E N T A
ANA MARIA SOSA REYES

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

MEXICO, D. F.

1988



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 está 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.

CONTENIDO

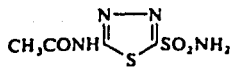
INTRODUCCION	1
1. ANTECEDENTES	
El Ligante Novobiocina	7
Acción Farmacológica	10
Importancia de los Metales en la Acción de los Fármacos.....	12
Objetivo	19
2. RESULTADOS Y DISCUSION.	
Caracterización de los Compuestos Sintetizados	20
Interpretación del Espectro de Infrarrojo de la Novobiocina	24
Interpretación del Espectro RMN ¹ H de la Novobiocina	27
Complejos de Zinc	34
Complejos de Cobre	52
Complejos de Níquel	61
Conclusiones	68
3. PARTE EXPERIMENTAL	
Reactivos y Equipo	70
Síntesis	71
Tablas de Propiedades Físicas	73
Bibliografía	79

INTRODUCCION

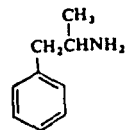
Durante mucho tiempo la química inorgánica estuvo aislada del estudio de los sistemas vivos, fue hasta hace poco que se descubrió que en una gran cantidad de procesos biológicos, se encuentran involucrados los metales y no solo eso, sino que muchos procesos dependen de la presencia de estos metales¹, un ejemplo de ello son los antibióticos, cuya acción en muchos casos, se ha explicado basándose en la formación de compuestos de coordinación metal-fármaco en el organismo; los antibióticos y otros fármacos son en su mayoría moléculas con varios átomos donadores de pares electrónicos (fig 1) y por lo tanto capaces de coordinarse con esto se explica la acción farmacológica de un gran número de medicamentos.

Existen fármacos cuyas propiedades medicinales se atribuyen a la inhibición de una metaloenzima vía quelatación del ion metálico y otros que utilizan al ion metálico como acarreador, formando complejos neutros liposolubles que son capaces de atravesar la membrana celular.¹

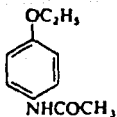
En este trabajo se estudia la reactividad del antibiótico NOVOBIOCINA con las sales de varios metales de transición y se determina la preferencia de éstos por los factibles sitios de coordinación del fármaco.



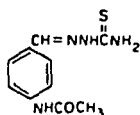
acetosolamida



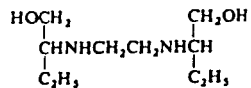
anfetamina



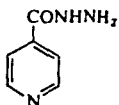
fenacetina



Tiacetazona

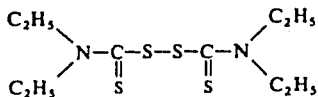


etambutol

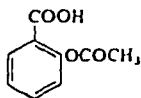


ácido isonicotínico

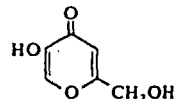
hidracida



disulfuro de tetraetiltiuram



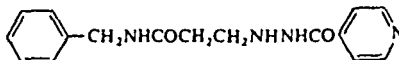
aspirina



ácido kojico



isoproniacida



nialamida

Fig.(1) Antibióticos con grupos donadores de pares electrónicos libres.

CAPITULO 1.

ANTECEDENTES

Durante decadas se han realizado estudios enfocados a justificar la acción de los fármacos en el organismo y se ha encontrado que la acción de una gran cantidad de ellos está sujeta a su interacción con iones metálicos presentes en la célula.

Por ejemplo, se ha comprobado que la BACITRACINA^{5,15,16}, antibiótico polipeptídico, requiere para actuar eficazmente de la presencia de iones metálicos divalentes como: Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} y Co^{2+} con los que forma compuestos de coordinación actuando como ligante tetradentado (fig 2)

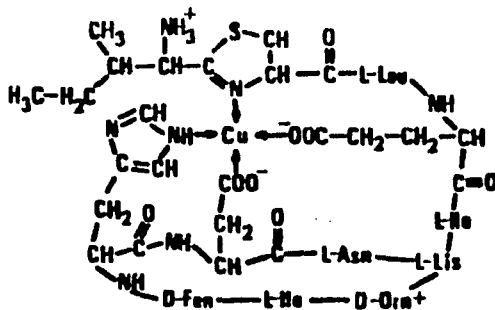


Fig. (2) Estructura propuesta para el complejo bacitracina-Cu(II).

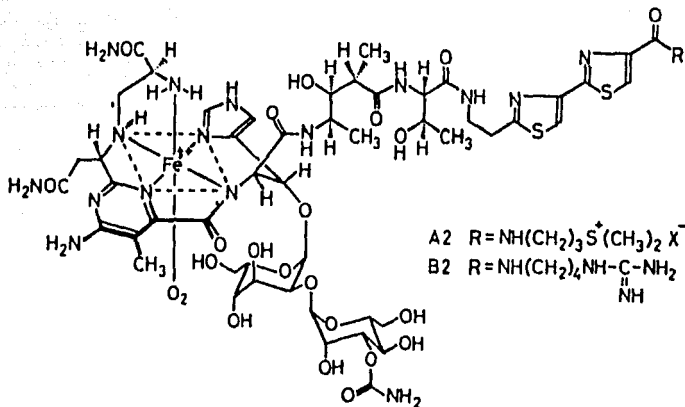


Fig. (4) Estructura propuesta para el complejo bleomicina-Fe(II).

Otro ejemplo es la 8-hidroxiquinoleína que presenta acción fungicida y antibacteriana cuando se quelata⁵ a Fe²⁺, se ha determinado que tanto el ligante como el Fe²⁺ son inactivos cuando se encuentran separados (fig 5).

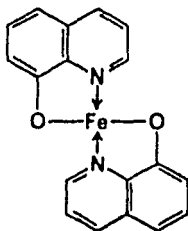


Fig. (5) Complejo ferroso de hidróxiquinoleína⁵

El ACIDO NALIDIXICO, el OKOLINICO y la CINOXACINA son otro ejemplo de antibióticos que al parecer requieren de la interacción con ciertos iones metálicos para poder actuar, se ha reportado³ el estudio de los compuestos del ácido nalidixico con iones de la serie Cr-Zn y también con Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} y Pd^{2+} encontrándose que iones metálicos se unen a través del grupo carboxilato como quelato o como puente, este tipo de fármacos es de especial interés para nuestra investigación ya que al igual que la novobiocina, el ácido nalidixico (fig 6) y sus análogos parece ser que actúan inhibiendo la enzima ADN-girasa.

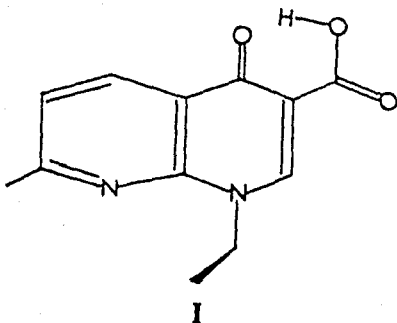


Fig. (6) Acido nalidixico.

EL LIGANTE NOVOBIOCINA

La novobiocina es un antibiótico glucosídico elaborado por *Streptomyces Niveus* que se aisló por vez primera de caldos de fermentación en 1955 por E.A Kaczka¹⁰. Debido a su interesante acción bacteriológica y eficacia clínica las propiedades estructurales de la molécula despertaron gran interés en ese tiempo, su composición $C_{21}H_{36}N_2O_{11}$ y su estructura fueron reportadas en 1957 por J.W Hinman, Caron y Hoeksema¹³.

La estructura de la novobiocina (fig 7) sugiere que la molécula puede actuar como ligante polidentado y como quelato ya que tiene varios átomos donadores.

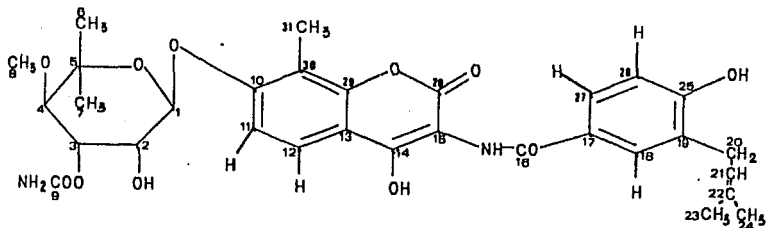


Fig. (7) Estructura de la novobiocina.

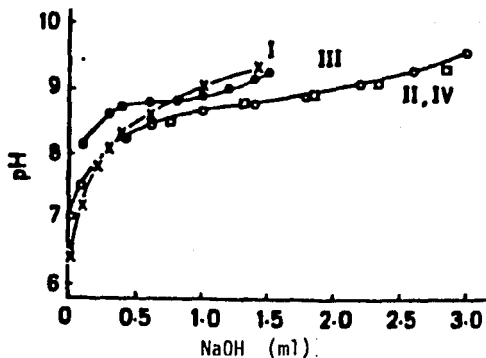
La acción farmacológica e incluso el mecanismo de acción de este fármaco podrían explicarse a través de sus propiedades como quelato; sin embargo, desde 1960 sólo existe reportado un trabajo¹⁴ sobre interacción de antibióticos y metales que incluye a la novobiocina, donde se cuantifica la tendencia de varios antibióticos a formar complejos con cationes divalentes aprovechando el desplazamiento de un protón por el catión, el método de cuantificación consiste en hacer tres curvas de titulación potenciométricas (fig 8), una curva para el ligante puro, una para la sal metálica pura y otra para una mezcla (1:1) ligante-sal, si no hay formación de complejo la curva de la mezcla sigue a las curvas de los compuestos puros, en cambio cuando si hay coordinación la curva de la mezcla se desplaza a valores de pH más bajos. Utilizando este método se probó la tendencia de la novobiocina, además de otros antibióticos a coordinarse con los iones Cu^{2+} , Ca^{2+} , Co^{2+} , Mg^{2+} , Ni^{2+} y Zn^{2+} los resultados de esta prueba son los siguientes:

CLORAMFENICOL no hay formación de complejos
 $(\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_5)$

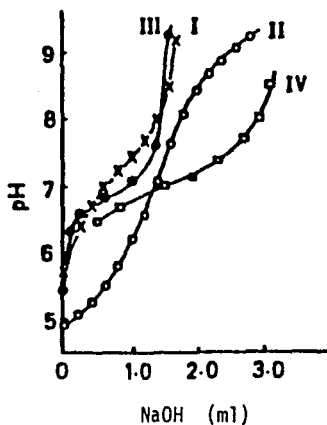
CICLOSERINA Formación de complejos con Cu^{2+} y Ni^{2+}
 $(\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2)$ y sólo debilmente con Co^{2+} y Zn^{2+}

ERITROMICINA sólo debilmente con Co^{2+}
 $(\text{C}_{27}\text{H}_{47}\text{NO}_{13})$

NOVOBIOCINA SODICA sólo debilmente con Cu^{2+}
 $(\text{C}_{31}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_{11})$



Titulación potenciométrica de $\bullet\bullet\bullet$ Co^{2+} , $\times\times\times$ de Nov.Na, $\text{---}\square\square\square\text{---}$ Nov.Na + Co^{2+} y la suma de las curvas I y III $\text{---}\square\square\text{---}$. La curva indica que no hay formación de complejo.



Titulación de $\times\times\times$ cicloserina, $\text{---}\square\square\square\text{---}$ cicloserina + Cu^{2+} , $\bullet\bullet\bullet$ titulación de Cu^{2+} y la suma de las curvas I y III. $\text{---}\square\square\text{---}$. La curva indica que si hay formación de complejo.

Fig.(8)

Respecto a sitios y número de coordinación, estereoquímica, etc. no hay nada reportado. Los trabajos sobre novobiocina a partir de esta época, en su mayoría, se enfocan esencialmente a su acción farmacológica y sus aspectos bioquímicos.

ACCION FARMACOLOGICA DE LA NOVOBIOCINA

El superenrollamiento negativo del ADN en bacterias es una etapa esencial en el proceso de replicación, transcripción y recombinación genética del ADN², este proceso es controlado por un tipo de enzimas denominadas topoisomerasas⁴.

La ADN-girasa es una topoisomerasa que cataliza la conversión de la doble hélice del ADN relajado a su forma superhelicoidal (enrollamiento de la doble hélice sobre su propio eje), ya que el producto superenrollado tiene una energía libre mayor que el ADN original, la reacción requiere de energía, la cual es proporcionada por la hidrólisis del ATP en ADP y Pi. Además de ATP, la reacción requiere de un catión divalente Mg^{2+}

El proceso de superenrollamiento (fig 9) es un ciclo en el que:

- 1) la girasa (E) se une a la doble hélice del ADN cerrado C
- 2) i. un ATP se une al complejo E-ADN provocando un cambio en la estructura de la enzima (E \rightarrow E')
- ii. se lleva a cabo el rompimiento y unión de la hélice
- iii. se realiza el superenrollamiento $\text{C} \rightarrow \text{C}'$
- 3) se hidroliza un ATP que "paga" la energía gastada en el superenrollamiento del ADN que se separa
- 4) se libera ADP y la enzima regresa a su forma original para volver a actuar.

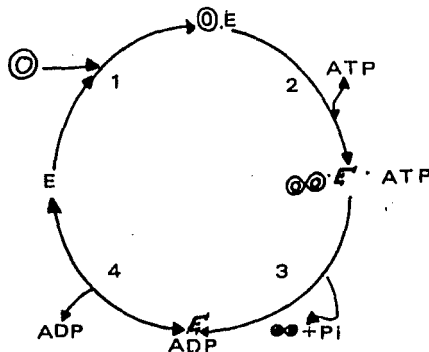


Fig. (9) Ciclo del superenrollamiento del ADN.

La ADN-girasa está formada por dos proteínas diferentes, la subunidad A y la B cada una de las cuales es blanco específico de una familia de antibióticos⁷, la del ácido nalidíxico y el oxolinico que actúan sobre la primera y la novobiocina que afecta la actividad de la subunidad B inhibiendo competitivamente la unión del ATP al complejo E-ADN evitando así la replicación del ADN.

IMPORTANCIA DE LOS METALES EN LA ACCION DE LOS FARMACOS.

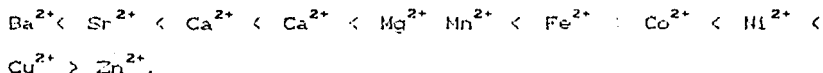
Una gran cantidad de moléculas con propiedades ligantes, principalmente quelatos, se han utilizado como fungicidas, bactericidas, antidotos, etc. vía la alteración del balance de iones metálicos en la célula.

La presencia de metales de transición, en trazas, resulta indispensable en todos los sistemas vivos⁸, los que se encuentran en la célula son : Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Mo^{2+} , Zn^{2+} y en menores cantidades Cr^{3+} , V^{2+} , Ni^{2+} y Sn^{2+} , éstos son introducidos a la célula como cationes⁵ y su concentración está estrictamente regulada por ciertas proteínas y hormonas ya que la mayoría de ellos son tóxicos cuando se encuentran en mayores concentraciones.

El más ligero aumento o disminución de la concentración normal de los iones metálicos provoca alteraciones y enfermedades en el organismo, es por ésto que es tan importante y compleja la relación entre los iones metálicos presentes en la célula y las moléculas que poseen átomos capaces de coordinarse, como muchos antibióticos.

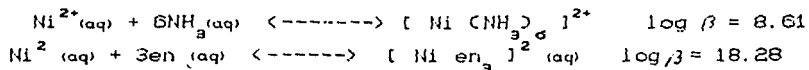
La efectividad de estas sustancias se debe a que su acción es sumamente selectiva, pues existen varios factores que favorecen la formación de un complejo específico, el cual, será necesariamente el más estable cinética y termodinámicamente.

La estabilidad de un complejo determinado puede predecirse aproximadamente, considerando varias tendencias encontradas en el comportamiento de los complejos, un ejemplo es la serie de estabilidad de Irving-Williams¹⁶ la cual establece que para un ligante dado, la estabilidad de los complejos con iones metálicos dipositivos lleva el siguiente orden:



Este orden proviene, por una parte, de un decremento en el tamaño que se presenta a través de la serie de transición y, por otra, debido a efectos del campo de los ligantes.

Es conocido que la formación de anillos quelato, a través de átomos donadores, en los complejos aumenta en gran medida su estabilidad, por ejemplo, al comparar las constantes de equilibrio de dos sistemas muy similares, cuando solo uno de ellos es capaz de formar anillos quelato, se observa que la estabilidad del sistema complejo aumenta en gran medida con el efecto quelato :



el sistema $[\text{Ni}(\text{en})_3]^{2+}$ donde se forman tres anillos quelato es casi 10^{10} veces más estable que cuando no se forman anillos.

Al aumentar el número de anillos quelato formados¹⁷ la constante de estabilidad del complejo también aumenta, por ejemplo para el sistema de la fig. 10 se observa una constante de estabilidad muy grande.

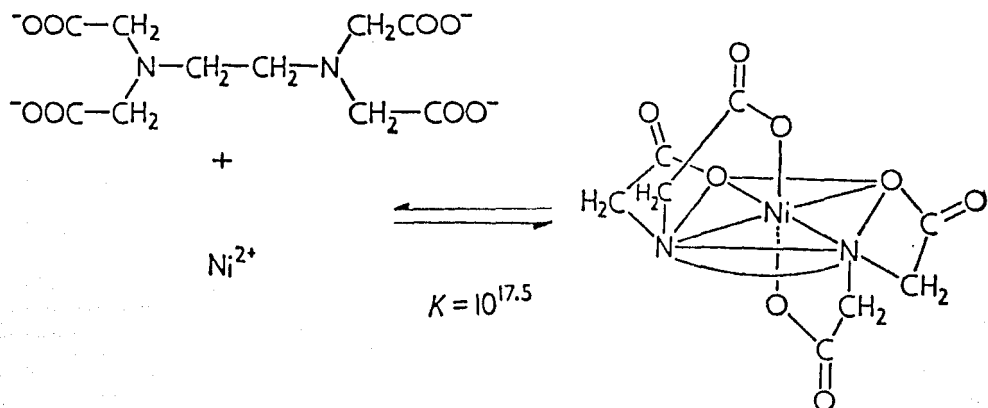


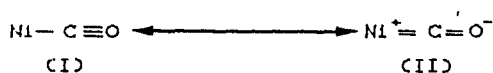
Fig. (10) Formación del complejo [Ni EDTA]²⁻.

La quelatación a través de un átomo de oxígeno o uno de nitrógeno del ligante, sólo se lleva a cabo, cuando pueden formarse anillos de cinco o seis miembros y de éstos, los primeros son más estables. Se conocen muy pocos compuestos con anillos quelato de siete miembros y practicamente ninguno con anillos mayores.

Existen otros factores útiles para predecir cualitativamente la estabilidad de los compuestos de coordinación en general:

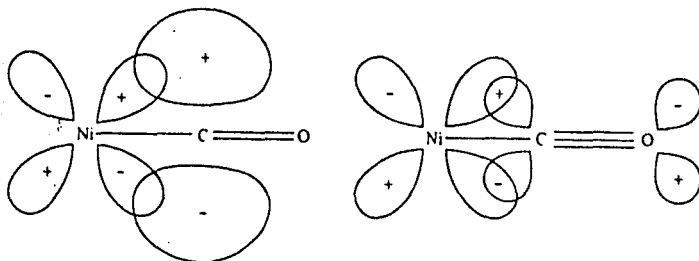
LA ELECTRONEGATIVIDAD DEL LIGANTE.. La suposición de la teoría de enlace-valencia sobre la donación de electrones del ligante al ion metálico lleva a considerar la generación de una carga negativa formal en el metal, de acuerdo al principio de electroneutralidad, los complejos serán más estables cuando la electronegatividad del ligante sea lo suficientemente grande para que el metal alcance una condición esencialmente neutra.

LA RETRODONACION. Cuando se coordina un átomo metálico de bajo estado de oxidación a un ligante de baja electronegatividad, como los carbonilos, los enlaces σ formados por la donación de electrones aumentan la densidad electrónica alrededor del metal, estos complejos no podrían ser estables si el metal no tuviera otra forma de abatir su densidad electrónica. Pauling señaló que dicho mecanismo para la deslocalización de la densidad electrónica del metal se podría encontrar en la "retrodonación" o resonancia del doble enlace parcial:



A medida que la formación canónica (II) contribuya a la formación del híbrido de resonancia, la densidad electrónica será transferida del átomo de níquel al átomo de oxígeno. Un examen más exacto de este proceso indica que la deslocalización de la

densidad electrónica, sucede mediante el traslape de los orbitales "d" del metal con los orbitales del ligante de baja electronegatividad, la teoría del enlace de valencia requeriría del empleo de uno de los orbitales "p" en el átomo de carbono, en tanto que la teoría de los orbitales moleculares se postularía en términos del traslape del orbital "d" del metal con el orbital π^* del monóxido de carbono.



Efecto del enlace pi metal-ligante respecto al aumento en el orden del enlace en Ni—C y al abatimiento en el orden del enlace C—O.

En cualquiera de los dos modelos la densidad electrónica se transfiere mediante la formación de un enlace π del átomo metálico al grupo carbonilo, y se reduce el orden de enlace C—O.

El metal ya en estado de oxidación bajo, no puede tornarse demasiado negativo.

LA CLASIFICACION DEL METAL Y DEL LIGANTE COMO ACIDO Y BASE DURO O BLANDO. Las especies duras, tanto ácidos como bases, tienden a ser especies pequeñas, ligeramente polarizables en tanto que los ácidos y las bases blandos suelen ser más grandes y más polarizables, en base a estas características se han clasificado una gran cantidad de especies:

ACIDOS DUROS

H^+ , Li^+ , Na^+ , K^+ , Be^{2+} ,
 Mg^{2+} , Ca^{2+} , Al^{3+} , AlH_3 ,
 CO_2 , NC^+ , SO_3

BASES DURAS

NH_3 , RNH_2 , H_2O , OH^-
 O^{2-} , ROH , RO^- , R_2O
 CH_3COO^-

ACIDOS BLANDOS

Pd^{2+} , Pt^{2+} , Cu^{2+} , Ag^+ , Au^+ ,
 Cd^{2+} , Hg^+ , CH_2Br_2 , I_2 , O_2 ,
 Cl , Br , I , N , RO , RO_2

BASES BLANDAS

H^- , R^- , C_2H_4 , C_6H_6
 CN^- , CO , P_2S_5 , $S_2O_8^{2-}$

COMPORTAMIENTO INTERMEDIO

ACIDOS

Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} ,
 Cu^{2+} , Zn^{2+} , $C_6H_5^+$,
 Pb , NO , SO

BASES

$C_6H_5NH_2$, C_5H_5N , N_3^- ,
 N_2 , NO_2^- , SO_3^{2-} , Br^-

Pearson propuso una regla empírica para predecir la estabilidad de los complejos:

"los ácidos duros prefieren unirse a las bases duras, en tanto que los ácidos blandos a las bases blandas".

Tomando en cuenta todos los factores mencionados anteriormente puede predecirse aproximadamente el sitio o los sitios de coordinación que serán preferidos por un metal al coordinarse a una molécula con varios átomos donadores de pares electrónicos, lo cual es precisamente el objetivo fundamental de este trabajo.

EL OBJETIVO DE ESTE TRABAJO ES:

Sintetizar y caracterizar compuestos de coordinación con diferentes iones metálicos usando como ligante al antibiótico NOVOBIOCINA con el fin de establecer la preferencia de éstos por los diferentes sitios donadores de la molécula.

CAPITULO 2.

RESULTADOS Y DISCUSION.

CARACTERIZACION DE LOS COMPUESTOS SINTETIZADOS.

Los diferentes compuestos sintetizados se caracterizaron mediante el uso de análisis convencionales y la comparación de sus espectros de IR y RMN¹H con los correspondientes al ligante puro.

Los compuestos se sintetizaron mediante dos técnicas diferentes que se especifican en la parte experimental al igual que las propiedades físicas y los análisis elementales de cada compuesto.

Inicialmente se sintetizaron los compuestos de cada metal usando la primera técnica, es decir, mezclando una solución de novobiocina en etanol con el acetato del metal disuelto también en etanol. cada reacción se llevó a cabo a dos temperaturas distintas a temperatura ambiente y a reflujo.

Ya que la novobiocina posee varios átomos capaces de donar pares electrónicos se consideró interesante determinar si podía coordinarse más de un átomo metálico a la novobiocina. para lo cual, se realizaron las reacciones comparativamente usando dos relaciones estequiométricas diferentes 1:1 y 1:5 (Nov.: sal metálica).

Así para cada metal se realizaron cuatro reacciones con esta primera técnica: dos a temperatura ambiente, una con relación estequiométrica 1:1 y la otra 1:5 y dos reacciones a reflujo también en relaciones 1:1 y 1:5.

Al caracterizar los compuestos sintetizados con esta técnica se determinó que independientemente de las condiciones de reacción aparentemente se favorece, en todos los casos, la formación de un solo compuesto, excepto para la reacción de novobiocina y acetato de zinc en etanol con relación estequiométrica 1:5 donde se obtienen dos compuestos que se caracterizan posteriormente.

Considerando estos resultados, las demás reacciones se realizaron a temperatura ambiente y relación estequiométrica 1:1. Además de sales de acetato se utilizaron cloruros con el fin de determinar la influencia del anión de la sal utilizada. Para simplificar el manejo de los datos a cada compuesto se le asignó una clave de acuerdo a los diagrama de la figura 14.

1a TECNICA
Novobiocina en EtOH
+ sal MX_2 en EtOH
(Donde $M = Zn^{2+}, Cu^{2+}$ o Ni^{2+} y $X = Cl^-$ o AcO^-)

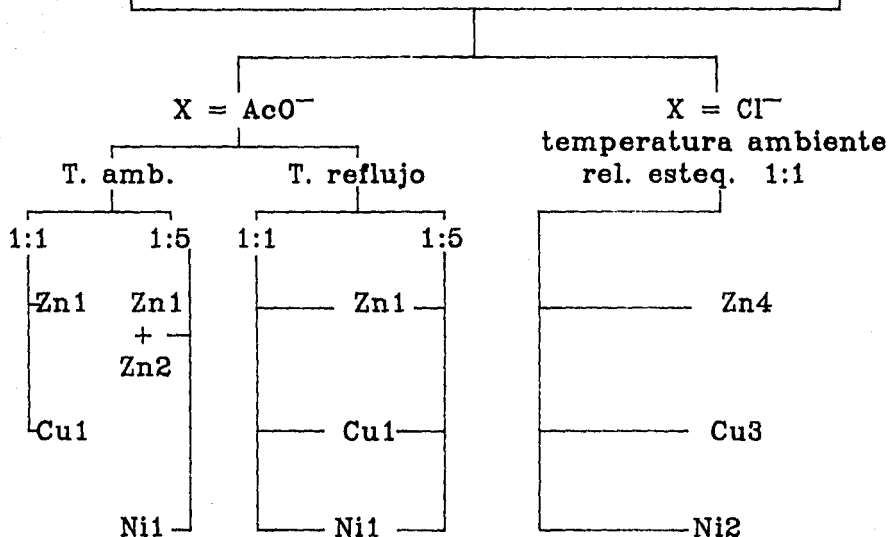


Fig. (14.1) Compuestos sintetizados usando la técnica # 1 .

2a TECNICA
Novobiocina en EtOH
+ sal MX_2 en agua
(Donde $M = Zn^{+2}, Cu^{+2}$ o Ni^{+2} ; y $X = Cl^-$ o AcO^-)

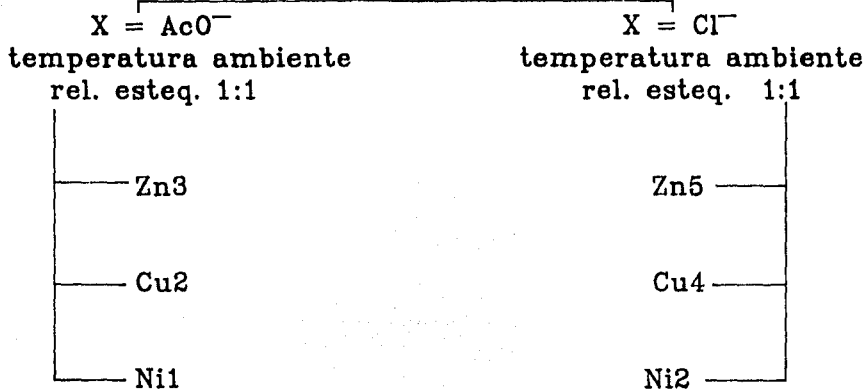


Fig. (14.2) Compuestos sintetizados usando la técnica # 2 .

INTERPRETACION DEL ESPECTRO DE INFRARROJO DE NOVIOBIOCINA.

Como se ha mencionado la novobiocina posee varios grupos donadores de pares electrónicos que pueden actuar como sitios de coordinación. paralelamente algunos de estos grupos presentan señales características en la región del infrarrojo (fig. 11) como los carbonilos, las aminas y los alcoholes. La coordinación de un ion metálico a la molécula ocasiona modificaciones en el desplazamiento de las señales de los grupos que se coordinan²⁴, esto resulta de utilidad ya que indica el sitio o los sitios de coordinación más probables en la novobiocina.

La señal ancha e intensa que se observa en 3400 cm^{-1} coincide con las características de las vibraciones de tensión de los enlaces O-H y a la de formación de enlaces de hidrógeno intermoleculares por lo que se asignó a los grupos O-H de la molécula lo cual concuerda con la asignación de la señal en 1330 cm^{-1} a la vibración de flexión del O-H.

Las amidas, una primaria y la otra secundaria generan a su vez dos señales entre 3310 y 3350 cm^{-1} debidas a la vibración de tensión simétrica y asimétrica del N-H libre que no se observan pues quedan enmascaradas por la del O-H, esto puede deberse a la menor tendencia del N-H a formar enlaces de hidrógeno comparativamente con el O-H.

Las dos señales de poca intensidad en 2860 y 2930 cm^{-1} pueden corresponder a las vibraciones de tensión asimétrica y simétrica del enlace C-H de grupos como $-\text{CH}_2$ y $-\text{CH}_3$.

La señal intensa que se observa en 1720 cm^{-1} podría asignarse al carbonilo de la lactona¹⁹, ya que coincide con las frecuencias reportadas²⁰ para este tipo de grupos, en la región entre 1500 y 1680 cm^{-1} se observan dos señales que podrían corresponder a la tensión del carbonilo y a las absorciones de deformación o flexión del N-H; en esta misma zona aparecen las señales de los grupos aromáticos alrededor de 1600 cm^{-1} y las de los dobles enlaces presentes en la molécula. Las señales en 1090 y 1270 cm^{-1} coinciden con las reportadas para las vibraciones simétrica y asimétrica del grupo $-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$.

No se hacen asignaciones definitivas entre 1500 y 1800 cm^{-1} ya que se trata de una molécula con varios grupos que absorben en esta zona y sus señales características pueden estar sobrepuestas²⁶ o enmascaradas.

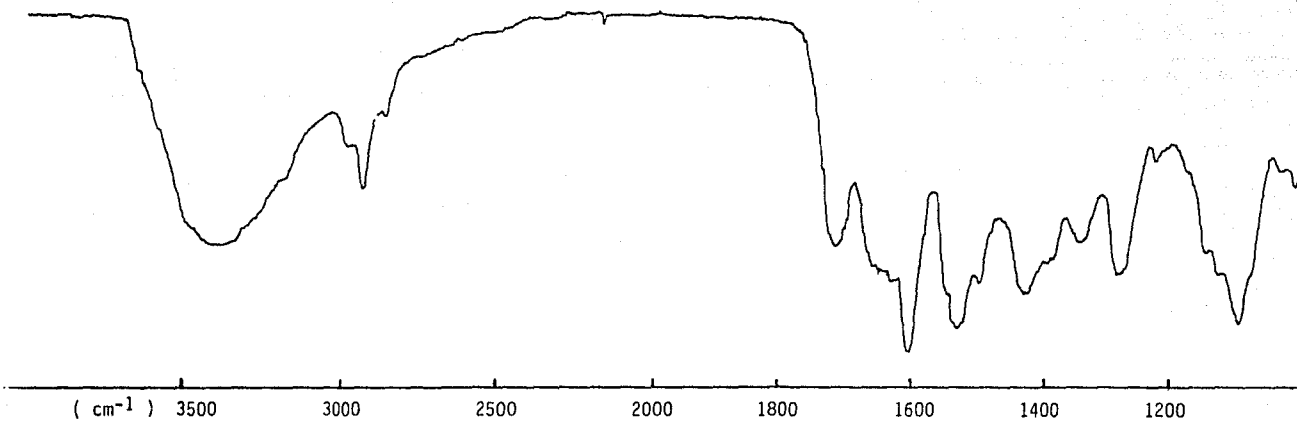


Fig.(11) Espectro de IR en pastilla de KBr del ligante NOVOBIOCINA.

INTERPRETACION DEL ESPECTRO DE RMN¹H DE LA NOVOBIOCINA

La información obtenida de los espectros²⁴ de RMN¹H usando DMSO como disolvente y TMS como referencia, resultó muy útil para la caracterización de algunos de los compuestos sintetizados ya que al comparar el espectro del ligante puro con el de cada complejo se observó el desplazamiento y la aparición de algunas señales lo cual, se propone, es causado por la interacción del ion metálico con el grupo correspondiente a la señal desplazada y por la entrada de nuevos grupos que podrían estar completando la esfera de coordinación, respectivamente.

RMN¹H DEL LIGANTE PURO.

En el espectro de RMN¹H el ligante puro (fig. 12, tabla 1) se observan primeramente en la región de alto campo dos singuletes en 1.1 y 1.3 ppm. que integran para tres hidrógenos cada uno y que corresponden a los dos metilos del C-5 de la glucopiranososa, los cuales no son equivalentes ya que tienen ambientes electrónicos diferentes en sus posiciones axial y ecuatorial¹⁹. El singulete que se observa en 1.7 ppm integra para los seis hidrógenos equivalentes que corresponden a los dos metilos vinílicos.

En 2.1 ppm un singulete que integra para tres hidrógenos corresponde al metilo unido al anillo aromático central.

En 3.3 ppm se observa una señal muy ancha que se genera cuando el DMSO no está totalmente deuterado y sus protones residuales interactúan con moléculas de agua²⁰. Para poder observar la zona cubierta por esta señal se corrió el espectro en D₂O, observándose aquí dos señales : un singulete en 3.5 ppm que integra para tres hidrógenos correspondiente al metoxi del C-4 en la glucopiranososa y un doblete en 3.2 ppm para dos hidrógenos que se asignan al -CH₂- que une al anillo aromático con el grupo vinilo. En esta misma zona, usando acetona-d₆ como disolvente, se observa una señal que desaparece con agua deuterada y que puede corresponder a la amida secundaria.

Los cuatro hidrógenos restantes de la glucopiranososa generan dos señales: una en 4.05 ppm correspondiente al hidrógeno en posición trans al hidroxilo del C-4 y un multiplete en 5.1 ppm que integra para los cuatro hidrógenos de los carbonos 3,4 y 1, éste último, genera la señal a más bajo campo del multiplete por su cercanía al grupo cetil, el cuarto hidrógeno del multiplete corresponde al hidrógeno vinílico. En 6.6 ppm se observa un singulete ancho, característico de las aminas, que integra para dos hidrógenos y desaparece con D₂O, el cual se asigna a la amida primaria unida al C-3 de la glucopiranososa.

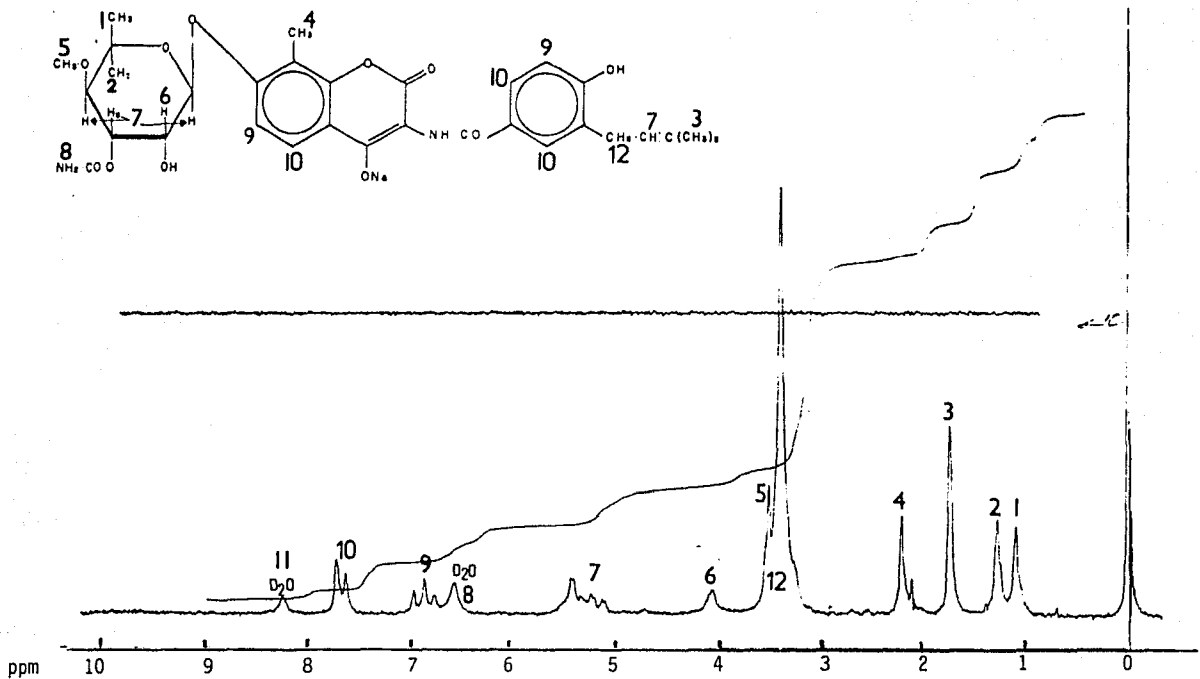


Fig.(12) Espectro de RMN^1H en DMSO del ligante NOVIOICINA.
 (D_2O = desaparece con agua deuterada)

En la región comprendida entre 6 y 9 ppm generalmente aparecen las señales de hidrógenos aromáticos (fig.13), esta región resulta de gran valor para nuestra investigación ya que como se discutirá posteriormente en varios espectros, estas señales sufren desplazamientos que, se propone, son efecto de la coordinación de iones metálicos cerca de estos grupos. Un triplete en 8.9 ppm por la sobreposición de dos dobletes que integran para un hidrógeno cada uno y que después de calcular los desplazamientos²⁰, se asignan: uno al hidrógeno en posición orto al grupo fenol y el otro al hidrógeno en meta al metilbenceno. En 7.7 ppm se genera un doblete asimétrico para tres hidrógenos por la sobreposición de tres señales:

- i) un doblete para el hidrógeno en posición para al grupo metilbenceno
- ii) un doblete del hidrógeno en meta al grupo fenol, que coincide con el doblete anterior
- iii) un singulete del hidrógeno en meta al grupo fenol que no tiene protones vecinos

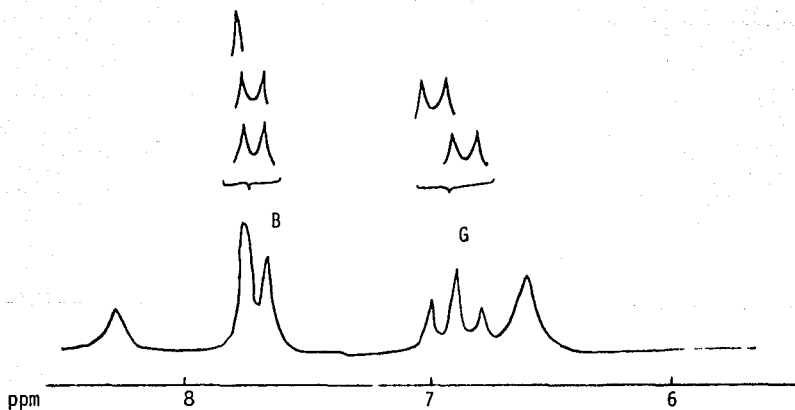
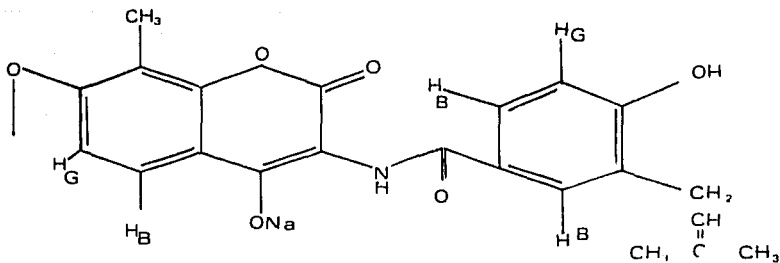


Fig. (13) Asignación de los hidrógenos aromáticos en el espectro RMN'H de la novobiocina, donde B es la sobreposición de un singulete y dos dobletes y G es la sobreposición de dos dobletes.

**ASIGNACIONES PARA EL ESPECTRO RMN'H DE NOVOBIOCINA
(disolvente DMSO)**

DESPLAZAMIENTO (ppm)	INTEGRACION	MULTIPLICIDAD	ASIGNACION
1.1	3	singulete	CH -C1 gluc.
1.3	3	singulete	CH -C1 gluc.
1.7	6	singulete	(CH) -C=
2.1	3	singulete	CH -Ar
3.3	~		interacción DMSO - H O
3.5	3	singulete	CH O-C2 gluc.
4.05	1	multiplete	H-C4 gluc.
5.1 - 5.5	4	multiplete	C3, C4 Y C6 gluc. + CH=C
6.6	2	singulete	NH COO-
6.9	2	2 dobl. > triplete	Ar
7.7	3	2 dobl. 1 sing. doblete asimet.	Ar
8.3	1	singulete	HO-Ar ó R-OH

Finalmente se observa en 8.3 ppm una señal ancha que puede asignarse tanto al OH⁻ del C-4 de la glucopiranososa como al grupo fenol. esta asignación se discute posteriormente. A más bajo campo, después de 10 ppm ya no se observa ninguna señal.

Así, dependiendo de la asignación a la señal en 8.3 ppm queda un hidrógeno sin asignación, ya sea el del alcohol de la glucopiranososa o el del fenol, cuya señal no se observa en el espectro.

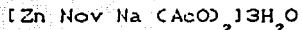
Quando se concluyó este trabajo apareció un artículo ²² donde se reporta la interpretación de los espectros de ¹³C, NOE y ¹H de la novobiocina, nuestra asignación para el espectro de RMN¹H coincide perfectamente con la reportada.

COMPLEJOS DE ZINC.

De las reacciones realizadas con novobiocina y sales de zinc obtuvimos cinco compuestos blancos aparentemente distintos entre si, Zn1 y Zn2 de la reacción de acetato de zinc con novobiocina en la primera técnica, Zn3 de la segunda técnica Zn4 y Zn5 de la reacción con novobiocina y cloruro de zinc de la primera y segunda técnica respectivamente.

La información obtenida de los espectros de infrarrojo no fue muy útil para caracterizar estos compuestos ya que los espectros son complejos y solo hay pequeños desplazamientos que difícilmente pueden relacionarse con modificaciones específicas en la molécula. Comparativamente los espectros de resonancia magnética nuclear fueron la herramienta mas útil para realizar la caracterización pues por tratarse de un metal diamagnético se obtienen espectros bien resueltos.

Caracterización de ZnI



El compuesto obtenido de la reacción entre novobiocina y acetato de zinc (1:1) en etanol denominado ZnI es de color blanco y a partir de su análisis elemental se propone la siguiente fórmula mínima: $[\text{Zn NovNa} (\text{AcO})_2] 3\text{H}_2\text{O}$.

El espectro de RMN^1H (fig. 15) de ZnI conserva todas las señales que aparecen en el espectro del ligante con lo cual podemos suponer que la molécula de novobiocina permanece completa después de reaccionar.

Además de las señales del ligante observamos la aparición de un nuevo singulete en 1.8 ppm que integra para seis protones y que de acuerdo a la fórmula propuesta corresponden a los acetatos. La mayoría de las señales conservan sus desplazamientos químicos, excepto el singulete a más bajo campo que desaparece al intercambiarse con agua deuterada, éste se desplaza de 8.3 a 8.5 ppm, posiblemente por la formación de puentes de hidrógeno²⁰.

Otra diferencia observada respecto al ligante es la multiplicidad del triplete en 6.9 ppm, asignado a la sobreposición de dos dobletes correspondientes a dos hidrógenos aromáticos, el pico central de esta señal se dobletea ligeramente como si uno de los dobletes se desplazara.

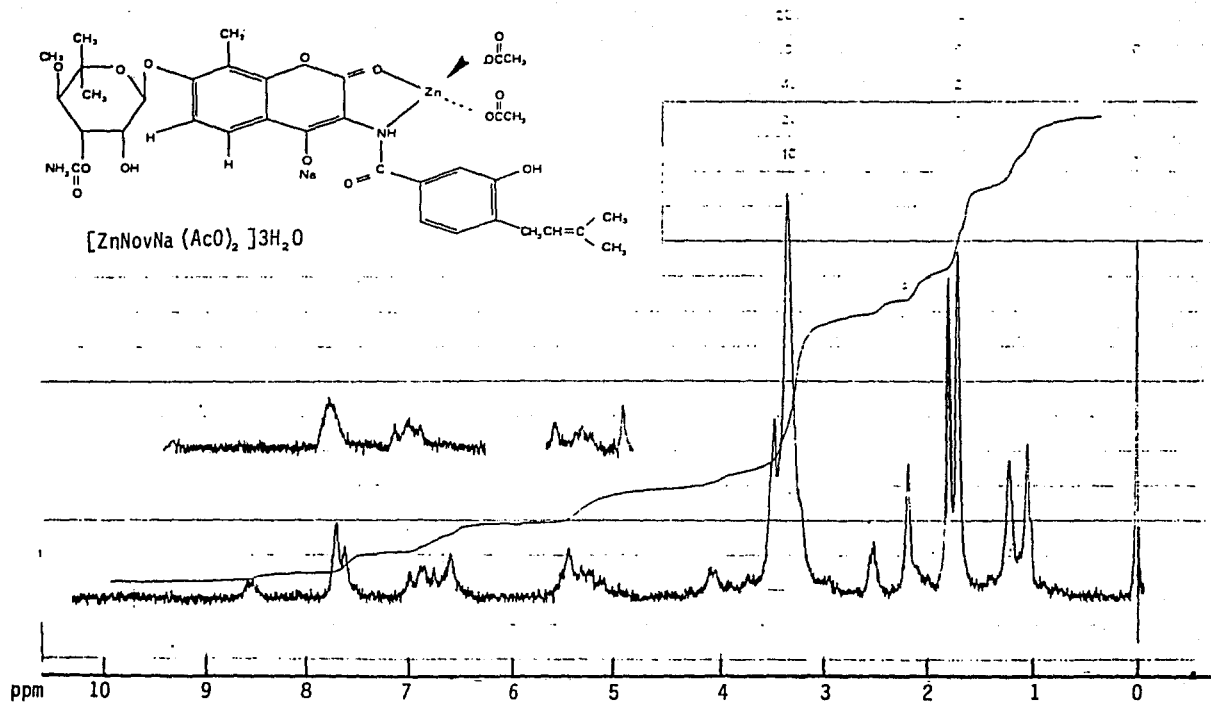


Fig.(15) Espectro de RMN^1H en DMSO del compuesto Zn^1 .

Considerando estas observaciones experimentales, proponemos la coordinación de un átomo de zinc a una molécula de novobiocina (fig. 16), la cual actúa como quelato a través de los pares electrónicos de la amida secundaria y del oxígeno en posición orto a ésta. La coordinación con el grupo carbonilo justificaría una ligera modificación del hidrógeno aromático en posición "para" al grupo éster de la lactona.

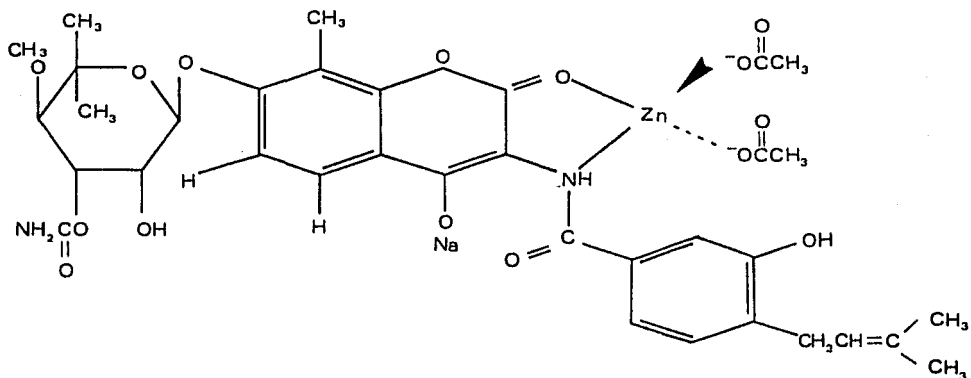


Fig. (16) Estructura propuesta para el complejo $[ZnNovNa(AcO)_2] \cdot 3H_2O$

No fue posible determinar la geometría del metal con ayuda de la espectroscopia electrónica UV-visible ya que el Zn(II) tiene sus orbitales d totalmente llenos y por lo tanto no existen transiciones electrónicas en la región del visible; sin embargo, proponemos que sea una especie tetraédrica pues es la mas común para los compuestos de Zn(II)¹⁷.

Los dos sitios restantes del metal podrían ser ocupados por los acetatos que a su vez neutralizan la molécula, esto concuerda con la conductividad obtenida para este compuesto que corresponde a una especie neutra.

Caracterización de Zn2.

El compuesto denominado Zn2 es de color blanco y se obtuvo agregando agua a las aguas madres de la reacción de la cual se obtuvo Zn1. Desgraciadamente, no fue posible volver a obtener este compuesto y la cantidad fue insuficiente para análisis subsecuentes; sin embargo, su espectro de RMN¹H (fig. 17) parece estar muy relacionado con las otras especies de zinc e incluso con algunos de los complejos preparados con otros metales por lo que consideramos importante mencionarlo e intentar caracterizarlo.

Como en el caso de Zn1 suponemos que la molécula de novobiocina está completa ya que aparecen todas las señales esperadas en el espectro de RMN¹H, además de un nuevo singulete en 10.06 ppm que integra para un protón y que desaparece con agua deuterada el cual podríamos asignar al O-H cuya señal no se observa en el espectro del ligante. El singulete en 8.3 ppm del ligante se desplaza a 9.26 ppm y el triplete en 6.9 ppm se descompone en dos dobletes bien definidos debido al desplazamiento de uno de ellos de 6.9 a 7.2 ppm, esto confirma nuestra asignación para esta señal y además sugiere un desapantallamiento para uno de los hidrógenos que la generan.

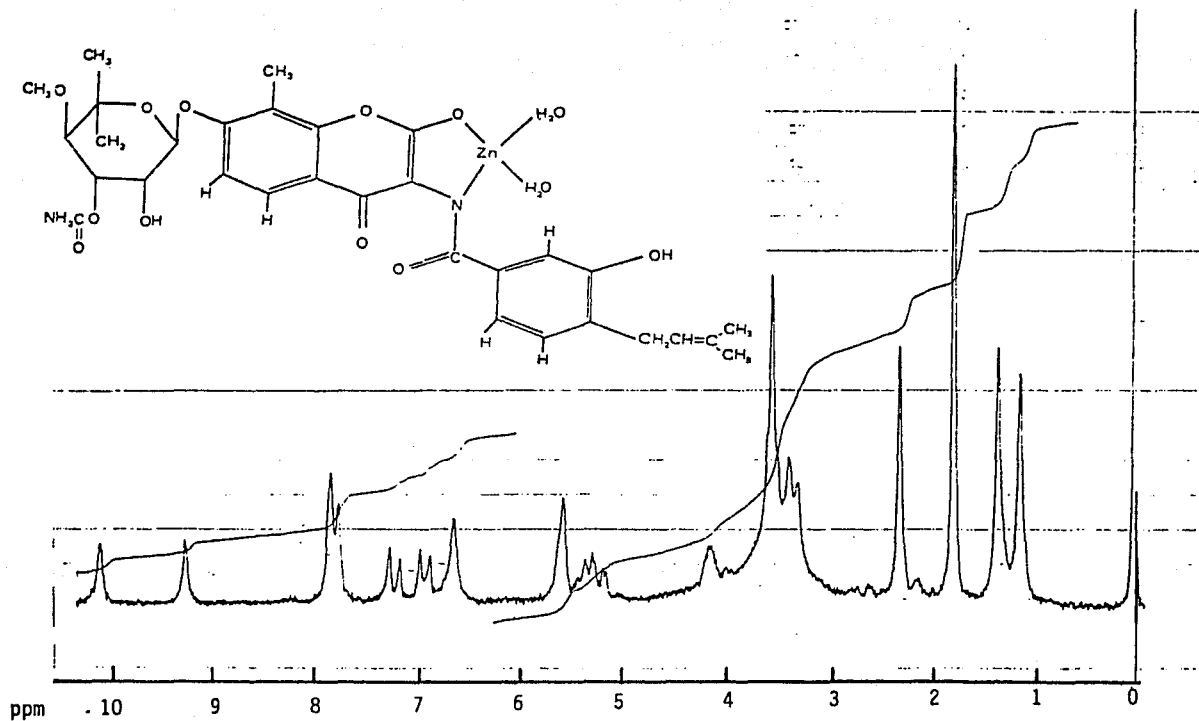


Fig.(17) Espectro de RMN^1H en DMSO del compuesto Zn2.

El singulete en 1.8 ppm que aparece en el espectro de Zn1 no se observa en este espectro lo cual sugiere que en este caso no hay acetatos coordinados.

Nuevamente se propone que el ion metálico se encuentra en un ambiente tetraédrico donde la novobiocina se coordina al metal actuando como quelato a través del oxígeno del carbonilo de la lactona y el nitrógeno de la amida secundaria (fig. 18), los dos sitios de coordinación restantes del metal podrían ser ocupados por dos moléculas de agua.

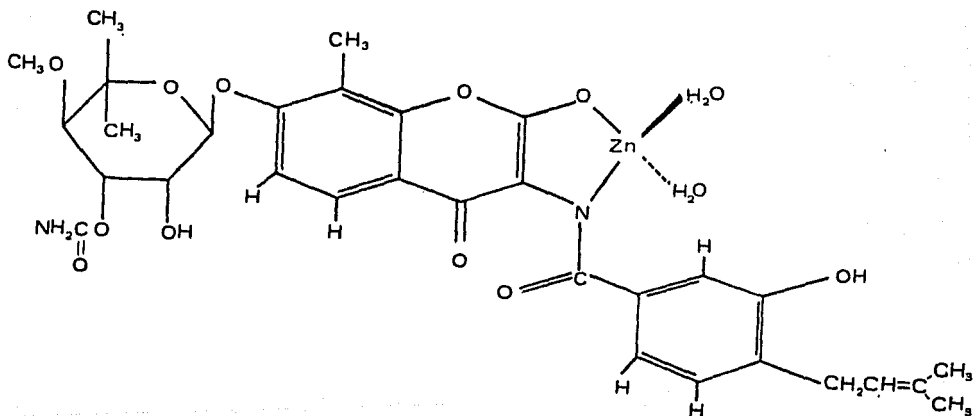


Fig. (18) Estructura propuesta para el compuesto Zn²⁺.

Aparentemente se trata de una especie no ionica ya que el compuesto es soluble en éter, por esto se propone que la carga del metal se neutraliza con la molécula del ligante a través de algún equilibrio tautomérico. La molécula de novobiocina puede presentar dos equilibrios tautoméricos: (fig. 19)

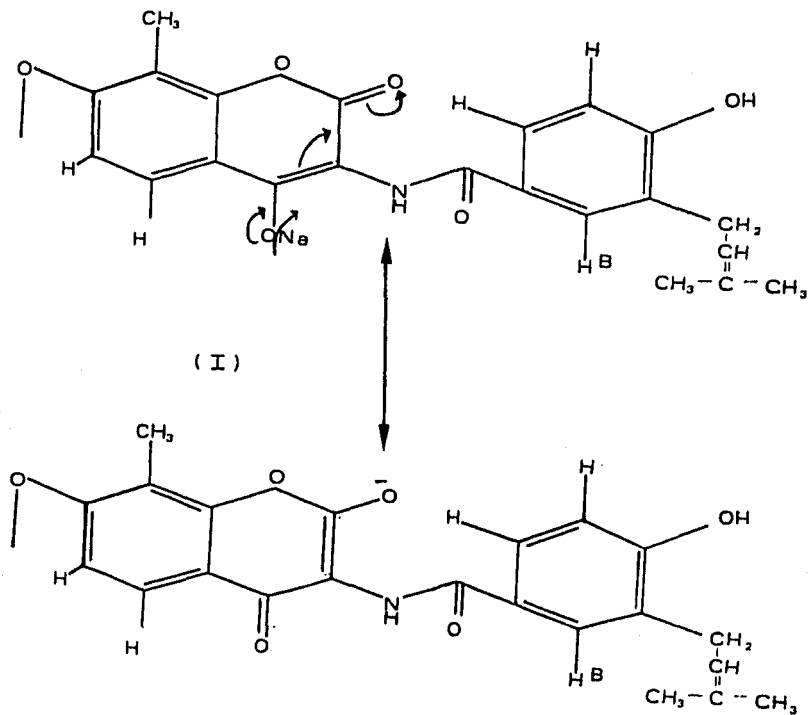


Fig. (19.a)

Equilibrio tautomérico propuesto en la molécula de novobiocina.

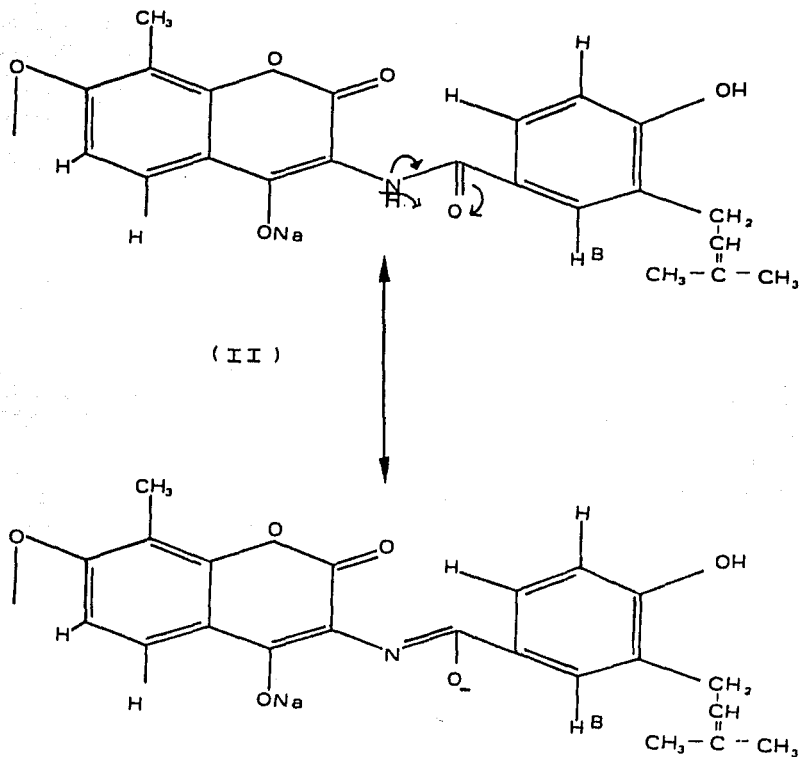


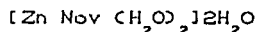
Fig. (19.b)
Equilibrio tautomérico propuesto en la molécula de novobiocina.

Posiblemente de estos equilibrios (I) sea el más estable, al coordinarse el metal con el oxígeno podría promover la salida del hidrógeno de la amina lo cual daría lugar a otra carga negativa.

El sitio de coordinación propuesto justificaría el desplazamiento del doblete correspondiente al protón en posición " para " respecto al éster ya que los sitios más afectados por la presencia de sustituyentes son las posiciones orto y para.

No se descarta la posibilidad de que en vez de coordinarse al nitrógeno de la amida el ion metálico se una al oxígeno del carbonilo formando un anillo de siete miembros. La electroneutralidad, en este caso, podría darse por medio de uno de los equilibrios tautoméricos propuestos y con la coordinación de un OH^- además de una molécula de agua. Para determinar el sitio de coordinación preciso resultaría de gran utilidad un espectro de RMN^{13}C o bien el análisis de rayos X de un monocristal.

Caracterización de Zn_3



El compuesto obtenido de la reacción entre novobiocina disuelta en etanol y acetato de zinc en agua es también de color blanco y su análisis elemental se ajusta a la siguiente fórmula mínima: $[\text{Zn Nov}(\text{CH}_2\text{O})_2]_2\text{H}_2\text{O}$, considerando que la novobiocina pierde el átomo de sodio.

El espectro de RMN^1H de este compuesto (fig. 20) presenta, además de las señales esperadas, un singulete en 9.76 ppm. equivalente al asignado en Zn2 al O-H que no se observa en el espectro del ligante.

La resolución de este espectro es mejor que la de el correspondiente al ligante puro, por ejemplo la multiplicidad del triplete en 4.05 ppm. asignado al $-\text{CH}_2-$ vecino al grupo vinílico es más clara ya que en el ligante aparentemente es un singulete, asimismo, las señales del multiplete en 5.1 ppm están mejor definidas.

Otro cambio observado respecto al espectro del ligante es el desplazamiento a alto campo de una de las señales que forman el doblete asimétrico en 7.7 ppm asignado a tres hidrógenos aromáticos así como el desplazamiento del triplete de 6.9 ppm a 6.76 ppm.

Para este compuesto proponemos la coordinación de la novobiocina como quelato a un átomo de zinc que nuevamente suponemos tetraédrico (fig. 21).

En este caso la novobiocina se coordina a través del nitrógeno de la amida secundaria y el oxígeno en orto a ésta de tal forma que se modifica la señal del hidrógeno aromático que se encuentra en posición para al metilbenceno.

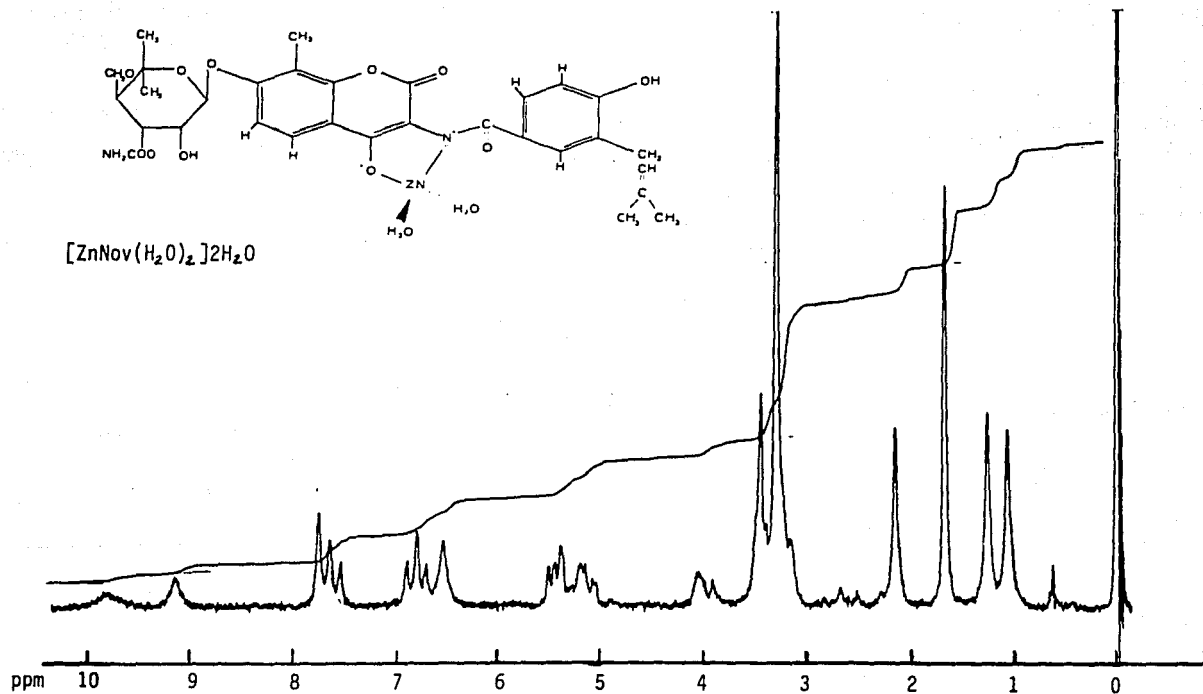


Fig.(20) Espectro de RMN^1H en DMSO del compuesto Zn3.

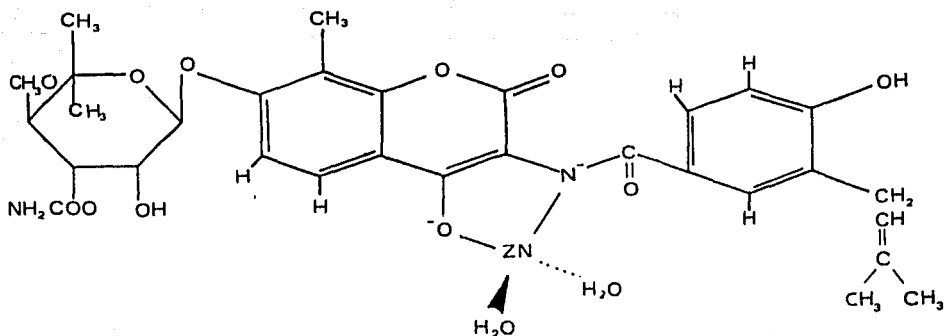
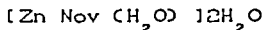


Fig. (21) Estructura propuesta para el compuesto $[ZnNov(H_2O)_2]2H_2O$.

La salida del átomo de sodio y la pérdida del hidrógeno de la amida podrían estar neutralizando el compuesto. Dos moléculas de agua comparten sus pares electrónicos libres con el ion metálico para completar su esfera de coordinación.

Al igual que en la caracterización anterior no puede descartarse la posibilidad de que la coordinación se lleve a cabo a través del carbonilo de la amida en vez del nitrógeno.

Caracterización de Zn4.



El compuesto obtenido de la reacción entre novobiocina en etanol y cloruro de zinc en etanol es de color blanco, debido a que se obtuvo un rendimiento bajo no se cuenta con análisis elemental; sin embargo, su espectro de RMN¹H (fig. 22) es idéntico al obtenido para el compuesto Zn3 así como su solubilidad, su conductividad etc. lo cual sugiere que se trata de una especie semejante.

Caracterización de Zn5.

De la reacción entre novobiocina en etanol y cloruro de zinc en agua se obtiene un precipitado blanco que aparentemente es una mezcla de los compuestos anteriormente caracterizados Zn2 y Zn3, ya que el espectro de RMN¹H obtenido presenta una combinación de las modificaciones observadas en la región entre 6 y 8 ppm de los espectros de estos compuestos, tanto el triplete en 6.9 ppm como el doblete asimétrico en 7.7 ppm presentan variaciones, el triplete se descompone en dos dobletes no tan definidos como en Zn2 y una de las señales que forman el doblete se desplaza de manera semejante que en el espectro de Zn3.

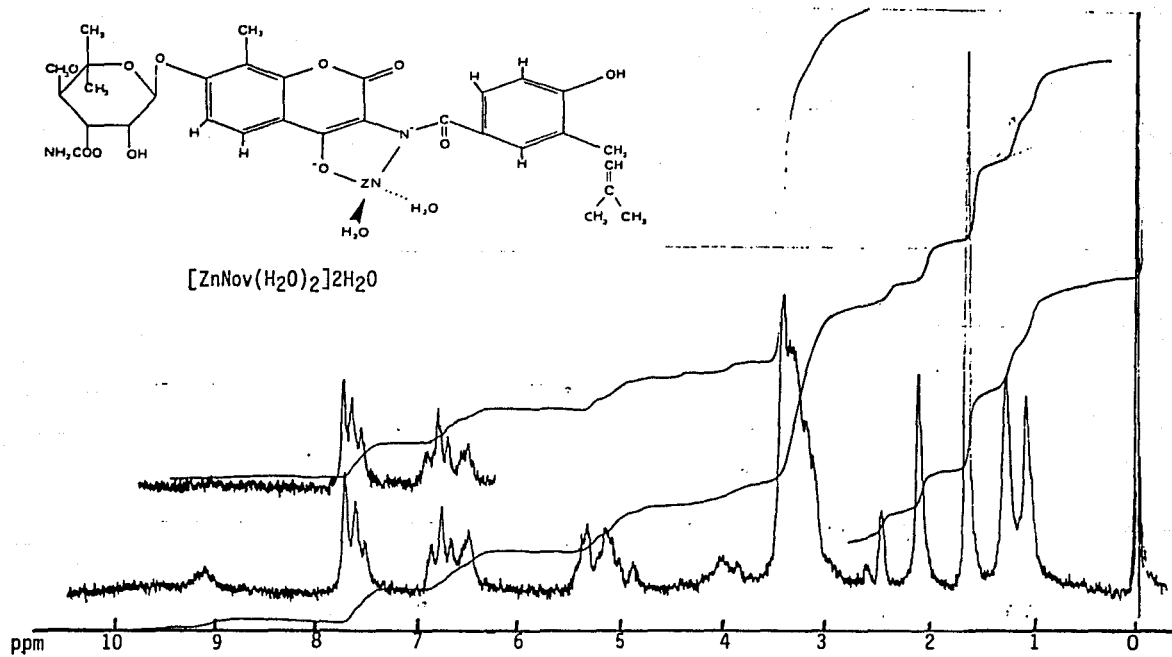


Fig.(22) Espectro de RMN^1H en DMSO del compuesto Zn4

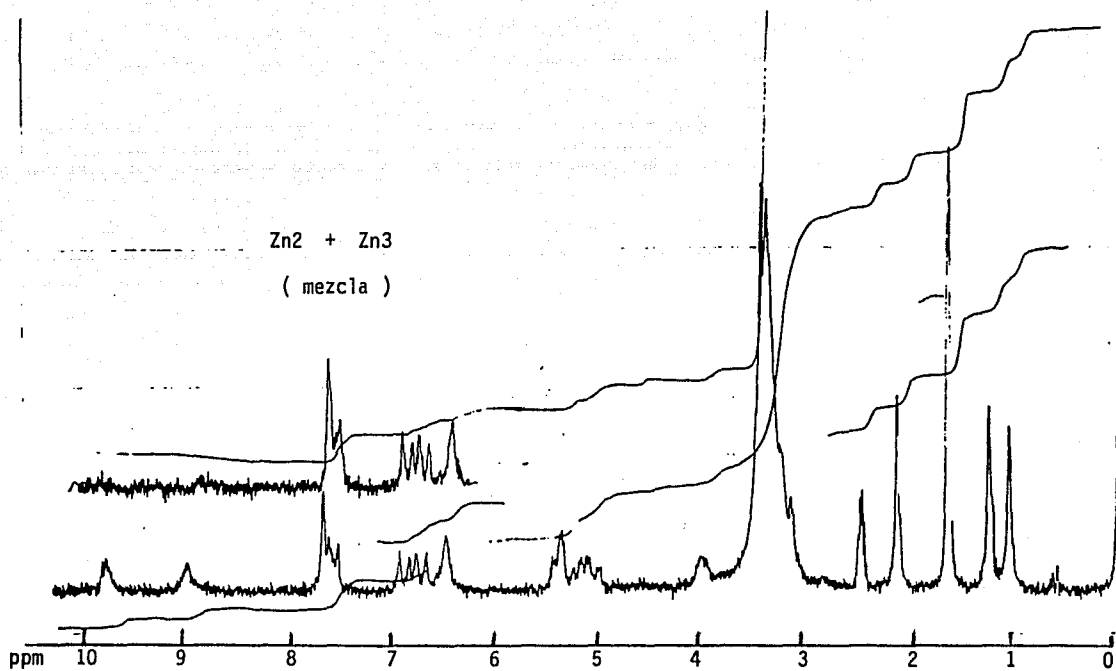
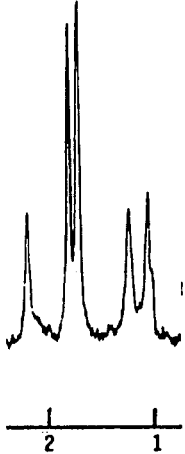
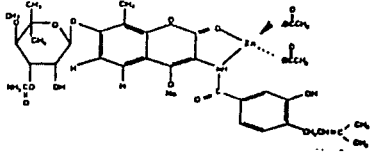
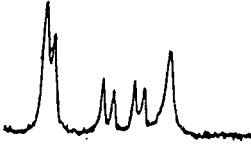
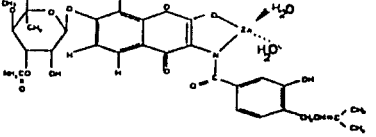

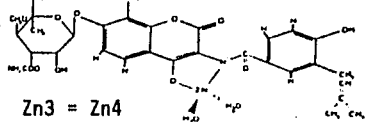
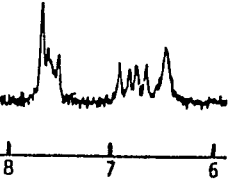


Fig.(23) Espectro de RMN¹H en DMSO del compuesto Zn5.

De acuerdo a las caracterizaciones anteriores de los compuestos de zinc puede observarse que existen tres sitios de coordinación preferidos por este metal, el oxígeno del carbonilo de la lactona, el nitrógeno de la amida y el oxígeno en orto a ésta, la coordinación con estos grupos genera modificaciones semejantes en los espectros de RMN H, esta semejanza se muestra más claramente en el siguiente esquema.

COMPUESTO Y CONDICIONES DE REACCION.	MODIFICACIONES EN EL ESPECTRO RMN H	ESTRUCTURA PROPUESTA.
<p>[ZnNovNa(AcO)₂]3H₂O</p> <p>Nov. en EtOH + Zn(AcO)₂ H₂O en EtOH</p>		<p>Zn1</p> 
<p>Zn2</p> <p>aguas madres de Zn1 + H₂O</p>		<p>Zn2</p> 
<p>[ZnNov2H₂O]</p> <p>Nov. en EtOH + ZnCl₂ H₂O en EtOH</p>		<p>Zn3 = Zn4</p> 
<p>mezcla Zn2 + Zn3</p> <p>Nov. en EtOH + ZnCl₂H₂O en H₂O</p>		<p>Zn5 = Zn2 + Zn3</p>

Caracterización del compuesto Cu1.



El compuesto sintetizado con novobiocina y acetato de cobre en etanol es de color verde y la composición asignada de acuerdo al análisis elemental, considerando que la novobiocina pierde el átomo de sodio, es la siguiente: $[\text{Cu Nov AcO}] \cdot \text{H}_2\text{O}$.

Al comparar el espectro de RMN^1H de este compuesto con el del ligante observamos que la zona de alto campo está bien resuelta a pesar de estar presente un metal paramagnético. La integral de la señal en 2.2 ppm se incrementa lo equivalente a tres protones los cuales, de acuerdo a la fórmula mínima propuesta, corresponden al acetato.

La zona de bajo campo aparece muy poco resuelta posiblemente por la cercanía del metal²⁴ a los grupos que generan señales en esta región como los aromáticos, las amins y los alcoholes.

A pesar de tener poca resolución es posible distinguir la descomposición en dos señales del triplete en 6.9 ppm asignado a dos hidrógenos aromáticos, esto sugiere la modificación del ambiente electrónico de estos protones posiblemente por la coordinación del metal cerca de estos grupo de forma semejante a los compuestos de zinc ya caracterizados.

El singulete que en el ligante aparece en 8.3 ppm se desplaza a 9.6 ppm de manera análoga a los otros compuestos.

El espectro de infrarrojo para este compuesto presenta cambios respecto al del ligante como la aparición de una nueva banda en 1620 cm^{-1} que sugiere un grupo carbonilo nuevo en la molécula lo cual coincide con la composición propuesta. Las señales que se observan entre 1600 y 1700 cm^{-1} están desplazadas hacia mayor frecuencia probablemente por la coordinación del ion metálico en un sitio tal de la molécula que se modifican las frecuencias de las vibraciones que generan estas señales como las de los carbonilos, aminas y grupos aromáticos.

El espectro electrónico UV-visible en estado sólido (reflectancia difusa) del compuesto (fig. 25) presenta un máximo de absorción en 15380 cm^{-1} que hemos asignado a una especie tetraédrica ya que según la bibliografía²³ los compuestos de Cu(II) tetraédricos con ligantes de campo fuerte, como aminas, absorben en esta región.

Con base en estas observaciones experimentales proponemos, para este complejo, la coordinación de la novobiocina como quelato a través de los pares electrónicos libres del nitrógeno de la amida secundaria y del oxígeno del carbonilo en posición orto a ésta (fig. 26). Es decir proponemos un tipo de coordinación equivalente al asignado a Zn1.

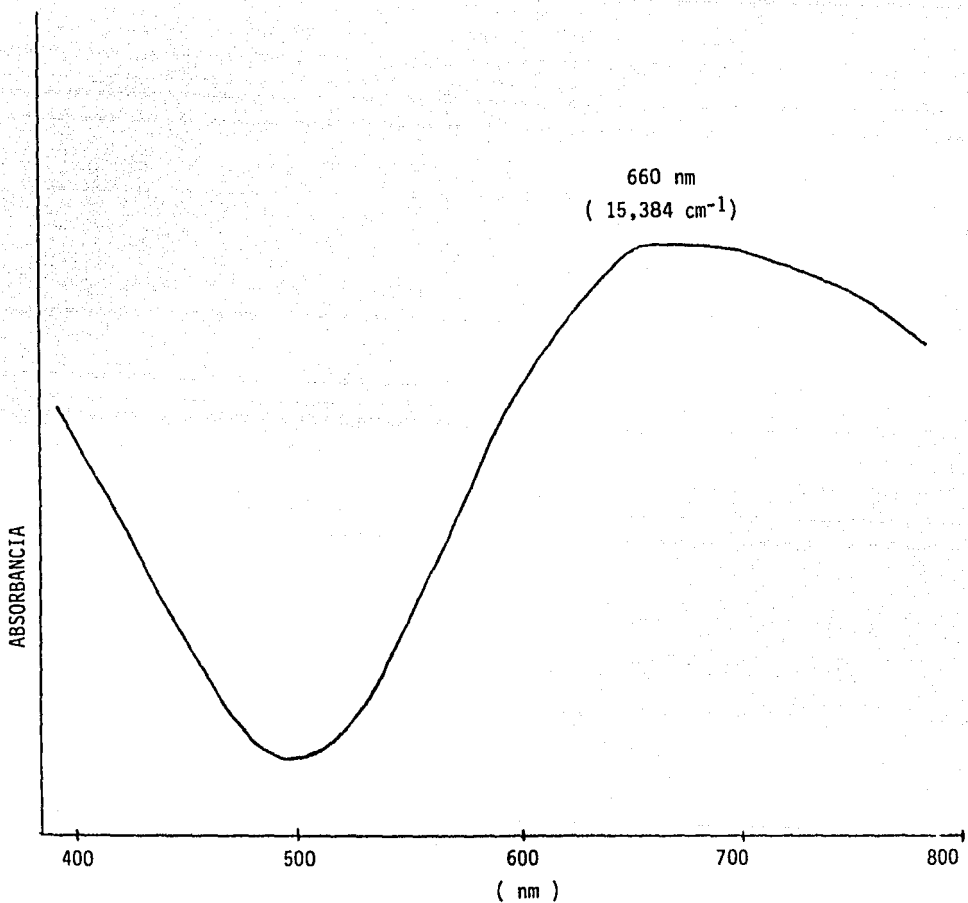


Fig. (25) Espectro electrónico en estado sólido del compuesto CuI.

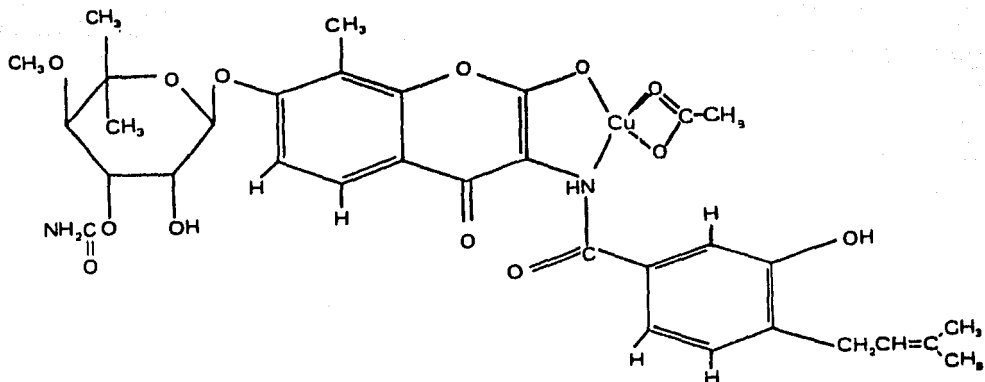


Fig. (26) Estructura propuesta para el compuesto $[CuNovAcO]H_2O$.

La carga del ion metálico podría estar neutralizada por el ligante acetato que a su vez se coordina con el metal como quelato¹⁷ y por el oxígeno del carbonilo a través del mismo equilibrio propuesto en la caracterización de Zn_2 (fig. 19). El valor obtenido para la conductividad de este compuesto corresponde a una especie neutra, lo cual está de acuerdo con nuestra hipótesis.

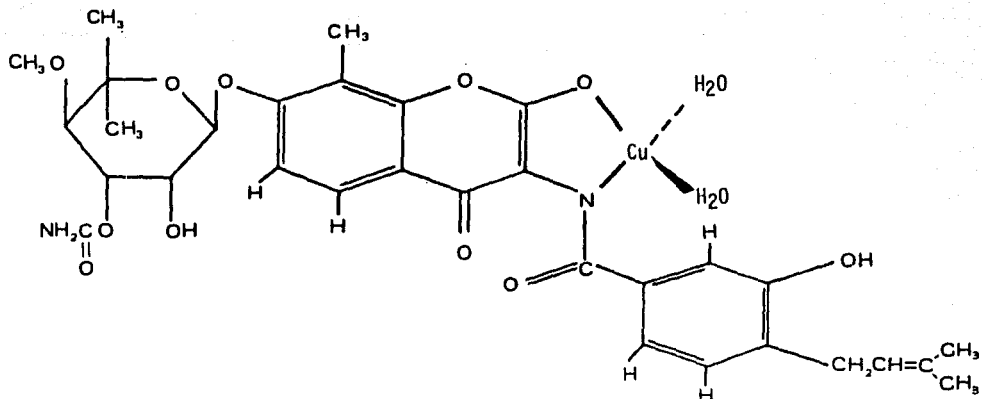
Caracterización de los compuestos Cu2, Cu3 y Cu4.

[Cu Nov₂(H₂O)]

El compuesto sintetizado con novobiocina en etanol y acetato de cobre disuelto en agua (Cu2) es de color violeta. De la reacción entre novobiocina y cloruro de cobre, ambos disueltos en etanol, se obtuvo un compuesto (Cu3) color verde-amarillo y el compuesto de cobre sintetizado con novobiocina en etanol y cloruro de cobre disuelto en agua (Cu4) es de color violeta idéntico a Cu2.

Los análisis elementales de los tres compuestos Cu1, Cu2 y Cu3 corresponden a la fórmula mínima [Cu Nov₂(H₂O)] , los tres presentan propiedades semejantes como solubilidad, conductividad, etc. y sus espectros de RMN¹H son muy semejantes al compuesto caracterizado Zn2. Aunque con mucha menor resolución, pueden observarse modificaciones en la zona entre 6 y 8 ppm, como la descomposición del triplete en 6.9 ppm.

Esta semejanza, además de los análisis elementales sugiere, para los tres compuestos, la coordinación del ion metálico a la novobiocina a través del oxígeno del carbonilo de la lactona y el nitrógeno de la amida de manera análoga al compuesto Zn2.



Estructura para los compuestos Cu2, Cu3 y Cu4 [CuNov(H₂O)₂].

Los espectros electrónicos en estado sólido corresponden, según la literatura^{2a}, a las siguientes geometrías: plano cuadrada para los compuestos violetas Cu2 y Cu4 (fig. 27, 28) que presentan su máximo de absorción en 19607 y 19230 cm⁻¹ respectivamente y geometría tetraédrica, probablemente distorsionada, para el compuesto verde-amarillo Cu3 (fig. 29) con máximo de absorción en 13513 cm⁻¹. La diferencia en las geometrías puede deberse al medio de reacción, ya que como se mencionó el compuesto Cu3 se preparó en las mismas condiciones que Cu1 al cual también asignamos geometría tetraédrica.

La estructura propuesta concuerda con las medidas de conductividad que corresponden a especies neutras.

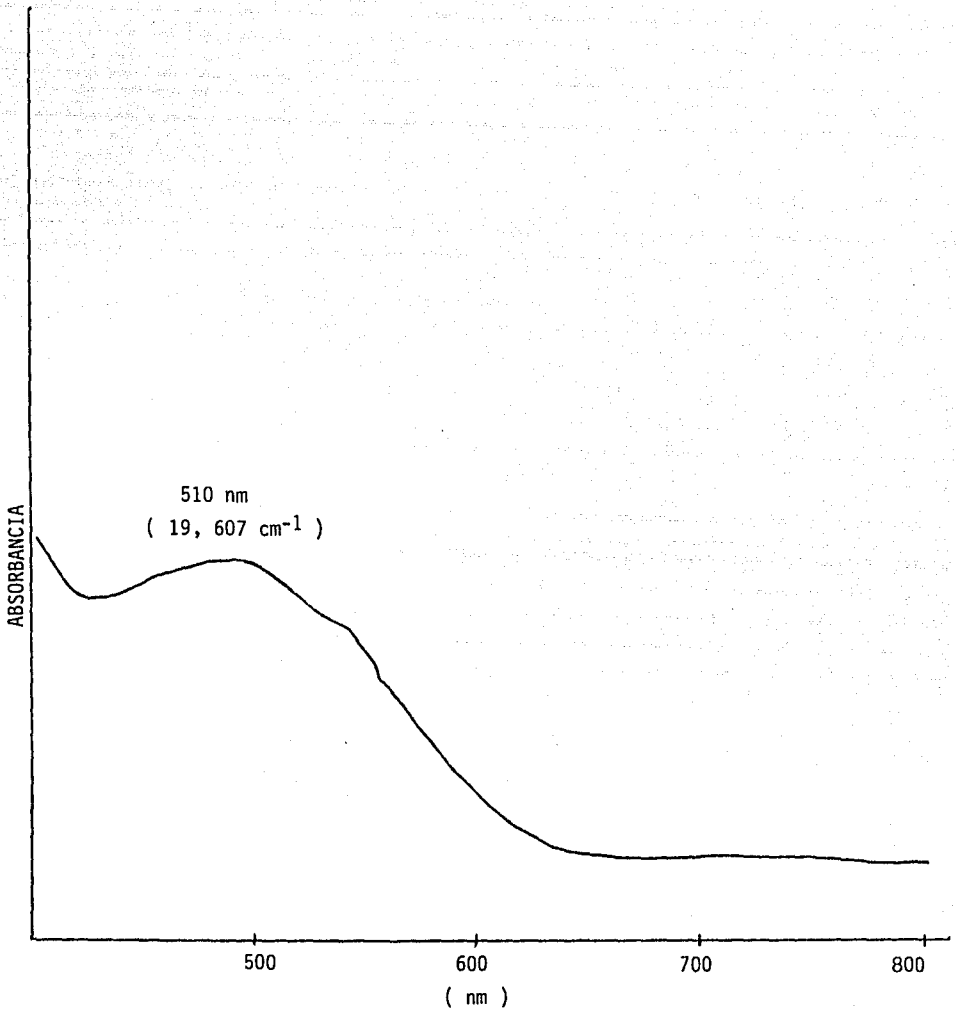


Fig. (27) Espectro electrónico en estado sólido de Cu²⁺.

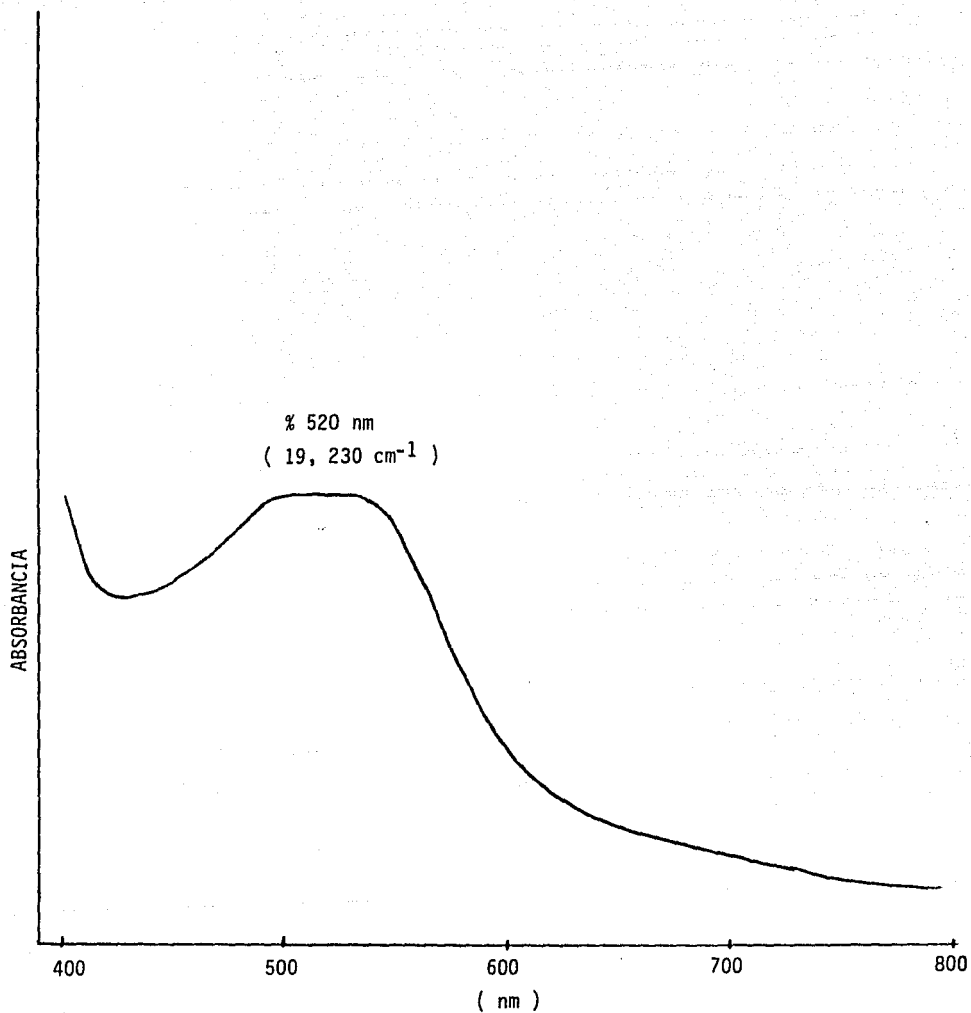


Fig. (28) Espectro electrónico en estado sólido del compuesto Cu₄.

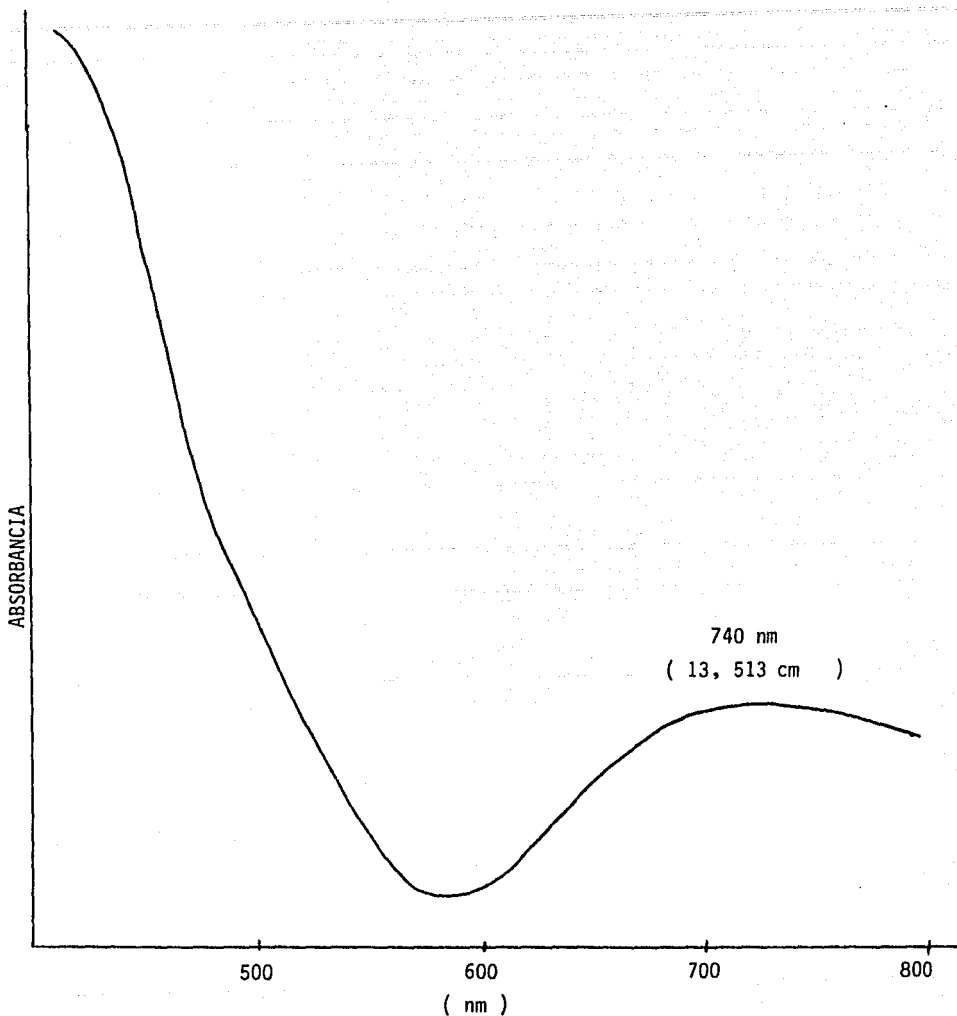


Fig. (29) Espectro electrónico en estado sólido de Cu₃.

Caracterización del compuesto Ni1.

[Ni Nov AcO]

El compuesto obtenido en ambas técnicas usando acetato de níquel es de color amarillo y la composición asignada de acuerdo al análisis elemental, considerando que la novobiocina pierde el átomo de sodio, es la siguiente: [Ni Nov AcO].

La información del espectro de RMN¹H fue de gran valor a pesar de no tener muy buena resolución debido probablemente a la presencia del metal. En la zona de alto campo la señal en 1.3 ppm incrementa su integral en lo equivalente a tres protones que de acuerdo a la composición asignada pueden ser del acetato.

La zona de bajo campo en el espectro es la que presenta menos resolución, sin embargo, puede observarse el desplazamiento hacia alto campo de las señales entre 6.3 y 7.7 ppm así como el desplazamiento a 8.7 ppm de la señal que en el ligante aparece en 8.3 ppm, de forma análoga a los demás compuestos. El triplete en 6.9 ppm se descompone en dos señales y se observa la aparición de un singulete en 9.7 ppm, que desaparece con agua deuterada al que se le dio la misma asignación que en Zn2.

Al comparar el espectro de infrarrojo de este compuesto con el del ligante se observa la aparición de una nueva banda en 1630 cm⁻¹ que coincide con la reportada para los carboxilatos.

También se observa el desplazamiento hacia menor frecuencia de las señales que para el ligante aparecen entre 1300 y 1450 cm^{-1} lo cual, puede ser causado por la coordinación de un ion metálico.

El espectro electrónico en estado sólido (fig. 30) presenta un máximo de absorción alrededor de 23000 cm^{-1} , según la literatura, este valor corresponde a una especie con geometría plano cuadrada, sin embargo el hecho de que el espectro de RMN^4H no tenga buena resolución como la esperada para una especie diamagnética hace pensar en una especie diferente; con la determinación del momento magnético del compuesto podría definirse la geometría, desgraciadamente no fué posible hacer esta medición.

De acuerdo a nuestras observaciones experimentales proponemos para este compuesto un sitio de coordinación análogo al de ZnI y CuI , es decir, la coordinación de la novobiocina como quelato (fig 31) a través de la amida secundaria y el oxígeno del carbonilo en "orto" a ésta.

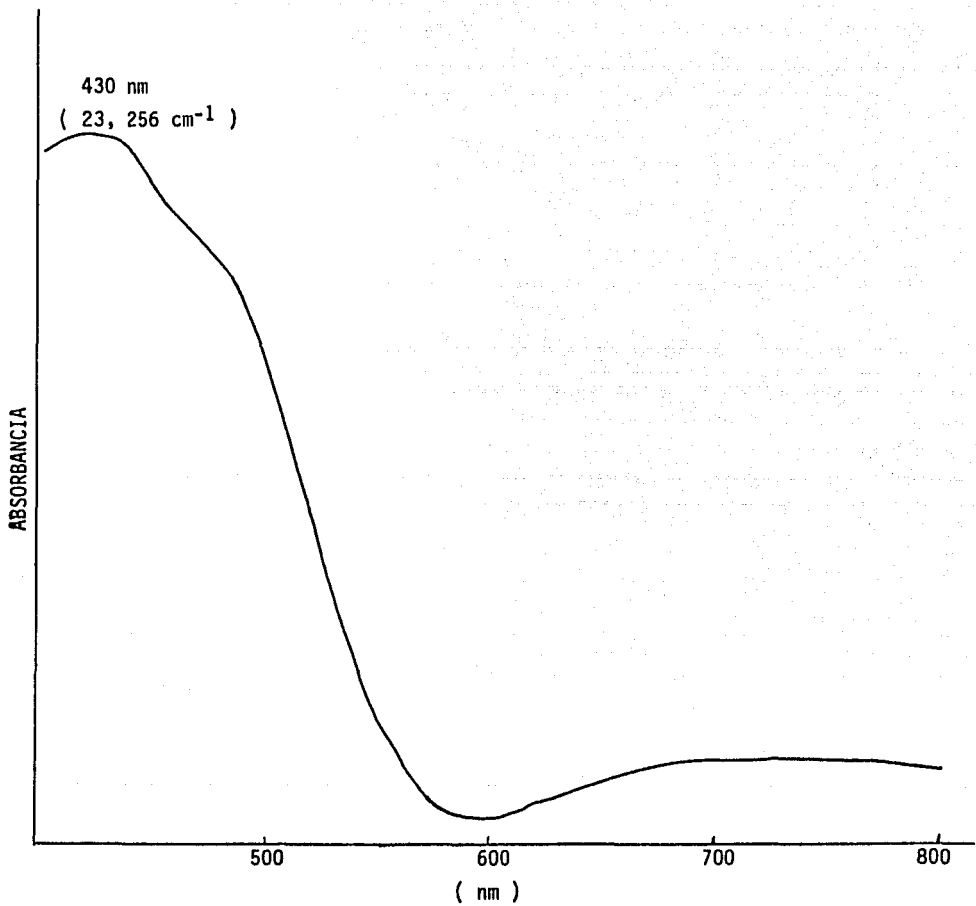


Fig. (30) Espectro electrónico en estado sólido del compuesto Nil.

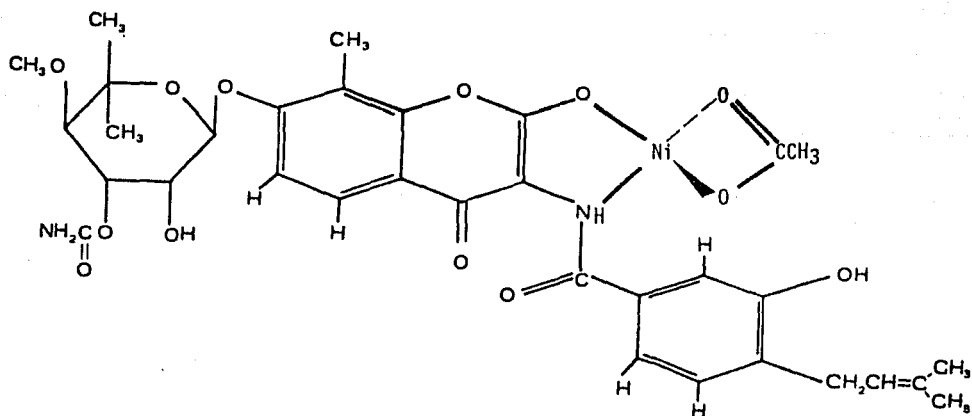


Fig. (31) Estructura propuesta para el compuesto [NiNovAcO] (Ni1)

Las dos posiciones restantes del metal podrían estar ocupadas por un acetato que también actúa como quelato y que a su vez neutraliza una carga del metal, la otra carga podría estar neutralizada con el equilibrio tautomérico mencionado en Zn2 generando una especie no iónica lo cual concuerda con la medida de conductividad obtenida.

Caracterización del compuesto Ni2.



De la reacción entre novobiocina y cloruro de níquel usando las dos técnicas se obtiene un solo compuesto amarillo cuya caracterización es análoga a la de los compuestos Zn2, Cu2, Cu3, y Cu4 ya que al igual que éstos, su análisis elemental corresponde a la siguiente fórmula mínima: $[\text{Ni Nov}(\text{CH}_2\text{O}_2)]$ y su espectro de RMN¹H presenta las mismas modificaciones en la región entre 6 y 8 ppm.

Su espectro electrónico en estado sólido (fig 32) podría corresponder a una geometría plano cuadrada al igual que Ni1, sin embargo, su espectro tampoco tiene buena resolución lo cual, como se mencionó, pone en duda una geometría plano cuadrada correspondiente a una especie diamagnética.

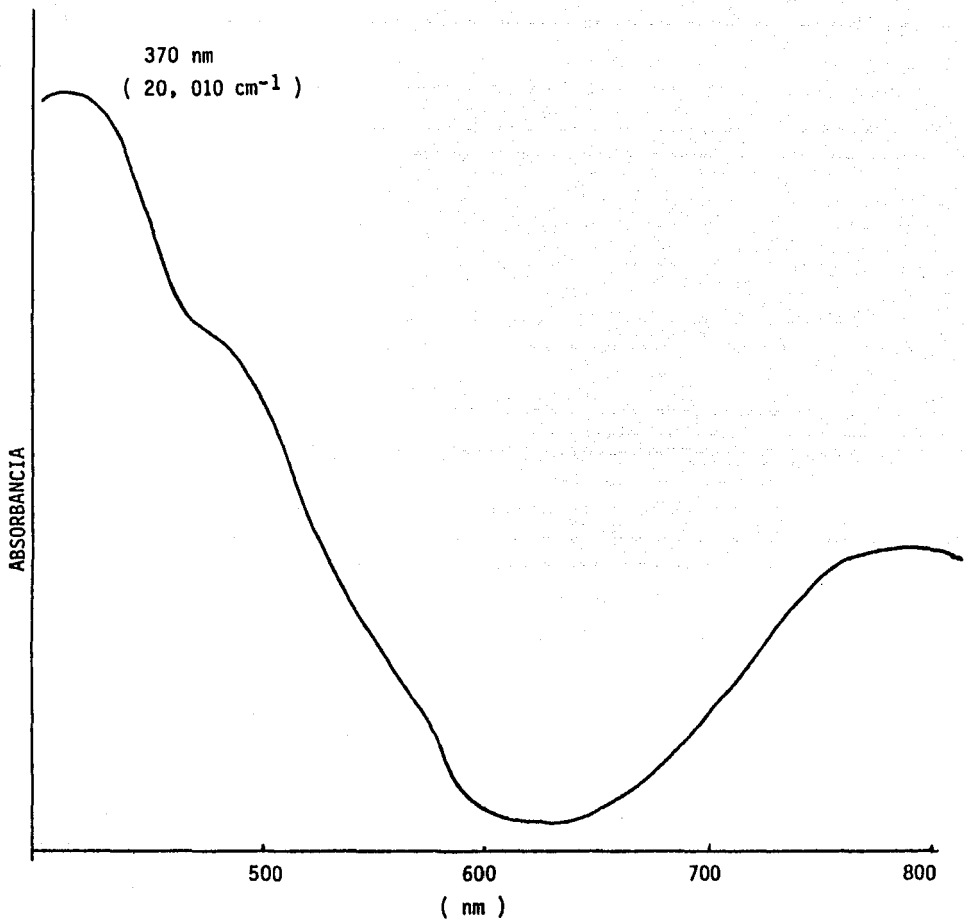


Fig. (32) Espectro electrónico en estado sólido del compuesto Ni²⁺.

El análisis de los espectros de RMN^1H de los complejos sintetizados con metales paramagnéticos, en esta investigación, resultó de gran interés pues algunas regiones del espectro presentan muy buena resolución, lo cual no es común.

Generalmente la presencia de un metal paramagnético provoca que las señales en el espectro de RMN^1H no se observen debido a un aumento en la velocidad de relajación de los protones, sin embargo, en este caso las señales en los espectro sí se observan pero con diferente resolución dependiendo de la zona en donde aparecen.

Siempre se observa una zona del espectro más afectada, lo cual, puede tomarse como una guía para determinar la zona en que el metal se encuentra cercano, ya que éste afectará más a los núcleos más cercanos provocando una resolución pobre en sus señales.

CONCLUSIONES.

1-El antibiótico novobiocina actúa como ligante quelato en presencia de iones metálicos como Zn^{2+} , Cu^{2+} y Ni^{2+}

2- El disolvente utilizado determina en gran medida que grupos, además de la novobiocina, entran en la esfera de coordinación del ion metálico. Cuando se usan acetatos como anión del metal, en medio etanólico, se favorece la coordinación de moléculas de acetato, en cambio en medio acuoso, entran moléculas de agua. En el caso en que se usa cloruro como anión, tanto en medio etanólico como en medio acuoso siempre se coordinan moléculas de agua.

3-En medio etanólico, el número de átomos metálicos que se coordinan al ligante novobiocina, es independiente de la relación estequiométrica que se utiliza.

4- Considerando la influencia observada, del disolvente en la reacción, resultaría de gran interés hacer las reacciones en solución acuosa con diferentes relaciones estequiométricas

5- De los doce grupos con pares electrónicos libres de la molécula de novobiocina sólo tres son preferidos por los iones metálicos para coordinarse: el oxígeno del carbonilo de la lactona, el nitrógeno de la amida secundaria y el oxígeno en posición orto a la misma amida.

6- La presencia de un metal paramagnético genera tres distintas modificaciones en los espectros de RMN¹H de los complejos :

desplazamiento de las señales a bajo campo

tiempo de relajación

resolución en la región de bajo campo de los espectros

7- La velocidad de relajación de los protones en los compuestos paramagnéticos no es tan rápida de tal forma que se observan todas las señales en los espectros de RMN¹H, siendo más afectada la zona más cercana al metal.

8- El número de coordinación que predomina es de cuatro con geometrías tetraédrica y plano cuadrada.

CAPITULO 3 PARTE EXPERIMENTAL.

REACTIVOS Y EQUIPO.

Todos los reactivos y disolventes empleados fueron de grado analítico. La mayoría de los análisis elementales se realizaron en el departamento de microanálisis de la UNIVERSITY COLLEGE de Londres con una variación de $\pm 0.3\%$ y solo algunos en el aparato Perkin Elmer modelo 240B con una variación del $\pm 2\%$ del departamento de Química Analítica de la DEPG de la facultad de Química de la UNAM, en este mismo departamento se realizaron los espectros de IR en un espectrofotómetro Perkin Elmer de rejilla modelo 599B y los espectros de RMN¹H en un espectrofotómetro de RMN de 90 MHz modelo Em390 de Varian.

Los espectros electrónicos en estado sólido (reflectancia difusa) se realizaron en un espectrofotómetro Varian Cary 17-D en la Unidad Iztapalapa de la UNIVERSIDAD METROPOLITANA.

Las medidas de conductividad se realizaron en un conductímetro Conductronic PC18.

SINTESIS.

La novobiocina utilizada fue donada para investigación por la empresa UpJohn. Se utilizó en su forma monosódica dihidratada; sus soluciones se manejaron siempre en la obscuridad por tratarse de un compuesto fotosensible especialmente en disolución.

Los diferentes compuestos se sintetizaron comparativamente por medio de dos técnicas:

TECNICA # 1

En esta técnica, la reacción se llevó a cabo variando la relación estequiométrica (ligante : sal metálica) 1:1 y 1:5 y la temperatura de reacción (temp. ambiente y reflujo).

En un matraz bola (100 ml) se disuelve la novobiocina con 25 ml de etanol, aparte se disuelve una cantidad estequiométrica de la sal metálica también en 25 ml de etanol, ambas soluciones se mezclan y dejan reaccionar en la obscuridad durante seis horas ya sea a temperatura ambiente o a reflujo.

En caso de obtener precipitación directamente se recupera el producto, en caso contrario se induce la precipitación agregando algún disolvente miscible de diferente polaridad (éter o agua).

El compuesto obtenido se filtra, lava y seca al vacío para su caracterización posterior.

TECNICA # 2¹¹

En un matraz se disuelven 50 mg. (7.87×10^{-5} moles) de la novobiocina en 5 ml de etanol, aparte se disuelve una cantidad estequiométrica de la sal metálica en 15 ml de agua y se mezclan las dos soluciones.

Si hay precipitación directa se recupera el producto, en caso contrario se evapora el disolvente de la mezcla a la mínima cantidad hasta que precipita el producto.

El compuesto obtenido se lava y seca al vacío para su caracterización posterior.

CRISTALIZACION DE LOS COMPUESTOS.

Se prepararon cristales del ligante y de algunos de los complejos usando la siguiente técnica¹²:

Se hace una disolución concentrada del compuesto en 1ml de etanol se agrega 1 ml de ácido acético 0.025 M y se deja en reposo durante uno o dos días en la obscuridad, después de lo cual se obtienen pequeños cristales del compuesto.

COMPUESTO	clave	COLOR	clave	COLOR
Nov. + Zn(AcO) ₂ · H ₂ O	Zn1	blanco	Zn2	blanco
Nov. + ZnCl ₂	Zn3	blanco	Zn4	blanco
Nov. + Cu(AcO) ₂ · 2H ₂ O	Cu1	verde claro	Cu2	violeta
Nov. + CuCl ₂ · 2H ₂ O	Cu3	verde-amarillo	Cu4	violeta
Nov. + Ni(AcO) ₂ · 4H ₂ O	Ni1	amarillo claro	Ni1	amarillo
Nov. + NiCl ₂ · 6H ₂ O	Ni2	amarillo	Ni2	amarillo

PROPIEDADES FÍSICAS DE LOS COMPUESTOS SINTETIZADOS
 COLOR DE LOS COMPUESTOS

COMPUESTO	clave	PUNTO DE FUSIÓN	clave	PUNTO DE FUSIÓN
Nov. + Zn(AcO) ₂ · H ₂ O	Zn1	240° C	Zn2	220-230° C
Nov. + ZnCl ₂	Zn3	184° C	Zn4	194° C
Nov. + Cu(AcO) ₂ · 2H ₂ O	Cu1	200° C	Cu2	190-194° C
Nov. + CuCl ₂ · 2H ₂ O	Cu3	185° C	Cu4	153-160° C
Nov. + Ni(AcO) ₂ · 4H ₂ O	Ni1	260° C	Ni1	230-240° C
Nov. + NiCl ₂ · 6H ₂ O	Ni2	260° C	Ni2	250° C

PUNTOS DE FUSIÓN

COMPUESTO	DISOLVENTE			
	ETOH	DMSO	ACETONA	AGUA
Novobiocina sodica	Sol.	Sol.	Sol.	Sol.
Nov. + Zn(AcO) ₂ H ₂ O	Sol.	Sol.	Sol.	Insol.
Nov. + ZnCl ₂	Sol.	Sol.	Sol.	Insol.
Nov. + Cu(AcO) ₂ 2H ₂ O	par. Sol.	Sol.	Sol.	Insol.
Nov. + CuCl ₂ 2H ₂ O	Sol.	Sol.	Sol.	Insol.
Nov. + Ni(AcO) ₂ 2H ₂ O	Sol.	Sol.	Sol.	Insol.
Nov. + NiCl ₂ 6H ₂ O	Sol.	Sol.	Sol.	Insol.

SOLUBILIDAD DE LOS COMPUESTOS SINTETIZADOS

FORMULA	ANÁLISIS (%)					
	Calculado			Encontrado		
	C	H	N	C	H	N
Nov. Na	55.39	5.86	4.17	55.21	5.93	3.95
[Cu NovAcO]H ₂ O	51.39	5.57	3.63	51.6	5.63	2.66
[Cu Nov 2H ₂ O]	52.31	5.2	3.93	54.28	5.75	3.83
[Cu Nov 2H ₂ O]	52.31	5.2	3.93	54.2	6.24	3.92
[Cu Nov 2H ₂ O]	52.31	5.20	3.93	54.03	6.09	3.32
[Ni Nov AcO]	54.24	5.34	3.83	55.35	5.67	4.21
[Ni Nov 2H ₂ O]	52.65	5.23	3.96	54.76	5.92	3.74
[Zn Nov Na 2AcO] 3H ₂ O	48.16	3.21	5.39	48.62	3.08	5.13
[Zn Nov 2H ₂ O]	49.66	5.70	3.73	48.62	5.8	3.7

ANÁLISIS ELEMENTALES

ESPECTRO ELECTRONICO EN ESTADO SÓLIDO (REFLECTANCIA DIFUSA) Y ASIGNACION DE LA GEOMETRIA.

COMPUESTO	clave	MAX.	GEOMET. ASIGNADA	clave	MAX.	GEOMET. ASIGNADA
Nov. + Cu (AcO) ₂ 2H ₂ O	Cu1	15380	⊠	Cu2	19407.8	■
Nov. + CuCl ₂ 2H ₂ O	Cu3	13513.51	⊠	Cu4	19230.76	■
Nov. + Ni (AcO) ₂ 4H ₂ O	Ni1	23000	■	Ni1	23255.81	■
Nov. + NiCl ₂ 6H ₂ O	Ni2	23000	■	Ni2	21739.13	■

Claves: ⊘ = OCTAEDRICA ; ■ = PLANO CUADRADA ; ⊠ = TETRAEDRICA

CONDUCTIVIDADES

COMPUESTO	CONDUCTANCIA MOLAR Siemens/cm mol
Nov Na	18.46
LiCl	44.5
[Cu Nov AcO] H ₂ O	1.72
[Cu Nov 2H ₂ O]	2.38
[Cu Nov 2H ₂ O]	2.79
[Ni Nov AcO]	5.08
[Ni Nov 2H ₂ O]	5.60
[Zn Nov Na 2AcO] 3H ₂ O	4.00
[Zn Nov 2H ₂ O]	4.44

BIBLIOGRAFIA **ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA**

1. - Hughes, M.N., The Inorganic Chemistry of Biological Processes, 2nd Edition Wiley, New York, 296-316 (1981).
2. - Cozarelli, N.R., Science, 207, 953 (1980).
3. - Barba, N., Mendoza, G. and Goodgame, D.M., Inorg. Chem. Acta, 125, 21 (1986).
4. - Gellert, M., Ann. Rev. Biochem., 50, 879 (1981).
5. - Albert, A., Selective Toxicity. The physicochemical basis of therapy, 6th Edition, Chapman and Hall, London, 385-442 (1979).
6. - Sugino, A., Higgins, N.P., Brown, P.O., Peebles, C.L., Cozarelli, N.R., Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A., 75, 4838 (1978).
7. - Shen, L.L. and Pernet, A.G., Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A., 82, 307 (1985).
8. - Siegel, H. and McCormick, D.B., Accounts Chem. Res., 3, 201 (1970).
9. - Williams, D.R., Chemical Reviews, 72, 3, 203 (1972).
10. - Kaczka, E.A., Wolf, F.J., Rathe, F. and Folkers, K., J. Am. Chem. Soc., 77, 6404 (1955).
11. - Molina Carmona, G., Tesis de licenciatura, U.N.A.M., Mexico (1987).
12. - Chalet, L., Pat. Merck & Co, Inc., Ger., 1,039,197, sept. (1958).

13. - Hinman, J.W., Caron, E.L. and Hoeksema, H., J. Am. Chem. Soc., 3789 (1957).
14. - Niebergall, P.J., Hussar, D.A., Creesman, W.A., Sugita, E.T. and Doluisio, J.T., J. Pharm. Pharmac., 18, 729 (1966).
15. - Hernández, R., Tesis de licenciatura, U.N.A.M., México (1988).
16. - Huheey, J.E., Química Inorgánica, 2da. Edición, (1978).
17. - Cotton, A.F. and Wilkinson, G., Advanced Inorganic Chemistry, 5th Edition, 483 (1987).
18. - Cruz, D., Chamizo, J. y Garritz, A., Estructura Atómica, F.E.I., 724 (1986).
19. - Morrison and Boyd, Organic Chemistry, 3th Edition Allyn and Bacon Inc., 674 (1973).
20. - Williams and Fleming, Spectroscopic methods in organic chemistry, 3th Edition, 35,74.86 (1980).
21. - Satler, Standard Spectra.
22. - Pearce, C.M. and Sanders, J.K., Magnetic Resonance in Chemistry, 26, 152 (1988).
23. - Lever, A.B.P., Inorganic Electronic Espectroscopy, 2nd Edition Elsevier Publishing Company, N.Y. (1986).
24. - Drago, S.R., Physical Methods in Chemistry, Saunders, 467 (1977).

25. - Dabrowiak, J.C., Greenaway, F.T. and Grulich, R., Biochemistry, 17, 19, 4090 (1978).
26. - Sugiura, Y., J. Am. Chem. Soc., 102, 16, 5208 (1980).
27. - Gillard, R., Comprehensive Coordination Chemistry, McCleverty J.A., 6, 755 (1987).