
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS



**Síntesis, caracterización y actividad citotóxica de complejos
de coordinación de cobre (II) con ligando de tipo alfa-
aminoácido**

Que para obtener el título de Maestra en Ciencias presenta

DENISE ARLETH ESPIRITU BRETADO

Bajo la dirección de

Dr. IVAN CORDÓVA GUERRERO

Tijuana, Baja California

Diciembre 2022

Universidad Autónoma de Baja California
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

Folio No.333

Tijuana, B.C., a 11 de noviembre del 2022

C. Denise Arleth Espiritu Bretado
Pasante de: Maestría en Ciencias
Presente

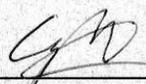
El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la
Opción TESIS.

Es propuesto, por los C. Dr. Iván Córdova Guerrero.

Quienes serán las responsables de la calidad del trabajo que usted presente,
referido al tema “Síntesis, caracterización y actividad citotóxica de complejos
de coordinación de cobre (II) con ligando de tipo alfa-aminoácido”.

El cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

- I. INTRODUCCIÓN
- II. OBJETIVOS
- III. HIPÓTESIS
- IV. GENERALIDADES
- V. METODOLOGIAS
- VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS
- VII. CONCLUSIONES
- VIII. BIBLIOGRAFIA
- IX. ANEXOS


Dra. Ana Alejandra Ramírez Rodríguez
Sub-Directora


M.C. Roberto Alejandro Reyes Martínez
Director

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE BAJA CALIFORNIA



FACULTAD DE CIENCIAS
QUÍMICAS E INGENIERÍA
COORDINACIÓN DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN


Dr. Iván Córdova Guerrero
Director de Tesis

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por el apoyo que me brindaron durante esta preparación académica.

Al Doctor Ivan Córdova por una vez más abrirme las puertas del laboratorio y apoyarme en trabajar en algo totalmente nuevo para mí, y por ser parte fundamental de mi crecimiento profesional y personal.

A la Doctora Laura Díaz y al Doctor Arturo Estolano por fomentar el gusto a la investigación y transmitirme todos sus conocimientos que apoyaron a la realización este proyecto.

A mis tutores durante el posgrado, Doctor Daniel Chávez, Doctora Ana Iglesias y Doctora Kenia Palomino por cada evaluación semestral brindarme herramientas y orientarme en esta investigación.

A Tania Peñaloza por ser una gran amiga y una persona de un gran corazón, por vivir esta etapa tan importante en mi vida a mi lado y por siempre recordarme confiar en mí misma.

A mis amigos por llenarme de energía, alegría y fortaleza en cada una de mis metas profesionales, pero también por darme esa mano y consuelo en momentos malos que se vivieron en esta pandemia.

A Rocio y Lluvia mis compañeras del laboratorio Química Medicinal y Productos Naturales por su cariño, amistad y apoyo.

A la Universidad Autónoma de Baja California, en especial a la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería donde he pasado 7 años de mi vida y me ha llenado de conocimientos y me sigue preparando para la vida profesional.

Al Doctor Alonso, Doctor Yocupicio y al Maestro Andrés quienes fueron parte fundamental en la aplicación de las técnicas instrumentales utilizadas, en general al Centro de Nanociencia y Nanotecnología de la UNAM campus Ensenada por abrirme las puertas.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo de la beca otorgado durante este proyecto.

RESUMEN

RESUMEN

Si bien en la actualidad hay diversos medicamentos contra el cáncer en el mercado, surge la demanda de seguir desarrollando constantemente nuevas alternativas de moléculas con propiedades antineoplásicas ante los inconvenientes, como los diversos efectos secundarios, que se van presentando durante el tratamiento. Por lo tanto, en el presente trabajo se plantea sintetizar complejos de coordinación de cobre²⁺ utilizando ligandos de tipo alfa-aminoácido, con el fin de presentarlos como moléculas con poder antineoplásico.

En el desarrollo experimental se obtuvieron 6 complejos de cobre²⁺ con diferentes aminoácidos como ligandos, llevándose a cabo la caracterización de los mismos, a través de técnicas como: Espectrofotometría de UV-Visible, Espectroscopia de Infrarrojo, Espectroscopia de Raman, Análisis termogravimétrico y Difracción de Rayos X de polvos.

Los ensayos biológicos se basan en la determinación de la concentración letal media (CL₅₀) para evaluar la toxicidad de los complejos de cobre²⁺ contra un sistema biológico, utilizándose el crustáceo *Artemia salina*, siendo el complejo **1G** del que se requiere una mayor concentración para causar un efecto tóxico al crustáceo. Por otro lado, se realizaron los ensayos citotóxicos frente a células HeLa (cáncer cervicouterino) y frente a Fibroblastos observando un porcentaje de viabilidad celular similar entre los complejos **1G**, **1.2G** y **2E** en diferentes concentraciones, siendo **1G** el complejo que genera con una menor concentración, un mayor efecto citotóxico.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	
ÍNDICE DE FIGURAS	I
ÍNDICE DE TABLAS	III
ÍNDICE DE DIAGRAMAS	IV
ÍNDICE DE GRÁFICAS	V
ÍNDICE DE ANEXOS	VII
ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	IX
INTRODUCCIÓN	2
OBJETIVO GENERAL	8
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
HIPÓTESIS	9
HIPÓTESIS	10
GENERALIDADES	11
CÁNCER	12
QUÍMICA INORGÁNICA MEDICINAL: METALOFÁRMACOS CONTRA EL CÁNCER.	19
NUEVOS AGENTES ANTINEOPLÁSICOS: COMPLEJOS DE COBRE	21
CARACTERÍSTICAS QUÍMICA Y FUNCIONES BIOLÓGICAS DEL COBRE	25
METABOLISMO SISTÉMICO DEL COBRE	29
COBRE EN EL CÁNCER	30
METODOLOGÍA SINTÉTICA	32
METODOLOGÍA SINTÉTICA	33
CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS DE COBRE	37
METODOLOGÍA DE ENSAYOS BIOLÓGICOS	38
EVALUACIÓN DE TOXICIDAD GENERADA POR COMPLEJOS DE COBRE²⁺ PARA ARTEMIA SALINA	39
EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CITOTÓXICA DE COMPLEJOS DE COBRE²⁺ MEDIANTE EL ENSAYO DE MTT.	41
DISCUSIÓN DE RESULTADOS SINTÉTICOS Y DE CARACTERIZACIÓN	43
RESULTADOS SINTÉTICOS Y DE CARACTERIZACIÓN	44
COMPLEJO 1G	45
COMPLEJO 1.2G	51
COMPLEJO 2E	56
COMPLEJO 3D	61
COMPLEJO 4W	66

COMPLEJO 5C.....	71
DISCUSIÓN DE RESULTADOS BIOLÓGICOS.....	76
EVALUACIÓN DE TOXICIDAD GENERADA POR COMPLEJOS DE COBRE ²⁺ PARA <i>ARTEMIA SALINA</i>	77
EVALUACIÓN CITOTÓXICA DE LOS COMPLEJOS A TRAVÉS DEL ENSAYO DE MTT. .	80
CONCLUSIONES	86
ÁPENDICE.....	90
TÉCNICAS EXPERIMENTALES	91
ANEXOS.....	94

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principios activos de fuentes naturales.	2
Figura 2. Estructura de la hemoglobina. Ejemplo biológico de una molécula con un centro metálico.	3
Figura 3. Estructura del cis-platino.	5
Figura 4. Crecimiento de células cancerígenas. Imagen recuperada de: Cancer Research UK (2020).	12
Figura 5. Tipos de tratamientos para el cáncer. Imagen recuperada de: HugsonAlpha Institute for Biotechnology (2021).	16
Figura 6. Estructura de salvarsán (izquierda) y cis platino (derecha). Imagen recuperada de: Katja Dralle Mjos y Chris Orvig (2014)	20
Figura 7. Estructura del complejo dietilditiocarbamato. Imagen recuperada de: Xin Huang et al. (2021).	21
Figura 8. Estructura del complejo $[\text{Cu}(\text{HL})(\text{H}_2\text{O})_2]\text{NO}_3$. Imagen recuperada de: Lucia M. Balsa et al. (2021).	22
Figura 9. Estructura de los complejos 1 y 2 de Anup Paul. Imagen recuperada de: Anup Paul et al. (2021).	22
Figura 10. Estructura de tres complejos que pertenecen a la segunda generación de casiopeínas. Imagen recuperada de: Miguel Reina et al. (2021)	23
Figura 11. Estructura de cuatro complejos de cobre con ligandos de tripiridina. Imagen recuperada de: Yun-Qiong Gu et al. (2022).	24
Figura 12. Estructura de un complejo de cobre con diferentes grupos R en sus ligandos. Imagen recuperada de: Quim Peña (2021).	24
Figura 13. Pedazo de cobre.	25
Figura 14. 1) Representación de Ferroxidasa, 2) Representación de Tirosinasa, 3) Representación de Dismutasa de superóxido.	28
Figura 15. Representación del metabolismo sistémico en los hepatocitos.	30
Figura 16. efecto que ejerce un agente exógeno productor de ROS sobre una célula normal y sobre una cancerígena.	31
Figura 17. Solución de acetato de cobre.	34

Figura 18. Goteo de solución de acetato de cobre en cada solución de aminoácido...	34
Figura 19. Crudo de reacción en baño de hielo.....	35
Figura 20. Crudo de reacción a temperatura ambiente.	35
Figura 21. Filtración al vacío de los cristales obtenidos del baño de hielo.	35
Figura 23. Obtención del isómero trans del complejo 1G aplicando calor.....	36
Figura 22. Isómero cis, complejo 1G, ,antes de aplicar calor.....	36
Figura 24. Reducción del MTT a formazán por la enzima succinato deshidrogenasa.	80

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Etiqueta de identificación para los 6 complejos de cobre	37
Tabla 2. Concentraciones evaluadas en el ensayo de toxicidad para Artemia salina...	39
Tabla 3. Concentraciones de los complejos para la evaluación citotóxica.....	42
Tabla 4. Nomenclatura, fórmula química y masa molar determinar por TGA para el complejo 1G.....	49
Tabla 5. Comparación de ficha JCPDS 18-1714 y el complejo 1G. D: distancia interplanar, I%: Porcentaje de intensidad. 2θ: Ángulo.....	50
Tabla 6. Nomenclatura, fórmula química y masa molar determinar por TGA para el complejo 1.2G.....	54
Tabla 7. Datos del análisis DRX-P para el complejo 1.2G. D: distancia interplanar, I%: Porcentaje de intensidad. 2θ: Ángulo.....	55
Tabla 8. Nomenclatura, fórmula química y masa molar determinar por TGA para el complejo 2E.	59
Tabla 9. Comparación de ficha JCPDS 21-1599 con el complejo 2E. D: distancia interplanar, I%: Porcentaje de intensidad. 2θ: Ángulo.....	60
Tabla 10. Nomenclatura, formula química y masa molar determinar por TGA para el complejo 3D.	64
Tabla 11. Datos del análisis DRX-P para el complejo 3D. D: distancia interplanar, I%: Porcentaje de intensidad. 2θ: Ángulo.....	65
Tabla 12. Nomenclatura, fórmula química y masa molar determinar por TGA para el complejo 4W.	69
Tabla 13. Comparación de ficha JCPDS 32-1618 con el complejo 4W. D: distancia interplanar, I%: Porcentaje de intensidad. 2θ: Ángulo.....	70
Tabla 14. Solventes probados para solubilidad de 5C.....	72
Tabla 15. Nomenclatura, fórmula química y masa molar determinar por TGA para el complejo 5C.	74
Tabla 16. Datos del análisis DRX-P para el complejo 5C. D: distancia interplanar, I%: Porcentaje de intensidad. 2θ: Ángulo.....	75
Tabla 17. CL50 de los complejos evaluados en el ensayo de toxicidad para Artemia salina.....	78

ÍNDICE DE DIAGRAMAS

Diagrama 1. Material de partida para los complejos. Donde el grupo R difiere entre cada aminoácido: A) Glicina B) Ácido glutámico C) Ácido aspártico D) Triptófano E) Cisteína.....	33
Diagrama 2. Representación colorida del ensayo de Artemia salina.	40
Diagrama 3. Esquema general de una reacción de sustitución de ligando.	44
Diagrama 4. Síntesis del complejo 1G.	45
Diagrama 5. Estructura del complejo 1G determinada a partir de TGA.....	49
Diagrama 6. Obtención del isómero trans, complejo 1.2G	51
Diagrama 7. Estructura del complejo 1.2G determinada por TGA	54
Diagrama 8. Síntesis del complejo 2E.....	56
Diagrama 9. Estructura del complejo 2E determinada por TGA.....	59
Diagrama 10. Síntesis del complejo 3D.....	61
Diagrama 11. Estructura del complejo 3D determinada por TGA.....	64
Diagrama 12. Síntesis del complejo 4W.....	66
Diagrama 13. Estructura del complejo 4W determinada por TGA.....	69
Diagrama 14. Síntesis del complejo 5C.....	71
Diagrama 15. Estructura del complejo 5C determinada por TGA.....	74

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Comparación de barrido espectral de glicina y el complejo 1G. Gly: carece de transiciones d –d. 1G: presenta banda amplia en región visible debido a la coordinación con cobre (transiciones d – d).....	47
Gráfica 2. Análisis por espectroscopia Raman del complejo 1G.....	48
Gráfica 3. Comparación de barrido espectral de glicina y el complejo 1G. Gly: carece de transiciones d –d. 1.2G: presenta banda amplia en región visible debido a la coordinación con cobre (transiciones d – d).....	52
Gráfica 4. Análisis por espectroscopia Raman del complejo 1.2G.....	53
Gráfica 5. Comparación de barrido espectral de ácido glutámico y el complejo 2E. Glu: carece de transiciones d –d. 2E: presenta banda amplia en región visible debido a la coordinación con cobre (transiciones d – d).....	57
Gráfica 6. Análisis mediante espectroscopia Raman del complejo 2E.....	58
Gráfica 7. Comparación de barrido espectral de ácido aspártico y el complejo 3D. Asp: carece de transiciones d –d. 3D: presenta banda amplia en región visible debido a la coordinación con cobre (transiciones d – d).....	62
Gráfica 8. Análisis mediante espectroscopia Raman del complejo 3D.....	63
Gráfica 9. Comparación de barrido espectral de triptófano y el complejo 4W. Trp: carece de transiciones d –d. 4W: presenta banda amplia en región visible debido a la coordinación con cobre (transiciones d – d).....	67
Gráfica 10. Análisis mediante espectroscopia Raman del complejo 4W.....	68
Gráfica 11. Análisis mediante espectroscopia Raman del complejo 5C.....	73
Gráfica 12. Porcentaje de mortalidad de los complejos 1G, 1.2G, 2E, 3D y 4W para Artemia salina	77
Gráfica 13. Porcentaje de viabilidad celular mediante el ensayo de MTT en células 3T3 (fibroblastos) del complejo 1G en diferentes concentraciones.	81
Gráfica 14. Porcentaje de viabilidad celular mediante el ensayo de MTT en células HeLa (cáncer cervicouterino) del complejo 1G en diferentes concentraciones.	82
Gráfica 15. Porcentaje de viabilidad celular mediante el ensayo de MTT en células 3T3 (fibroblastos) del complejo 1.2G en na concentración	83

Gráfica 16. Porcentaje de viabilidad celular mediante el ensayo de MTT en células HeLa (cáncer cervicouterino) del complejo 1.2G en una concentración. 84

Gráfica 18. Porcentaje de viabilidad celular mediante el ensayo de MTT en células HeLa (cáncer cervicouterino) del complejo 2E en una concentración. 85

Gráfica 17. Porcentaje de viabilidad celular mediante el ensayo de MTT en células 3T3 (fibroblastos) del complejo 2E en una concentración. 85

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Espectro de IR de glicina.....	94
Anexo 2. Espectro de IR del complejo 1G.....	95
Anexo 3. Espectro de IR del complejo 1.2G.....	96
Anexo 4. Espectro de IR de ácido glutámico.....	97
Anexo 5. Espectro de IR del complejo 2E.....	98
Anexo 6. Espectro de IR de ácido aspártico.....	99
Anexo 7. Espectro de IR del complejo 3D.....	100
Anexo 8. Espectro de IR de triptófano.....	101
Anexo 9. Espectro de IR del complejo 4W.....	102
Anexo 10. Espectro de IR de cisteína.....	103
Anexo 11. Espectro de IR del complejo 5C.....	104
Anexo 12. Barrido espectral de glicina. Longitud de onda máxima: 190 nm.....	105
Anexo 13. Barrido espectral del complejo 1G. Longitud de onda máxima ₁ : 250 nm, Longitud de onda máxima ₂ : 630 nm.....	106
Anexo 14. Barrido espectral del complejo 1.2G. Longitud de onda máxima ₁ : 260 nm, Longitud de onda máxima ₂ : 620 nm.....	107
Anexo 15. Barrido espectral de ácido glutámico. Longitud de onda máxima: 195 nm.....	108
Anexo 16. Barrido espectral para el complejo 2E. Longitud de onda máxima ₁ : 230 nm, Longitud de onda máxima ₂ : 710 nm.....	109
Anexo 17. Barrido espectral de ácido aspártico. Longitud de onda máxima: 195 nm.....	110
Anexo 18. Barrido espectral del complejo 3D. Longitud de onda máxima ₁ : 210 nm, Longitud de onda máxima ₂ : 700 nm.....	111
Anexo 19. Barrido espectral de triptófano. Longitud de onda máxima: 250 nm.....	112
Anexo 20. Barrido espectral del complejo 4W. Longitud de onda máxima ₁ : 230 nm, Longitud de onda máxima ₂ : 620 nm.....	113
Anexo 21. Gráfica de TGA para el complejo 1G.....	114
Anexo 22. Gráfica de TGA del complejo 1.2G.....	115
Anexo 23. Gráfica de TGA del complejo 2E.....	117
Anexo 24. Gráfica de TGA del complejo 3D.....	118
Anexo 25. Gráfica de TGA para el complejo 4W.....	119

Anexo 26. Gráfica de TGA para el complejo 5C.....	120
Anexo 27. Difractograma del complejo 1G	121
Anexo 28. Ficha JCPDS 00-018-1714.....	122
Anexo 29. Difractograma del complejo 1.2G	123
Anexo 30. Difractograma del complejo 2E	124
Anexo 31. Ficha JCPDS 00-021-1599.....	125
Anexo 32. Difractograma del complejo 3D	126
Anexo 33. Difractograma del complejo 4W	127
Anexo 34. Ficha JCPDS 00-032-1618.....	128
Anexo 35. Difractograma del complejo 5C	129

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

Cu: cobre

Gly: glicina

Asp: ácido aspártico

Glu: ácido glutámico

Trp: triptófano

Cys: cisteína

mg: miligramos

mL: mililitros

MTT: Bromuro de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol

JCPDS: Joint Committee on Powder Diffraction Standards (Comité Conjunto sobre Estándares de Difracción de Polvo)

C: carbono

H: hidrógeno

O: oxígeno

N: nitrógeno

OMS: Organización Mundial de la Salud

ERO: Especies reactivas de oxígeno

°C: grados centígrados

Δ : aplicación de calor

α : alfa

β : beta

H₂O: Agua

CO₂: dióxido de carbono

UV-Vis: ultravioleta- visible

nm: nanómetros

TGA: análisis termogravimétrico

DRX-P: Difracción de Rayos X de Polvos

3T3: fibroblastos

HeLa: células de cáncer cervicouterino

I%: Porcentaje de intensidad

2θ : ángulo dos theta

D: distancia interplanar

CL₅₀: concentración letal media

ppm: partes por millón

DMSO: dimetilsulfóxido

MeOH: Metanol

Cel/mL: células por mililitro

μ L: microlitro

%: Porcentaje

DMEM: medio Eagle modificado de Dulbecco

λ : Longitud de onda

λ_{\max} : Longitud de onda máxima

mL/min: mililitro por minuto

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

A lo largo de nuestra historia, los seres humanos hemos logrado encontrar en la naturaleza diversas moléculas con actividades biológicas que lograr curar afecciones específicas, las cuales se han logrado aprovechar en el área farmacológica.

Un ejemplo de una molécula de origen natural, es el descubrimiento de la penicilina a partir de un hongo filamentoso *Penicillium Notatum* y su uso terapéutico, considerando a los años 40 como la Edad de Oro de los antibióticos. Este hallazgo dio pie a la investigación exhaustiva de la naturaleza como fuente de nuevos agentes con propiedades terapéuticas.

Otro gran ejemplo, es el descubrimiento del actualmente conocido como “paclitaxel”, obteniéndose de la corteza del tejo del Pacífico (*Taxus brevifolia*) durante finales de la década de los 60 y principios de los 70 del siglo XX. Dichas muestras presentaron una potente actividad citotóxica y antileucémica. Desde una perspectiva farmacológica, el fármaco citotóxico “ideal” sería aquel que matara las células cancerígenas sin dañar a las células sanas. Esto se sigue trabajando en diversas líneas de investigación, ya sea en la búsqueda de principios activos aislados de fuentes naturales o en la síntesis de moléculas orgánicas/organometálicas con propiedades antineoplásicas.

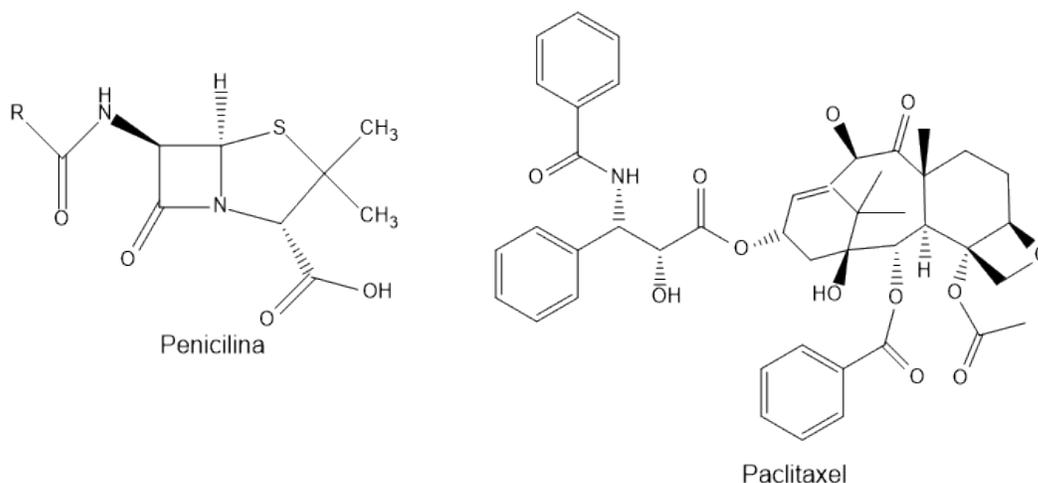


Figura 1. Principios activos de fuentes naturales.

Para lograr una comprensión amplia sobre la síntesis, estructura y propiedades de compuestos a base de metales, debemos de basarnos en los fundamentos de la Química de Coordinación, la cual, tiene como objeto de estudio aquellos compuestos donde un grupo de moléculas, átomos o iones denominados ligandos, son capaces de rodear a un ion o átomo central que, comúnmente, resulta ser un metal. (Libertad López, 2016)

El estudio de la química de coordinación resulta de gran interés, dado que en la tabla periódica la mayoría de los elementos son metales y generalmente estos pueden formar complejos. Por otro lado, en el área industrial muchos de los catalizadores utilizados son complejos metálicos y son de gran relevancia para controlar la reactividad de una reacción. Además, los complejos de metales de transiciones son esenciales para procesos metabólicos: el ejemplo más sencillo es donde el hierro que se encuentra en la estructura de la hemoglobina tiene la capacidad de transportar oxígeno en la sangre.

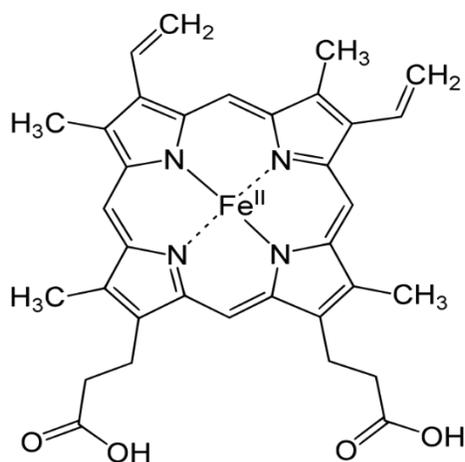


Figura 2. Estructura de la hemoglobina. Ejemplo biológico de una molécula con un centro metálico.

El comportamiento del ion metálico en el proceso de formación de una especie compleja viene dado por su carga, tamaño y configuración de la capa de valencia; por otro lado, la configuración electrónica del ion del elemento de transición condiciona el número de coordinación y la fuerza del enlace metal-ligando. Con relación al ligando, su tamaño y la basicidad de sus átomos donadores favorecen la formación de complejos estables, además los ligandos con dos o más átomos donadores forman quelatos, especies complejas más estables. (Susana Balboa, 2007)

Los compuestos de coordinación logran presentar diferentes propiedades, las cuales van a depender de las características del átomo central, así como de la naturaleza de los ligandos. Un ejemplo son aquellos compuestos que reflejan una propiedad crucial en procesos biológicos de interés. (Ruiz Azuara, Bravo Gómez, 2010)

Asimismo, el surgimiento de la “Química Bioinorgánica” marcó la importancia de los metales en la biología, la cual se define como la disciplina que se encarga de estudiar las relaciones existentes entre elementos y compuestos inorgánicos en diversos sitios y procesos biológicos, como lo son la transferencia de electrones en organismos fotosintéticos y en la cadena respiratoria mitocondrial, donde tanto el hierro como el cobre se ven involucrados. Es conocido el efecto de algunos metales en la salud, como el cadmio y el mercurio, que son muy tóxicos; en cambio, otros metales se encuentran en compuestos con actividad farmacológica, y otros más son utilizados como elementos de diagnóstico. (Aguilar O. et.al., 2012)

Debido a los importantes avances de la bioinorgánica se han adquirido conocimientos acerca de los efectos de ciertos sistemas inorgánicos sobre los sistemas biológicos y específicamente metales de transición sobre los seres humanos, dando lugar al desarrollo y/o aparición de la “*Química Inorgánica Medicinal*” como nueva disciplina dentro del campo médico-farmacológico. La creciente cantidad de fármacos de esta naturaleza ha permitido que se acuñe el término metalofármacos haciendo referencia a agentes terapéuticos que contienen metales como ingrediente activo.

La mayoría de agentes metálicos utilizados en tratamientos farmacológicos se enfocan en la batalla contra el cáncer, como en la quimioterapia. Unos de los primeros compuestos empleados en este tratamiento están basados en complejos de platino (cisplatino por ejemplo), aunque se ha logrado registrar una variedad de efectos secundarios; por lo tanto, se tiende a la sustitución de los mismos por otros compuestos que presenten su misma efectividad antineoplásica, pero con menores efectos nocivos contra la salud del paciente. Es por ello que se ha enfocado la síntesis de nuevos agentes antineoplásicos basados en titanio, galio, estaño, rutenio, paladio, cobre y otros metales, con el fin de evaluar su actividad antineoplásica, su mecanismo de acción y efectos secundarios sobre el paciente. (Gómez Ruiz, 2010)

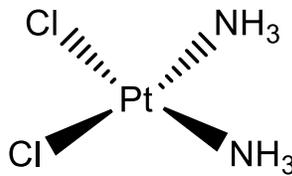


Figura 3. Estructura del cis-platino.

El cobre exhibe una acción bioquímica considerable como metal traza esencial o como componente de varios compuestos administrados exógenamente en humanos. Varios estudios demuestran el papel multifacético del cobre en los sistemas biológicos. Por lo que, al usar el cobre en lugar de platino, se propone que este será mejor tolerado por el organismo, debido a la existencia de vías biológicas que tienen como función regular los niveles de cobre. (Taboada Lugo, 2017)

En los últimos años, se ha llevado a cabo diversos estudios sobre los complejos de cobre con posibles propiedades antitumorales; sin embargo, solo existe poco conocimiento de la base molecular en la cual se basa su mecanismo de acción, por lo que esto ha generado atención ante una comparación con los modos de acción de cisplatino. Aún así, se sugiere que gracias a su mecanismo de acción los complejos de cobre pueden exhibir efectos secundarios relativamente más bajos, así como también que pueden vencer la resistencia heredada o adquirida de los medicamentos a base de platino.

El modo de acción de los complejos de cobre es diverso y diferente del cisplatino; incluye la interacción del ADN, la toxicidad mitocondrial y la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO). Se menciona que los complejos de cobre y sus derivados pueden catalizar la formación de ERO, ser desencadenantes críticos en las vías apoptóticas celulares, y formar ERO junto con otras reacciones en cascada intracelulares que pueden conducir a la célula a la apoptosis. Por lo tanto, una comprensión más precisa y profunda sobre la apoptosis inducida por cobre será útil en el desarrollo de fármacos antineoplásicos a base de cobre. (Iakovidis I., 2011)

Estudiar los mecanismos de acción de nuevas moléculas con potencial antineoplásico resulta ser de importancia dado a que la Organización Mundial de la Salud reportó en el año 2020 un aumento de 1,2 millones a 1,8 millones de muertes de personas que

fallecieron por cáncer de tráquea, pulmón y bronquios, llevando al cáncer al sexto lugar dentro de las principales causas de muerte.

Considerando la información presentada en esta introducción, destaca la importancia de seguir con el estudio de moléculas que puedan presentar propiedades antineoplásicas, las cuales puedan ser generadas incorporando un metal de transición clave como lo es el cobre. Se propone seguir con el camino de la síntesis de complejos de coordinación, llevando a cabo la caracterización de estas moléculas propuestas y realizando evaluaciones biológicas que nos proporcionen información sobre su citotoxicidad.

OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS

OBJETIVO GENERAL

Sintetizar y caracterizar estructuralmente complejos de cobre²⁺ con ligandos de tipo α -aminoácidos, así como evaluar su toxicidad y actividad citotóxica.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Sintetizar los complejos coordinados de cobre²⁺ con α -aminoácidos.
2. Caracterizar los productos obtenidos mediante las técnicas de espectroscopia de Infrarrojo, Espectrofotometría UV-Vis, Análisis Termogravimétrico, Espectroscopia Raman y Difracción de Rayos X de Polvos.
3. Evaluar la toxicidad de los complejos de cobre²⁺ en un modelo con *Artemia salina*.
4. Realizar ensayos de citotoxicidad frente diferentes líneas celulares.

HIPÓTESIS

HIPÓTESIS

La generación de complejos de cobre²⁺ con ligandos de tipo α -aminoácidos presentan propiedades antineoplásicas con menores efectos tóxicos debido a las funciones que desempeñan dentro del organismo.

GENERALIDADES

CÁNCER

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) el cáncer es un término amplio utilizado para aludir a un conjunto de enfermedades que se pueden originar en casi cualquier órgano o tejido del cuerpo cuando las células anormales crecen de forma descontrolada.

Los distintos tipos de cáncer comenzarán en una célula o un grupo pequeño de células. El cuerpo humano es capaz de tener el número justo de cada tipo de células debido a que estas producen señales para controlar cuánto y con qué frecuencia se dividen. En el caso que estas señales celulares presenten algún defecto, las células comienzan a crecer multiplicándose rápidamente y formando un bulto llamado “tumor”, donde el denominado “tumor primario” será aquel donde se originó el cáncer. (National Cancer Institute, 2021)

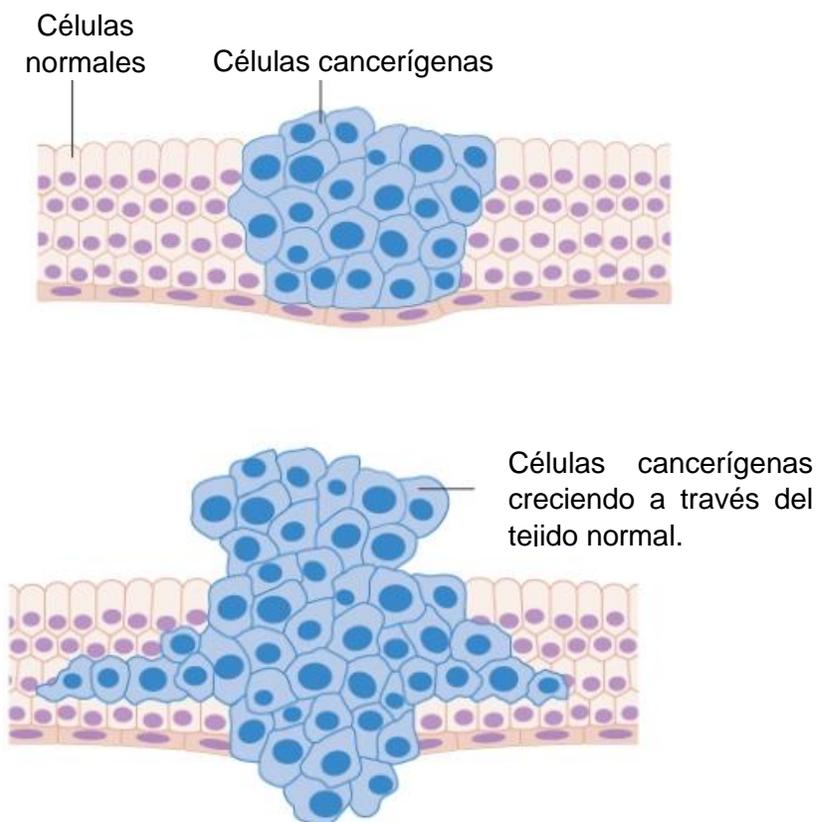


Figura 4. Crecimiento de células cancerígenas. Imagen recuperada de: Cancer Research UK (2020).

Los tumores pueden clasificarse de dos formas:

1. **Tumores benignos:** Estos no se consideran cancerosos debido a que crecen muy lentamente, no se desplazan a otras regiones del cuerpo humano y generalmente cuentan con una superficie de células normales.
2. **Tumores malignos:** Formados por aquellas células anormales, presentan una proliferación celular descontrolada, tienen la capacidad de desplazarse a cualquier tejido u órgano del cuerpo humano y causar daño para esto utilizan el torrente sanguíneo o el sistema linfático. (National Comprehensive Cancer Network, 2018).

Además, los cánceres se clasifican de acuerdo al tipo de célula donde se origina:

1. **Carcinoma:** Inicia en el tejido o la piel, que recubre las glándulas y los órganos internos, formando un tumor sólido. Ejemplo: cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón.
2. **Sarcomas:** Se originan en los tejidos que conectan y sostienen el cuerpo. Pueden formarse por nervios, tendones, articulaciones, grasa, vasos sanguíneos, huesos, vasos linfáticos, músculos o cartílagos.
3. **Leucemia:** Da inicio en los tejidos que están involucrados en la formación de sangre, tales como la médula ósea. Se divide en 4 tipos: leucemia mieloide crónica, leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica aguda y leucemia linfocítica crónica.
4. **Linfomas:** Se origina en el sistema linfático que es una red de glándulas y vasos. Ejemplo: Linfoma de Hodgkin y Linfoma no Hodgkin.

-
5. **Cánceres del sistema nervioso central:** Son aquellos que comienzan en los tejidos del cerebro o médula espinal. Ejemplo: gliomas, schwannomas vestibulares, meningiomas, etc.
 6. **Mieloma múltiple:** Cáncer que comienza en las células plasmáticas, estas se acumulan en la médula ósea y forman tumores en los huesos. Ejemplo: Enfermedad de Kahler.
 7. **Melanoma:** Comienza en las células encargadas de generar melanina, los melanocitos. Los melanomas principalmente se desarrollan en piel, aunque también pueden originarse en tejidos pigmentados como el ojo. (Anupam Saini et.al. 2020).

Existen diversos factores de riesgos para contraer cáncer. Algunos son hereditarios y otros adquiridos por los hábitos de alimentación o de sustancias tóxicas para el organismo, o bien mediados por el medio ambiente:

- El consumo elevado de tabaco contribuye al aumento en la mortalidad por cáncer.
- Infecciones por el virus de la hepatitis B, hepatitis C y el virus del papiloma humano, así como por *Helicobacter pylori*
- Una alimentación desbalanceada, escasa en frutas y verduras frescas.
- Un exceso en el consumo de alcohol
- Exposiciones a sustancias químicas durante el trabajo
- Contacto frecuente con animales de granja que posean diferentes enfermedades transmisibles
- Exposición a un medio ambiente contaminado, como agua, aire y suelo
- Frecuente interacción con radiaciones ionizantes y no ionizantes
- Inactividad física

(Institute of Medicine, 2007)

Los tratamientos para combatir los diferentes tipos de cáncer dependerán del que tan avanzado esté el tumor, el estado del mismo y la edad de la persona. Los tratamientos más comunes son:

1. **Braquiterapia:** Consiste en colocar fuentes de radiación momentáneas o constantes junto al tejido objetivo. Por lo tanto, cuanto mayor sea la distancia desde la fuente de radiación habrá una disminución de la dosis absorbida por el tejido y los tejidos sanos adyacentes se verán menos afectados. Como fuentes de radiación se puede utilizar cesio-137, iridio-192, yodo-125, entre otros. Se logra utilizar este tipo de tratamiento contra cánceres de mama, próstata, cuello uterino y piel. (Elham Hosseinzadeh et al., 2017)
2. **Cirugía:** Es uno de los tratamientos más prometedores y convencionales para los diferentes tumores, ya que asegura el menor daño a los tejidos adyacentes en comparación con otros tratamientos.
3. **Quimioterapia:** Este tratamiento se enfoca en detener la progresión del tumor al eliminar su capacidad de dividirse y forzar la apoptosis. El funcionamiento biológico normal del cuerpo reestablece las células del cuerpo al eliminar el exceso de células o las células dañadas y, por lo tanto, señalar la formación de nuevas células. Por el contrario, las células tumorales tienen una mayor capacidad de división y la cualidad de la inmortalidad ya que no están controladas por la apoptosis. Por lo tanto, mientras que en los cuerpos normales la proliferación celular se equilibra con la muerte celular y está regulada, en las masas cancerosas la proporción de proliferación celular a muerte celular es alta. La quimioterapia actúa aquí para provocar cambios en las células tumorales para que dejen de crecer o mueran.

-
4. **Radioterapia:** Es el uso de radiación ionizante para inducir la necrosis de las células cancerígenas o conseguir un control local del tumor al disminuir su crecimiento y proliferación. Puede ser administrado mediante una radiación externa de Rayos X o gamma, o administrado oralmente. (Zaigham Abbas y Sakina Rehman, 2018).

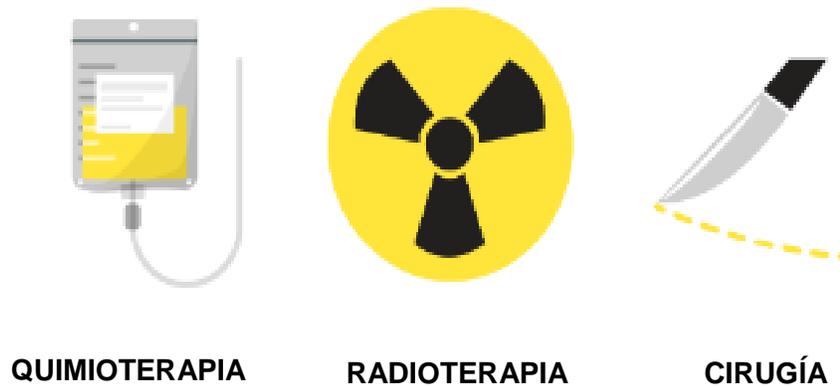


Figura 5. Tipos de tratamientos para el cáncer. Imagen recuperada de: HugsonAlpha Institute for Biotechnology (2021).

En la quimioterapia se emplea diferentes medicamentos que se pueden agrupar de acuerdo a su función y estructura química. A continuación, se muestra una tabla con una breve clasificación general de los medicamentos empelados en quimioterapia: (American Cancer Society, 2019)

CLASIFICACIÓN	FUNCIÓN	EJEMPLO
Agentes alquilantes	Evitan que la célula se reproduzca formando un enlace covalente entre la molécula terapéutica y el ADN afectando en cualquier fase del ciclo celular.	Cisplatino Ciclofosfamida Oxaliplatino Busulfán
Nitrosoureas	Actúan alquilándose en los ácidos nucleicos y proteínas formando entrecruzamiento en el ADN.	Carmustina Lomustina Estreptozocina
Antimetabolitos	Actúan como sustitutos de las bases púricas o pirimidínicas en la formación de ARN y ADN, evitando la reproducción celular.	Metrotexato Tioguanina Hidroxiurea Pralatrexato
Antraciclinas	Interfieren en las enzimas involucradas en la copia del ADN durante el ciclo celular.	Doxorrubicina Epirubicina Idarubicina Valrubicina
Inhibidores de la topoisomerasa	Interfieren en las enzimas topoisomerasas evitando la separación del ADN	Topotecán Irinotecán Tenipósido Mitoxantrona
Inhibidores mitóticos	Afecta a la tubulina interrumpiendo la formación de microtúbulos en la mitosis.	Docetaxel Paclitaxel Cabazitaxel Vinblastina

(American Cancer Society, 2019)

Sin embargo, cada uno desencadena una serie de efectos secundarios que pueden ser diferentes de acuerdo al agente anticancerígeno empleado y al estado del paciente, en general un paciente con tratamiento de quimioterapia puede pasar por:

- Anemia
- Cambio en el apetito
- Diarrea
- Infecciones bacterianas recurrentes
- Fatiga, náuseas y vomito
- Cambios en el sistema nervioso central
- Dolor corporal
- Pérdida de vello corporal
- Pérdida de cabello
- Cambio en piel y uñas
- Insuficiencia renal y urinaria

QUÍMICA INORGÁNICA MEDICINAL: METALOFÁRMACOS CONTRA EL CÁNCER.

Durante los avances continuos en el campo de la química inorgánica medicinal se han generado diversas aplicaciones en la salud. Muchos iones metálicos juegan un papel vital en los organismos vivos. Los iones metálicos también están involucrados en una variedad de procesos dentro del cuerpo humano, como el transporte de oxígeno o la formación de la estructura de nuestros huesos. Los iones de calcio (Ca) son un componente vital de nuestros huesos. Elementos como el cobre (Cu), el zinc (Zn) y el manganeso (Mn) son esenciales para una variedad de procesos catalíticos. Diversos elementos metálicos son esenciales para el funcionamiento del organismo, como en los procesos metabólicos y fisiológicos; debido a esto, de diferentes metales esenciales y no esenciales se han estudiado su actividad biológica y farmacológica en forma de complejos de coordinación. (Katja A. Strohfeltdt, 2015).

La química inorgánica médica se puede definir en términos generales como el área de investigación relacionada con los iones metálicos y los complejos metálicos y sus aplicaciones clínicas. La química inorgánica médica es un área de investigación relativamente nueva que surgió del descubrimiento del agente anticancerígeno cisplatino. De hecho, el valor terapéutico de los iones metálicos se conoce desde hace cientos de miles de años. Los metales como el arsénico se han utilizado en estudios clínicos hace más de 100 años. En general, las áreas de investigación incluyen el desarrollo de agentes terapéuticos a base de metales, la interacción de metales y proteínas, la quelación de metales y las funciones generales de los metales en los sistemas vivos. (Katja A. Strohfeltdt, 2015).

Uno de los primeros metalofármacos terapéuticos fue salvarsán, un agente antimicrobiano a base de arsénico desarrollado por Paul Ehrlich con el nombre de trabajo 606, una mezcla de compuestos de 3-amino-4-hidroxifenil-arsénico (III). En 1912, Paul Ehrlich publicó sus resultados de salvarsán como tratamiento eficaz contra la sífilis. Aunque el salvarsán de Ehrlich es considerado como el surgimiento de la quimioterapia moderna, durante el desarrollo moderno de metalofármacos, el agente anticariógeno que destaca es el cisplatino, descubierto en 1965 por casualidad por Barnett Rosenberg y Loretta VanCamp en la universidad estatal de Michigan, durante el estudio del efecto de

una corriente eléctrica en *Escherichia coli*. Se encontró que la división celular fue inhibida por la producción de cis-diaminodichloroplatino (II) de los electrodos de platino. Estudios adicionales sobre este agente de platino indicaron que poseía actividad antitumoral, y este hallazgo condujo a la investigación y el desarrollo continuo de metalofármacos contra el cáncer. (Katja Dralle Mjos y Chris Orvig, 2014)

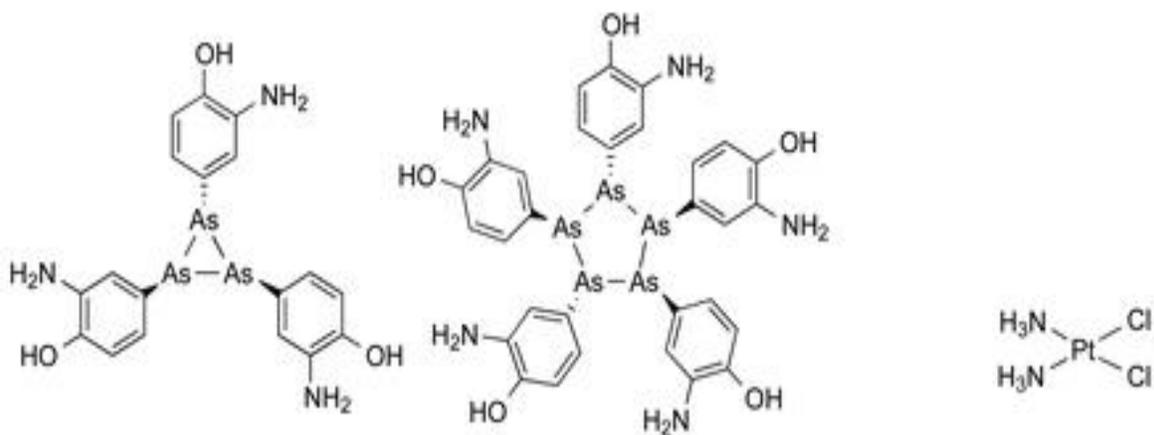


Figura 6. Estructura de salvarsán (izquierda) y cis platino (derecha). Imagen recuperada de: Katja Dralle Mjos y Chris Orvig (2014)

NUEVOS AGENTES ANTINEOPLÁSICOS: COMPLEJOS DE COBRE

Debido al potencial anticancerígeno del cisplatino surgieron complejos con otros metales esenciales y no esenciales para el organismo como una alternativa en el tratamiento contra diferentes tipos de cáncer, con el fin de evadir los problemas que surgen durante el tratamiento como la resistencia adquirida, disminuir los efectos secundarios y, así mismo, ofrecer opciones para cuando el tumor no responde frente al fármaco.

Se ha utilizado al cobre como potencial agente anticancerígeno debido a su actividad redox, dando lugar a una actividad citotóxica hacia las células cancerígenas. (Dharmasivam Mahendiran , 2018). Actualmente se sigue en el estudio de complejos de cobre con actividad citotóxica, comentando a continuación algunos evaluados en el último año.

Xin Huang y colaboradores (2021), evaluaron el complejo dietilditiocarbamato cobre (CuET), encontrando un efecto marcado en la supresión de la progresión del cáncer colorrectal tanto *in vitro* como *in vivo* al reducir el metabolismo de la glucosa, concluyendo que la vía donde ejerce su mecanismo se enfoca durante la glucólisis aeróbica. (Xin Huang et al.,2021).

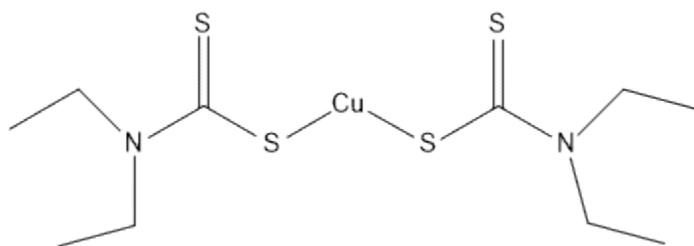


Figura 7. Estructura del complejo dietilditiocarbamato. Imagen recuperada de: Xin Huang et al. (2021)

Lucia M. Balsa y colaboradores (2021), sintetizaron y evaluaron un complejo reportando una actividad anticancerígena en células de cáncer de hueso, pulmón, colorrectal y particularmente en mama, así mismo se realizaron estudios de acoplamiento y dinámica molecular donde predijeron la interacción con el ADN. Otro estudio fue la cuantificación de los niveles de especie reactivas de oxígeno (ERO) donde en el cáncer de mama aumentaron los ROS, esto se relaciona con uno de los mecanismos del cobre durante el tratamiento contra el cáncer, la apoptosis celular por las ERO. (Lucia M. Balsa et al., 2021) (Pierre Lelièvre et al., 2020).

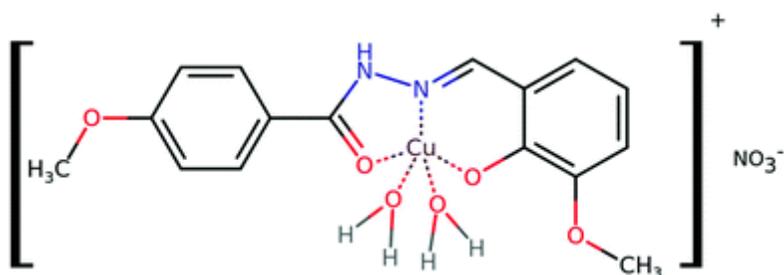


Figura 8. Estructura del complejo $[Cu(HL)(H_2O)_2]NO_3$. Imagen recuperada de: Lucia M. Balsa et al. (2021).

Anup Paul et al. (2021), evaluaron dos complejos sintetizados (1 y 2) donde el complejo 1 mostró mejor actividad anticancerígena ante la línea celular MCF-7 de cáncer de mama, donde atribuyen su mejor actividad a la unidad de trifenilfosfonio que se ancla al ADN generando la apoptosis celular. (Anup Paul et al., 2021).

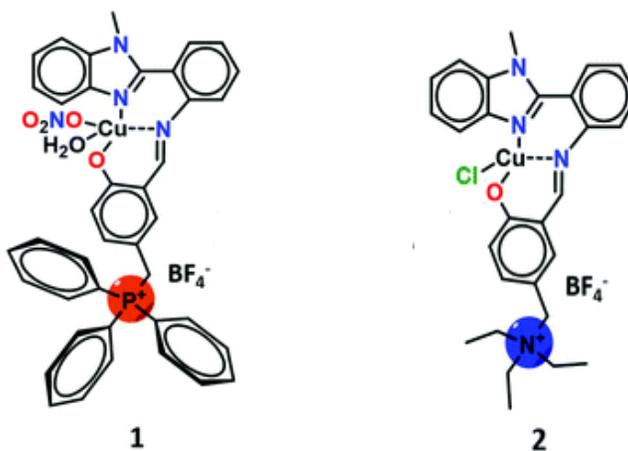


Figura 9. Estructura de los complejos 1 y 2 de Anup Paul. Imagen recuperada de: Anup Paul et al. (2021).

Miguel Reina y colaboradores (2021), sintetizaron tres complejos que pertenecen a la segunda generación de casiopeínas donde el complejo A mostró una mayor actividad citotóxicas en células HeLa para cáncer cervicouterino y los complejos B y C, mostraron mejor actividad en la línea MCF-7 para cáncer de mama. (Miguel Reina et al., 2021).

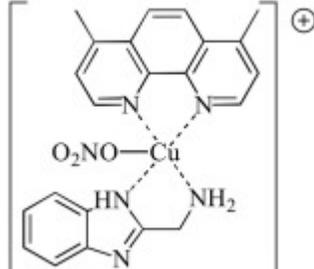
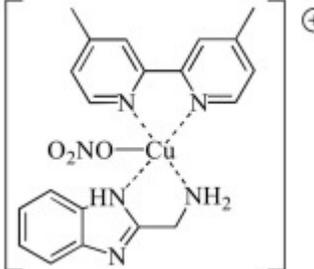
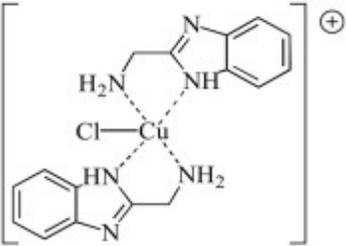
COMPLEJO	ESTRUCTURA
A) $[\text{Cu}(4,7\text{-dimetil-1,10-fenantrolina})(2\text{AMB})(\text{NO}_3)]\text{NO}_3$	
B) $[\text{Cu}(4,7\text{-dimetil-1,10-fenantrolina})(2\text{AMB})(\text{NO}_3)]\text{NO}_3$	
C) $[\text{Cu}(4,4\text{-dimetil-2,2'bipiridina})(2\text{AMB})(\text{NO}_3)]\text{Cl}$	

Figura 10. Estructura de tres complejos que pertenecen a la segunda generación de casiopeínas. Imagen recuperada de: Miguel Reina et al. (2021)

Yun-Qiong Gu y colaboradores (2022), prepararon cuatro complejos de cobre con derivados de tripiridina donde mostraron una fuerte actividad citotóxica contra las células de carcinoma hepatocelular BEL-7402, generando la apoptosis por disfunción mitocondrial celular a través del bloqueo del ciclo celular en la fase G0-G1. Específicamente reportaron que el complejo 1 inhibió el crecimiento tumoral en el modelo con ratones con las células tumorales BEL-7402. (Yun-Qiong Gu et al, 2022).

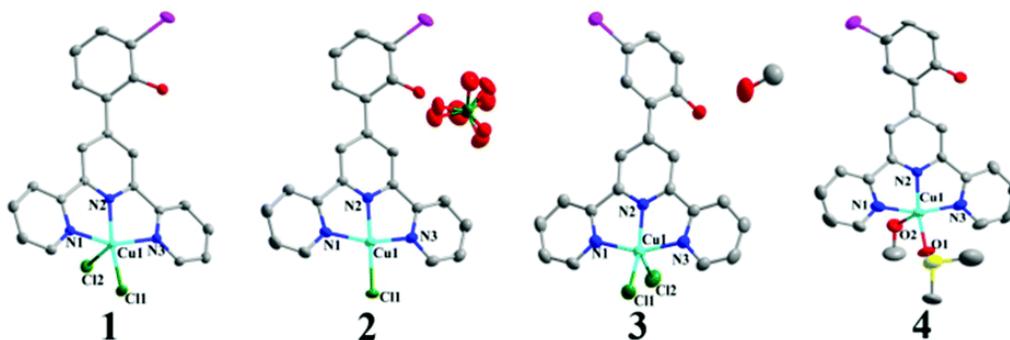


Figura 11. Estructura de cuatro complejos de cobre con ligandos de tripiridina. Imagen recuperada de: Yun-Qiong Gu et al. (2022).

Se ha reportado tres complejos que exhibieron citotoxicidad frente a células HeLa (cáncer cervicouterino) y células MCF7 (cáncer de mama). El complejo que reportan como C1 es aquel con mejores resultados donde sigue un mecanismo medido por EROS. Los estudios con ADN muestran que los complejos forman una unión no covalente con el ADN. (Quim Peña et al. 2021)

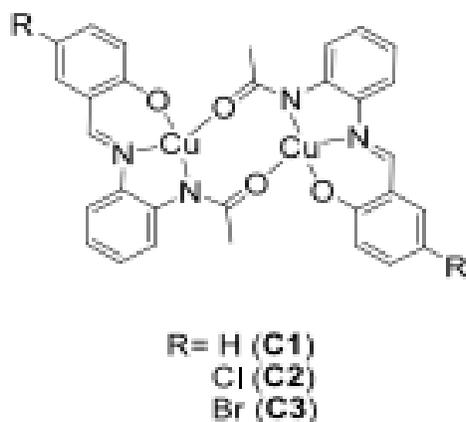


Figura 12. Estructura de un complejo de cobre con diferentes grupos R en sus ligandos. Imagen recuperada de: Quim Peña (2021).

CARACTERÍSTICAS QUÍMICA Y FUNCIONES BIOLÓGICAS DEL COBRE

El cobre es un metal de transición con número atómico 29, se ubica en el período cuatro y en el grupo 11 en la tabla periódica, tiene una masa atómica de 63.546 u y una configuración electrónica $[\text{Ar}] 3d^{10} 4s^1$, su punto de fusión es de 1,083°C.

El cobre puede asumir los estados de oxidación de 0, 1+, 2+ y 3+. El cobre⁰ es muy estable, pero puede disolverse en ácidos como el sulfúrico y el nítrico. El cobre¹⁺ es inestable en un entorno oxidante. El cobre²⁺ es el estado de oxidación más abundante en ambientes hidrófilos y oxidantes. El cobre³⁺ es muy inestable y de importancia biológica insignificante. La mayoría de los compuestos de cobre¹⁺ se oxidan fácilmente a compuestos de cobre²⁺, pero la oxidación a cobre³⁺ es más difícil.

Existe una química acuosa bien definida para cobre²⁺, además se conoce un gran número de sales de varios aniones, muchas de ellas solubles en agua, además de una gran cantidad de complejos. Los complejos y compuestos de cobre²⁺ son azules o verdes y poseen una banda de absorción característica en la región de 600 a 900 nm del espectro. (Berlin A.)

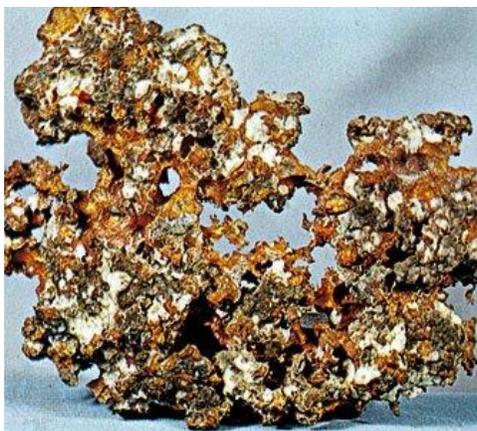


Figura 13. Pedazo de cobre.

En el organismo humano existen algunos bioelementos que son todos aquellos presentes en cantidades pequeñas pero que son considerados como nutrientes esenciales debido a que desempeñan funciones necesarias para el mantenimiento de la vida, crecimiento y reproducción; son los denominados oligoelementos o elementos traza.

El cobre es uno de los elementos traza esenciales para el funcionamiento del organismo humano. Podemos encontrar en un adulto la cantidad de entre 50 y 120 mg, donde el 60% del cobre lo encontramos en músculos, la piel y el esqueleto, aunque también podemos encontrarlo en diversos órganos que cuenten con una actividad metabólica elevada como el hígado, cerebro, riñones y corazón. (Noel Taboada,2017)

El cobre se absorbe principalmente en el intestino delgado y una pequeña parte en el estómago por un mecanismo de transporte activo cuando la concentración de la dieta es baja; y mediante difusión pasiva cuando el aporte ingerido es alto. En este proceso participa como regulador la proteína metalotioneína. Posteriormente se transporta unido a la albúmina, la transcupreína y a otros ligandos del plasma. El hígado capta la mayor parte del cobre y una pequeña parte el riñón. Cuando el cobre se ha unido a ceruloplasminas en el hígado, se libera en la sangre, en donde el cobre se reduce y se disocia para pasar por las células. La excreción es por la bilis y el cobre no absorbido se elimina por las heces y una pequeña parte en la orina.

El cobre desempeña un importante papel en procesos de óxido-reducción usando O_2 como cosustrato, otras funciones importantes de este metal se derivan de las proteínas del cobre, como las que se mencionan a continuación:

1. **Citocromo-C-oxidasa:** Esta enzima se encuentra en las mitocondrias de las células de todo el organismo humano y es el enlace terminal de la cadena de transporte de electrones. Reduce el O_2 para formar agua y permite la formación de ATP en la producción de energía de las mitocondrias.

-
2. **Ferroxidasas:** La ceruloplasmina llamada también ferroxidasa es una glucoproteína que participa en proceso de óxido-reducción catalizado por esta enzima, por ejemplo durante la oxidación de hierro ferroso, y actúa en la transferencia de hierro desde los sitios de almacenamiento a los sitios de síntesis de hemoglobina. También oxida aminas aromáticas y fenoles. La ceruloplasmina es un importante antioxidante celular inhibiendo la peroxidación de lípidos y la degradación del ADN por iones de hierro y hierro libre.
 3. **Dismutasa de superóxido:** Es una cuproenzima presente en pulmones, tiroides, útero y pequeñas cantidades en el plasma sanguíneo. Funciona atrapando radicales superóxido protegiendo contra el daño oxidativo. La dismutasa superóxido cobre-zinc también protege a los componentes intracelulares del daño oxidativo ya que convierte el ion superóxido en peróxido de hidrógeno, este proceso requiere oxígeno y cobre para la función catalítica.
 4. **Tirosinasa:** Cataliza la conversión de tirosina en dopamina y la oxidación de la dopamina en dopaquinona, así como los mecanismos de la síntesis de la melanina. Se le encuentra en los melanocitos del ojo y de la piel, dando color a estos órganos además del cabello. Su deficiencia en la piel produce albinismo.
 5. **Hidroxilasa β de la dopamina:** Cataliza la conversión de dopamina en el neurotransmisor noradrenalina en el encéfalo, se encuentra también en la glándula suprarrenal en donde es necesaria para sintetizar adrenalina.
 6. **Lisil-oxidasa:** es una proteína cobre dependiente, fundamental para la interacción del colágeno y la elastina, elementos esenciales en la formación del tejido conectivo.

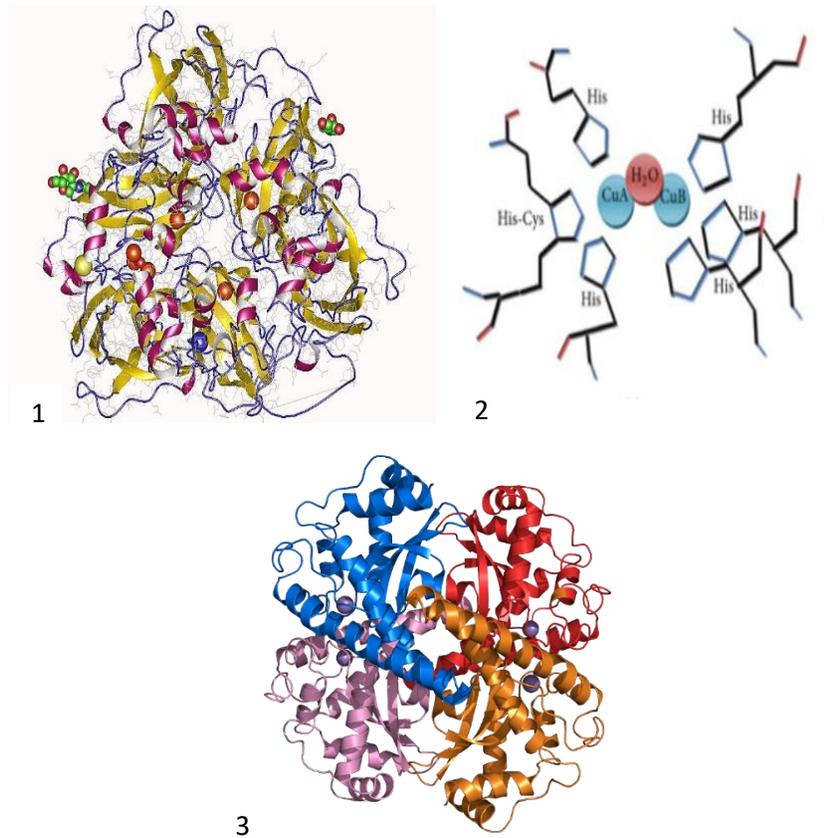


Figura 14. 1) Representación de Ferroxidasa, 2) Representación de Tirosinasa, 3) Representación de Dismutasa de superóxido.

METABOLISMO SISTÉMICO DEL COBRE

Como nutriente esencial, el cobre se absorbe en el tracto gastrointestinal a partir de fuentes dietéticas. La absorción dietética de cobre ocurre principalmente en el intestino delgado, donde la absorción de cobre a través de la membrana apical de los enterocitos depende de CTR1 y la exportación de cobre a través de la membrana basolateral requiere la proteína ATP7A. Dentro de la circulación, las proteínas séricas como la albúmina transportan cobre desde el intestino hasta el hígado, donde MT1 y MT2 almacenan el exceso de cobre en los hepatocitos. El hígado también es el sitio principal de eliminación de cobre del cuerpo a través de la excreción hepatobiliar a través de la membrana canalicular biliar de los hepatocitos, lo que ocurre a través del exportador de cobre ATP7B. La mayor parte del cobre exportado desde los hepatocitos a la circulación sistémica se une inicialmente a la ceruloplasmina, una oxidasa multicobre secretada que recibe cobre a través del transporte de cobre impulsado por ATP7B hacia la vía secretora. A pesar de constituir la mayor parte del cobre en el plasma, la ceruloplasmina unida al cobre no es esencial para la adquisición de cobre por los tejidos periféricos.

Más bien, se cree que los ligandos de cobre de bajo peso molecular, como los aminoácidos, incluidos la cisteína, la histidina, la metionina, el ácido aspártico y el ácido glutámico, sirven como donantes de plasma de cobre para la maquinaria de absorción en los tejidos.

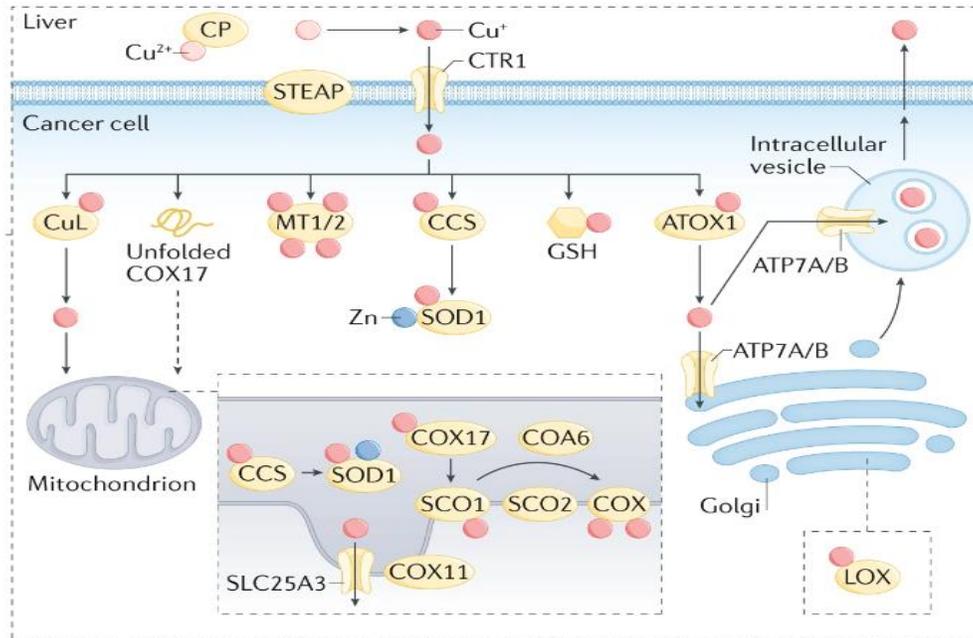


Figura 15. Representación del metabolismo sistémico en los hepatocitos.

El balance de cobre celular es crucial para el mantenimiento y el metabolismo celular. Este requisito se ilustra con la enfermedad de Menkes, donde las mutaciones en ATP7A impiden la exportación de cobre de la dieta desde los enterocitos al torrente sanguíneo, lo que provoca una deficiencia sistémica de cobre caracterizada por defectos del desarrollo, que incluyen retraso en el crecimiento, hipopigmentación, neurodegeneración y defectos del tejido conjuntivo. Por el contrario, las mutaciones en ATP7B causan la enfermedad de Wilson, que se caracteriza por una sobrecarga hepática progresiva de cobre que puede inducir insuficiencia hepática o enfermedad neuropsiquiátrica secundaria al exceso de cobre en el cerebro. Aunque la enfermedad de Menkes y la enfermedad de Wilson son raras, estas alteraciones en el metabolismo del cobre han establecido firmemente la contribución de este metal a aspectos críticos de la fisiopatología celular. (Eva J. Ge et al., 2021).

COBRE EN EL CÁNCER

Se ha reportado el aumento de los niveles de cobre cuando se padece algún tipo de cáncer, debido a que este metal está relacionado con el crecimiento, angiogénesis y metástasis del cáncer. Sin embargo, las especies reactivas de oxígeno (ERO) generadas por los metales redox activos, logran actuar de forma antagonista entre sí. En las células

cancerígenas se observa un aumento moderado de las ERO, que son generadas por las anomalías metabólicas y procesos de señalización oncogénica, que al no superar el umbral tóxico logra generar la supervivencia de la célula y su proliferación. Aunque en el caso de que los niveles de ERO logren superar el umbral, el proceso celular logra vencer los diferentes mecanismos de defensa antioxidante de la célula afectada y producir la muerte celular.

Por lo que surgen dos enfoques respecto al cobre en el tratamiento contra el cáncer, uno de los enfoques es el uso de agentes quelantes de cobre para lograr inhibir el crecimiento del tumor, aunque la evidencia sobre este tratamiento refleja que los agentes quelante resultan insuficientes para generar la apoptosis en las células cancerígenas.

Dado a lo anterior, un segundo enfoque se inclina por el diseño de complejos de coordinación de cobre con el objetivo de incrementar la cantidad de ERO en el interior del tumor de forma exógena y así mismo, superar el umbral tóxico que conduce a la muerte de las células cancerígenas.

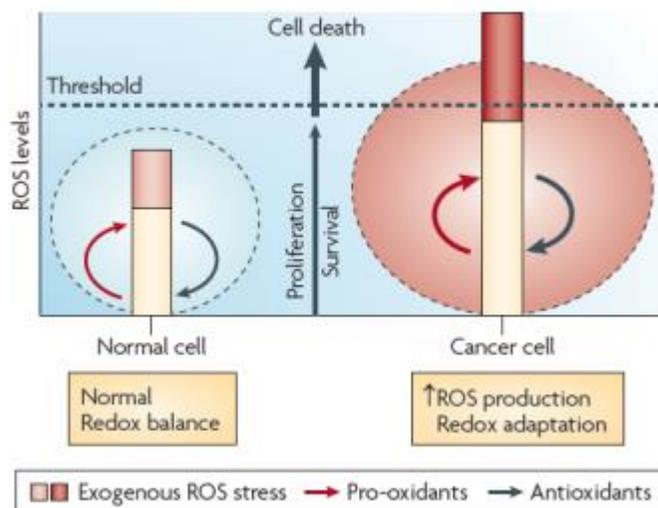


Figura 16. efecto que ejerce un agente exógeno productor de ROS sobre una célula normal y sobre una cancerígena.

METODOLOGÍA SINTÉTICA

METODOLOGÍA SINTÉTICA

En el presente trabajo la metodología sintética propuesta para la obtención 6 complejos de coordinación, se llevó a cabo a través de una reacción de sustitución de ligando utilizando diferentes aminoácidos y acetato de cobre como materiales de partida. (Diagrama 1)

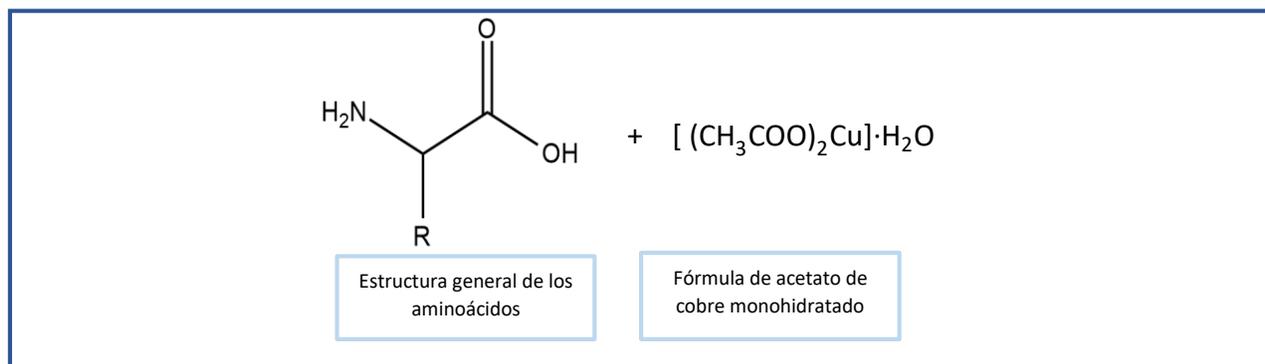


Diagrama 1. Material de partida para los complejos. Donde el grupo R difiere entre cada aminoácido: A) Glicina B) Ácido glutámico C) Ácido aspártico D) Triptófano E) Cisteína.

A partir de esta reacción general entre el cobre y los aminoácidos, se propone la coordinación entre el metal y los ligandos, empleando acetato de cobre y los siguientes aminoácidos como material de partida:

- A) Glicina
- B) Ácido glutámico
- C) Ácido aspártico
- D) Triptófano
- E) Cisteína

Las condiciones de reacción se plantean de acuerdo a la metodología empleada por Ethan C. Cagle et al. (2019), Thiago A.D. Rodrigues (2017) y Kenneth M. Dokken (2009), donde la reacción se llevó a cabo en una relación molar entre el aminoácido empleado y el cobre 1:1. A continuación, se describe de forma detallada la metodología sintética.

La reacción se llevó a cabo en un matraz Erlenmeyer partiendo de 500 mg de acetato de cobre monohidratado en 7.5 mL de agua destilada caliente, posteriormente se añadió 5 mL de etanol caliente y se mantuvo en agitación constante a 70 °C.

Por otro lado, se preparó una solución con 375 mg del aminoácido en 5 mL de agua destilada caliente, y finalmente se añade gota a gota a la solución de acetato de cobre previamente realizada. Se mantuvo en las condiciones antes mencionadas durante una hora.

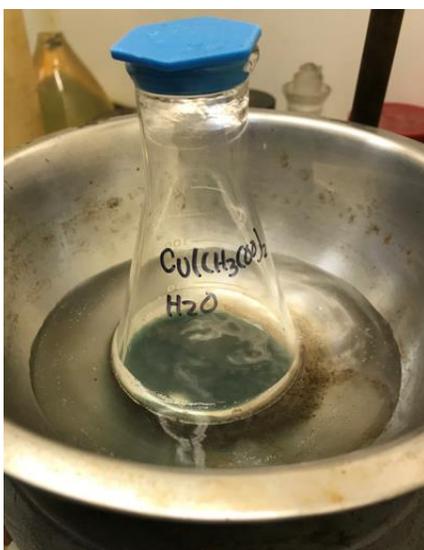


Figura 18. Solución de acetato de cobre.



Figura 17. Goteo de solución de acetato de cobre en cada solución de aminoácido.

Una vez finalizado el tiempo de reacción se dejó reposar hasta alcanzar temperatura ambiente y se transfirió el matraz Erlenmeyer a un baño de hielo, obteniendo de esta forma un precipitado.

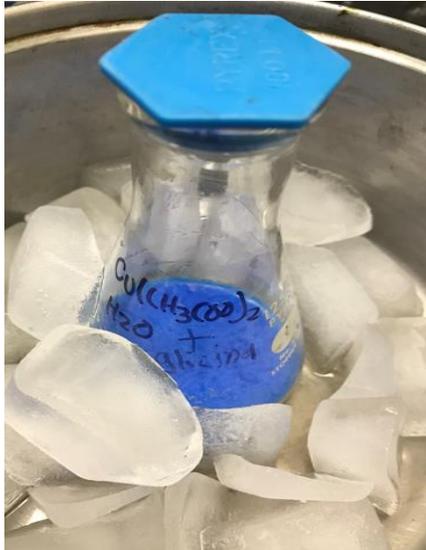


Figura 20. Crudo de reacción en baño de hielo.

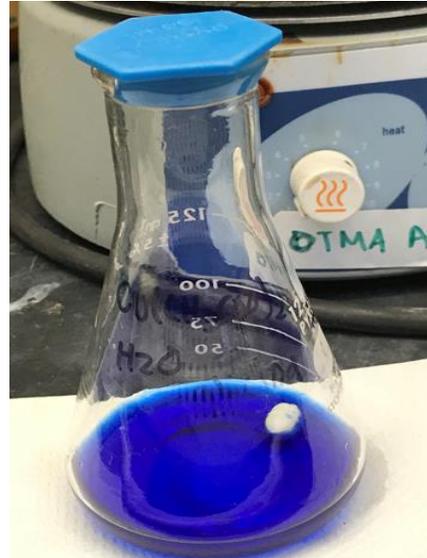


Figura 19. Crudo de reacción a temperatura ambiente.

Como último paso, el precipitado obtenido se filtró mediante succión al vacío, lavando con etanol frío, y posteriormente se transfirió a una caja Petri dejando reposar el complejo durante un día para un secado completo.



Figura 21. Filtración al vacío de los cristales obtenidos del baño de hielo.

-
- Para la obtención del isómero **1.2G** se llevó a cabo la siguiente reacción.

Se pesa 200 mg del isómero **1G** y se transfiere a un matraz bola colocado en un baño de aceite llevando hasta una temperatura de 200 – 220 °C, concluyendo este proceso hasta observar un cambio en la coloración del sólido iniciando en un azul cielo y cambiando a un azul violeta. Se retira del baño de aceite y se pesa el sólido transformado.



Figura 23. Isómero cis, complejo 1G, antes de aplicar calor.



Figura 22. Obtención del isómero trans del complejo 1G aplicando calor.

Para cada complejo sintetizado se utiliza el siguiente sistema de etiqueta para facilitar el reporte de resultados:

Tabla 1. Etiqueta de identificación para los 6 complejos de cobre

COMPLEJO	ETIQUETA
Acuo-cis-bis(glicinato)cobre(II)	1G
Acuo-trans-bis(glicinato)cobre(II)	1.2G
Diacuoglutamatocobre(II)	2E
Diacuoaspartatocobre(II)	3D
Bis(triptófano)cobre(II)	4W
Diacuobis(cisteína)cobre(II)	5C

CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS DE COBRE

La caracterización de los complejos de cobre sintetizados se llevó a cabo empleando las técnicas Espectroscopia de Infrarojo (IR), Espectrofotometría de UV-Vis, Espectroscopia Raman, Analisis Termogravimetrico (TGA) y Difracción de Rayos X de polvos (DRX-P).

METODOLOGÍA DE ENSAYOS BIOLÓGICOS

EVALUACIÓN DE TOXICIDAD GENERADA POR COMPLEJOS DE COBRE²⁺ PARA *ARTEMIA SALINA*

La metodología del ensayo *in vivo* de toxicidad para *Artemia salina* comprende dos etapas que se describen a continuación:

PRIMERA ETAPA: Eclosión de huevecillos de *Artemia salina*.

Se preparó en un recipiente amplio, agua de mar artificial, utilizando 35 g de sal de mar disueltos en 1 L de agua destilada, bajo condiciones de burbujeo de oxígeno e iluminación constante.

Después se agregó entre 0.1 – 0.2 g de huevecillos de *Artemia salina* al recipiente previamente acondicionado.

Este sistema se mantiene en incubación durante 48 horas, una vez finalizada la incubación, se observa en el medio nauplios (estadio morfológico) de *Artemia salina*.

SEGUNDA ETAPA: Evaluación de toxicidad de los complejos de cobre para nauplios de *Artemia salina*.

Consiste en la preparación de 5 soluciones para cada complejo a diferentes concentraciones utilizando como disolvente una mezcla de metanol-cloroformo 1:2. Los complejos utilizados son: **1G, 1.2G, 2E, 3D y 4W**. El complejo **5C** al no mostrar solubilidad no se logró evaluar.

Tabla 2. Concentraciones evaluadas en el ensayo de toxicidad para *Artemia salina*

Concentración ppm	100	200	250	300	500
----------------------	-----	-----	-----	-----	-----

Para cada complejo se montó un ensayo evaluando cada concentración, todos los experimentos fueron realizados por triplicado. La metodología consistió en: 24 horas antes de finalizar el tiempo de incubación de los huevecillos de *Artemia salina*, se montaron recipientes de 10 mL, en ellos se adicionan 500 µL de cada concentración previamente preparada, se deja en reposo durante las 48 horas que toma a cabo la

incubación del huevecillo del crustáceo, para que se evapore el solvente y así obtener el complejo impregnado en el recipiente.

Completado ya el tiempo de incubación, se agregaron 10 nauplios de *Artemia salina* a cada recipiente, anexando en cada ensayo controles negativos utilizando agua destilada. Finalmente, se afora con 10 mL de agua destilada cada recipiente.

Se mantiene la exposición de los nauplios con los complejos durante 24 horas y posteriormente se realiza un conteo de nauplios muertos. Se calculó el porcentaje de mortalidad utilizando la fórmula de Abbott:

$$\% \text{ Mortalidad} = \left(1 - \frac{\text{Nauplios vivos}}{\text{Nauplios control}} \right) \times 100$$

CONC.	1G	1.2G	2E	3D	4W
100 ppm					
200 ppm					
250 ppm					
300 ppm					
500 ppm					
CONTROL					

Diagrama 2. Representación colorida del ensayo de *Artemia salina*.

A través de los ensayos evaluados se lleva a cabo la determinación de la concentración letal media (CL50) para cada complejo utilizando un análisis Probit.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CITOTÓXICA DE COMPLEJOS DE COBRE²⁺ MEDIANTE EL ENSAYO DE MTT.

El método de MTT es simple y se usa para determinar la viabilidad celular, dada por el número de células presentes en el cultivo, para llevarlo a cabo se realiza una serie de etapas.

ETAPA 1: Crecimiento celular

Se utilizaron célula HeLa de cáncer cervicouterino y fibroblastos que no sufrían ninguna mutación. Para obtener el crecimiento de estas células se siguieron los siguientes pasos:

1. En una caja de cultivo añadir 1 mL de células inactivas y agregar 10 mL de medio DMEM. Este medio es enriquecido para la nutrición de las células.
2. Mantener en incubación durante 24 horas en condiciones de CO₂ al 5% y a 37°C.
3. Posterior a las 24 horas de incubación verificar el crecimiento celular, para el cual fue necesario mayor tiempo de incubación (1 semana).

ETAPA 2: Conteo de células

En esta etapa se comenzó a trabajar con la cantidad de células que crecieron.

1. Retirar el medio DMEM.
2. Lavar las células con un medio especial de fosfatos agregando 3 mL por 1 minuto.
3. Retirar el medio de fosfatos y realizar un segundo lavado con tripsina agregando 3 mL hasta observar el levantamiento de las células.
4. Una vez que se levantan las células, retirar la tripsina.
5. Agregar 5 mL de medio DMEM y traspasar a un tubo cónico.
6. Centrifugar a 4000 rpm durante 5 minutos.
7. Preparar el sobrenadante del precipitado celular.
8. Al precipitado celular agregar 2 mL de medio DMEM y resuspender.
9. Preparar una solución de conteo con 10 µL de células y 10 µL de azul de tripano.
10. En una cámara de Neubauer realizar el conteo.
11. Del conteo celular preparar una solución que contenga 2.5×10^4 cel/mL para HeLa y 5×10^4 cel/mL para fibroblastos.

12. Agregar de la solución anterior 100 μ L en cada pocillo de una caja de 96 pocillos.
13. Incubar durante 24 horas en condiciones de CO₂ al 5% y a 37°C.

ETAPA 3: Ensayo citotóxico por el método MTT

Una vez que concluye el tiempo de incubación de las células en la caja de 96 pocillos, comienza el ensayo por el método MTT para determinar el porcentaje de vitalidad celular.

1. Colocar 100 μ L de cada solución a evaluar de los complejos. Por cada línea celular manejar un blanco con agua destilada y un segundo blanco con células.

Tabla 3. Concentraciones de los complejos para la evaluación citotóxica.

Complejo	Concentraciones (mg/mL)					
	1G	0.2	0.1	0.05	0.025	0.0125
1.2G	0.8					
2E	4					

2. Incubar durante 24 horas en condiciones de CO₂ 5% y 37°C.
3. Previo al tiempo de incubación, preparar una solución diluida de MTT (10:1 con medio DMEM).
4. Concluidas las 24 horas de incubación, se agrega 110 μ L de la solución diluida de MTT a cada pocillo.
5. Reposar 4 horas en condiciones de CO₂ 5% y 37°C.
6. Posterior al reposo, agregar 110 μ L del revelador de MTT.
7. Incubar durante 8 a 12 horas condiciones de CO₂ 5% y 37°C.
8. Finalmente leer absorbancias a 450 nm.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS SINTÉTICOS Y DE CARACTERIZACIÓN

RESULTADOS SINTÉTICOS Y DE CARACTERIZACIÓN

El diagrama 2 representa el esquema general de la reacción de sustitución de ligando que se llevó a cabo para la obtención de los complejos. El centro metálico de estos compuestos a base de Cu^{2+} , es un elemento estratégico para la obtención de moléculas con perfiles biológicos de baja toxicidad.



Diagrama 3. Esquema general de una reacción de sustitución de ligando.

Como se mencionó en la parte de generalidades, el cobre forma parte de la estructura de algunas enzimas, como la lisil-oxidasa, además este metal se logra unir a metalotioneínas donde estas proteínas van a permitir la absorción entre un 20% y 60% del ion, todo dependerá de la cantidad de metalotioneínas.

Las funciones biológicas de este metal lo convierten en una mejor elección entre otros metales de transición utilizados en la síntesis de compuestos de coordinación con potencial anticarcinogénico, ya que el organismo del ser humano tiene sistemas para regular los niveles del cobre, a diferencia de otros metales que no son endógenos.

Y la elección de utilizar aminoácidos como ligandos, radica en que cumplen diferentes funciones como neurotransmisores, precursores de estos y hormonas, precursores de proteínas y moléculas antioxidantes; Esto beneficia al organismo ya que se pueden aprovechar para cumplir el papel que desempeñan.

La propuesta sintética de este trabajo consiste en la obtención de un grupo de complejos de coordinación donde se mantiene el cobre como ion metálico y utilizando aminoácidos como ligandos.

COMPLEJO 1G

Dando inicio con la propuesta sintética, se comenzó con la síntesis del complejo **1G**, utilizando glicina como ligando.

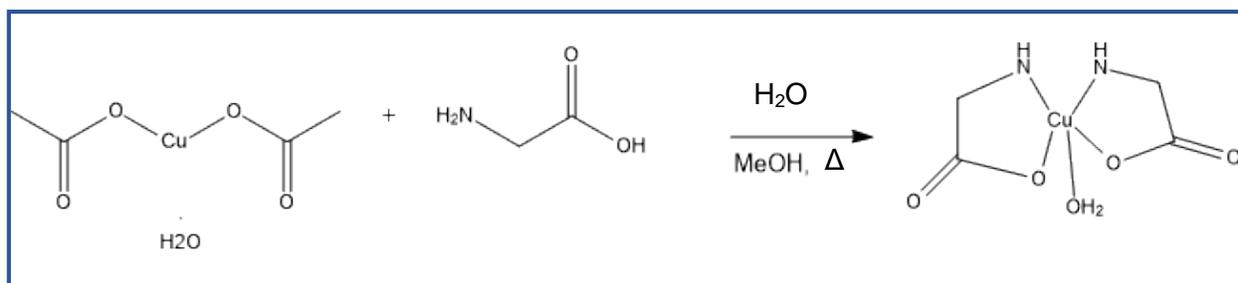


Diagrama 4. Síntesis del complejo 1G.

El producto obtenido se analizó por diferentes técnicas de caracterización, el primer hallazgo de la síntesis del complejo, radica en el análisis por espectroscopía de Infrarrojo, donde se observa un cambio en el número onda de los enlaces del ligando donde ocurre la coordinación con el metal.

En el complejo **1G**, el enlace N – H presenta un par de bandas en $3331.66 - 3258.63\text{cm}^{-1}$ que corresponde al estiramiento de una amina primaria ($3500-3100\text{cm}^{-1}$) y una banda del estiramiento del carbonilo aparece en 1573cm^{-1} , así mismo, se observa una banda para el enlace C – O en 1385.36cm^{-1} y se observa una clara desaparición de la banda enlace O – H presente en el aminoácido libre, donde esto se le atribuye a la coordinación del oxígeno con el cobre. (Anexo 2)

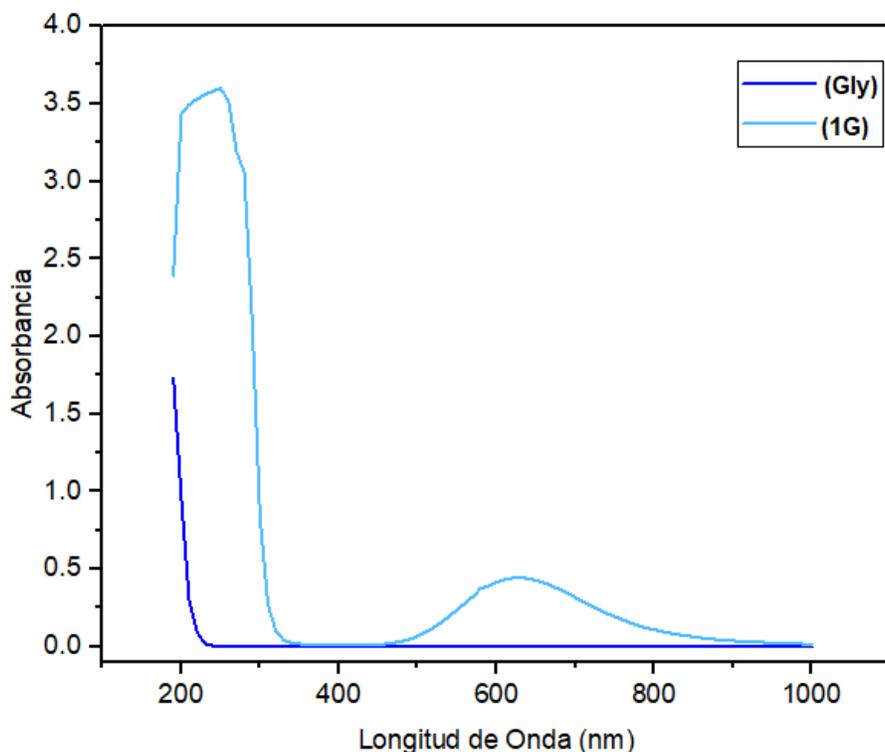
Haciendo una comparación con las señales del aminoácido glicina, observamos que el enlace N – H aparece en una banda 3152.16cm^{-1} , aquí no se identifica el par de bandas característico a este enlace debido a una amplia banda en 2821.49cm^{-1} del enlace O – H. Por otro lado, la banda para el enlace C=O aparece en $1578.48 - 1498.26\text{cm}^{-1}$, reflejando un estiramiento asimétrico y simétrico de este enlace en la molécula de glicina

y finalmente el enlace C – O con una banda de intensidad mediana en 1329.60 cm^{-1} . (Anexo 1)

Este cambio en el número de ondas entre las señales del complejo **1G** y el ligando, glicina, representa cualitativamente la coordinación del cobre con estos dos heteroátomos (oxígeno y nitrógeno) debido al efecto de la retrodonación π . El efecto de retrodonación π ocurre en los metales de transición coordinados con ligando multiatómicos, Los electrones del metal son usados para unirse al ligando, en el proceso se libera al metal de un exceso de carga eléctrica negativa.

Por su parte, la técnica de espectrometría de UV-Vis del complejo **1G** mostró una longitud de onda máxima (λ_{max}) en 630 nm, característica de transiciones de tipo d-d que ocurren en metales de transición con configuración electrónica $d^1 - d^9$, como es el caso del cobre en estos complejos que trabaja con una configuración d^9 . Así mismo, se ubica una longitud de onda máxima (λ_{max}) en 250 nm que se atribuyen a transiciones de tipo intraligando, transiciones $n-\sigma^*$ y $n-\pi^*$, atribuidas por los enlaces C-O, C-N y C=O. (Anexo 13).

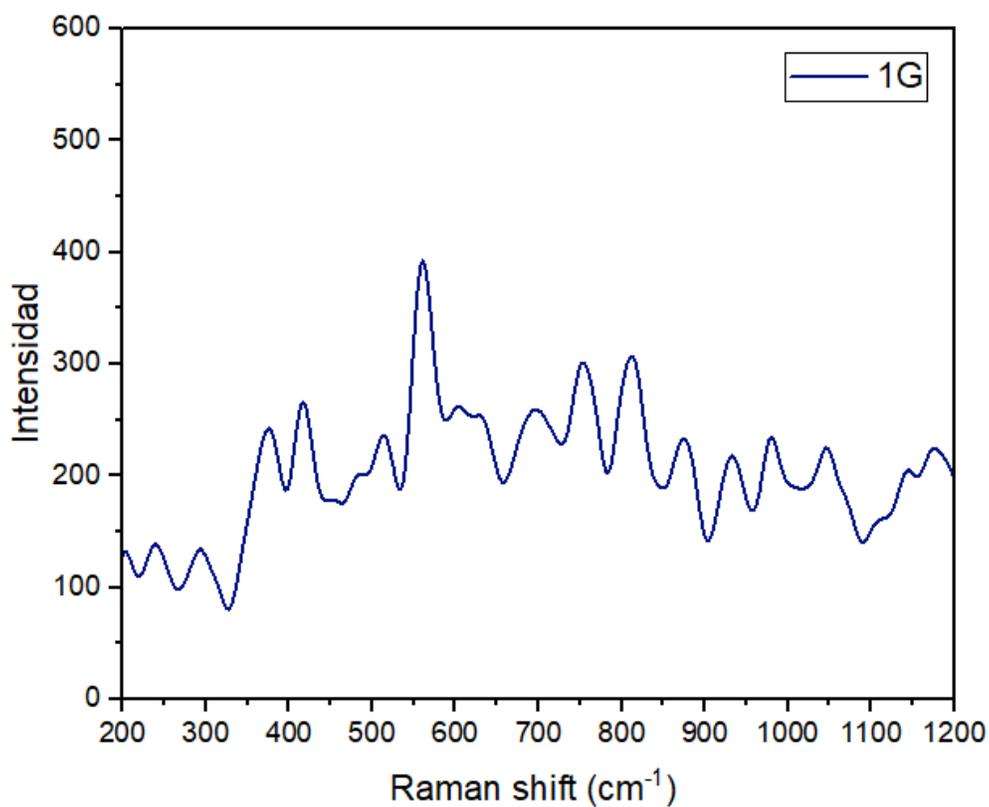
En el barrido espectral del aminoácido libre, glicina, observamos una longitud de onda máxima (λ_{max}) en 195 nm, en el complejo se determinó un aumento en λ_{max} para las transiciones intraligando, por otro lado, no presenta absorción en la región del visible, como lo vemos con las transiciones d – d del complejo **1G**, estos dos aspectos nos indica la coordinación de metal con el ligando. A continuación, se muestra una gráfica comparativa de glicina con el complejo **1G**.



Gráfica 1. Comparación de barrido espectral de glicina y el complejo 1G. Gly: carece de transiciones d –d. 1G: presenta banda amplia en región visible debido a la coordinación con cobre (transiciones d – d)

En el análisis por espectroscopía Raman se toma de referencia los valores para las bandas Cu-O y Cu-N reportados por Wangner et al en el 2002 en su complejo de cobre coordinado con metionina a 354 cm^{-1} y 477 cm^{-1} respectivamente, por otro lado, los mismos autores en el 2004 sintetizan y caracterizan un complejo de cobre coordinado con triptófano que reportan bandas a 320 cm^{-1} y 470 cm^{-1} respectivamente. Baran en el 2005 reporta una banda en 456 cm^{-1} para un enlace Cu-N y finalmente Miskowski reporta bandas entre $350 - 470\text{ cm}^{-1}$ para bandas Cu-O y Cu-N mientras que para enlaces C-S se identifica en 270 cm^{-1} . Se reunieron estas indentificaciones espectroscópicas para facilitar la asignación de señales de importancia para la coordinación del metal con el ligando.

En la gráfica 2 se muestra el espectro Raman para el complejo 1G, se logra identificar en 373 cm^{-1} una banda para el enlace de coordinación C – O y una segunda banda en 418 cm^{-1} para un enlace de coordinación de Cu-N.



Gráfica 2. Análisis por espectroscopia Raman del complejo 1G.

El análisis termogravimétrico consiste en determinar el porcentaje de masa pérdida al someter al complejo a un rango de temperatura que van desde los 25°C a los 800°C en atmosfera inerte (N₂) con un flujo de 10 mL/min, el porcentaje de masa pérdida que se registre facilita la identificación de los ligandos coordinados al centro metálico, con el fin de establecer una estructura final.

Como parte de los resultados se identifica una pérdida de masa del 7.27% a partir de los 100°C, lo cual, nos indica que en el complejo posee un ligando de tipo "agua". Por otro lado, hay una segunda pérdida de masa importante del 51.37%, a partir de una temperatura de los 233°C, la cual, corresponde a la temperatura de fusión de glicina, esto representa dos moléculas de este ligando coordinado al cobre.

Posteriormente, no se observa una tercera pérdida de masa significativa, más bien, el análisis nos arroja que la masa se mantiene a partir de los 310°C, esto hace referencia a que siguen degradándose subproductos a base de cobre, donde este metal llega a fundirse hasta los 1,085°C, por lo que, si se requiere llevar un análisis con el fin de degradar totalmente el complejo, se debe ampliar el rango de temperatura. A partir de estos resultados podemos proponer que el complejo **1G** tiene la siguiente estructura, fórmula, nomenclatura y la siguiente masa molar:

Tabla 4. Nomenclatura, fórmula química y masa molar determinar por TGA para el complejo 1G.

NOMENCLATURA	FÓRMULA QUÍMICA	MASA MOLAR
Acuo-cis-bis(glicinato)cobre(II)	cis-[Cu(C ₂ H ₃ O ₂ N) ₂ (H ₂ O)]	227.55 g/mol

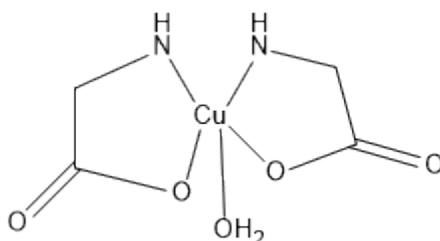


Diagrama 5. Estructura del complejo 1G determinada a partir de TGA.

Finalmente, la técnica de Difracción de Rayos X nos proporciona información sobre si el complejo cumple con una estructura cristalina. En el difractograma (Anexo 27) se observan picos de difracción, que resulta ser el primer hallazgo que confirma que el complejo 1G posee un empaquetamiento de sus átomos, siguiendo una forma ordenada y con patrones de repetición que abarcan las tres dimensiones del espacio.

Se realizó la comparación entre la ficha JCPDS **18-1714** y los resultados del difractograma, a pesar de no contar con los índices de Miller o el parámetro de red para calcular los índices, no se logra confirmar la estructura que posee dicho complejo, pero si se logra establecer una comparación entre los picos de mayor intensidad del complejo **1G** y los reportados en la ficha JCPDS. En la siguiente tabla se resumen los picos de mayor intensidad:

Tabla 5. Comparación de ficha JCPDS 18-1714 y el complejo 1G. D: distancia interplanar, I%: Porcentaje de intensidad. 2θ: Ángulo.

FICHA JCPDS 18-1714				[Cu(C ₂ H ₃ O ₂ N) ₂ (H ₂ O)]			
No.Pico	2θ	d	I%	No.Pico	2θ	d	I%
1	10.461	8.45	100	1	10.51	8.41	100
7	18.239	4.86	40	5	17.7	5.0	40
4	15.479	5.72	20	3	15.51	5.7	20
14	25.50	3.49	20	13	25.61	3.47	20

Debido a que la ficha no reporta el tipo de geometría del complejo y al no poseer un cristal para un análisis por Difracción de Rayos X de Monocristal, esta comparación nos limita a únicamente indicar que el complejo **1G** es un compuesto cristalino.

COMPLEJO 1.2G

Para el segundo complejo de cobre²⁺, se emplea la aplicación de temperatura para obtener una torsión del anillo y generar el isómero trans derivado del complejo **1G**.

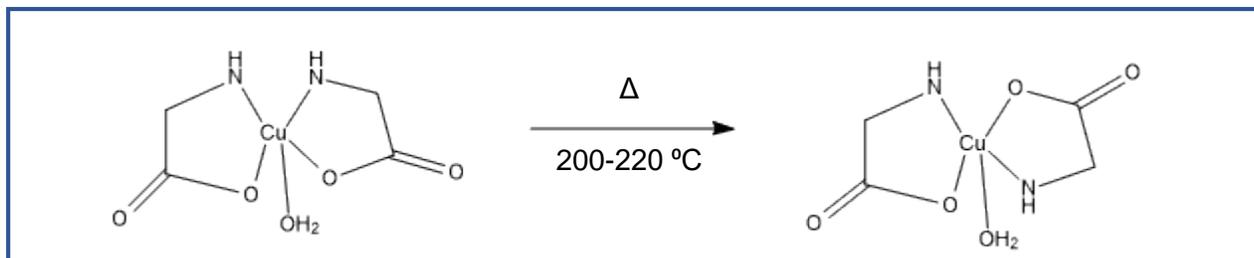


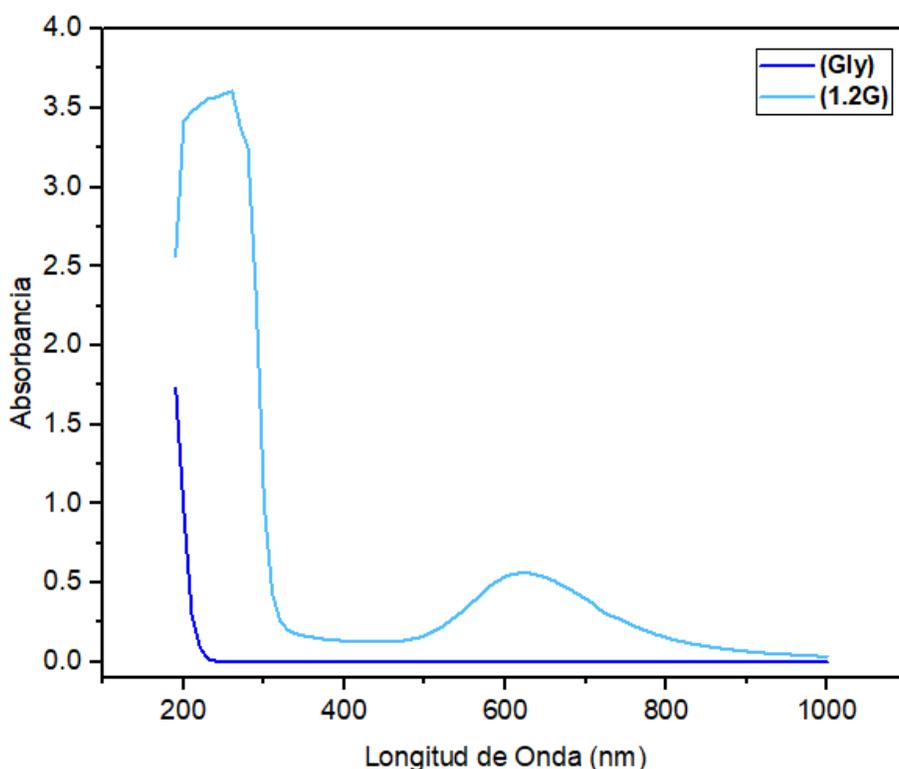
Diagrama 6. Obtención del isómero trans, complejo 1.2G

En los resultados de espectroscopía de Infrarrojo para el complejo **1.2G**, se observa dos bandas en $3250.86 - 3127.44 \text{ cm}^{-1}$ para el estiramiento asimétrico y simétrico respectivamente, del enlace N – H, seguido se observa una banda de intensidad fuerte en $1609.27 - 1580.52 \text{ cm}^{-1}$ para el enlace C=O. Por otro lado, se identifica la banda para enlace C – O en 1335.81 cm^{-1} y para un enlace C – N 1140.44 cm^{-1} .

A diferencia del aminoácido libre y como observamos en la discusión del complejo **1G**, los números de onda para estos enlaces característicos pueden aumentar o disminuir debido al efecto de retrodonación π , lo que se relaciona con la coordinación del cobre con nitrógeno y oxígeno presentes en el ligando glicina. Sin embargo, en este isómero se observa un estiramiento asimétrico y simétrico del carbonilo, esto comprueba que sigue una isomería trans, debido a que los metales de transición tardía, que son todos aquellos de los grupos 8 a 11 de la tabla periódica, el cobre se encuentra en el grupo 11, generan este tipo de estiramiento en los enlaces C=O.

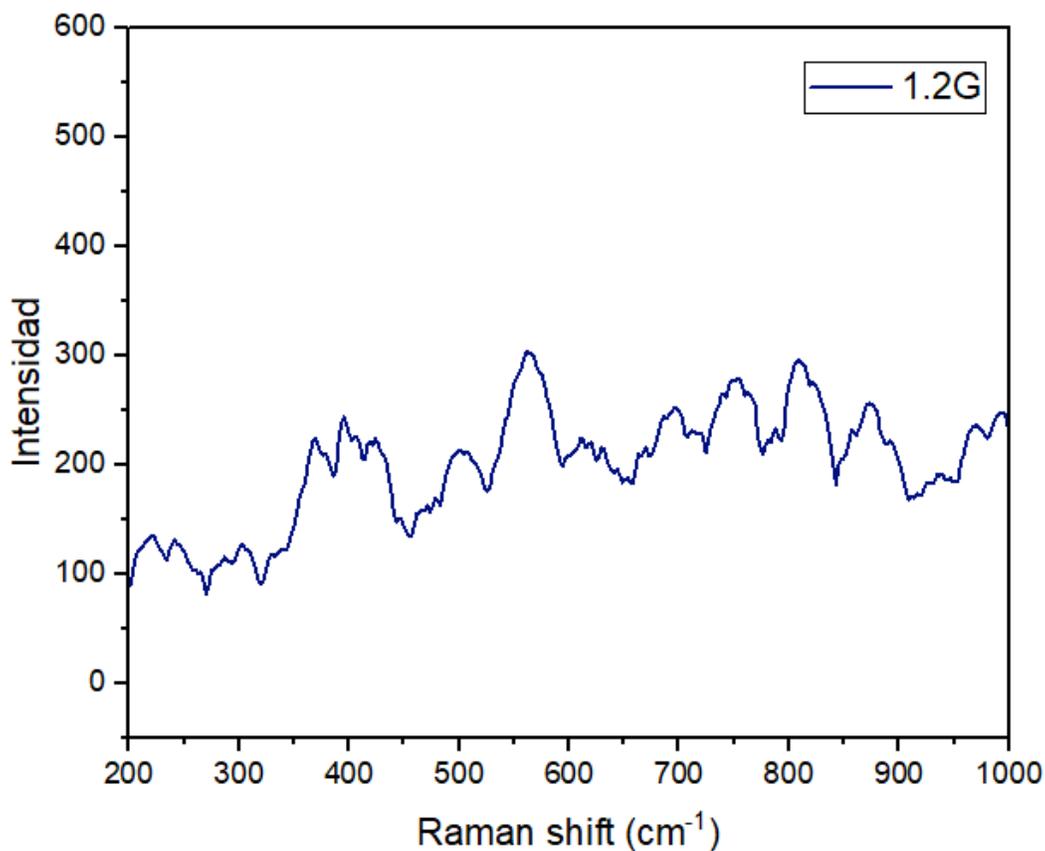
El análisis de espectrofotometría de UV-Vis permitió establecer una comparación con el barrido espectral del aminoácido libre y el complejo **1.2G**. El aminoácido libre presentó una longitud de onda máxima en 195 nm, mientras que en el espectro de absorción del complejo **1.2G** se identifica una longitud de onda máxima en 260 nm para transiciones que ocurren en los diferentes enlaces del ligando, glicina, además resulta ser una longitud de onda mayor que la del aminoácido libre.

Por otro lado, en el complejo **1.2G** se observa una segunda longitud de onda máxima en 620 nm, donde ocurren transiciones $d-d$, esta banda de absorción es característica para todos aquellos metales de transición con configuraciones electrónicas d^1 a d^9 , como es el caso del cobre²⁺ de este complejo. A continuación, se muestra una gráfica comparativa del barrido espectral de glicina y el complejo **1.2G**.



Gráfica 3. Comparación de barrido espectral de glicina y el complejo 1G. Gly: carece de transiciones $d-d$. 1.2G: presenta banda amplia en región visible debido a la coordinación con cobre (transiciones $d-d$)

A través de la espectroscopía Raman se logra identificar una banda en 367 cm^{-1} para el enlace Cu – O y una segunda banda en 423 cm^{-1} asignada al enlace Cu – N. Las bandas guardan cierta similitud entre el intervalo encontrado con respecto al complejo 1G.



Gráfica 4. Análisis por espectroscopia Raman del complejo 1.2G

En el análisis termogravimétrico (TGA) del complejo **1.2G** se realizó en un intervalo de temperatura de 25°C a 900°C en atmósfera de nitrógeno con un flujo de 10 mL/min para determinar la cantidad de ligandos coordinados al cobre.

Se observa una pérdida que representa 5.24% de la masa pérdida e inició alrededor de los 100 °C lo que indica la coordinación de una molécula de agua, además se identifica una segunda pérdida del 51% a partir de los 220 °C que representa la masa de dos moléculas de glicina.

Tabla 6. Nomenclatura, fórmula química y masa molar determinada por TGA para el complejo 1.2G

NOMENCLATURA	FÓRMULA QUÍMICA	MASA MOLAR
Acuo-trans-bis(glicinato)cobre(II)	$\text{trans-}[\text{Cu}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{N})_2 (\text{H}_2\text{O})]$	227.55 g/mol

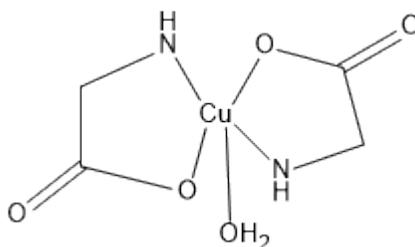


Diagrama 7. Estructura del complejo 1.2G determinada por TGA

La caracterización por Difracción de Rayos X de Polvos para el complejo **1.2G** se llevó a cabo en un intervalo 2θ de 10 a 50° . Se presenta en el anexo 29 el difractograma para dicho complejo, donde observamos picos de difracción definidos, donde se ubican 4 picos de mayor intensidad.

La determinación de la geometría tridimensional que sigue este complejo es limitada, debido a la ausencia de la ficha JCPDS en la base de datos utilizada, esto no indica que el complejo no posee una estructura cristalina, únicamente limita la información cristalina del complejo como el parámetro de red, distancia interplanar, índices de Miller y geometría, para establecer una correcta comparación.

En la siguiente tabla se registra la intensidad, distancia interplanar y ángulo 2θ para los 4 picos de difracción sobresalientes en el difractograma.

Tabla 7. Datos del análisis DRX-P para el complejo 1.2G. D: distancia interplanar, I%: Porcentaje de intensidad. 2θ : Ángulo

trans-[Cu(C₂H₃O₂N)₂(H₂O)]			
No. Pico	2θ	d	I%
1	10.48	8.44	100
2	13.31	6.65	88
5	17.65	5.02	33
17	28.24	3.16	20

COMPLEJO 2E

Pasando con el tercer complejo de cobre²⁺, el **2E**, se basó en el empleo del mismo material de partida, acetato de cobre como fuente del metal donde se coordina con ácido glutámico.

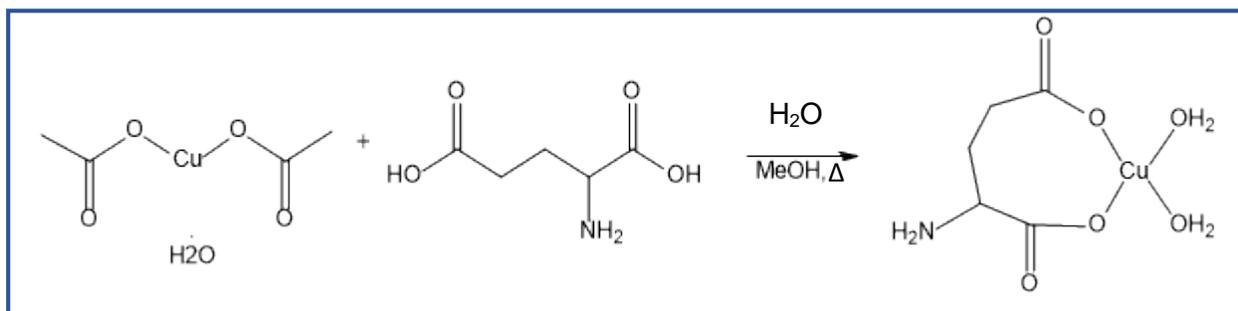


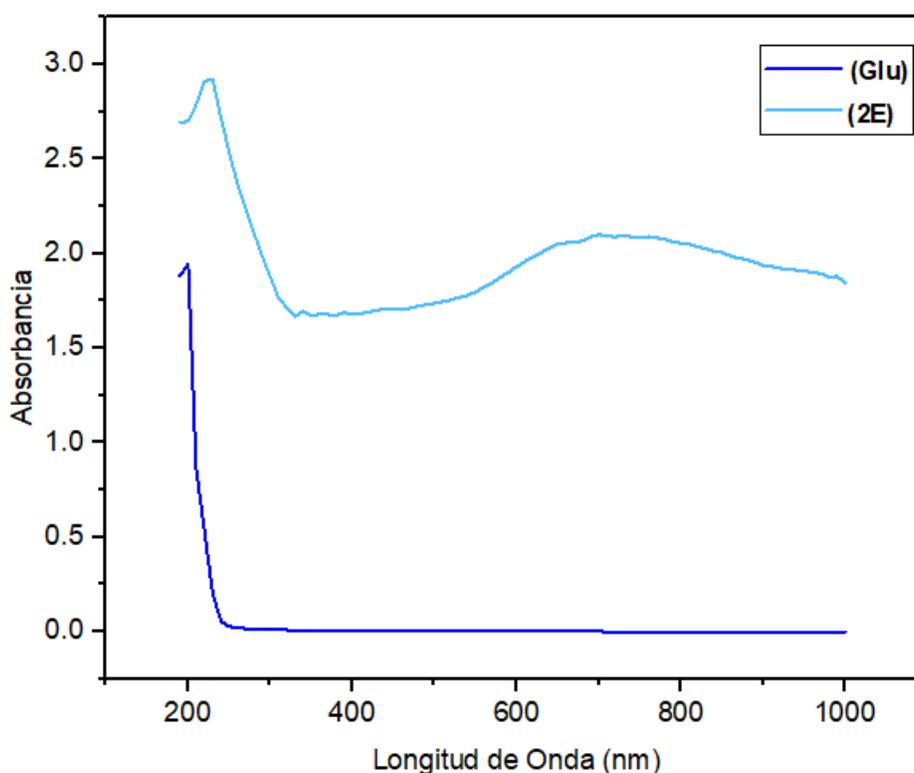
Diagrama 8. Síntesis del complejo 2E.

En el análisis por espectroscopia de Infrarrojo se realiza una comparación con el aminoácido libre y el complejo **2E**. Para el ácido glutámico se identifica una banda que corresponde al estiramiento simétrico y asimétrico de un enlace N – H a 3310.10 - 3117.19 cm^{-1} . Además, observamos la banda para el estiramiento enlace C=O a 1612.60 – 1568.09 cm^{-1} . (Anexo 4)

Por otro lado, se observan dos bandas de intensidad media una en 1394.54 cm^{-1} para el enlace C – O y otra banda en 1130.80 cm^{-1} para un enlace C – N. Sin embargo, el ligando libre muestra los siguientes números de onda para los enlaces: N – H (3010.87 cm^{-1}), C=O (1642.19 – 1506.79 cm^{-1}), O – H (2960.26 cm^{-1}), C – O (1347.77 cm^{-1}), C – N (1049.73 cm^{-1}). (Anexo 5)

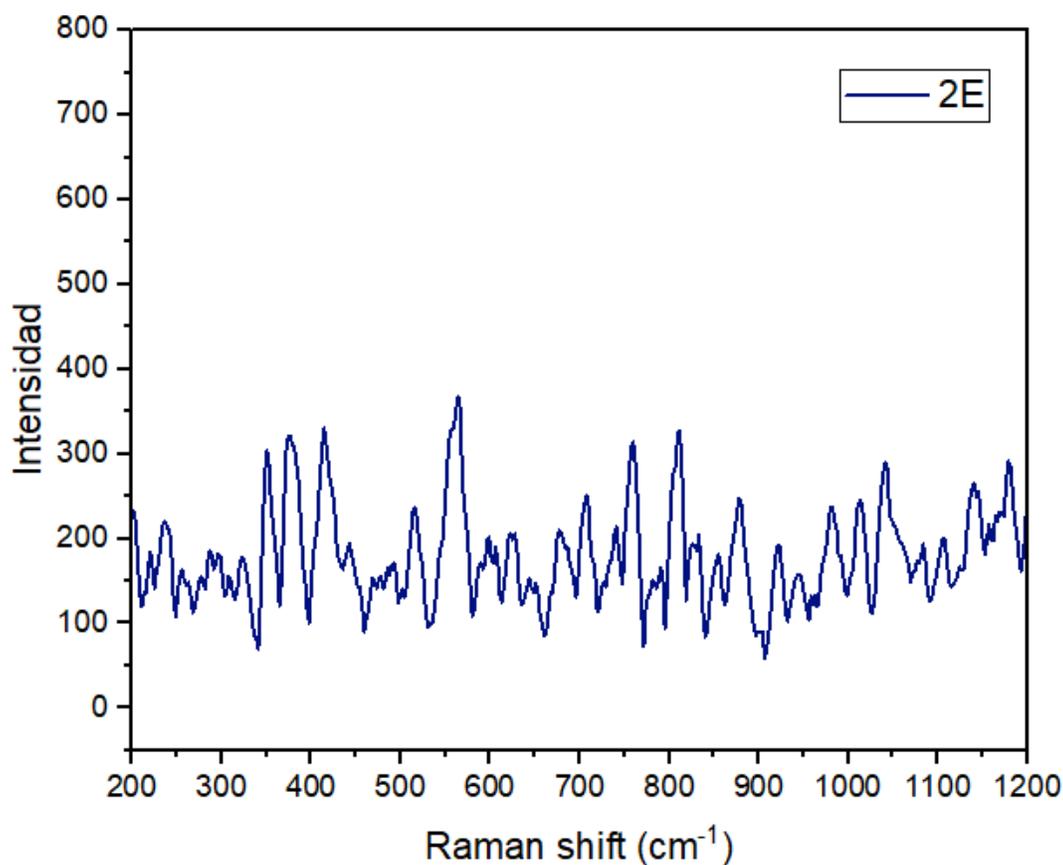
Nuevamente se observa un cambio en el número de onda de cada una de las bandas características para este complejo que ocurre por el efecto de retrodonación π , la densidad electrónica donada por uno de los orbitales del metal hacia un orbital de antienlace de los átomos unidos o cercanos al centro metálico.

En los resultados de la espectrofotometría de UV-Vis muestra una banda amplia en la región del visible que presenta una longitud de onda máxima(λ_{max}) en 755 nm donde aparecen transiciones metálicas de tipo d – d, esto representa presencia de un metal, en este caso con configuración electrónica d^9 . Por otro lado, también se observa una longitud de onda máxima(λ_{max}) en 225 nm que corresponde a transiciones intraligando de tipo $n-\sigma^*$, $n-\pi^*$ (enlaces C-O, C-N y C=O), aquellas que ocurre en la región de los enlaces del aminoácido. Haciendo una comparación con el barrido espectral del aminoácido libre en este espectro no se observa la banda de las transiciones d - d y se ubica una longitud de onda máxima(λ_{max}) en 197 nm que corresponde a las mismas transiciones de tipo $n-\sigma^*$, $n-\pi^*$, donde además se observa un cambio en los nm generado por la coordinación del metal con el ligando.



Gráfica 5. Comparación de barrido espectral de ácido glutámico y el complejo 2E. Glu: carece de transiciones d – d. 2E: presenta banda amplia en región visible debido a la coordinación con cobre (transiciones d – d)

Por otra parte, en la gráfica 6 se muestra el espectro de Raman para el complejo **2E** donde se localizan señales para enlaces de tipo Cu – O en 373 cm^{-1} . Los espectros utilizados de referencia por los autores antes mencionados, muestran mayor grado de cristalinidad en comparación con el complejo **2E** que se analizó como una muestra de polvo y no de cristal, por lo que se ve afectada la sensibilidad del equipo empleado viéndose reflejado en el espectro.



Gráfica 6. Análisis mediante espectroscopia Raman del complejo 2E.

En el análisis termogravimétrico (TGA) se muestra el porcentaje de la pérdida de masa del complejo 2E, logrando predecir la cantidad de ligandos unidos al centro metálico, utilizando atmósfera de nitrógeno con un flujo de 10 mL/min y un rango de temperatura de los 25°C a 900°C.

A partir de los 100 °C hay una pérdida de masa que representa un 14.78% de la masa total, esta pérdida se debe a que el compuesto contiene dos moléculas de agua. Por otro lado, se observa una segunda pérdida a partir de los 200°C, temperatura a la cual se funde el ácido glutámico, perdida un 28.9% de pérdida de la masa total del compuesto que representa una molécula de este aminoácido.

Finalmente, la gráfica se mantiene a partir de los 400°C hasta los 800°C del análisis, lo cual representa, subproductos de la degradación del complejo 2E que tienen en mayor porcentaje de cobre, el cual se funde arriba de los 1000°C. A partir de estos resultados, proponemos la estructura del 2E basada en la coordinación de cobre con una molécula del ligando y dos moléculas de agua. A continuación, se muestra la fórmula química, estructura, nomenclatura y la masa molar:

Tabla 8. Nomenclatura, fórmula química y masa molar determinar por TGA para el complejo 2E.

NOMENCLATURA	FÓRMULA QUÍMICA	MASA MOLAR
diacuoglutamatocobre(II)	[Cu(C ₅ H ₇ O ₄ N) (H ₂ O) ₂]	244.55 g/mol

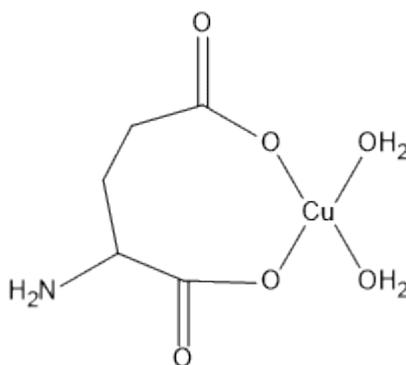


Diagrama 9. Estructura del complejo 2E determinada por TGA.

En Difracción de Rayos X de Polvos se obtiene el análisis del complejo **2E** donde el difractograma muestra una serie de picos de difracción característicos de compuestos que siguen una estructura cristalina. Se realiza la comparación con los datos de la ficha JCPDS **21-1599** con los picos de mayor intensidad, con los valores de 2θ y distancias interplanares.

En esta ficha nos proporciona los índices de Miller y la estructura cristalina que posee el complejo, una estructura ortorrómbica, debido a que coinciden los picos de mayor intensidad con los reportados en la ficha JCPDS, además cumplen con las mismas distancias interplanares y se logran asignar los índices de Miller que nos indican los planos que sigue el cristal.

A continuación, se resumen los picos de mayor relevancia:

Tabla 9. Comparación de ficha JCPDS 21-1599 con el complejo 2E. D: distancia interplanar, I%: Porcentaje de intensidad. 2θ : Ángulo.

FICHA JCPDS 21-1599					COMPLEJO 2E				
No.Pico	Índices de Miller (hkl)	2θ	D	I%	No.Pico	Índices de Miller (hkl)	2θ	D	I%
1	1 1 0	11.69	7.56	72	1	1 1 0*	11.68	7.57	85
3	2 0 0	15.98	5.54	52	3	2 0 0*	15.97	5.54	56
4	1 1 1	16.93	5.23	100	4	1 1 1*	16.93	5.23	100
9	0 2 1	21.08	4.21	42	6	0 2 1*	21.09	4.21	40
10	2 1 1	21.92	4.05	63	7	2 1 1*	21.94	4.04	61
11	1 2 1	22.6	3.93	63	8	1 2 1*	22.56	3.93	67

COMPLEJO 3D

Para el complejo 3D se empleó la misma ruta sintética que se ha estado mencionando, a través del análisis termogravimétrico (TGA) se logró predecir la estructura que se muestra a continuación en el diagrama 9.

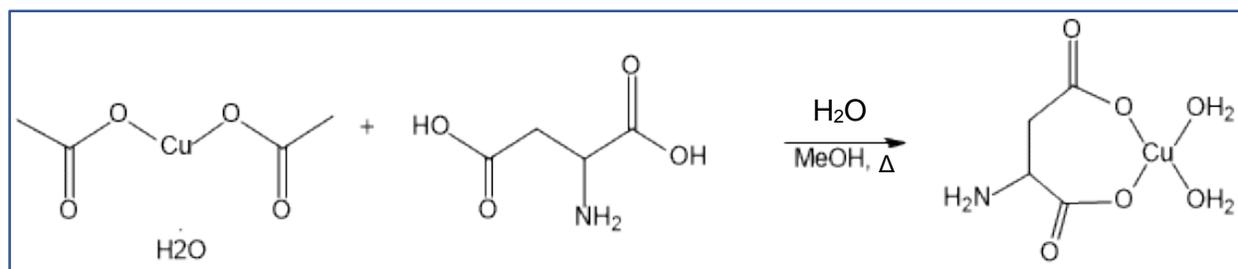


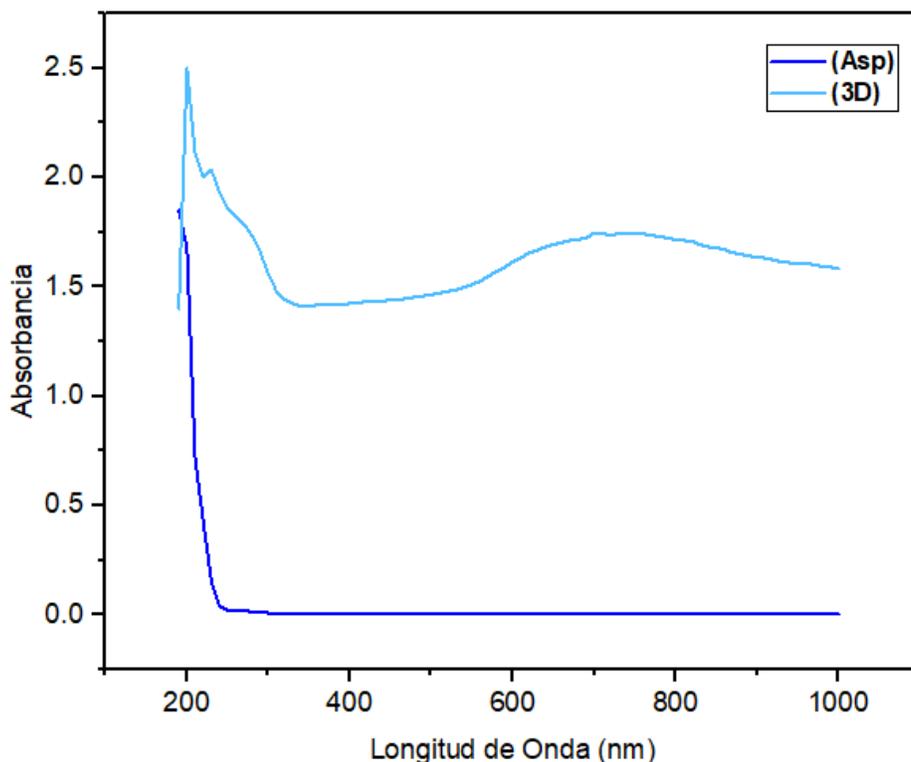
Diagrama 10. Síntesis del complejo 3D.

A través de la técnica de espectroscopía de Infrarrojo se observan las bandas para los enlaces de mayor interés, el estiramiento para el enlace N – H de una amina primaria aparece en $324.60 - 3154.95 \text{ cm}^{-1}$, el estiramiento para el enlace C=O se observa una banda de intensidad fuerte en 1591.55 cm^{-1} , para el enlace C – N aparece una banda de intensidad mediana en 1089.47 cm^{-1} y finalmente se otorga la señal en 1377.89 cm^{-1} de intensidad mediana al enlace C – O.

Al realizar la misma comparación con las bandas del aminoácido libre se obtiene como resultado un cambio en los números de onda de los enlaces antes mencionados así como en la intensidad de cada banda, como hemos visto hasta el momento, este cambio se debe al fenómeno de retrodonación π , que ejerce los orbitales d del metal con los orbitales de antienlace de los heterátomos con los que se da la coordinación o bien aquellos que se encuentran cercano al centro metálico, como es el caso del enlace C=O.

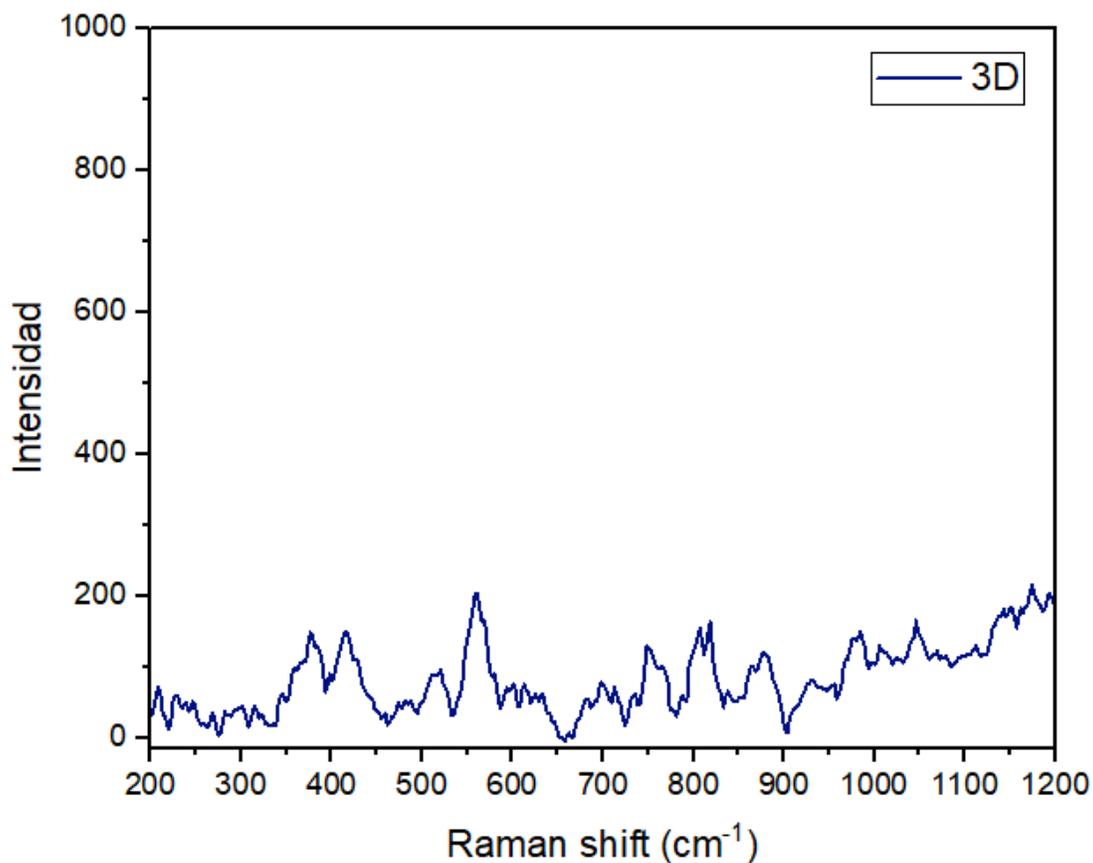
Por otro lado, los resultados de la técnica de espectrofotometría UV-Vis nos brinda la banda característica para los metales con una configuración d^9 , en la zona visible, para el complejo **3D** se observa una longitud de onda máxima (λ_{max}) en 755 nm característica de transiciones $d - d$. Por otro lado, hay una longitud de onda máxima (λ_{max}) en 225 nm que se debe a las transiciones intraligando de tipo $n-\sigma^*$, $n-\pi^*$, generadas por los enlaces C-O, C-N, C=O.

En la siguiente gráfica comparativa se muestran los barridos espectrales del ácido aspártico y el complejo **3D**, donde se observa la ausencia de una banda amplia en la región visible para el aminoácido libre y una diferencia entre los nm de la longitud de onda máxima donde ocurren las transiciones para los enlaces del ligando entre el complejo **3D** y el aminoácido. Estos dos aspectos nos permiten confirmar la coordinación del ácido aspártico con el cobre.



Gráfica 7. Comparación de barrido espectral de ácido aspártico y el complejo 3D. Asp: carece de transiciones $d - d$. 3D: presenta banda amplia en región visible debido a la coordinación con cobre (transiciones $d - d$).

En la gráfica 8 se muestra el análisis por espectroscopía Raman para el complejo 3D que permite la localización de una banda en 379 cm^{-1} para el enlace de coordinación Cu – O que como se ha estado manifestando en los complejos anteriores, estos estiramientos de Cu – O se ubican por debajo de los 400 cm^{-1} por lo que se le asigna una señal Raman débil. (Enrique Baran, 2005)



Gráfica 8. Análisis mediante espectroscopia Raman del complejo 3D.

Para el análisis termogravimétrico (TGA) se predice la estructura del complejo a partir del porcentaje de masa y los puntos de fusión de los ligandos en un rango de temperatura de 25°C a 900°C en atmósfera de nitrógeno con un flujo de 10 mL/min.

Para el complejo **3D** se observa una pérdida de masa que inicia en los 120 °C a los 213 °C y que le corresponde un porcentaje del 15.91%, se debe a la coordinación de dos moléculas de agua.

Entre los 213 °C a los 338 °C se observa una segunda pérdida de masa que corresponde a un porcentaje del 24.06% para una molécula de ácido aspártico coordinado a cobre²⁺. Debido a estos resultados y a la ausencia de una banda amplia para un enlace O –H en espectroscopía de Infrarrojo, se confirma la coordinación entre los oxígenos de los enlaces O-H pertenecientes a los ácidos carboxílicos presentes en la molécula del ácido aspártico, donde previo a la coordinación pierden el hidrógeno. A continuación, se muestra la fórmula química y masa molar propuesta para el complejo **3D**:

Tabla 10. Nomenclatura, fórmula química y masa molar determinada por TGA para el complejo 3D.

NOMENCLATURA	FÓRMULA QUÍMICA	MASA MOLAR
diacuooaspartatocobre(II)	$[\text{Cu}(\text{C}_4\text{H}_5\text{O}_4\text{N})(\text{H}_2\text{O})_2]$	230.55 g/mol

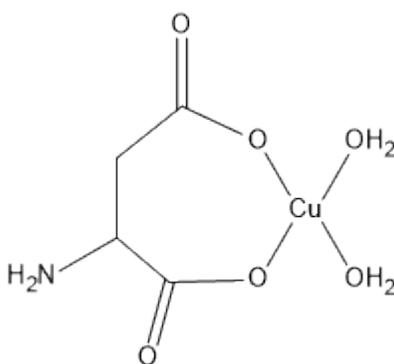


Diagrama 11. Estructura del complejo 3D determinada por TGA.

El análisis por Difracción de Rayos X de Polvos arroja un espectro con patrones de difracción donde aparecen los picos en un rango de 10 a 50° en ángulo de 2θ.

Un difractograma con patrones de difracción nos indica que el complejo analizado posee una estructura cristalina, sin embargo, como parte de un resultado concreto se sigue la comparación con una ficha JCPDS. En la base de datos no se encontró ninguna ficha JCPDS para este complejo con la que podamos comparar el difractograma obtenido para asignar los índices de Miller y una geometría.

Sin embargo, la caracterización se limita, pero se logra identificar picos de mayor intensidad y se determina la distancia interplanar, en la siguiente tabla se resumen esta información.

Tabla 11. Datos del análisis DRX-P para el complejo 3D. D: distancia interplanar, I%: Porcentaje de intensidad. 2θ: Ángulo.

[Cu(C₄H₅O₄N)(H₂O)₂]			
No. Pico	2θ	d	I%
1	11.59	7.63	34
4	17.56	5.05	35
5	18.58	4.77	100
9	25.68	3.47	29

COMPLEJO 4W

Para el complejo **4W** se utiliza el mismo material de partida, acetato de cobre monohidratado como fuente del metal y el triptófano como ligando. El siguiente diagrama muestra la reacción que se llevó a cabo, mostrando la estructura del complejo deducida por las técnicas de caracterización.

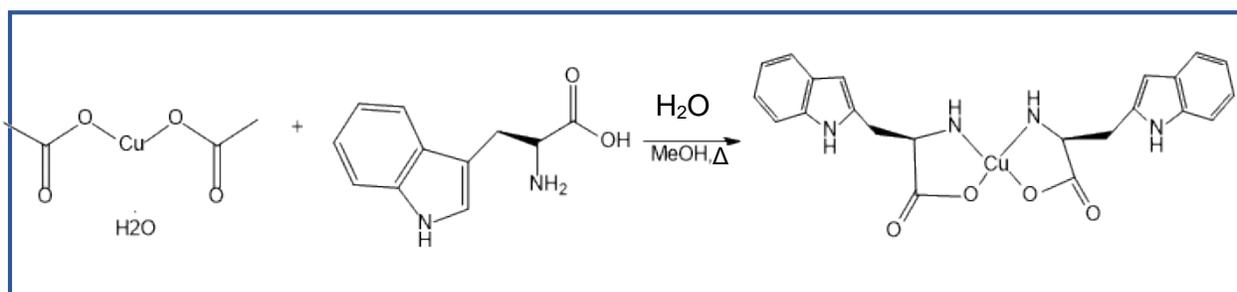


Diagrama 12. Síntesis del complejo 4W.

Los resultados de caracterización por espectroscopía de Infrarrojo mostraron los enlaces característicos del ligando, para un enlace N-H de una amina primaria se observan los estiramientos asimétricos y simétricos en 3336.40 cm^{-1} y 3251.40 cm^{-1} respectivamente, por otro lado, se observa una banda de intensidad fuerte en 3416.60 cm^{-1} atribuida a la tensión del enlace N-H de una amina secundaria presente en el anillo del indol.

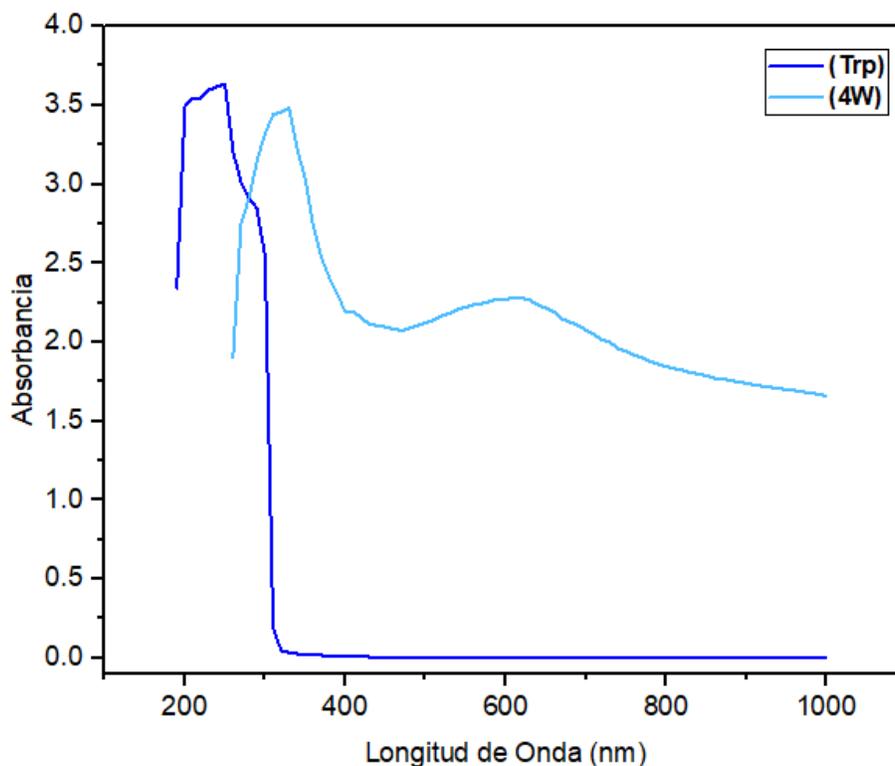
A números de onda de 1621.59 cm^{-1} y 1555.20 cm^{-1} se observa dos bandas de intensidad fuerte para el enlace C=O, posteriormente se observa una banda de intensidad mediana en 1352.96 cm^{-1} para la tensión del enlace C-O y finalmente una banda en 1094.69 cm^{-1} para el enlace C-N.

Nuevamente se observa un cambio en el número de onda de cada uno de los enlaces característicos del ligando, el efecto de retrodonación π genera esta donación de densidad electrónica de los orbitales d del cobre hacia los orbitales de antienlace de los heteroátomos a los que se encuentra coordinado.

Por su parte, la técnica de Espectrofotometría de UV-Vis nos arroja resultados de la coordinación de a través de las longitudes de ondas máximas observadas en los barridos espectrales del complejo y el aminoácido libre.

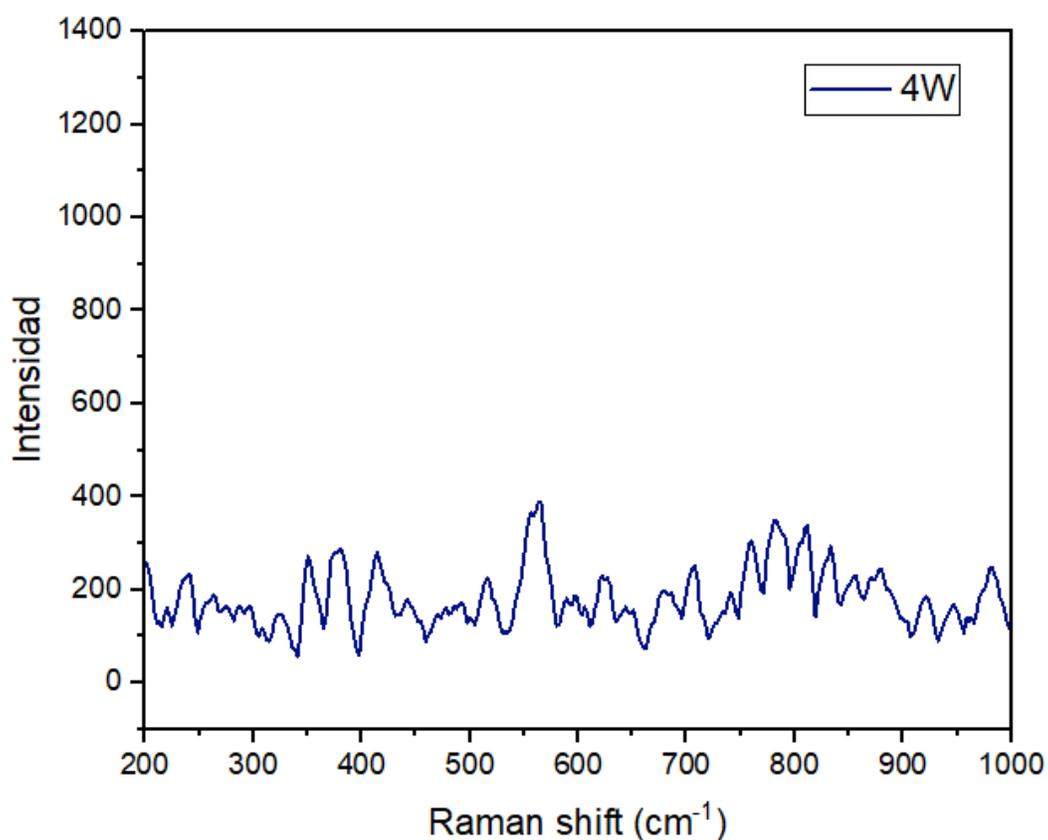
Por parte del complejo, se observa una primera longitud de onda máxima (λ_{max}) 330 nm para transiciones intraligando de tipo $n-\sigma^*$, $n-\pi^*$, $\pi-\pi^*$, debido a los enlaces C-O, C-N, C=O y C=C en la estructura de triptófano. En la región del visible se observa una segunda longitud de onda máxima (λ_{max}) en 620 nm para transiciones $d-d$, estas ocurren únicamente en los orbitales moleculares del metal.

Haciendo una comparación con el barrido espectral del aminoácido libre, observamos que solo existe una longitud de onda máxima (λ_{max}) en 251 nm, menor a las transiciones intraligando presentes en el complejo, además que no hay absorción en la región de visible, como podemos verlo en el complejo por las transiciones $d-d$. Con estos hallazgos a través de esta técnica de caracterización se determina la coordinación del cobre con el triptófano.



Gráfica 9. Comparación de barrido espectral de triptófano y el complejo 4W. Trp: carece de transiciones $d-d$. 4W: presenta banda amplia en región visible debido a la coordinación con cobre (transiciones $d-d$).

El espectro Raman del complejo 4W se muestra en la gráfica 10, localizando una banda a 379 cm^{-1} asignada al enlace Cu – O y a 418 cm^{-1} una banda para el enlace Cu – N, Wagner et al. Sintetizan un complejo partiendo de cloruro de cobre y triptófano como material de partida e identificar señales a 320 y 470 cm^{-1} respectivamente, la diferencia entre los desplazamientos Raman radica en el empleo del láser utilizado, el reportado por los autores es de 1068 nm y el utilizado en el análisis es de 638 nm haciendo una diferencia en la frecuencia en que aparecen las vibraciones de estos enlaces.



Gráfica 10. Análisis mediante espectroscopia Raman del complejo 4W.

En el análisis termogravimétrico se evaluó un rango de temperatura de 25 a 900 °C con un flujo de 10 mL/min en atmósfera inerte (N₂) para evitar la reducción del metal, se identificó la pérdida de masa para indicar la cantidad de ligandos coordinados al centro metálico, mediante los puntos de fusión, en este caso de triptófano.

La gráfica muestra una pérdida de masa de 58.98% en un intervalo de temperatura de 220 a 470 °C, corresponde dos moléculas de triptófano coordinada al cobre. Posterior a los 470 °C se mantiene la curva de la pérdida de masa hasta los 900 °C del análisis, esta masa restante se atribuye a subproductos de la degradación del complejo, que se encuentran unidos al cobre, por lo que, se esperaría que se obtenga una degradación total a partir de los 1083°C que es cuando el cobre pasa de su estado sólido al líquido. A continuación, se muestra la fórmula química y masa molar del complejo **4W**:

Tabla 12. Nomenclatura, fórmula química y masa molar determinar por TGA para el complejo 4W.

NOMENCLATURA	FÓRMULA QUÍMICA	MASA MOLAR
bis(triptófano)cobre(II)	[Cu(C ₁₁ H ₁₀ O ₂ N ₂) ₂]	467.55 g/mol

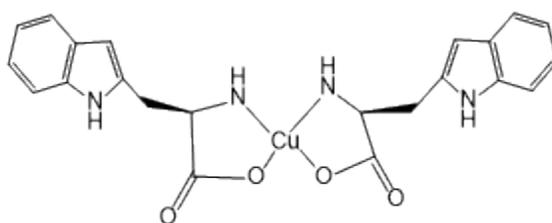


Diagrama 13. Estructura del complejo 4W determinada por TGA.

El análisis de Difracción de Rayos X de Polvos se realizó en un intervalo de ángulo 2θ que va de 10 a 50° donde aparecen picos de difracción para el complejo **4W**. (Anexo 32)

Se realizó una comparación con la ficha JCPDS **32-16-18** para establecer la geometría del complejo, sin embargo, la ficha no muestra datos cristalográficos como es el parámetro de red, índices de Miller y geometría cristalina, únicamente se logra establecer una comparación entre los picos de mayor intensidad, ángulo 2θ y distancia interplanar, de los reportados en la ficha y los obtenidos en el análisis.

Tabla 13. Comparación de ficha JCPDS 32-1618 con el complejo 4W. D: distancia interplanar, I%: Porcentaje de intensidad. 2θ : Ángulo.

FICHA JCPDS 32-1618				[Cu(C ₁₁ H ₁₁ O ₂ N ₂) ₂]			
No. Pico	2θ	d	I%	No. Pico	2θ	d	I%
1	12.99	6.81	80	2	13.24	6.68	39
3	19.67	4.51	100	5	20.13	4.41	61

COMPLEJO 5C

Para finalizar la caracterización de los complejos, se realiza la ruta sintética para obtener el complejo **5C**, como fuente del metal se utiliza acetato de cobre monohidratado y como ligando cisteína en una relación molar 1:1.

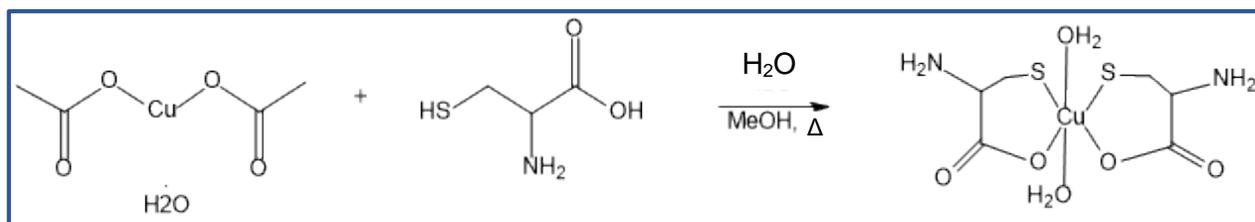


Diagrama 14. Síntesis del complejo 5C

Para la caracterización de espectroscopía de Infrarrojo se identifican los enlaces característicos del complejo 5C en el espectro. Para el estiramiento asimétrico y simétrico del enlace N – H de la amina primaria presente en el ligando se observa un par de bandas de intensidad mediana en 3230.94 cm⁻¹ y 3137.86 cm⁻¹, por otro lado, en 1615.13 cm⁻¹ se identifica una banda de intensidad fuerte para el estiramiento del enlace C=O.

La banda para la tensión del enlace C – O se observa en 1385.55 cm⁻¹ con una intensidad mediana y finalmente una banda para el enlace C – N en 1107.93 cm⁻¹

Por otro lado, no se logra observar la banda para el enlace S – H esto se debe a la desprotonación del grupo tiol y la consiguiente coordinación del azufre con el cobre, esto también lo mencionan Kenneth M. Dokken en el 2009 donde sintetizan una variedad de complejos de cobre con cisteína en diferente relación molar.

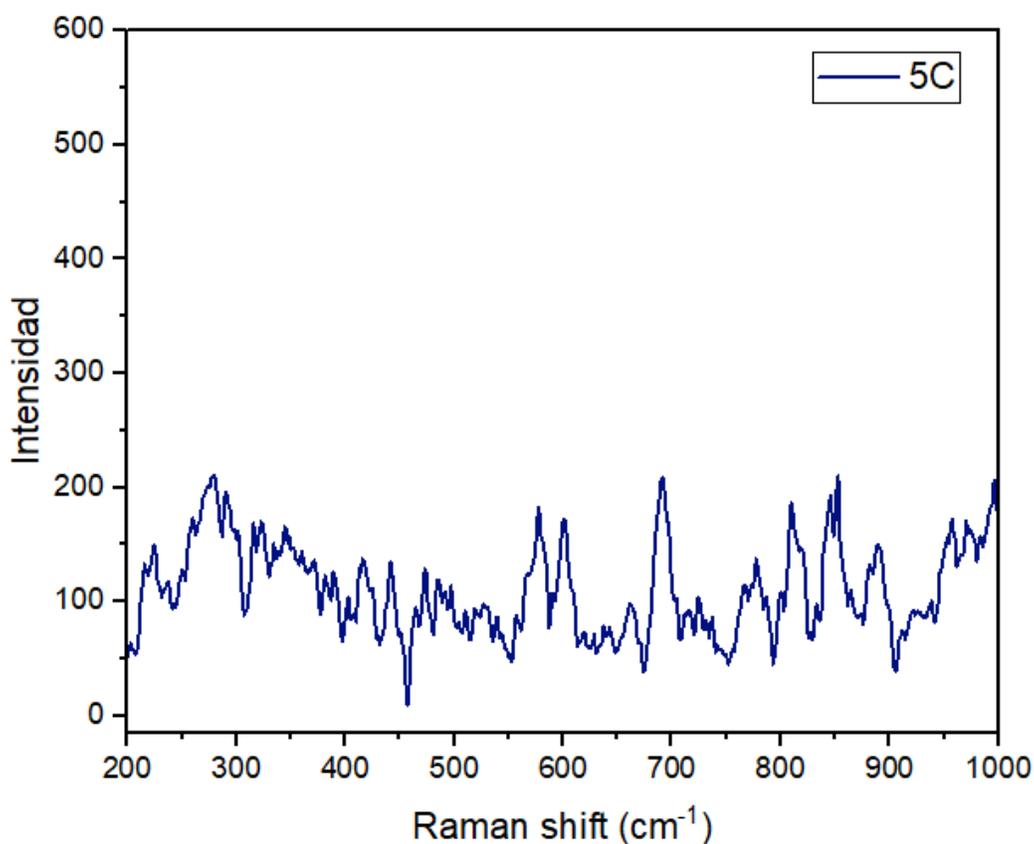
Así mismo, los enlaces antes mencionados en el complejo, se logran identificar en el espectro del aminoácido libre, donde el efecto de retrodonación π provoca el cambio en el número de onda para cada uno, como se ha estado observando en los demás complejos. Enlaces: estiramiento simétrico del N – H en 3101.74 cm⁻¹, estiramiento del C=O en 1577.23 – 1485.08 cm⁻¹, tensión del enlace C – O 1337.94 cm⁻¹ y enlace C – N 1125.18 cm⁻¹ y el enlace S – H en 2552.78 cm⁻¹.

La evaluación con la técnica espectrofotometría UV-Vis no se pudo realizar debido a que el complejo fue totalmente insoluble en una gran variedad de solventes, así como mezclas binarias y ternarias, lo que impidió el barrido espectral.

Tabla 14. Solventes probados para solubilidad de 5C

SOLVENTES PROBADOS PARA 5C		
Agua	Éter etílico	Tetrahidrofurano
Metanol	Butanol	Dimetilformamida
Etanol	Piridina	Dimetilsulfóxido
Acetona	Acetato de Etilo	n-Hexano

Para el complejo **5C** se muestra la gráfica 11 el espectro Raman obtenido, donde la baja sensibilidad del equipo se ve afectada por la escasa cristalinidad del complejo, obteniendo un espectro con bandas poco definidas, sin embargo, fueron localizadas señales raman para los enlaces de interés, donde a 280 cm^{-1} se asigna una banda para el enlace Cu – S y a 325 cm^{-1} una banda para el enlace Cu – O, con estas señales se apoya el argumento antes mencionado por Kenneth M. Dokken en la sección de espectroscopía de infrarrojo, sobre la coordinación del cobre con el grupo tiol del aminoácido.



Gráfica 11. Análisis mediante espectroscopia Raman del complejo 5C.

Para el análisis termogravimétrico se llevó a cabo un rango de temperatura que va de 25 a 900 °C con un flujo de 10 mL/min en atmósfera de N₂. Se identifica una primera pérdida en un intervalo de temperatura de 100 a 180 °C que corresponde a una pérdida del 8.21 % de masa de dos moléculas de agua. Por otro lado, se observa una segunda pérdida de masa entre 180 a 440 °C para un 34.11% que se atribuye a una masa de dos moléculas de cisteína.

A continuación, se muestra la fórmula química y masa molar determinado por el análisis termogravimétrico para el complejo **5C**:

Tabla 15. Nomenclatura, fórmula química y masa molar determinado por TGA para el complejo 5C.

NOMENCLATURA	FÓRMULA QUÍMICA	MASA MOLAR
diacuobis(cisteína)cobre(II)	[Cu(C ₃ H ₅ O ₂ NS) ₂ (H ₂ O) ₂]	237.55 g/mol

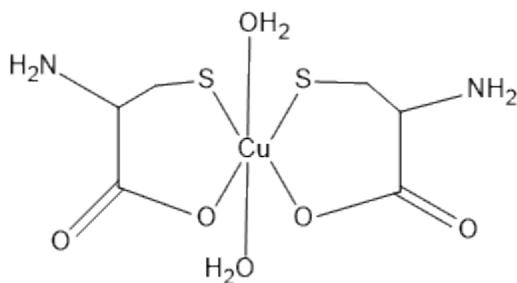


Diagrama 15. Estructura del complejo 5C determinada por TGA.

Finalmente, se realizó un análisis del complejo **5C** por Difracción de Rayos X de Polvos en un ángulo 2θ entre 10 a 50 °, obteniendo así un espectro con patrones de difracción para dicho complejo, aunque también presenta características de un material amorfo, por lo que cierta región del complejo no muestra una estructura ordenada (Anexo 34).

Sin embargo, la base de datos del equipo de DRX-P no arrojó fichas JCPDS que posea la misma naturaleza, ni derivados de estos, por lo que no se logró asignar índices de Miller ni proponer una estructura tridimensional a partir de datos registrados en esta base de datos. Únicamente se puede registrar los picos de mayor intensidad, el ángulo 2θ y la distancia interplanar.

Tabla 16. Datos del análisis DRX-P para el complejo 5C. D: distancia interplanar, I%: Porcentaje de intensidad. 2θ : Ángulo

[Cu(C₃H₅O₂NS)₂(H₂O)₂]			
No. Pico	2θ	d	I%
1	8.82	10.02	100
4	16.74	5.30	55
6	18.79	4.72	55
7	20.03	4.43	48

De manera general para los complejos sin ficha JCPDS o datos cristalográficos no indica que no poseen una estructura tridimensional, más bien, hasta el momento no se ha logrado registrar un cristal que presente la misma coordinación con el cobre y los aminoácidos utilizados, para asignar una estructura definida que pueda servir de base para realizar comparación para aquellos compuestos cristalinos o en su defecto para aquellos de difícil cristalización.

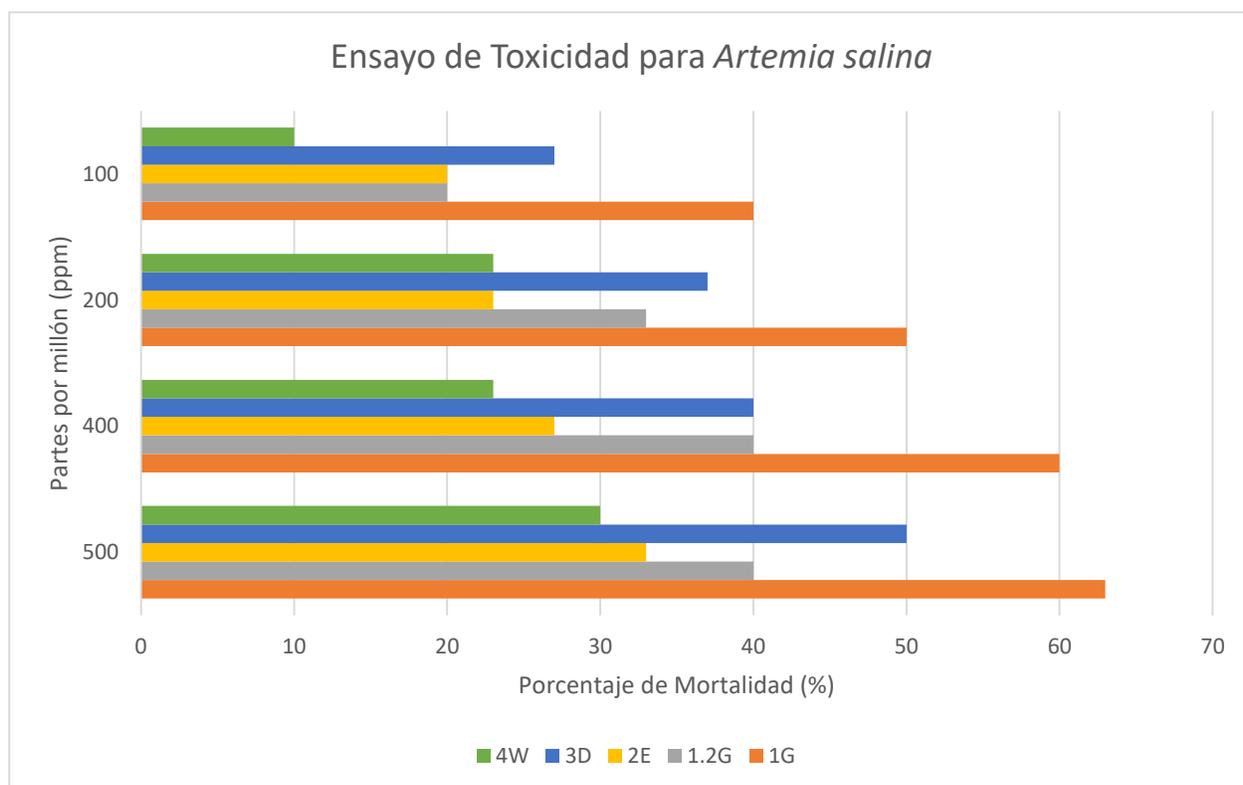
DISCUSIÓN DE RESULTADOS BIOLÓGICOS

EVALUACIÓN DE TOXICIDAD GENERADA POR COMPLEJOS DE COBRE²⁺ PARA ARTEMIA SALINA

El ensayo de toxicidad para *Artemia salina* nos proporcionó la identificación de los complejos que presentan cierto grado de toxicidad para un sistema biológico.

Del ensayo se muestran resultados en función de porcentaje de mortalidad y concentración letal media (CL₅₀), de los cuales, se muestran a continuación:

Los resultados obtenidos de los porcentajes de mortalidad se muestran en la gráfica 6, donde se observan dos grupos de resultados, donde los que presentan un bajo porcentaje de actividad tóxica (complejos **4W** y **2E**) y los de mayor actividad tóxica (complejos **1G**, **1.2G** y **3D**).



Gráfica 12. Porcentaje de mortalidad de los complejos 1G, 1.2G, 2E, 3D y 4W para *Artemia salina*

Para la determinación de las concentraciones letales media (CL₅₀) de cada complejo se utilizó el análisis Probit.

Tabla 17. CL₅₀ de los complejos evaluados en el ensayo de toxicidad para *Artemia salina*

COMPLEJO	CL ₅₀ (ppm)
1G	193.98
1.2G	570.89
2E	1922.24
3D	615.43
4W	1526.68

Realizando una comparación de las CL₅₀ de los complejos sintetizados, se observan tres grupos, el primero representa el complejo **1G** con un efecto tóxico superior, el segundo grupo formado por los complejos **1.2G** y **3D** con un efecto tóxico intermedio y finalmente, el de los complejos **2E** y **4W** con un efecto toxico inferior donde la dosis debe ser >1000 ppm para generar un 50% de toxicidad para el crustáceo de *Artemia salina*.

Bushra Iftikhar y colaboradores (2018), sintetizaron complejos de cobre con bases de schiff de salicilaldehído donde presentaron CL₅₀ de 0.25, 58.32, 66.12 y superiores a 100 ppm, estableciendo con esta información, que la principal relación estructural los complejos sintetizados en este proyecto es la coordinación del cobre con átomos de nitrógeno y oxígeno de cada ligando, sin embargo, al no superar los resultados del segundo y tercer grupo, podría atribuirse a las cadenas R de los diferentes aminoácidos.

Por otro lado, en el 2018 Fahimah Martak y colaboradores, sintetizaron complejos a base de cobre coordinado a un anillo de imidazol disustituído con anillos aromáticos que presentaron CL₅₀ en el ensayo de toxicidad para *Artemia salina* de 24,55 ppm que representa un efecto toxico superior frente a los tres grupos de complejos.

Considerando la importancia del papel que juega la estructura de los complejos en su actividad biológica, Con estos resultados se puede determinar que la quelación reduce la polaridad del ion metálico debido a que comparte parcialmente su carga positiva con los grupos donantes y la posible deslocalización de los electrones en todo el anillo. Se puede observar que el complejo **1G** es el que presenta la quelación del metal con su ligando y el que resultó con mayor porcentaje de toxicidad y menor CL₅₀, aunque su isómero **1.2G** guarda la estructura quelante pero con menor efecto tóxico, atribuible probablemente a la disposición atómica.

EVALUACIÓN CITOTÓXICA DE LOS COMPLEJOS A TRAVÉS DEL ENSAYO DE MTT.

Los ensayos citotóxicos son capaces de detectar mediante una variedad de mecanismos celulares aquellos efectos adversos de interferencia con la estructura o propiedades esenciales para la supervivencia celular, proliferación o funciones. Para esto se determinó el efecto citotóxico de los complejos **1G**, **1.2G** y **2E**, utilizando 2 líneas celulares HeLa (Cáncer cervicouterino) y 3T3 (Fibroblastos) empleando el reactivo MTT.

El objetivo general del ensayo MTT (bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5difeniltetrazolio) es medir la actividad mitocondrial de las células viables, por lo tanto, un aumento o disminución en el número de células viables se refleja en un cambio en esta actividad, además esta actividad mitocondrial se mide en la conversión de la sal de tetrazolio MTT en cristales de formazán.

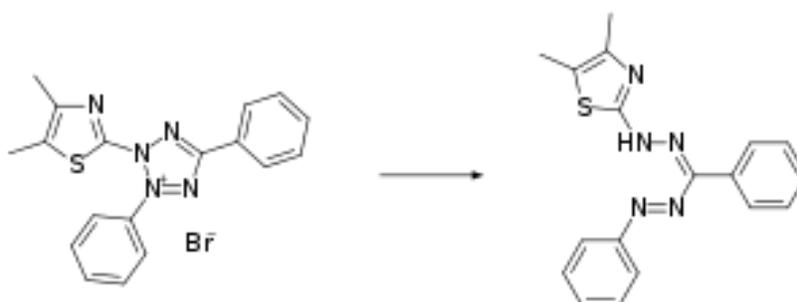
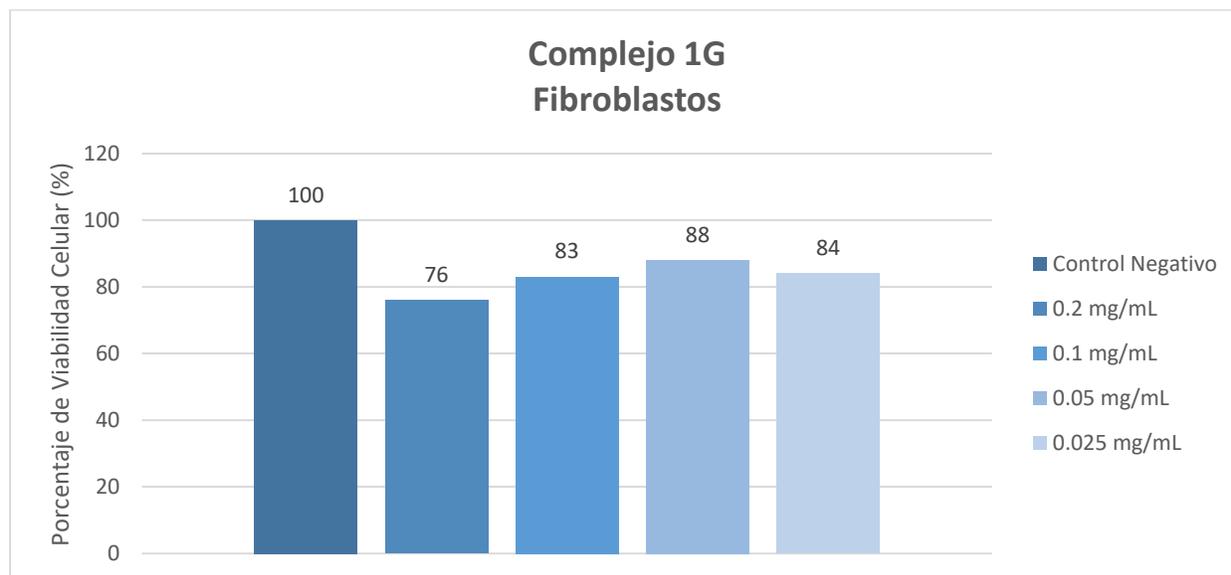


Figura 24. Reducción del MTT a formazán por la enzima succinato deshidrogenasa.

En el ensayo se presentó una limitante, los complejos no mostraban solubilidad en agua ni en un 1% de DMSO que son los solventes adecuados para realizar ensayos biológicos, a excepción del complejo **1G** que presenta solubilidad total en agua. Adicional a este complejo, el **1.2G** y **2E** presentó ligera solubilidad en el medio después de aplicar fuerza mecánica, por lo tanto, en este estudio solo se evaluó una única concentración.

El complejo **1G** permitió evaluar diferentes concentraciones. A continuación, se muestran los resultados obtenidos en función del porcentaje de viabilidad celular. En la gráfica 13, se muestra el porcentaje de viabilidad celular frente a la línea celular 3T3 (Fibroblastos):



Gráfica 13. Porcentaje de viabilidad celular mediante el ensayo de MTT en células 3T3 (fibroblastos) del complejo 1G en diferentes concentraciones.

Los resultados obtenidos en la línea celular 3T3, muestran que el porcentaje de viabilidad celular sin el complejo **1G** es del 100%, mientras que los resultados de las células expuestas a diferentes concentraciones del complejo **1G** se identificó que la concentración 0.2 mg/mL disminuye la actividad mitocondrial de las células 3T3, es decir, genera un efecto citotóxico mayor en comparación a las tres concentraciones evaluadas que se mantienen dentro del 80% del porcentaje de viabilidad celular.

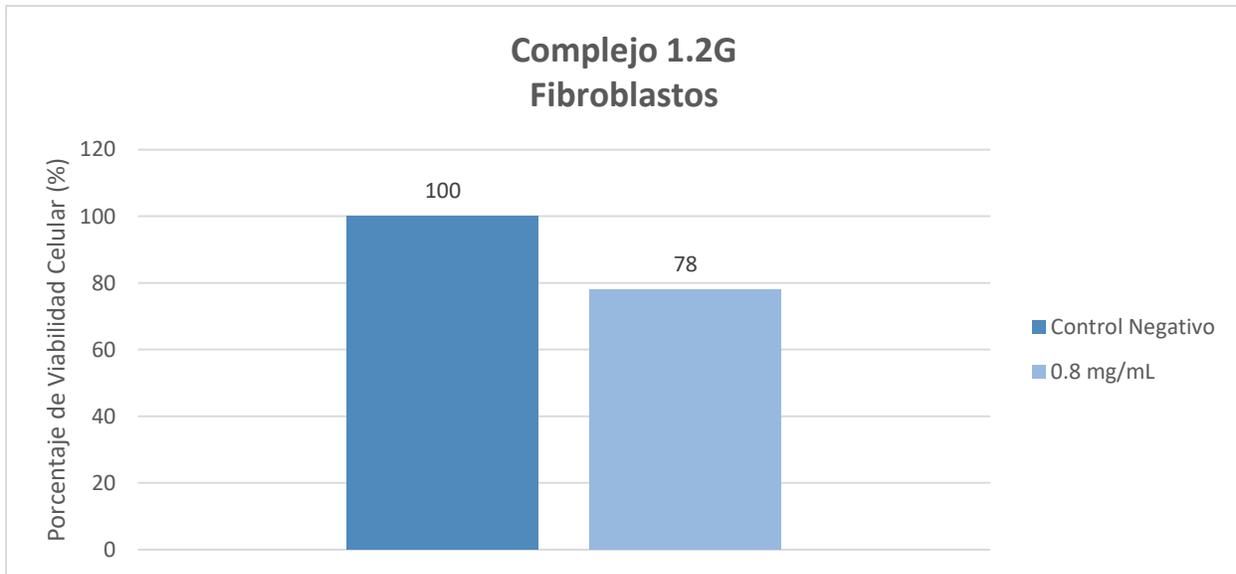
En la gráfica 14 se muestra el porcentaje de viabilidad celular en células HeLa (Cáncer cervicouterino) para el complejo **1G**:



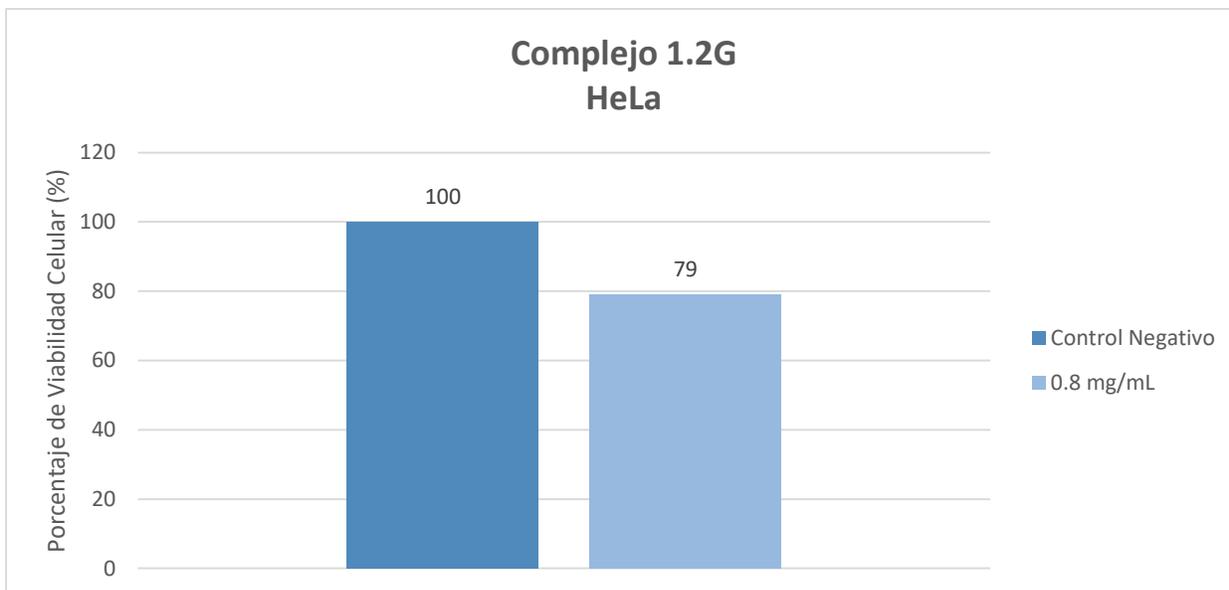
Gráfica 14. Porcentaje de viabilidad celular mediante el ensayo de MTT en células HeLa (cáncer cervicouterino) del complejo 1G en diferentes concentraciones.

En el ensayo con células HeLa se observó que en las cuatro concentraciones evaluadas el porcentaje de viabilidad celular se mantuvo dentro del 80%, indicando que no se presenta una disminución significativa en forma dosis dependiente, es decir, que a mayor concentración del complejo la viabilidad celular nos disminuye durante las 24h de exposición de las células.

Con respecto a los complejos **1.2G** y **2E** se presentan sus respectivas gráficas; el complejo **1.2G** se evaluó a una concentración de 0.8 mg/mL en ambas líneas celulares presentando un porcentaje de viabilidad celular similar (78 y 79 %). En este complejo se evaluó una concentración de tres a cuatro veces mayor a la de su isómero **1G**, por lo tanto, presenta un menor efecto citotóxico para los fibroblastos y las células HeLa el isómero **1.2G**.

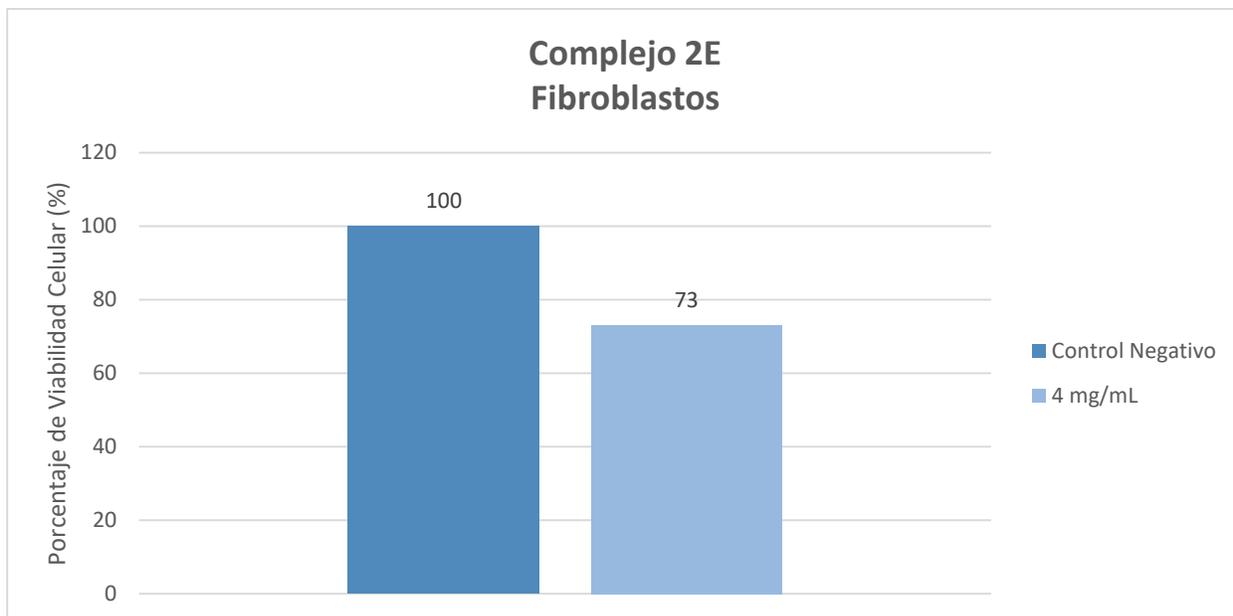


Gráfica 15. Porcentaje de viabilidad celular mediante el ensayo de MTT en células 3T3 (fibroblastos) del complejo 1.2G en na concentración

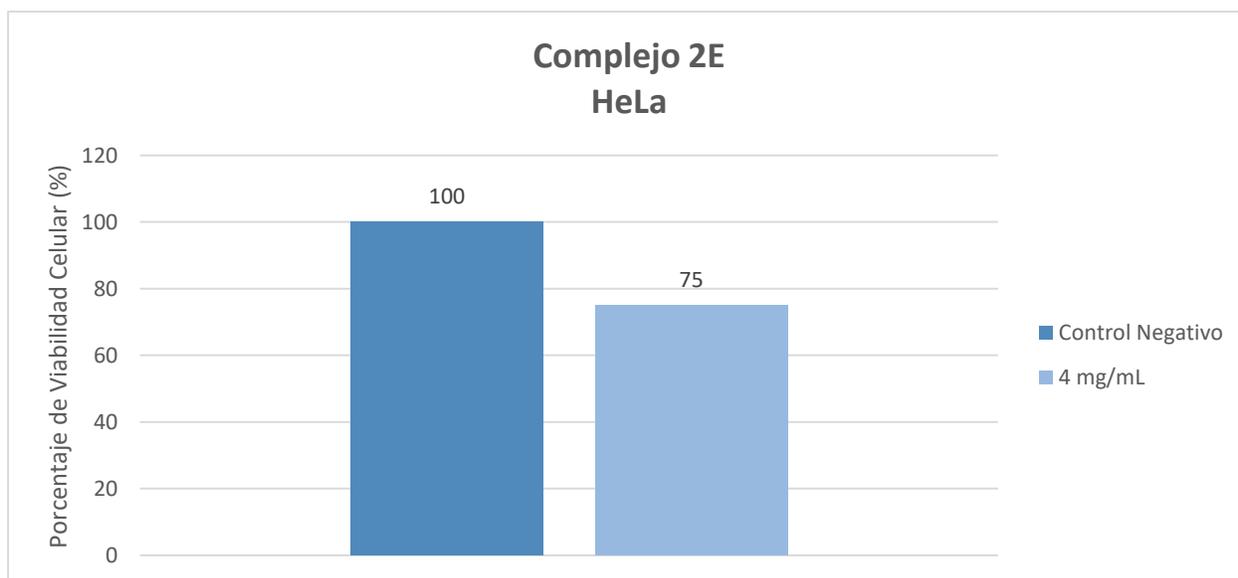


Gráfica 16. Porcentaje de viabilidad celular mediante el ensayo de MTT en células HeLa (cáncer cervicouterino) del complejo 1.2G en una concentración.

El tercer compuesto evaluado fué el **2E** donde se evaluó el potencial efecto citotóxico con una concentración de 4 mg/mL a diferencia de los complejos **1G** y **1.2G**. Los resultados en la línea celular 3T3, fibroblastos, se obtuvo un 73% de viabilidad celular, donde se observó un menor efecto citotóxico para las células frente a la concentración empleada. El porcentaje de viabilidad celular en el ensayo con células HeLa fué de 75%, indicando que no se observa un potencial efecto citotóxico frente a esta línea celular cancerígena



Gráfica 18. Porcentaje de viabilidad celular mediante el ensayo de MTT en células 3T3 (fibroblastos) del complejo 2E en una concentración.



Gráfica 17. Porcentaje de viabilidad celular mediante el ensayo de MTT en células HeLa (cáncer cervicouterino) del complejo 2E en una concentración.

CONCLUSIONES

Mediante un proceso sintético de reacciones de sustitución, se obtuvieron seis complejos de cobre utilizando como ligandos los aminoácidos: glicina, ácido glutámico, ácido aspártico, triptófano y cisteína.

A través de las técnicas de IR, Raman, DRX-P, TGA y UV-Vis se caracterizaron los complejos:

1G: acuo-cis-bis(glicinato)cobre(II)

1.2G: acuo-trans-bis(glicinato)cobre(II)

2E: diacuoglutamatocobre(II)

3D: diacuopartatocobre(II)

4W: bis(triptófano)cobre(II)

5C: diacuobis(cisteína)cobre(II)

Con la técnica de IR y Raman se identificaron las bandas características para los grupos funcionales y de los enlaces principales con los diferentes ligandos, confirmando el efecto de retrodonación ejercido por el cobre hacia los orbitales de antienlace de los ligandos.

Con la técnica de TGA se confirmó la cantidad de ligandos unidos al cobre en función de las variables tiempo y temperatura, y se determinó la pérdida de masa correspondiente a los ligandos coordinados, así como a moléculas de agua.

Mediante la técnica de UV-Vis se identificaron en todos los complejos, a excepción del 5C, las transiciones $d - d$ que ocurren entre orbitales moleculares de metales con configuración electrónicas de $d^1 - d^9$, como el cobre²⁺.

Con la caracterización DRX-P y utilizando las fichas JCPDS se logró asignar una estructura cristalina ortorrómbica para el complejo **2E**. A falta de fichas JCPDS 21-1599 no se identificaron las estructuras de los demás complejos, sin embargo, el difractograma identificó picos bien definidos con un ordenamiento atómico, a excepción del complejo **5C** que mostró picos con un ordenamiento aleatorio.

Se determinó la toxicidad de los complejos sintetizados mediante el bioensayo con *Artemia salina*, observándose que el complejo **1G** es más tóxico frente a este sistema biológico con una CL₅₀ de 193.38 ppm, y con menor efecto el **2E** mostrando una CL₅₀ de 1922.24 ppm. No se logró determinar la CL₅₀ para el complejo **5C** por su falta de solubilidad en diferentes solventes

Se llevó a cabo ensayos de actividad citotóxica mediante la metodología de la reducción del compuesto MTT a formazán de los complejos **1G**, **1.2G** y **2E**. El complejo **1G** resultó ser el más tóxico a una concentración de 0.2 mg/mL mientras que el complejo **2E** a una concentración de 4 mg/mL es el de menor toxicidad frente a ambas líneas celulares.

Recomendaciones

- Sintetizar complejos de cobre a partir de diferentes sales para diferenciar su coordinación del ligando con el metal e identificar si presentan mejor solubilidad.
- Asignar un tiempo determinado para llevar a cabo métodos de cristalización para los complejos sintetizados.
- Profundizar sobre el efecto tóxico que ejercen estos complejos en el crustáceo de *Artemia salina*.
- Estudiar la baja solubilidad de los complejos sintetizados y realizar modificaciones estructurales que permitan llevar a cabo ensayos biológicos.
- Realizar un ensayo de actividad citotóxica empleando agentes antineoplásicos comerciales como controles positivos, así como el uso de diferentes líneas celulares.

ÁPENDICE

TÉCNICAS EXPERIMENTALES

Instrumentación

- Espectroscopia de Infrarojo

Los espectros de infrarojo se registraron en un espectrómetro FT-IR Nicolet™ iS™ 5 que permite un intervalo de registro de 4000 – 400 cm^{-1} .



- Espectrofotometría de UV-Vis

Los barridos de absorción de los complejos de cobre²⁺ sintetizados fueron obtenidos a través del espectrofotómetro DR5000 UV-Vis, operando entre 190 – 1000 nm.



- Espectroscopia Raman

Se utilizó un espectrómetro de Renishaw inVia equipado con láser Nd:YAG ($\lambda = 638 \text{ nm}$). Se utilizó un monocromador de rejilla de 1200 líneas/mm para dispersar los fotones, que luego se recogen en una cámara CCD.



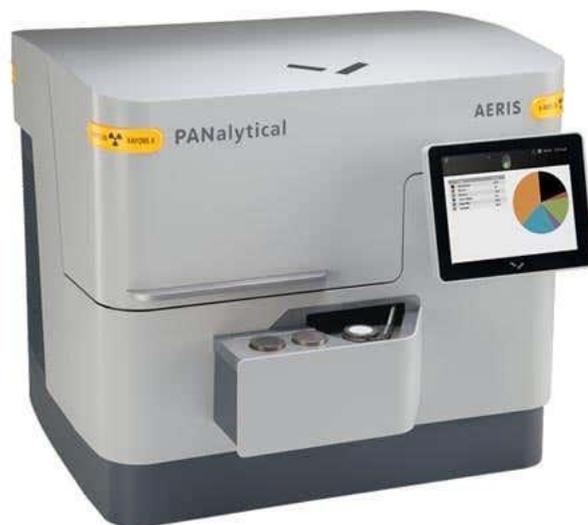
- Análisis termogravimétrico

El equipo de TA Instruments ofrece el Q600 para realizar medidas de DSC-TGA en modo simultáneo desde temperatura ambiente hasta 1500°C, lo que amplía considerablemente el intervalo de temperaturas.

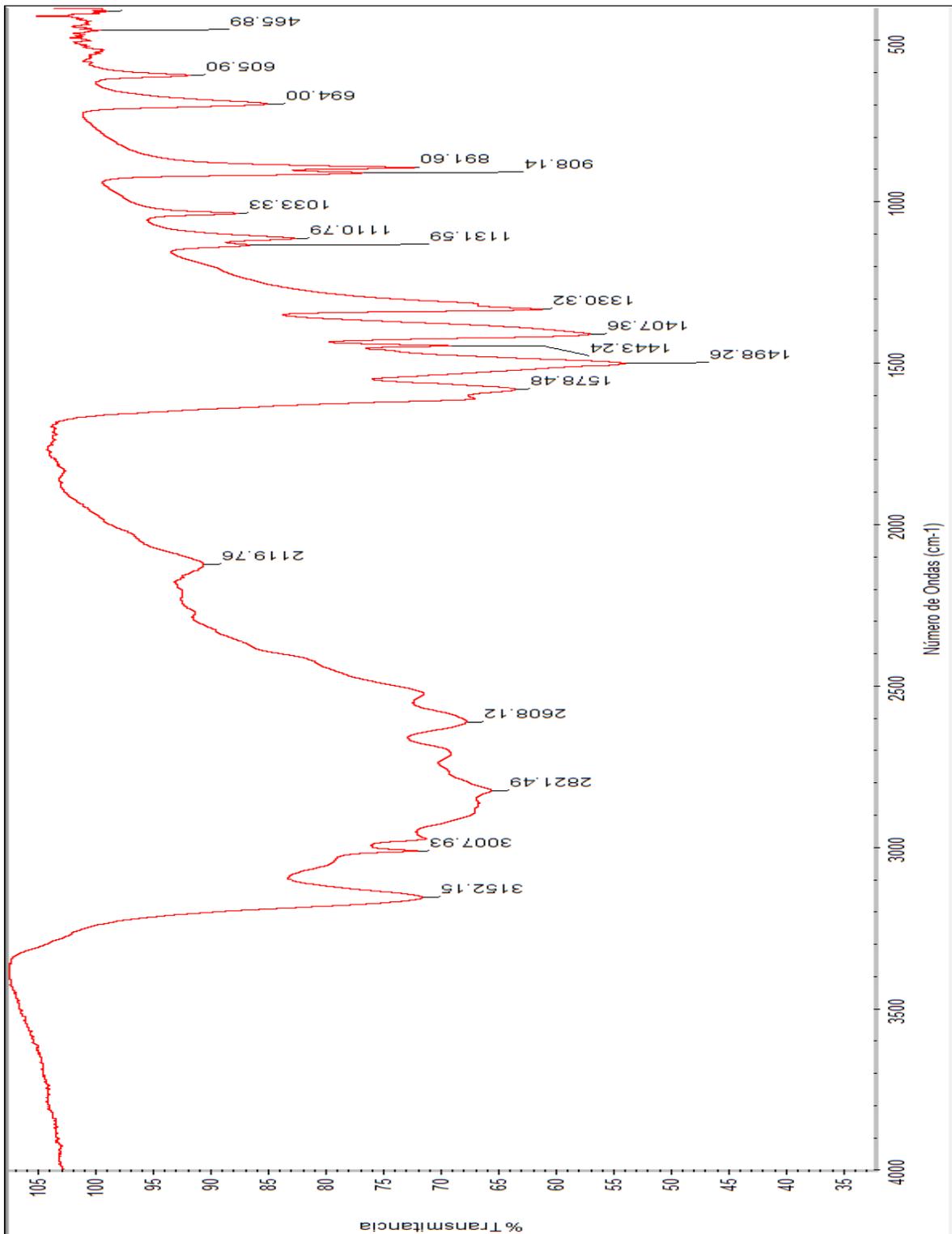


- Difracción de Rayos X de Polvos

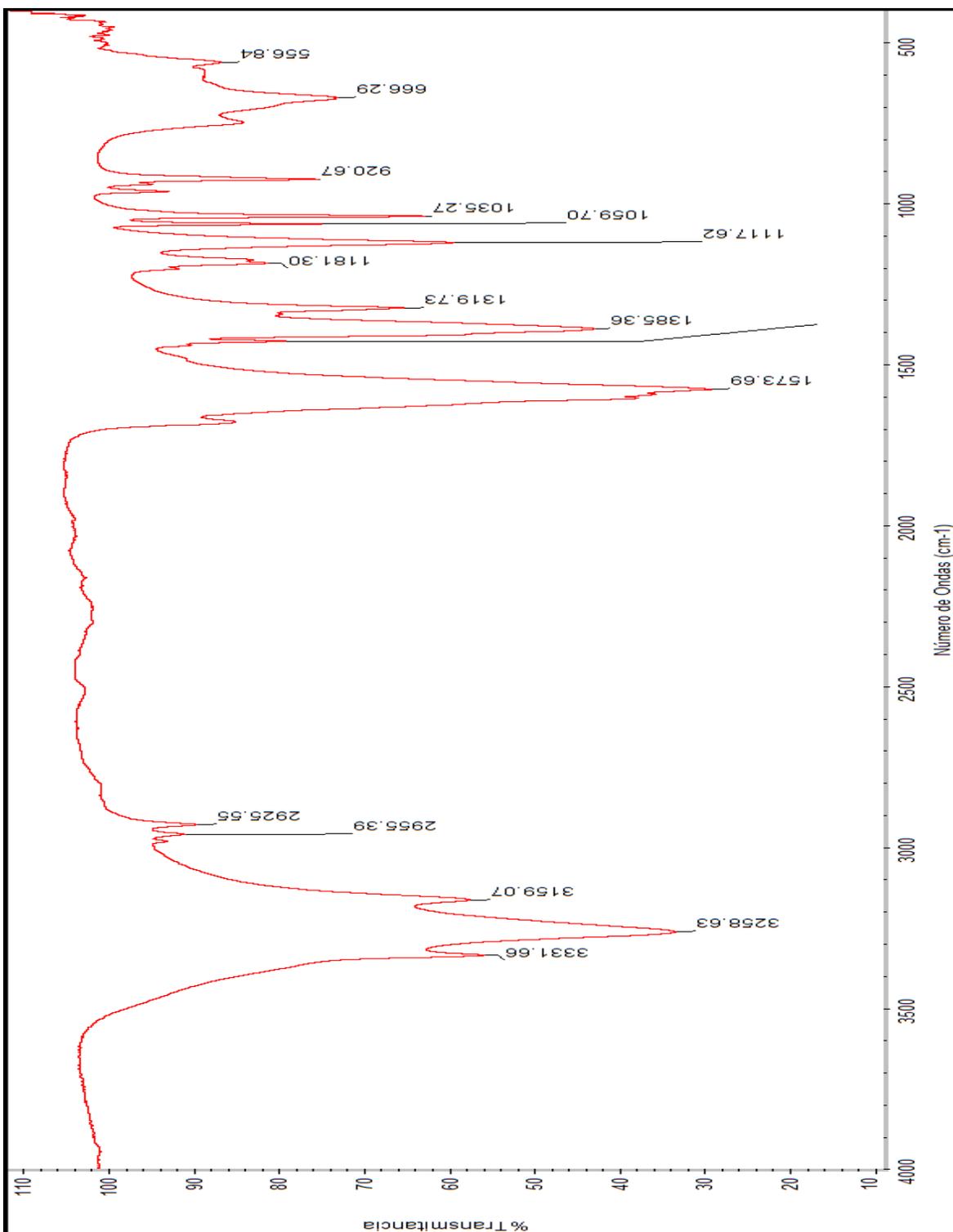
La difracción de rayos X de polvos (DRX) es una técnica no destructiva que sirve para analizar un amplio rango de materiales. Fuente de rayos X: Tubo de descarga con ánodo de cobre ($K\alpha_1 = 0.1540 \text{ \AA}$). Ideal para la mayoría de análisis de polvos.



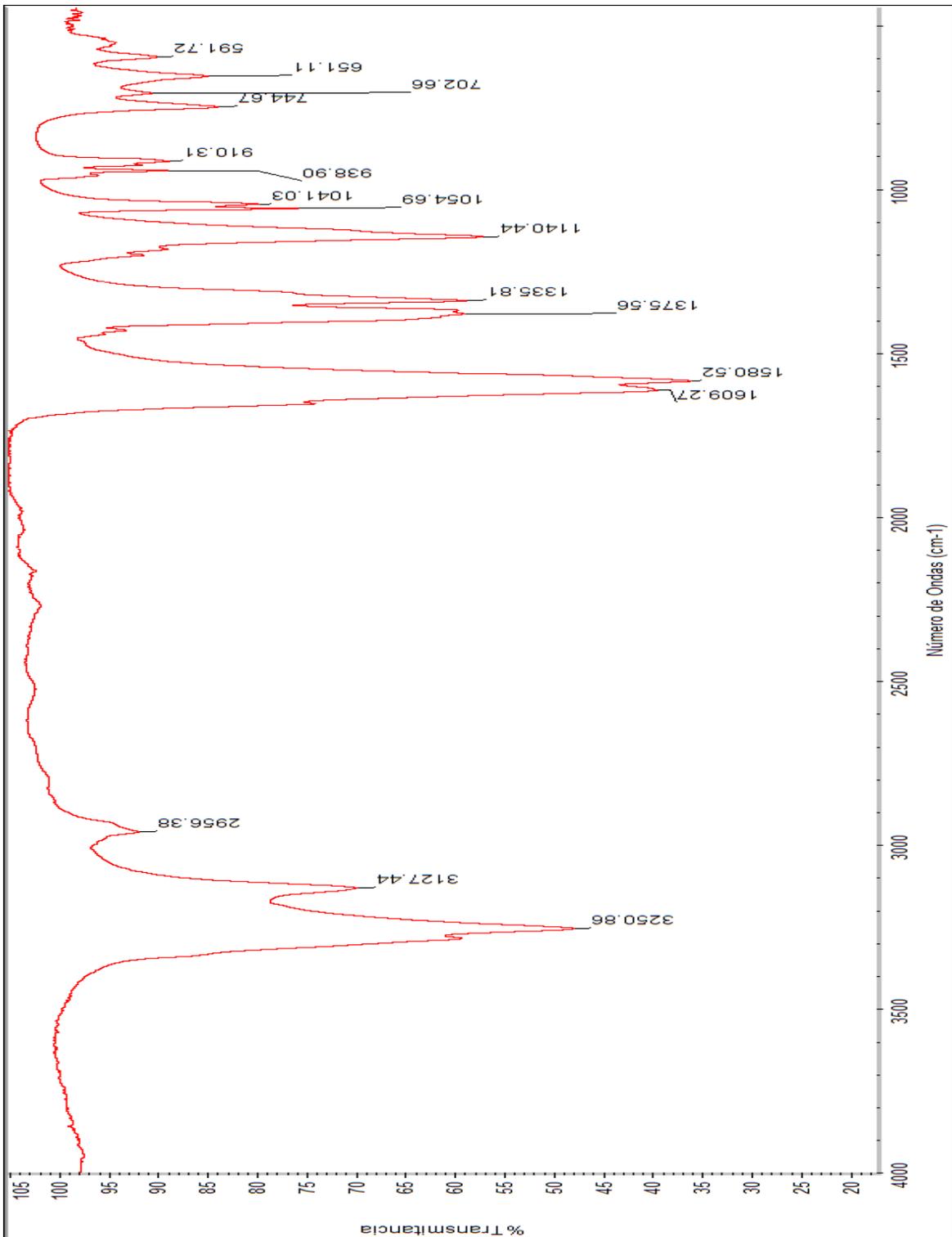
ANEXOS



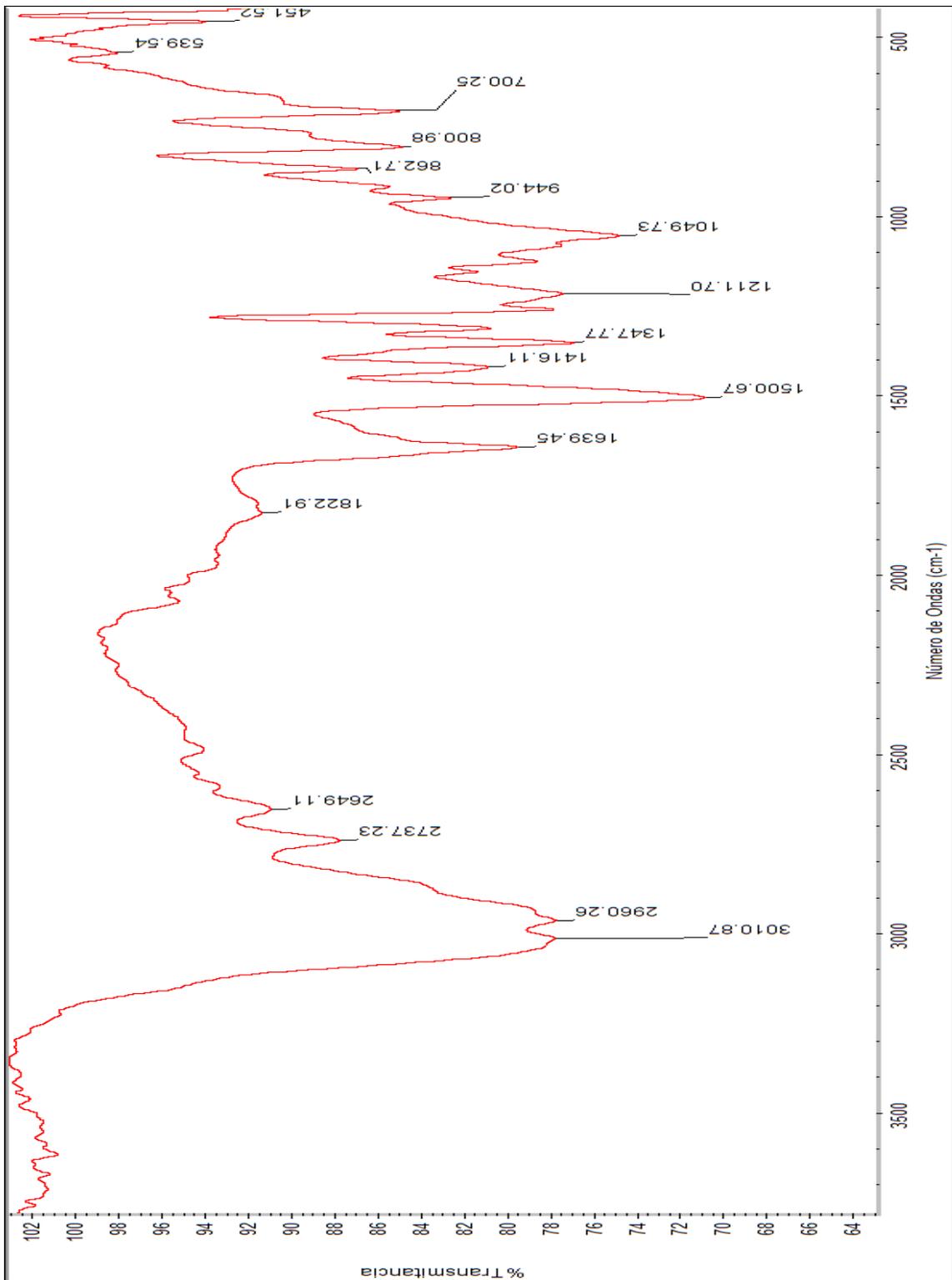
Anexo 1. Espectro de IR de glicina.



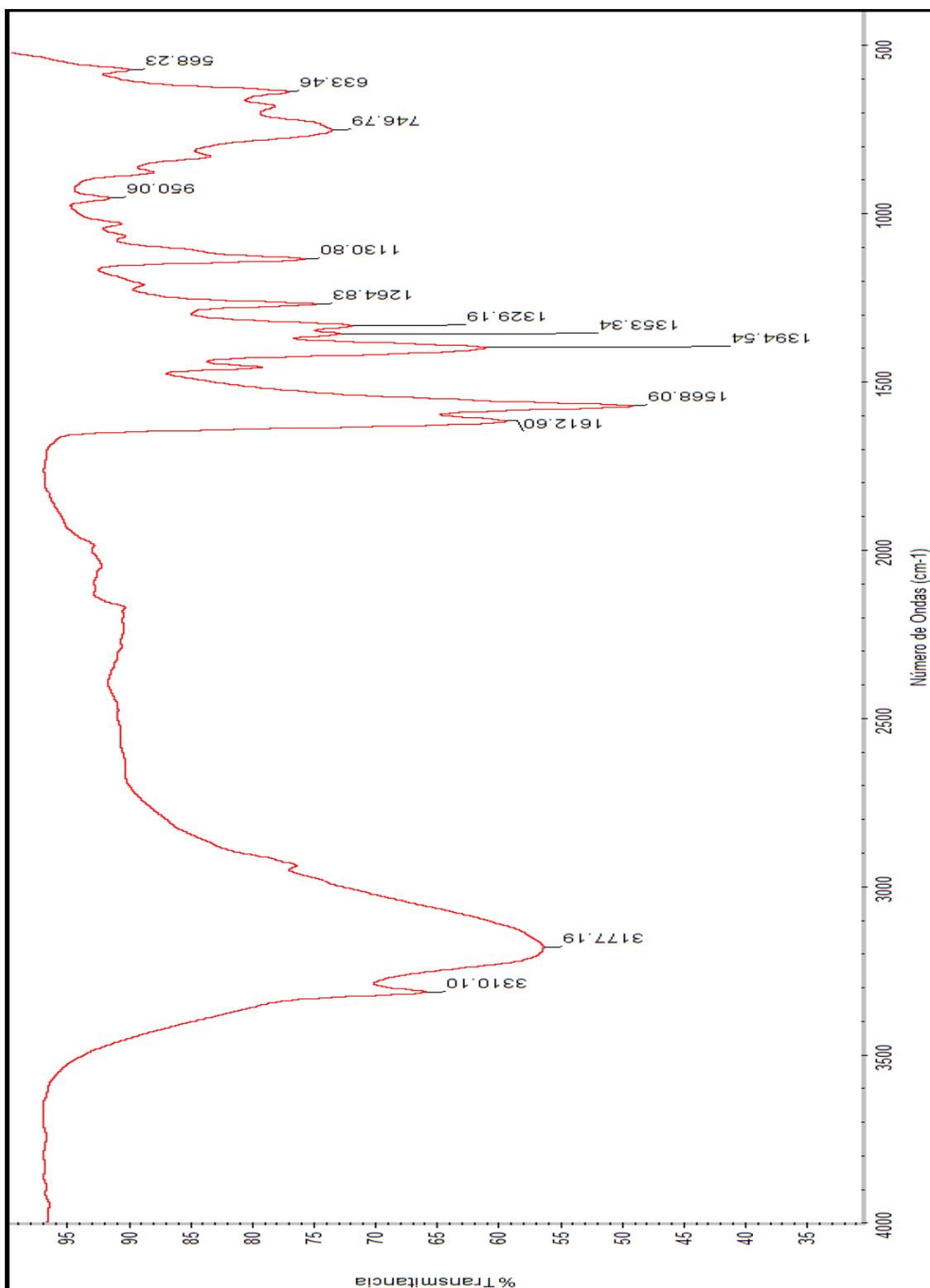
Anexo 2. Espectro de IR del complejo 1G



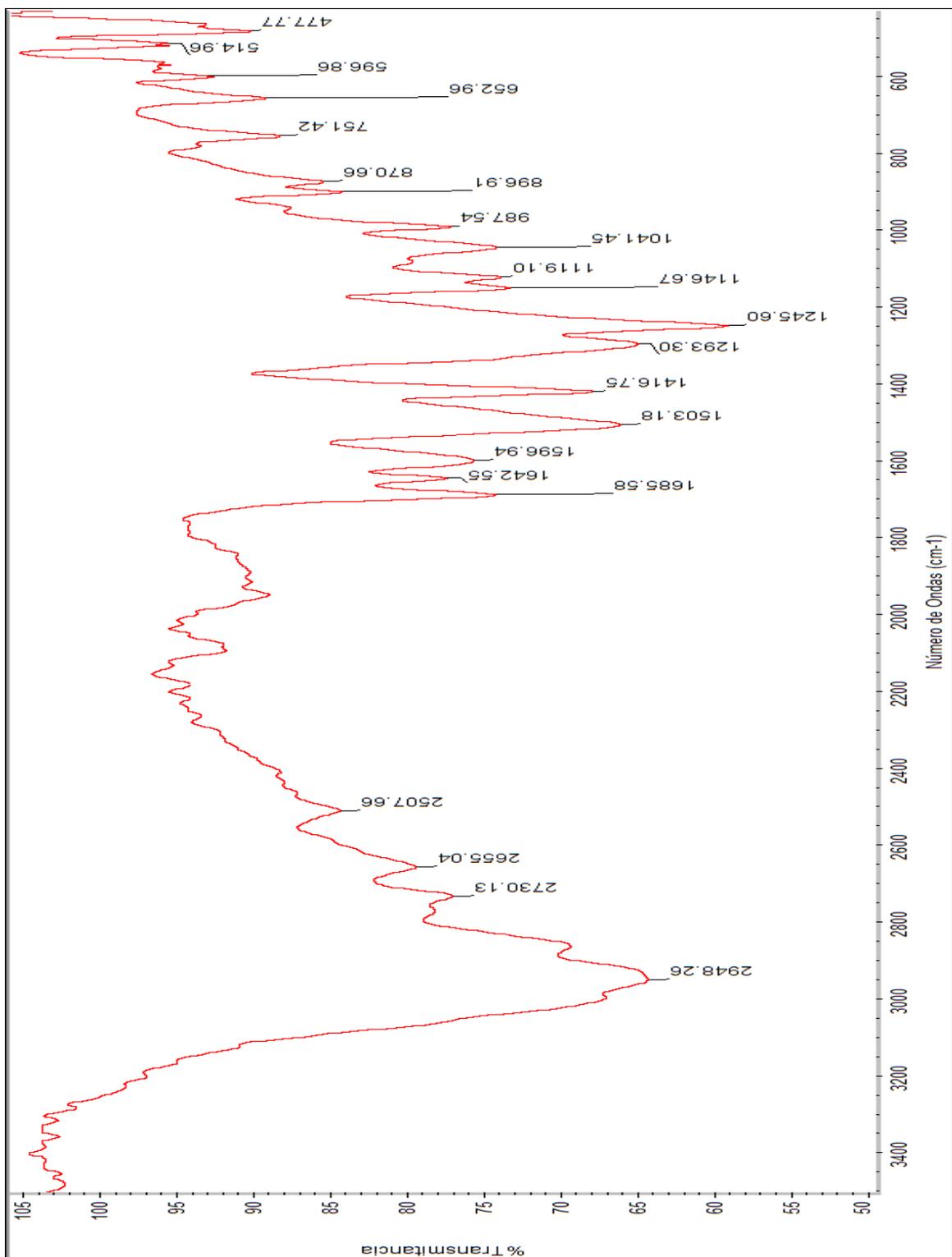
Anexo 3. Espectro de IR del complejo 1.2G



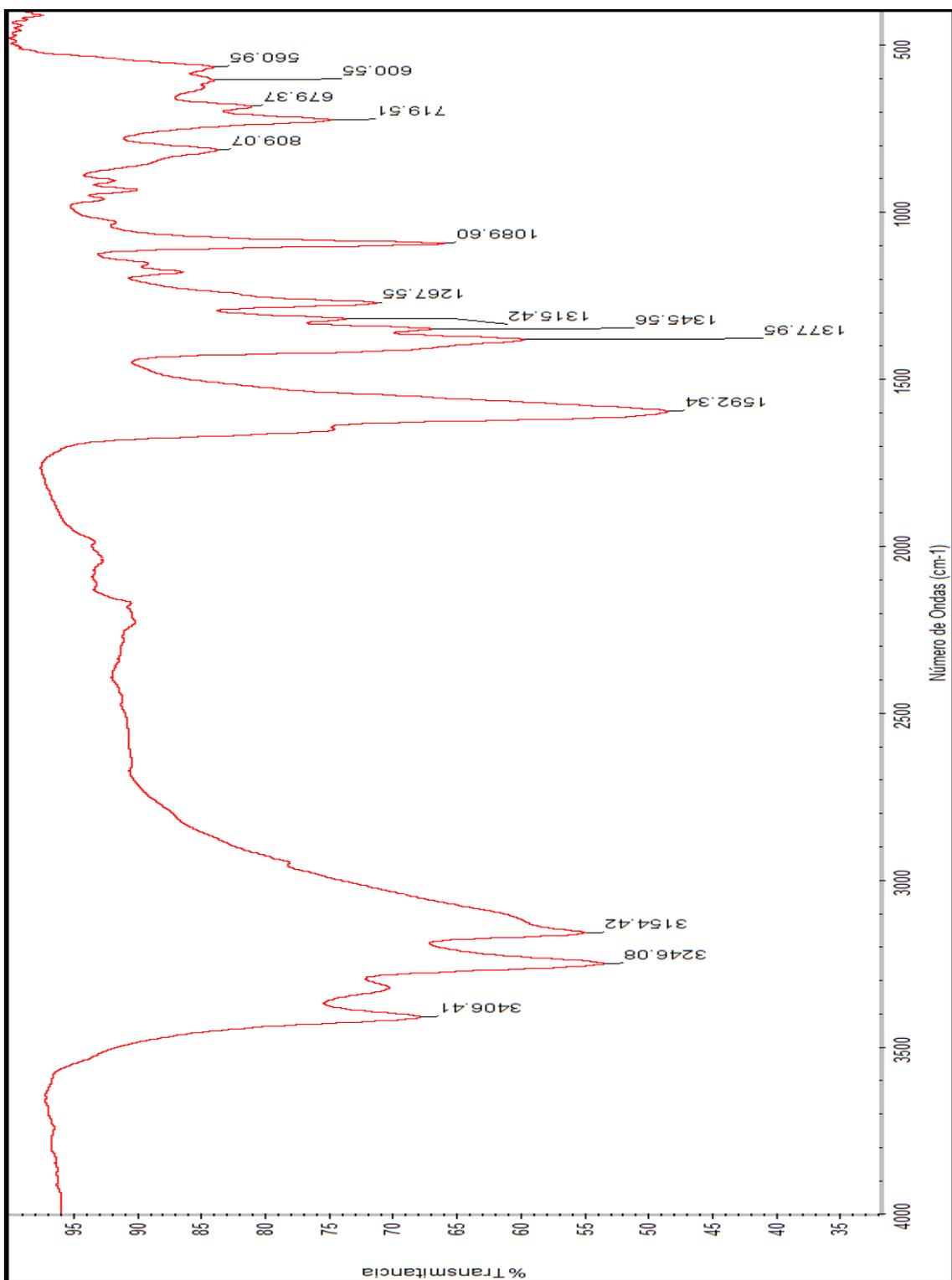
Anexo 4. Espectro de IR de ácido glutámico



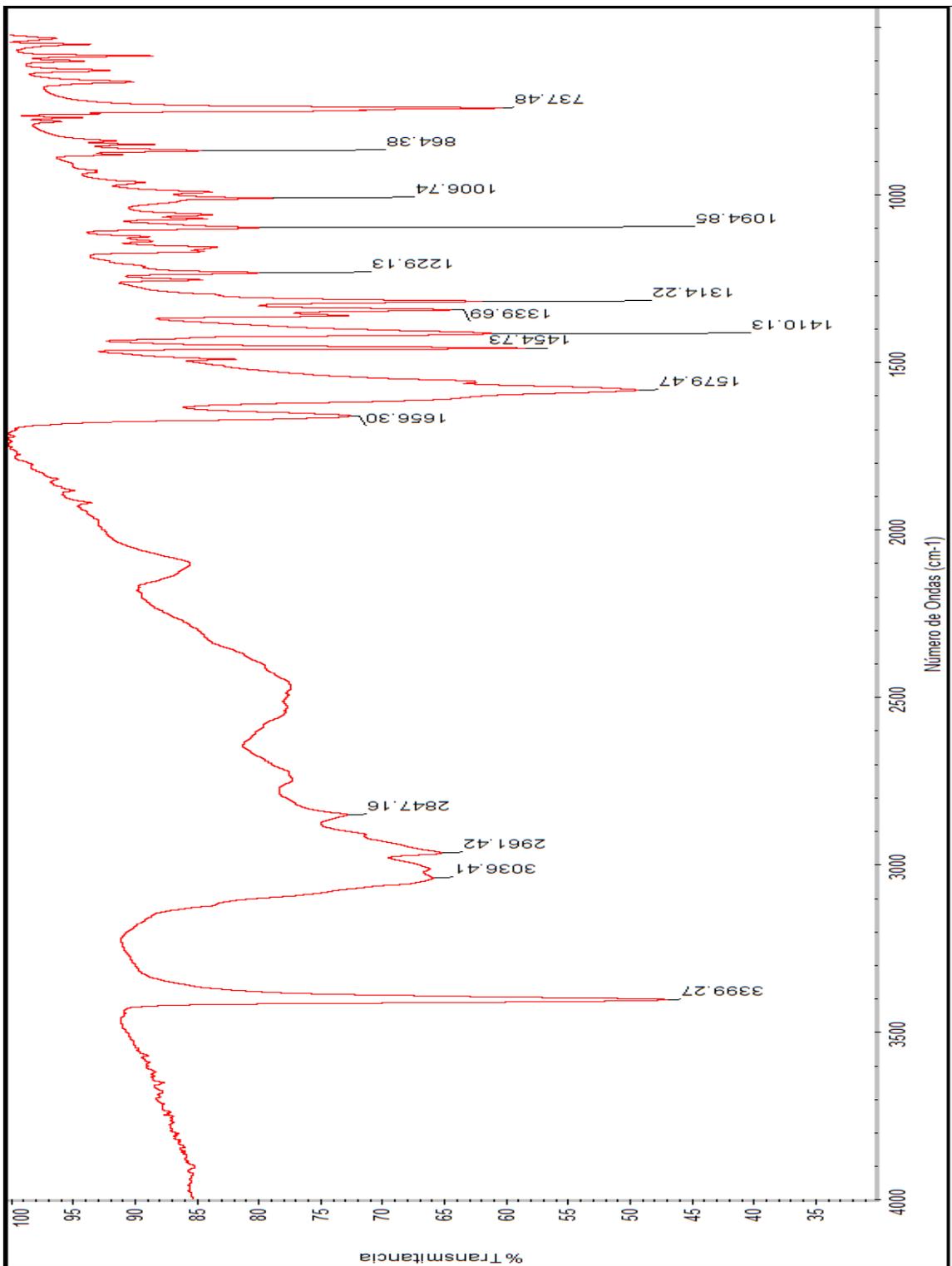
Anexo 5. Espectro de IR del complejo 2E



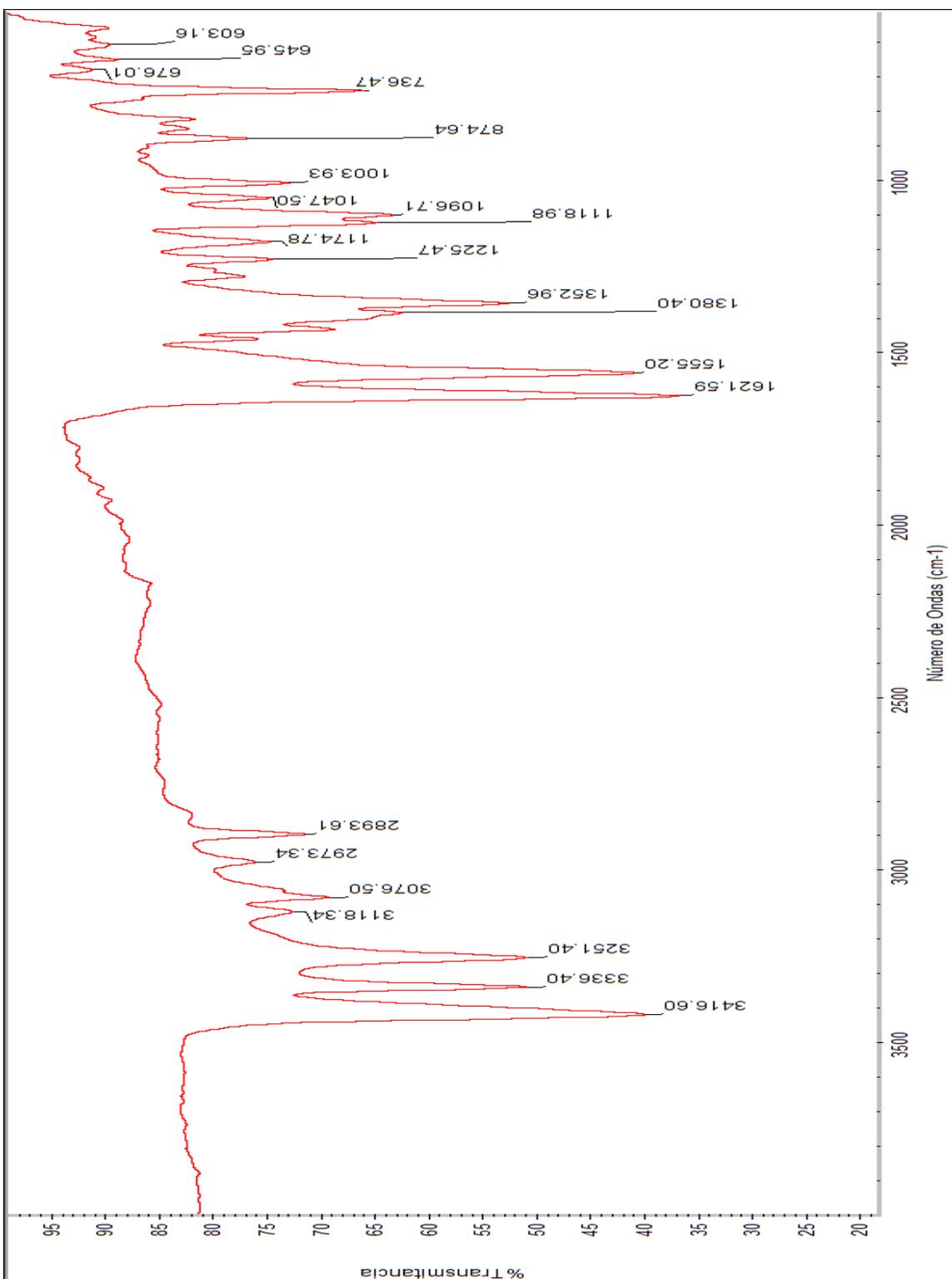
Anexo 6. Espectro de IR de ácido aspártico



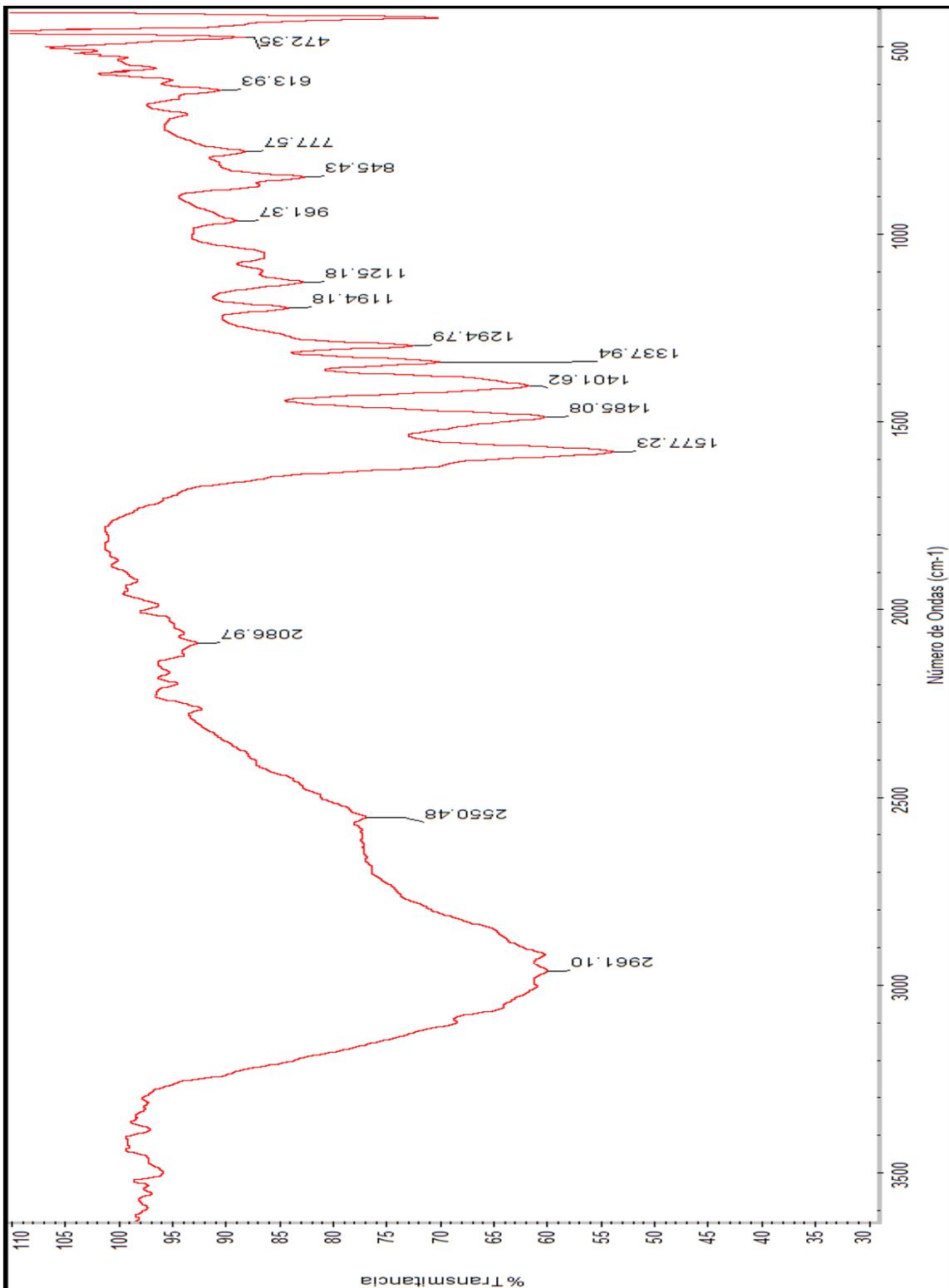
Anexo 7. Espectro de IR del complejo 3D



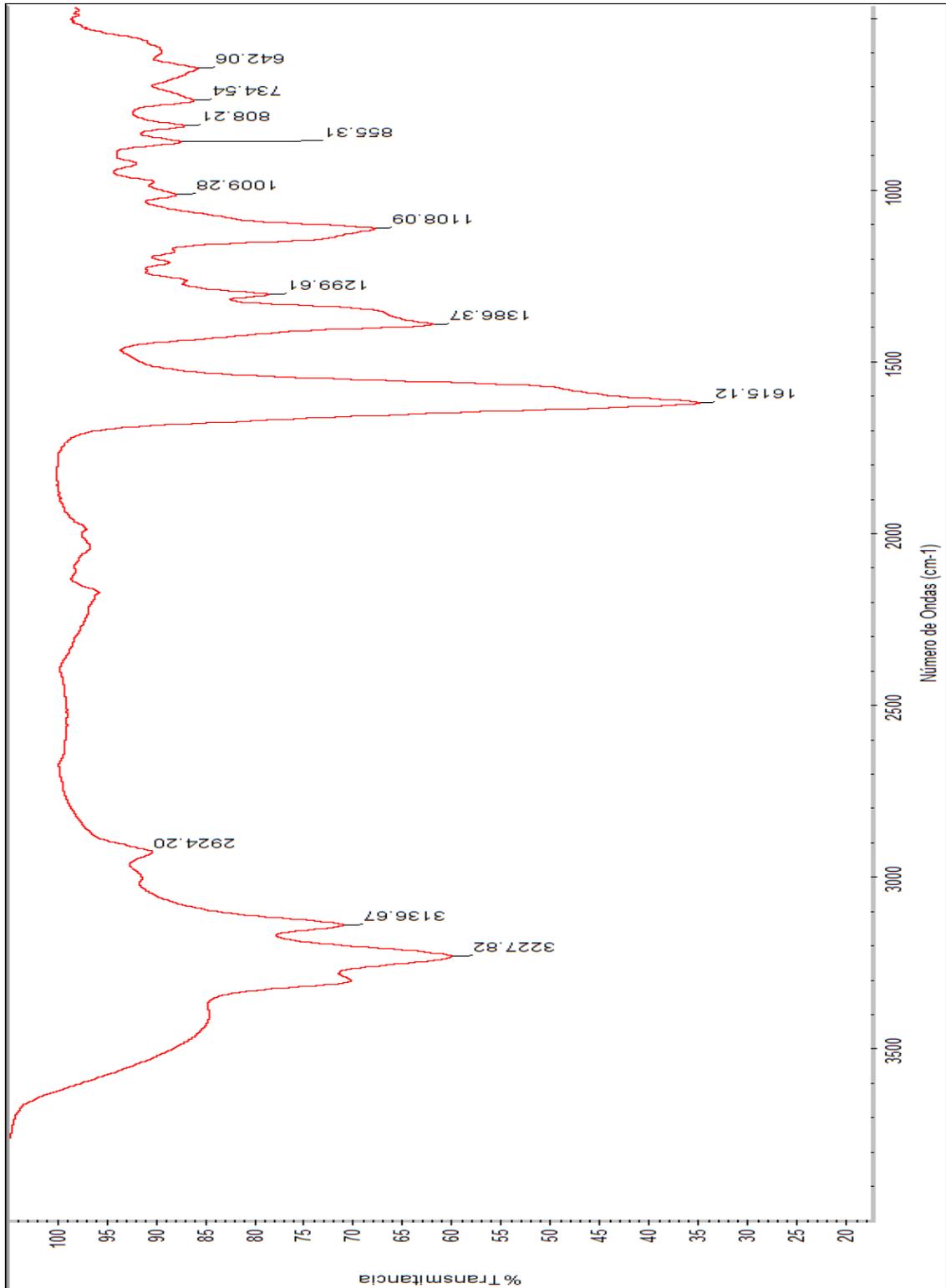
Anexo 8. Espectro de IR de triptófano



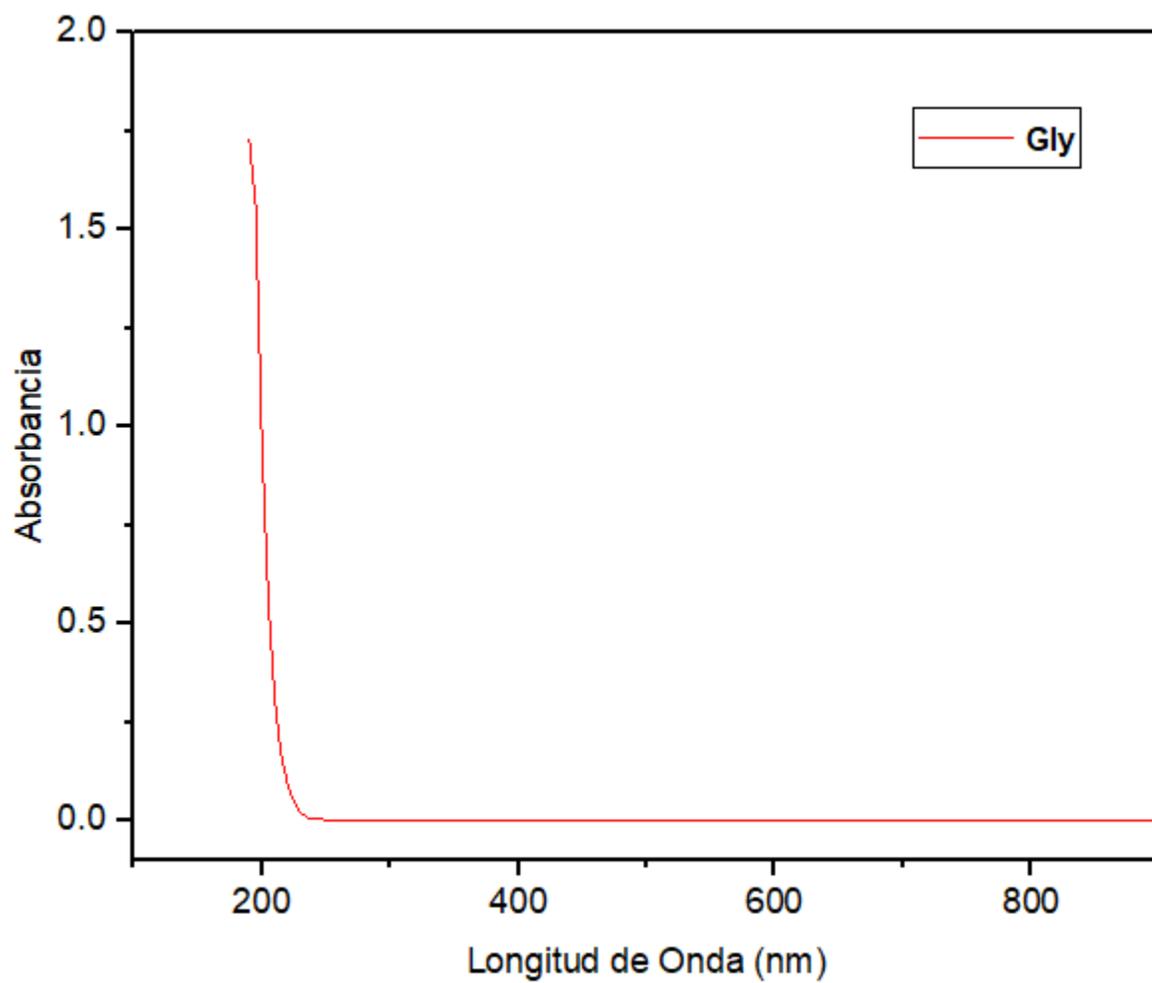
Anexo 9. Espectro de IR del complejo 4W



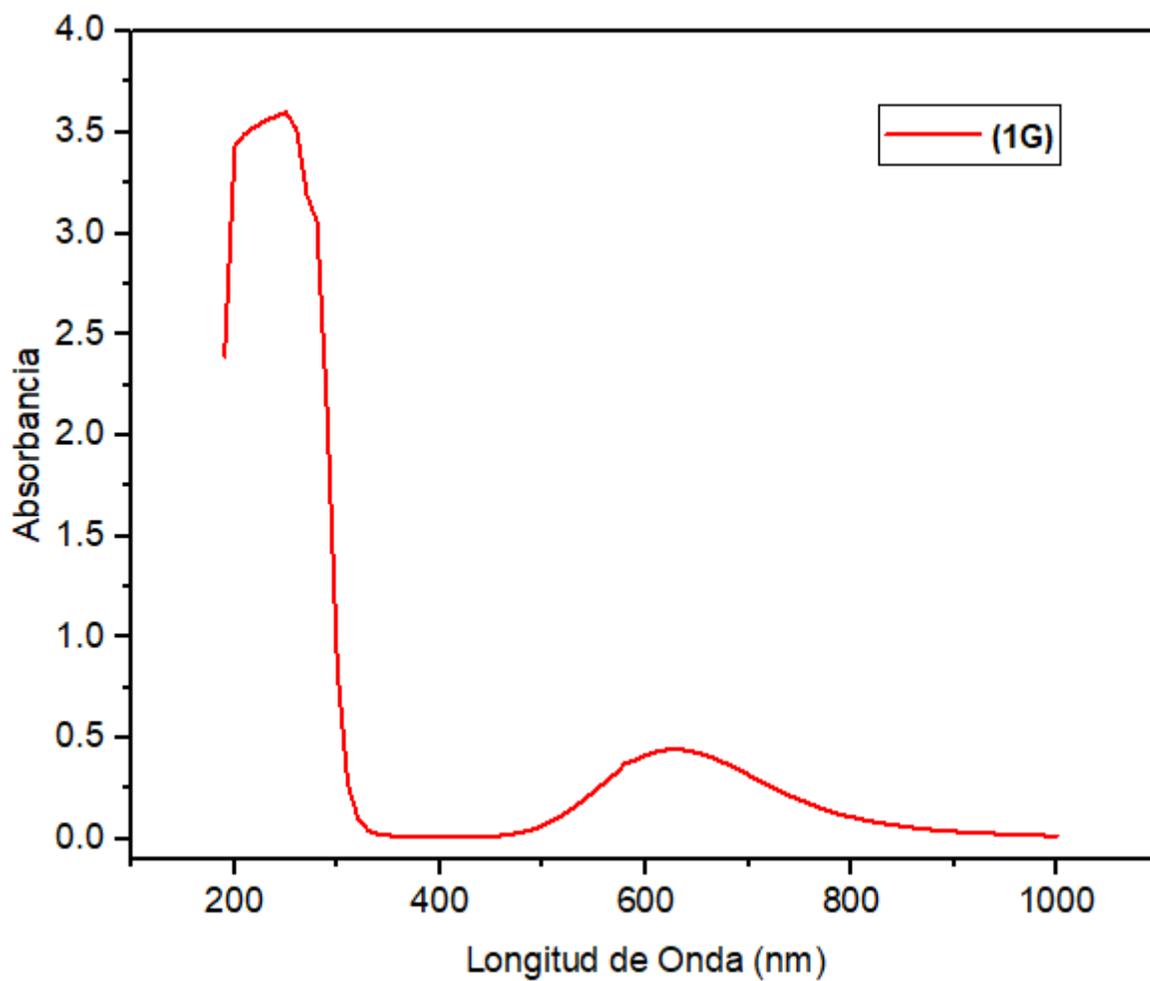
Anexo 10. Espectro de IR de cisteína



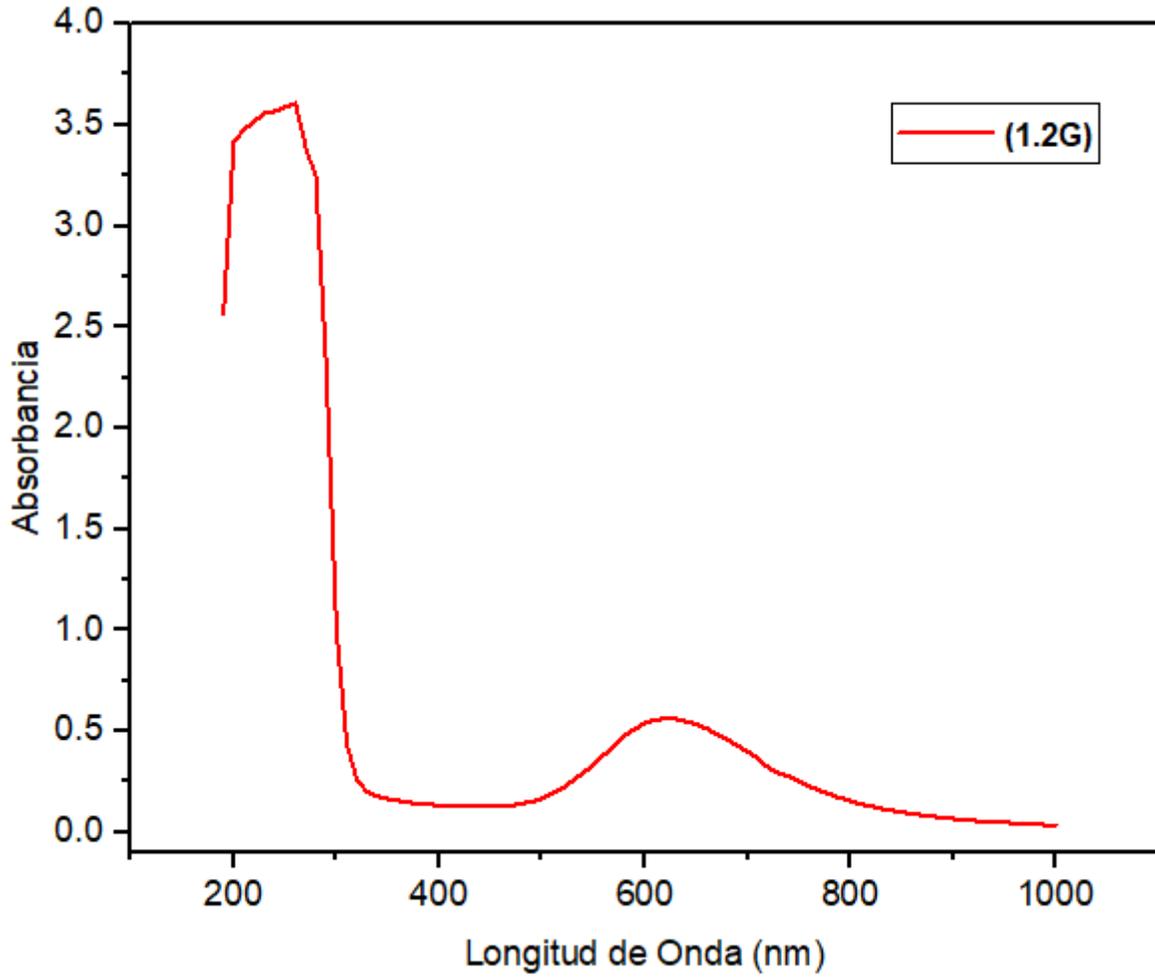
Anexo 11. Espectro de IR del complejo 5C



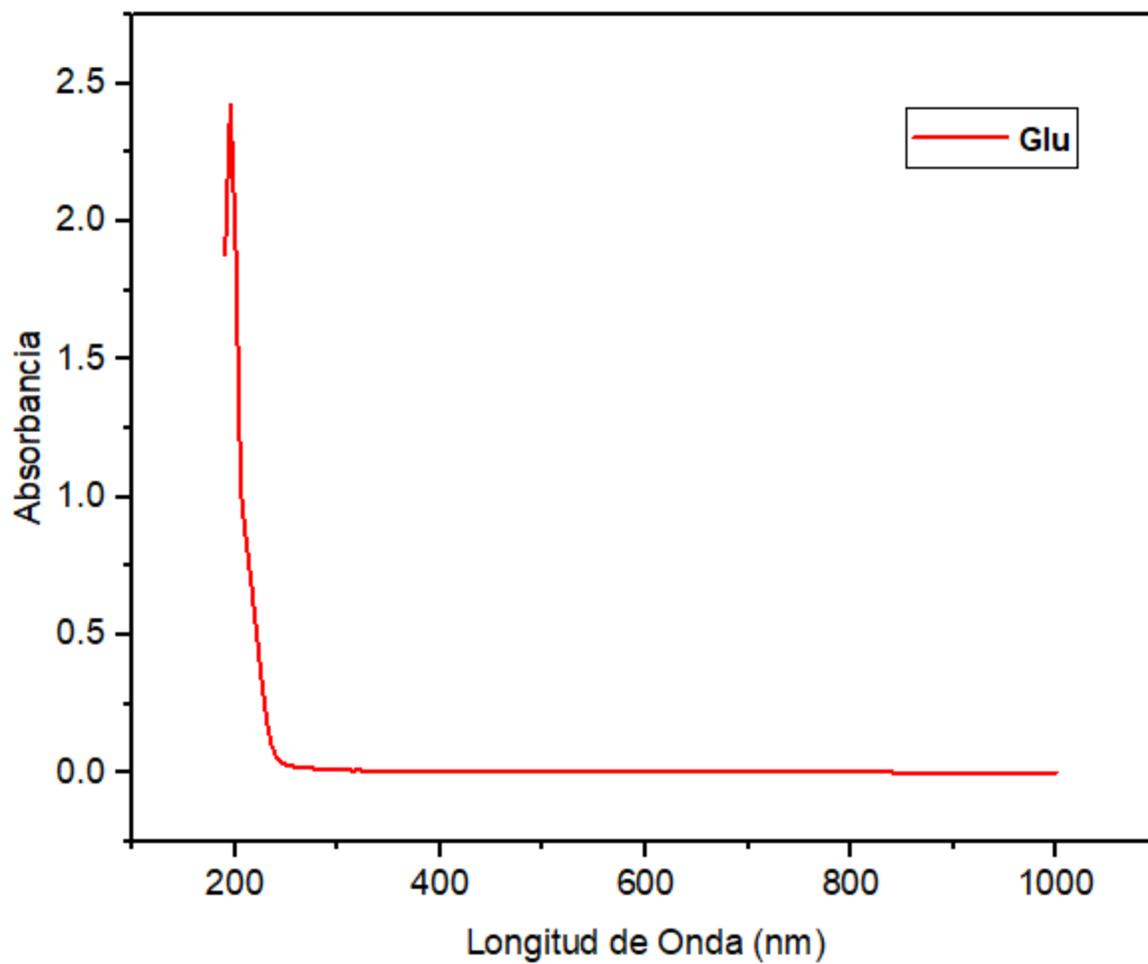
Anexo 12. Barrido espectral de glicina. Longitud de onda máxima: 190 nm



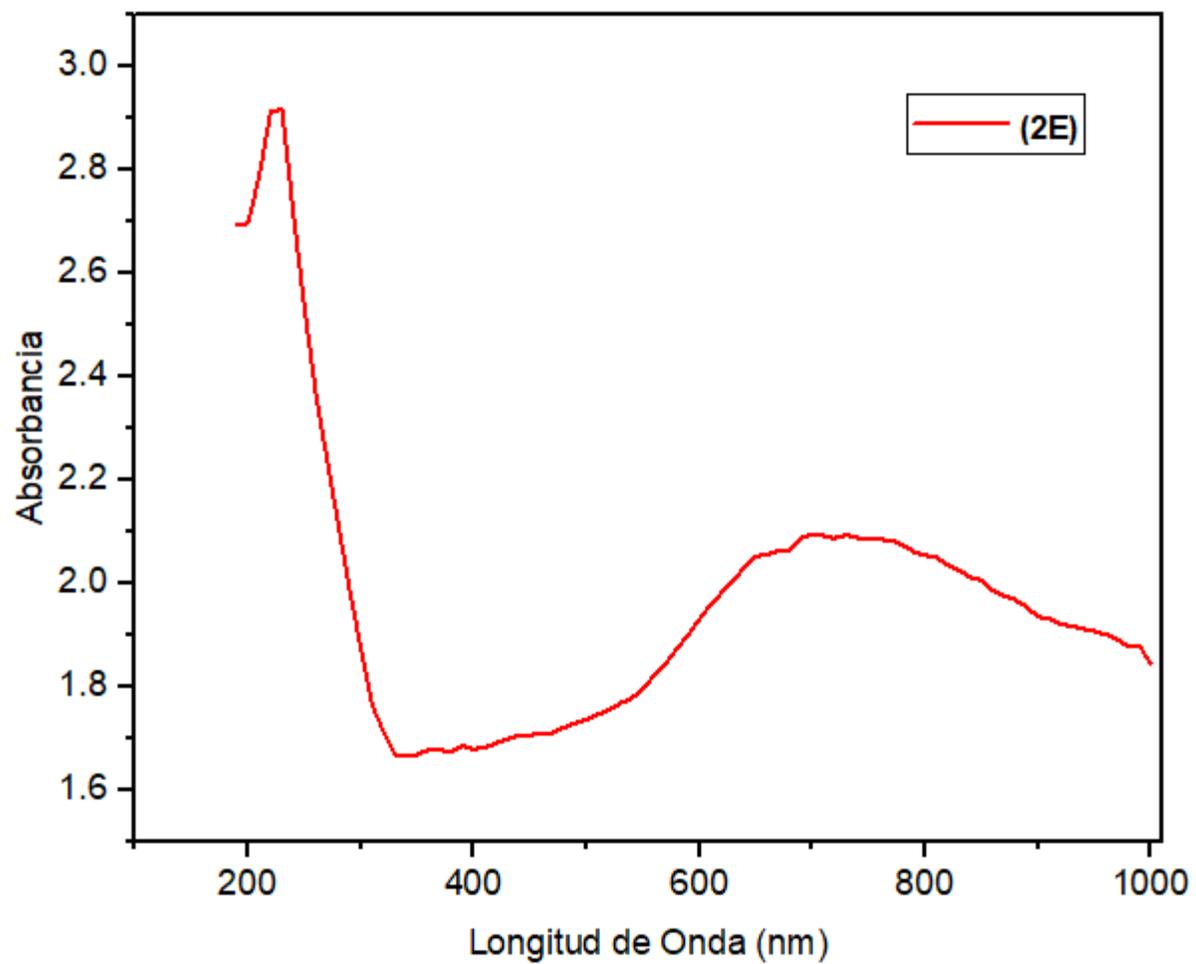
Anexo 13. Barrido espectral del complejo 1G. Longitud de onda máxima₁: 250 nm, Longitud de onda máxima₂: 630 nm



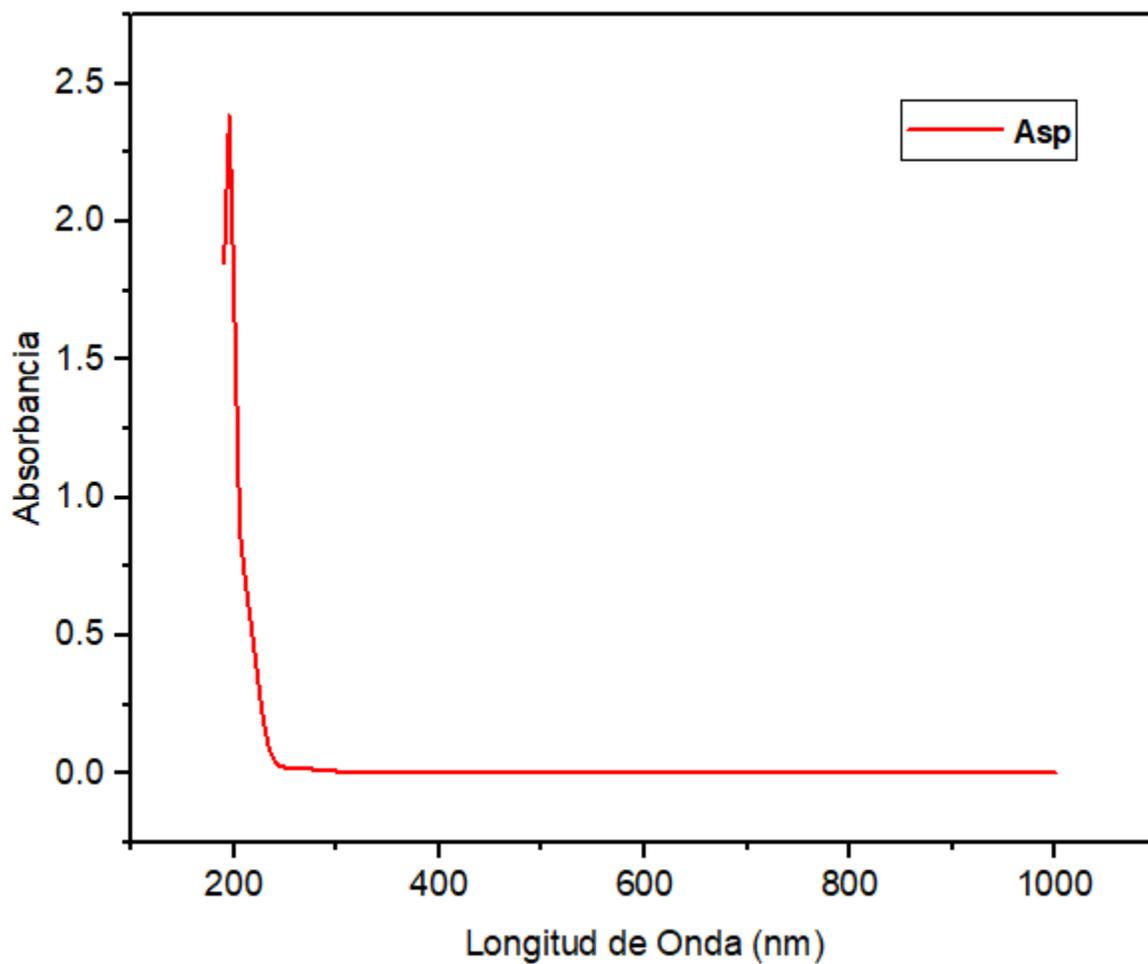
Anexo 14. Barrido espectral del complejo 1.2G. Longitud de onda máxima₁: 260 nm , Longitud de onda máxima₂: 620 nm



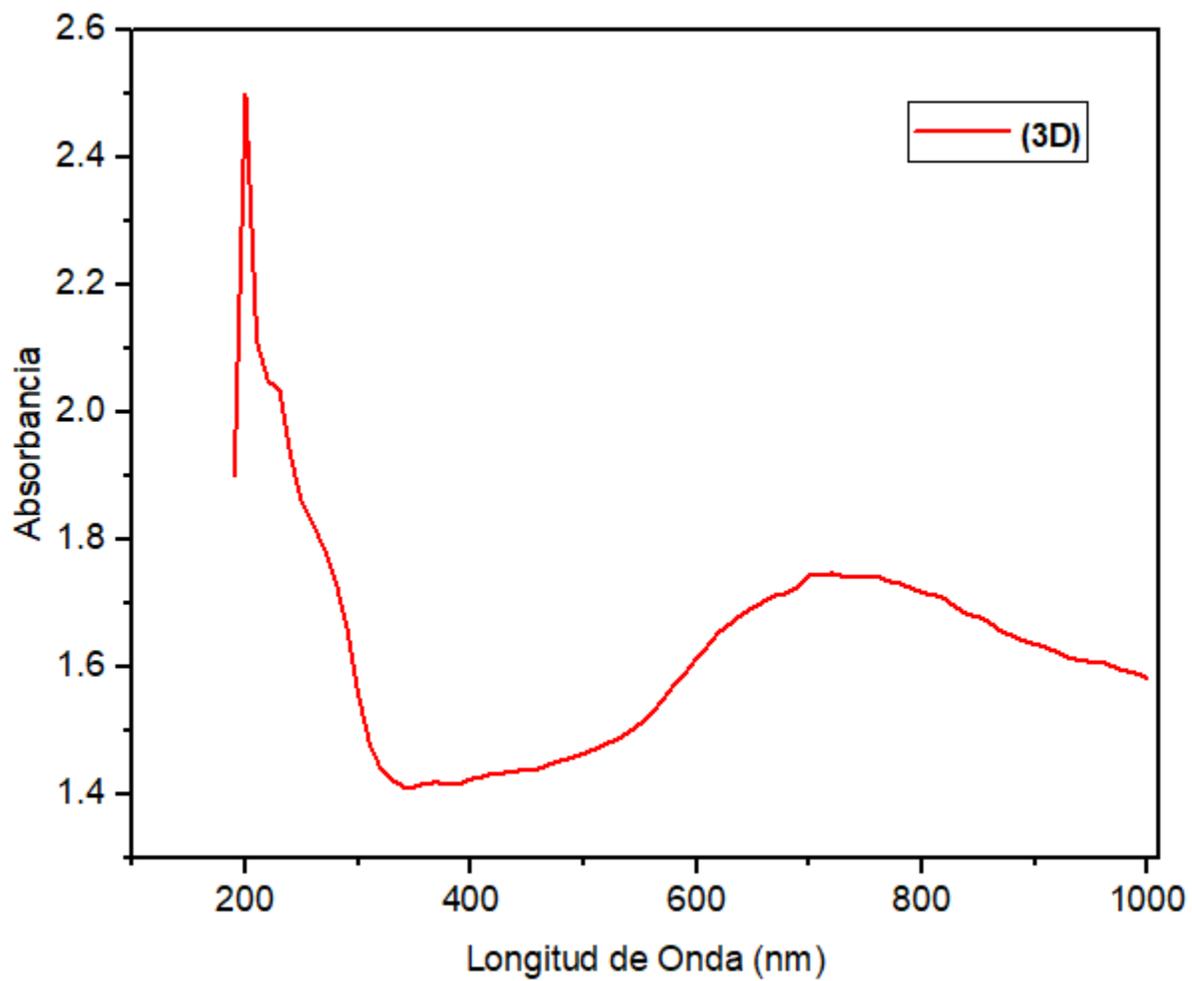
Anexo 15. Barrido espectral de ácido glutámico. Longitud de onda máxima: 195 nm



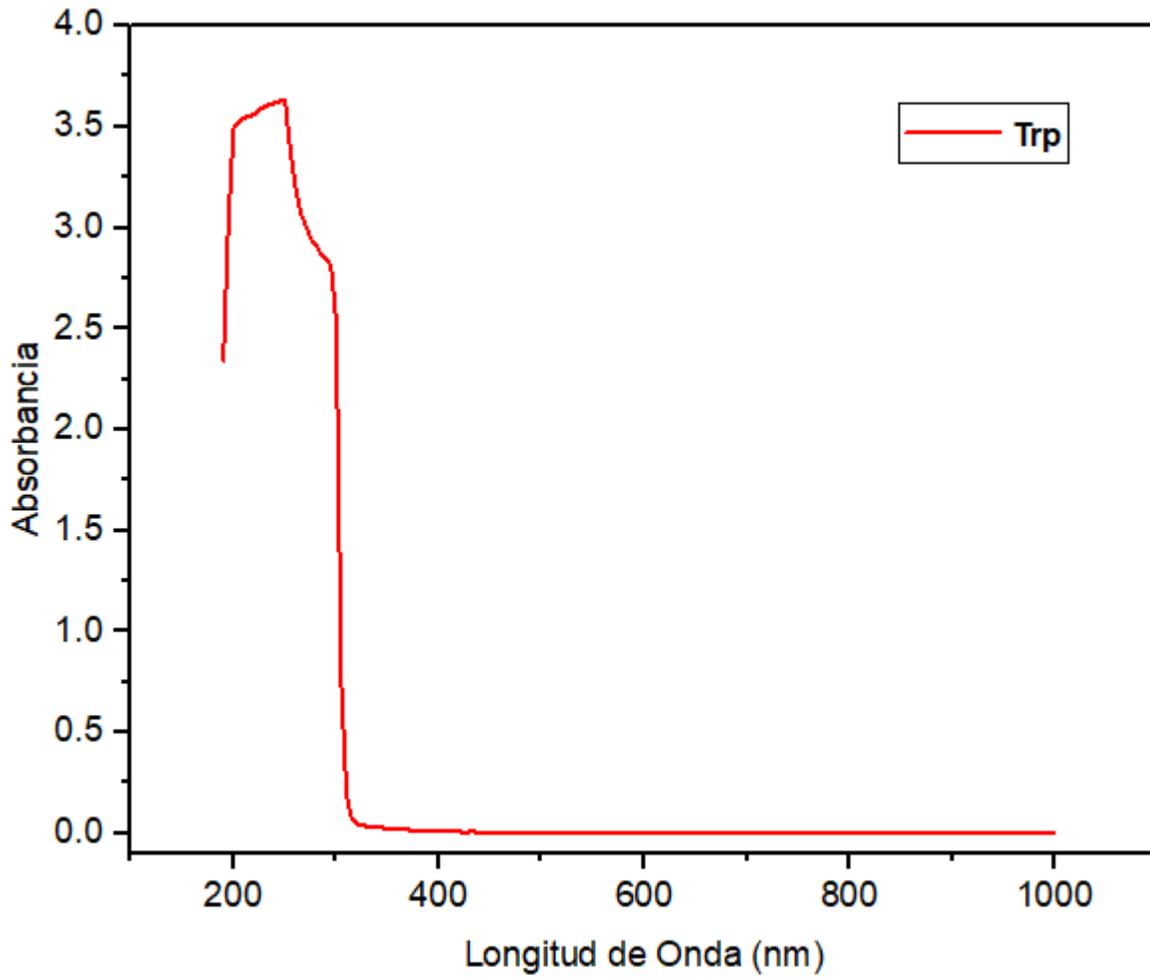
Anexo 16. Barrido espectral para el complejo 2E. Longitud de onda máxima₁: 230 nm , Longitud de onda máxima₂: 710 nm



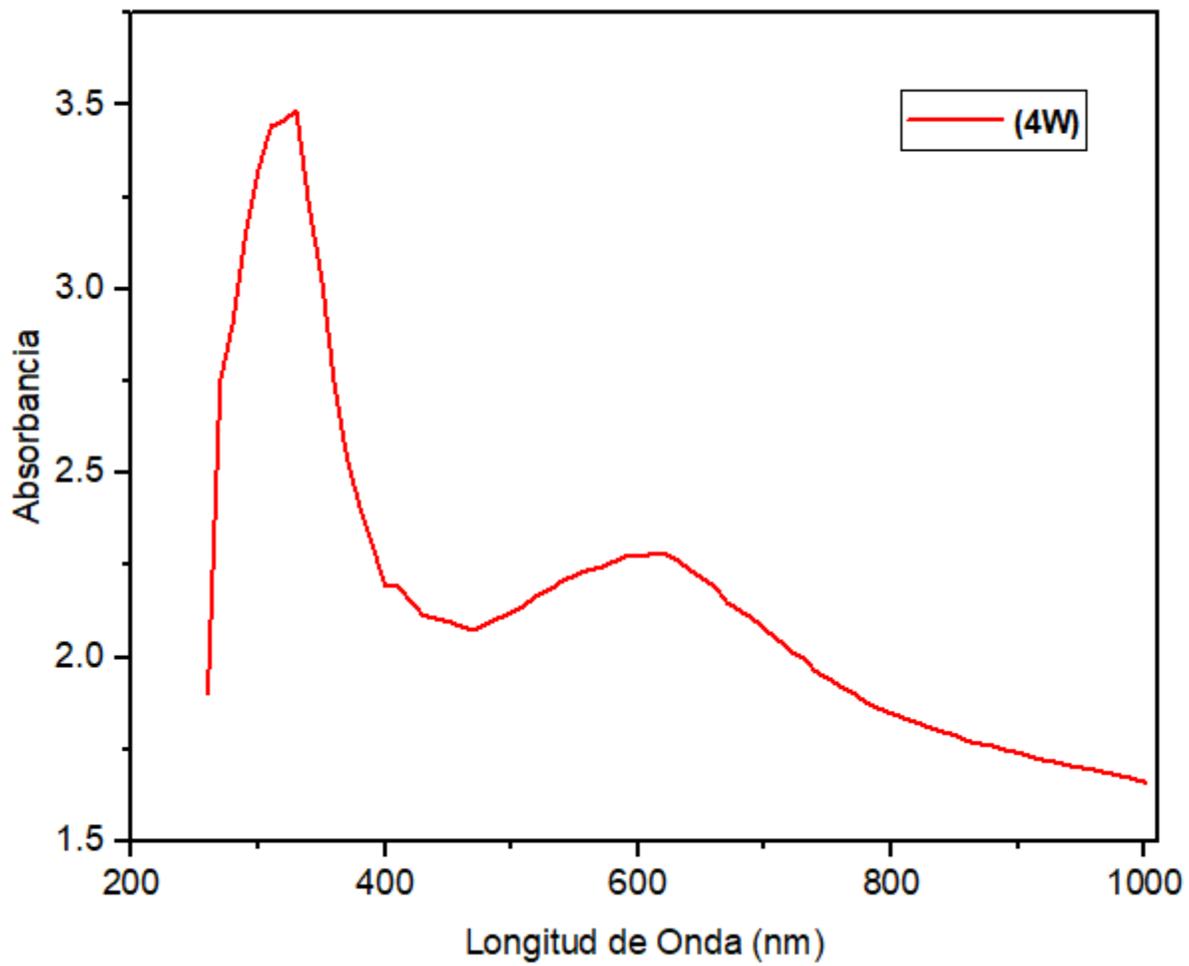
Anexo 17. Barrido espectral de ácido aspártico. Longitud de onda máxima: 195 nm



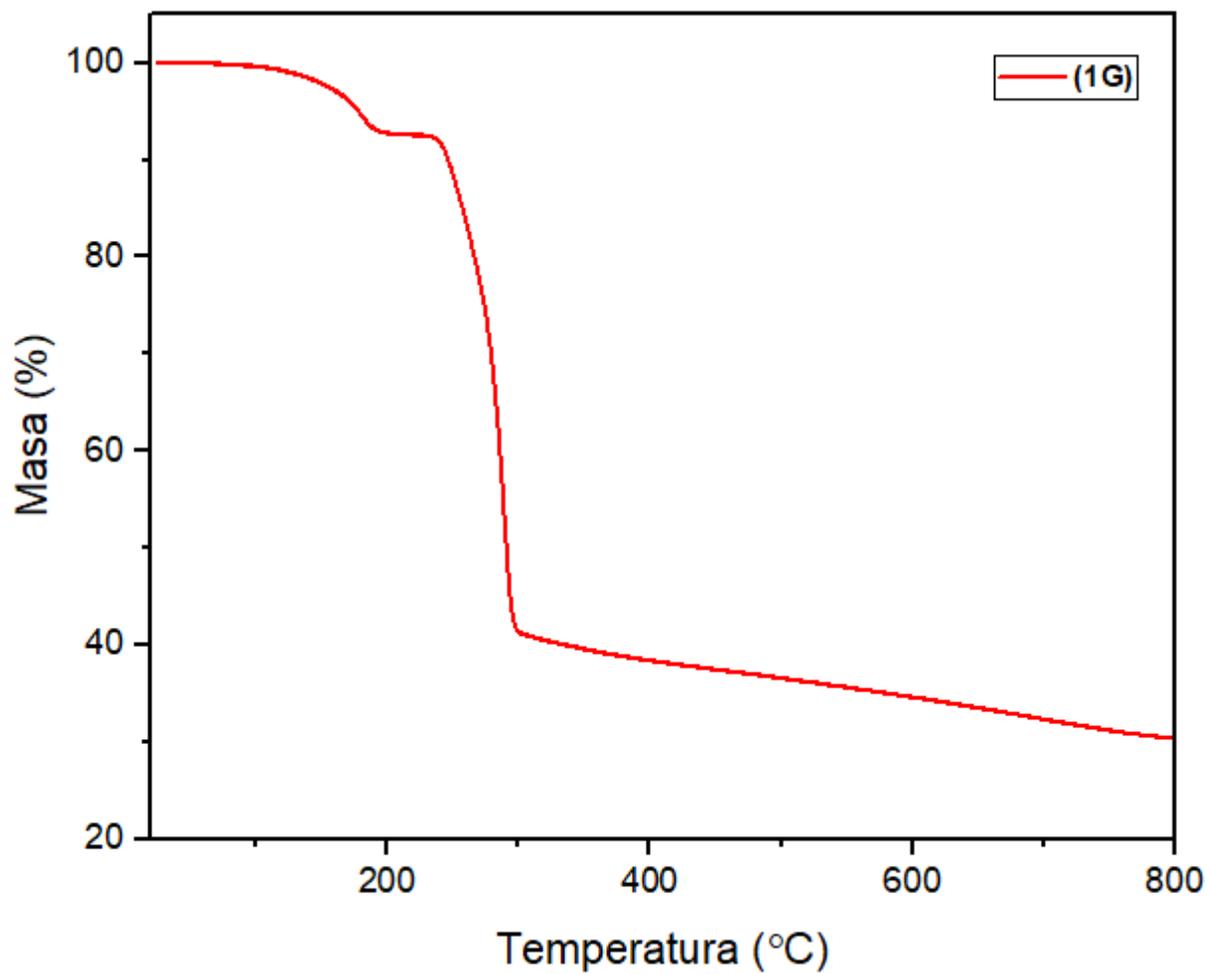
Anexo 18. Barrido espectral del complejo 3D. Longitud de onda máxima₁: 210 nm, Longitud de onda máxima₂: 700 nm



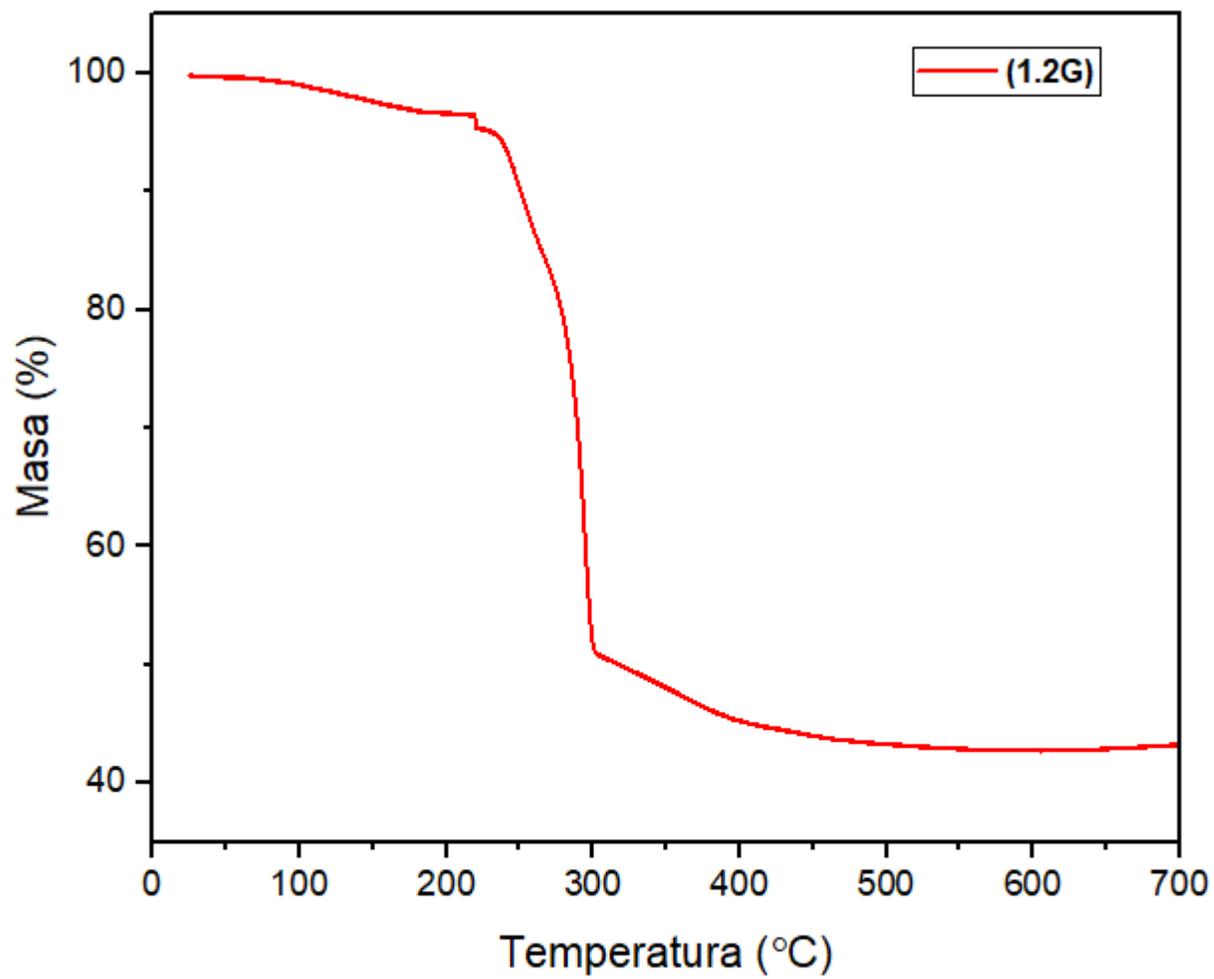
Anexo 19. Barrido espectral de triptófano. Longitud de onda máxima: 250 nm



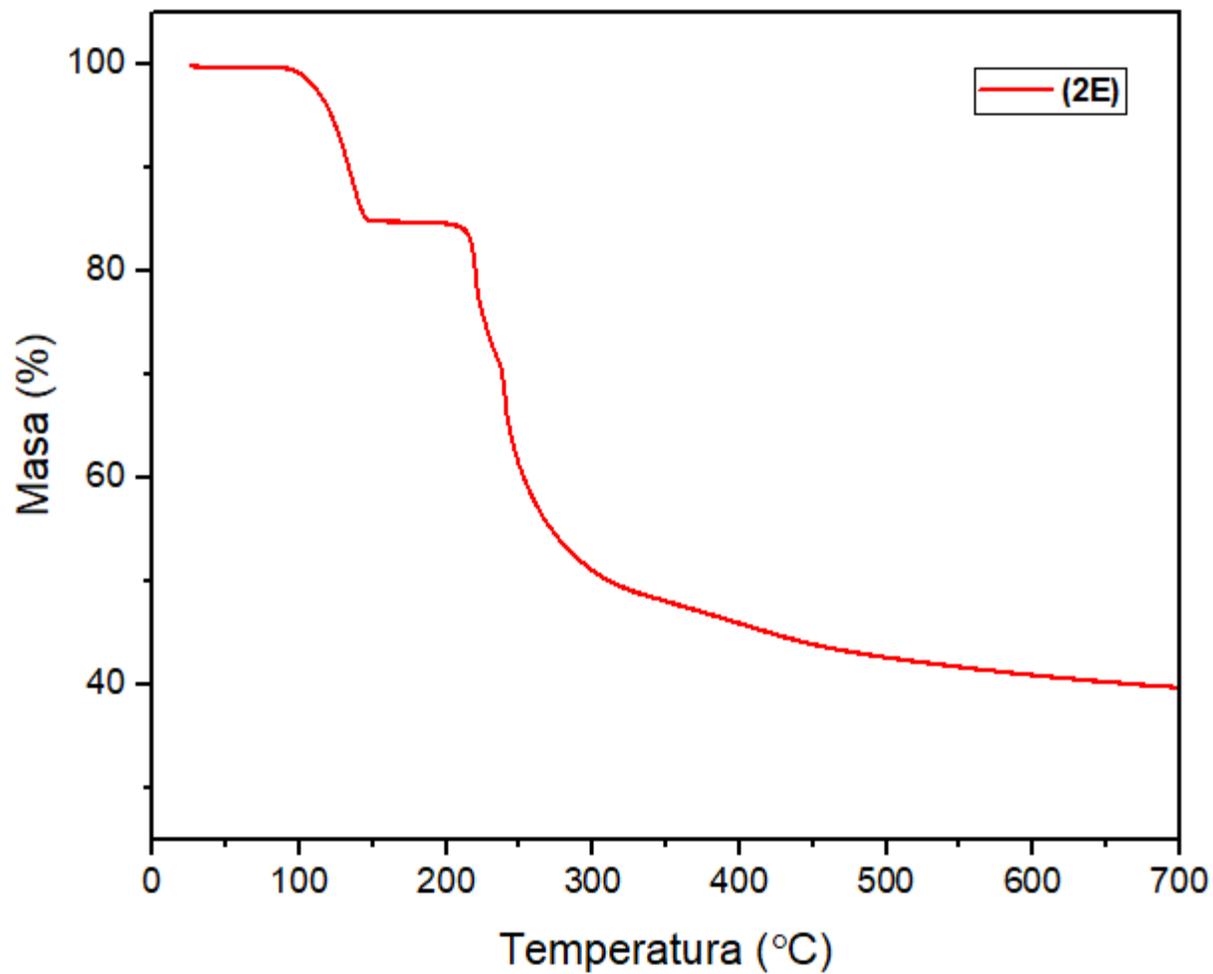
Anexo 20. Barrido espectral del complejo 4W. Longitud de onda máxima₁: 230 nm, Longitud de onda máxima₂ :620 nm



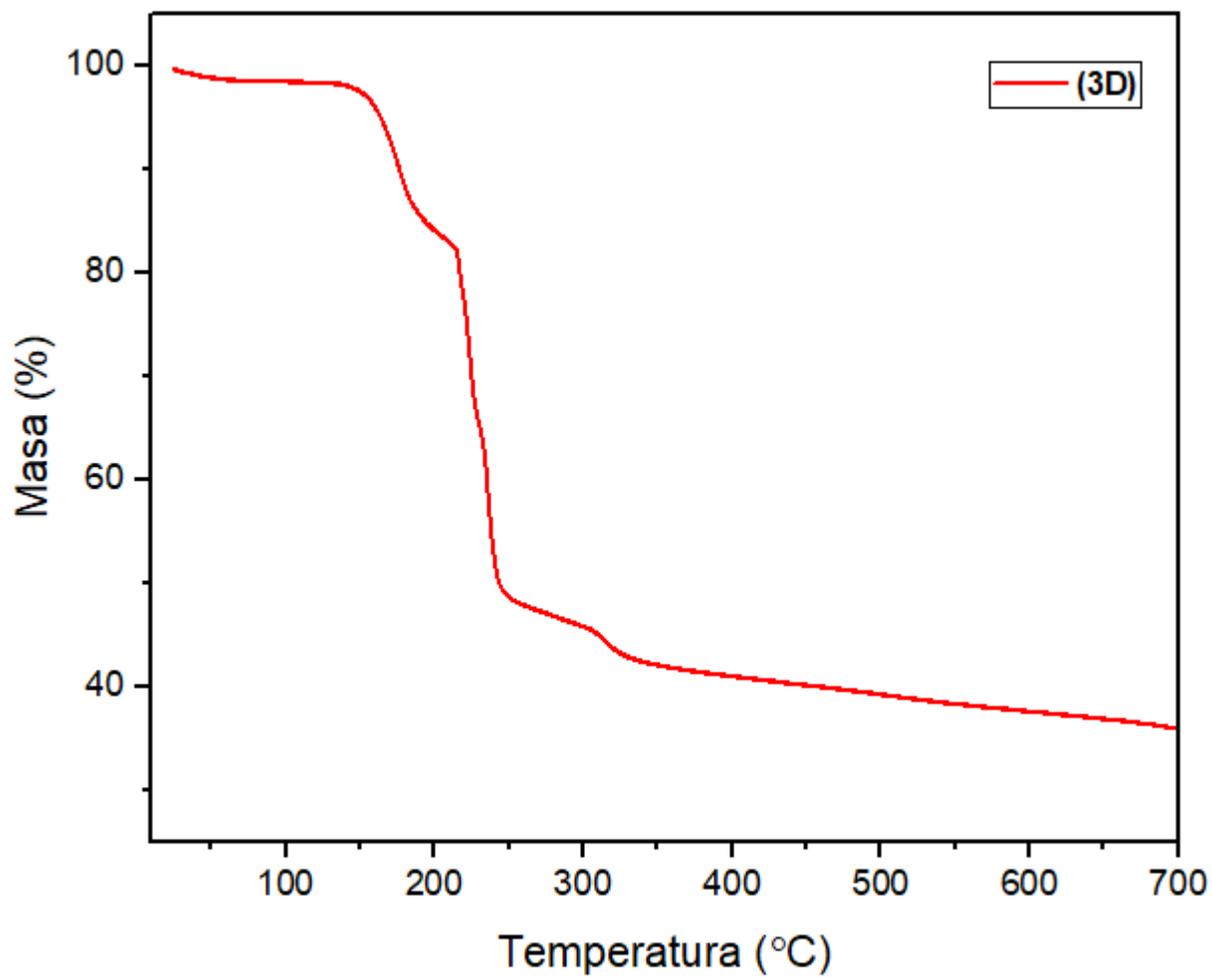
Anexo 21. Gráfica de TGA para el complejo 1G.



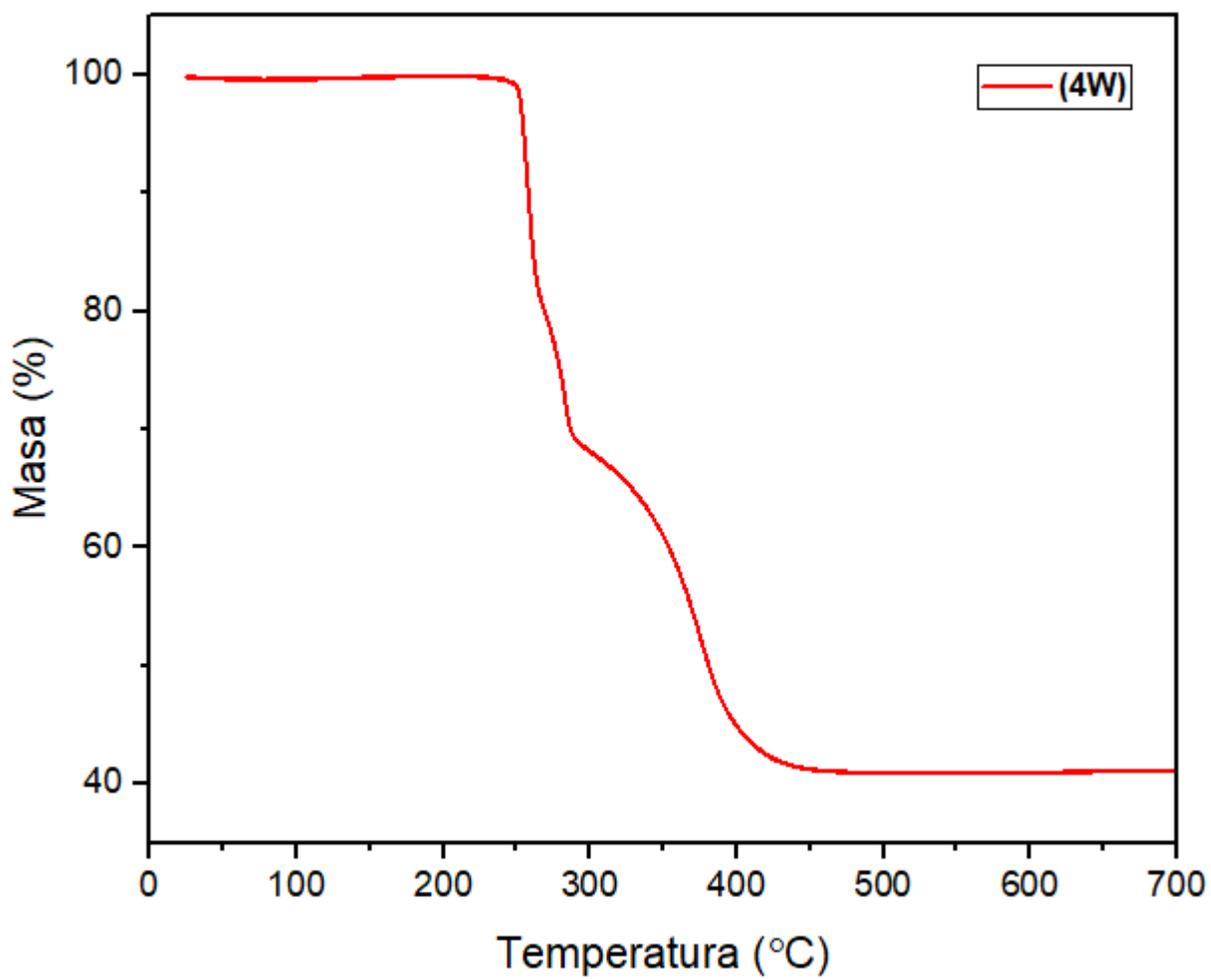
Anexo 22. Gráfica de TGA del complejo 1.2G.



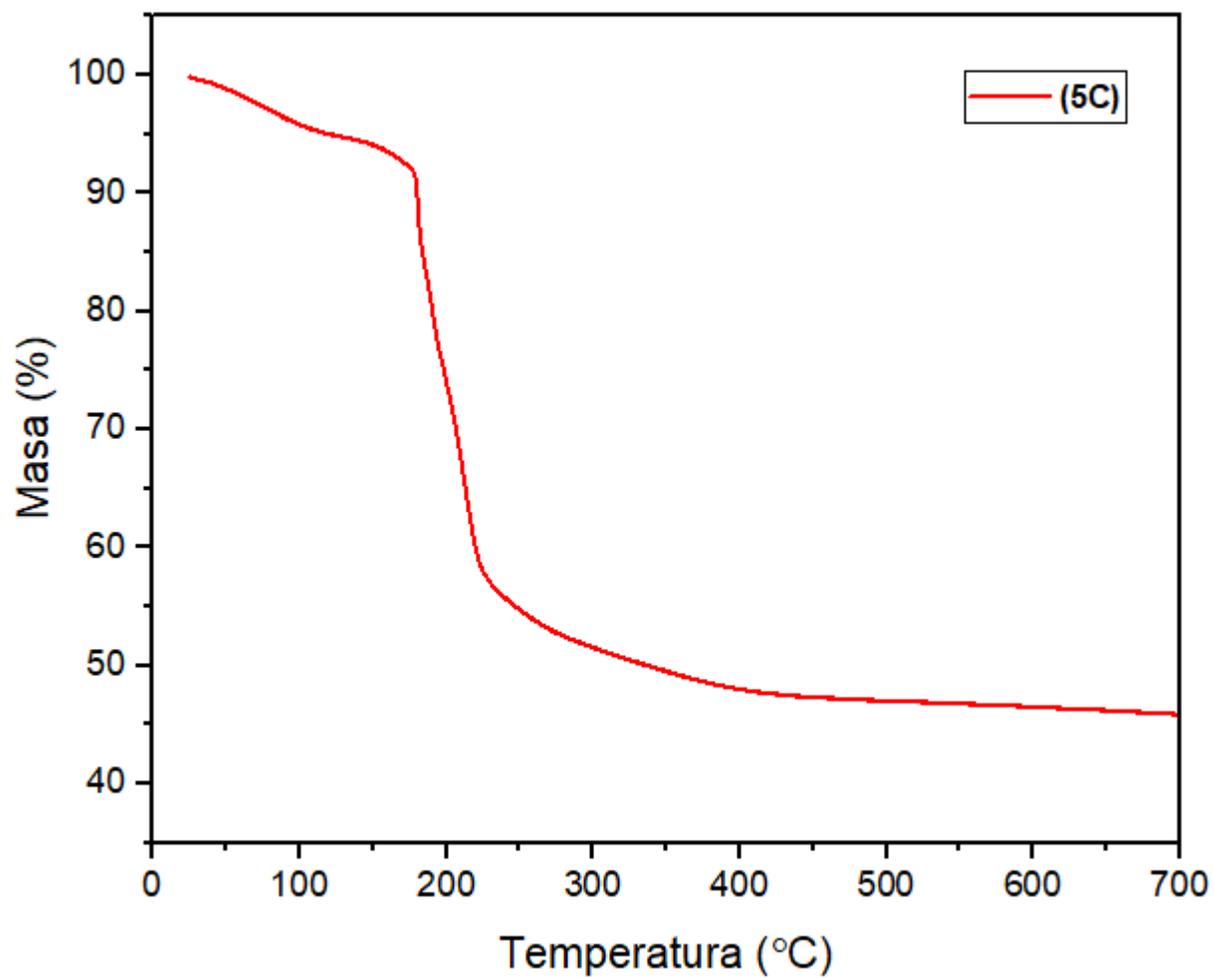
Anexo 23. Gráfica de TGA del complejo 2E.



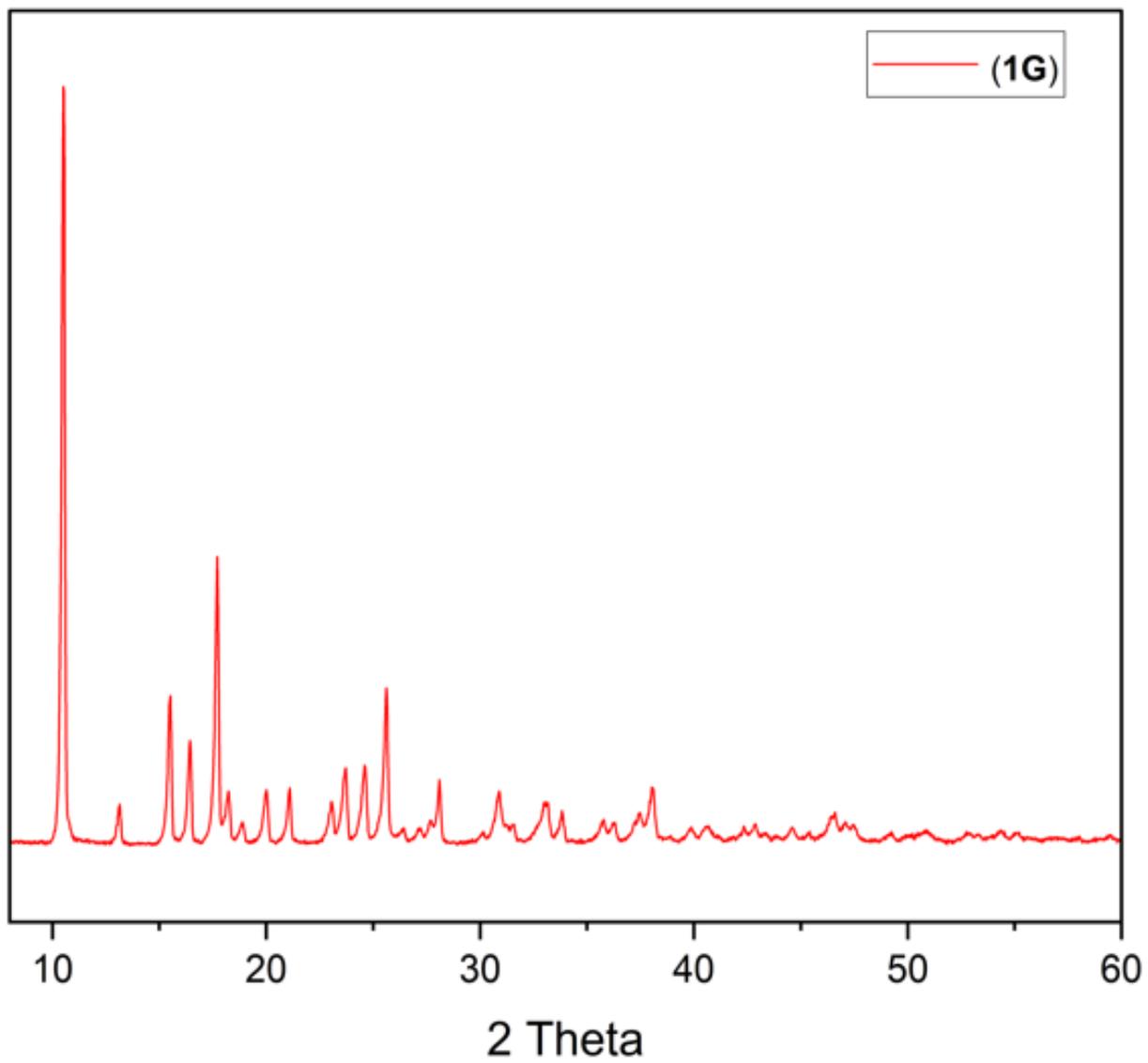
Anexo 24. Gráfica de TGA del complejo 3D.



Anexo 25. Gráfica de TGA para el complejo 4W.



Anexo 26. Gráfica de TGA para el complejo 5C.



Anexo 27. Difractograma del complejo 1G

Reference code: 00-018-1714
PDF index name: Copper bis(glycinato)
Empirical formula: $C_4H_8CuN_2O_4$
Chemical formula: $C_4H_8CuN_2O_4$
Second chemical formula: $[Cu(C_2H_4O_2N)_2]$

Crystallographic parameters

Crystal system: Unknown

RIR: -

Subfiles and Quality

Subfiles: Organic
Quality: Blank (B)

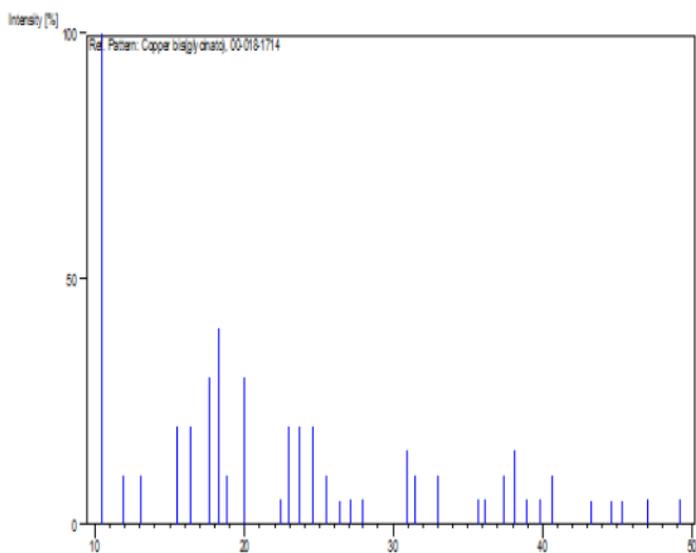
Comments

References

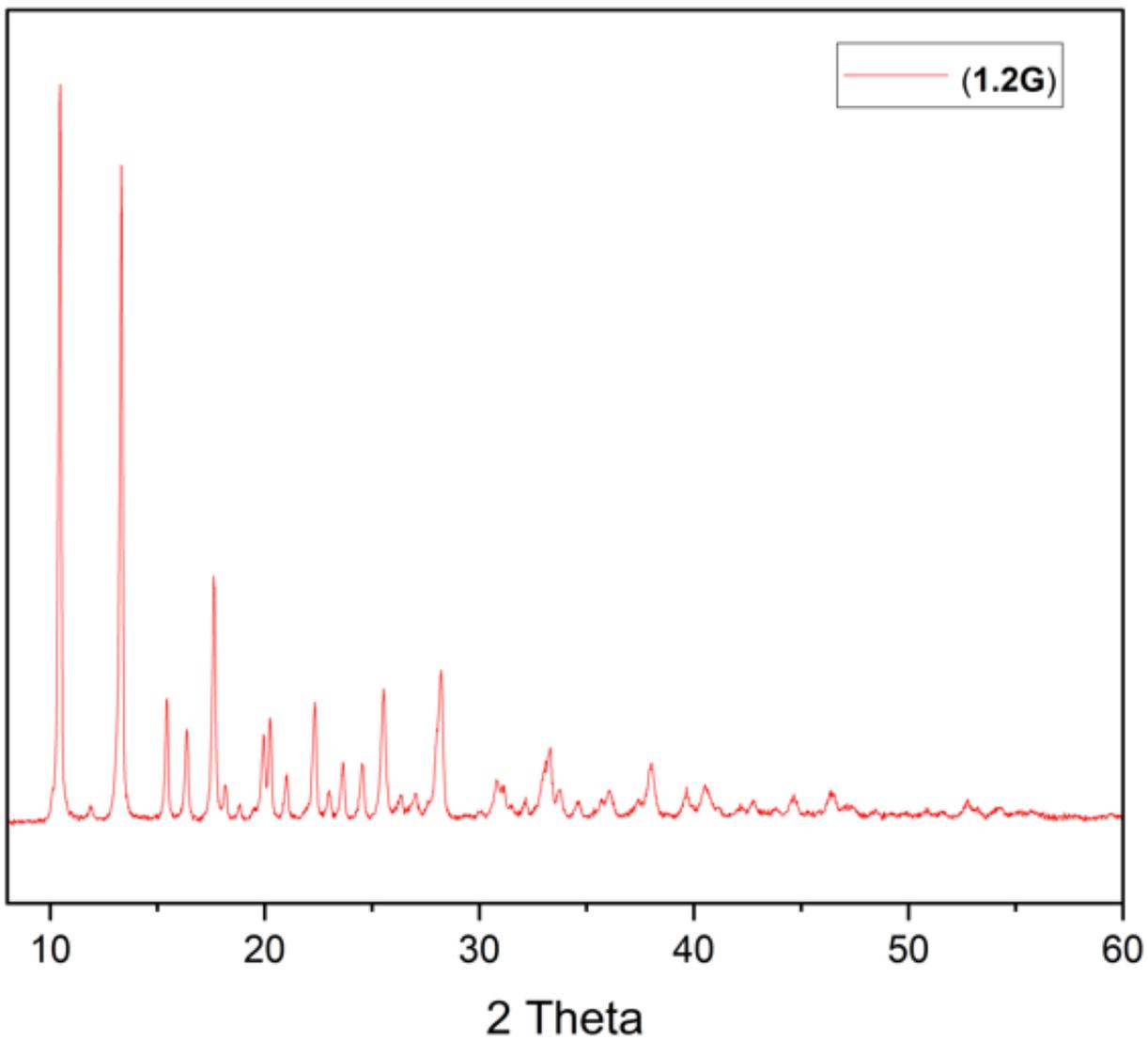
Primary reference: School of Chemistry, The University, Leeds 2, England., *J. Chem. Soc.*

Peak list

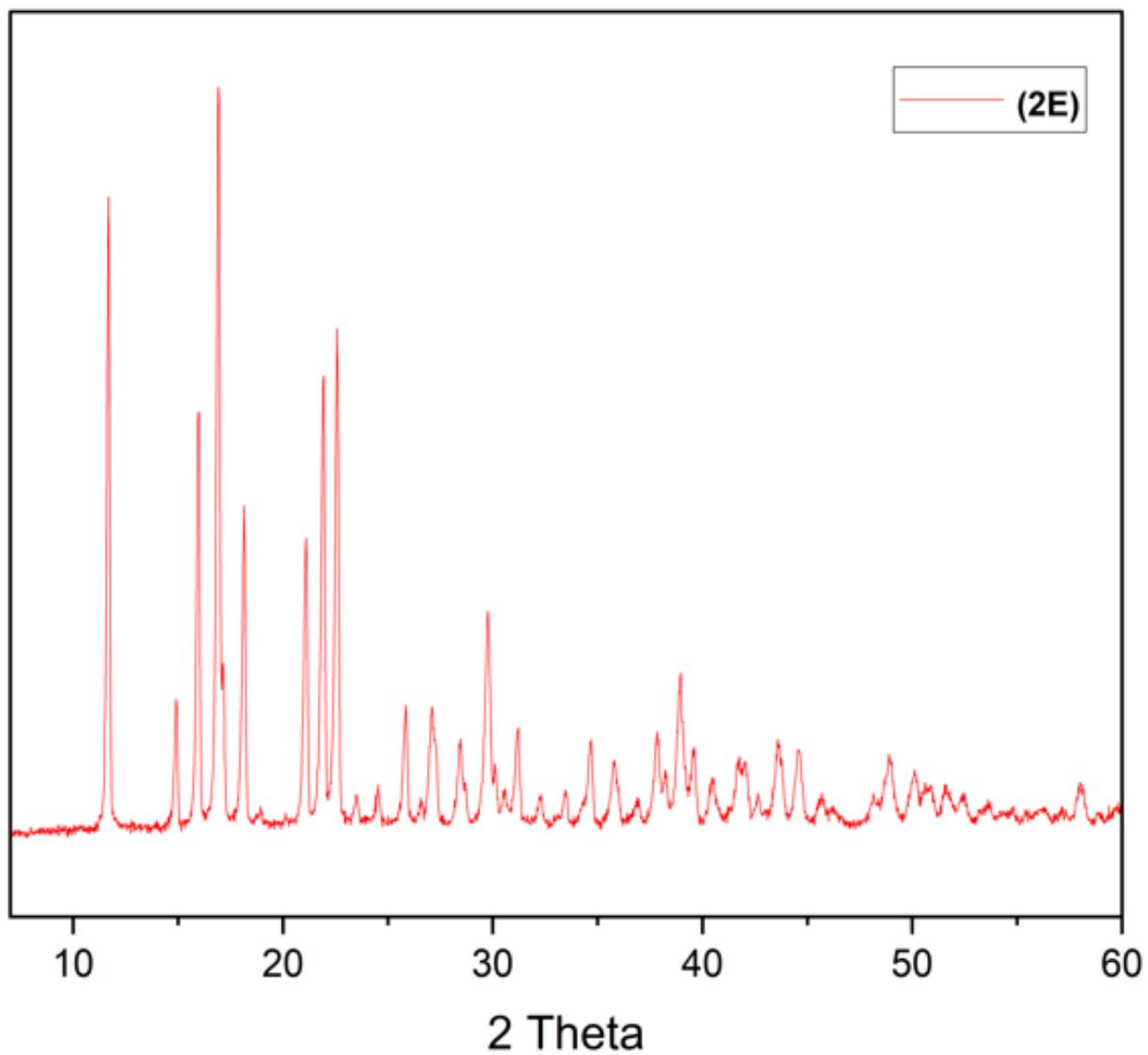
No.	h	k	l	d [Å]	2Theta[deg]	I [%]
1				8.45000	10.461	100.0
2				7.42000	11.918	10.0
3				6.77000	13.067	10.0
4				5.72000	15.479	20.0
5				5.41000	16.372	20.0
6				5.02000	17.653	30.0
7				4.86000	18.239	40.0
8				4.71000	18.826	10.0
9				4.44000	19.982	30.0
10				3.96000	22.433	5.0
11				3.87000	22.962	20.0
12				3.76000	23.643	20.0
13				3.62000	24.572	20.0
14				3.49000	25.502	10.0
15				3.38000	26.347	5.0
16				3.29000	27.081	5.0
17				3.19000	27.947	5.0
18				2.89000	30.917	15.0
19				2.84000	31.475	10.0
20				2.71000	33.027	10.0
21				2.51000	35.744	5.0
22				2.48000	36.191	5.0
23				2.40000	37.442	10.0
24				2.36000	38.101	15.0
25				2.31000	38.958	5.0
26				2.26000	39.856	5.0
27				2.22000	40.606	10.0
28				2.09000	43.254	5.0
29				2.03000	44.600	5.0
30				2.00000	45.306	5.0
31				1.93000	47.046	5.0
32				1.85000	49.212	5.0



Anexo 28. Ficha JCPDS 00-018-1714



Anexo 29. Difractograma del complejo 1.2G



Anexo 30. Difractograma del complejo 2E

Name and formula

Reference code: 00-021-1599
PDF index name: Copper glutamate dihydrate
Empirical formula: $C_5H_{11}CuNO_6$
Chemical formula: $C_5H_7CuNO_4 \cdot 2H_2O$
Second chemical formula: $Cu [O_2C(CH_2)_2CHNH_2CO_2] \cdot 2H_2O$

Crystallographic parameters

Crystal system: Orthorhombic
Space group: P212121
Space group number: 19
a (Å): 11.0840
b (Å): 10.3500
c (Å): 7.2380
Alpha (°): 90.0000
Beta (°): 90.0000
Gamma (°): 90.0000
Calculated density (g/cm³): 1.96
Volume of cell (10⁶ pm³): 830.34
Z: 4.00

RIR: -

Subfiles and Quality

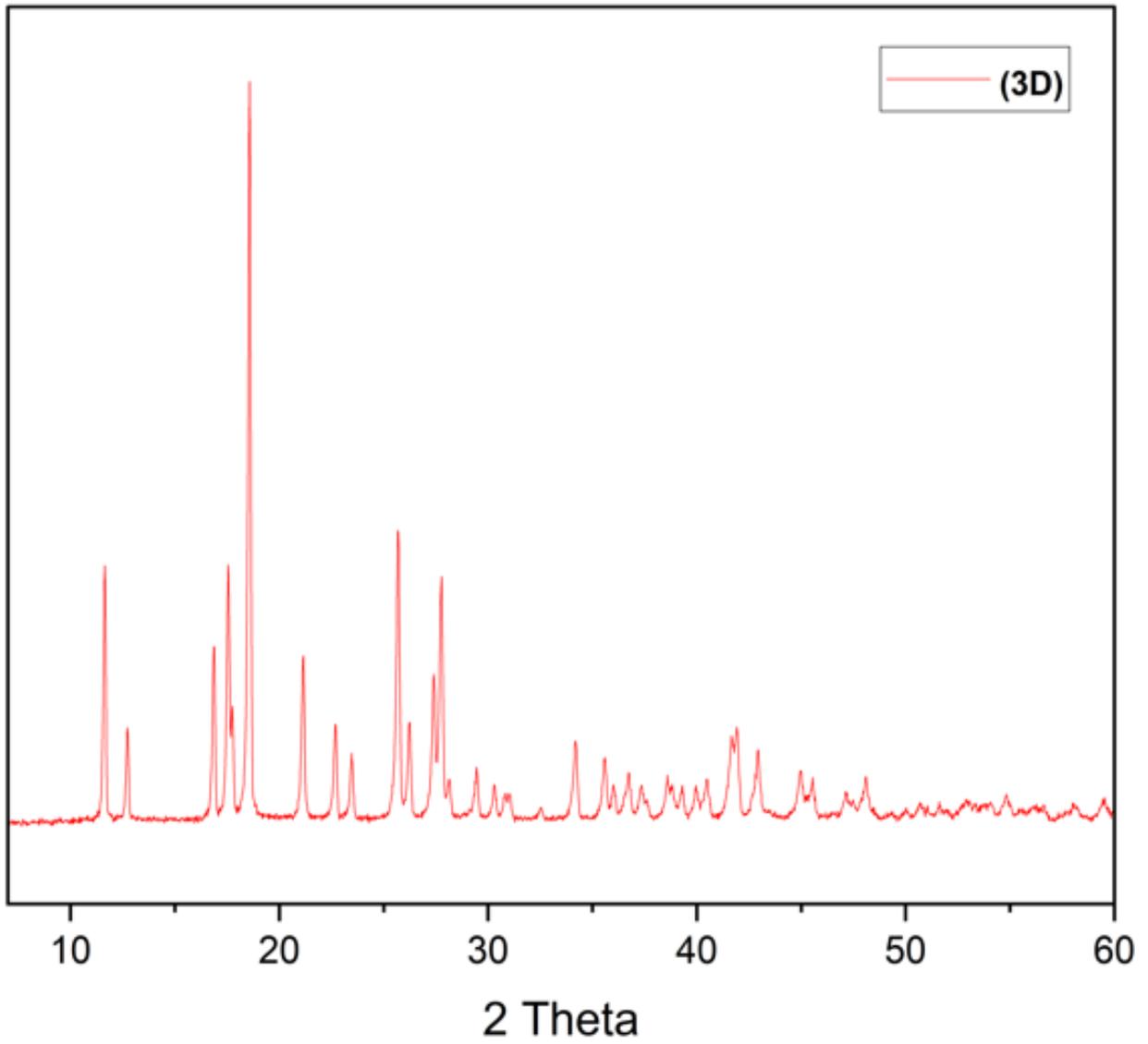
Subfiles: Organic
Quality: Calculated (C)

Comments

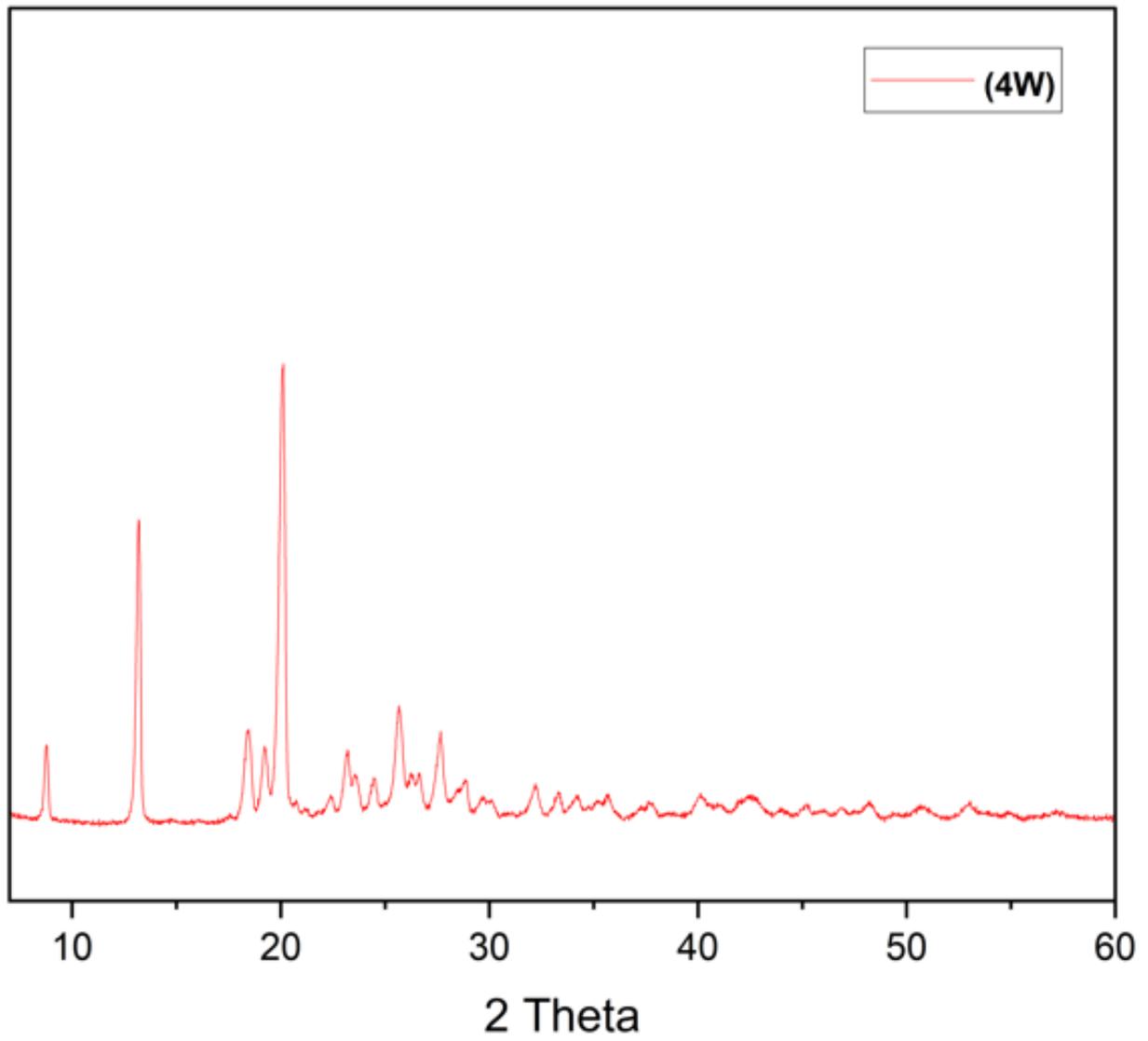
Additional diffraction line(s): Plus 11 lines to 1.764.

Peak list

No.	h	k	l	d [Å]	2Theta [deg]	I [%]
1	1	1	0	7.56000	11.696	72.0
2	0	1	1	5.93000	14.927	17.0
3	2	0	0	5.54000	15.985	52.0
4	1	1	1	5.23000	16.939	100.0
5	0	2	0	5.18000	17.104	23.0
6	2	1	0	4.89000	18.127	38.0
7	1	2	0	4.69000	18.907	2.0
8	2	0	1	4.40000	20.165	1.0
9	0	2	1	4.21000	21.086	42.0
10	2	1	1	4.05000	21.929	63.0
11	1	2	1	3.93000	22.607	63.0
12	2	2	0	3.78000	23.517	3.0
13	0	0	2	3.62000	24.572	6.0
14	1	0	2	3.44000	25.879	18.0
15	2	2	1	3.35000	26.587	3.0
16	3	0	1	3.29000	27.081	12.0
17	1	1	2	3.26400	27.301	12.0
18	3	1	1	3.13600	28.438	11.0
19	0	3	1	3.11400	28.643	5.0
20	2	0	2	3.02900	29.465	1.0
21	3	2	0	3.00600	29.696	15.0
22	1	3	1	2.99800	29.777	26.0
23	0	2	2	2.96600	30.106	7.0
24	2	3	0	2.92800	30.506	4.0
25	2	1	2	2.90800	30.721	1.0
26	1	2	2	2.86400	31.205	14.0
27	4	0	0	2.77100	32.280	4.0
28	2	3	1	2.71500	32.965	1.0
29	4	1	0	2.67600	33.459	4.0
30	2	2	2	2.61500	34.263	2.0
31	3	0	2	2.58600	34.660	11.0
32	3	1	2	2.50900	35.759	7.0
33	0	3	2	2.49700	35.937	5.0
34	4	2	0	2.44300	36.759	1.0
35	1	3	2	2.43600	36.868	3.0
36	1	4	1	2.37900	37.785	12.0



Anexo 32. Difractograma del complejo 3D



Anexo 33. Difractograma del complejo 4W

Reference code: 00-032-1618
PDF index name: Copper-d-tryptophan
Empirical formula: $C_{22}H_{24}CuN_4O_4$
Chemical formula: $C_{22}H_{24}CuN_4O_4$
Second chemical formula: $Cu(C_{11}H_{12}N_2O_2)_2$

Crystallographic parameters

Crystal system: Unknown

RIR: -

Subfiles and Quality

Subfiles: Organic
Quality: Doubtful (O)

Comments

Reason "O" quality: O assigned because unindexed.

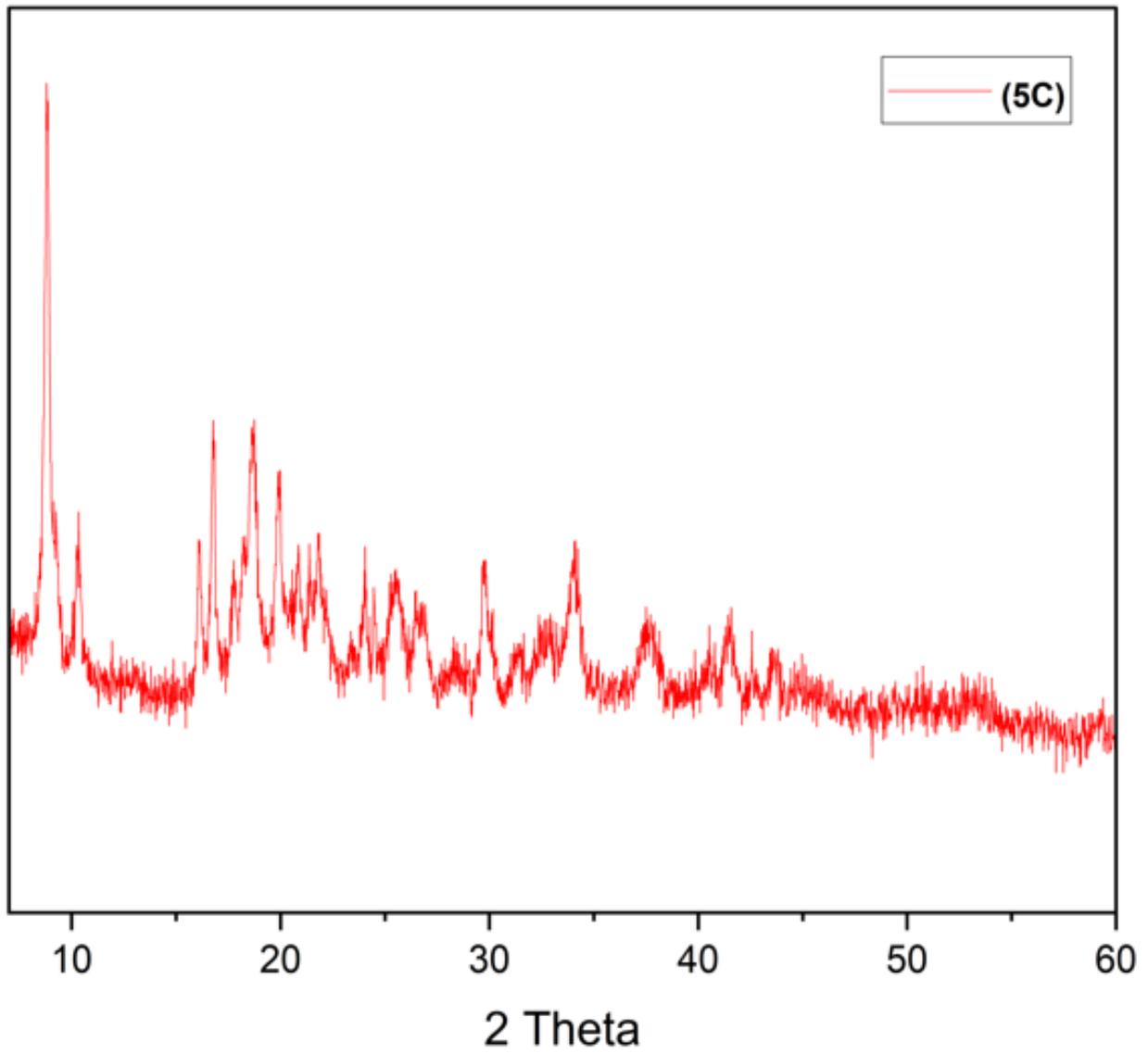
References

Primary reference: Pavlov, V. et al., *Bull. Acad. Sci. (USSR), Div. Chem. Sci.* **28**, 1577, (1979)

Peak list

No.	h	k	l	d [Å]	2Theta[deg]	I [%]
1				6.81000	12.990	80.0
2				4.70000	18.866	20.0
3				4.51000	19.668	100.0
4				3.64000	24.435	20.0
5				3.45000	25.803	20.0
6				3.37000	26.426	20.0
7				3.19000	27.947	20.0
8				2.98000	29.961	10.0

Anexo 34. Ficha JCPDS 00-032-1618



Anexo 35. Difractograma del complejo 5C



REFERENCIAS

-
1. Magalhaes L.G, Ferreira L. y Andricopulo A.D., (2017.) Recent Advances and Perspectives in Cancer Drug Design. *Academia Brasileira de Ciência*, 90(2): 1233-1250.
 2. Libertad Leonor López Tévez, (2016). Estudio de complejos metálicos con lindos de interés biológico (tesis de doctorado). Universidad Nacional de la Plata, Argentina.
 3. Historia de los compuestos de coordinación. (Dakota del Norte). Obtenido el 12 de diciembre de 2021 de <https://chem.libretexts.org/@go/page/6519>
 4. Susana Balboa Benavente, (2007). Química de coordinación de iones metálicos en estado de oxidación (II) derivados de α -hidroxicarboxilatos (tesis de doctorado). Universidad de Santiago de Compostela, España.
 5. L. Ruiz-Azuara y M.E. Bravo-Gómez, (2010). Copper Compounds in Cancer Chemotherapy. *Current Medicinal Chemistry*, 2010, 17, 3606-3615
 6. Aguilar O., Castro R., Sánchez J., López H., Barba N., (2012). Química Inorgánica Medicinal: vanadio, platino, oro. *Rev. Educ. quím.*, 23(1), 33-40.
 7. Gómez-Ruiz S., (2010). Evolución y desarrollo de complejos metálicos con aplicación potencial como agentes antitumorales. *Rev. An. Qum.* 2010, 106(1), 13-21.
 8. Taboada Lugo N. (2017). El zinc y el cobre: micronutrientes esenciales para la salud humana. *Acta Médica del Centro*, 11:2
 9. Iakovidis I., Delimaris I. and Piperakis S., (2011). Copper and Its Complexes in Medicine: A Biochemical Approach. *Molecular Biology International*, Vol. 2011, ID: 594529, 13 pag.
 10. Mohamed Wehbe, Ada W. Y. Leung, Michael J. Abrams, Chris Orvig, y Marcel B. Bally., (2017). A Perspective – can copper complexes be developed as a novel class of therapeutics? *The Royal Society of Chemistry*.
 11. Ma T., Xu J., Wang Y., (2014). Ternary copper(II) complexes with amino acid chains and heterocyclic bases: DNA binding, cytotoxic and cell apoptosis induction properties. *Rev. Bioquímica Inorgánica*, 144: 38-46.

-
12. I.P. Tripathi y Aarti Kamal, (2015). Synthesis, Characterization of Some Complexes of Copper (II) with L-Asparagine, L-Histidine, L-Lysine. American Journal of Advanced Drug Delivery
 13. Edwin M. Larsen (1972). Elementos de transición. Reverté Editorial, pag: 1 – 2.
 14. Greenwood N.N. y Earnshaw A. (1997) Chemistry of the elements, 2ª Ed. ButterworthHeinemann, Oxford.
 15. Berlin A., et.al. Productos químicos. Gunnar Nordberg et.al. (Ed). Metales: propiedades químicas y toxicidad, pag: 63.2 – 63.7. 3ª Edición de Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo.
 16. F.A. Cotton y G. Wilkinson (1995). Química de los elementos de transición: Cobre. I. Rodríguez (Ed). Química Inorganica Avanzada, 1ª Edición, pag: 977 – 980.
 17. L. Feoktistova y F. Clark, (2018). Metabolism of copper. Its consequences for human health. Medisur; Vol: 16, No, 4
 18. N. Taboada, (2018). El zinc y el cobre: micronutrientes esenciales para la salud humana Acta Médica del Centro; Vol: 11, No. 2
 19. O. Alarcón, (2000). Los elementos traza. Médica de la Extensión Portuguesa; Vol: 4, No.3
 20. Charles Dameron y Mark Harrison (1998). Mechanisms for protection against copper toxicity. American Society for Clinical Nutrition 1998;67(suppl):1091S–7S.
 21. Tapiero H., Townsend D.M y Tew K.D (2003). Trace elements in human physiology and pathology. Copper. Biomed Pharmacother; 57(9): 386–398.
 22. American Cancer Society (2019). How Chemotherapy Drugs Work. U.S American Cancer Society, Inc. Recuperado de: <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types/chemotherapy/how-chemotherapy-drugs-work.html>
 - 23.
 24. Katja A. Strohfeltd (2015). Essentials of Inorganic Chemistry: for students of pharmacy, pharmaceutical sciences and medicin. Editores: John Wiley & Sons, Ltd, UK. Paginas: 1-3 Recuperado de: https://www.academia.edu/19385541/Essentials_of_Inorganic_Chemistry
 - 25.

-
26. National Cancer Institute (2021). What Is Cancer?. U.S. Department of Health and Human Services. Recuperado de <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>.
 27. Cancer Research UK (2020). How cancer can spread. England; Fundraising Regulator. Recuperado de <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/what-is-cancer/how-cancer-can-spread>
 28. HudsonAlpha Institute for Biotechnology (2021). Breast cancer: targeting the genome for better surveillance and treatment. Huntsville, AL. Recuperado de: <https://www.hudsonalpha.org/breast-cancer-targeting-the-genome-for-better-surveillance-and-treatment/>
 29. National Comprehensive Cancer Network (2018). Prevention and treatment of cancer-related infections. Version 1.2019. Recuperado de https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/PDF/infections.pdf
 30. Anupam Saini et.al. (2020). Cancer causes and treatments. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. Vol. 11(7): 3121-3134.
 31. Institute of Medicine (2007). Committee on Cancer Control in Low- and Middle-Income Countries; Editores: Sloan FA, Gelband H, Washington (DC): National Academies Press (US). Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54025/>
 32. Elham Hosseinzadeh et.al. (2017). Cancer and Treatment Modalities. Current Cancer Therapy Reviews, 13, 17-27.
 33. Zaigham Abbas y Sakina Rehman (2018). An Overview of Cancer Treatment Modalities. IntechOpen, Captiulo: 6, 144-147.
 34. Katja Dralle Mjos y Chris Orvig (2014). Metallodrugs in Medicinal Inorganic Chemistry. Medicinal Inorganic Chemistry Group, 114, 4540–4563.
 35. Dharmasivam Mahendiran (2018). Copper complexes as prospective anticancer agents: in vitro and in vivo evaluation, selective targeting of cancer cells by DNA damage and S phase arrest. RSC Advances; 8(30): 16973–16990.
 36. Xin Huang et.al. (2021). Diethyldithiocarbamate-copper complex (CuET) inhibits colorectal cancer progression via miR-16-5p and 15b-5p/ALDH1A3/PKM2 axis-mediated aerobic glycolysis pathway. Oncogenesis, 10:4.

-
37. Lucia M. Balsa et al. (2021). Anticancer activity of a new copper(II) complex with a hydrazone ligand. Structural and spectroscopic characterization, computational simulations and cell mechanistic studies on 2D and 3D breast cancer cell models. *Dalton Trans.*, 50, 9812-9826
 38. Pierre Lelièvre et al. (2020). The Multifaceted Roles of Copper in Cancer: A Trace Metal Element with Dysregulated Metabolism, but Also a Target or a Bullet for Therapy. *Cancers*, 12(12), 3594
 39. Anup Paul et al. (2021). Influence of anchoring moieties on new benzimidazole-based Schiff base copper(II) complexes towards estrogen dependent breast cancer cells. *Dalton Trans.*, 50, 3701-3716
 40. Miguel Reina et al. (2021). Second generation of Casiopeinas®: A joint experimental and theoretical study. *Inorganica Chimica Acta*; 517, 120201.
 41. Yun-Qiong Gu et al. (2022). Terpyridine copper(II) complexes as potential anticancer agents by inhibiting cell proliferation, blocking the cell cycle and inducing apoptosis in BEL-7402 cells. *Dalton Trans.*, 51, 1968-1978
 42. Quim Peña et al. (2021). Copper(II) N,N,O-Chelating Complexes as Potential Anticancer Agents. *Inorganic Chemistry*; 60, 2939-2952.
 43. Eva J. Ge et al. (2021). Connecting copper and cancer: from transition metal signalling to metalloplasia. *Nature Reviews Cancer*; 22, 102-113
 44. Enrique J. Baran (2005). Structural Data and Vibrational Spectra of the Copper(II) Complex of L-Selenomethionine. *Z. Naturforsch.* 60b, 663 – 666.
 45. Claudia Wagner y Enrique Baran (2002). Vibrational Spectra of Bis(L-Methioninato) Copper(II). *Acta Farm. Bonaerense* 21 (4): 287-90.
 46. Claudia Wagner y Enrique Baran (2004). Spectroscopic and Magnetic Behaviour of the Copper (II) Complex of L-Tryptophan. *Acta Farm. Bonaerense* 23 (3): 339-42.