

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

**Síntesis, caracterización y evaluación antioxidante de
complejos lantánidos(III)**

TESIS PROFESIONAL PRÁCTICA

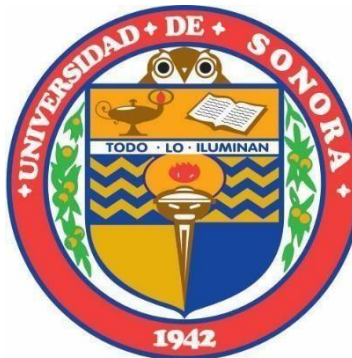
Que para obtener el Título de

QUÍMICO BIÓLOGO CLÍNICO

Presenta:

Teresita De Jesús Moreno Pérez

Repositorio Institucional UNISON



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



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

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Química Supramolecular del Departamento de Investigación de Polímeros y Materiales de la Universidad de Sonora, así como en el Laboratorio de Estructura Biomolecular del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C., bajo la dirección de la Dra. Yedith Soberanes Duarte. Se agradece al proyecto de infraestructura INFR-2014-01-225455 por la adquisición del difractor de rayos X de monocristal y la red temática de Conacyt Química Supramolecular 294810.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a Dios por permitirme estar donde tengo que estar. A mis padres por no faltar y a mis hermanos por su apoyo incondicional.

Agradezco el apoyo brindado del Departamento de Investigación de Polímeros y Materiales, en especial de todos los que forman parte del Laboratorio de Química Supramolecular, A la Dra. Rosa Elena Navarro Gautrín agradezco la confianza, al Dr. Alex Salazar Medina agradezco el apoyo y la paciencia y en especial a mi directora de tesis la Dra. Yedith Soberanes Duarte por el apoyo, la paciencia, la confianza brindados durante el desarrollo del proyecto.

VOTOS APROBATORIOS

Los miembros del jurado calificador del examen profesional de TERESITA DE JESÚS MORENO PÉREZ hemos revisado detenidamente su trabajo escrito titulado SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN ANTIOXIDANTE DE COMPLEJOS LANTÁNIDOS(III) y encontramos que cumple con los requisitos para la presentación de su examen profesional. Por tal motivo recomendamos se acepte dicho trabajo como requisito parcial para la obtención de título de QUÍMICO BIOLÓGO CLINICO.

Atentamente:

Dra. Yedith Soberanes Duarte
Presidente

Dr. Fernando Rocha Alonzo
Secretario

Dra. Rocío Sugich Miranda
Vocal

Dra. Lorena Armenta Villegas
Suplente

CONTENIDO

LISTA DE TABLAS	8
LISTA DE FIGURAS	9
RESUMEN	10
INTRODUCCIÓN	11
OBJETIVOS.....	13
Objetivo General	13
Objetivos Particulares.....	13
REVISIÓN DE LA LITERATURA	14
Química Supramolecular.....	14
Ligantes	15
Complejos lantánidos.....	18
Agentes de Contraste	18
Antioxidantes	20
Técnicas Espectroscópicas.....	22
Evaluación de Capacidad Antioxidante	28
METODOLOGÍA	30
Reactivos	30
Equipo.....	31
Métodos	31
Estudios de Formación de los Complejos en Solución Mediante Ultravioleta-Visible	32
Síntesis de Complejos	32
Caracterización de los complejos.....	33

Evaluación de Capacidad Antioxidante	33
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	35
Estudios de Coordinación del Ligante (Cyp)H ₃ con los Iones Dy ³⁺ , Eu ³⁺ , Gd ³⁺ , Tm ³⁺ e Yb ³⁺ Mediante Espectroscopia de UV/Vis	35
Síntesis de los Complejos	37
Caracterización de los Complejos	37
Espectroscopia de infrarrojo	38
Difracción de rayos X.....	40
Evaluación Antioxidante <i>in vitro</i>	43
CONCLUSIONES	44
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
ANEXOS.....	49

LISTA DE TABLAS

1. Valores obtenidos de análisis de masas, rendimiento y punto de descomposición para cada complejo.	38
2 Porcentajes de inhibición promedio y desviación estándar de los radicales ABTS y DPPH ...	43
3. Distancia de enlace del complejo Eu[Cyp]	49
4. Ángulos de enlace del complejo Eu[Cyp]	50

LISTA DE FIGURAS

1. Estructura propuesta para Ln(Cyp)	10
2. Esquema de interacción entre receptor y sustrato	14
3. Ejemplo de ligante acíclico (izquierda) y macrociclo (derecha)	15
4. Ejemplos de estructuras macrocíclicas según sus átomos donadores	16
5. Estructura de ciclofano	17
6. Agentes de contraste de primera generación aprobados por la FDA	19
7. Ejemplo de estructura del agente PARACEST sensible al pH, Eu ⁻¹ . (Wu y col., 2010).....	20
8. Mecanismo de acción de los antioxidantes	21
9. Ciclofano complejado con iones de Fe ³⁺ sintetizado por el DIPM-UNISON.....	21
10. Espectro electromagnético.....	23
11. Niveles de transición electrónica.....	23
12. Tipos de vibraciones moleculares	25
13. Espectrómetro de masas	26
14. Dispersión de un rayo de luz sobre un conjunto de planos	27
15. Estructura la sal diamonio ABTS.....	28
16. Estructura del radical DPPH	29
17. Espectro de absorción de (Cyp)H ₃ en presencia de Tm ³⁺ a diferentes relaciones molares	35
18. Espectro de absorción de (Cyp)H ₃ en presencia de Yb ³⁺ a diferentes relaciones molares ..	36
19. Esquema de reacción propuesto para (Cyp)H ₃ con carbonatos de lantánidos	37
20. Espectros de infrarrojo de a) (Cyp)H ₃ , b) Dy[Cyp] y c) Eu[Cyp] obtenidos por ATR	39
21. Espectros de infrarrojo de d) Gd[Cyp], e) Tm[Cyp] y f) Yb[Cyp] obtenidos por ATR.....	40
22. Estructura molecular del complejo Eu[Cyp].....	41
23. Empaquetamiento de la celda unitaria del complejo Eu[Cyp].	42
24. Puentes de hidrógeno en la estructura molecular Eu[Cyp].....	42

RESUMEN

Actualmente la síntesis de agentes de contraste (AC) para resonancia magnética de imagen (RMI) ha atraído la atención de numerosas investigaciones. Se busca obtener AC que proporcionen mayor nitidez en las imágenes para hacer un diagnóstico médico más certero. En este trabajo se sintetizaron y caracterizaron complejos de los lantánidos Dy^{3+} , Eu^{3+} , Gd^{3+} , Tm^{3+} e Yb^{3+} con el ciclofano 2,12-dioxa-4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10,13-pentaaza-15,30(1,4-fenilenbismetilen oxi)[13.10]orto-ciclofano, (Cyp) H_3 (figura 1), los cuales son potenciales AC en RMI. Además mediante técnicas colorimétricas *in vitro* se evaluó la capacidad de inhibir los radicales sintéticos ABTS y DPPH del ciclofano y todos sus complejos. Únicamente el ciclofano libre fue capaz de inhibir estos radicales.

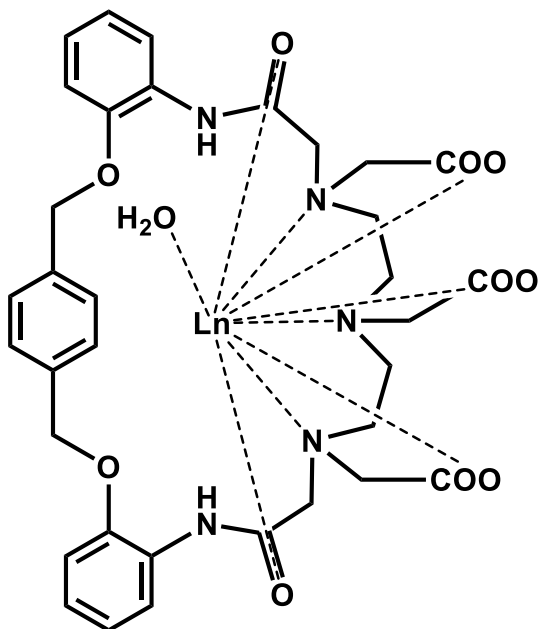


Figura 1. Estructura propuesta para Ln(Cyp).

INTRODUCCIÓN

La química supramolecular comprende el estudio de entidades moleculares que resultan de la asociación de dos o más especies químicas unidas mediante interacciones no covalentes. Los componentes de una especie supramolecular llevan por nombre sustrato y receptor molecular. La química de coordinación asoció el concepto de sustrato con catión metálico que actúa como ácido de Lewis y el concepto de receptor con ligante que se comporta como base de Lewis que puede unirse mediante un enlace covalente.

Los complejos lantánidos han recibido una atención importante en las últimas décadas, principalmente debido a sus aplicaciones biomédicas (Dos Santos *et al.*, 2008). El desarrollo de sistemas de señalización en Resonancia Magnética de Imagen (RMI) es un tópico importante en el campo de la química supramolecular. Los iones de los lantánidos(III) pueden formar complejos con una amplia variedad de ligantes. Se han empleado como agentes de contraste (AC) en imágenes de RMI y algunos otros en diagnósticos clínicos e investigación de enzimas, antibióticos, células, hormonas, entre otros fármacos (Carac e Andreea, 2017).

La relación que existe entre la concentración de radicales libres y el estado de salud de los seres humanos es un hecho aceptado en la actualidad por la comunidad científico-médica. Vocablos tales como estrés oxidativo, actividad prooxidante y producto antioxidante, son cada vez más comunes e indican el interés cada vez más creciente sobre este tema. Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre, por lo que son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electrónica. La vida media biológica del radical libre es de microsegundos, pero tiene la capacidad de reaccionar en cadena afectando todo lo que esté a su alrededor provocando un gran daño a moléculas, membranas, celulares y tejidos.

El estudio de los ciclofanos ha surgido como una disciplina de investigación central con numerosos enlaces a otras áreas. Una razón está ciertamente relacionada con las características estructurales inusuales de muchos de estos compuestos, que coinciden con las nuevas propiedades electrónicas. El grupo de investigación en Química Supramolecular del DIPM-UNISON, ha sintetizado una serie de ciclofanos derivados del ácido etilendiaminotetracético dianhídrido (EDTA) y del ácido dietilentriaminopentaacético dianhídrido (DTPA) con diferentes aminas. Algunos de estos ciclofanos muestran propiedades muy interesantes, como reconocimiento de sustratos catiónicos biológicamente importantes entre ellas fenetilamina, histamina, serotonina, triptamina tiramina y dopamina (Arvízu-Santamaría y

col., 2017; Durazo-Bustamante y col., 2017), la formación de complejos con metales de transición como Cu(II) y Fe(II) (Sugich-Miranda y col., 2010; Salazar-Medina y col., 2013) además de la formación de complejos con iones lantánidos como Gd(III) y Eu(III) como posibles AC para RMI (Soberanes y col., 2012; Navarro y col., 2015; Soberanes, 2015).

Tomando en cuenta que los complejos lantánidos se utilizan como AC, en este trabajo se propuso sintetizar cinco nuevos complejos a partir del ciclofano (Cyp)₃ y los iones lantánidos Dy³⁺, Eu³⁺, Gd³⁺, Tm³⁺ e Yb³⁺, y evaluar su capacidad antioxidante.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Sintetizar, caracterizar y evaluar la capacidad antioxidante de complejos del ciclofano (Cyp)₃ con los lantánidos Dy³⁺, Eu³⁺, Gd³⁺, Tm³⁺ e Yb³⁺.

Objetivos Particulares

- Sintetizar los complejos Dy[Cyp], Eu[Cyp], Gd[Cyp], Tm[Cyp] e Yb[Cyp].
- Caracterizar los complejos mediante punto de fusión, espectrometría de masas, espectroscopia UV-Vis e IR y difracción de rayos X.
- Medir la capacidad antioxidante de los complejos por ensayos colorimétricos *in vitro*.

REVISIÓN DE LA LITERATURA

Química Supramolecular

La Química Supramolecular es una rama de la química que se ocupa del estudio de entidades organizadas de una elevada complejidad que resultan de la asociación de dos o más especies químicas unidas por fuerzas intermoleculares débiles. En ellos se han encontrado aplicaciones en áreas diversas como la Química Medicinal y Analítica (Hernández-Molina y col., 2014).

Los componentes de una especie supramolecular llevan por nombre sustrato y receptor molecular. Se llama sustrato a cualquier catión, molécula neutra o anión de naturaleza orgánica o inorgánica que puede formar complejos con ligantes químicamente afines. Históricamente, en la química de coordinación se asoció este concepto de sustrato con un catión metálico que actúa como ácido de Lewis y el concepto de receptor con un ligante que se comporta como base de Lewis mediante un enlace covalente; en la década de los años 70, el concepto se amplía y empezaron a considerarse también como sustratos tanto cationes moleculares, como moléculas neutras o incluso aniones. Por otra parte, es considerado receptor molecular cualquier ligante que pueda establecer algún tipo de interacción con un sustrato. Los receptores moleculares envuelven al sustrato y establecen numerosas interacciones de enlace no covalentes; los enlaces no tienen necesariamente que ser enlaces coordinados, sino que pueden ser otro tipo de interacciones débiles, por ejemplo, fuerzas de van der Waals, enlace de hidrógeno o atracciones dipolo-dipolo. Estas entidades pueden contener espacios libres dentro de la molécula (cavidades), en las cuales se puede acomodar el sustrato, como se observa en la figura 2.

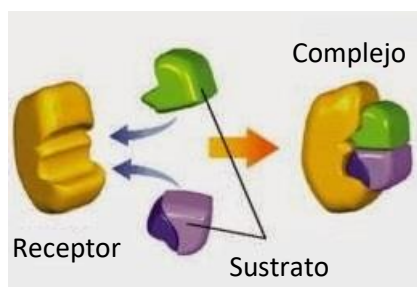


Figura 2. Esquema de interacción entre receptor y sustrato.

Ligantes

La química supramolecular comprende el estudio de diferentes especies supramoleculares. Entre ellas se encuentran los ligantes, los cuales se define como un átomo, ion o molécula, que generalmente dona uno o más de sus electrones a través de un enlace coordinado con uno o más átomos o iones (Lindoy, 1989).

Comúnmente se clasifican en ligantes acíclicos y macrocíclicos (figura 3), donde, los primeros se definen como estructuras orgánicas donde sus grupos donadores se encuentran unidos a una cadena no cíclica. Los macrociclos se pueden definir como estructuras orgánicas cíclicas con varios átomos donadores potenciales que rodean a un ión metálico central como centro de coordinación que contiene una estructura cíclica.

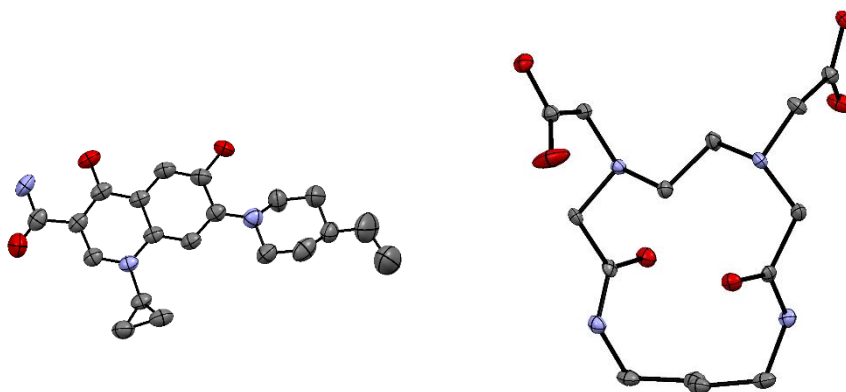


Figura 3. Ejemplo de ligante acíclico (izquierda) y macrociclo (derecha).

Ligantes Macrocíclicos. Los compuestos macrocíclicos que tienen heteroátomos son compuestos importantes con un amplio espectro de actividades biológicas aparte de sus aplicaciones potenciales en química supramolecular, catálisis y nuevos materiales (Patil, 2017).

Los compuestos macrocíclicos se pueden clasificar dependiendo de los átomos donadores que poseen en su estructura (figura 4), por ejemplo, los que contienen nitrógeno, reciben el nombre de poliaza, y los que tienen azufre se conocen como tioles. Los poliaza son macrociclos que forman complejos muy estables con la mayoría de los metales de transición y metales pesados, siendo menos estables con metales alcalinos o alcalinotérreos. También están aquellos ligantes macrocíclicos que incorporan átomos de oxígeno, como es el caso de

los éteres corona. Estos últimos presentan una mayor afinidad por los cationes metálicos como son los alcalinos, alcalinotérreos y lantánidos (Núñez González, 2009).

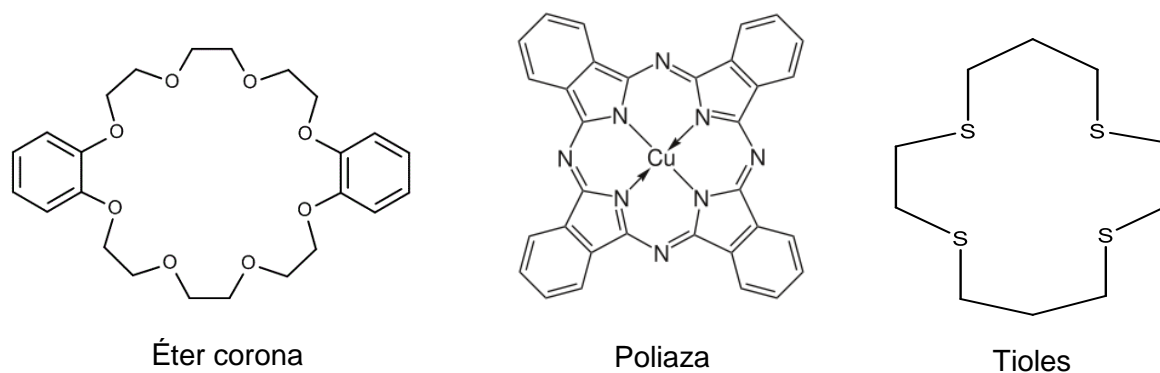


Figura 4. Ejemplos de estructuras macrocíclicas según sus átomos donadores.

Ciclofanos. Dentro de la clasificación de macrociclos entran los ciclofanos. Que destacan como receptores moleculares útiles para el reconocimiento selectivo de moléculas de importancia biológica o química. Poseen una estructura rígida con una cavidad bien definida, por lo que pueden encapsular y estabilizar moléculas huésped a través de diversas interacciones no covalentes. El término ciclofano (figura 5), en inglés *cyclophane*, es una contracción de *cyclophenylene alkane*. De acuerdo con la IUPAC, designa compuestos que tienen: (1) un sistema aromático o un sistema de unidades cíclicas que poseen el número máximo de dobles enlaces no consecutivos y (2) átomos y/o cadenas saturadas o insaturadas, con o sin heteroátomos, como componentes alternos de un macrociclo. Las propiedades estructurales de una amplia gama de compuestos cumplen con esta definición muy general. Sin embargo, las unidades aromáticas presentes en su estructura son la que los caracteriza como ciclofanos y aportan sus propiedades (Lindoy, 1989).

Los ciclofanos pueden contener o no una cavidad molecular lo suficientemente grande para albergar a huéspedes, pero en algunos casos las cavidades son innecesarias para lograr elevada afinidad de unión, siempre y cuando los sitios de unión complementarios al huésped se encuentren ubicados apropiadamente en la superficie del anfitrión (Smith y col., 2010). Así los ciclofanos pueden presentar dos tipos de unión con el huésped: encapsulación o interacción

sobre la superficie. El tamaño de la cavidad, así como las propiedades exhibidas por estos sistemas se pueden modificar variando la parte aromática, la unidad de puente o los grupos espaciadores. Esta propiedad característica de los ciclofanos ha sido ampliamente estudiada para el desarrollo de sondas selectivas a una variedad de moléculas huésped. Dentro de esos estudios se destaca el uso de diversos ciclofanos funcionalizados para el reconocimiento selectivo de biomoléculas importantes debido a la facilidad de funcionalización, los ciclofanos se han utilizado como receptores para aniones, cationes y moléculas neutras, pero también para biomoléculas tales como aminoácidos, proteínas, nucleósidos, nucleótidos y ácidos nucleicos (Zauer, 2017).

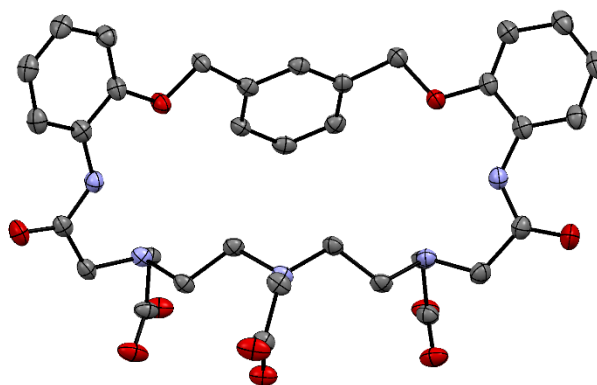


Figura 5. Estructura de ciclofano.

El estudio de los ciclofanos ha surgido como una disciplina de investigación central con numerosos enlaces a otras áreas. Una razón está ciertamente relacionada con las características estructurales inusuales de muchos de estos compuestos, que coinciden con las nuevas propiedades electrónicas, especialmente las interacciones entre los anillos aromáticos. Las herramientas espectroscópicas ideales para probar estos efectos son métodos relacionados con la absorción o liberación de electrones. La espectroscopia de fluorescencia y/o la espectroscopia Ultravioleta-Visible se han empleado ampliamente para determinar tales efectos en ciclofanos (Gleiter y Hopf, 2006).

Complejos lantánidos

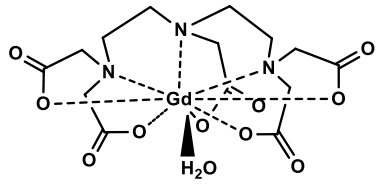
Los iones de los lantánidos(III) pueden formar complejos con una amplia variedad de ligantes. El interés en estos complejos ha aumentado, debido a su estado de oxidación 3+, lo que le da una estabilidad que ningún otro conjunto de elementos posee hasta ahora (Aulsebrook y col., 2017). Por otra parte, los lantánidos también tienen una utilidad cada vez mayor en síntesis orgánica, química bioorgánica y en el área de la medicina.

El desarrollo de sistemas de señalización es un tópico importante en el campo de la química supramolecular. Los complejos de ciclofanos con metales lantánidos han recibido una atención importante en las últimas décadas, principalmente debido a sus aplicaciones biomédicas (Dos Santos y col., 2008). Las propiedades magnéticas peculiares de los iones lantánidos(III) pueden explotarse para el desarrollo de poderosas sondas de RMI. Los complejos con lantánidos se pueden utilizar como: catalizadores y aditivos en metalurgia, quimiosensores luminiscentes para diagnóstico médico, recientemente las imágenes ópticas de las células y como AC para RMI.

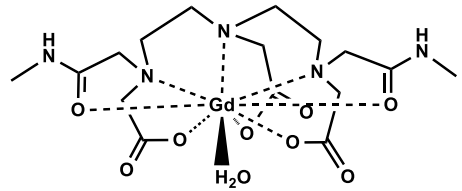
Agentes de Contraste

La RMI se ha convertido en una técnica de diagnóstico médico ampliamente utilizada dentro del campo de la anatomía, fisiología y fisiopatología humana pues, proporciona una excelente resolución espacial y por su naturaleza es no invasiva. Durante el desarrollo de esta modalidad de imagen, la aplicación de AC adecuados que logran su efecto mejorando la tasa de relajación de los protones del agua mejora significativamente la calidad de la imagen. En general, los AC consisten en un centro de metal paramagnético, típicamente gadolinio(III), existen algunos AC de primera generación aprobados por la FDA utilizados actualmente (figura 6) (Werner y col., 2008). Es importante que los iones metálicos estén coordinados a un ligante de unión fuerte que ocupa la mayoría de los sitios de coordinación disponibles, dado que en su forma libre son mal tolerados y pueden ser tóxicos para el organismo.

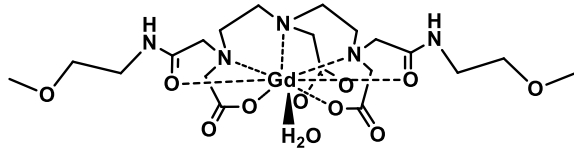
Desde hace unos años se ha buscado innovar en cuanto a los AC, por lo que surgió una nueva generación los cuales se denominan CEST, por sus siglas en inglés (*Chemical Exchange Saturation Transfer*). Estos agentes son compuestos diamagnéticos o paramagnéticos que contienen grupos ionizables intercambiables magnéticamente con otras moléculas. La característica principal de estos agentes, CEST, es que son moléculas que poseen uno o más



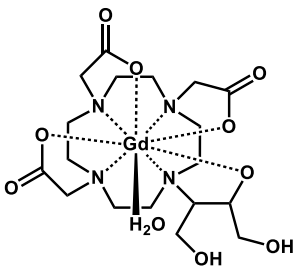
[Gd(dtpa)(H₂O)]²⁻
Magnevist: BSP



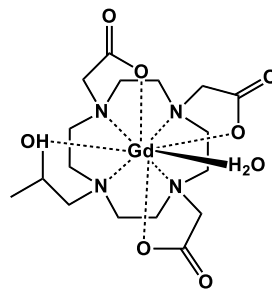
[Gd(dtpa-bma)(H₂O)]
(Omniscan: Ge Helthcare)



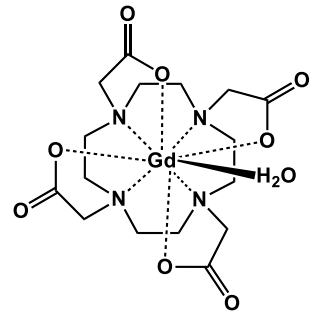
[Gd(dtpa-bmea)(H₂O)]
OptiMARK: Mallinckrodt



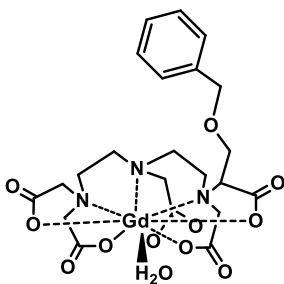
[Gd(do3a-butrol)(H₂O)]
(Gadovist: BSP)



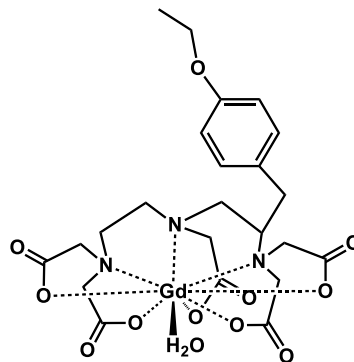
[Gd(dota)(H₂O)]⁻
(Doratem: Guerbet)



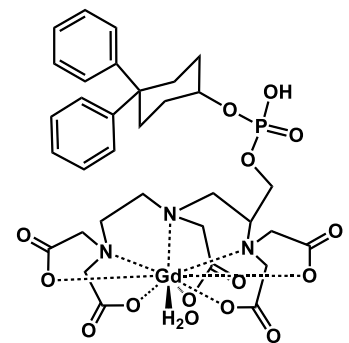
[Gd(hp-do3a)(H₂O)]
(Protiance: Bracco)



[Gd(bopta)(H₂O)]²⁻
(Multihance: Bracco)



[Gd(eob-dtpa)(H₂O)]²⁻
(Promovist: BSP)



MS-325
(Vasovist: BSP)

Figura 6. Agentes de contraste de primera generación aprobados por la FDA.

átomos de hidrógeno disponibles (NH, NH₂, H₂O) para intercambiarse químicamente con átomos de hidrógeno de agua de solvatación del medio (Heffern y col., 2014)(figura 7). Una ventaja de utilizar agentes CEST es que pueden ser diseñados para ser sensibles a diferentes valores de pH sin necesidad de conocer la concentración y obtener información valiosa de las imágenes.

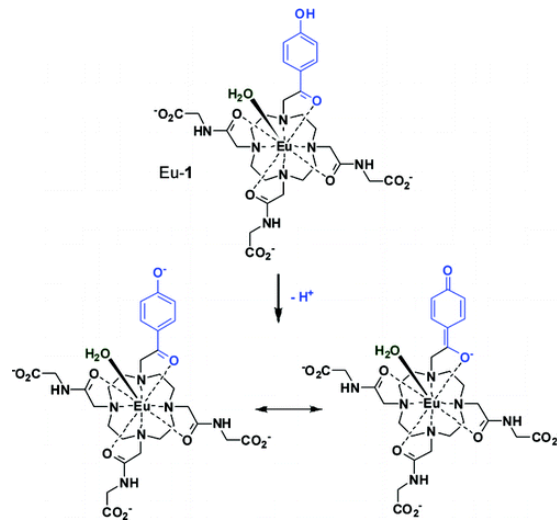


Figura 7. Ejemplo de estructura del agente PARACEST sensible al pH, Eu¹. (Wu y col., 2010).

Antioxidantes

Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre, por lo que son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado (figura 8), iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye nuestras células (Avello, 2006). Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres mediante la liberación de electrones que son captados por los radicales libres. Los antioxidantes, pueden formar complejos estables impidiendo la acción catabólica de los radicales libres en la membrana, asociado a la función antioxidante se considera el proceso de óxido-reducción que remite a dos momentos básicos: a) oxidación que implica pérdida de electrones de hidrógeno con la

ganancia de oxígeno en la molécula, b) reducción que involucra la ganancia de electrones de hidrógeno con la pérdida de oxígeno. Así el oxidante se reduce al reaccionar con aquella molécula que oxida.

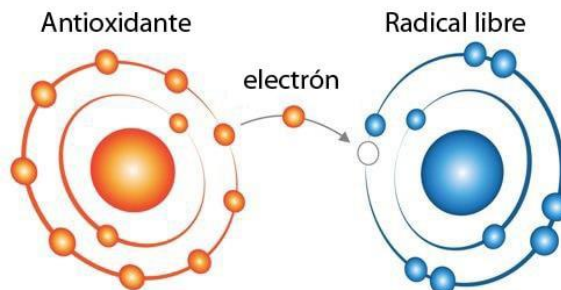


Figura 8. Mecanismo de acción de los antioxidantes.

Este proceso es cotidiano en el organismo humano y representa el conocido par óxido-reductor o balance redox. Las ERO (Especies Reactivas de Oxígeno) son moléculas tóxicas implicadas en varios procesos patológicos en el ser humano, incluyendo daño en tejidos, inflamación, cáncer y enfermedades degenerativas en general. Conociendo la actividad antioxidante de muchas moléculas naturales se ha optado por formular moléculas que puedan proveer capacidad antioxidante de manera sintética. Los complejos con metales de transición (figura 9), como Mn(II), Mn(III), Cu(II) y Fe(III) tienen importante capacidad antioxidante, debido a su habilidad de cambio en los estados de oxidación y sus interacciones químicas con un amplio número de iones cargados negativamente, radicales y moléculas. (Salazar, 2013)

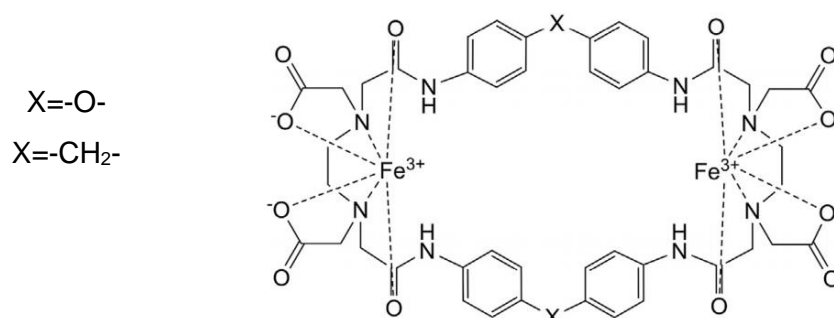


Figura 9. Ciclofano complejoado con iones de Fe³⁺ sintetizado por el DIPM-UNISON.

Técnicas Espectroscópicas

Los métodos analíticos espectroscópicos se fundamentan en medir la cantidad de radiación que producen o absorben las especies moleculares o atómicas de interés. Es posible clasificar los métodos espectroscópicos según la región del espectro electromagnético utilizado para la medida. Las regiones del espectro que se han utilizado abarcan los rayos gamma, rayos X, radiación ultravioleta (UV), radiación infrarroja (IR), microondas y radiofrecuencias (RF). De hecho, el uso actual del término espectroscopia amplía su significado para incluir técnicas que no abarcan la radiación electromagnética, como las espectrometrías acústica, de masas y de electrones.

Las técnicas espectroscópicas se han convertido quizás en la metodología más utilizada para revelar estructuras moleculares y para determinar, cuantitativa y cualitativamente, los compuestos orgánicos e inorgánicos.

Propiedades de la Radiación Electromagnética

El espectro electromagnético abarca un amplio intervalo de energías (frecuencias) y, por tanto, de longitudes de onda. Las frecuencias útiles varían desde $>10^{19}$ Hz (rayos γ) hasta 10^3 Hz (ondas de radiofrecuencia). Las divisiones del espectro electromagnético se muestran en la figura 10. La radiación electromagnética es una forma de energía que se transmite por el espacio a gran velocidad. Se denomina luz a la radiación electromagnética en las regiones del UV-visible y en ocasiones en la región IR, si bien en el sentido estricto del término abarca solo la región visible. La radiación electromagnética puede describirse como una onda con propiedades de longitud de onda, frecuencia, velocidad y amplitud. En contraste con las ondas sonoras la luz no requiere de un soporte para su transmisión, de modo que se propaga fácilmente en el vacío. Además, la luz viaja a una velocidad mucho más rápida que la del sonido.

El modelo de onda no explica fenómenos relacionados con la emisión o absorción de energía radiante. Pero en relación con estos procesos se puede considerar a la radiación electromagnética como paquetes discretos de energía, o partículas llamados fotones o cuantos. Estas dos consideraciones de la radiación como partícula y como onda no son excluyentes entre sí, si no complementarios. Esta dualidad se aplica al flujo de electrones, protones y otras

partículas elementales que pueden producir efectos de interferencia y difracción habitualmente relacionados con el comportamiento de las ondas.

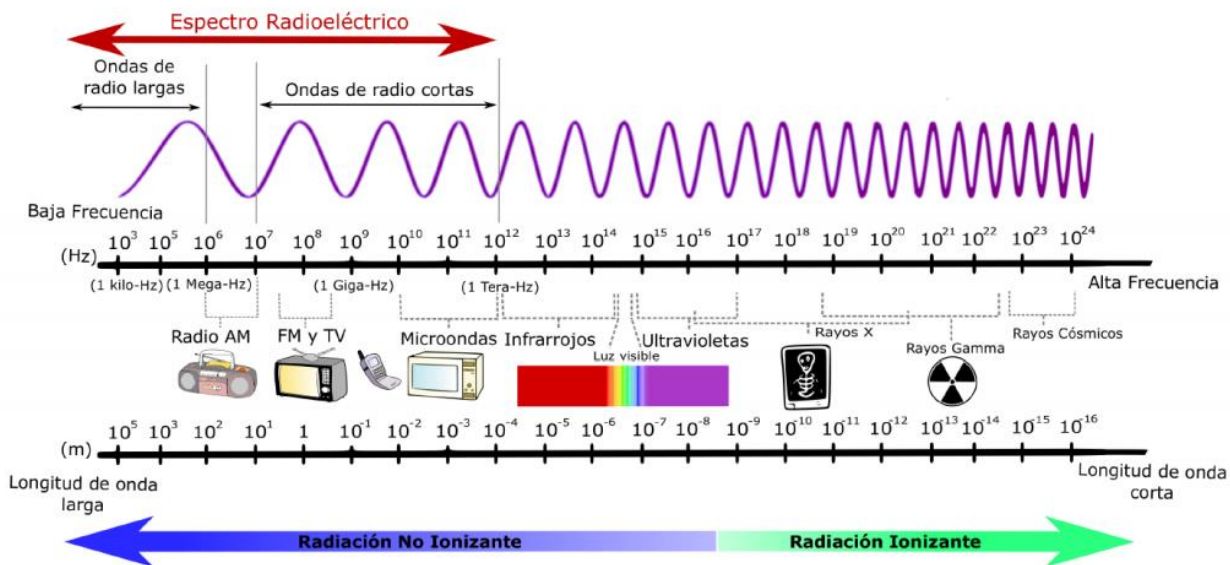


Figura 10. Espectro electromagnético.

Espectroscopia Ultravioleta y Visible. La espectroscopía UV-Vis está basada en el proceso de absorción de la radiación ultravioleta-visible (radiación con longitud de onda comprendida entre los 160 y 780 nm) por una molécula. La absorción de esta radiación causa la promoción de un electrón a un estado excitado (figura 11). Los electrones que se excitan al absorber radiación de esta frecuencia son los electrones de enlace de las moléculas, por lo que

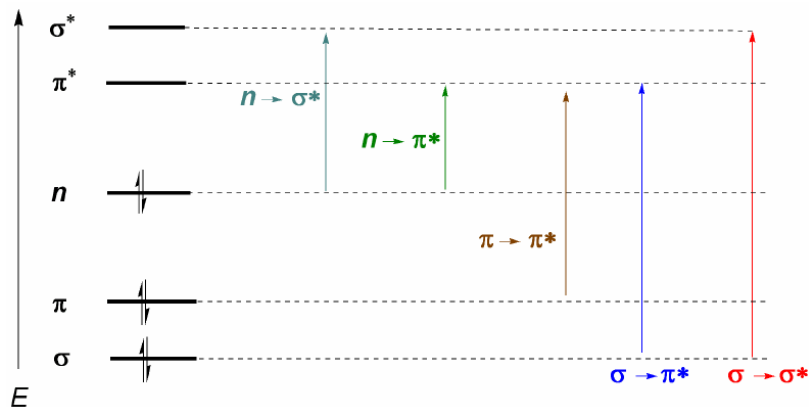


Figura 11. Niveles de transición electrónica.

los picos de absorción se pueden correlacionar con los distintos tipos de enlace presentes en el compuesto. Debido a ello, la espectroscopia UV-Vis se utiliza para la identificación de los grupos funcionales presentes en una molécula. Las bandas que aparecen en un espectro UV-Vis son anchas debido a la superposición de transiciones vibracionales y electrónicas

En moléculas orgánicas la absorción de radiación oscila entre los 180 y 780 nm, resultado de la interacción de fotones y electrones que participan de manera directa en la formación de enlaces. La longitud de onda a la que absorbe una especie orgánica depende de la fortaleza de los enlaces de sus electrones. Los electrones compartidos en los enlaces simples C-C o C-H están sujetos con tal firmeza que su excitación requiere energías que corresponden por debajo de 180 nm. Los electrones de enlaces dobles y triples se sujetan con menos fuerza, y por tanto se excitan mediante radiación con más facilidad. Los compuestos orgánicos saturados que contienen heteroátomos como el oxígeno, nitrógeno, azufre o halógenos, poseen electrones no compartidos que se pueden excitar mediante radiación a una longitud de entre 170 y 250 nm.

Existen varios métodos aplicables en la espectroscopia de UV-Vis. En el presente trabajo se utilizó el método de variaciones continuas, o método de Job. En donde, se mezclan soluciones de catión y ligando de manera que el volumen total y los moles totales de los reactivos sean constantes, pero la relación de los moles varía de manera sistemática. Así que la absorbancia de cada solución se mide a una longitud de onda apropiada y se corrige con respecto a la absorbancia que pudiera mostrar la mezcla si no hubiera reacción. La absorbancia corregida se presenta frente a la fracción de volumen de un reactivo, es decir:

$$V_M/(V_M+V_L)$$

donde V_M es el volumen de la solución del catión y V_L es el volumen de la solución del ligante.

Espectroscopia Infrarroja. Los espectros de infrarrojo permiten identificar cualitativamente las especies presentes en una muestra, cada especie molecular, a excepción de moléculas mononucleares como O_2 , N_2 y Cl_2 , tiene un espectro de infrarrojo característico, por lo tanto, hace de la espectroscopia infrarroja una herramienta poderosa para identificar compuestos orgánicos e inorgánicos puros. Para medir una determinada absorción infrarroja se utilizan tanto la longitud de onda (λ), en micrones (μ), como el número de onda (cm^{-1}). La

porción infrarroja del espectro electromagnético se divide en tres regiones aproximado, medio y lejano con intervalos de $12500-4000\text{ cm}^{-1}$, $4000-660\text{ cm}^{-1}$, y $660-50\text{ cm}^{-1}$, respectivamente.

El principio de esta técnica se basa en que la energía de radiación infrarroja excita los átomos provocando vibraciones de tensión y flexión entre las moléculas. Las vibraciones de tensión son cambios en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos. Las vibraciones de flexión están originadas por cambios en el ángulo que forman dos enlaces. En la figura 12 se representan los diferentes tipos de vibraciones moleculares.

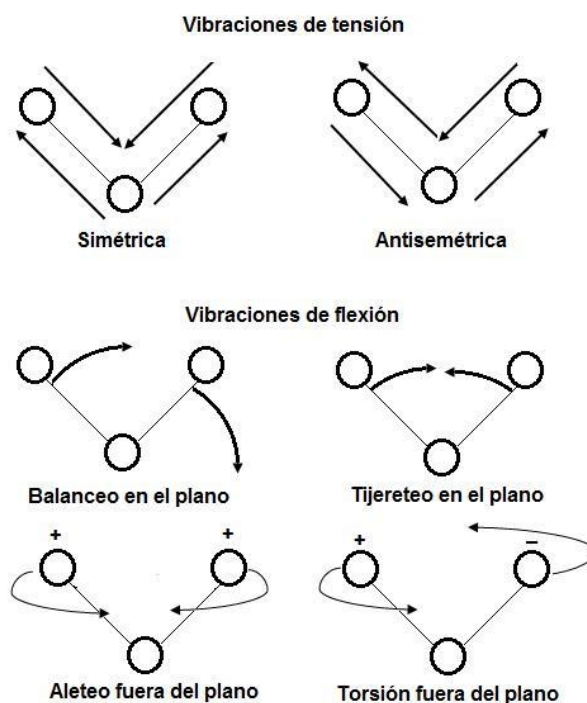


Figura 12. Tipos de vibraciones moleculares.

Espectrometría de masas. La espectrometría de masas es una técnica de análisis cualitativo de amplia utilización para determinar estructuras orgánicas. En sentido estricto del principio de la espectrometría de masas, no es propiamente un método espectroscópico, ya que no utiliza ningún tipo de radiación.

La espectrometría de masas está basada en la obtención de iones a partir de moléculas orgánicas en fase gaseosa; una vez obtenidos estos iones, se separan de acuerdo con su masa y su carga, y finalmente se detectan por medio de un dispositivo adecuado. Un espectro de

masas, será en consecuencia, una información bidimensional que representa un parámetro relacionado con la abundancia de los diferentes tipos de iones en función de la relación masa/carga de cada uno de ellos.

Los procesos que tienen lugar en un espectrómetro de masas son de naturaleza química; en consecuencia, la presencia y abundancia en el espectro de determinados tipos de iones, identificables a partir de su masa, será función de la estructura química de cada compuesto. Esencialmente, el espectrofotómetro de masas debe ser capaz de desempeñar cuatro funciones: 1) Debe ser capaz de vaporizar sustancias de volatilidades muy diferentes; 2) una vez volatilizada la muestra, debe ser capaz de originar iones a partir de las moléculas neutras en fase gaseosa; 3) ya generados los iones, debe separarlos en función de su relación masa/carga; 4) cuando los iones han sido separados el espectrofotómetro debe detectar los iones formados y registrar la información de manera adecuada. Para cumplir con dichas funciones el espectrómetro debe contar con cuatro partes importantes (figura 13): 1) entrada de muestras; 2) fuente de iones; 3) separador de iones y 4) detector.

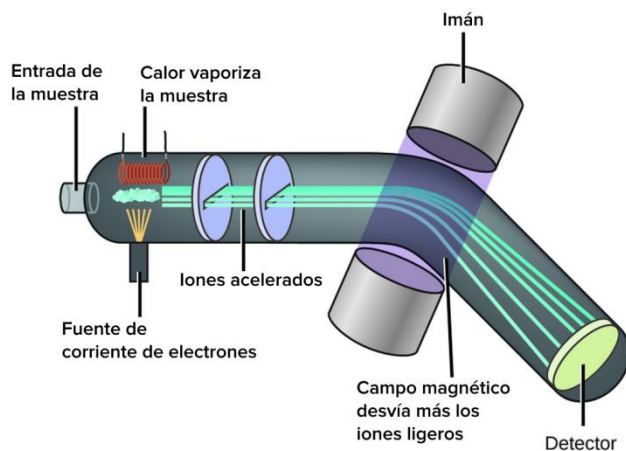


Figura 13. Espectrómetro de masas.

Difracción de rayos X. La difracción de rayos X es uno de los fenómenos físicos que se producen al interaccionar un haz de rayos X, de una determinada longitud de onda, con una sustancia cristalina. La difracción de rayos X se basa en la dispersión coherente del haz de rayos X por parte de la materia (se mantiene la longitud de onda de la radiación) y en la

interferencia constructiva de las ondas que están en fase y que se dispersan en determinadas direcciones del espacio.

El fenómeno de la difracción puede describirse con la Ley de Bragg, que predice la dirección en la que se da interferencia constructiva entre haces de rayos X dispersados coherentemente por un cristal, es decir, si un rayo incidente forma un ángulo θ con los planos el rayo reflejado también forma un ángulo θ con los planos y por lo tanto entre los rayos incidentes y reflejados es 2θ , como se observa en la figura 14.

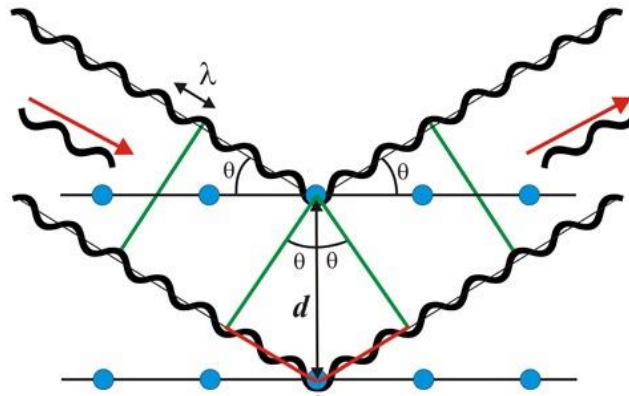


Figura 14. Dispersión de un rayo de luz sobre un conjunto de planos.

Físicamente, lo que se evidencia es el proceso de dispersión de los rayos X por la nube de electrones que rodean a los átomos del cristal; el patrón que se observa no es más que el resultado de una interferencia, ya sea, constructiva o destructiva, de la radiación dispersada por todos los átomos dentro de la periodicidad de ordenamiento en el cristal.

Debido a que existen muchos planos paralelos implicados en la dispersión de rayos X las reflexiones procedentes de los planos sucesivos interferirán entre si y habrá interferencia constructiva solo cuando la diferencia de longitud de camino óptico entre los rayos procedentes de planos sucesivos es igual a un número entero de longitudes de onda, esto se comprende en la ecuación:

$$2d \operatorname{sen} \theta = n\lambda$$

Evaluación de Capacidad Antioxidante

La actividad antioxidante de un compuesto puede evaluarse *in vitro* por medio de experimentos sencillos que examinan directamente dicha habilidad y que a la vez evalúan el posible efecto prooxidante sobre diferentes moléculas. Estos métodos deben ser rápidos, reproducibles y requerir cantidades pequeñas de los compuestos químicos por analizar, además de no estar influenciados por las propiedades físicas de dichos compuestos (Martínez, 2007).

Método ABTS (azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico): Este método se fundamenta en la capacidad de un antioxidante para estabilizar el radical catión coloreado ABTS, el cual es formado previamente por la oxidación de la sal diamonio ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)) (figura 15) con persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$). Entre las ventajas de este método está que puede ser usado en un amplio rango de pH y fuerza iónica, además de que el $ABTS^{•+}$ es soluble tanto en medio acuoso como orgánico y permite la evaluación de antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos. Entre las desventajas están que el $ABTS^{•+}$ debe ser generado *in situ*, además no es un radical fisiológico (Miller y col., 1993; Martínez Vásquez, 2007).

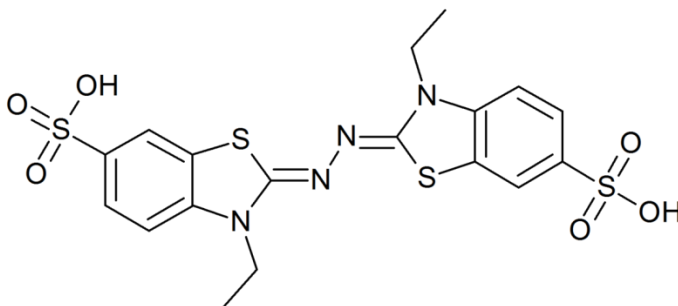


Figura 15. Estructura de la sal diamonio ABTS

Método del DPPH[•] (2,2-difenil-1-picrilhidracilo): Es uno de los pocos radicales orgánicos estable, presenta una fuerte coloración violeta, es comercialmente disponible y no tiene que ser generado *in situ* como el $ABTS^{•+}$. La reducción del DPPH[•] se monitorea por la disminución en la absorbancia a una longitud de onda característica. En su forma de radical

libre (figura 16), el DPPH[•] absorbe a 515 nm y cuando sufre reducción por un antioxidante, esta absorción desaparece.

Entre las ventajas de este método están su simplicidad y el bajo requerimiento instrumental; sin embargo, entre las desventajas están la dificultad de interpretar los resultados cuando se tienen sustancias cuyo espectro de absorción se solapa con el del radical; adicionalmente el DPPH[•] es un radical estable, centrado en nitrógeno, que dista mucho de parecerse a las especies reactivas de importancia biológica (Brand-Williams y col., 1995; Londoño, 2012).

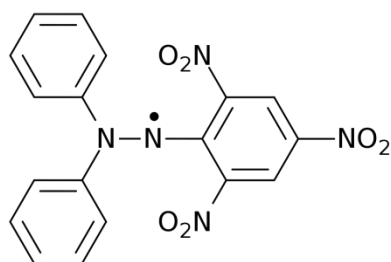


Figura 16. Estructura del radical DPPH.

METODOLOGÍA

Reactivos

Los reactivos que se utilizaron en la síntesis del ligante y los complejos, así como en los estudios espectroscópicos se encuentran disponibles comercialmente y se enuncian a continuación:

1. Ácido dietilentriaminopentaacético dianhídrido (DTPA), 99% marca Aldrich.
2. N,N-Dimetilformamida (DMF), 99% marca Fisher Scientific
3. 2,2-Dimetil-2-silapentano-5-sulfonato de sodio (DSS), 99% marca Aldrich.
4. Carbonato de sodio (Na_2CO_3), 99% marca Aldrich.
5. Ácido clorhídrico (HCl), 37% marca Fermont.
6. Alcohol etílico ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), 99% marca Baker.
7. Oxido de deuterio, 99.9%, marca Aldrich.
8. Hidróxido de sodio NaOH, 99% marca Aldrich
9. Buffer Tris, 99% marca Sigma
10. Cloruro de lantánidos, 99% marca Aldrich
 - Cloruro de Tulio (TmCl_3)
 - Cloruro de Iterbio (YbCl_3)
 - Cloruro de Europio (EuCl_3)
 - Cloruro de Gadolinio (GdCl_3)
 - Cloruro de Disprosio (DyCl_3)
11. Carbonatos de lantánidos 99% marca Aldrich
 - Carbonato de Tulio ($\text{Tm}_2(\text{CO}_3)_3$)
 - Carbonato de Iterbio ($\text{Yb}_2(\text{CO}_3)_3$)
 - Carbonato de Europio ($\text{Eu}_2(\text{CO}_3)_3$)
 - Carbonato de Gadolinio ($\text{Gd}_2(\text{CO}_3)_3$)
12. Sal diamonio ABTS (azinobis 3-etilbenzotiazolona-6-ácido sulfónico), 98% marca Sigma
13. Persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), 99% marca Baker
14. Radical DPPH' (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), 97% marca Sigma
15. Ácido etilendiamonotetraacético (EDTA), 99% marca Aldrich
16. Agua deionizada

Los reactivos se utilizaron tal y como se obtuvieron del proveedor, excepto: el DMF, el cual se trató durante 24 horas previas a la reacción con malla molecular 4-Å previamente activada a 100°C durante 24 horas, con el propósito de secar lo más posible el disolvente y con esto obtener un mayor rendimiento. El carbonato de disprosio ($\text{Dy}_2(\text{CO}_3)_3$) se sintetizó por no encontrarse disponible en el mercado y el EDTA recibió un tratamiento especial según se explica más adelante.

Equipo

1. Espectrofotómetro Perkin - Elmer Mod. Lambda 45
2. Celdas de cuarzo de 1 cm Perkin - Elmer
3. Placa de calentamiento y agitación Thermo Scientific CIMAREC
4. Agitador magnético
5. Micropipetas de 1000, 100 y 10 μL
6. Lector de microplaca Thermo Scientific Multiskan FC
7. Espectrómetro de masas Agilent Technologies modelo 6130 Quadrupole LC/MS
8. Espectrómetro FT-IR Perkin-Elmer modelo Spectrum Two
9. Balanza analítica Sartorius
10. Lector de pH Thermo Scientific
11. Difractómetro para monocristal Bruker D8 Quest

Métodos

Para obtener los complejos de lantánidos fue necesario sintetizar el ciclofano 2,12-dioxa-4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10,13-pentaaza-15,30(1,4-fenilenbismetilen oxy)[13.10]orto-ciclofano, (Cyp)H3, ya que no existe en el mercado y se obtuvo de acuerdo con la metodología reportada (Soberanes, 2015), la pureza se comprobó con punto de fusión y espectroscopia de RMN de ^1H .

Estudios de Formación de los Complejos en Solución Mediante Ultravioleta-Visible

Al llevarse a cabo la formación de los complejos ocurren cambios espectrales tanto del ciclofano como de los lantánidos. Para estudiar los cambios espectrales provocados por la complejación del ligante (L) con los iones lantánidos (M), se obtuvieron los espectros de absorción de soluciones del ciclofano y de los metales, preparadas en buffer TRIS a diferentes relaciones molares $[M]/[L]$. El pH se ajustó con un buffer TRIS y se mantuvo constante la temperatura a 25 °C y el pH 7.2. La selección del pH para estos estudios se determinó con base en el perfil de la curva de A vs pH reportada previamente (Soberanes, 2015), tomando en consideración los siguientes criterios: 1) Se seleccionó el valor de pH en una región de la curva donde se observó un máximo o mínimo bien definido y 2) Se eligió el valor de pH lo más cercano posible al pH fisiológico.

Se realizaron titulaciones espectroscópicas directamente en una celda de cuarzo, en la que se colocaron 3 mL de solución 3×10^{-5} M del ciclofano, se tomó un espectro y después se realizaron adiciones de 10 μ L de solución 9.0×10^{-4} M de cloruro de los lantánidos. La mezcla se agitó por 3 minutos con la ayuda de un agitador magnético y posteriormente se obtuvieron los espectros. El volumen total de la solución del ion metálico añadido fue de 150 μ L. Los datos obtenidos se graficaron utilizando el programa Origin Pro 8.10.2.

Síntesis de Complejos

En la síntesis de los complejos se utilizaron carbonatos de lantánidos. En el caso del carbonato de disprosio $Dy_2(CO_3)_3$, que no se encuentra disponible comercialmente, se optó por sintetizarlo, a partir de Na_2CO_3 y $DyCl_3$, de acuerdo con la siguiente metodología: se prepararon 5 mL de dos soluciones, la primera de $DyCl_3$ al 5 % y la segunda de Na_2CO_3 1 M. La solución de $DyCl_3$ se colocó en un vaso de precipitado con agitación y poco a poco se agregó la solución de Na_2CO_3 , formándose un precipitado blanco. El producto obtenido se dejó reposar por 15 minutos, posteriormente se filtró y se secó en vacío a 100 °C.

Formación de los complejos. En un vaso de precipitado se colocaron 1.4765×10^{-4} moles (0.100 g) de $(Cyp)H_3$ en 20 mL de agua deionizada y poco a poco se agregó el carbonato del lantánido correspondiente en relación 1.0:1.1, ligante:metal. La mezcla se dejó en agitación magnética a 45 °C durante 48 h. Después la solución resultante se filtró obteniendo dos fracciones: una fracción acuosa, la que se concentró hasta un volumen de 5 mL y

posteriormente se le añadió etanol, precipitando un sólido blanco el cual se filtró y se secó a vacío, y una fracción sólida que se disolvió en 20 mL de etanol, se mantuvo a temperatura ambiente esperando se consumiera el solvente, en el caso del complejo de Eu[Cyp] se formaron cristales.

Caracterización de los complejos

Espectroscopia de Infrarrojo. Los espectros de IR se obtuvieron en un equipo FTIR marca PerkinElmer modelo Spectrum Two. Las muestras fueron medidas por la técnica ATR (*Attenuated Total Reflection*).

Espectrometría de Masas. Los espectros de masas se obtuvieron en un equipo Agilent Technologies modelo 6130 Quadrupole LC/MS. Las muestras se disolvieron en Metanol:Agua (80:20) y 5 % de ácido fórmico.

Difracción de Rayos X. La difracción de rayos X de monocristal se realizó con un difractómetro para monocristal Bruker D8 Quest con detector Photon 100 con tecnología CMOS, microfuelle de radiación CuK α Incoatec, se utilizó el software APEX3 para la colecta y análisis de datos. Para la obtención de datos de cristal, longitud y ángulos de enlace se utilizó el programa Mercury 3.9.

Evaluación de Capacidad Antioxidante

Se utilizaron los radicales sintéticos ABTS^{•+} y DPPH[•] para medir la capacidad antioxidante de los complejos, para esto se prepararon soluciones acuosas de los complejos a una concentración 2 mM y pH 9.0. El pH se ajustó con una solución de NaOH 0.1 M.

El radical ABTS^{•+} se preparó pesando 3.5175×10^{-5} moles (0.0193 g) de la sal diamonio ABTS y se disolvieron en 5 mL de agua deionizada; además se pesaron 1.399×10^{-4} moles (0.0378 g) de persulfato de potasio (K₂S₂O₈) y se disolvieron en 1 mL de agua deionizada. Posteriormente se mezclaron 88 μ L de la solución de K₂S₂O₈ con los 5 mL de la solución de ABTS. La solución resultante se dejó reposando en oscuridad a temperatura ambiente durante 16 horas. Para realizarse el ensayo se tomaron 500 μ L del radical y se diluyeron con 25 mL de etanol. Para calcular la concentración inhibitoria media (IC₅₀, por sus siglas en inglés) se

realizaron curvas de cada uno de las muestras a diferentes concentraciones, 200, 100, 50, 25 y 12.5 μM . Se colocaron 25 μL de cada muestra en los pozos y se adicionaron 225 μL del radical, se tomaron lecturas a 749 nm en los tiempos: 0 y 5 minutos. Para el ensayo con DPPH \cdot la solución del radical se preparó *in situ*. Para esto se pesaron 3.8040×10^{-6} moles (0.0015 g) del radical DPPH y se disolvieron en 50 mL de metanol puro. En cada pozo de la placa se colocaron 20 μL de la muestra y 280 μL del radical. Las lecturas se tomaron a los 0 y 30 minutos. No se hizo una curva de concentración, solo se tomaron en cuenta las concentraciones máximas de cada complejo y del ligante libre.

La placa se agitó antes de cada lectura manteniéndola en obscuridad y temperatura ambiente, cada ensayo se realizó por triplicado. Utilizando un lector de microplaca de 96 pozos, Thermo Scientific Multiskan FC, se ajustó la solución de radical a una absorbancia de 0.70 ± 0.02 , y se hicieron las lecturas a una longitud de onda de 749 nm para ABTS $^{+\cdot}$ y 520 nm para DPPH \cdot . Como control positivo se utilizó ácido ascórbico.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Estudios de Coordinación del Ligante (Cyp) H_3 con los Iones Dy^{3+} , Eu^{3+} , Gd^{3+} , Tm^{3+} e Yb^{3+} Mediante Espectroscopia de UV/Vis

La formación de los complejos se estudió mediante espectrometría UV/Vis de soluciones de los iones metálicos y del ligante (Cyp) H_3 , llevando a cabo titulaciones del ligante con diferentes soluciones de los iones metálicos. En la figura 17, se muestran los espectros electrónicos de una solución del ligante (Cyp) H_3 a pH = 7.2 obtenidos mediante la titulación con una solución de $TmCl_3$. Se varió la relación molar del ion Tm^{3+} con respecto al ligante. La banda a 246 nm se atribuye a una transición de tipo $\pi-\pi^*$ del anillo aromático del ciclofano (Muthuraja y col., 2017).

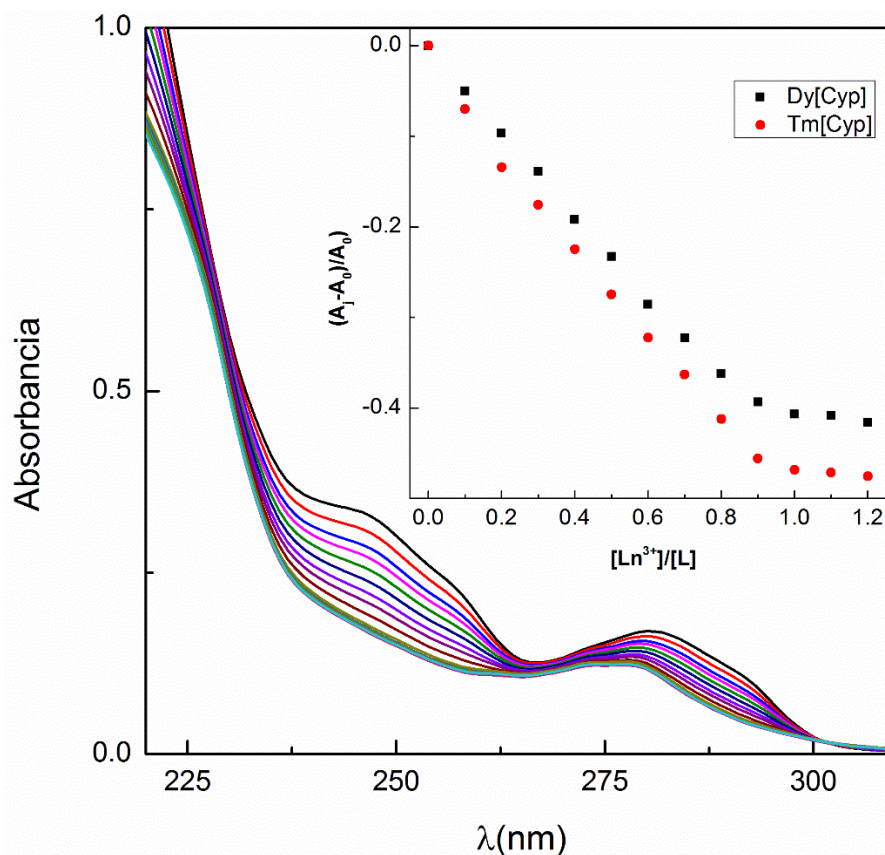


Figura 17. Espectro de absorción de (Cyp) H_3 en presencia de Tm^{3+} a diferentes relaciones molares $[Tm^{3+}]/[L]$. En el recuadro se muestran los cambios de absorbancia $(A_1 - A_0)/A_0$ vs $[Ln^{3+}]/[L]$ a 246 nm con los diferentes lantánidos: Dy^{3+} o Tm^{3+} . La relación molar $[Ln^{3+}]/[L]$ se varió de 0 a 1.5.

Esta banda (246 nm) presenta un comportamiento hipocrómico al aumentar la concentración de los iones de Tm^{3+} , alcanzando la saturación cuando la relación molar $[\text{Tm}^{3+}]/[\text{L}]$ es igual a 1. En la titulación de $(\text{c+Cyp})\text{H}_3$ con Dy^{3+} se obtuvo el mismo comportamiento y la misma relación molar. En el inserto de la figura 17 se muestra la gráfica de los cambios de absorbancia contra la relación molar $[\text{M}]/[\text{L}]$, de ambos complejos, en donde se puede apreciar claramente que tienen una estequiometría 1:1.

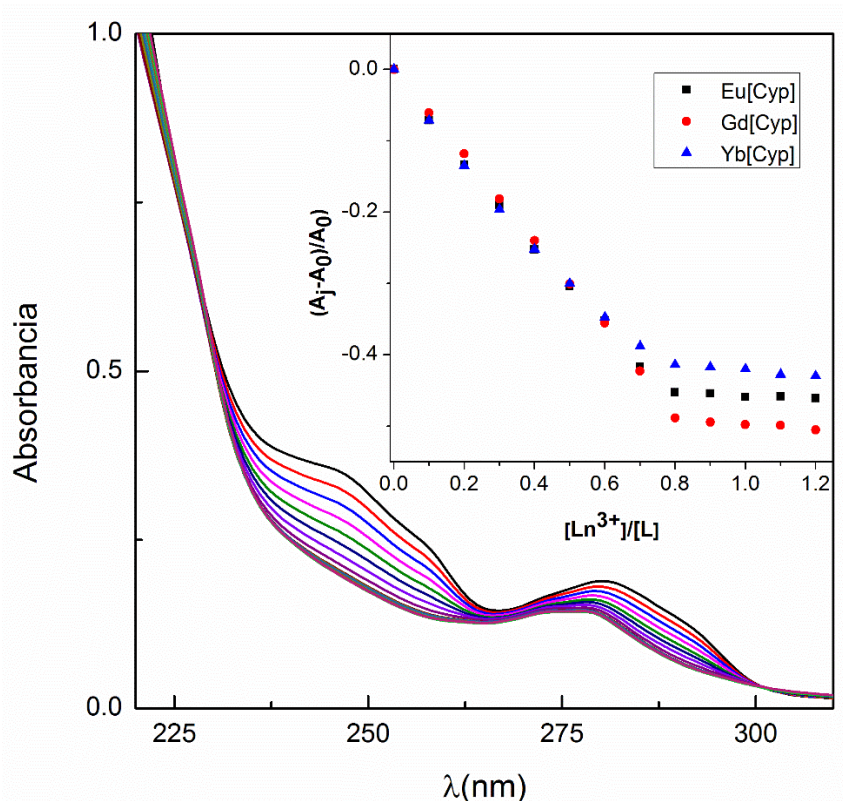


Figura 18. Espectro de absorción de $(\text{Cpy})\text{H}_3$ en presencia de Yb^{3+} a diferentes relaciones molares $[\text{Yb}^{3+}]/[\text{L}]$. En el recuadro se muestran los cambios de absorbancia $(A_1-A_0)/A_0$ vs $[\text{Ln}^{3+}]/[\text{L}]$ a 246 nm con los diferentes lantánidos: Eu^{3+} , Gd^{3+} , Yb^{3+} . La relación molar $[\text{Ln}^{3+}]/[\text{L}]$ se varió de 0 a 1.5.

Por otro lado, los espectros obtenidos de las titulaciones con los iones de Eu^{3+} , Gd^{3+} e Yb^{3+} se llega a la saturación cuando la relación molar $[\text{Ln}]_t / [\text{L}]_t \approx 0.8$. En la figura 18, se muestran los espectros obtenidos de la titulación $(\text{Cyp})\text{H}_3$ con Yb^{3+} y en el inserto de la misma se muestra la gráfica de los cambios de absorbancia contra la relación molar $[\text{M}]/[\text{L}]$ de las

titulaciones con Eu^{3+} , Gd^{3+} e Yb^{3+} de donde se deduce que tienen una estequiometría 0.8:1. En este caso se tienen dos posibles esquemas de complejación: (1) la formación de una sola especie con la estequiometría correspondiente, por ejemplo, Gd_4L_5 ; o (2) la coexistencia de dos tipos de especies como GdL y GdL_2 .

Síntesis de los Complejos

Los complejos $\text{Dy}[\text{Cyp}]$, $\text{Eu}[\text{Cyp}]$, $\text{Gd}[\text{Cyp}]$, $\text{Tm}[\text{Cyp}]$ e $\text{Yb}[\text{Cyp}]$ se sintetizaron mediante la reacción del ciclofano $(\text{Cpy})\text{H}_3$ con carbonatos de Dy^{3+} , Eu^{3+} , Gd^{3+} , Tm^{3+} e Yb^{3+} de acuerdo al procedimiento reportado por Navarro y colaboradores (Navarro y col., 2015). En la figura 19 se propone un esquema de reacción.

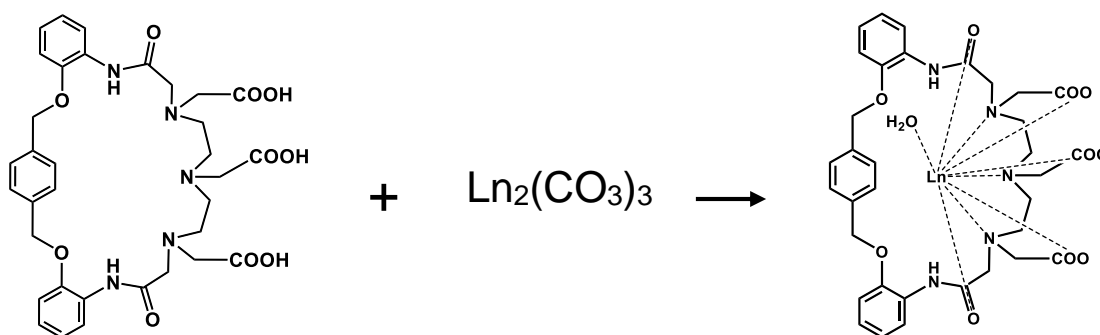


Figura 19. Esquema de reacción propuesto para $(\text{Cyp})\text{H}_3$ con carbonatos de lantánidos

Caracterización de los Complejos

De las reacciones anteriores se obtuvieron como productos, polvos de color blanco. La caracterización de estos productos se realizó mediante espectroscopia de UV-vis e IR, espectrometría de masas y punto de fusión.

En la tabla 1, se reportan los valores obtenidos del análisis de masas, rendimientos y puntos de descomposición de los complejos de Dy^{3+} , Eu^{3+} , Gd^{3+} , Tm^{3+} e Yb^{3+} . En todos los casos la señal corresponde al ion molecular esperado.

Tabla 1. Valores obtenidos de análisis de masas, rendimiento y punto de descomposición para cada complejo.

Complejos	Masas (ESI) (%)	Rendimiento (%)	Punto de descomposición (°C)
Dy[Cyp]	839 [M+H] ⁺ (31.04)	8.66	330
Eu[Cyp]	828 [M+H] ⁺ (24.01)	44.11	280
Gd[Cyp]	828 [M] ⁰ (42.20)	43.75	330
Tm[Cyp]	844 [M+H] ⁺ (20.74)	36.98	310
Yb[Cyp]	849 [M+H] ⁺ (9.64)	68.84	210

Espectroscopia de infrarrojo

Se tomaron espectros de IR de los productos obtenidos y del ciclofano. En la figura 20 a) se muestra el espectro de (Cyp)H₃ donde se puede observar las bandas características de sus principales grupos funcionales: a 3320 cm⁻¹, N-H de la amina, generada por la vibración de estiramiento, a 1675 cm⁻¹ aparece una banda intensa generada por la vibración de estiramiento del carbonilo (C=O) del grupo ácido, en 1615 y 1525 cm⁻¹ se asignaron a los grupos amida I y II respectivamente, las cuales resultan del acoplamiento de las vibraciones de flexión en el plano de N-H y el estiramiento de C=O amida y a 813 cm⁻¹ se presenta una señal que corresponde a la vibración de la flexión C-H de benceno *p*-disustituido.

Los espectros de infrarrojo de los complejos presentan prácticamente las mismas señales, en las figuras 20 y 21 se muestran los espectros de b) Dy[Cyp], c) Eu[Cyp], d) Gd[Cyp], e) Tm[Cyp] y f) Yb[Cyp], donde se pueden distinguir diferencias entre las señales de los grupos carbonilo de los grupos ácidos y las amidas con respecto a las señales del ligante. Las señales del grupo ácido que se encuentra alrededor de 1675 cm⁻¹ presente en el ligante, desaparece al formar los complejos.

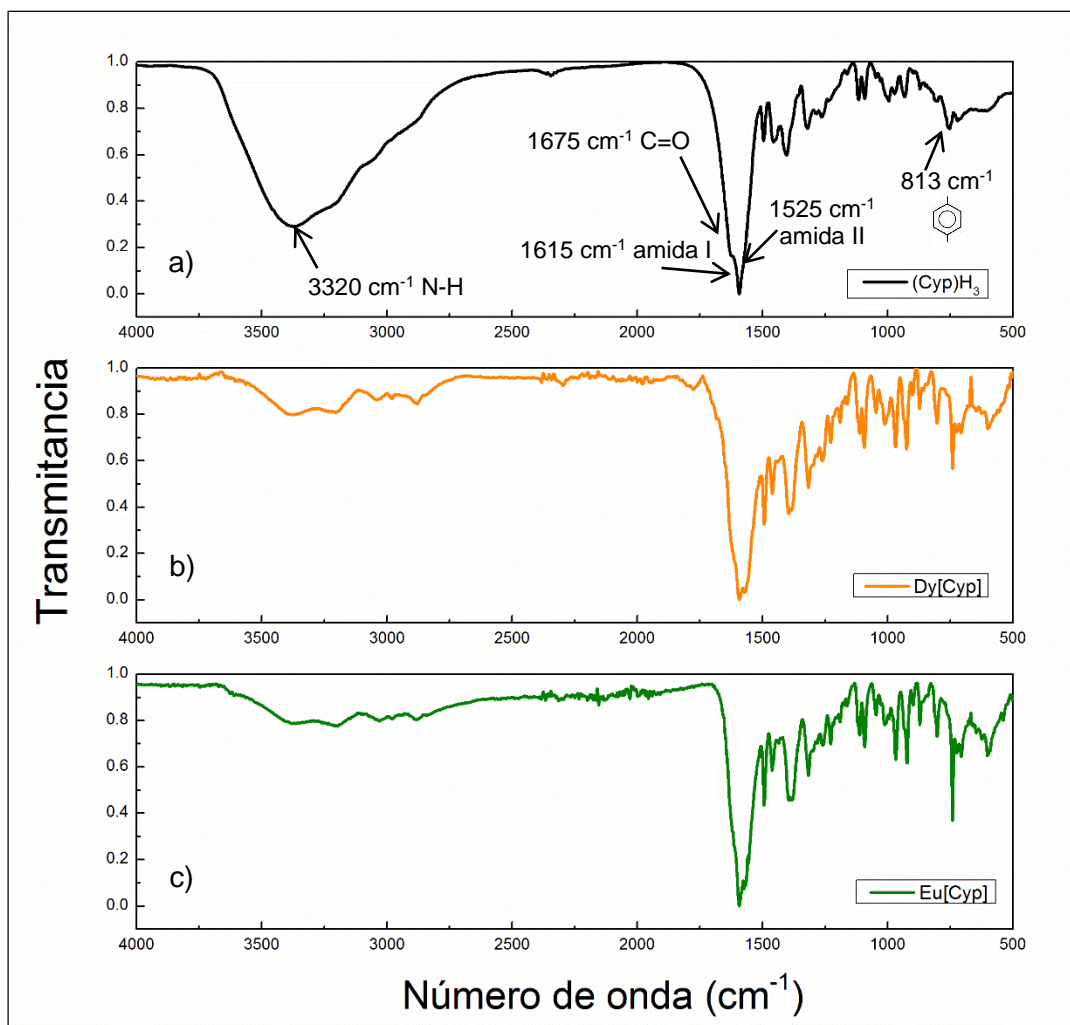


Figura 20. Espectros de infrarrojo de a) (Cyp)H₃, b) Dy[Cyp] y c) Eu[Cyp] obtenidos por ATR

En los complejos las señales de los grupos carbonilo ácido se traslapa con las señales de los grupos amida, debido a que se desplazan a menor energía, como se aprecia en las figuras 20 y 21, confirmando que existe un enlace metal-ligante (Nakamoto, 2008). Además, las señales de los complejos son más delgadas, debido a que la rigidez de la molécula aumenta al coordinar los átomos donadores del ligante con los iones de Dy³⁺, Eu³⁺, Gd³⁺, Tm³⁺ e Yb³⁺.

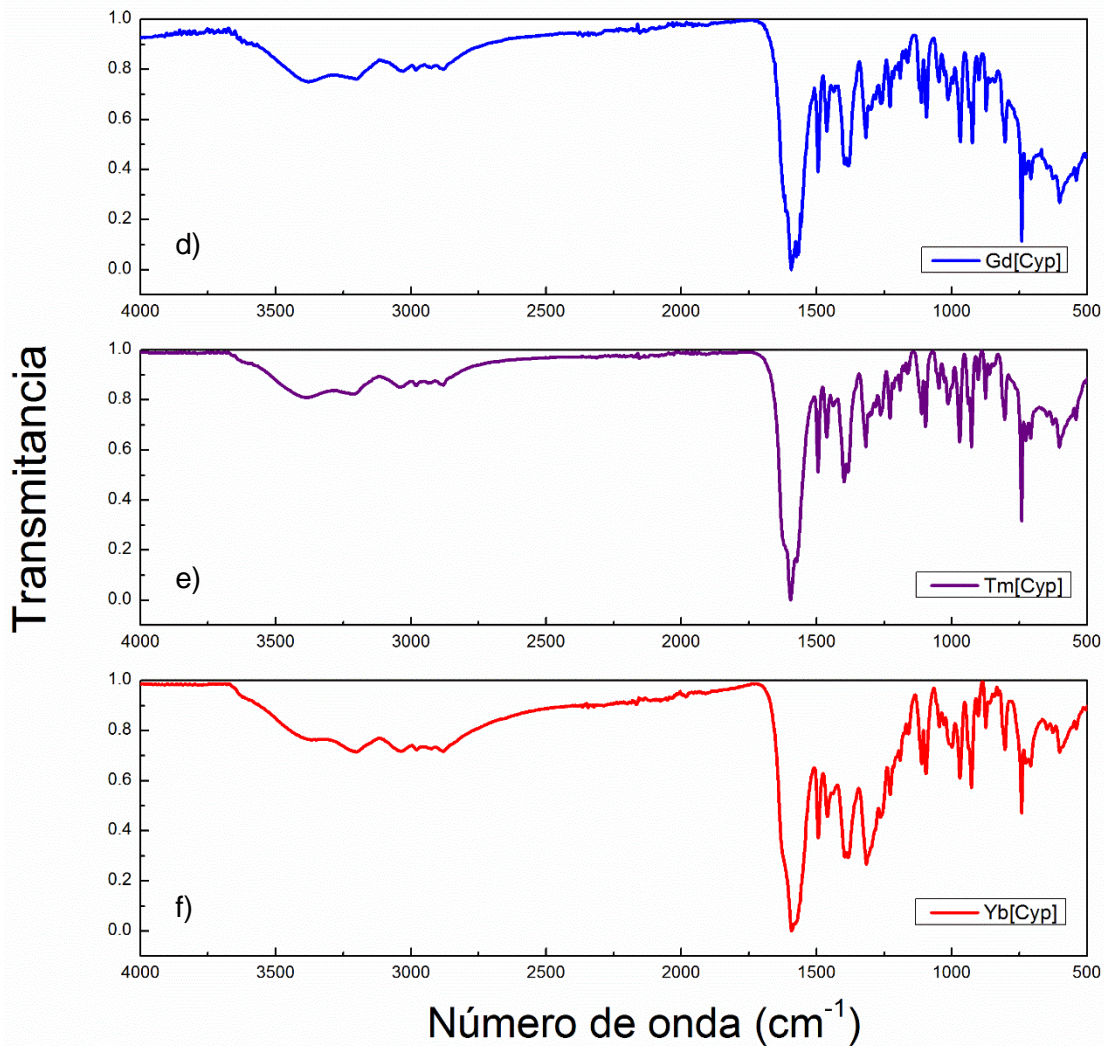


Figura 21. Espectros de infrarrojo de d) Gd[Cyp], e) Tm[Cyp] y f) Yb[Cyp] obtenidos por ATR.

Difracción de rayos X

Se obtuvo un monocristal del complejo Eu[Cyp], lo que permitió estudiar la coordinación del ciclofano (Cyp)H₃ con el ion Eu³⁺. En la figura 22 se muestran la estructura molecular del complejo obtenida de la difracción del monocristal. Los colores usados son gris, azul, rojo y cian para los átomos de carbono, nitrógeno, oxígeno y europio, respectivamente. En la estructura se puede observar y confirmar que el metal tiene una coordinación de nueve, con tres átomos de nitrógeno amino, tres átomos de oxígeno carboxilato, dos átomos de oxígeno amida y un átomo de oxígeno de una molécula de agua.

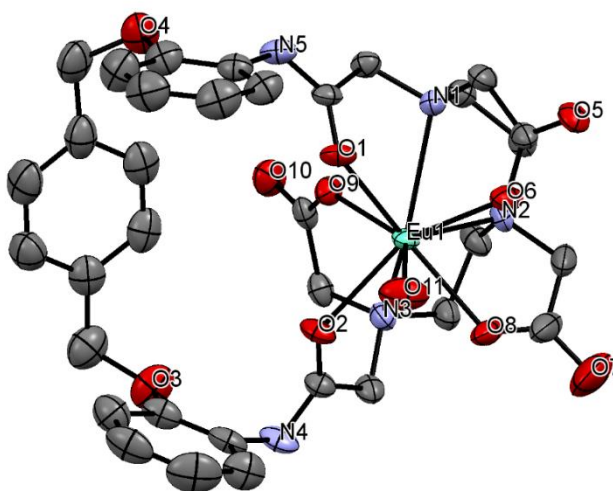


Figura 22. Estructura molecular del complejo Eu[Cyp] (diagrama ORTEP, donde los elipsoides corresponden al 50% de la probabilidad de encontrar el átomo correspondiente). Con la finalidad de observar mejor la estructura se omitieron los átomos de hidrógeno y dos átomos de carbonos que se encuentran libres.

En la figura 23 se muestra el empaquetamiento de la celda unitaria, donde se observa que cada celda contiene cuatro moléculas del complejo Eu[Cyp]. La celda unitaria tiene un sistema cristalino monoclinico con un grupo espacial $P2_1/n$, con un volumen 3990.5 \AA^3 , aristas a : 16.9138 \AA , b : 10.8054 \AA y c : 21.8835 \AA y ángulos $\alpha = \gamma = 90^\circ$ y $\beta = 93.835^\circ$. En las tablas 3 y 4 de los anexos se muestran las longitudes y ángulos de enlace del complejo respectivamente. En la estructura se pueden observar puentes de hidrogeno intermoleculares entre los átomos $N5-H5 \cdots O'10$ y $N4-H4 \cdots O'5$ con distancias de 2.814 \AA y 2.788 \AA , respectivamente, distancias que coinciden para puentes de hidrógeno repostados en la literatura (Reddy *et al.*, 2006; Muthuraja *et al.*, 2017), correspondientes a los grupos amida y los ácidos carboxílicos como se muestra en la figura 24.

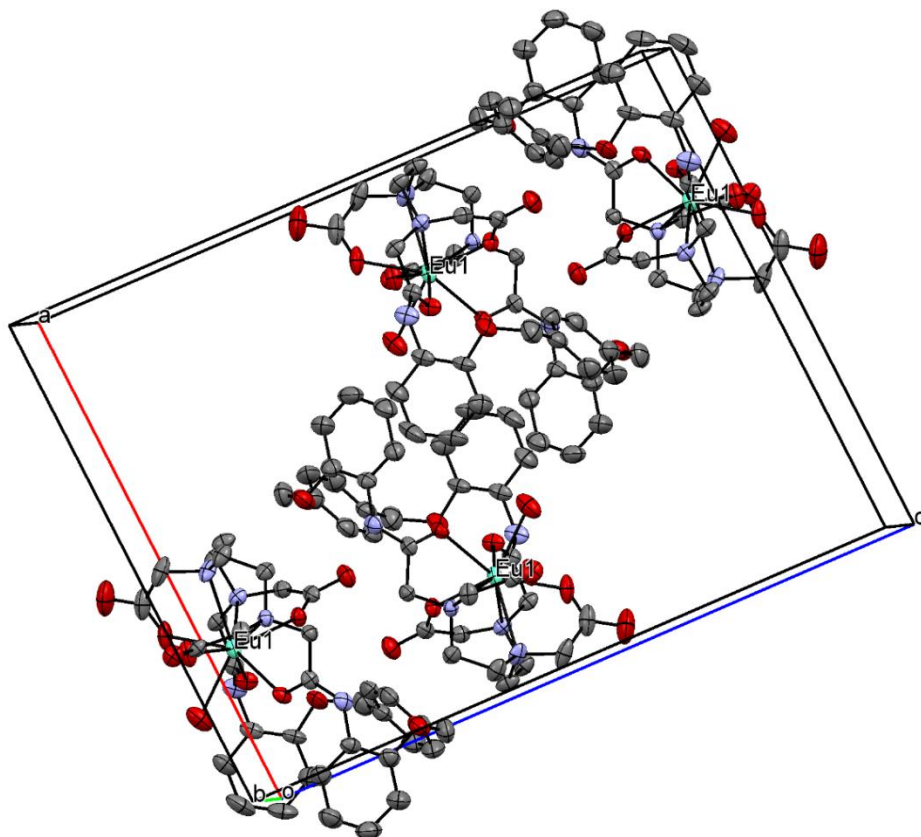


Figura 23. Empaquetamiento de la celda unitaria del complejo Eu[Cyp].

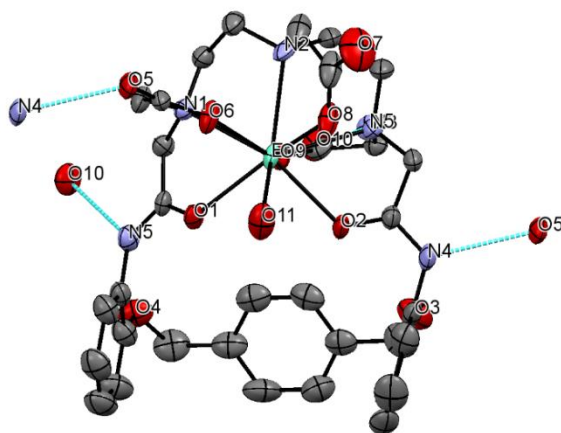


Figura 24. Puentes de hidrógeno en la estructura molecular Eu[Cyp]

Evaluación Antioxidante *in vitro*

Para el ligante (Cyp)H₃ y sus complejos Dy[Cyp], Eu[Cyp], Gd[Cyp], Tm[Cyp] e Yb[Cyp] se determinó la capacidad que tienen de estabilizar a los radicales sintéticos ABTS^{•+} y DPPH[•], mediante ensayos antioxidantes *in vitro*. En la tabla 2 se muestran los porcentajes de inhibición de cada molécula. Frente al ABTS^{•+}, tanto el ligante como sus complejos son activos, destacando (Cyp)H₃ por su alta efectividad, inhibiendo hasta un 94% del radical, a la máxima concentración evaluada. La concentración inhibitoria media (IC₅₀) para (Cyp)H₃ es de 52.78 μM. Los porcentajes de inhibición frente al radical DPPH[•], son menores en todas las moléculas evaluadas, destacando nuevamente (Cyp)H₃ como el de mayor actividad y Eu[Cyp] por su nula actividad frente a este radical.

Tabla 2 Porcentajes de inhibición promedio y desviación estándar de los radicales ABTS y DPPH

Ligante/Complejo	% de inhibición de ABTS ^{•+}	% de inhibición de DPPH [•]
(Cyp)H ₃	94.0 ± 0.2	9.3 ± 1.0
Dy[Cyp]	15.0 ± 1.0	4.5 ± 2.0
Eu[Cyp]	30.0 ± 3.2	—
Gd[Cyp]	23.0 ± 1.8	3.4 ± 1.5
Tm[Cyp]	13.0 ± 1.2	4.0 ± 1.1
Yb[Cyp]	42.0 ± 3.1	3.4 ± 2.1

Para el ensayo frente al radical ABTS^{•+}, la concentración evaluada fue de 200 μM y para el ensayo frente a DPPH[•] fue de 133 μM. Se utilizó ácido ascórbico como control positivo

CONCLUSIONES

Se estudió la formación de los complejos entre el ciclofano (Cyp)₃ y los iones lantánidos Dy³⁺, Eu³⁺, Gd³⁺, Tm³⁺ e Yb³⁺ en solución mediante espectroscopia de UV-Vis. Se obtuvo una estequiometría [Ln] t / [L] t ≈ 1 para (Cyp)₃ con Dy³⁺ y Tm³⁺ y con los iones Eu³⁺, Gd³⁺, e Yb³⁺ se obtuvo un punto final en [Ln] t / [L] t ≈ 0.8.

La síntesis y caracterización de los complejos Dy[Cyp], Eu[Cyp], Gd[Cyp], Tm[Cyp] e Yb[Cyp] a partir del ciclofano (Cyp)₃ con carbonatos de los lantánidos se logró de manera exitosa.

Se obtuvo un monocristal del complejo Eu[Cyp] y mediante difracción de rayos X se determinó que presenta una geometría de prisma trigonal triapicada, con un número de coordinación de nueve. Las similitudes encontradas en espectroscopia UV-Vis e IR permiten suponer que todos los complejos presentan los mismos modos de coordinar.

Se logró medir por técnicas *in vitro*, la capacidad de los complejos Dy[Cyp], Eu[Cyp], Gd[Cyp], Tm[Cyp] e Yb[Cyp], así como del ligante (Cyp)₃, de inhibir los radicales sintéticos ABTS^{•+} y DPPH[•]. Siendo el ligante sin acomplejar capaz de inhibir en mayor porcentaje ambos radicales, logrando un porcentaje de 94 ± 0.2 frente a ABTS^{•+} y un 9.3 ± 1.0 frente a DPPH[•]. Las diferencias en los porcentajes de inhibición entre ensayos antioxidantes, puede deberse a las diferencias estructurales entre ambos radicales, ya que la disposición espacial del sitio radical en la molécula de DPPH[•] puede representar un impedimento estérico para los posibles antioxidantes evaluados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARVÍZU-SANTAMARÍA, A. G. y col. Complexation of neurotransmitters – dopamine, serotonin and melatonin – with a DTPA-based cyclophane of high rigidity: 1H NMR shift and line-broadening. **Supramolecular Chemistry**, v. 29, n. 9, p. 658-667, 2017/09/02 2017. ISSN 1061-0278. Disponível em: < <https://doi.org/10.1080/10610278.2017.1332368> >.

AULSEBROOK, M. L. y col. Lanthanide complexes for luminescence-based sensing of low molecular weight analytes. **Coordination Chemistry Reviews**, 2017/12/06/ 2017. ISSN 0010-8545. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0010854517305519> >.

AVELLO, M. Y. S., MARIO. **Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección.**: 161-172 p. 2006.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. USE OF A FREE-RADICAL METHOD TO EVALUATE ANTIOXIDANT ACTIVITY. **Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1995QH21700005 >.

CARAC; ANDREEA, E. A. **Spectral Study of Some Lanthanides Complexes with Quaternary Pyridinium Ligands.** 10: 2265-2269 p. 2017.

DOS SANTOS, C. M. G. y col.. Recent developments in the field of supramolecular lanthanide luminescent sensors and self-assemblies. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 252, n. 23, p. 2512-2527, 2008/12/01/ 2008. ISSN 0010-8545. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0010854508001379> >.

DURAZO-BUSTAMANTE, B. A. y col. New DTPA-derived bis-naphthalenophanes: fluorescence, protonation, and complexation with aromatic amines. **Journal of Inclusion**

Phenomena and Macrocyclic Chemistry, v. 89, n. 1, p. 157-166, 2017/10/01 2017. ISSN 1573-1111. Disponible em: < <https://doi.org/10.1007/s10847-017-0742-4> >.

GLEITER, R.; HOPF, H. **Modern Cyclophane Chemistry**. Wiley, 2006. ISBN 9783527604630. Disponible em: < <https://books.google.com.mx/books?id=tpJlblu4d2EC> >.

HEFFERN, M. C.; MATOSZIUK, L. M.; MEADE, T. J. Lanthanide Probes for Bioresponsive Imaging. **Chemical Reviews**, v. 114, n. 8, p. 4496-4539, 2014/04/23 2014. ISSN 0009-2665. Disponible em: < <http://dx.doi.org/10.1021/cr400477t> >.

HERNÁNDEZ-MOLINA, Y.; FERRER-SERRANO, A.; BLANCO-PONCE, M. Nuevo macrociclo tipo amino/amida: síntesis, caracterización y constantes de acidez/basicidad. **Revista Cubana de Química**, v. 26, p. 32-36, 2014. ISSN 2224-5421. Disponible em: < http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212014000100005&nrm=iso >.

LINDOY, L. F. **The Chemistry of Macrocyclic Ligand Complexes**. 1989.

LONDOÑO, J. Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. In: LASALLISTA, C. U. (Ed.), 2012. cap. 9, p.131-162. (978-958-8406-14-5).

MARTÍNEZ VÁSQUEZ, J. B. **Evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de *Heliocarpus terebinthinaceus***. 2007. 68 (Ingeniería). Universidad Tecnológica de la Mixteca, Oaxaca, México.

MILLER, N. J. y col. A NOVEL METHOD FOR MEASURING ANTIOXIDANT CAPACITY AND ITS APPLICATION TO MONITORING THE ANTIOXIDANT STATUS IN PREMATURE NEONATES. **Clinical Science**, v. 84, n. 4, p. 407-412, Apr 1993. ISSN 0143-5221. Disponible em: < <Go to ISI>://WOS:A1993KX36600007 >.

MUTHURAJA, P. y col. Hydrogen bonding interactions and supramolecular assemblies in 2-amino guanidinium 4-methyl benzene sulphonate crystal structure: Hirshfeld surfaces and computational calculations. **Journal of Molecular Structure**, v. 1146, p. 723-734, 2017/10/15/

2017. ISSN 0022-2860. Disponible em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022286017308360> >.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds, Part A: Theory and Applications in Inorganic Chemistry.** Wiley, 2008. ISBN 9780470405796. Disponible em: < <https://books.google.com.mx/books?id=9t3h8pVgnyQC> >.

NAVARRO, R. E. y col. Isomeric DTPA-amide macrocycles of p-xylenediamine and their complexation with Gd³⁺. **Polyhedron**, v. 92, p. 105-110, 5/28/ 2015. ISSN 0277-5387. Disponible em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0277538715001497> >.

NÚÑEZ GONZÁLEZ, C. **Diseño, síntesis y propiedades de nuevos receptores aza-, oxaza- y tioaza- macrocíclicos y de sus complejos metálicos.** 2009. 3-5 (Doctor). Departamento de Química Inorgánica, Universidad Santiago de Compostela

PATIL, S. A.; PATIL, R. Medicinal applications of (benz)imidazole- and indole-based macrocycles. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 89, n. 4, p. 639-649, Apr 2017. ISSN 1747-0277. Disponible em: < <Go to ISI>://WOS:000397857300019 >.

REDDY, L. S. y col. Hydrogen Bonding in Crystal Structures of N,N'-Bis(3-pyridyl)urea. Why Is the N-H...O Tape Synthons Absent in Diaryl Ureas with Electron-Withdrawing Groups? **Crystal Growth & Design**, v. 6, n. 1, p. 161-173, 2006/01/01 2006. ISSN 1528-7483. Disponible em: < <https://doi.org/10.1021/cg0580152> >.

SALAZAR-MEDINA, A. J. y col. Antioxidant Capacity of Two Novel Bioactive Fe (III)-Cyclophane Complexes. **Molecules**, v. 18, n. 2, p. 1762-1774, 2013.

SMITH, K. K. y col. Spectroscopic investigations of molecular association of cyclophanes with anthracene. **Arkivoc**, p. 179-190, 2010. ISSN 1551-7004. Disponible em: < <Go to ISI>://WOS:000284106100014 >.

SOBERANES, Y. **Síntesis de Macrociclos Tipo ciclofanos y sus Complejos con Cationes de Gd³⁺ y Eu³⁺**. 2015. (Dortorado). Departamento en Investigación de Polímero y Materiales, Universidad de Sonora

SOBERANES, Y. y col. Fluorescent aza-cyclophanes derived from diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA), and their complexation with Gd(III). **Polyhedron**, v. 35, n. 1, p. 130-136, 3/16/ 2012. ISSN 0277-5387. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0277538712000320> >.

SUGICH-MIRANDA, R. y col. Antioxidant capacity of binuclear Cu (II)-cyclophanes, insights from two synthetic bioactive molecules. **Journal of biochemical and molecular toxicology**, v. 24, n. 6, p. 379-383, 2010. ISSN 1099-0461.

WERNER, E. J. et al. High-Relaxivity MRI Contrast Agents: Where Coordination Chemistry Meets Medical Imaging. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 47, n. 45, p. 8568-8580, 2008. ISSN 1521-3773.

WU, Y. y col. A responsive europium (III) chelate that provides a direct readout of pH by MRI. **Journal of the American Chemical Society**, v. 132, n. 40, p. 14002-14003, 2010. ISSN 0002-7863.

ZAUER, E. A. Cyclophanes: Simulation of the Formation Enthalpy by Quantum-Chemical Methods. **Russian Journal of General Chemistry**, v. 87, n. 5, p. 918-922, May 2017. ISSN 1070-3632. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000405400000004 >.

ANEXOS

Tabla 3. Distancia de enlace del complejo Eu[Cyp]

Átomo	Átomo	Distancia(Å)	Átomo	Átomo	Distancia (Å)
Eu1	O1	2.488(5)	N2	C4	1.488(11)
Eu1	O9	2.331(5)	O3	C14	1.373(10)
Eu1	O2	2.420(5)	O3	C15	1.467(13)
Eu1	O6	2.390(6)	C8	C7	1.501(11)
Eu1	O8	2.365(6)	C1	C2	1.517(11)
Eu1	N3	2.767(7)	C9	C14	1.374(13)
Eu1	N1	2.662(6)	C9	C10	1.385(12)
Eu1	N2	2.622(7)	C28	C23	1.376(13)
Eu1	O11	2.475(7)	C28	C27	1.378(12)
O1	C1	1.237(9)	C34	C33	1.522(12)
O9	C34	1.253(10)	O7	C32	1.248(13)
O2	C8	1.243(9)	C14	C13	1.380(13)
O5	C30	1.252(10)	C3	C4	1.498(12)
O6	C30	1.263(10)	C6	C5	1.519(12)
O8	C32	1.265(14)	C17	C16	1.368(15)
O10	C34	1.239(10)	C17	C18	1.404(17)
N3	C7	1.479(10)	C16	C21	1.394(15)
N3	C33	1.463(10)	C16	C15	1.494(16)
N3	C6	1.477(10)	C31	C32	1.514(16)
O4	C23	1.384(11)	C23	C24	1.375(14)
O4	C22	1.447(13)	C10	C11	1.376(17)
N1	C29	1.471(10)	C20	C21	1.360(16)
N1	C2	1.473(10)	C20	C19	1.400(15)
N1	C3	1.493(10)	C18	C19	1.380(16)
N5	C1	1.344(11)	C13	C12	1.401(15)
N5	C28	1.423(11)	C25	C26	1.356(17)
N4	C8	1.326(11)	C25	C24	1.391(16)

N4	C9	1.432(11)	C27	C26	1.397(14)
C29	C30	1.515(12)	C19	C22	1.495(17)
N2	C5	1.489(12)	C12	C11	1.355(18)
N2	C31	1.486(11)			

Tabla 4. Ángulos de enlace del complejo Eu[Cyp]

Átomo	Átomo	Átomo	Ángulo (°)	Átomo	Átomo	Átomo	Ángulo (°)
O1	Eu1	N3	137.11(19)	C31	N2	C4	109.4(7)
O1	Eu1	N1	62.36(18)	C4	N2	Eu1	111.5(5)
O1	Eu1	N2	130.8(2)	C4	N2	C5	109.3(7)
O9	Eu1	O1	78.61(18)	C14	O3	C15	117.5(8)
O9	Eu1	O2	82.1(2)	O2	C8	N4	122.3(8)
O9	Eu1	O6	135.41(19)	O2	C8	C7	121.0(7)
O9	Eu1	O8	131.9(2)	N4	C8	C7	116.7(7)
O9	Eu1	N3	63.49(19)	O1	C1	N5	124.1(7)
O9	Eu1	N1	70.49(19)	O1	C1	C2	121.4(7)
O9	Eu1	N2	84.8(2)	N5	C1	C2	114.5(7)
O9	Eu1	O11	139.8(3)	C14	C9	N4	120.1(7)
O2	Eu1	O1	95.72(19)	C14	C9	C10	120.2(9)
O2	Eu1	N3	61.35(19)	C10	C9	N4	119.7(9)
O2	Eu1	N1	147.4(2)	N3	C7	C8	107.1(6)
O2	Eu1	N2	127.5(2)	C23	C28	N5	118.2(8)
O2	Eu1	O11	70.8(2)	C23	C28	C27	120.2(8)
O6	Eu1	O1	85.6(2)	C27	C28	N5	121.5(8)
O6	Eu1	O2	141.3(2)	O5	C30	O6	124.3(8)
O6	Eu1	N3	135.6(2)	O5	C30	C29	117.5(7)
O6	Eu1	N1	65.23(19)	O6	C30	C29	118.2(7)
O6	Eu1	N2	74.6(2)	O9	C34	C33	116.6(7)
O6	Eu1	O11	72.2(2)	O10	C34	O9	124.6(8)
O8	Eu1	O1	148.9(2)	O10	C34	C33	118.8(8)

O8	Eu1	O2	84.6(2)	N3	C33	C34	112.7(6)
O8	Eu1	O6	75.5(2)	O3	C14	C9	114.2(8)
O8	Eu1	N3	69.5(2)	O3	C14	C13	125.0(9)
O8	Eu1	N1	126.9(2)	C9	C14	C13	120.8(8)
O8	Eu1	N2	67.7(2)	N1	C2	C1	107.1(6)
O8	Eu1	O11	75.5(3)	N1	C3	C4	110.2(7)
N1	Eu1	N3	117.3(2)	N3	C6	C5	110.0(7)
N2	Eu1	N3	67.3(2)	C16	C17	C18	121.0(11)
N2	Eu1	N1	68.4(2)	C17	C16	C21	118.1(11)
O11	Eu1	O1	75.4(2)	C17	C16	C15	120.2(10)
O11	Eu1	N3	122.0(2)	C21	C16	C15	121.6(10)
O11	Eu1	N1	120.7(2)	N2	C5	C6	112.4(8)
O11	Eu1	N2	135.3(3)	N2	C31	C32	114.0(8)
C1	O1	Eu1	120.4(5)	C28	C23	O4	116.5(8)
C34	O9	Eu1	132.4(5)	C24	C23	O4	123.0(9)
C8	O2	Eu1	124.0(5)	C24	C23	C28	120.4(9)
C30	O6	Eu1	127.4(5)	C11	C10	C9	119.8(11)
C32	O8	Eu1	123.2(6)	C21	C20	C19	121.7(11)
C7	N3	Eu1	105.3(4)	N2	C4	C3	112.4(7)
C33	N3	Eu1	109.5(5)	C20	C21	C16	121.1(10)
C33	N3	C7	109.9(6)	C19	C18	C17	120.9(11)
C33	N3	C6	112.1(7)	C14	C13	C12	117.6(11)
C6	N3	Eu1	109.3(5)	C26	C25	C24	119.7(10)
C6	N3	C7	110.6(6)	C28	C27	C26	118.8(10)
C23	O4	C22	117.3(8)	C20	C19	C22	122.2(11)
C29	N1	Eu1	111.5(4)	C18	C19	C20	117.2(12)
C29	N1	C2	109.9(6)	C18	C19	C22	120.5(10)
C29	N1	C3	111.4(6)	O8	C32	C31	119.4(8)
C2	N1	Eu1	107.9(4)	O7	C32	O8	124.5(12)
C2	N1	C3	109.2(6)	O7	C32	C31	116.1(11)
C3	N1	Eu1	106.8(4)	C11	C12	C13	122.0(10)

C1	N5	C28	125.7(7)	C25	C26	C27	121.1(10)
C8	N4	C9	122.2(7)	C23	C24	C25	119.7(11)
N1	C29	C30	114.2(6)	O4	C22	C19	112.9(9)
C5	N2	Eu1	110.4(5)	C12	C11	C10	119.6(9)
C31	N2	Eu1	107.1(6)	O3	C15	C16	113.9(10)
C31	N2	C5	109.1(7)				
