

UNIVERSIDAD DE SONORA

**DIVISION DE INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN EN POLÍMEROS Y
MATERIALES**

**Relación estructura-estabilidad de la formación de
complejos de Cu(II) y Fe(III) a partir de un ciclofano y su
análogo de cadena abierta así como su posible uso como
agentes biomiméticos de peroxidasa**

TESIS

**Presentada al Departamento de Polímeros y Materiales como requisito
parcial para obtener el grado de:**

MAESTRO EN CIENCIA DE MATERIALES

Por:

MELISSA BELTRAN TORRES

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



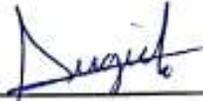
**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



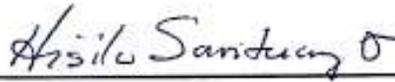
Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

FORMA DE APROBACIÓN

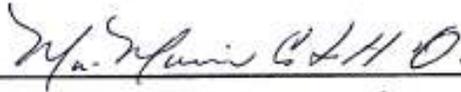
Los miembros del jurado para revisar la tesis profesional de **Melissa Beltran Torres**, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el título de **Maestro en Ciencia**



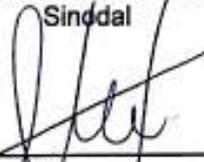
Dra. Rocío Sugich Miranda
Presidenta



Dra. Hisila del Carmen Santacruz Ortega
Secretaria



Dra. María Mónica Castillo Ortega
Sinodal



Dr. Alex Salazar Medina
Sinodal suplente



Dr. Rogerio Rafael Sotelo Mundo
Sinodal externo

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad de Sonora y a los profesores por haberme otorgado el conocimiento necesario para poder llevar a cabo mi formación académica y esta tesis. De igual manera al Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales (DIPM) por dejarme usar el equipo y materiales necesarios para realizar este trabajo.

Agradezco a todos los estudiantes de posgrado del DIPM al igual que los profesores por guiarme al momento de realizar mis experimentos. De manera especial quiero agradecer a la Dra. Hisila Santacruz Ortega por siempre responder mis dudas. A los estudiantes del pasillo, Luis, Astrid, Karla, Octavio, Oswin y Bruno. También a mi novio Abraham por ayudarme durante todo este proceso.

A mi directora de tesis, Dra. Rocío Sugich por confiar en mí y tener la paciencia suficiente y sobre todo por compartir su conocimiento conmigo. A mi hermano esclavo Alberto.

Especialmente al Dr. Miguel A. Costas Basín, por su valiosa contribución en la parte de calorimetría desarrollada en este trabajo.

DEDICATORIA

A mi familia por supuesto por siempre confiar en mí, a mis padres por ser un ejemplo a seguir y a mis hermanos, Karla Sofía y Sael.

A mis amigos quienes siempre me han escuchado y me han hecho sonreír en momentos difíciles.

CONTENIDO

FORMA DE APROBACIÓN	[Error! Marcador no definido.
AGRADECIMIENTOS	3
DEDICATORIA	4
CONTENIDO	4

LISTA DE FIGURAS.....	6
LISTA DE TABLAS	8
RESUMEN.....	9
ABSTRACT	10
INTRODUCCIÓN	11
OBJETIVOS	14
Objetivo General.....	14
Objetivos Particulares.....	14
ANTECEDENTES	15
Compuestos de coordinacion	15
Metales de transición.....	18
Teoría de Werner	19
Numero de coordinación y geometrías.....	19
Numero de coordinacion seis	21
Teoría de ácidos y bases duros y blandos de Pearson.....	22
Teoria del campo cristalino (TCC).....	22
Desdoblamiento del campo cristalino	23
El efecto Jahn-Teller.....	24
Teoría del orbital molecular (TOM).....	25
Bandas de transferencia de carga.....	27
TTCLM.....	27
TTCML.....	27
Ligantes	28
El efecto quelato.....	30
El efecto macrocíclico.....	31
Estabilidad del complejo metálico	33
Calorimetría de Titulación Isotérmica	34
Calorimetría de titulación isotérmica (ITC) aplicada al estudio de compuestos de coordinación	36
Constante de equilibrio	37
Biomimética	38
Oxireductasas.....	39
Peroxidasas y catalasas	40
Biomimeticos de peroxidasa.....	42
METODOLOGÍA.....	45
MATERIALES.....	45

MÉTODOS	46
Síntesis de edtaodH ₂	46
Síntesis de edtabzH ₂	46
Formación de los complejos de cobre y hierro	47
Formación de los cristales del ligante edtabz	47
Formación de los cristales de los complejos de hierro	47
Especies formadas del ligante edtabz en medio acuoso por RMN	48
Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....	48
Espectroscopia de UV-Visible (UV-Vis).....	48
Espectroscopia Fotoelectrónica de Rayos-X (XPS)	48
Espectroscopia de Masas tipo Electrospray (ESI-MS).....	49
Calorimetría de Titulación Isotérmica	49
Actividad peroxidasa (Amplex® Red Hydrogen Peroxide/Peroxidase Assay Kit)	50
 RESULTADOS Y DISCUSION.....	 51
Síntesis de los ligantes: edtaodH ₂ y edtabzH ₂	51
Complejación de Cu ²⁺ y Fe ³⁺ en solución acuosa	53
Calorimetría de titulación isotérmica: formación de los complejos	57
Caracterización en sólido	59
Espectroscopia fotoelectronica de rayos-x (XPS)	60
Análisis de rayos X	61
Actividad peroxidasa de los complejos y los ligantes	67
 CONCLUSIÓN	 69
PERSPECTIVAS.....	70
BIBLIOGRAFÍA.....	71

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ligantes derivados de EDTA utilizados en este trabajo.....	13
Figura 2. Representación esquemática de la formación de un compuesto de coordinación	16
Figura 3. Prototipo de molécula de porfirina (II) clorofila (III) grupo hemo.	18
Figura 4. Ejemplos de algunos complejos con su geometría de coordinación.....	20
Figura 5. Diferentes distorsiones de la geometría octaédrica.	21
Figura 6. Cambios de energía de los electrones que ocupan los orbitales d en un ion Mn ⁺ cuando este último se encuentra en un campo cristalino octaédrico.	23

Figura 7. Diagramas de desdoblamiento de un campo cristalino octaédrico (izquierda) y de un campo tetraédrico (derecha).....	24
Figura 8. Efecto de la interacción entre A) ligantes donadores π y un ion d^0 sobre la apertura del campo cristalino Δ y B) entre ligantes aceptores y un ion d^6 sobre la apertura del campo cristalino Δ	26
Figura 9. Representación de un complejo metálico con EDTA.	28
Figura 10. Complejación de cadmio con etilendiamina y metilamina. La constante de formación es mayor con etilendiamina por el efecto quelato.	31
Figura 11. Diferentes modos de coordinación de un macrociclo.....	32
Figura 12. Representación esquemática de un experimento por calorimetría de titulación isotérmica.	35
Figura 13. Los cinco estados de oxidación de la peroxidasa de rabano.....	42
Figura 14. Activadores de peróxido Fe^{III} -TAML. Fuente: Ghosh y col, 2008.....	43
Figura 15. Estructuras moleculares propuestas para los complejos tipo ciclofano de hierro (III) Fe_2PO y Fe_2PC . Fuente: Salazar-Medina y col, 2013.	44
Figura 16. Esquema representativa de la reacción de condensación para la formación del ligante edtabzH ₂	47
Figura 17. Distribución de especies de edtabz por potenciometría.....	52
Figura 18. Espectros de las titulaciones de cobre y hierro con los ligantes edtabz y edtaod a pH 3.0.....	54
Figura 19. Espectro de UV-Visible de la titulación de cobre al ligante edtabz a pH 8.....	55
Figura 20. Espectro de UV-Vis del complejo Cu-edtabz a diferentes valores de pH.	56
Figura 21. Titulaciones microcalorimétricas a 298.15K de edtaod y edtabz con cobre y hierro a pH 3.	58
Figura 23. Estructura molecular zwitteriónica del ligante edtabzH ₂	61
Figura 24. Perspectiva molecular de la estructura $\{[Fe(edtaod)]_2O\}$	63
Figura 25. Perspectiva molecular del ambiente de coordinación de los átomos de hierro(III) en la estructura molecular de $\{[Fe(edtaod)]_2O\}$	63
Figura 26. Perspectiva molecular de la estructura $[Fe(edtabz)]^+$	66
Figura 27. Representación esquemática de la actividad peroxidasa de los complejos de hierro.	68

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Compuestos de coordinación utilizados en diversas áreas de la salud... 16	16
Tabla 2. Biblioteca química obtenida en el DIPM a partir de edta, y diferentes aminas	29
Tabla 3. Parámetros utilizados en los experimentos de ITC.....	49
Tabla 4. Parámetros termodinámicos obtenidos por ITC y por UV-Vis para complejacion 1:1 de los ligantes edtaod y edtabz con cobre y hierro en buffer de diftalato de potasio (0.05M, pH 3.0) a 298.15K.....	53
Tabla 5. Propiedades fisicoquímicas de los ligantes y sus complejos.	59
Tabla 6. Valores obtenidos por las técnicas de IR y XPS de los ligantes y sus respectivos complejos de cobre y hierro.	59
Tabla 7. Datos cristalograficos seleccionados para los compuestos: edtaodH ₂ •H ₂ O, [Cu(edtaod)]•H ₂ O, { [Fe(edtaod)] ₂ O }•4.4H ₂ O, [edtabz]•2H ₂ O y [Fe(edtabz)][NO ₃]•5.5H ₂ O	62
Tabla 8. Longitudes de enlace (Å) y angulos (°) para { [Fe(edtaod)] ₂ O }•4.4H ₂ O.	64
Tabla 9. Longitudes de enlace (Å) y angulos (°) para [Fe(edtabz)][NO ₃]•5.5H ₂ O. .	66

RESUMEN

Un nuevo ligante de cadena abierta sintetizado a partir de EDTA y anilina a través de una reacción de condensación fue obtenido con buen rendimiento. El ligante se le nombró edtabzH₂. Su comportamiento ácido-base fue estudiado por potenciometría, espectroscopia UV-Vis y titulaciones de ¹H NMR. El ligante cristalizó como un monohidrato en un grupo espacial de *P2₁2₁2₁* con $a = 7.3272(5) \text{ \AA}$, $b = 13.6323(10) \text{ \AA}$, $c = 23.8535(18) \text{ \AA}$, y $Z = 4$. Se realizaron estudios comparativos de coordinación con Fe³⁺ y Cu²⁺ del ligante edtabzH₂ y edtaodH₂, este último es un derivado macrocíclico de EDTA y o-fenilendiamina. Estos estudios fueron llevados a cabo por ITC y UV-Vis. El sistema Cu-edtabz fue el que presentó la constante de formación más grande determinada por ambas técnicas. Fe(edtabz)H₂O]NO₃·4.5H₂O cristalizó en un grupo espacial *P2₁/c* con $a = 12.1188(8) \text{ \AA}$, $b = 18.1908(12) \text{ \AA}$, $c = 14.0536(9) \text{ \AA}$, y $Z = 2$; la esfera de coordinación consiste de dos oxígenos de los carboxilatos, dos oxígenos de las amidas, dos nitrógenos de las aminas y un oxígeno de una agua, lo que da como resultado una geometría bipiramidal pentagonal distorsionada. El ligante macrocíclico formó un complejo dimerico {[Fe(edtaod)]₂O}·4.4H₂O con un grupo espacial *Pbca* con $a = 18.0203(18) \text{ \AA}$, $b = 18.028(2) \text{ \AA}$, $c = 22.855(3) \text{ \AA}$, y $Z = 8$; cada complejo presenta una geometría octaédrica la cual es formada por dos oxígenos de los carboxilatos, dos nitrógenos de las aminas, un oxígeno de la amida y un oxígeno. El ion metálico en este complejo se encuentra ligeramente sobre expuesto de la cavidad para formar un puente Fe-O-Fe con otro complejo. Este complejo de hierro dimerico presenta una actividad parecida a la peroxidasa.

ABSTRACT

A new open-chain ligand has been synthesized from EDTA and aniline: the ligand was named edtabzH₂. The acid–base behavior was studied by potentiometric, UV-Vis and ¹H NMR titrations. The ligand is crystallized as a monohydrate in the space group *P*2₁2₁2₁ with *a* = 7.3272(5) Å, *b* = 13.6323(10) Å, *c* = 23.8535(18) Å, and *Z* = 4. Comparative studies of Fe³⁺ and Cu²⁺ coordination chemistry of edtabzH₂ and edtaodH₂ (a macrocyclic derivative of EDTA and *o*-phenylenediamine) have been performed by ITC and UV-Vis methods. Cu–edtabz presents the largest formation constant determined by both techniques. [Fe(edtabz)H₂O]NO₃·4.5H₂O crystallizes in space group *P*2₁/*c* with *a* = 12.1188(8) Å, *b* = 18.1908(12) Å, *c* = 14.0536(9) Å, and *Z* = 2; the coordination sphere consists of two carboxylate oxygens, two amide oxygens, two amino nitrogens and water oxygen; the resulting geometry is a distorted pentagonal bipyramid. The macrocycle forms dimeric complex {[Fe(edtaod)]₂O}·4.4H₂O in space group *Pbca* with *a* = 18.0203(18) Å, *b* = 18.028(2) Å, *c* = 22.855(3) Å, and *Z* = 8; each chelate has octahedral geometry consisting of two carboxylate oxygens, two amino nitrogens, one amide oxygen, and a bridging oxygen; the metal ion is slightly overexposed over the cavity to form an Fe–O–Fe bridge with another metal chelate. This dimeric Fe³⁺ complex presents a high peroxidase-like biomimetic activity.

INTRODUCCIÓN

Los compuestos de coordinación con metales de transición han sido investigados extensivamente desde hace tiempo. Su estudio en áreas biológicas no es la excepción, dado que existe una buena cantidad de reacciones en que se encuentran involucrados los metales de transición en sistemas vivos. Desde hace años se conoce que el complejo de magnesio llamado clorofila es el encargado de proveerle el color verde a las plantas y se encuentra estrictamente relacionado con el sistema de fotosíntesis. Por otro lado, la hemoglobina, la cual es un complejo de hierro sumamente importante en el ser humano ya que se encarga del almacenamiento y transporte de oxígeno. Y por último, uno o varios iones metálicos presentan funciones específicas en enzimas. Las enzimas son moléculas orgánicas que actúan como catalizadores de reacciones químicas, es decir aceleran la velocidad de reacción.

Las enzimas oxidorreductasas juegan un papel importante en el metabolismo aeróbico y anaeróbico. Las oxidorreductasas son una clase de enzimas que catalizan reacciones de oxidorreducción, esto implica la transferencia de electrones de una molécula (el oxidante) hacia otra molécula (el reductor). Dentro de esta categoría de enzimas oxidorreductasas se incluyen las peroxidasas, hidroxilasas, oxigenasas y reductasas. En las últimas décadas han aumentado el interés y el estudio de las oxidorreductasas, debido a que enzimas como la superóxido dismutasa son la primera línea de defensa que tiene el cuerpo para combatir a las especies reactivas de oxígeno. Las especies reactivas de oxígeno (ROS) como el radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y anión superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) son la fuente principal del estrés oxidativo en las células, lo que conlleva daños a las proteínas, lípidos y ADN. El daño oxidativo causado al ADN se ha visto implicado en provocar cáncer, envejecimiento, enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer y Parkinson, enfermedades cardiovasculares como arteriosclerosis y la principal causa de muerte celular y de daño tisular que resulta en ataque al corazón y embolias. (Perron & Brumaghim, 2009).

El fundamento de defensa básico es prevenir la interacción entre las ROS y las moléculas biológicas, donde un antioxidante debe estar presente en el sitio de producción del radical para competir con el sustrato biológico por el radical. En general hay dos tipos de defensa (Kohen, 1999, Dizdaroglu et al., 2002):

1. Mecanismos de defensa contra el estrés oxidativo: mecanismos de reparación de DNA (enzimas), mecanismos previsoros (prevención de producción de ROS por quelación de metales) y defensas físicas (estabilización de sitios biológicos e interferencia estérica).
2. Mecanismos de defensa antioxidante: enzimas antioxidantes de acción directa (superóxido dismutasa, catalasa, peroxidasa) y de soporte (glucosa 6-fosfato deshidrogenadas), antioxidantes de bajo peso molecular de acción directa (productos de desecho, sintetizados por la célula o provenientes de la dieta) e indirecta (quelación de metales).

En los últimos años el concepto llamado biomimética ha sido utilizado por varios campos de la ciencia con la finalidad de obtener sistemas sintéticos imitando la actividad de algo en específico en la naturaleza. En el caso de enzimas, varios han sido los intentos para obtener complejos metálicos que funcionen como modelos sintéticos capaces de llevar a cabo la actividad de dismutación imitando a una enzima en su ambiente natural. Sin embargo, no es tarea fácil sintetizar un complejo metálico que presente actividad y no se disocie al momento de entrar en contacto con otras moléculas. Por lo anteriormente mencionado, es importante tener conocimiento de todos los factores que afectan la estabilidad de los complejos metálicos.

La estabilidad del complejo metal-ligante depende del tipo de átomos donadores, el tamaño de la cavidad, el catión en solución, el pH y las energías de unión de complejación. La investigación de los parámetros termodinámicos es esencial para tener un profundo entendimiento del efecto que tiene el anfitrión sobre la formación del complejo con el catión huésped y el solvente en que se lleva a cabo la reacción. Como ejemplo, en un estudio realizado por Amisalan y colaboradores, determinaron la estequiometría, la constante de estabilidad y los parámetros termodinámicos de la complejación de una diamida macrocíclica con metales de transición divalentes Co(II), Ni(II), Cu(II) y Zn(II) utilizando calorimetría de titulación isotérmica (ITC) en metanol a 25 °C con el fin de evaluar la fuerza impulsora de cada sistema y la preferencia de la diamida macrocíclica por cierto metal de transición (Amilasan y col, 2010)

Debido a la funcionalidad que pueden presentar los macrociclos, en el Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales (DIPM) se han trabajado una serie de ciclofanos derivados de EDTA y sus complejos con cobre y hierro, en particular el complejo binuclear Fe_2PO el cual fue estudiado en aceite de pescado de arenque

americano en donde se evaluó su efecto antioxidante resultando efectivo en retrasar la oxidación del aceite (López, 2016). Con la información recolectada sobre la capacidad antioxidante que estos compuestos de coordinación pueden tener, existe el interés de estudiar los parámetros termodinámicos de la formación de estos complejos debido a que nos aportaría valiosa información sobre el tipo de sistema, si son sistemas guiados entálpica o entrópicamente, así como también conocer la estabilidad de tal complejo.

Comúnmente, los complejos macrocíclicos presentan una mayor estabilidad termodinámica y cinética a diferencia de los complejos con ligantes de cadena abierta (Vafazadeh y Zare-Sadrabadi, 2015). El balance entre rigidez y flexibilidad es de particular importancia en las propiedades dinámicas y de unión de los ligantes. Se espera que los receptores rígidos que llevan a cabo el reconocimiento molecular del tipo llave-cerradura presenten reconocimiento muy eficaz: alta estabilidad y selectividad. Por otra parte, aquellos receptores flexibles que llevan a cabo la unión a través del proceso del ajuste inducido pueden presentar alta selectividad, pero baja estabilidad debido a que la mayoría de la energía de unión es usada para llevar a cabo el cambio conformacional del receptor (Lehn, 1995).

El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto que tiene la topología de los ligantes derivados de EDTA, uno acíclico y uno cíclico (Figura 1) y el ion metálico, Cu^{2+} y Fe^{3+} , en la formación de compuestos de coordinación y su posible uso como agentes biomiméticos de POx a través de técnicas espectroscópicas y calorimétricas

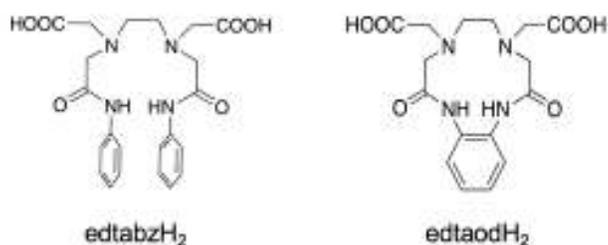


Figura 1. Ligantes derivados de EDTA utilizados en este trabajo.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el efecto que tiene la topología de los ligantes derivados de EDTA y el ion metálico, Cu^{2+} y Fe^{3+} , en la formación de compuestos de coordinación y su posible uso como agentes biomiméticos de POx a través de técnicas espectroscópicas y calorimétricas

Objetivos Particulares

- Sintetizar y caracterizar el ligante edtabzH₂ mediante una reacción de condensación de EDTA dianhidrido y la anilina.
- Caracterizar los ligantes edtabzH₂ y edtaodH₂, así como los complejos de Cu y Fe por métodos físicos y espectroscópicos.
- Evaluar los parámetros termodinámicos, ΔH , ΔG , ΔS , K_a y n de la formación de los complejos de Cu^{2+} y Fe^{3+} con edtaodH₂ y edtabzH₂.
- Evaluar la actividad peroxidasa de los complejos de cobre y hierro.

ANTECEDENTES

Compuestos de coordinación

Se denominan ligantes a los grupos que rodean directamente un catión y se llama química de coordinación a la rama de la química inorgánica relacionada con el comportamiento combinado de los cationes y sus ligantes. La justificación principal para la clasificación de muchas sustancias como compuestos de coordinación radica en que su química puede describirse convenientemente considerando la existencia de una especie central, M^{n+} , esencialmente constante alrededor de la cual puede situarse una variedad de ligantes L, L', L'', etc..., mediante un número de combinaciones. La carga total del complejo resultante está determinada por la carga de M y la suma de las cargas de los ligantes. Los compuestos de coordinación normalmente se asocian con colores, los cuales van a depender de una serie de factores, son estos factores los que ayudan a elucidar y entender la química de estos compuestos. Algunas de estas sustancias se usan en pigmentos para pintura; otros producen los colores del vidrio y las piedras preciosas (Cotton y Wilkinson, 2008).

Un complejo de coordinación se forma por interacción de un ligante con un catión, particularmente, un metal de transición. Dicha interacción se puede ver como reacciones ácido-base de Lewis; el ligante funciona como base al donar uno o más pares de electrones, y el ion metálico actúa como ácido de Lewis. De esta manera, los enlaces metal-ligante casi siempre son enlaces covalentes coordinados (Chang, 2010).

En la figura 2 se puede apreciar de forma simplificada la formación de un compuesto de coordinación. En un típico enlace covalente, como el que se puede encontrar entre carbono e hidrógeno en el metano, se considera que cada átomo contribuye un electrón para formar el enlace compuesto de dos electrones-dos centros. Sin embargo, se puede visualizar otro tipo de enlace covalente en el cual se mantiene el enlace con dos electrones, pero en este caso ambos electrones provienen de un átomo o una molécula. Este tipo de enlace se le conoce como el enlace coordinado, covalente dativo o enlace donador-aceptor. Este tipo de enlace es el que presentan los compuestos de coordinación.

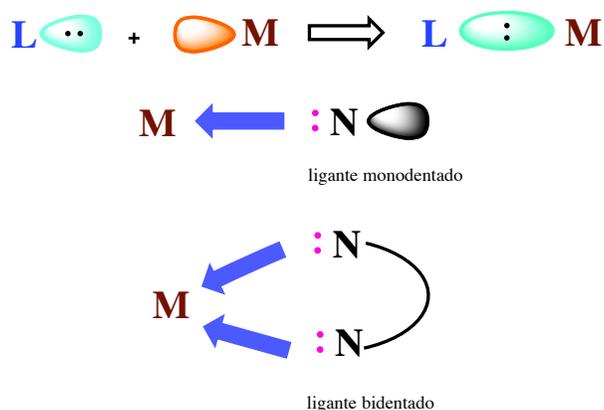


Figura 2. Representación esquemática de la formación de un compuesto de coordinación. Fuente: Selvaganapathy y Raman, 2016.

El tipo de metal, así como del ligante tiene un uso específico ya que la estabilidad del complejo metal-ligante depende del tipo de átomos donadores, el tamaño de la cavidad del ligante, el catión en solución, el pH y las energías de unión de complejación. En la Tabla 1 se presentan algunas aplicaciones de los compuestos de coordinación. Cada metal presenta ciertas características que lo convierten específico para cierto uso.

Tabla 1. Compuestos de coordinación utilizados en diversas áreas de la salud. Fuente: Sekhon y Gandhi, 2006

Elemento	Compuesto	Uso
Ag	sulfadiazina de plata	antibacterial
Au	tiolatos de oro(I) auranofin	antitumoral tratamiento para artritis reumatoide
Bi	subsalicilato de bismuto subcitrato de bismuto coloidal citrato bismuto de ranitidina	antiacido antiulceras
Co	coenzima B12	suplemento
Fe	Nitroprusiato	vasodilatador
Cu	complejo de histidina de cobre	Suplemento para el tratamiento de la enfermedad de Menkes
Se	ebselen	antioxidante sintético

El estudio de los compuestos de coordinación es importante para entender aspectos biológicos, ya que los metales están involucrados en muchos procesos bioquímicos. La importancia del sodio, calcio y hierro se conoce desde hace mucho tiempo, pero también son necesarios para la vida muchos metales como cobre, zinc, manganeso, molibdeno y cobalto.

Uno de los modos más importantes de participación de los iones metálicos en los sistemas biológicos consiste en formar parte de complejos con un tipo de ligante macrocíclico denominado porfirina. En la figura 3I, se muestra la molécula de porfirina y en las figuras 3II-3III se muestran los dos complejos metálicos más importantes, la clorofila y hemo. En las plantas verdes, la clorofila en el cloroplasto se encarga de absorber los fotones en la zona roja del espectro visible y la transfiere a otras especies en la cadena de reacción. Sin este complejo de manganeso no sería posible la fotosíntesis. Por otro lado, el grupo hemo (figura 3III) es importante para llevar a cabo actividades en el cuerpo porque (1) transportan el oxígeno y (2) participan en las cadenas de transferencia electrónica. En consecuencia, se requiere tanto hierro para estos propósitos que existe así mismo un sistema químico para almacenarlo y transportarlo.

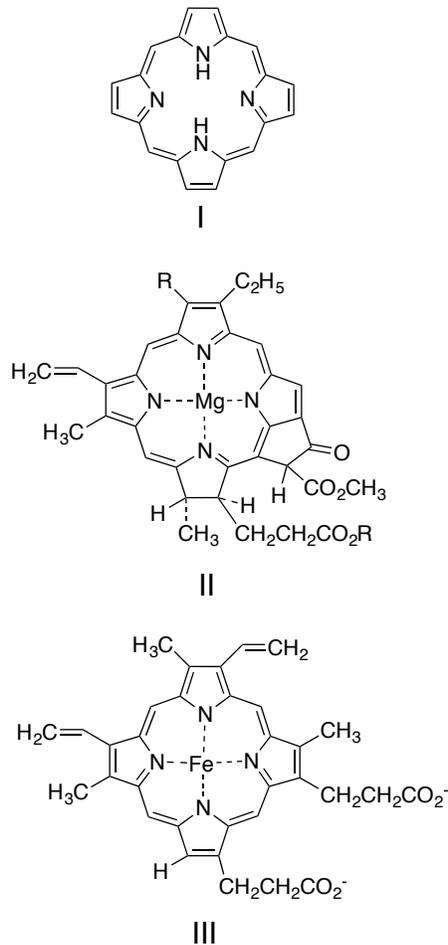


Figura 3. (I) prototipo de molécula de porfina (II) clorofila (III) grupo hemo.

Metales de transición

La química de los metales de transición ha sido estudiada por muchos años. Los elementos van desde lo general hasta lo extremadamente raro. La mayoría de los elementos se conocen en su estado nativo como por ejemplo el hierro es el cuarto elemento mas abundante en la corteza terrestre y el oro y la plata se conocen en su estado nativo desde la antigüedad, pero el tecnecio es un elemento preparado en el laboratorio. Entre las características que presentan los metales de transición están que todos exhiben un aspecto metálico plateado, a excepción del oro y el cobre que presentan coloración rojiza, además que todos son sólidos a excepción del mercurio. Otra característica es que la mayoría de los compuestos inorgánicos que contienen elementos de transición son coloridos, muchos pigmentos son derivados de estos elementos, pero hay que aclarar que no todos los compuestos de elementos de transición presentan color. Es difícil encontrar una definición

única que abarque satisfactoriamente todos los elementos de transición, pero una definición es que los elementos de transición poseen orbitales de valencia llenos o parcialmente llenos en uno o más de sus estados de oxidación (Gerloch y Constable, 1994)

Los metales de transición son cofactores comunes en enzimas y permiten que la catálisis tome lugar por barreras de reacción las cuales son accesibles a temperatura ambiente. Las metaloenzimas que son activadas por oxígeno son una especie versátil en la naturaleza que se encuentran involucradas en procesos importantes que pueden ir desde la biodegradación a la biosíntesis. Debido a que los intermediarios activados por oxígeno no son fáciles de estudiar, la investigación se ha dirigido en utilizar modelos biomiméticos que presenten un sitio de coordinación y características estructurales que pueden ser estudiadas en solución. Para una mejor comprensión sobre los compuestos de coordinación a continuación se describen algunas teorías.

Teoría de Werner

El Químico Suizo Alfred Werner (1866-1919, premio nobel en 1913), cuya especialidad era la estereoquímica orgánica, llevó a cabo los primeros estudios sobre “compuestos complejos”. Werner utilizó datos de conductividad iónica, patrones de reacción e interpretación de isomerismo óptico y geométrico para elucidar los principales rasgos estructurales de los complejos. La teoría de coordinación de Werner, dada a conocer en 1893, fue antes del descubrimiento del electrón por J.J. Thomson en 1896 y antes de la teoría electrónica de valencia. Werner postuló que un ion metálico podía presentar dos tipos diferentes de valencias (Chang, 2010, Shriver y Atkins, 2010):

1. Valencia Primaria: se refería al número de grupos aniónicos asociados con el compuesto (actualmente conocido como estado de oxidación del metal).
2. Valencia Secundaria: se refería al número total de grupos, tanto aniónicos como neutros unidos al ion metálico (actualmente conocido como número de coordinación).

Número de coordinación y geometrías

Al estudiar la geometría de los compuestos de coordinación, a menudo se encuentra que existen varias maneras de acomodar los ligandos alrededor del átomo central. Cada una de las estructuras tiene distintas propiedades químicas y físicas. Se conoce como esfera

primaria de coordinación en un complejo al número de ligandos que se encuentran unidos directamente al ion metálico central; aunque este número puede estar entre dos y nueve, los valores más comunes en los metales de transición son 2, 4 ó 6, dependiendo del tamaño, de la configuración electrónica del átomo metálico y de la carga. Los electrones de la capa de valencia se hibridizan dando origen a nuevos orbitales y permitiendo así diferentes motivos geométricos. La geometría del complejo se ve modificada por el número de coordinación, pero un ion metálico puede tener más de un número de coordinación según el tipo de ligando; esta situación origina así mismo diferentes geometrías. En la figura 4 se muestran algunos ejemplos de geometrías de coordinación (Chang, 2010; Shriver y Atkins, 2010; Gispert, 2000).

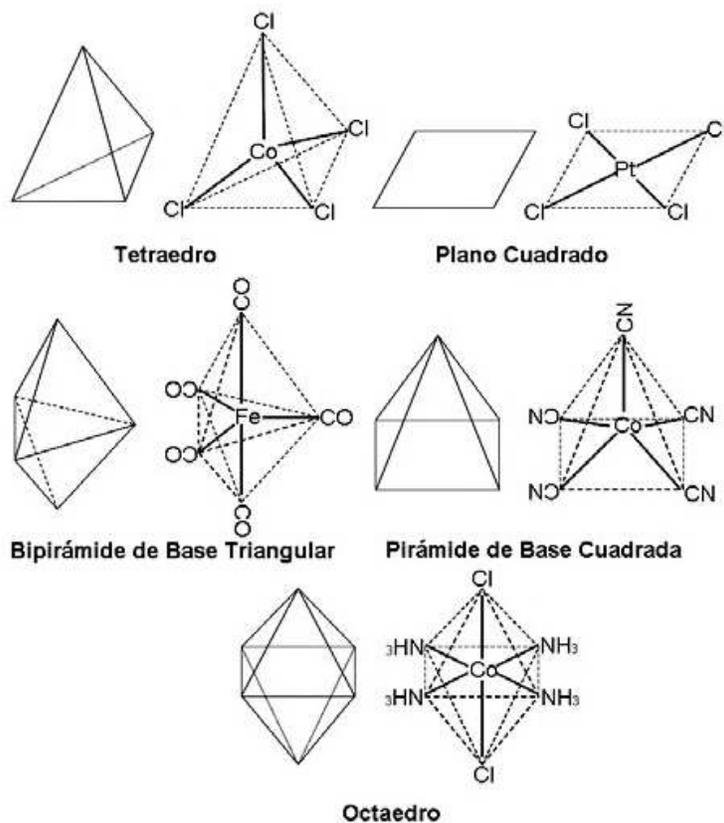


Figura 4. Ejemplos de algunos complejos con su geometría de coordinación.

Número de coordinación seis

Casi todos los cationes forman complejos hexacoordinados. La geometría predominante es la octaédrica, y ésta se ha encontrado en complejos de metales de transición con configuraciones que van desde la d^0 hasta la d^{10} . El octaedro se suele representar como un cuadrado plano con ligandos arriba y abajo del plano. Sin embargo, también se conocen muchos complejos con geometría de prisma trigonal.

En un complejo octaédrico regular, todos los ligandos y todos los enlaces M-L son equivalentes. Sin embargo, al igual que en otras geometrías, puede haber distorsiones de la geometría regular. La más común de ellas es la *distorsión tetragonal*, que consiste en la compresión o en la elongación de uno de los ejes L-M-L. El origen de este tipo de distorsión puede ser estérico (por ejemplo, cuando dos ligandos son significativamente diferentes a los otros cuatro) o electrónico (efecto Jahn-Teller). También pueden ocurrir la *distorsión rómbica*, en la cual un par de ligantes *trans* se encuentra cerca y otro par se encuentra lejos, y la *distorsión trigonal*, en la cual dos caras opuestas del octaedro se separan y dan lugar a una gran familia de estructuras intermedias entre las octaédricas normales y las prismáticas trigonales (Figura 5) (Gerloch y Constable, 1994).

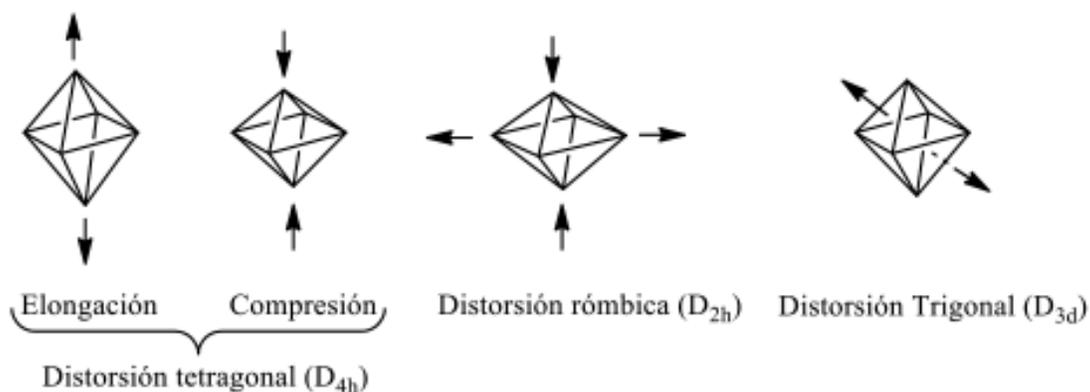


Figura 5. Diferentes distorsiones de la geometría octaédrica.

Teoría de ácidos y bases duros y blandos de Pearson.

En 1963 Pearson sugirió una denominación para identificar cuales sustancias forman los complejos más estables y las dividió en dos grupos, en duros y blandos. Las especies duras (ácidos o bases) tienden a ser pequeñas, poco polarizables, mientras que las especies blandas tienden a ser grandes y polarizables. Los cationes duros son "similares" al protón: relativamente pequeños, carga alta y con pocos electrones de valencia que pueden ser polarizados. Los metales blandos son grandes, poca carga y con electrones de valencia que pueden ser polarizados. Pearson sugirió la siguiente regla; ácidos duros tienden a combinarse con bases duras y ácidos blandos tienden a combinarse con bases blandas (Gispert, 2000).

Teoría del campo cristalino (TCC)

Los compuestos de los elementos de transición se distinguen de los compuestos de los elementos representativos por dos propiedades. La primera es el color, la mayoría de los compuestos de elementos de transición presentan color, aquí los incoloros son la excepción, mientras que los compuestos que solo tienen elementos representativos no presentan color. La segunda propiedad es que la mayoría de los compuestos con elementos de transición presentan actividad magnética, que es un reflejo de su tendencia a poseer electrones no apareados.

La idea esencial del modelo de la TCC es que la esfera de coordinación, en un cristal o en un complejo, los aniones o ligantes que se encuentran alrededor de un ion metálico, se comportan como un conjunto de cargas negativas puntuales que interactúan repulsivamente con los electrones de los orbitales d del catión metálico central. Si el campo electrostático (el campo cristalino) fuese esférico, la energía de los cinco orbitales $3d$ se elevaría (se desestabilizarían) en la misma proporción, pero como los orbitales atómicos d_{z^2} y $d_{x^2-y^2}$ señalan directamente a los ligantes mientras que los orbitales atómicos d_{xy} , d_{yz} y d_{xz} están dirigidos entre ellos, los orbitales d_{z^2} y $d_{x^2-y^2}$ están desestabilizados en mayor medida que los orbitales atómicos d_{xy} , d_{yz} y d_{xz} (Figura 6) (Cotton y Wilkinson, 2008).

En la Figura 6 se muestra una representación de los orbitales $3d$ degenerados y como es que hay un desdoblamiento cuando se trata de complejo octaédricos: (a) el ion metálico M^{n+} y seis ligantes L se encuentran separados con una distancia infinita (b) si el campo electrostático creado por los ligantes de carga puntual es esférico, la energía de los electrones en los orbitales $3d$ se eleva de manera uniforme pero (c) si el campo

electroestático creado por los ligantes de carga puntual es octaédrico, la energía de los electrones en los orbitales $3d$ que señalan directamente a los ligantes es mas alta respecto a la del campo esférico, mientras que la energía de los electrones en los orbitales que están dirigidos entre los ligantes es mas baja con respecto a la del campo esférico (Butler, Harrod y Canales, 1998).

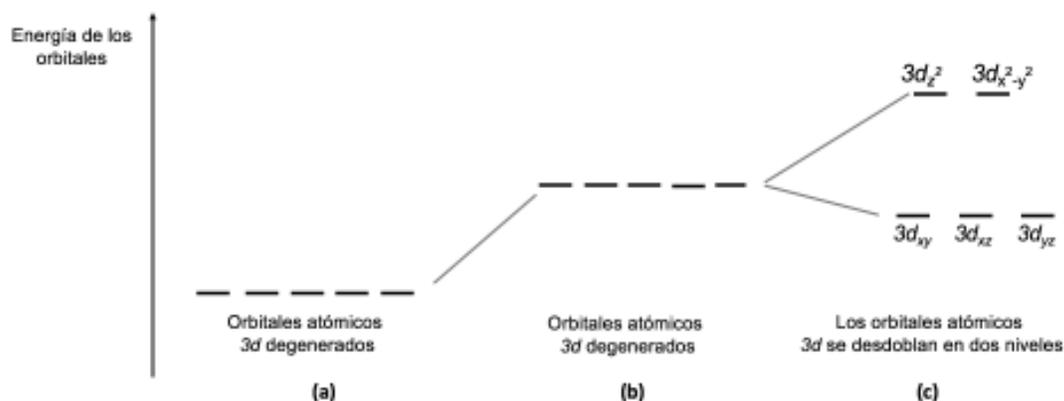


Figura 6. Cambios de energía de los electrones que ocupan los orbitales d en un ion Mn cuando este ultimo se encuentra en un campo cristalino octaédrico.

Desdoblamiento del campo cristalino

La diferencia de energías entre los dos conjuntos de niveles de energía en un campo cristalino se llama desdoblamiento del campo cristalino, que a veces se indica con $10 Dq$ o Δ . La cantidad Dq o $1/10 Dq$ se denomina parámetro del campo cristalino. En la figura 7 se muestran los diagramas para el campo cristalino octaédrico y tetraédrico. La línea punteada en el diagrama representa el centro de gravedad del conjunto de orbitales cuando están libres. En la figura se representan las energías de los niveles t y e en relación con el centro de gravedad. En el campo octaédrico está $4 Dq$ por arriba el conjunto t_{2g} y $6 Dq$ por debajo el conjunto e_g con respecto al centro de gravedad; En el sistema tetraédrico están $6 Dq$ por arriba el conjunto e y $4 Dq$ por debajo el conjunto t con respecto al centro de gravedad. Así, al aplicar o retirar el CC en un campo medio lleno o lleno no hay ganancia o pérdida de energía electrónica. La magnitud de Dq es una función de varios factores como son: (a) la identidad del ion metálico central, (b) la carga del ion metálico central, (c) la posición del elemento en su grupo, (d) la identidad del ligante. No hay una regla simple para relacionar Dq con el elemento particular. Diferentes ligantes producen distintos valores de Dq ; por

tanto, las posiciones de las bandas $d-d$ dependen de la naturaleza del ligante. Los ligantes pueden colocarse por orden creciente de su campo cristalino, y este orden es independiente de la naturaleza del metal. La secuencia de ligantes colocados en orden de la fuerza de su campo cristalino se llama serie espectroquímica. Una serie que comprende algunos de los ligantes que se encuentran con mucha frecuencia es la siguiente: $I^- < Br^- < S^{2-} < SCN^- < Cl^- < N_3^- < F^- < \text{urea} < OH^- < ox < O^{2-} < H_2O < NCS^- < pi < NH_3 < en < bpi < fen < NO_2^- < CH_3^- < C_6H_5^- < CN^- < CO$ (Butler, Harrod y Canales, 1998)

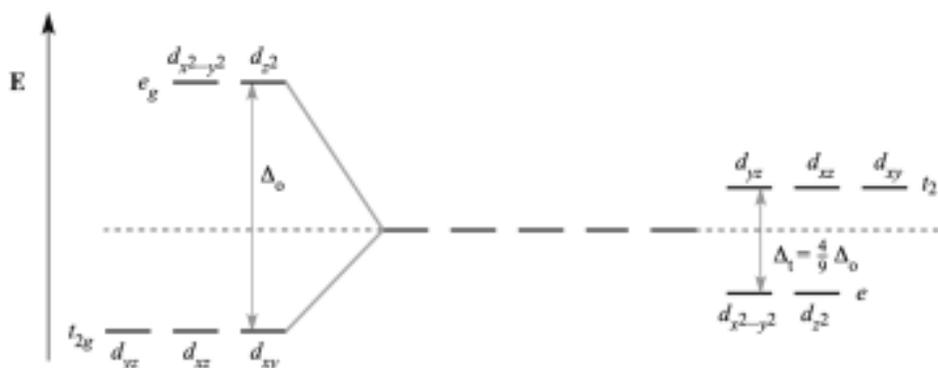


Figura 7. Diagramas de desdoblamiento de un campo cristalino octaédrico (izquierda) y de un campo tetraédrico (derecha).

El efecto Jahn-Teller

En 1937 Jahn y Teller mostraron que, en general, ninguna molécula no lineal puede ser estable en un estado electrónico degenerado. La molécula debe distorsionarse de tal modo que desaparezca la degeneración. Esta es la causa de que una de las áreas más importantes de aplicación de este teorema de Jahn-Teller sea la estereoquímica de los complejos de ciertos iones de metales de transición.

Consideraremos como ejemplo el de un ion Cu^{2+} coordinado octaédricamente. En este caso existe una vacante electrónica en los orbitales e_g , en cualquiera de los orbitales $d_{x^2-y^2}$ o d_{z^2} . Si la coordinación es estrictamente octaédrica, las dos configuraciones $d_{x^2-y^2} d_{z^2}$ y $d_{x^2-y^2} d_{z^2}$ son de la misma energía. En ese sentido, el estado electrónico del ion Cu^{2+} está doblemente degenerado. Sin embargo, de acuerdo con el teorema de Jahn-Teller, este estado no puede ser estable y el octaedro debe distorsionarse de manera que las dos configuraciones que acabamos de mencionar no posean igual energía. Si se supone que la configuración real en los orbitales e_g es $d_{x^2-y^2} d_{z^2}$. Los ligantes situados en el eje z están

mucho más apantallados de la carga del ion Cu^{2+} que los otros cuatro ligantes de los ejes x e y . Por tanto, los ligantes del eje z tienden a desplazarse hasta posiciones alejadas, pero cuando esto ocurre, el orbital d_z^2 llegará a ser más estable que el $d_{x^2-y^2}$ con lo que se elimina la degeneración. Es evidente que si se supone una configuración $d_{x^2-y^2} d_z^2$ cabría esperar una distorsión de la clase opuesta. Resulta difícil predecir cuál será la situación que se presentara en realidad, ya que de hecho existen aun otras posibilidades. No obstante, el primer tipo de distorsión mediante elongación de un eje es el que se observa en la práctica en un gran número de complejos de Cu^{2+} (Cotton y Wilkinson, 2008).

Teoría del orbital molecular (TOM)

La teoría del campo cristalino funciona satisfactoriamente para la mayor parte de los compuestos de metales de transición. Sin embargo, no es un modelo realista de las interacciones metal-ligante y hay algunos aspectos de la química de los metales de transición que no puede explicar; por ejemplo, por qué el ion cianuro es un ligante tan fuerte. La teoría del campo cristalino supone que la interacción entre el metal y el ligante es de naturaleza puramente electrostática, pero en realidad existen abundantes pruebas de que los orbitales del metal y los ligantes se traslapan, lo que confiere un alto grado de covalencia a los enlaces (Steed y col, 2007).

La teoría del orbital molecular (TOM) ofrece una imagen más elegante de los enlaces. Los metales de transición del periodo 4 los orbitales $4s$, $4p$ y algunos de los $3d$ intervienen en los enlaces. Los tres orbitales d que están orientados entre las direcciones de los ligantes, d_{xy} , d_{xz} y d_{yz} , no participan, y por tanto se convierten en orbitales moleculares no enlazantes. Los seis orbitales de los ligantes interactúan con los orbitales $4s, 4p, 3d_z^2$ y $3d_{x^2-y^2}$ para dar seis conjuntos de orbitales moleculares enlazantes y seis antienlazantes. Los seis pares de electrones de los ligantes llenan los seis orbitales enlazantes. De esta manera, con base en el modelo de orbitales moleculares se observa que es el abatimiento en la energía de los electrones de los ligantes lo que proporciona la fuerza impulsora para la formación de complejos. La TOM permite explicar las facetas de la química de los metales de transición que la TCL no puede explicar, en particular se puede explicar la fuerza del enlace metal-carbono en los complejos de cianuro y carbonilo ya que según la TCL considera que los enlaces metal-ligante son exclusivamente σ . Esto es ciertamente verdad en el caso de ligantes como el agua, pero no en el de muchos otros ligantes (Rayner-Canham, 2000).

Los iones metales de transición pueden interactuar con ligantes donadores π o aceptores π . Con ligantes donadores π , los iones pueden formar un enlace π compartiendo pares de electrones del sistema π lleno del ligante. A fin de tener una situación favorable para aceptar electrones, los orbitales d_{xy} , d_{xz} y d_{yz} deben estar vacíos. Por tanto, los complejos con ligantes que contienen orbitales p llenos capaces de formar un conjunto de orbitales π con la orientación correcta (como fluoruro y el óxido) tienden a estabilizar estados de oxidación altos de los iones metálicos. Como puede verse en la figura 7A, la energía de los pares de electrones de los ligantes baja, mientras que la de cualesquier electrones d del metal aumenta. La reducción en la separación del campo cristalino con los ligantes donadores π explica por qué tales ligantes están en una posición baja en la serie espectroquímica (Rayner-Canham, 2000)

Con ligantes aceptores π , los iones de los metales de transición pueden formar un enlace π compartiendo pares de electrones de los orbitales d_{xy} , d_{xz} y d_{yz} con un conjunto de orbitales π vacío de un ligante. En la figura 8B muestra la interacción entre el ligante donador π y los orbitales moleculares de un complejo octaédrico d^6 con bajo espín. En este caso, la fuerza impulsora es la disminución en la energía de los electrones del ion de metal. Por lo tanto, con ligantes aceptores π , los orbitales d_{xy} , d_{xz} y d_{yz} totalmente llenos dan pie a una situación de enlace óptima (Rayner-Canham, 2000)

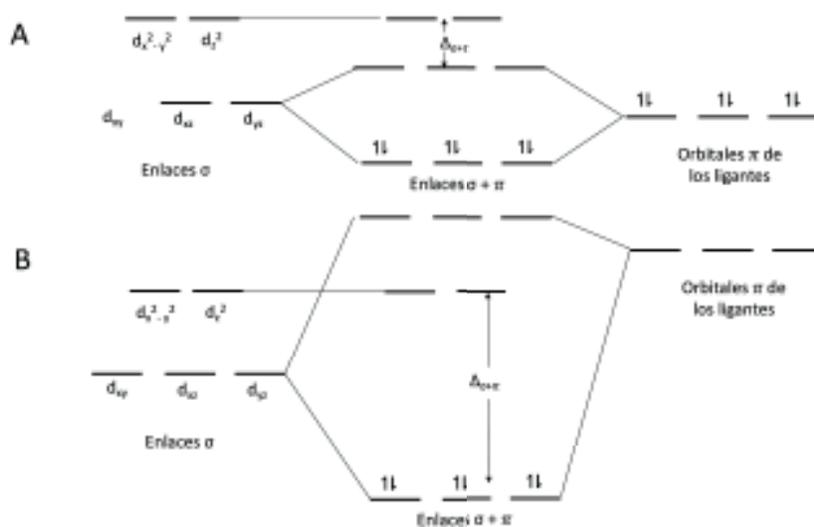


Figura 8. Efecto de la interacción entre A) ligantes donadores π y un ion d^0 sobre la apertura del campo cristalino Δ y B) entre ligantes aceptores y un ion d^6 sobre la apertura del campo cristalino Δ . Fuente: Rayner-Canham, 2000

Bandas de transferencia de carga

Los complejos con metales de transición se caracterizan por presentar color. Gracias a esta propiedad se pueden estudiar y entender los complejos ya que ayudan a conocer la geometría de coordinación de estos. Los espectros de absorción de estos compuestos muestran bandas cuyos máximos corresponden a la diferencia energética entre los estados electrónicos inicial (basal) y final (excitado). Para comprender la naturaleza de las transiciones de transferencia de carga (TTC) se requiere el enfoque de la teoría de orbital molecular.

Existen dos tipos de TTC:

1. Transiciones de Transferencia de Carga Ligando-Metal (**TTCLM**)
2. Transiciones de Transferencia de Carga Metal-Ligando (**TTCML**)

TTCLM: Este tipo de transiciones ocurren cuando un electrón es promovido desde un orbital con carácter fundamentalmente de ligando hasta un orbital con carácter fundamentalmente de metal. Las TTCLM se favorecen cuando los complejos están formados por: 1) metales que presentan orbitales vacíos de baja energía y 2) ligandos que contienen orbitales llenos de alta energía (pares electrónicos no enlazantes) que se pueden oxidar fácilmente. Los metales con estas características son los metales de transición en estados de oxidación elevados (M^{6+} , M^{7+}), los cuales tienen poca población electrónica en los niveles d (muchos de ellos son d^0). Los ligandos con estas características son los haluros más pesados (Cl^- , Br^- y I^-), los calcogénidos (S^{2-} , Se^{2-}) y el ión óxido (O^{2-}). Esta combinación hace que con frecuencia las TTCLM sean inducidas con luz del ultravioleta cercano e incluso con luz del rango visible (Gerloch y Constable, 1994).

TTCML: Estas transiciones se favorecen en complejos que tienen orbitales llenos de alta energía con carácter principalmente de metal y orbitales vacíos de baja energía con carácter principalmente de ligando. Estas características las cumplen los metales d en estados de oxidación bajos (M^{2+} , M^{3+}) y ligandos con orbitales π^* vacíos como, por ejemplo: CO , CN^- , SCN^- , así como moléculas como la piridina, pirazina y fenantrolina (Gerloch y Constable, 1994).

Ligantes

Cuando los ligantes presentan solo un átomo donador se les llama ligantes monodentados, el cloro es un ejemplo de estos, si presentan dos átomos donadores se les llama bidentados, como ejemplo la etilendiamina. Si ya presenta mas de tres átomos donadores se les llama polidentados, como ejemplo está el EDTA (Figura 9). El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) es un ácido orgánico tetra carboxílico derivado del etano por aminación de sus dos grupos metilo y posterior di acetilación de cada uno de los grupos amino. El ácido etilendiaminotetraacético, tiene cuatro carboxilo y dos grupos amino; grupos que pueden actuar como donantes de pares electrones, o bases de Lewis. La capacidad de EDTA para potencialmente donar sus seis pares de electrones para la formación de enlaces covalentes coordinados a cationes metálicos hace al EDTA un ligando hexadentado. Los cuatro ácidos carboxílicos que presenta la molécula pueden ser fácilmente desprotonables, lo que la vuelve soluble en agua y en otros solventes próticos. Los dos nitrógenos son buenos donares de electrones que sirven para coordinar metales de transición. Por lo anteriormente mencionado, el EDTA suele utilizarse en una gran variedad de situaciones desde el uso en biorremediación en suelos contaminados, en limpieza de aguas residuales hasta el uso de agente quelantes en sangre por contaminación de metales (Harris, 2010).

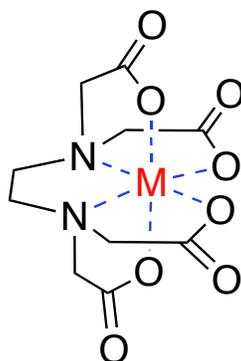
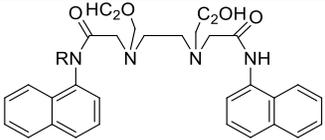
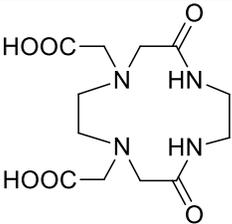
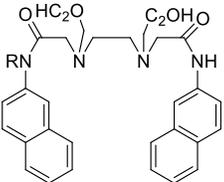
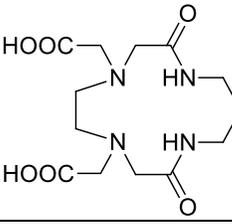
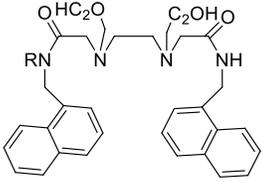
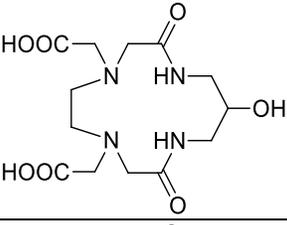
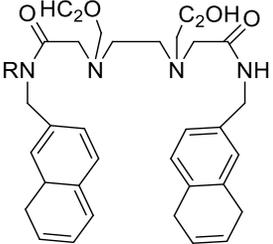
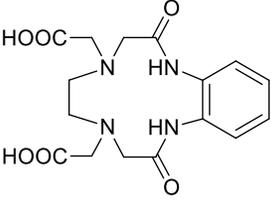
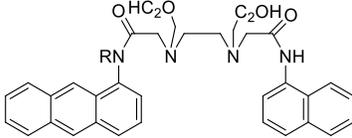
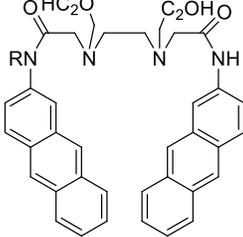
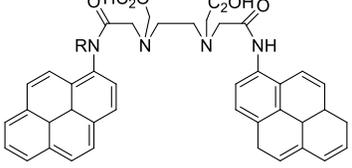
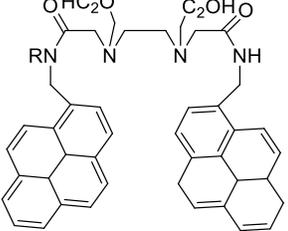


Figura 9. Representación de un complejo metálico con EDTA.

Por las propiedades de coordinación del EDTA en el DIPM se han sintetizado una gran variedad de ligantes de tipo macrocíclico, ciclofanos como de cadena abierta derivado del EDTA (Tabla 2). Los ligantes se han obtenido a partir del EDTA y aminas. Estos ligantes se han estudiado sus propiedades de coordinación hacia metales de transición por técnicas como UV y fluorescencia. En la siguiente tabla se muestran algunas estructuras de ligantes derivados del EDTA y los metales de transición que se han estudiado con dichos ligantes.

Tabla 2. Biblioteca química obtenida en el DIPM a partir de edta, y diferentes aminas. En cada cuadro se indica cuales metales se han evaluado con cada ligante.

Ligante aciclico	Metales estudiados	Ligante ciclico	Metales estudiados
	Zn, Cd, Cu, Mn, Ni, Co, Pb y Hg		Cu, Ni
	Zn, Cd, Cu, Mn, Ni, Co, Pb y Hg		Ni, Cu
	Zn, Cd, Cu, Mn, Ni, Co, Pb y Hg		Mn, Cu, Ni
	Zn, Cd, Cu, Mn, Ni, Co, Pb y Hg		Mn, Co, Ni, Cu, Zn

	Zn		
	Zn		
	Zn, Co, Mn, Cd, Fe		
	Zn, Co, Mn, Cd, Fe		

Aunque la mayoría de los ligantes presentados en la tabla 2 se estudiaron por técnicas espectroscópicas, el estudio de la formación de los complejos no se ha estudiado por la calorimetría de titulación isotérmica. A través de esta técnica se puede entender el perfil termodinámico de la formación del complejo y de esta manera conocer la fuerza impulsora que guía esta interacción.

El efecto quelato

El efecto quelato es la capacidad de los ligantes multidentados de formar complejos metálicos más estables que los que pueden formar los ligantes monodentados. Por ejemplo, la complejación de Cd^{2+} con dos moléculas de etilendiamina está más favorecida que la reacción con cuatro moléculas de metilamina (Figura 10). El efecto quelato se puede entender a partir de la termodinámica.

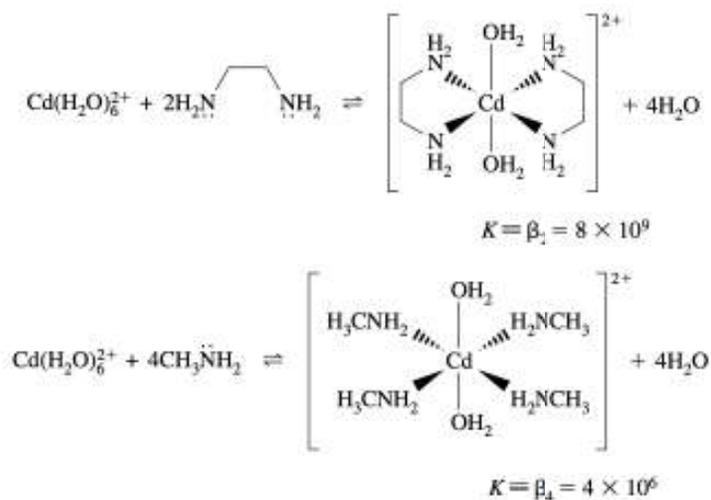


Figura 10. Complejacion de cadmio con etilendiamina y metilamina. La constante de formacion es mayor con etilendiamina por el efecto quelato. Fuente: Harris, 2010

Cuando dos o mas átomos donadores del mismo ligante se encuentran coordinando a un solo centro metálico, se dice que el ligante es un quelante. Es una observación general que los complejos metálicos con ligantes polidentados suelen ser termodinámicamente mas estables que aquellos con el mismo metal con un número equivalente de ligantes monodentados. El efecto quelato es el resultado de contribuciones entálpicas y entrópicas. El efecto entálpico se debe a que la repulsión electroestática, producida por la muy cercana ubicación de los átomos ligantes están muy próximos en la misma molécula. El efecto entrópico surge porque, cuando un extremo del ligante ya está unido al centro metálico, no hay otro sacrificio de entropía traslacional debido a la unión de átomos ligantes subsecuentes en virtud de que no cambia el numero de partículas en el sistema.

El efecto macrocíclico

La primera teoría sobre la estabilidad adicional que presentan los ligantes macrocíclicos sobre sus análogos de cadena abierta se basó en la idea del ajuste entre la cavidad del macrociclo y el tamaño del catión central. La teoría actual sobre el origen del efecto macrocíclico se basa en los siguientes factores (Gispert, 2000):

- a) Preorganización del ligante, con número determinado de conformeros, algunos de los cuales tienen la ordenación requerida para la complejación del ion metálico.

- b) Efecto de la basicidad inductiva, la mayor alquilación es la causa de la mayor estabilidad de los ligantes macrocíclicos respecto a los ligantes análogos de cadena abierta.
- c) La repulsión entre los pares de electrones de los átomos dadores de la cavidad queda disminuida al formarse el complejo.

No es una coincidencia que la naturaleza eligiera derivados macrocíclicos para los complejos involucrados en las funciones ya mencionadas, donde una mayor estabilidad cinética y termodinámica que le son otorgadas al complejo por parte del ligante macrocíclico mientras que el ion metálico se mantiene firmemente unido en la cavidad del macrociclo de forma que la función biológica no se vea intervenida, por ejemplo, por reacciones de desmetalación competitiva (Lindoy, 1990).

Los ligantes macrocíclicos presentan restricciones estereoquímicas resultado de su naturaleza química. Estas restricciones, las cuales dependen de varios factores como el tamaño de anillo del macrocíclico y el número y naturaleza de varios anillos quelantes formados al momento de la complejación, influenciarán la posición de los átomos donadores con respecto uno del otro y con el ion metálico. Tales restricciones se suelen ver manifestadas por la limitación del posible modo de coordinación y/o conformaciones del macrociclo coordinado. Por ejemplo, cuando un ion metálico es demasiado grande para caber en la cavidad del macrociclo pueden ocurrir dos cosas: el ligante se doblará o el metal será desplazado fuera del plano donde se encuentran los átomos donadores. La estructura A en la figura 11 es un ejemplo de un sistema donde el ligante se ve forzado a doblarse. Para macrociclos estéricamente rígidos, el doblamiento sería energéticamente desfavorable por lo que el metal es desplazado del plano como es el caso B, donde usualmente el metal se encuentra unido axialmente a un ligante (Lindoy, 1990).

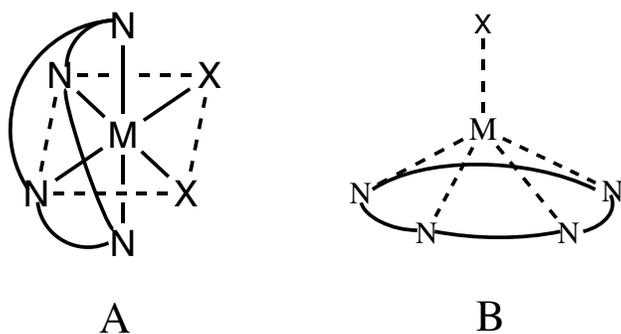


Figura 11. Diferentes modos de coordinacion de un macrociclo. Fuente: Lindoy 1990

Estabilidad del complejo metálico

La estabilidad de un complejo metálico es crucial de saber para que pueda ser utilizado como fármaco. La posibilidad de que un dañino ion metálico pueda ser liberado del complejo de manera inapropiada es una posibilidad que se desea evitar. Los complejos metálicos son susceptibles a disociación protónica por acidez, y la mayoría de los complejos son potencialmente susceptibles a degradación del ligante por oxidación. Además, muchos compuestos se pueden desestabilizar por disociación del ligante a través de la reducción del metal. Lo anteriormente mencionado son concesibles en un medio biológico. Por ejemplo, la acidez del estómago, el bajo pH del tejido isquémico o el ambiente altamente oxidativo del hígado se puede esperar la degradación oxidativa del complejo lo que provocaría una fuente de liberación de iones metálicos potencialmente tóxicos.

Asimismo, la reducción del centro metálico de un complejo debido al ambiente altamente reductor de la mayoría de las células podría jugar un papel importante en la descomposición del compuesto de coordinación. De esta manera, cuando se considera la estabilidad de biomiméticos de SOD o de alguna metaloenzima, los parámetros como la estabilidad termodinámica y cinética son importantes pero de igual manera la estabilidad oxidativa y reductora del complejo debería ser tomada en cuenta. Obviamente, no existe mejor manera de medir la estabilidad de un complejo que la verdadera estabilidad del complejo monitoreado in vivo. La propiedad más deseada sería que la cinética de excreción sea más rápida que la cinética de disociación (Riley, 1999).

A través de técnicas como la calorimetría de titulación isotérmica se puede obtener el perfil termodinámico y sobre todo la constante de formación de los complejos, la cual aporta información de la fuerza impulsora que guía la complejación. Debido que el tema de este trabajo es entender la relación estructura-estabilidad de los complejos, a continuación, se describe la técnica de ITC y sus usos en compuestos de coordinación.

Calorimetría de Titulación Isotérmica

La calorimetría de titulación isotérmica se puede considerar como un detector universal. Casi cualquier reacción química o cambio físico es acompañado por un cambio en calor o entalpía. La cantidad de calor tomada por los alrededores (para un proceso endotérmico) o la cantidad de calor liberada hacia los alrededores (para un proceso exotérmico) es simplemente igual a la cantidad de la reacción que ha tomado lugar y el cambio de entalpía para la reacción, ΔH . Por lo tanto, un calorímetro es un instrumento ideal para medir que tanto de la reacción ha tomado lugar o la velocidad en que la reacción ocurre. En contraste a los métodos ópticos, las mediciones calorimétricas se pueden llevar a cabo con reactivos que son espectroscópicamente silenciosos (un cromóforo o fluoróforo no es requerido), el experimento se puede realizar en soluciones opacas, turbias o heterogéneas, por ejemplo, en suspensiones celulares y se pueden llevar a cabo bajo una serie de condiciones biológicamente relevantes como temperatura, salinidad, pH, etc (Freyer y Lewis, 2008).

En los últimos años, la determinación de los cambios entálpicos y entrópicos asociados con un complejo metálico medido directamente por métodos calorimétricos en solución ha permitido una discusión mas detallada. En el caso de complejos con metales de transición, el efecto del campo de los ligantes produce contribuciones directamente relacionadas a cambios entálpicos que, a cambios en la energía libre.

ΔH es la propiedad que se relaciona mas directamente con el número y la fuerza de los enlaces químicos al momento que el sistema pasa de reactantes a productos. Además, la magnitud de ΔH puede reflejar cambios estéricos importantes especialmente si ligantes multidentados se encuentran implicados. El cambio de entropía es una medición del cambio de aleatoriedad, y la fuerza motriz de este proceso es la tendencia del sistema de terminar en el estado mas aleatorio (aumento de entropía ($\Delta S > 0$)). El conocimiento sobre estas funciones termodinámicas provee información acerca de la naturaleza y el tipo de enlace en un compuesto de coordinación, y el grado de hidratación y las propiedades estéricas de los iones y las moléculas que actúan en la reacción (Nancollas, 1970) .

El calorímetro modelo VP-ITC fabricado por Microcal, Inc, el que se utilizó en esta investigación, es fácil de usar, compacto y controlado por computadora. El calorímetro consiste de dos celdas, la de referencia y la de reacción embebidas en una cámara adiabática (figura 12). El sistema mantiene la celda de referencia a una temperatura constante. Un potencial constante es aplicado a la celda de reacción para activar una

respuesta al mecanismo de control el cual tiene el propósito de mantener la diferencia de temperatura entre las dos celdas lo más cerca posible a cero.

Un experimento convencional de ITC consiste en colocar un determinado volumen de solución de receptor en la celda de reacción y agregar una serie de inyecciones de solución de sustrato, separada cada una por un intervalo de tiempo suficiente para llegar al equilibrio y asegurar que se ha transferido o compensado todo el calor liberado o absorbido. La solución del receptor se agita permanentemente a velocidad constante girando la jeringa cuya punta posee una paleta especial que permite la mezcla de soluciones. Al acercarse a la saturación, la señal del calor disminuye hasta que solo se observa el fondo del calor de dilución. Una vez terminado el experimento se obtiene el termograma titulado datos crudos en la figura 10 donde se grafica micro calorías por segundo por tiempo en minutos. Después, la sigmoideal obtenida es integrada (en el caso que sea un sistema común, no siempre se obtienen sigmoideales), y de la cual se obtienen los parámetros termodinámicos. El cambio de entalpia es la diferencia del calor generado durante el experimento, la constante de asociación es la pendiente de la sigmoideal mientras que la estequiometria se obtiene a partir del punto de inflexión de la sigmoideal.

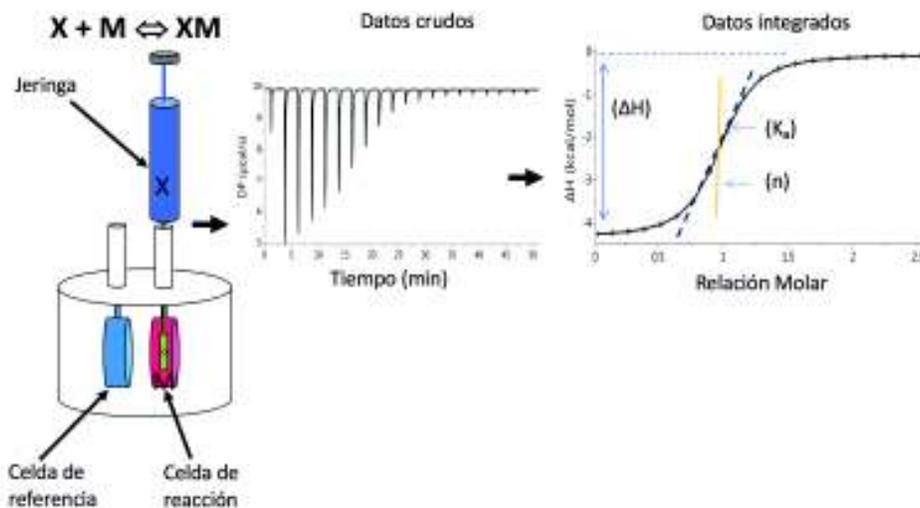


Figura 12. Representación esquemática de un experimento por calorimetría de titulación isotérmica.

Calorimetría de titulación isotérmica (ITC) aplicada al estudio de compuestos de coordinación

Los iones metálicos juegan un papel muy importante in vivo por sus interacciones con moléculas biológicas. Es necesario entender estos tipos de interacciones para apreciar lo especial de esta química y de esta manera realizar predicciones acertadas sobre el papel de los metales en sistemas vivos. La huella termodinámica de estas interacciones provee la base para que otra información pueda ser verdaderamente comprendida. Existen varios métodos experimentales que son capaces de medir la constante de unión (K) y posteriormente el cambio de energía libre (ΔG), para la unión del metal con una biomolécula. Sin embargo, estos métodos son restringidos al cambio neto energético de la fuerza impulsora ($\Delta G = -RT \ln K$) y consecuentemente no provee un entendimiento profundo sobre la naturaleza de estas interacciones. Las contribuciones entálpicas y entrópicas de la complejación son necesarias para completar el panorama termodinámico ($\Delta G = \Delta H - T\Delta S$).

La ITC es una técnica ideal para el estudio de las interacciones metal-ligante porque no es restringida por las propiedades fotofísicas del metal. Por ejemplo, el Zn^{2+} es un metal se le conoce por ser espectroscópicamente “silencioso” debido a su configuración electrónica d^{10} . Por lo tanto, las interacciones de Zn^{2+} con alguna biomolécula carece de señales espectroscópicas tradicionales los cuales si se observan para otros metales como las transiciones $d-d$. Por lo mencionado anteriormente, solo experimentos que dependen en competencia con algún otro metal o con un marcador espectroscópico se puede utilizar para la investigación de Zn^{2+} . Alternativamente, las interacciones de enlace con zinc se caracterizan por ser acompañadas por calor, lo cual esta propiedad puede ser explorada en ITC para entender los sistemas dependientes de zinc como los dedos de zinc. Además, ITC se ha utilizado para entender a otros sistemas bioinorgánicos como los de ferritina, transferrina, beta amiloide, nucleasas, y troponina cardiaca. (Jhonson y col, 2016)

Los sistemas experimentales que involucran a iones metálicos requieren una atención especial en ITC debido a su participación complejando en solución, que puede tener una influencia significativa en los parámetros medibles. Esto se explica de la siguiente manera: el flujo de calor que se mide durante la titulación es la suma de todos los procesos químicos que están ocurriendo en la celda de reacción, esto incluye el calor de dilución, interacción metal-buffer, protonación o desprotonación del buffer y/o ligante y además interacciones no deseadas como precipitación, hidrólisis, redox u otras intrínsecas del equilibrio. Consecutivamente, los valores de K_{ITC} y ΔH_{ITC} los cuales son determinados cuando se ajustan los datos experimentales son influenciados por los procesos

anteriormente mencionados. Idealmente, todas estas reacciones deben ser consideradas para obtener datos confiables (Jhonson y col, 2016)

Constante de equilibrio

El equilibrio reversible entre especies libres de reactantes, L para ligante y M para metal y el ML para el complejo, es gobernado por la constante de asociacion o disociacion K_a o K_d .

$$K_a = \frac{[ML]}{[M][L]} = \frac{1}{K_d} \quad (1)$$

Por lo tanto, la razón entre la macromolécula ligada y la macromolécula libre y la razón entre macromolécula ligada y el total de macromolécula son determinadas por la constante de asociación y la concentración del ligante.

$$\frac{[ML]}{[M]} = K_a [L] \quad (2)$$

$$\frac{[ML]}{[M]_T} = \frac{K_a [L]}{1 + K_a [L]} \quad (3)$$

La constante de asociacion se encuentra directamente relacionada con la energia de Gibbs de union, que a temperatura y presion constante es

$$\Delta G = -RT \ln K_a \quad (4)$$

donde R representa la constante del gas ideal y T es la temperature absoluta.

Los parametros termodinámicos adicionales, la entalpia y la entropia de unión se derivan directamente de la constante de equilibrio o de la energia de Gibbs introduciendo la temperatura:

$$\Delta H = -T^2 \left(\frac{\partial \Delta G}{\partial T} \right)_{P, \dots} = RT^2 \left(\frac{\partial \ln K_a}{\partial T} \right)_{P, \dots}$$

$$\Delta S = - \left(\frac{\partial \Delta G}{\partial T} \right)_{P, \dots} = RT \ln K_a + RT \left(\frac{\partial \ln K_a}{\partial T} \right)_{P, \dots}$$

(5)

Estos dos terminos, entalpia y entropia son los que constituyen a la energia de Gibbs:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

(6)

Las ecuaciones del 1-5 proveen el formalismo para la determinacion de los parametros de union que se utilizarían con técnicas espectroscópicas, llevando a cabo titulaciones a diferentes valores de temperatura. Afortunadamente, ITC mide directamente el calor de reaccion, y es la unica técnica que permite la determinación con precisión de tres parámetros de unión en un solo experimento. Además, contrario a las técnicas no calorimétricas, es posible estimar la capacidad calorífica de unión ΔC_p con precisión razonable realizando experimentos en ITC a diferentes temperaturas (Claveria y col, 2017).

Biomimética

La biomimética (de bios, vida, y mimesis, imitar) es la ciencia que se basa en el estudio de los modelos, sistemas, procesos y elementos naturales con el propósito de imitarlos y así encontrar soluciones prácticas a necesidades humanas, con la condición de que éstas sean sustentables. Las soluciones de la naturaleza son siempre innovadoras, eficientes y funcionan dentro de un balance perfecto con el medio ambiente. La biomimética significa copiar a la vida. Para lograr esto, los científicos de múltiples campos del saber han iniciado el desarrollo de gran cantidad de proyectos encaminados a imitar los procesos naturales (Rangel y col, 2012).

Al momento de observar a las metaloenzimas, parece que la primera y segunda esfera de coordinación externa juegan un papel importante para poder activar la reactividad del centro metálico. Y esto se puede observar en las enzimas, la reactividad no es solamente dirigida por el control estérico del metal dentro del los ligantes (proteico/no proteico) sino también vía remota por interacciones del tipo no covalentes como el puente

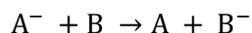
de hidrógeno, electroestática, *stacking* las cuales guían al sustrato al sitio activo, que también facilitan la reacción y ayudan a la liberación de productos. En otras palabras, la fuerza de una enzima reside en la combinación de los efectos de la primera y segunda esfera de coordinación, la cual le confiere una especificidad y selectividad a la enzima. Además, la movilidad, dinámica y/o los cambios conformacionales de la cadena proteica puede ayudar a adoptar la geometría óptima para el sitio activo. Todo esto convierte a las enzimas en los catalizadores más poderosos (Hoarau y col, 2016).

La reactividad de los compuestos de coordinación se basa principalmente en la propiedad redox, accesibilidad de sustrato y/o la ácida tipo Lewis del centro metálico. Esto se puede lograr mediante la modulación del carácter aceptor/donador de los ligantes y controlando la geometría y el arreglo alrededor del centro metálico. Por ejemplo, el impedimento estérico se puede utilizar para inducir una selectividad a cierto sustrato. Los químicos han desarrollado ligantes muy sofisticado que les confieren a los complejos la propiedad deseada. Sin embargo, esto ha ocasionado varios problemas, dentro de los cuales se encuentra la síntesis de varios pasos, lo que potencialmente representa una preocupación económica por lo que puede dificultar la accesibilidad de estos ligantes (Hoarau y col, 2016).

Se han desarrollado análogos sintéticos de los sitios activos de las enzimas, para comprender la relación estructura-propiedad de estas. El objetivo principal sería seleccionar los parámetros cruciales para llevar a cabo una catálisis poderosa y deshacerse de los menos pertinentes. Tales imitaciones (estructural, funcional o ambos) se han desarrollado para hidrogenasas (Casetas y col, 2015; Onoda y Hayashi, 2015; Eckenoff y col, 2013), superóxido dismutasa (Iranzo, 2011; Broering y col, 2012), sistemas fotosintéticos (Artero y col, 2011), oxigenasas (Que y Tolman, 2008), etc. Estos sistemas desarrollados van desde lo más simple: utilizando iones metálicos y ligantes comunes a lo más sofisticado. A continuación, se describirán las características que presentan las oxireductasas, las cuales son el tema central de este trabajo.

Oxireductasas

Las enzimas oxidorreductasas juegan un papel importante en el metabolismo aeróbico como anaeróbico. Se pueden encontrar en la glucólisis, en el ciclo del ácido cítrico (Krebs), en la fosforilación oxidativa y en el metabolismo de amino ácidos. Las oxidorreductasas son una clase de enzimas que catalizan reacciones de oxidorreducción, esto implica la transferencia de electrones de una molécula (el oxidante) hacia otra molécula (el reductor).

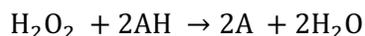


donde A es el oxidante y B es el reductor.

Las oxidorreductasas se dividen en oxidasas o deshidrogenasas. Las oxidasas son enzimas que están involucradas cuando el oxígeno actúa como un aceptor de hidrogeno o de electrones, mientras que las deshidrogenasas son enzimas que oxidan al substrato mediante la transferencia de hidrógeno a un aceptor que puede ser NAD⁺/NADP⁺ o una enzima flavino. Dentro de esta categoría de enzimas oxidorreductasas se incluyen las peroxidasas, hidroxilasas, oxigenasas y reductasas. En las últimas décadas han aumentado el interés y el estudio de las oxidorreductasas, debido a que enzimas como el superóxido dismutasa son la primera defensa que tiene el cuerpo para combatir a las especies reactivas de oxígeno. Las especies reactivas de oxígeno (ROS) como el radical hidroxi (•OH), peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y superóxido (O[•]₂⁻) son la fuente principal del estrés oxidativo en las células, lo que conlleva daños a las proteínas, lípidos y ADN. El daño oxidativo causado al ADN se ha visto implicado en provocar cáncer, envejecimiento, enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer y Parkinson, enfermedades cardiovasculares como arteriosclerosis y la principal cause de muerte celular y de daño tisular que resulta en ataque al corazón y embolias. (Perron & Brumaghim, 2009)

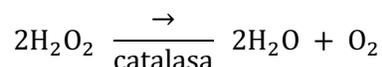
Peroxidasas y catalasas

Las peroxidasas y catalasas son enzimas cuya función es la de catalizar la oxidación de sustratos de peróxido de hidrógeno. Las reacciones catalizadas por estas enzimas pueden generalizarse como se muestra en la siguiente ecuación.



donde AH es un sustrato donador de hidrógeno generalizado.

La diferencia entre ellas consiste en que las catalasas tienen la función específica de destruir el peróxido de hidrógeno.



Por otro lado, las peroxidasas actúan sobre una gran variedad de sustratos, en particular los fenoles y las índoles. Ambos sustratos aminoácidos se acoplan por la influencia de la peroxidasa-peróxido de hidrógeno al pigmento animal conocido como melanina. Se han aplicado varias técnicas espectroscópicas y químicas para estudiar la estructura de la peroxidasa, y se ha encontrado es que la coordinación del hierro en la posición del grupo hemo en la peroxidasa del citocromo *c* y en las peroxidasas vegetales es la misma. Esta coordinación es también la misma que la de los portadores de oxígeno la cual consiste en los cuatros nitrógenos de la porfirina y un nitrógeno proveniente de un residuo de imidazol en la proteína (Butler, Harrod y Canales, 1998).

Las diferencias en el comportamiento de estas proteínas radican en las interacciones mas sutiles de la proteína con el centro activo como lo pueden ser la presencia o ausencia de enlace por puente de hidrógeno con el N-H próximo del imidazol o bloqueo del acceso a regiones del centro activo. Descifrar el mecanismo de la función de la peroxidasa ha sido una tarea difícil, y aun hay ciertos grados de incertidumbre en algunos detalles y esto se debe a la dificultad que durante el ciclo catalítico participan especies Fe (IV), las cuales se desconocen o son difíciles de aislar.

En 2002, Berglund y colaboradores describieron una estrategia efectiva de obtener estructuras cristalinas de intermediarios redox de alta valencia y presentaron, una película tridimensional de las diferentes reacciones que se dan en la reducción catalítica de especies de oxígeno en la peroxidasa de rábano (HRP). Describen también como obtener estructuras de alta resolución con diferentes experimentos para los cinco estados de oxidación de la HRP.

En la figura 13 se muestran los cinco estados de oxidación de la peroxidasa de rábano. Durante las reacciones redox. El inicio de la reacción empieza cuando el peróxido de hidrógeno se une al hierro en la posición vacante de su octaédrica. Durante la reacción se forman tres intermediarios, los cuales se forman por la adición de un electrón o por la reacción con el peróxido de hidrógeno. La reducción del compuesto I al compuesto II y este último al compuesto III y de regreso al estado férrico es realizado a través de la reducción de los sustratos que suelen ser fenoles o aminas aromáticas (Berglund y col, 2002) .

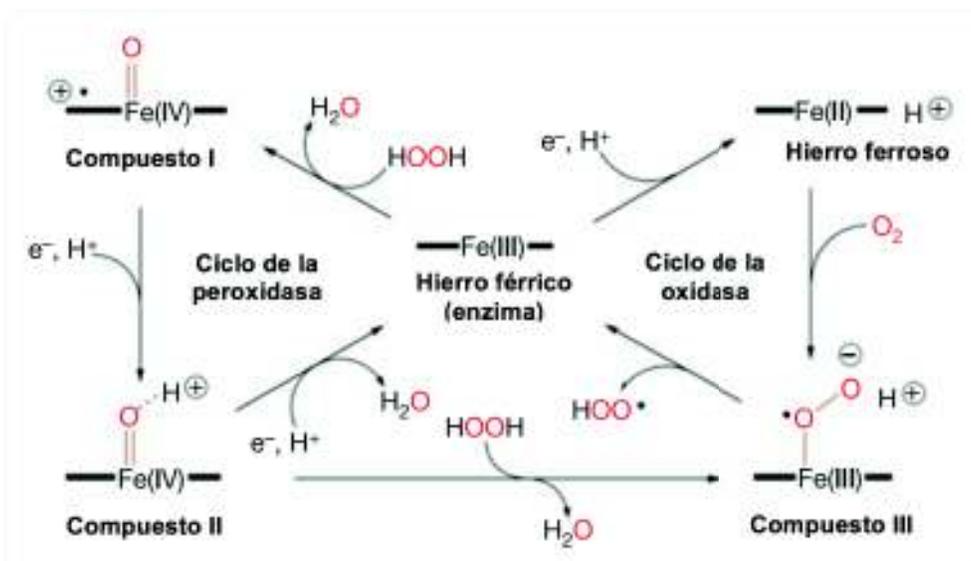


Figura 13. Los cinco estados de oxidación de la peroxidasa de rabano.

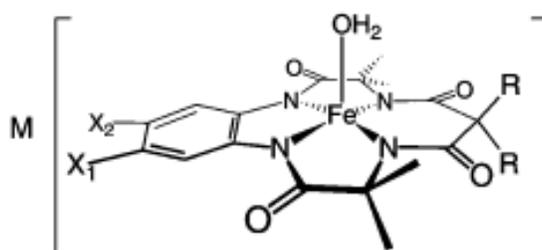
El peróxido de hidrógeno es un metabolito ubicuo en sistemas vivos, que se produce en niveles crecientes en situaciones patológicas. Para la desintoxicación de H₂O₂ y también probablemente para mantener funciones regulatorias, la naturaleza ha desarrollado enzimas altamente eficientes para la dismutación del peróxido. En el pasado se ha intentado desarrollar complejos que imiten la actividad catalítica de estas enzimas como modelo para estudiar el mecanismo molecular de la dismutación de H₂O₂, una gran porción de los compuestos reportados que exhiben actividad parecida a la catalasa son complejos de manganeso y esto se debe principalmente al potencial que tienen de usarse como agentes terapéuticos. Por otro lado, los modelos de estudio con Fe(III) la mayoría son basados en estructuras tipo heme mientras que complejos de hierro que no son tipo heme han sido menos investigado en su capacidad de presentar actividad tipo catalasa o en de manera general como activadores de oxígeno.

Biomiméticos de peroxidasa

Biomiméticos de catalasa y peroxidasa con compuestos de coordinación de hierro con ligantes macrocíclicos y ligantes tipo heme son numerosos. El concepto y los principios de crear un biomimético de una enzima ha avanzado considerablemente. Para imitar una peroxidasa, el ligante debe presentar una estructura en la cual haya una gran cantidad de donadores de electrones para permitir el acceso a complejos del tipo oxo-hierro de alta valencia pero a la misma vez el ambiente no debe ser muy donador ya que *apagaría* las

propiedades oxidantes. La capacidad donadora del ligante es uno de los elementos que tomar en cuenta en el diseño del ligante. Pero uno de los retos mas difíciles en el diseño de estos biomiméticos es crear un complejo capaz de resistir el tiempo suficiente las condiciones oxidativas asociadas a los complejos tipo oxo (Ghosh y col, 2008).

Uno de los complejos de hierro mas importantes que resultaron tener una excepcional actividad parecida a la peroxidasa son los Fe-TAMLs (Figura 14). Collins y colaboradores realizaron varios experimentos para poder elucidar el mecanismo de reacción de este tipo de complejos de hierro sobre todo la parte relacionada con la activación del peróxido por estos complejos. Concluyeron que al haber ausencia de sustratos para actividad peroxidasa, los Fe-TAMLs presentaban actividad parecida a la catalasa acompañada de producción de oxígeno molecular. Esta gran dualidad de estos complejos de actuar como peroxidasa tanto como catalasa los convierte en una gran oportunidad para ser utilizados en la industria. Recientemente los Fe-TAMLs se han estudiado para una gran variedad de aplicaciones como: degradación de compuestos estrogenitos, de esporas bacterianas similares al ántrax, de compuestos sulfúricos en combustibles para motores, de pigmentos textiles en aguas residuales y de colorantes orgánicos que son descartados en fábricas que producen papel (Brown, 2006).



	X ₁	X ₂	R
a	H	H	CH ₃
b	NO ₂	H	CH ₃
c	H	H	F
d	Cl	Cl	F
	MeOOC	H	CH ₃
	Cl	Cl	CH ₃
	CH ₃	H	CH ₃
	CH ₃	CH ₃	CH ₃
	COOH	H	CH ₃

Figura 14. Activadores de peróxido Fe^{III}-TAML. Fuente: Ghosh y col, 2008

En el DIPM, Salazar y colaboradores, estudiaron complejos de hierro con ligantes binucleares de tipo ciclofano (figura 15) reportando buenos resultados como agentes biomiméticos de peroxidasa y de capacidad antioxidante. La capacidad antioxidante de estos complejos se exploró en aceites de pescado para conocer si retrasaban la oxidación lipídica. Se encontró que Fe_2PO fue efectivo en retrasar la oxidación del aceite de pescado a la temperatura de $25\text{ }^\circ\text{C}$, a concentraciones evaluadas de 0.005% , 0.01% ($p > 0.05$); a $55\text{ }^\circ\text{C}$, pero Fe_2PO mostró nulo efecto antioxidante (Luis, 2016).

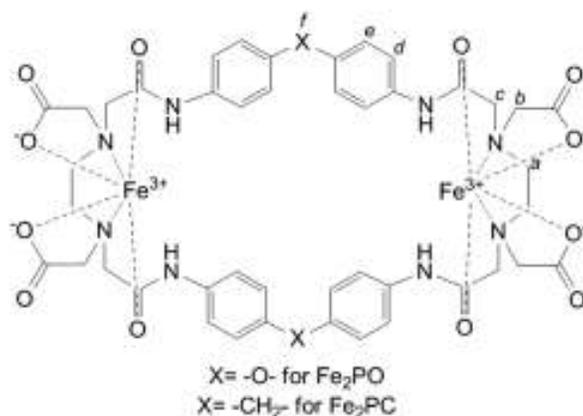


Figura 15. Estructuras moleculares propuestas para los complejos tipo ciclofano de hierro (III) Fe_2PO y Fe_2PC . Fuente: Salazar-Medina y col, 2013.

Los complejos sintéticos de hierro que se han sintetizado han resultado tener varias aplicaciones tanto en la medicina como en la industria, es por esto que es necesario entender la formación de estos para poder mejorar sus actividades como saber si son estables en diferentes medios. Para poder realizar esto, es crucial entender la relación que presentan los complejos con su actividad, ya que de esta manera podemos optimizar el ligante y obtener nuevos complejos con características que los vuelvan específicos para cierta tarea.

El objetivo de este trabajo es analizar la estructura que presentan los ligantes edtaodH_2 y edtabzH_2 con cobre y hierro por técnicas espectroscópicas y calorimétricas con el fin de obtener el perfil termodinámico de la reacción y comprender la fuerza impulsora de complejación, así como obtener sus constantes de asociación. A través de otras técnicas como la cristalografía se puede llegar a conclusiones de estructura-estabilidad. Los resultados obtenidos en este trabajo pueden ser utilizados para que los complejos formados sean aprovechados en diferentes áreas ya sea como biomiméticos o como catalizadores.

METODOLOGÍA

MATERIALES

Los reactivos para la síntesis y las mediciones analíticas se utilizaron tal y como fueron adquiridos de fábrica.

- EDTA di anhidrido (Sigma-Aldrich)
- EDTA-Na
- Anilina
- N,N-dimetilformamida (DMF)
- Etanol
- Acetona
- Carbonato de litio (Li_2CO_3)
- Diftalato de potasio ($\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$)
- $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$
- $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$
- Amplex[®] Red Hydrogen Peroxide/Peroxidase Assay Kit (Invitrogen cat. no. A22188).

Equipo

- Microcalorímetro MicroCal VP-ITC
- Espectrómetro Bruker AVANCE 400
- Espectrómetro de UV-Vis Lambda 45
- Espectrómetro Perkin-Elmer FT-IR modelo Frontier equipado con el accesorio ATR
- Espectrómetro Perkin-Elmer PHI 5100 con fuente de Mg $K\alpha$
- Espectrómetro de masas tipo electrospray ESI-MS 6130 Quadrupole LC/MS de Agilent Technologies

MÉTODOS

Síntesis de edtaodH₂

Para la síntesis del ligante tipo ciclofano se siguió la metodología previamente reportada (Inoue y col., 2001). Se añadieron 5 g (19.5 mmol) de edta dianhídrido en 250 mL de dimetilformamida (DMF) y 2.1g (19.4 mmol) de *o*-fenilendiamina en 65 mL de DMF los cuales se añadieron gota a gota en un periodo de 5 h con agitación vigorosa bajo una atmosfera de nitrógeno. Después, se filtró para remover cualquier sólido. El filtrado fue concentrado aproximadamente a 20 mL, y se le agregó el mismo volumen de agua. Cuando la solución fue concentrada se obtuvo un sólido de color café pálido. Otro sólido fue obtenido cuando se adicionó agua destilada al licor madre y esta solución fue concentrada. Este último sólido obtenido fue recristalizado a partir de agua caliente. La recristalización fue repetida hasta obtener cristales blancos. El producto se caracterizó por RMN ¹H para confirmar identidad y pureza.

Síntesis de edtabzH₂

Para la síntesis del ligante de cadena abierta, se colocaron 8 mL de DMF (seco) en un matraz de una boca, al cual se adicionaron 2mL (20 mmol) de anilina (previamente destilada) y 2.4 g (9.3 mmol) de edta dianhídrido (Figura 16). La solución se dejó reaccionar toda la noche con agitación vigorosa. Transcurrido el tiempo de reacción, se procedió a filtrar para eliminar el cualquier sólido. El filtrado obtenido se concentró, y se le agregó acetona para precipitar el compuesto. El precipitado resultante fue filtrado y lavado con acetona un par de veces y después con agua ácida para remover la amina que no reacciono, obteniéndose un polvo blanco. El polvo blanco se secó 8 h en estufa de vacío. Rendimiento: 3.21 g, 90%. M.p. 182–183 °C (dec). Análisis Elemental: C, 55.70; H, 5.84; N, 11.58%. Calc. for C₂₂H₂₆O₆N₄·2H₂O: C, 55.46; H, 5.92; N, 11.76%. RMN, ¹H (400 MHz, D₂O–Na₂CO₃, pD = 9.0, DSS): δ (ppm) = 2.86 (s, 4H, H_a), 3.29 (s, 4H, H_b), 3.42 (s, 4H, H_c), 7.20 (t, 2H, *J* = 8 Hz, H_p), 7.36 (t,d, 4H, H_m, H_o). RMN, ¹³C (100 MHz, Li₂CO₃, pD = 9.0, DSS) δ (ppm): 175.24 (COOH), 168.75 (CONH), 136.02 (Ar, hipso), 129.02 (Ar, *m*), (125.58 (Ar, *p*), 121.48 (Ar, *o*), 57.81(C_c), 57.56 (C_b), 52.29 (C_a). Espectro de masas: *m/z* (ESI) 441 [(M-H)⁻², 100%].

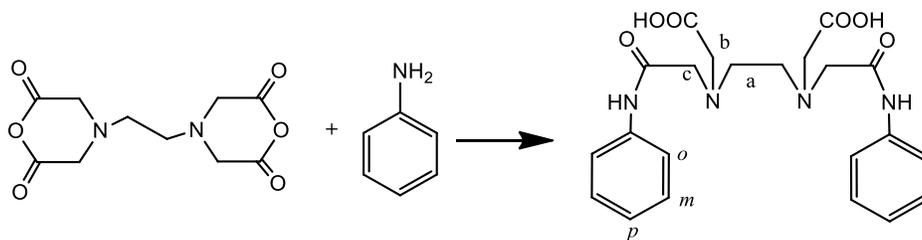


Figura 16. Esquema representativa de la reacción de condensación para la formación del ligante edtabzH₂

Formación de los complejos de cobre y hierro

La síntesis para de los complejos fue igual para ambos ligantes. La relación ligante-metal es 1:1 por lo que la cantidad de moles del ligante fue proporcional a la cantidad de moles de la sal metálica, con un exceso del 10% asegurando una complejación total. La fuente de iones metálicos fueron nitratos de cobre(II) y hierro(III). Primeramente, el ligante (edtaod o edtabz) fue suspendido en agua y se añadió Li₂CO₃ para solubilizar. Posteriormente, se agregó la sal metálica en solución acuosa. La solución cambió de incolora a un azul pálido para los complejos de cobre y para los complejos de hierro la solución cambio a un color naranja. Las soluciones se dejaron en agitación por 30 min a una temperatura de ~40-50°C. Una vez que el volumen se redujo a la mitad, el complejo precipitó por concentración y posteriormente se filtró y se secó por 8 h en estufa de vacío a temperatura ambiente. Los complejos se analizaron por punto de descomposición, IR y ESI-MS.

Formación de los cristales del ligante edtabz

Los cristales de edtabz se obtuvieron por el método de difusión líquido/líquido. Una solución acuosa del ligante se colocó al fondo de un tubo al cual se le agregó acetona lentamente. Después de dos días se formaron los cristales.

Formación de los cristales de los complejos de hierro

Los cristales de los complejos Fe-edtabz y Fe-edtaod se obtuvieron por saturación. A una solución concentrada del ligante (edtabz o edtaod) fueron preparadas a ~60°C. La sal metálica la cual fue previamente disuelta en agua fue añadida a la solución del ligante y se dejó en agitación por 30 min. Transcurrido el tiempo, se dejaron las soluciones evaporar a temperatura ambiente. Después de tres o cuatro días se pudieron observar cristales rojos.

Evaluación de la formación de especies del ligante edtabz en medio acuoso por RMN

Los espectros de resonancia magnética ^1H y ^{13}C fueron obtenidos utilizando Bruker AVANCE 400 para soluciones de D_2O a una temperatura promedio de 23°C . La referencia interna fue 2,2-dimetil-2-silapentano-5-sulfonato de sodio (DSS). Para el estudio de dependencia sobre pD, una mínima cantidad cuantitativa de solución diluida de KOD o de DCL fue utilizada para ajustar el pD de las soluciones. El pH de cada solución fue medido con un electrodo de tallo largo. La calibración del electrodo se realizó con soluciones estándar de buffers y los valores de pH fueron convertidos a pD mediante la relación $\text{pD} = \text{pH} + 0.4$ (Covington, Paabo, Robinson, y Bates, 1968).

Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

Los espectros de infrarrojo de los ligantes y sus complejos se obtuvieron utilizando un espectrómetro Perkin-Elmer Frontier FT-IR con el accesorio de ATR.

Espectroscopia de UV-Visible (UV-Vis)

Las soluciones de trabajo se realizaron a partir de soluciones madres tanto de los ligantes como de las sales metálicas. Se usó NaCl 0.1M para mantener la fuerza iónica constante y estas se ajustaron a un $\text{pH} \sim 3$. Las titulaciones consistieron en la adición de 15 alícuotas de la sal metálica ($10\mu\text{L}$) al ligante. Los experimentos se llevaron a cabo utilizando un espectrómetro Perkin-Elmer Lambda 45.

Espectroscopia Foelectrónica de Rayos-X (XPS)

Se obtuvieron los espectros de rayos X para los cuatro complejos utilizando Perkin-Elmer PHI 5100 con una fuente de $\text{MgK}\alpha$ bajo vacío de 4×10^{-9} torr. Los espectros de alta resolución de Fe 2p y Cu 2p fueron corregidos con el valor de C 1s (285.0 eV). Para el ajuste de las curvas se utilizó una línea base Tougaard y una función Lorenziana-Gaussiana para todos los picos.

Espectroscopia de Masas de Ionización por Electropray (ESI-MS)

Se tomaron los espectros de masas tanto de los ligantes como de los complejos metálicos usando un espectrómetro 6130 Cuadrupole LC/MS de Agilent Technologies. El instrumento fue operado en el modo negativo.

Calorimetría de Titulación Isotérmica

Para obtener los parámetros termodinámicos de la formación de los complejos se utilizó un microcalorímetro modelo VP-ITC fabricado por Microcal, Inc. Se determinaron las concentraciones de las sales metálicas (valoración por EDTA) y de los ligantes (UV-Vis). Las soluciones de hierro usadas fueron preparadas a partir de una solución madre de nitrato de hierro 0.02 M con un 2% de ácido nítrico. Las mediciones calorimétricas se realizaron a pH=3.0 usando el buffer de diftalato de potasio 0.05 M. Los experimentos se llevaron a cabo a 298.15 K, a una velocidad de agitación de 307 rpm, un período de filtro de 2 s, y una potencia de referencia de 10 μ J/s. En este trabajo, el ligante fue titulado a la sal metálica (cobre o hierro) en la celda. Se estudiaron cuatro sistemas: Fe-edtabz, Fe-edtaod, Cu-edtabz y Cu-edtaod. Los datos crudos del experimento fueron corregidos substrayendo el calor de dilución respectivo y la curva de titulación integrada fue analizada por AFFINIMETER (Burnouf et al., 2012). En la tabla 3 se resumen las concentraciones y los parámetros que se utilizaron para los experimentos.

Tabla 3. Parámetros utilizados en los experimentos de ITC.

Sistema	[L] mM	[M] mM	Número de inyecciones	Vol (μL) de la inyección	Tiempo entre inyecciones (s)
Fe-edtabz	0.60	0.05	26	10	600
Cu-edtabz	0.30	0.025	36	6	300
Fe-edtaod	0.60	0.05	26	10	600
Cu-edtaod	0.55	0.05	26	10	360

Actividad peroxidasa (Amplex Red Hydrogen Peroxide/Peroxidase Assay Kit)

La actividad peroxidasa fue determinada utilizando el kit de ensayo Amplex Red Hydrogen Peroxide/Peroxidase Assay Kit (Invitrogen cat. no. A22188). El ensayo consistió en colocar en pocillos individuales en una microplaca de 96 pocillos, 50 μ L de la solución de trabajo del reactivo Amplex® Red 100 μ M (10-acetil-3,7-dihidroxifenozina) la cual contiene 2mM de H₂O₂ y 50 μ L de las muestras para una concentración final de 1mM. La oxidación del reactivo de Amplex® Red a resorcina en la presencia de H₂O₂. La actividad peroxidasa fue seguida espectroscópicamente utilizando un lector de microplacas a 550nm después de 30 min de incubación protegidas de la luz. Los resultados obtenidos fueron relacionados a una curva estándar de peroxidasa preparada con peroxidasa de rábano (HRP) y reportada en mU/mL de actividad específica de HRP.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Síntesis de los ligantes: edtaodH₂ y edtabzH₂

La reacción de condensación de anilina y edta dianhídrido dio como resultado el ligante edtabzH₂ con un rendimiento del 90% (3.21g) el cual fue caracterizado por ¹H y ¹³C RMN (anexo), FTIR, ESI-MS, como se describe en la metodología. En el caso del ligante edtaodH₂ se confirmó su pureza por RMN ¹H.

La solubilidad de edtabz permitió realizar estudios potenciométricos y de RMN en un rango de pH de 2-12 (Figura 17). Las constantes de protonación logarítmicas (0.1M KCl a 25°C) determinadas por potenciometría son: log[LH]/[L][H]= 6.23 (±0.01) y log[LH₂]/[LH][H] = 3.64(±0.02). Estos valores son similares a los reportados para el ligantes edtaod, 6.07 y 3.7 (Inoue y col, 2001). En la Figura 17 se muestra el desplazamiento químico ¹H de edtabz respecto a pD. El protón *a*, *b*, y *c* se desplazan a campo bajo cuando pD aumento en el rango de 5.5-8.5, indicando que los átomos de nitrógeno de los aminos se encuentran protonados. El protón *b* se desplazó a campo bajo cuando disminuye el pD en el rango de 5 a 2, lo cual indica el oxígeno de los carboxilatos se encuentra protonado. El desplazamiento *i* al protonarse es dada por la función siguiente:

$$\delta_i(\text{pD}) = \{ \delta_{i,0} + \sum_n \delta_{i,n} \beta_n 10^{-n(\text{pD})} \} / \{ 1 + \sum_n \beta_n 10^{-n(\text{pD})} \} \quad (7)$$

donde β_n es la constante de protonación total en la protonación, n en el medio D₂O, $10^{-n(\text{pD})}$ es la concentración de D⁺, $\delta_{i,0}$ es el desplazamiento químico del protón *i* cuando la especie L⁻² está completamente desprotonado, $\delta_{i,n}$ es el desplazamiento químico del protón *i* en las especies n protonadas. Los valores de $\delta_{i,0}$ y $\delta_{i,n}$ para cada protón *i* se presentan en la figura 17. El logKD₁= 6.74 (±0.02) y logKD₂= 3.26 (±0.02). Estos valores son similares a los valores reportados para edtaod, 6.94 y 3.89.

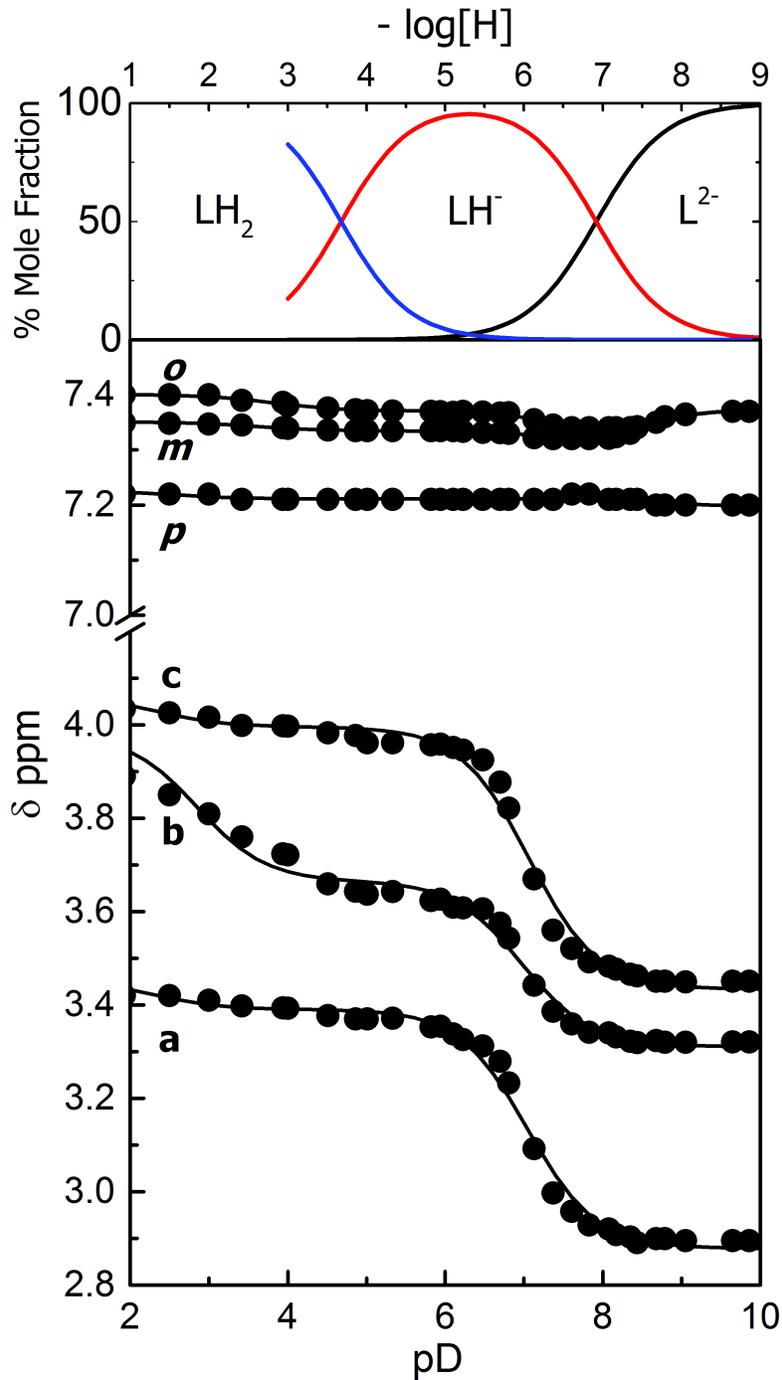


Figura 17. Panel superior: distribución de especies de edtabz por potenciometría. Panel inferior: desplazamientos químicos δ observados a diferentes valores de pD por RMN 1H . La línea sólida es el ajuste calculado por la ecuación 7, siguiendo los valores de los parámetros: $\beta_1= 6.74$, y $\beta_2= 10.00$, $\delta_{a,0}=2.89$, $\delta_{a,1}=3.37$, $\delta_{a,2}=3.42$, $\delta_{b,0}=3.32$, $\delta_{b,1}=3.66$, $\delta_{b,2}=3.92$, $\delta_{c,0}=3.45$, $\delta_{c,1}=3.98$, $\delta_{c,2}=4.04$, $\delta_{p,0}=7.21$, $\delta_{p,1}=7.22$, $\delta_{p,2}=7.23$, $\delta_{m,0}=7.37$, $\delta_{m,1}=7.32$, $\delta_{m,2}=7.35$, $\delta_{o,0}=7.37$, $\delta_{o,1}=7.36$, $\delta_{o,2}=7.39$.

Complejación de Cu²⁺ y Fe³⁺ en solución acuosa

La coordinación de los ligantes con Cu²⁺ y Fe³⁺ en solución acuosa se estudiaron a pH 3.0 mediante titulaciones por espectroscopia de UV-Vis e ITC. La figura 18 muestra los espectros de UV cercano en la presencia de cobre y hierro a diferentes concentraciones. Todos los complejos exhiben una banda de transferencia de carga intensas del tipo metal a ligante (TCLM) en el rango de 280 a 375 nm. La absorbancia incrementa linealmente con cada adición de metal hasta una relación de $[M]_t/[L]_t = 1$. A pH 3.0, donde los grupos aminos de ambos ligantes se encuentran protonados, mientras que los ácidos carboxílicos se encuentran parcialmente protonados. Aunque el pH no es ideal para estudiar este tipo de interacciones, se escogió para evitar la formación de Fe(OH)₃ y poder llevar a cabo la comparación. Los cambios en las bandas de TC fueron mas notorios en los complejos de hierro. Las constantes se determinaron utilizando el programa AFFINIMETER y los resultados se presentan en la tabla 4. Los valores de las constantes se encuentran en el rango de 10⁵ y 10⁶, siendo las constantes de cobre las más altas.

Tabla 4. Parámetros termodinámicos obtenidos por ITC y por espectroscopía de UV-Vis para complejacion 1:1 de los ligantes edtaod y edtabz con cobre y hierro en buffer de diftalato de potasio (0.05M, pH 3.0) a 298.15K.

Complejo	n	ITC				UV-Vis
		K _{ITC} (M ⁻¹)	ΔG° (kcal/mol)	ΔH° (kcal/mol)	-TΔS° (kcal/mol)	K _{UV-Vis} (M ⁻¹)
Fe-edtabz	1.04±0.01	1.20(±0.08)×10 ⁷	-9.66±0.11	-2.55±0.01	-7.11	9.52(±1.12)×10 ⁵
Cu-edtabz	1.10±0.02	5.19(±0.81)×10 ⁷	-10.52±0.10	-4.86±0.08	-5.67	3.45(±0.98)×10 ⁶
Fe-edtaod	1.09±0.03	8.75(±0.52)×10 ⁴	-6.74±0.14	1.49±0.03	-8.23	1.16(±0.048)×10 ⁵
Cu-edtaod	1.10±0.09	2.64(±0.19)×10 ⁶	-8.76±0.06	-1.58±0.01	-7.18	1.34(±0.26)×10 ⁶

En la figura 19 se presenta la titulación de edtabz con Cu a pH 8; como se puede apreciar los cambios en los espectros son mas marcados que los observados a pH 3, esto se atribuye a que en este pH todos los sitios de coordinación del ligante se encuentran disponibles para unir al metal, afectando mas a las unidades aromáticas de la molécula. A pH 8 se observa que la banda de 246 nm disminuye su absorbancia al aumentar la concentración de los iones de Cu y aparece una nueva banda a 300nm, correspondiente a la banda de transferencia de carga. Los insertos en la figura representan la variación de la intensidad a 246 nm a las diferentes relaciones [Cu]/[L], donde se ve que es un cambio lineal entre 0 y 1, lo que indica que el complejo formado es en relación 1:1. No se pudo determinar el valor de la K_a, por las características del cambio, pero se estima que sea

mayor de 10^{13} . Siendo este incremento mucho mayor que al observado a pH 3, esto es de esperarse ya que a pH 3 el metal tiene que competir con los protones que ocupan en los sitios de coordinación.

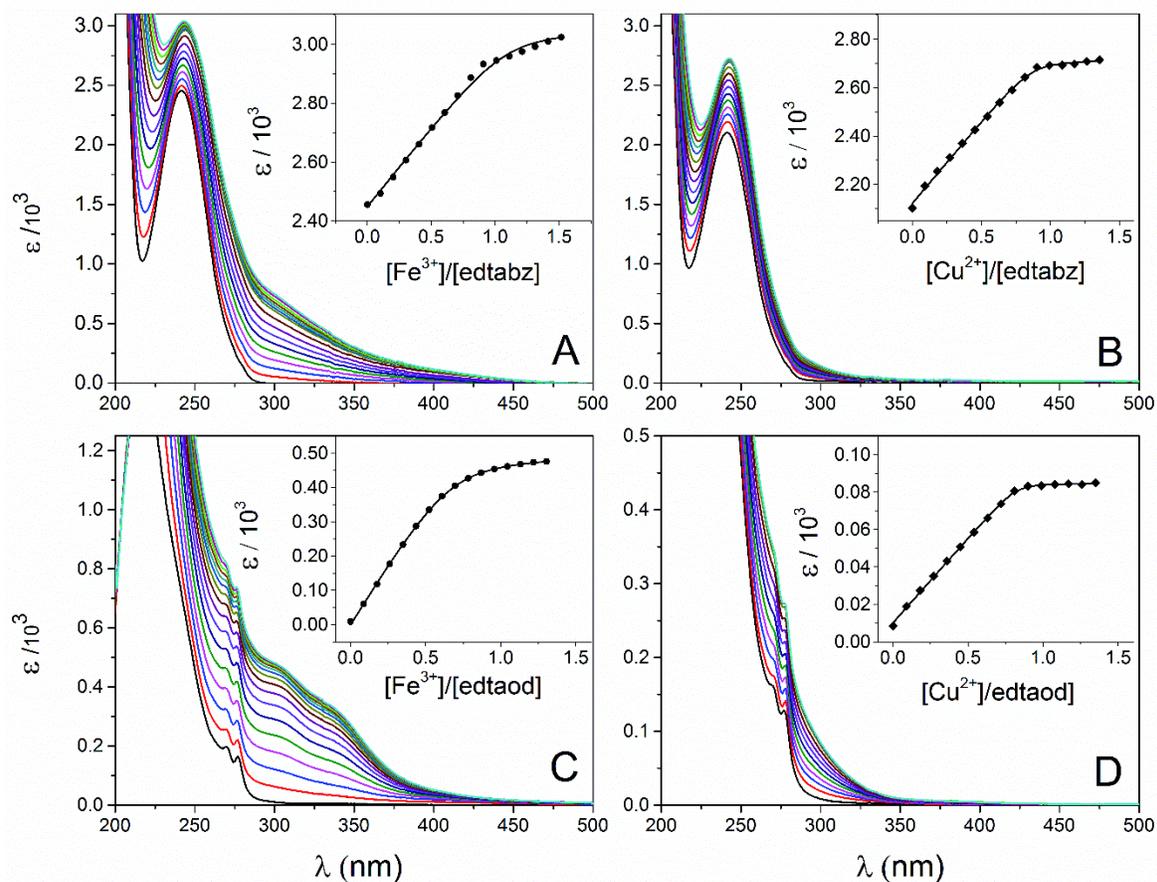


Figura 18. Espectros de las titulaciones de cobre y hierro con los ligantes edtabz y edtaod a pH 3.0. El recuadro muestra el perfil de titulación a una longitud de onda seleccionada y la línea sólida es el ajuste realizado con el programa AFFINIMETER. **A)** edtabz [0.0383mM] and $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ [1.29mM] **B)** edtabz [0.0369] and $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ [1.11mM] **C)** edtaod [0.0267] and $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ [8.01mM] **D)** edtaod [0.0267mM] and $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ [8.01mM].

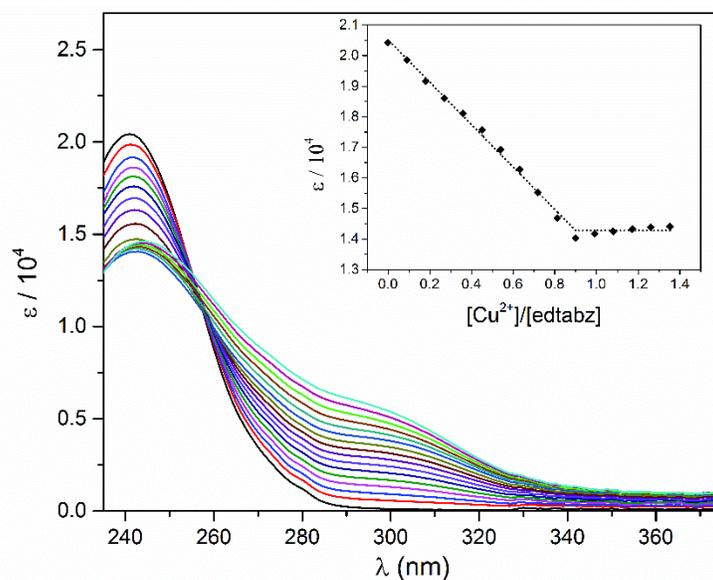


Figura 19. Espectro de UV-Visible de la titulación de cobre al ligante edtabz a pH 8.

En la Figura 20 se muestra la variación en los espectros de absorción del complejo en relación 1:1 a diferentes valores de pH. Como se puede observar a pH alcalinos la banda a 246 nm se encuentra casi plana y a medida que el medio es más ácido esta aumenta su absorbancia. Al graficar el cambio de absorción en 246 nm a los diferentes valores de pH se obtiene la gráfica 20b, se observa que el mayor cambio en la absorbancia se da en el rango de pH de 10 a 6. Considerando los cambios de absorbancia del ligante libre a los diferentes valores de pH y los observados en el complejo de cobre se encuentra la distribución de especies que se muestra en la figura 20c donde se puede observar que se presentan cuatro especies a lo largo del pH estudiado.

La variación de la absorbancia presenta varios escalones al aumentar el pH del medio estudiado, lo que sugiere la existencia de diferentes especies en solución e indica que los complejos adquieren diferentes conformaciones al variar el pH del medio. Utilizando el programa de Excel diseñado por el Dr. Inoue para determinar especies por cambios en los datos espectrales, se determinaron cuatro posibles especies. El ajuste y la distribución de especies propuesta se muestran en la Figura 20c. La primera especie que se propone se encuentra en el rango de pH entre 7 y 12, donde se propone la especie $[\text{CuL-H}]^{-1}$, donde el metal se encuentra unido a los dos nitrógenos aminos y, a uno de los nitrógenos de los grupos amida y, a dos oxígenos de los grupos carboxilatos y probablemente se encuentre unido una molécula de agua. La segunda especie propuesta se presenta en el rango de pH entre 5 y 10, la especie que se propone en esta región es $[\text{CuL}]^0$ donde el metal se

encuentra unido a los dos nitrógenos amino a los dos oxígenos de los grupos carboxilatos, posiblemente a los oxígenos del grupo amida. La tercera especie propuesta es la $[CuLH]$ en el rango de pH entre 8 y 3, en esta especie probablemente el metal se encuentre coordinado a un nitrógeno amino, a los oxígenos de los grupos carboxilatos a los oxígenos de los grupos amidas y completa la esfera de coordinación con una molécula de agua. La última especie es la del ligante libre y el metal libre esto debajo de pH 3.

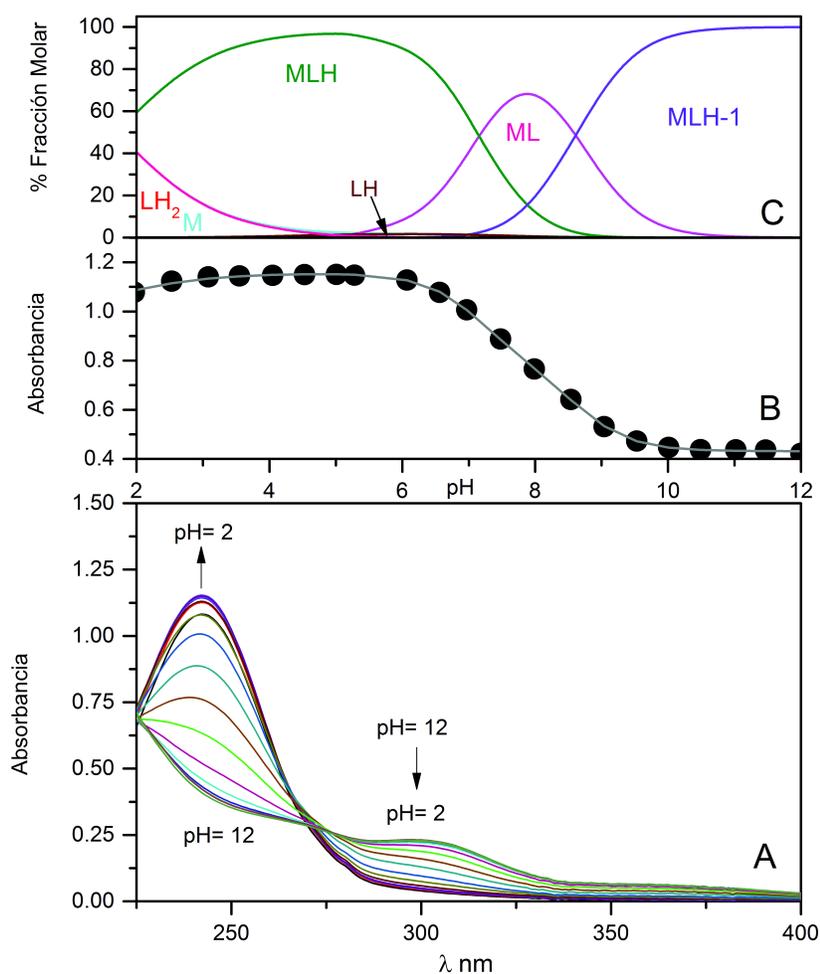


Figura 20. A) Espectro de UV-Vis del complejo Cu-edtabz a diferentes valores de pH a una concentración de 0.04mM B) Valores de absorbancia a diferentes valores de pH a 246 nm y C) Ajuste y distribución de especies del complejo Cu-edtabz.

Calorimetría de titulación isotérmica: formación de los complejos

Los termogramas obtenidos de las titulaciones isotérmicas de edtabz y edtaod con Cu^{2+} y Fe^{3+} se muestran en la figura 21. Los datos crudos de ambos sistemas, (A y D) con cobre y (B) con hierro presentan picos exotérmicos, a excepción del sistema que presenta Fe-edtaod picos endotérmicos. En todos los sistemas se observa que a medida que se van dando las inyecciones los picos decrecen en tamaño a medida que pasa el tiempo lo cual indica que se está dando una interacción y que llega a saturarse (picos pequeños). Estos picos pequeños se les conoce como el calor de dilución, el cual se observa cuando ya no hay más moléculas con que las cuales interactuar, por lo tanto, solo se ve el calor de diluir la solución que se encuentra en la celda. En el panel inferior (C y F) de la figura 21 se comparan los datos integrados de cada sistema, en donde se puede ver que para el sistema con cobre presenta una pendiente más empinada que la de hierro, esto se traduce a una afinidad mayor (concordando con los datos obtenidos por UV-Vis) y es doblemente favorable entálpicamente. Los resultados de los ajustes de las curvas se resumen en la tabla 4. Es interesante observar que en el caso de los complejos con edtabz (ligante acíclico), ambos sistemas presentan afinidades comparables con un $\Delta G \sim 10\text{kcal/mol}$, sin embargo, el complejo con cobre Cu-edtabz es más energético (ΔH aproximadamente el doble) y la contribución entrópica es baja. Esto representa un caso típico del efecto de compensación entalpia-entropía.

Los sistemas más estables termodinámicamente fueron los complejos formados con el podando edtabz: Fe-edtabz ($1.20 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$) y Cu-edtabz ($5.19 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$). Estos valores son entre dos o tres ordenes de magnitud mayores que con los observados para el ligante macrocíclico, Fe-edtaod ($8.75 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$) y Cu-edtaod ($2.64 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$). Los resultados obtenidos no fueron los esperados, ya que el efecto macrocíclico no influyó en el proceso de complejación debido a la preorganización que el ligante edtaod presenta en contraste con el ligante edtabz. Todos los casos estudiados fueron entálpicamente favorables excepto Fe-edtaod el cual es guiado entrópicamente. Como era de esperarse, los dos ligantes prefirieron a cobre sobre hierro debido a los nitrógenos donadores de la etilendiamina.

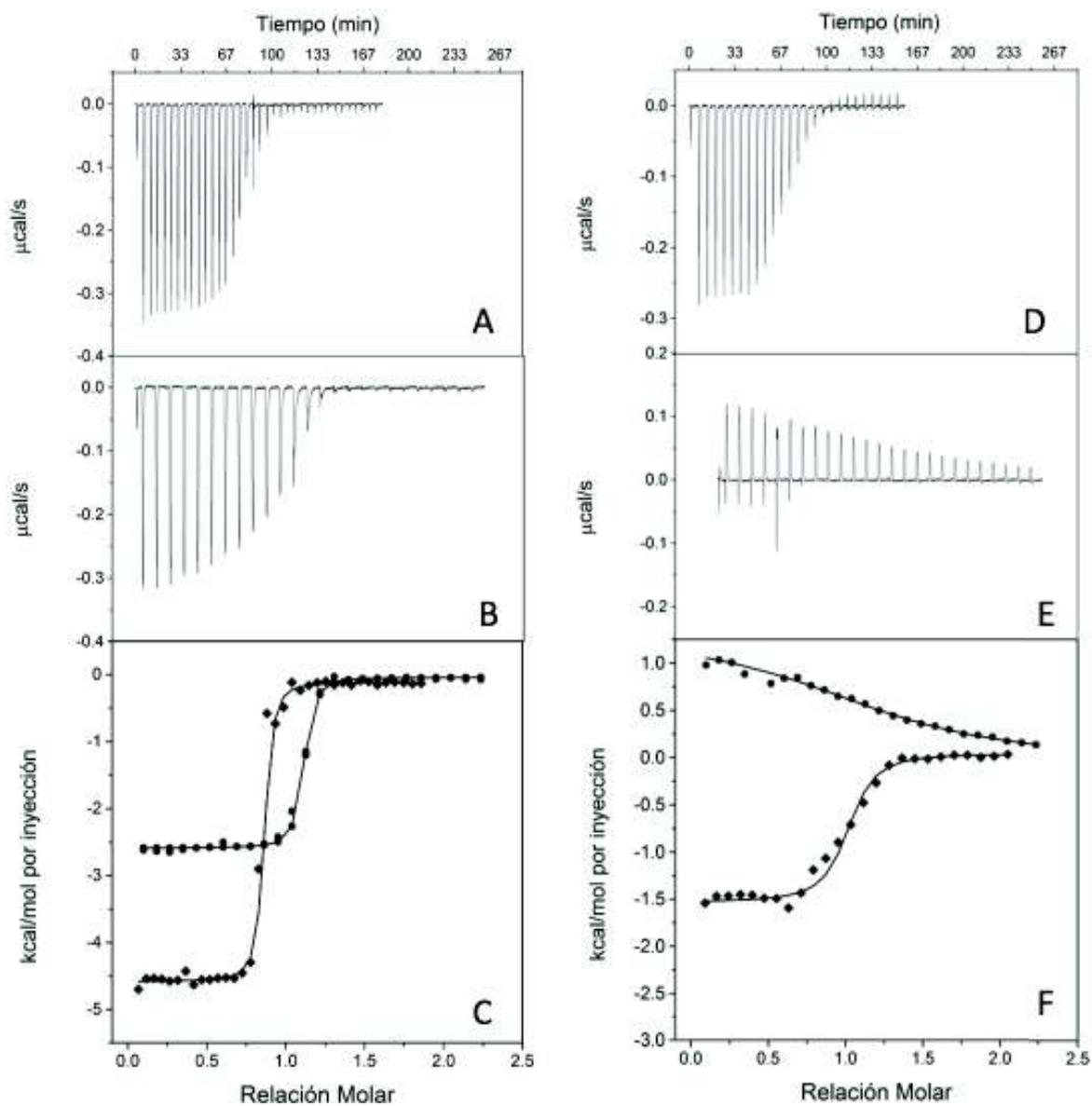


Figura 21. Titulaciones microcalorimetricas a 298.15K de edtaod y edtabz con cobre y hierro a pH 3. Los datos crudos de los experimentos se muestran en los paneles superiores A) Datos crudos de Cu-edtabz B) Datos crudos de Fe-edtabz y C) Datos integrados y ajustados utilizando AFFINIMETER. La forma romboide corresponde a los sistemas de cobre y la forma circular a los sistemas de hierro y D) Datos crudos del sistema Cu-edtaod E) Datos crudos del sistema Fe-edtaod y F) Datos integrados y ajustados.

Caracterización en sólido

La síntesis de los complejos fue obtenida con buenos rendimientos. La temperatura de descomposición, la masa de los ligantes y de sus complejos se presentan en la tabla 5. Las masas moleculares de los complejos fueron corregidas con ayuda de TGA (ver anexos). La formación de cada complejo se confirma mediante ESI-MS. Por otro lado, los cambios en los modos vibracionales obtenidos mediante FTIR para los ligantes y sus respectivos complejos metálicos se presentan en la tabla. La banda característica del estiramiento C=O de los ácidos carboxílicos en el ligante libre aparecen alrededor de 1700 cm^{-1} , la cual se mueve a número de onda menor por lo menos 30 cm^{-1} cuando se forma el complejo. Esta banda indica que los grupos carboxílicos se encuentran involucrados en la complejación. Otras bandas que se desplazan a número de onda menores cuando se forma el complejo como las bandas de vibración del enlace C=O del grupo amida y de igual manera el estiramiento CN del grupo amino, lo cual nos indica que también se encuentran involucradas en la coordinación con el ion metálico.

Tabla 5. Propiedades fisicoquímicas de los ligantes y sus complejos.

Compuesto	Masa Molar	Punto de descomposicion (°C)	m/z
edtaodH ₂	364.53	188-190	365.20 [M+H] ⁺
[Cu(edtaod)]•1.5H ₂ O	452.90	240	211.60 [M-2H] ²⁻
[Fe(edtaod) ₂]•O•4H ₂ O	924.40	244	850.6 [M-H] ⁻
edtabzH ₂	442.00	182-183	441.00 [M-H] ⁻
[Cu(edtabz)]•H ₂ O	522.00	286	250.60 [M-2H] ²⁻
[Fe(edtabz)]NO ₃ •5H ₂ O	648.40	226	496.10 [M-H] ⁺

Tabla 6. Valores obtenidos por las técnicas de IR y XPS de los ligantes y sus respectivos complejos de cobre y hierro.

Ligante/ Complejo	IR (cm ⁻¹)					XPS (eV)			
	$\nu\text{N-H}$ est	νCOOH	νCONH	νCONH	$\nu\text{C-N}$	Pico 1	Pico 2	Pico 3	Pico 4
edtabzH ₂	3273	1700	1611	1548	1219				
Cu-edtabz	3318	1670	1598	1544	1103	932.8	940.5	944.4	952.7
Fe-edtabz	3277	1612	1568	1495	1111	710.5	715.3	723.4	NV
edtaodH ₂	3261	1692	1659	1509	1160				
Cu-edtaod	3229	1643	1593	1499	1090	932.7	939.0	943.8	952.6
Fe-edtaod	3239	1669	1612	1498	1084	709.9	714.5	723.0	729.3

Espectroscopia fotoelectrónica de rayos-x (XPS)

En la figura 22 se presentan los espectros de XPS de los complejos de cobre y hierro y en la tabla 6 se enlistan los valores obtenidos. Para los complejos Fe-edtaod y Fe-edtabz se presenta la señal para $2p_{3/2}$ en 709.0 y 710.5 eV, respectivamente son valores atribuidos a un estado de oxidación de 3. Cerca de los picos $2p_{3/2}$ (~4-5 eV) se puede observar un pico ancho e intenso. Debido a que el Fe^{3+} es un d^5 , lo cual significa que 5 electrones desapareados se encuentran en el nivel de energía 3d. Esta característica podría promover un desdoblamiento múltiple. Sin embargo, ha sido difícil de observar un desdoblamiento múltiple porque el efecto neto sería el ensanchamiento de los picos $2p_{3/2}$ y $2p_{1/2}$. Un satélite shake-up es más probable, porque estos satélites ocurren cuando el fotoelectrón saliente interactúa con un electrón de la capa de valencia y excita a este a un nivel de energía mayor, por lo que la energía del electrón central es ligeramente reducida, lo cual se ve representada estructuralmente como un satélite. Los satélites shake-up se han investigado ampliamente y la mayoría de estos se suelen encontrar en metales de transición (bandas d), debido a que los orbitales *d* de valencia se encuentran parcialmente llenos. En el caso de los complejos de cobre, un valor de 932.7 eV para Cu-edtaod y 932.8 eV para Cu-edtabz correspondiente al pico $2p_{3/2}$ sugiere un estado de oxidación de 2. Se pueden observar picos satélites que se presentan normalmente cuando Cu^{2+} está presente.

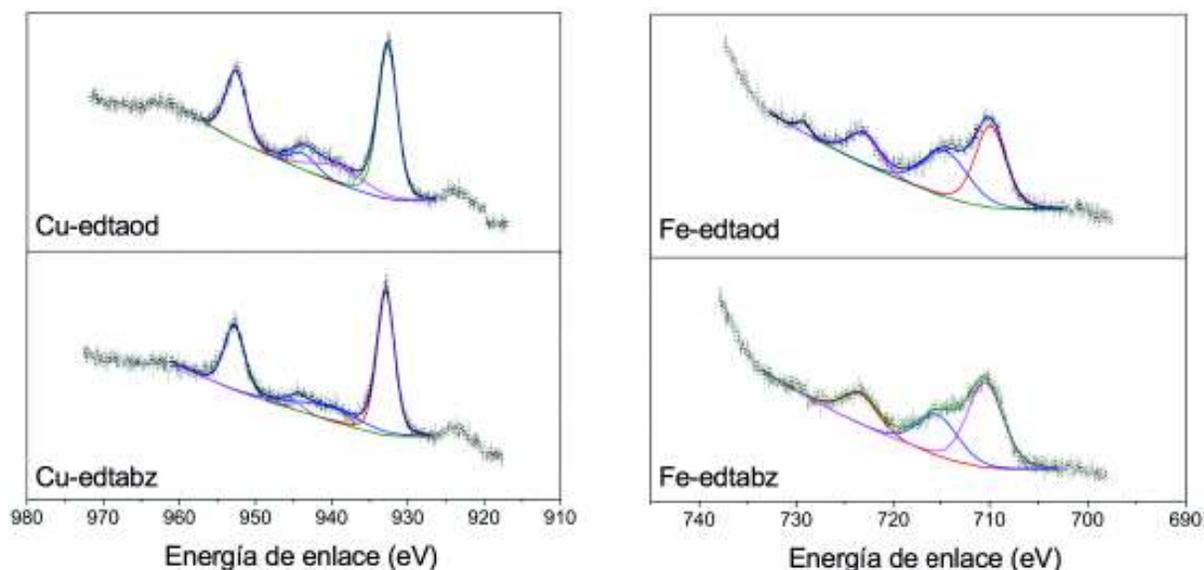


Figura 22. Espectros de XPS de Cu 2p and Fe 2p de los complejos.

Análisis de Rayos-X

La figura 23 muestra la estructura cristalina del ligante edtabzH₂ cristalizó como dihidrato zwitteriónico, en donde un de los hidrógenos carboxílicos es transferido al grupo amino adyacente. Los sustituyentes aromáticos se encuentran apuntando hacia la misma dirección. La información cristalográfica más relevante y los parámetros de refinamiento se muestran en la tabla 7.

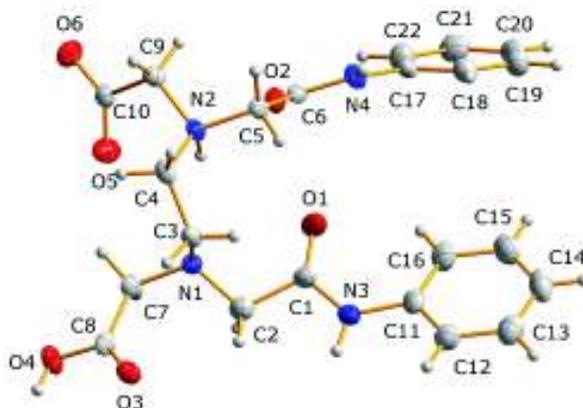


Figura 23. Estructura molecular zwitteriónica del ligante edtabzH₂. Los átomos están dibujados con un nivel de probabilidad del 30%.

La figura 24 muestra la estructura molecular en donde dos complejos Fe-edtaod que se encuentran etiquetados como A y B se encuentran unidos a través de un puente con un átomo de oxígeno. Como se puede observar en la perspectiva mostrada en la figura 24, el hierro (III) se encuentran coordinados en una geometría octaédrica distorsionada. En el plano ecuatorial, los átomos Fe1/Fe2 son coordinados por los átomos O2A/O2B, N2A/N2B y N3A/N3B del ligante y con el átomo de oxígeno (O9) generando un cuadro planar distorsionado alrededor del ion metálico. La distorsión se puede ver a partir de los ángulos O-Fe-O, O-Fe-N y N-Fe-N formados entre los átomos vecinos del plano, los ángulos varían de 77.50(5) a 104.15(5)° (Tabla 8).

Tabla 7. Datos cristalográficos seleccionados para los compuestos: $\text{edtaodH}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Cu}(\text{edtaod})]\cdot\text{H}_2\text{O}$, $\{[\text{Fe}(\text{edtaod})]_2\text{O}\}\cdot 4.4\text{H}_2\text{O}$, $[\text{edtabz}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y $[\text{Fe}(\text{edtabz})][\text{NO}_3]\cdot 5.5\text{H}_2\text{O}$

	[edtaodH₂] H₂O¹	[Cu(edtaod)] H₂O¹	{[Fe(edtaod)]₂O} 4.4H₂O	[edtabzH₂] 2H₂O	[Fe(edtabz)][NO₃] 5.5H₂O
Fórmula	C ₁₆ H ₂₀ N ₄ O ₆ , H ₂ O	C ₁₆ H ₁₈ CuN ₄ O 6, H ₂ O	C ₃₂ H ₃₆ Fe ₂ N ₈ O ₁₃ , 4.4H ₂ O	C ₂₂ H ₂₆ N ₄ O ₆ , 2H ₂ O	2(C ₂₂ H ₂₆ FeN ₅ O ₁₀), 8(O),3H ₂ O
MW (g mol⁻¹)	382.28	443.90	931.66	478.50	1334.70
T (K)	170	170	100	293	125
Grupo Especial	<i>Pbca</i>	<i>Pbca</i>	<i>Pbca</i>	<i>P2₁2₁2₁</i>	<i>P2₁/c</i>
Radiación	Mo K _α	Mo K _α	Mo K _α	Mo K _α	Cu K _α
a (Å)	9.6816(6)	18.5494(9)	18.0203(18)	7.3272(5)	12.1188(8)
b (Å)	13.3287(6)	9.6858(5)	18.028(2)	13.6323(10)	18.1908(12)
c (Å)	25.807(1)	19.9524(9)	22.855(3)	23.8535(18)	14.0536(9)
α (deg)	90	90	90	90	90
β (deg)	90	90	90	90	105.176(2)
γ (deg)	90	90	90	90	90
V (Å³)	3330.2(3)	3584.8(3)	7424.9(14)	2382.6(3)	2990.1(3)
Z	8	8	8	4	2
μ (mm⁻¹)	0.121	1.268	0.873	0.102	4.759
ρ_{calcd} (g cm⁻³)	1.525	1.645	1.667	1.334	1.482
R₁ (F_o > 4σF_o)	0.034	0.037	0.0301	0.0778	0.0394
wR₂ (todos los datos)	0.088	0.091	0.0721	0.1468	0.1059
GOF	a	a	1.095	1.274	1.061
REFCODE/ CCDC	163243	163244	1920517	1920512	1920516

^a Información no publicada

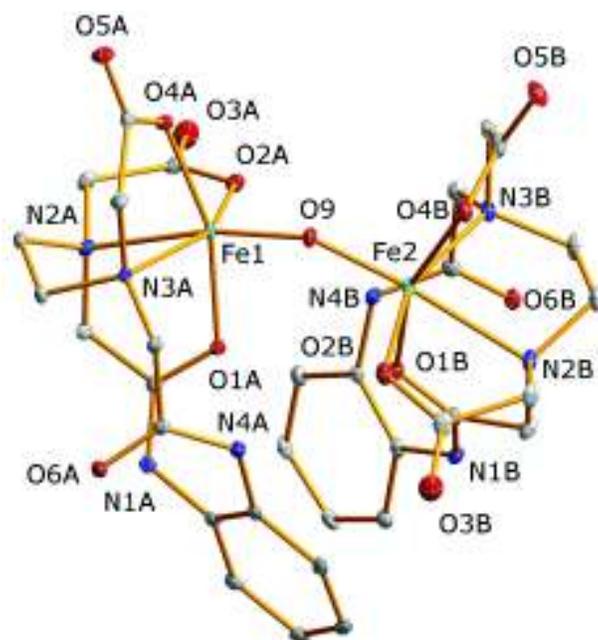


Figura 24. Perspectiva molecular de la estructura $\{[Fe(edtaod)]_2O\}$. Los átomos están dibujados con un nivel de probabilidad del 30%. Para una mejor claridad los átomos de hidrógeno fueron omitidos.

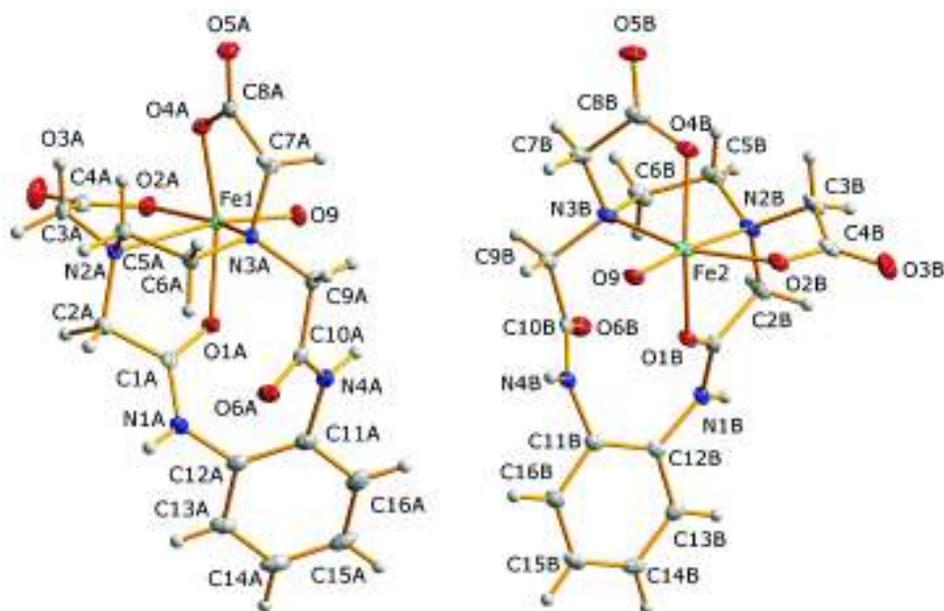


Figura 25. Perspectiva molecular del ambiente de coordinación de los átomos de hierro(III) en la estructura molecular de $\{[Fe(edtaod)]_2O\}$. Los átomos están dibujados a un 50% de nivel de probabilidad.

Tabla 8. Longitudes de enlace (Å) y ángulos (°) para {[Fe(edtaod)]₂O}•4.4H₂O.

Fe1			Fe2				
<i>Longitudes de enlace</i>							
Fe1	O1A	2.0184(12)	Fe2	O1B	2.0358(12)		
Fe1	O4A	2.0094(12)	Fe2	O4B	2.0182(12)		
Fe1	O2A	1.9974(12)	Fe2	O2B	2.0125(12)		
Fe1	O9	1.7919(12)	Fe2	O9	1.7930(12)		
Fe1	N2A	2.3012(14)	Fe2	N2B	2.2720(15)		
Fe1	N3A	2.2707(14)	Fe2	N3B	2.2238(15)		
<i>Ángulos de enlace</i>							
O1A	Fe1	N3A	90.93(5)	O1B	Fe2	N3B	88.21(5)
O1A	Fe1	N2A	76.41(5)	O1B	Fe2	N2B	76.30(5)
O4A	Fe1	O1A	161.71(5)	O4B	Fe2	O1B	159.20(5)
O4A	Fe1	N3A	78.95(5)	O4B	Fe2	N3B	78.94(5)
O4A	Fe1	N2A	86.52(5)	O4B	Fe2	N2B	85.23(5)
O2A	Fe1	O1A	91.04(5)	O9	Fe2	O1B	96.57(5)
O2A	Fe1	O4A	91.66(5)	O9	Fe2	O4B	101.86(5)
O2A	Fe1	N3A	154.20(5)	O9	Fe2	O2B	102.43(5)
O2A	Fe1	N2A	77.50(5)	O9	Fe2	N3B	101.01(5)
O9	Fe1	O1A	93.25(5)	O9	Fe2	N2B	172.86(5)
O9	Fe1	O4A	103.61(5)	O2B	Fe2	O1B	92.41(5)
O9	Fe1	O2A	104.15(5)	O2B	Fe2	O4B	92.94(5)
O9	Fe1	N3A	101.41(5)	O2B	Fe2	N3B	156.32(5)
O9	Fe1	N2A	169.60(5)	O2B	Fe2	N2B	77.75(5)
N3A	Fe1	N2A	77.99(5)	N3B	Fe2	N2B	79.42(5)

Las posiciones axiales de cada plano cuadrado se encuentran ocupadas por átomos de oxígeno de los segundos grupos carboxilatos (O4A/O4B) y el grupo amida (O1A/O1B) para construir una geometría octaédrica alargado. Como es de esperarse, las distancias de enlace de Fe-O_{carboxilato} [2.0094(12) and 2.0182(12) Å] son mas cortas que las distancias de Fe-O_{amida} [2.0184(12) y 2.0358(12) Å]. Las distancias Fe-N se encuentra en el rango de 2.2238(15) de 2.3012(14) Å, las cuales son comparables a aquellas encontradas en otros complejos octaédricos que presentan ligantes con átomos donadores N, O y con puente tipo Fe-O-Fe. La distancia interatómica entre los iones de Fe (III) es 3.4692(7) Å, la cual cae dentro de los valores normales observados para los puentes μ -oxo (Kurtz, 1990). El ángulo formado por Fe (III)-O-Fe(III) es de 150.80(7)°.

Las estructuras cristalográficas del ligante edtaodH₂ y su complejo de cobre [Cu(edtaod)]•H₂O han sido reportadas previamente (Inoue, 2001). Ambos complejos de este ligante, tanto como el de cobre como el de hierro, cristalizaron con el mismo grupo espacial

(*Pbca*), pero existen diferencias en sus geometrías de coordinación. En el complejo [Cu(edtaod)], la esfera de coordinación octaédrica es completada con un átomo de oxígeno de un grupo carboxilo de una molécula adyacente (otro complejo), mientras que en $\{[\text{Fe}(\text{edtaod})]_2\text{O}\} \cdot 4.4\text{H}_2\text{O}$, los iones $[\text{Fe}(\text{edtaod})]^+$ se encuentran coordinados formando un puente tipo μ -oxo entre ellos. La conectividad es reforzada por dos puentes de hidrógeno intramoleculares N–H...O formados entre uno de los hidrógenos de la amida y un átomo de oxígeno de un carbonilo de un grupo carboxilato que se encuentra unido con el metal (N4A–H4A...O2B y N4B–H4B...O2A).

El complejo de hierro con el ligante edtabz²⁻ fue obtenido en su sal de nitrato y cristalizó como hidrato con la siguiente composición $\text{Fe}(\text{edtabz})\text{NO}_3 \cdot 5.5\text{H}_2\text{O}$. Este complejo metálico es mononuclear coordinado a una molécula de agua para formar $[\text{Fe}(\text{edtabz})(\text{H}_2\text{O})]^+$, en contraste con el puente μ -oxo que se forma en $\{[\text{Fe}(\text{edtaod})]_2\text{O}\} \cdot 4.4\text{H}_2\text{O}$. El centro metálico de hierro (III) en $[\text{Fe}(\text{edtabz})(\text{H}_2\text{O})]^+$ exhibe un número de coordinación de siete, embebido en una geometría bipiramidal pentagonal distorsionada FeO_5N_2 (Figura 26). En el poliedro de coordinación, los átomos de nitrógeno del grupo amino y los átomos de oxígeno del grupo amida del ligante (edtabz)²⁻ ocupan cuatro posiciones en el plano ecuatorial, mientras que los átomos de oxígeno de los carboxilatos ocupan los sitios axiales. La molécula de agua coordinada al metal compromete el sitio ecuatorial restante. Los ángulos de enlace O–Fe–O, O–Fe–N y N–Fe–N formados entre los átomos vecinos en el plano ecuatorial varían de 70.13(5) a 74.03(5)° (Tabla 8). El ángulo de enlace de O–Fe–O entre los sustituyentes axiales es de 160.71(6)°.

Las distancias Fe–N_{amino}, Fe–O_{amida}, Fe–O_{carboxilato} y Fe–O_w son 2.3276(16)–2.3534(15), 2.1892(13)–2.1477(13), 1.9435(13)–1.9609(13) y 2.0282(14) Å, respectivamente; estas distancias son similares a los valores establecidos para $\{[\text{Fe}(\text{edtaod})]_2\text{O}\} \cdot 4.4\text{H}_2\text{O}$ y otras estructuras reportadas de complejos de hierro(III) (Cho y col, 2011; Fuchs y col, 2013). En la estructura cristalina, moléculas adyacentes $[\text{Fe}(\text{edtabz})(\text{H}_2\text{O})]^+$ se encuentran unidas a través de interacciones fuertes del tipo puente de hidrógeno O–H...O entre las moléculas de agua de Fe–OH₂ y uno de los átomos de oxígeno del carboxilato [OW1...O6 = 2.687(2) Å], lo que da como resultado un agregado dimérico con distancias Fe...Fe de 3181(5) Å. No hay contacto directo intermolecular entre el complejo y los iones nitrato.

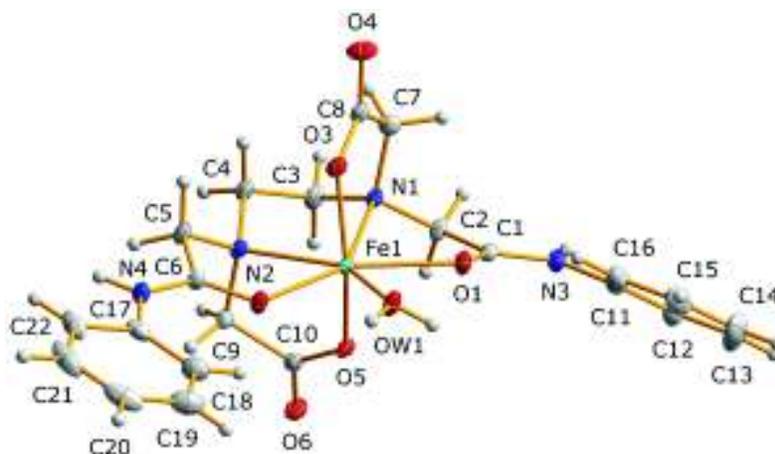


Figura 26. Perspectiva molecular de la estructura $[\text{Fe}(\text{edtabz})]^+$. Los átomos están dibujados a un 30% de nivel de probabilidad.

Tabla 9. Longitudes de enlace (Å) y ángulos ($^\circ$) para $[\text{Fe}(\text{edtabz})][\text{NO}_3] \cdot 5.5\text{H}_2\text{O}$.

Longitudes de enlace

Fe1 O1	2.1892(13)	Fe1 OW1	2.0282(14)
Fe1 O2	2.1477(13)	Fe1 N1	2.3534(15)
Fe1 O3	1.9609(13)	Fe1 N2	2.3276(16)
Fe1 O5	1.9435(13)		

Ángulos de enlace

O1 Fe1 N1	70.13(5)	O5 Fe1 O2	95.68(6)
O1 Fe1 N2	141.89(5)	O5 Fe1 O3	160.71(6)
O2 Fe1 O1	146.26(5)	O5 Fe1 OW1	104.40(6)
O2 Fe1 N1	143.56(5)	O5 Fe1 N1	85.67(6)
O2 Fe1 N2	70.95(5)	O5 Fe1 N2	78.35(5)
O3 Fe1 O1	96.12(5)	OW1 Fe1 O1	72.71(5)
O3 Fe1 O2	92.06(5)	OW1 Fe1 O2	74.03(5)
O3 Fe1 OW1	94.70(6)	OW1 Fe1 N1	140.89(6)
O3 Fe1 N1	77.68(5)	OW1 Fe1 N2	144.96(6)
O3 Fe1 N2	87.59(6)	N2 Fe1 N1	73.73(5)
O5 Fe1 O1	87.19(5)		

Actividad mimética de peroxidasa de los complejos y los ligantes

La capacidad de actuar como biomiméticos de peroxidasa fue determinada para los ligantes y a los complejos metálicos. El complejo Fe-edtaod presenta una actividad específica equivalente de 0.24 ± 0.04 mU/mL HRP. Estos resultados son comparables a los reportados para los complejos metálicos de Fe(III) derivados de EDTA reportados por el grupo de Salazar con valores de actividad 0.13–0.29 mU/mL HRP (a una concentración final de 1×10^{-4} M) (Salazar y col, 2013). En células, el peróxido de hidrogeno inicia el ciclo catalítico de la HRP (peroxidasa de rábano, HRP por sus siglas en ingles) vía una oxidación electrónica del hierro en su estado férrico. Después de llevarse a cabo la oxidación esto tiene como resultado un complejo transitorio oxo-Fe⁴⁺ el cual es reducido vía una transferencia electrónica del sustrato. Este proceso se puede repetir por una segunda molécula de peróxido para finalmente regresar al estado férrico con el que empezó la enzima (Gorris y Walt, 2009).

El resto de los complejos y ligantes, mostraron valores de actividad mimética de peroxidasa despreciables. Cu-edtabz fue de 0.02 ± 0.009 (en mU/mL HRP) e indetectable para edtabzH₂, edtaodH₂, Fe-edtabz y Cu-edtaod. La despreciable actividad de los ligantes se atribuye a la carencia de centros metálicos (con metales de transición). La baja actividad de los complejos de cobre se puede deber a la relativa baja estabilidad de los complejos transitorios de cobre [Cu³⁺(edtaod)]⁺ y [Cu³⁺(edtabz)]⁺ que se forman en el curso de la acción peroxidasa, debido a esta baja estabilidad, la habilidad del centro metálico de imitar el ciclo catalítico es reducida.

Por otro lado, la baja actividad del complejo Fe-edtabz es atribuida a la geometría de coordinación alrededor del ion metálico. Como se muestra en la figura 26, el ion metálico [Fe(edtabz)(H₂O)]⁺ se encuentra bien situado en la esfera de coordinación formado por los átomos donadores del ligante; en contraste, el hierro en el complejo Fe-edtaod se encuentra desplazado fuera del plano construido por los átomos del ligante, por lo que el centro metálico se encuentra sobreexpuesto del esqueleto macrocíclico del ligante y como resultado, Fe³⁺ puede capturar un ion O²⁻ y puede estabilizar el estado transitorio Fe⁴⁺ durante la actividad peroxidasa. Por lo anteriormente explicado, es que uno de los complejos de hierro presenta actividad peroxidasa y el otro no. Lo anterior se representa esquemáticamente en la figura 27.

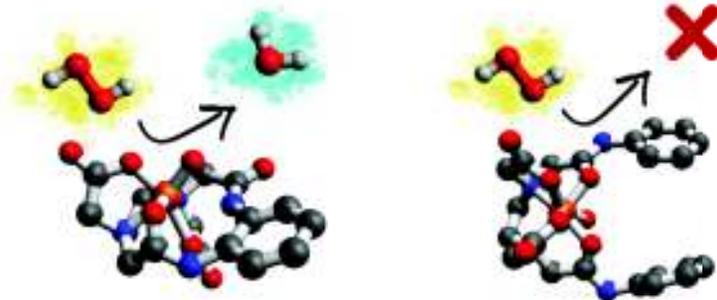


Figura 27. Representación esquemática de la actividad peroxidasa de los complejos de hierro.

CONCLUSIONES

Se sintetizó y caracterizó un nuevo ligante de cadena abierta edtabzH₂ derivado de EDTA y anilina, con alto rendimiento y pureza. y se realizó el estudio comparativo de los complejos de cobre y hierro.

En el estudio comparativos de los complejos de cobre y hierro con los ligantes edtabzH₂ y edtaodH₂ por la técnica de ITC y UV-Vis, se encontró que las constantes de estabilidad son más altas con el ligante de cadena abierta edtabz que con el macrociclo edtaodH₂. No se encontró evidencia del efecto macrocíclico en ningún experimento realizado.

Los estudios de difracción de rayos-X revelaron que el ligante acíclico se encuentra preorganizado debido a las interacciones C-H entre los anillos aromáticos formando una pseudo cavidad. El ligante edtaodH₂ se encuentra preorganizado naturalmente, pero el pequeño marco esquelético genera un efecto estérico grande, que se me reflejado en bajas constantes de asociación inclusive con cobre el cual normalmente presenta una alta afinidad por estos tipos de ligantes. Los estudios de rayos-X indicaron que el ligante edtabz²⁻ formó un gran numero de enlaces de coordinación como resultado de la flexibilidad del esqueleto el cual se puede adaptar al radio iónico tanto de cobre como de hierro.

El complejo Fe-edtaod presentó actividad parecida a la peroxidasa, mientras que el complejo Fe-edtabz es casi inactivo a pesar del gran número de enlaces de coordinación. Este hecho indica que la actividad es controlada no solamente por la estabilidad sino por otros factores como la geometría del complejo. La estructura {[Fe(edtaod)]₂O} involucra un oxígeno de origen externo dentro de la primera esfera de coordinación. Probablemente, la actividad biomimética POx se puede asociar con este oxígeno, el cual puede ser intercambiable con el oxígeno del radical superóxido y se le cede la responsabilidad al ion Fe³⁺ de realizar el proceso de disimulación para crear peróxido de hidrógeno a partir de oxígeno molecular. En el complejo de Fe-edtabz, la esfera de coordinación del ion metálico se encuentra totalmente ocupada por los átomos donadores del ligante.

Aunque el ligante acíclico presentó las afinidades mas altas para cobre y hierro por lo que seria buen candidato para ser utilizado como agente quelante en vez de ser utilizado como agente biomimético de POx.

PERSPECTIVAS

- Realizar los estudios de actividad parecida a la superóxido dismutasa.(SOD).
- Para fines de comparación, llevar a cabo las cinéticas de reacción (k_{cat}) utilizando H_2O_2 como sustrato.
- Estudiar los posibles usos de los complejos como:
 - Monooxigenasas
 - Oxidación de alcoholes
 - Degradación de fenoles
 - Catalizadores para la industria minera

BIBLIOGRAFÍA

Amilasan, A. T., Solis, J. S., Arco, S. D., & Castriciones, E. V. (2010). Calorimetric Titration of Selected Divalent Transition Metal Cations with a Novel Macrocyclic Diamide. *Philippine Journal of Science*,139(1), 1-4. ISSN 0031 – 7683

Artero, V., Chavarot-Kerlidou, M., & Fontecave, M. (2011). Splitting Water with Cobalt. *Angewandte Chemie International Edition*,50(32), 7238-7266. doi:10.1002/anie.201007987

Berglund, G. I., Carlsson, G. H., Smith, A. T., Szöke, H., Henriksen, A., & Hajdu, J. (2002). The catalytic pathway of horseradish peroxidase at high resolution. *Nature*,417(6887), 463-468. doi:10.1038/417463a

Burnouf, D., Ennifar, E., Guedich, S., Puffer, B., Hoffmann, G., Bec, G., Dumas, P. (2011). KinITC: A New Method for Obtaining Joint Thermodynamic and Kinetic Data by Isothermal Titration Calorimetry. *Journal of the American Chemical Society*,134(1), 559-565. doi:10.1021/ja209057d

Broering, E. P., Truong, P. T., Gale, E. M., & Harrop, T. C. (2012). Synthetic Analogues of Nickel Superoxide Dismutase: A New Role for Nickel in Biology. *Biochemistry*,52(1), 4-18. doi:10.1021/bi3014533

Brown, V. J. (2006). Fe-TAML: Catalyst for Cleanup. *Environmental Health Perspectives*,114(11). doi:10.1289/ehp.114-a656

Butler, I. S., Harrod, J. F., & Canales, O. A. (1998). *Química inorgánica: Principios y aplicaciones*. México: Addison-Wesley.

Caserta, G., Roy, S., Atta, M., Artero, V., & Fontecave, M. (2015). Artificial hydrogenases: Biohybrid and supramolecular systems for catalytic hydrogen production or uptake. *Current Opinion in Chemical Biology*,25, 36-47. doi:10.1016/j.cbpa.2014.12.018

Claveria-Gimeno, R., Vega, S., Abian, O., & Velazquez-Campoy, A. (2017). A look at ligand binding thermodynamics in drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*,12(4), 363-377. doi:10.1080/17460441.2017.1297418

Chang, R. (2010). *Química*. D.F, México: McGraw-Hill.

Cho, J., Jeon, S., Wilson, S. A., Liu, L. V., Kang, E. A., Braymer, J. J., Nam, W. (2011). Structure and reactivity of a mononuclear non-haem iron(III)-peroxo complex. *Nature*,478(7370), 502-505. doi:10.1038/nature10535

Cotton, F. A., & Wilkinson, G. (2008). *Química Inorgánica Básica*. México: Limusa.

Covington, A. K., Paabo, M., Robinson, R. A., & Bates, R. G. (1968). Use of the glass electrode in deuterium oxide and the relation between the standardized pD (paD) scale and the operational pH in heavy water. *Analytical Chemistry*,40(4), 700-706. doi:10.1021/ac60260a013

Dizdaroglu, M., Jaruga, P., Birincioglu, M. & Rodriguez, H. 2002. Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement 1, 2. *Free Radical Biology and Medicine*, 32, 1102-1115.

Eckenhoff, W. T., Mcnamara, W. R., Du, P., & Eisenberg, R. (2013). Cobalt complexes as artificial hydrogenases for the reductive side of water splitting. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*,1827(8-9), 958-973. doi:10.1016/j.bbabi.2013.05.003

Freyer, M. W., & Lewis, E. A. (2008). Isothermal Titration Calorimetry: Experimental Design, Data Analysis, and Probing Macromolecule/Ligand Binding and Kinetic Interactions. *Biophysical Tools for Biologists, Volume One: In Vitro Techniques Methods in Cell Biology*, 79-113. doi:10.1016/s0091-679x(07)84004-0

Fuchs, M. A., Zevaco, T. A., Ember, E., Walter, O., Held, I., Dinjus, E., & Döring, M. (2013). Synthesis of cyclic carbonates from epoxides and carbon dioxide catalyzed by an easy-to-handle ionic iron(III) complex. *Dalton Transactions*,42(15), 5322. doi:10.1039/c3dt32961e

Gerloch, M., & Constable, E. C. (1994). *Transition metal chemistry: The valence shell in d-block chemistry*. Weinheim: VCH.

Ghosh, A., Mitchell, D. A., Chanda, A., Ryabov, A. D., Popescu, D. L., Upham, E. C., . . . Collins, T. J. (2008). Catalase–Peroxidase Activity of Iron(III)–TAML Activators of Hydrogen Peroxide. *Journal of the American Chemical Society*,130(45), 15116-15126. doi:10.1021/ja8043689

Gispert, J. R. (2000). *Química de coordinación*. Barcelona: Omega.

Gorris, H. H., & Walt, D. R. (2009). Mechanistic Aspects of Horseradish Peroxidase Elucidated through Single-Molecule Studies. *Journal of the American Chemical Society*,131(17), 6277-6282. doi:10.1021/ja9008858

Hoarau, M., Hureau, C., Gras, E., & Faller, P. (2016). Coordination complexes and biomolecules: A wise wedding for catalysis upgrade. *Coordination Chemistry Reviews*,308, 445-459. doi:10.1016/j.ccr.2015.05.011

Inoue, M. B., Machi, L., Muñoz, I. C., Rojas-Rivas, S., Inoue, M., & Fernando, Q. (2001). Metal–ligand interactions in benzodioxotetraaza-macrocyclic metal chelates. *Inorganica Chimica Acta*,324(1-2), 73-80. doi:10.1016/s0020-1693(01)00536-9

Iranzo, O. (2011). Manganese complexes displaying superoxide dismutase activity: A balance between different factors. *Bioorganic Chemistry*,39(2), 73-87. doi:10.1016/j.bioorg.2011.02.001

Johnson, R. A., Manley, O. M., Spuches, A. M., & Grosseohme, N. E. (2016). Dissecting ITC data of metal ions binding to ligands and proteins. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*,1860(5), 892-901. doi:10.1016/j.bbagen.2015.08.018

Kohen, R. 1999. Skin antioxidants: their role in aging and in oxidative stress—new approaches for their evaluation. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 53, 181-192.

Kurtz, D. M. (1990). Oxo- and hydroxo-bridged diiron complexes: A chemical perspective on a biological unit. *Chemical Reviews*,90(4), 585-606. doi:10.1021/cr00102a002

Lehn, J. (1995). *Supramolecular chemistry: concepts and perspectives*. Weinheim: VCH.

Lindoy, L. F. (1990). *The Chemistry of Macrocyclic Ligand Complexes*: Cambridge University Press.

López González, L. E. (2016). Efecto antioxidante de un complejo de fe³ de ligante tipo ciclofano en aceite de pescado de arenque americano. Universidad de Sonora.

Nancollas, G. H. (1970). The thermodynamics of metal-complex and ion-pair formation. *Coordination Chemistry Reviews*,5(4), 379-415. doi:10.1016/s0010-8545(00)80099-5

Onoda, A., & Hayashi, T. (2015). Artificial hydrogenase: Biomimetic approaches controlling active molecular catalysts. *Current Opinion in Chemical Biology*,25, 133-140. doi:10.1016/j.cbpa.2014.12.041

Perron, N. R., & Brumaghim, J. L. (2009). A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding. *Cell Biochemistry and Biophysics*,53(2), 75-100. doi:10.1007/s12013-009-9043-x

Que, L., & Tolman, W. B. (2008). Biologically inspired oxidation catalysis. *Nature*,455(7211), 333-340. doi:10.1038/nature07371

Rangel, E. R., Garcia, J. R., Peña, E. M., & Hernandez, J. L. (2012). Biomimética: Innovación sustentable inspirada por la naturaleza. *Investigación Y Ciencia*,55, 56-61.

Rayner Canham, G. (2000). *Química inorgánica descriptiva*. Bogotá (Colombia): Pearson Educación.

Riley, D. P. (1999). Functional Mimics of Superoxide Dismutase Enzymes as Therapeutic Agents. *Chemical Reviews*,99(9), 2573-2588. doi:10.1021/cr980432g

Salazar-Medina, A., Sugich-Miranda, R., Teran-Cabanillas, E., Hernández, J., González-Aguilar, G., Rudiño-Piñera, E., . Velázquez-Contreras, E. (2013). Antioxidant Capacity of Two Novel Bioactive Fe (III)-Cyclophane Complexes. *Molecules*,18(2), 1762-1774. doi:10.3390/molecules18021762

Sekhon, B. S., & Gandhi, L. (2006). Medicinal uses of inorganic compounds - 1. *Resonance*,11(4), 75-89. doi:10.1007/bf02835732

Shriver, D. F., & Atkins, P. W. (2010). *Inorganic chemistry (Fifth ed.)*. Oxford: Oxford University Press.

Steed, J. W., Turner, D. R., & Wallace, K. J. (2007). *Core concepts in supramolecular chemistry and nanochemistry*. Chichester, England: John Wiley.

Vafazadeh, R., & Zare-Sadrabadi, G. (2015). Kinetics and Mechanism of the Ligand Exchange Reaction Between Tetraaza Macrocyclic Ligand and Cu(II) Tetradentate Amine-Amide Complexes. *Acta Chimica Slovenica*, 889-894. doi:10.17344/acsi.2015.1611

ANEXOS

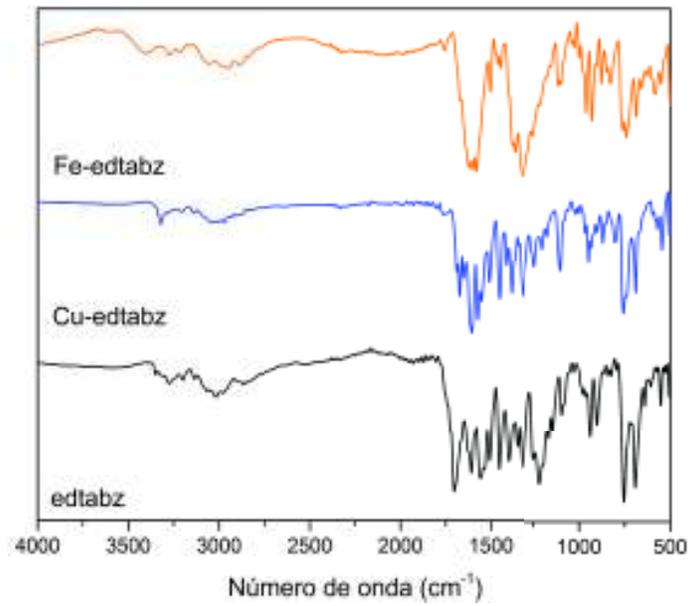


Figura A1. Espectro de FTIR del ligante edtabzH₂ y sus respectivos complejos de cobre y hierro.

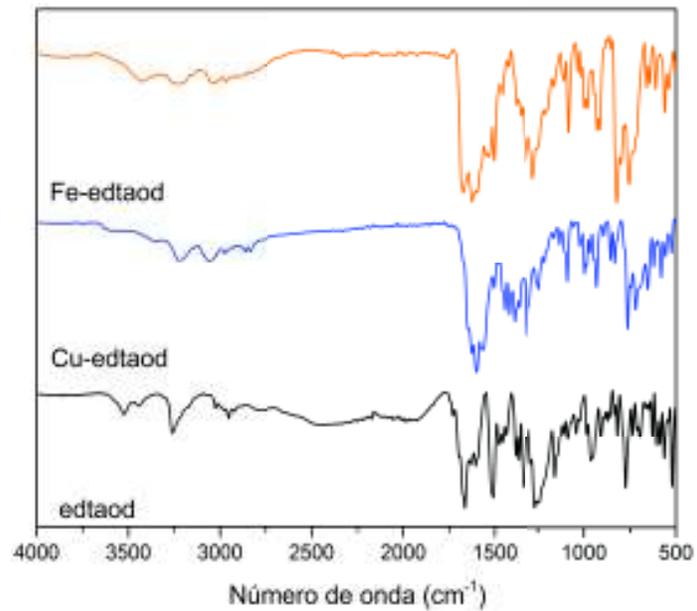


Figura A2. Espectro de FTIR del ligante edtaodH₂ y sus respectivos complejos de cobre y hierro.

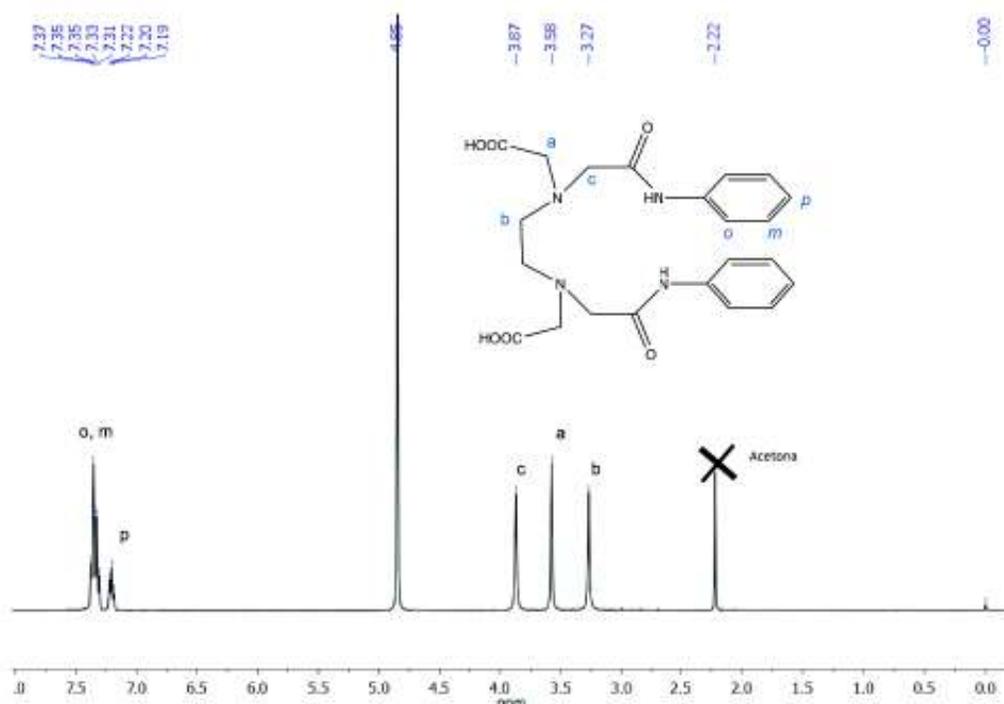


Figura A3. . Espectro de 1H RMN del ligante edtabz (400 MHz, D₂O-Li₂CO₃, DSS): d = 3.27 (s,4H,Hc), 3.58 (s, 4H, Hb), 3.87 (s, 4H, Hc), 7.22 (t, 2H, J = 8, Hp), 7.35 (t,d, 4H, Hm, Ho).

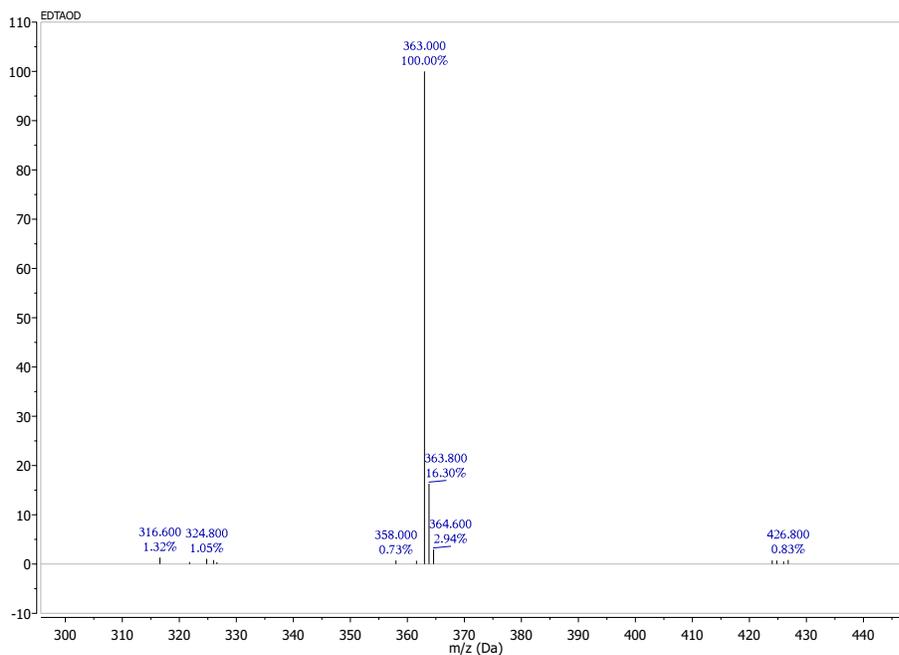


Figura A4. Espectro de ESI-MS del ligante edtaod.

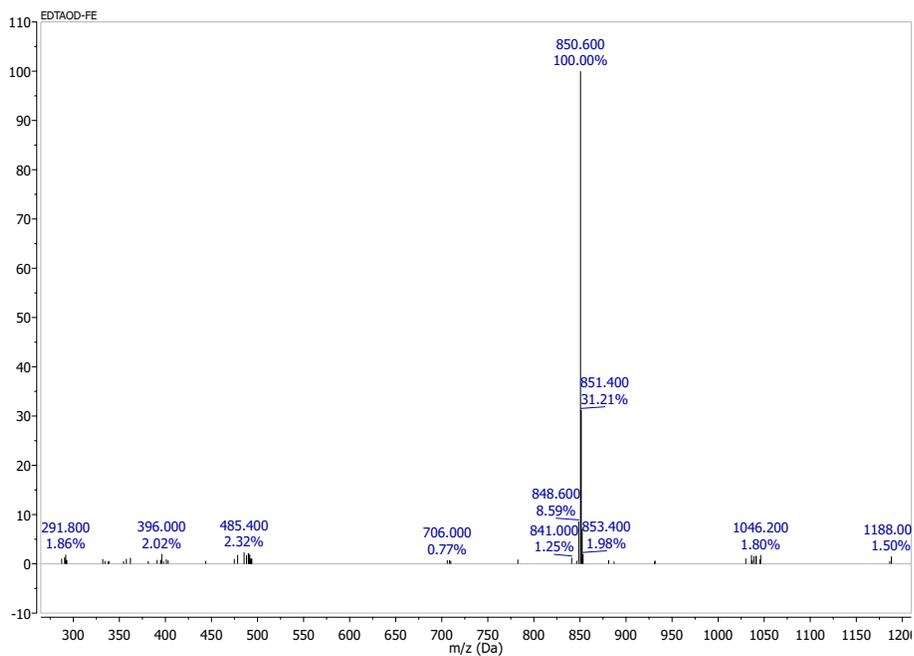


Figura A5. Espectro de ESI-MS del complejo Fe-edtaod.

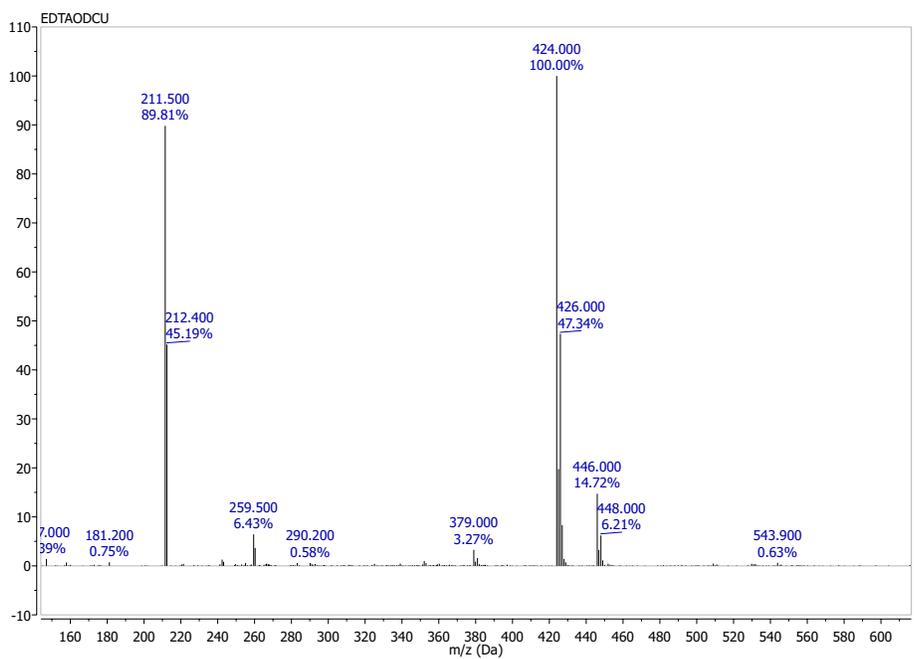


Figura A6. Espectro de ESI-MS del complejo Cu-edtaod.

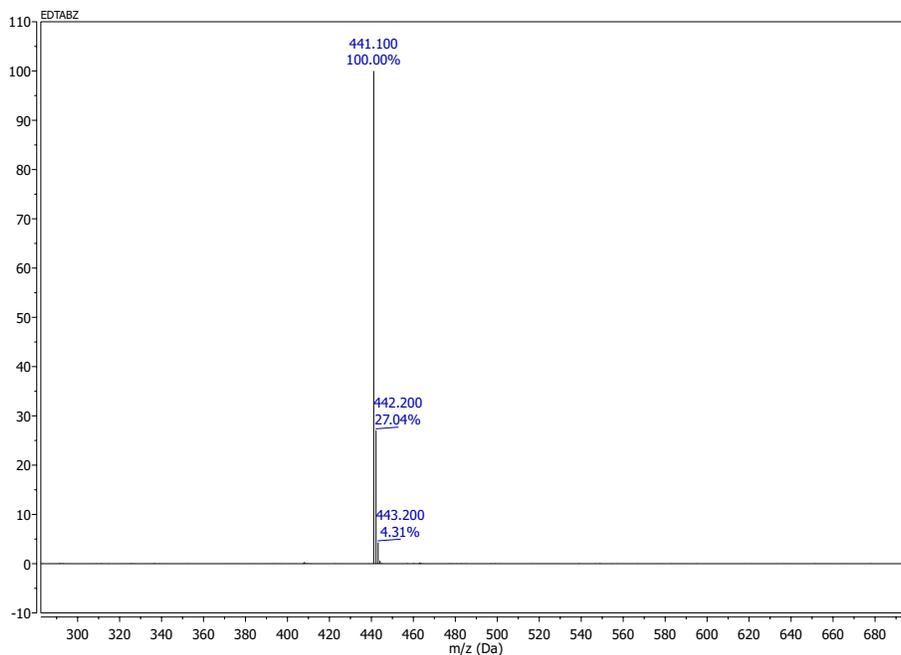


Figura A7. Espectro de ESI-MS del ligante edtabz.

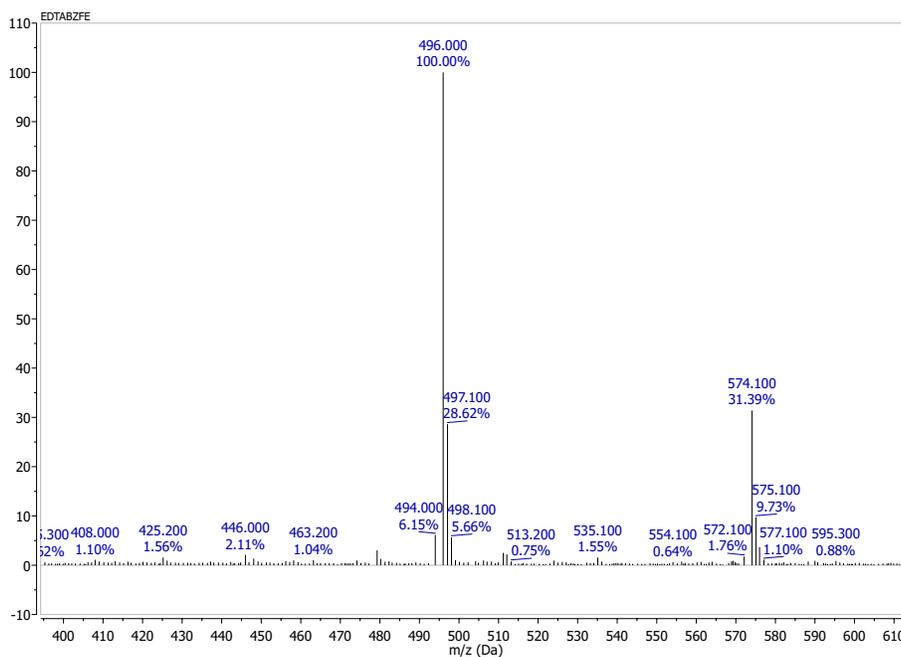


Figura A8. Espectro de ESI-MS del complejo Fe-edtabz.

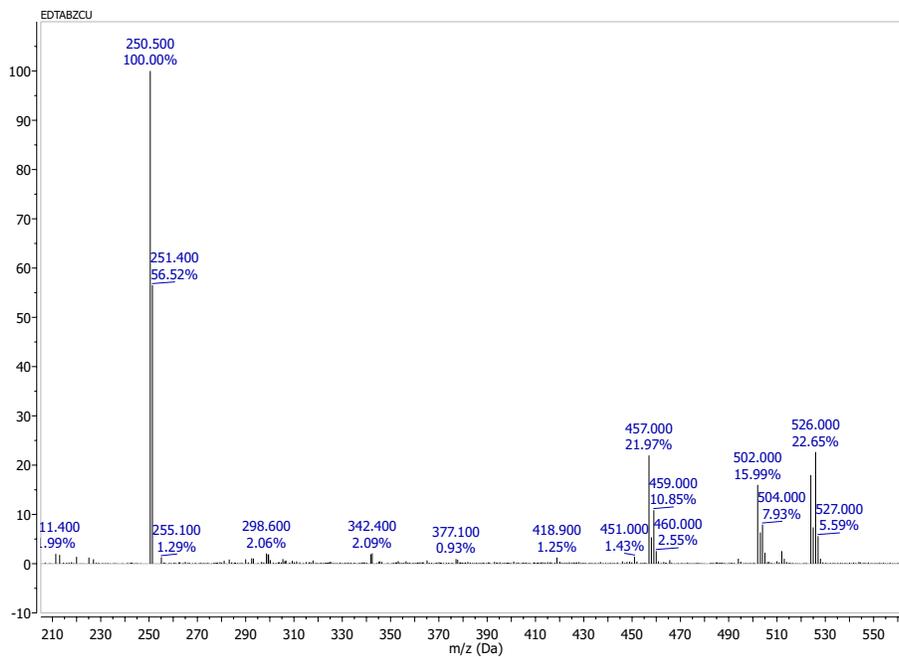


Figura A9. Espectro de ESI-MS del complejo Cu-edtabz.

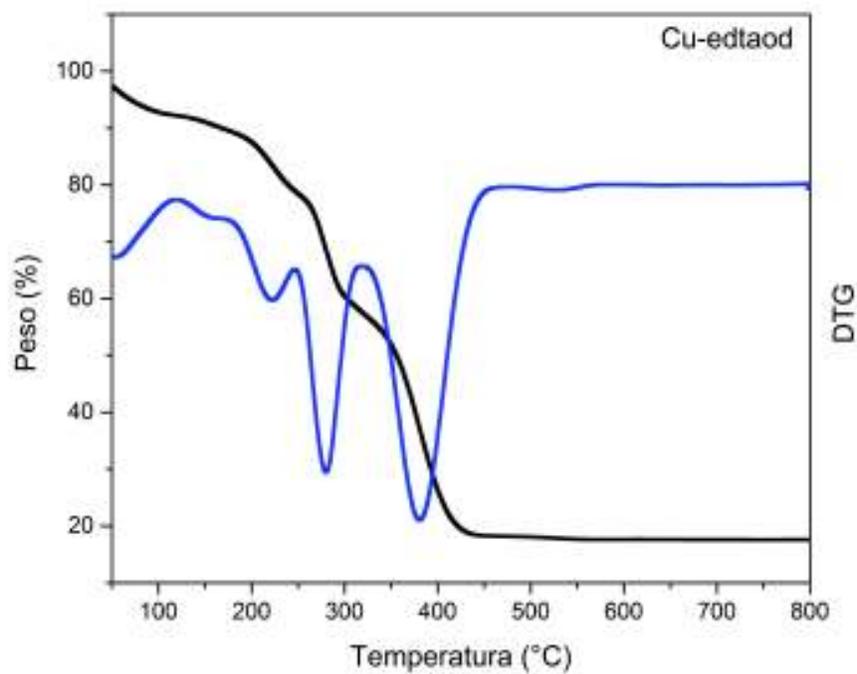


Figura A10. Curva de TGA del complejo Cu-edtaod con una velocidad de calentamiento de 10°C/min en atmosfera de aire con un flujo de 20mL/min.

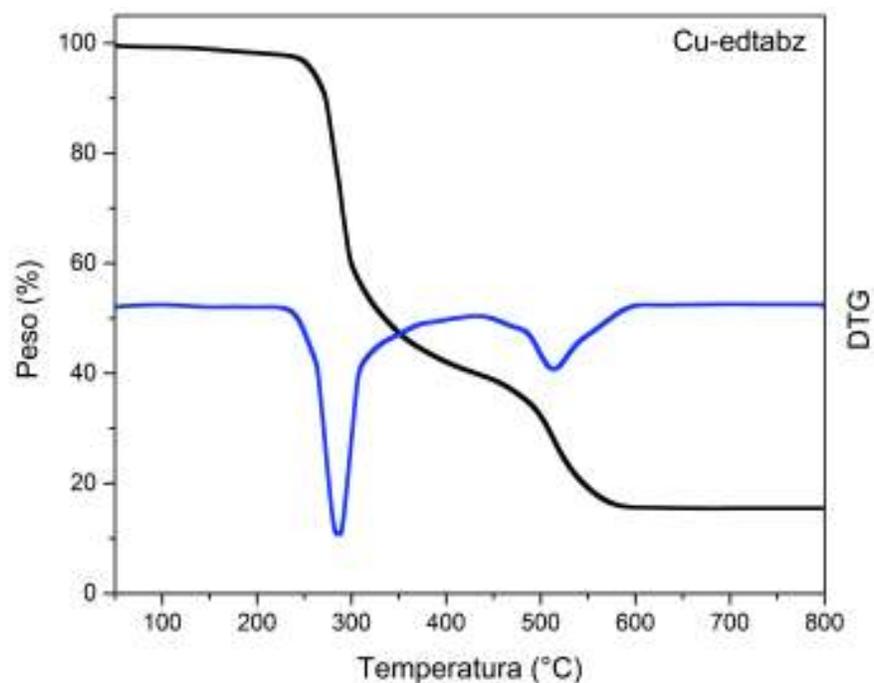


Figura A11. Curva de TGA del complejo Cu-edtabz con una velocidad de calentamiento de 10°C/min en atmosfera de aire con un flujo de 20mL/min.

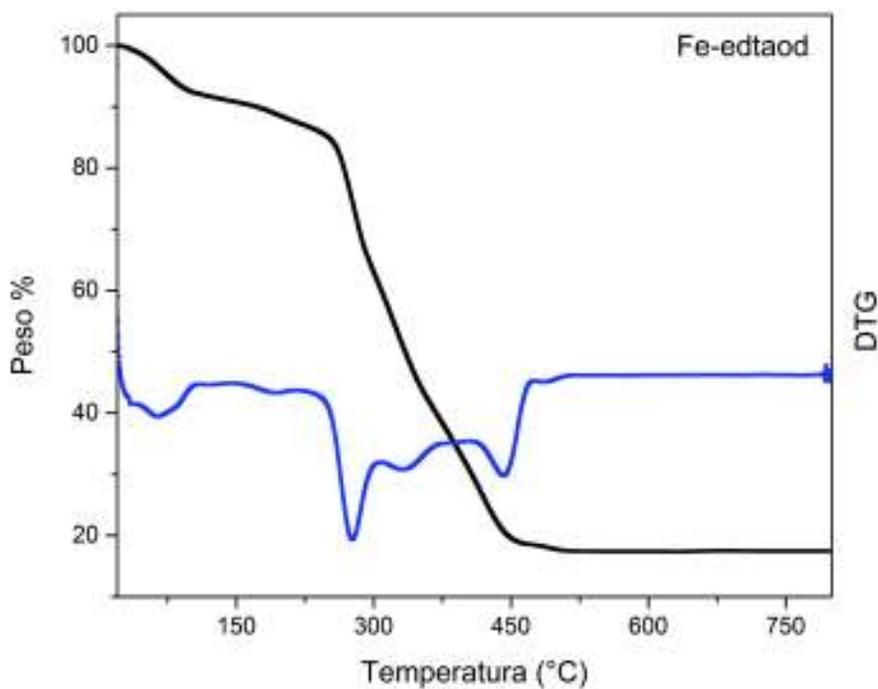


Figura A12. Curva de TGA del complejo Fe-edtaod con una velocidad de calentamiento de 10°C/min en atmosfera de aire con un flujo de 20mL/min.

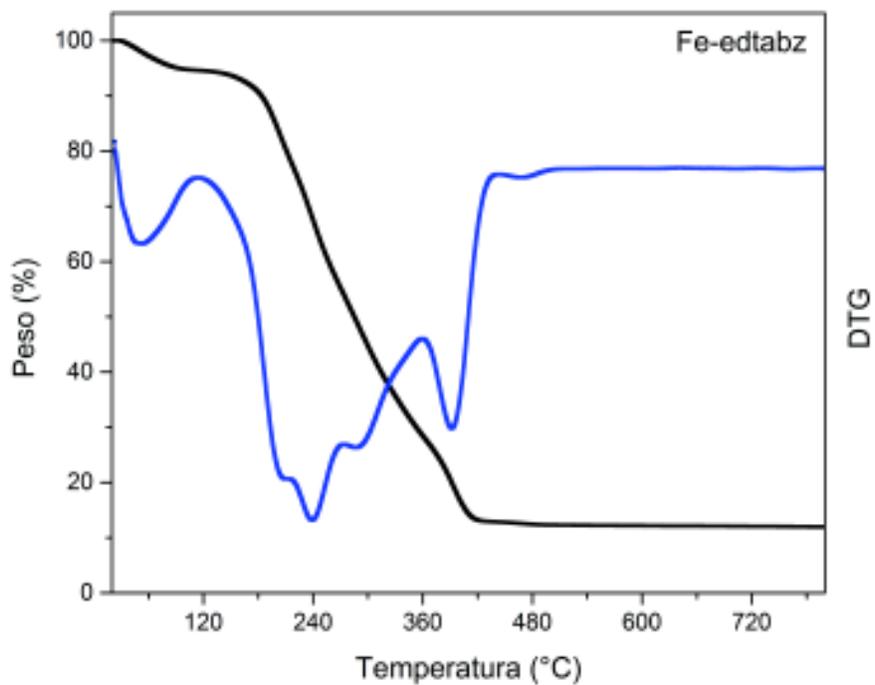


Figura A13. Curva de TGA del complejo Fe-edtabz con una velocidad de calentamiento de 10°C/min en atmosfera de aire con un flujo de 20mL/min.

PRODUCTOS OBTENIDOS

Presentacion en congresos nacional e internacional

1. XXIII REUNIÓN UNIVERSITARIA DE INVESTIGACIÓN EN MATERIALES (RUIM), Hermosillo, Sonora, México) "Structure-stability relationship in the formation of coordination compounds of Cu(II) and Fe(III) from a cyclophane and its analogue ligand with the potential use as biomimetic agents of SOD and POx" M. Beltran-Torres, R. Sugich Miranda, H. Santacruz-Ortega.
2. XXVII INTERNATIONAL MATERIALS RESEARCH CONGRESS (Cancún, Quintana Roo, México) "Structure-stability relationship in the formation of coordination compounds of Cu(II) and Fe(III) from cyclophanes and its potential use as biomimetic agents of SOD and POx" M. Beltran-Torres, R. Sugich Miranda, H. Santacruz-Ortega.
3. XIII COLOQUIO BIENAL EN CIENCIA DE LOS MATERIALES (Hermosillo, Sonora, México) "Copper and iron complexes from a cyclophane and its analogue: structure-stability relationship and its potential use as biomimetic of POx" M. Beltran-Torres, R. Sugich Miranda, H. Santacruz-Ortega, A. Salazar-Medina.