



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

FACULTAD DE CIENCIAS

Grado en Química

Memoria del Trabajo de Fin de Grado

Preparación y caracterización de complejos de Bi(III) derivados de ligandos macrocíclicos

Preparación e caracterización de complexos de Bi(III) derivados de ligandos macrocíclicos

Preparation and characterization of Bi(III) complexes derived from macrocyclic ligands

Directores: David Esteban Gómez
Carlos Platas Iglesias

ANTONELLA GAYOSO PADULA

Curso: 2016/2017 – Convocatoria: septiembre

Memoria del Trabajo de Fin de Grado en
Química por la UDC presentada por
Dña. **Antonella Gayoso Padula** en la
Facultad de Ciencias de la Universidade da
Coruña.

Septiembre 2017



D. **David Esteban Gómez** y **Carlos Platas Iglesias**, Profesores Titulares de Universidad, Profesores Titulares de Universidad, pertenecientes al Departamento de Química (Área de Química Inorgánica) de la Facultad de Ciencias de la Universidade da Coruña,

CERTIFICAN:

Que el trabajo descrito en la presente memoria, titulado “**Preparación y caracterización de complejos de Bi(III) derivados de ligandos macrocíclicos**”, fue realizado bajo su dirección por Dña. **Antonella Gayoso Padula** en los laboratorios del *Centro de Investigacións Científicas Avanzadas* (CICA) y, una vez finalizado, autorizan su presentación como *Trabajo de Fin de Grado* para optar al Título de Graduado en Química por la Universidade da Coruña.

Y para que así conste, y surta los efectos oportunos, firman el presente certificado en A Coruña a 12 de septiembre de 2016.

Dr. David Esteban Gómez

Dr. Carlos Platas Iglesias

Facultade de Ciencias

Campus da Zapateira, Rúa da Fraga nº 10, 15071, A Coruña

Agradecimientos

A mi tutor, el Dr. David Esteban Gómez, por ser tan meticuloso y cuidar cada detalle, midiendo con lupa, regla, compás, flexómetro, calibrador, escuadra, cartabón y demás utensilios de “arquitecto de las moléculas” todas y cada una de las partes que componen este trabajo. Gracias de nuevo por tu empeño en explicarme cualquiera de las dudas (por muy absurda que fuese) que me pudieran haber surgido. E incluso mil veces más, gracias por tu dedicación absoluta.

A mi también tutor, el Dr. Carlos Platas Iglesias, porque “a curiosidade non matou ó gato”, sino que lo hizo más sabio y en este caso en concreto ese “por curiosidade nada máis” nos llevó a jugar, a probar, a buscar y solucionar cualquier obstáculo que se presentase. Gracias por estar siempre dispuesto a enseñarme y a ayudarme a lo largo de este trabajo.

Gracias a Rosa Pujales por ser tan generosa, dedicar su tiempo en enseñarme cada parte del trabajo en el laboratorio y regalarme sin tapujos todo lo que sabía y alguna que otra cosa más. Gracias por las vivencias compartidas, eres una espléndida compañera y mejor amiga. También, agradecer a mis compañeros de laboratorio Mar y Alejandro porque esas vivencias también las guardo con ellos.

Al grupo de investigación QUIMOLMAT, gracias por dejarme utilizar vuestro equipo y por el trato recibido.

Darles las gracias, también, a mis compañeros de la facultad a los que me unen los mismos sentimientos, penurias y alegrías. A mis amigos, por sonreír, reír y al fin y al cabo vivir siempre a mi lado.

Agradezco, finalmente, a mi familia. A mis padres y a mis hermanos que me han apoyado, educado y querido hasta ser quien soy. Que están en cada instante, que forman parte de mí, que forman tanto de mí, que respiran y viven en mí. Gracias, este trabajo es vuestro.

Abreviaturas

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AEDT: Ácido etilendiaminetetraacético

BPI: Intensidad del pico base

c: Cuadruplete

CM: Centrada en el Metal

cv: Volumen de columna

cyclen: 1,4,7,10-tetraazaciclododecano

d: Doblete

dd: Doble doblete

DO₃A^tBu: Tri-tert-butil 2,2',2''-(1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7-triil)triacetato

DOTA: 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacetato

DTPA: Pentaacetato de dietilentriamina

H₂DODPA: Ácido 6,6'-((1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,7-diil)bis(metileno))dipicolínico

H₃DO₃A: Ácido-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7-triacético

H₂Me₂DODPA: Ácido 6,6'-((4,10-dimetil-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,7-diil)bis(metileno))dipicolínico.

HSAB: Teoría ácido-base duro-blando

IC: Índice de coordinación

IL: IntraLigando

IR: Infrarrojo

Lpy: 1,4,7,10-tetrakis(piridin-2-ilmetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecano

m: Multiplete

Me₂DODPAOMe₂: Di-metil 6,6'-((4,10-dimetil-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,7-diil)bis(metileno))dipicolinato

MPLC: Cromatografía en fase líquida de rendimiento medio

MS-ESI: Espectrometría de masas de ionización por electrospray

NETA: Ácido {4-[2-(bis-carboximetilamino)-etil]-7-carboximetil-[1,4,7]triazonan-1-il} acético

3p-C-CEPA-NCS: Ácido 2-[(carboximetil)]-[5-(4-nitrofenil-1-[4,7,10-tris-(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1-il]pentan-2-il)-amino] acético

p-SCN-Bn-CHX-A''-DTPA: Ácido [(R)-2-amino-3-(4-isotiocianatofenil)propil]-trans-(S,S)-ciclohexano-1,2-diamina-pentaacético

py: Piridina

Rdto: Rendimiento

RIT: Radioinmunoterapia

RMN: Resonancia Magnética Nuclear

s: Singlete

t: Triplete

TCMC: 1,4,7,10-tetrakis(carbamoilmetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecano

TCML: Transferencia de carga Metal-Ligando

TLE: Transferencia lineal de energía

TSAP: twisted square antiprismatic

UV-Vis: Ultravioleta-visible

δ: Desplazamiento químico

v: Número de onda

Índice

I.	RESUMEN.....	1
II.	INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....	5
	II.1. Perspectiva histórica	7
	II.2. Características del bismuto.....	7
	II.3. Química de coordinación del Bismuto(III)	9
	II.4. Química de coordinación del Bismuto(III)	14
	II.5. Emisiones nucleares y radioisótopos de bismuto.....	17
III.	OBJETIVO	23
IV.	PARTE EXPERIMENTAL.....	27
	IV.1. Disolventes y reactivos.....	29
	IV.1.1. Disolventes, reactivos y materiales empleados	29
	IV.1.2. Cronograma	30
	IV.1.3. Síntesis.....	31
	IV.1.4. Técnicas de Purificación.....	35
	IV.1.5. Técnicas de Caracterización.....	35
	IV.1.6. Estudio termodinámico de interacción con aniones	37
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
	V.1 Síntesis y caracterización	41
	V.1.1. Estructura de los complejos en estado sólido	44
	V.2 Estudio espectroscópico y termodinámico de interacción con aniones.....	47
VI.	CONCLUSIONES.....	53
VII.	ANEXO ESPECTROS	57

I. RESUMEN

Resumen

En el presente trabajo se han sintetizado y caracterizado mediante las técnicas más habituales de análisis (análisis elemental, espectrometría de masas, espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN), espectroscopia electrónica de absorción y espectroscopia de infrarrojo) tres complejos de Bi(III) derivados de la plataforma macrocíclica 1,4,7,10-tetraazaciclododecano (cyclen), y realizado un estudio espectroscópico y termodinámico de su interacción con diferentes aniones inorgánicos mediante valoraciones espectrofotométricas.

Estos complejos fueron elegidos debido a la potencial aplicación que los complejos de Bi(III) presentan en radioinmunoterapia (RIT), ya que el bismuto posee dos radioisótopos (^{212}Bi y ^{213}Bi) que presentan características óptimas para tal fin.

Resumo

No presente traballo preparáronse e caracterizáronse empregando as técnicas máis habituais de análise (análise elemental, espectrometría de masas, espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN), espectroscopia electrónica de absorción e espectroscopia de infravermello) tres complexos de Bi(III) derivados da plataforma macrocíclica 1,4,7,10-tetraazaciclododecano (cyclen), e realizouse un estudo espectroscópico e termodinámico da súa interacción con diferentes aniós inorgánicos mediante valoracións espectrofotométricas.

Estes complexos foron elixidos debido á potencial aplicación que os complexos de Bi(III) presentan en radioinmunoterapia (RIT), xa que os bismuto posúe dous radioisótopos (^{212}Bi y ^{213}Bi) que presentan características óptimas para tal fin.

Abstract

In this project, three bismuth(III) complexes derived from the macrocyclic platform 1,4,7,10-tetraazacyclododecane (cyclen) were synthesized and characterized by using the most common analytical techniques (elemental analysis, mass spectrometry, NMR spectroscopy, electronic absorption spectroscopy and infrared spectroscopy). An spectrophotometric and thermodynamic study of their interaction with different inorganic anions has been also carried out by spectrophotometric titrations.

These three complexes were chosen due to the potential application of Bi(III) complexes in radioimmunotherapy (RIT), according to the optimal properties of the ^{212}Bi y ^{213}Bi radioactive isotopes.

II. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

II.1. Perspectiva histórica

La química del bismuto es diversa, aunque quizás la menos investigada de manera sistemática dentro de los elementos pesados estables.^[1] De hecho, numerosos compuestos de bismuto se han utilizado a lo largo de la historia en diferentes campos, destacando las aplicaciones en medicina (para tratar enfermedades gastrointestinales y otras, como se comentará más adelante), cosmética (por ejemplo compuestos que contienen oxiclورو de bismuto, BiClO), metalurgia y aleaciones (por ejemplo con Sn), catalizadores, vidrio o cerámica (Bi₂O₃), semiconductores y aplicaciones en electrónica.^[2] Ciertos compuestos de bismuto se usaron de manera generalizada en medicina a comienzos del siglo XX, por ejemplo para el tratamiento de la sífilis, pero cayeron en desuso debido al desarrollo de los antibióticos.^[3] Esto es debido en gran medida a que, en comparación con otros metales pesados, el bismuto tiene una toxicidad relativamente baja. Por otra parte, en los últimos años se ha podido observar un interés creciente en el desarrollo de nuevos compuestos de bismuto con aplicaciones en radioinmunoterapia (RIT) utilizando los radioisótopos ²¹²Bi y ²¹³Bi. Para ello, se han desarrollado una serie de ligandos capaces de formar complejos estables con Bi(III) en medios acuosos.

II.2. Características del bismuto

El bismuto es un elemento metálico o semimetálico perteneciente al grupo 15 de la Tabla Periódica. Al descender en el grupo se observa una tendencia al aumento del carácter metálico y la estabilidad de los estados de oxidación inferiores. La configuración electrónica en el estado fundamental del elemento es [Xe]4f¹⁴5d¹⁰6s²6p³, pero los estados de oxidación predominantes en la química del bismuto son +3 y +5, aunque en la mayoría de los compuestos los electrones 6p están involucrados en la formación de enlaces y el bismuto se presenta como Bi(III) con configuración electrónica [Xe]4f¹⁴5d¹⁰6s². A temperatura y presión ambiente, el bismuto es un sólido gris con una estructura cristalina que se parece a la del fósforo negro. En la naturaleza el bismuto se encuentra en menas sulfuradas como la bismutina (Bi₂S₃) y en forma de óxido (bismita, Bi₂O₃). El elemento arde al aire y se combina con los halógenos para

¹ G. Briand and N. Burford, "Bismuth Compounds and Preparations with Biological or Medicinal Relevance", *Chemical Reviews*, vol. 99, no. 9, pp. 2601-2658, 1999.

² C. Housecroft, A. Sharpe and P. Gil Ruiz, *Química Inorgánica*. España: Person, 2006.

³ D. Keogan and D. Griffith, "Current and Potential Applications of Bismuth-Based Drugs", *Molecules*, vol. 19, no. 9, pp. 15258-15297, 2014.

dar los correspondientes haluros. No es atacado por ácidos no oxidantes pero reacciona con HNO_3 concentrado para dar $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ y con H_2SO_4 concentrado para producir $\text{Bi}_2(\text{SO}_4)_3$.^[2] Tiene una toxicidad mucho menor comparada con sus vecinos en la Tabla Periódica, como por ejemplo plomo, estaño, telurio, antimonio y polonio.^[4]

En relación a las energías de ionización, éstas aumentan de manera brusca tras la eliminación de los electrones p , por lo que el $\text{Bi}(\text{V})$ es un oxidante muy fuerte en disolución acuosa ($E^{\circ}_{\text{Bi}(\text{V})/\text{Bi}(\text{III})} = 2,03 \text{ V}$), y consecuentemente, resulta difícil estabilizar el estado de oxidación V en medios de relevancia biológica. En disolución acuosa, tanto en condiciones débilmente ácidas y como en básicas, las sales de bismuto se hidrolizan fácilmente. En medio acuoso muy ácido, el catión $[\text{Bi}_6(\text{OH})_{12}]^{6+}$ parece ser la especie dominante, mientras que en disoluciones fuertemente alcalinas se forma la especie $[\text{Bi}_6\text{O}_6(\text{OH})_3]^{3+}$ que, en última instancia, precipita formándose $\text{Bi}(\text{OH})_3$. Sin embargo, estas no son las únicas especies que pueden presentarse en equilibrio en disolución, ya que se han descrito también otras polinucleares y mononucleares que se forman en diferente proporción en función de la concentración y fuerza iónica del medio.^[5]

Los fármacos basados en bismuto se usan de manera rutinaria para el tratamiento de trastornos gastrointestinales, y a lo largo de la historia han sido ampliamente utilizados para tratar muchas infecciones microbianas tales como la sífilis, colitis, malaria, dispepsia, diarrea y úlceras pépticas.^[1, 4] De hecho, aparece como un componente importante en remedios para el estómago bajo el nombre de pepto-bismol o De-Nol.^[1, 3] El mecanismo exacto de acción de los productos farmacéuticos que contienen bismuto no está muy claro, pero se cree que puede formar un recubrimiento sobre el cráter de la úlcera que puede inhibir la adherencia de bacterias como *Helicobacter Pylori* (vinculada con el cáncer gástrico^[3]), y que también puede actuar uniéndose fuertemente a las proteínas del tejido conectivo y enzimas.^[4] Asimismo, se ha comprobado que esta actividad antimicrobiana se puede ver mejorada cuando el bismuto se combina con productos orgánicos que contienen tiolatos.^[3, 4]

⁴ X. Liu, M. Xiao, L. Xu, Y. Miao and R. Ouyang, "Characteristics, Applications and Determination of Bismuth", *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 16, no. 7, pp. 6679-6689, 2016.

⁵ C. Billing and I. Cukrowski, "Measurements and Modeling To Determine the Reduction Potential of Uncomplexed $\text{Bi}(\text{III})$ in Nitrate Solutions for Application in $\text{Bi}(\text{III})$ -Ligand Equilibria Studies by Voltammetry", *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 120, no. 18, pp. 4268-4278, 2016.

Aunque el bismuto no se considera tóxico (con una tolerancia de hasta 15 g por adulto), su uso a largo plazo puede causar efectos secundarios e incluso toxicidad para el cuerpo humano. Los efectos asociados a la intoxicación por bismuto incluyen cefalea, astenia, confusión, inestabilidad postural y problemas de lenguaje. El bismuto puede entrar en el sistema nervioso central y acumularse en las neuronas, células gliales, tálamo y neocórtex, provocando así efectos neurotóxicos. También es absorbido en el pulmón, bazo, esqueleto y músculo, aunque las concentraciones más altas se encuentran en el riñón y el hígado; ya que es eliminado del cuerpo humano a través de la orina y las heces.^[1] El uso de cosméticos que contienen bismuto también puede causar necrosis de la degeneración de los túbulos renales, uremia u otros síntomas.^[1, 4]

La toxicidad del bismuto depende del tipo de compuesto en el que está presente y de las cantidades del mismo absorbidas, de modo que aquellas especies de bismuto insolubles presentan una baja toxicidad comparadas con los derivados orgánicos de bismuto, debido a la mayor bioacumulación de estos últimos en el cuerpo humano. Aun así, los efectos secundarios derivados del bismuto son generalmente leves y pueden ser aliviados al terminar una terapia en la que alguno de sus derivados haya sido empleado en el tratamiento.^[1]

II.3. Química de coordinación del Bismuto(III)

Los estudios sobre la química de coordinación del Bi(III) son en general bastante escasos, sobre todo si se comparan con su vecino isoelectrónico Pb(II). Uno de los motivos por los que en la química de coordinación del Bi(III) no se ha desarrollado con más amplitud es la facilidad con la que este catión se hidroliza en disolución acuosa, incluso a pH ligeramente ácido. Como resultado, la formación de complejos en disolución acuosa requiere la reacción de las sales de bismuto (normalmente nitrato) con un ligando a menudo polidentado a valores de pH ligeramente ácidos para evitar la formación de hidroxoespecies. El ion Bi(III) se considera un ácido fronterizo dentro de la clasificación de ácidos y bases duros y blandos de Pearson.^[6] Como resultado, el Bi(III) forma complejos estables con ligandos que poseen átomos dadores duros como el oxígeno y el nitrógeno, pero en presencia de ligandos que contienen grupos tiol, tales como cisteína o glutatión, el

⁶ (a) R. G. Pearson, "Hard and Soft acid and bases", *J.Am.Chem.Soc.*, vol. 85, no. 22, pp. 3533-3539, 1963; (b) R. G. Pearson, "Hard and Soft acids and bases, HSAB, part 1: Fundamental principles", *J.Chem. Educ.*, vol. 45, no.9, pp. 581, 1968; (c) R. G. Pearson, "Hard and Soft acids and bases, HSAB, part 2: Underlying theories", *J.Chem. Educ.*, vol. 45, no. 10, pp. 643, 1968.

Bi(III) prefiere formar complejos uniéndose a grupos tiolato ($-RS^-$).^[4] De hecho, se piensa que la tiolación de Bi(III) es el principal destino bioquímico de Bi(III) en las células y fluidos biológicos.^[3]

El ion Bi(III) presenta un radio iónico relativamente grande (1,17 Å para el índice de coordinación 8),^[7] por lo que generalmente forma complejos con índices de coordinación elevados (6-10) que presentan geometrías de coordinación variables, dependiendo en gran medida de la naturaleza del ligando o ligandos, sus átomos dadores y el disolvente empleado en la síntesis. El entorno de coordinación del ion Bi(III) también se encuentra condicionado en ocasiones por la presencia del par inerte de electrones ($6s^2$), el cual puede ser estereoquímicamente activo. El efecto del par inerte se debe a la estabilización del orbital 6s debido a efectos relativistas, por lo que el par de electrones $6s^2$ está menos disponible para formar enlaces.^[3] Un ejemplo claro de las consecuencias estructurales relacionadas con la presencia de un par $6s^2$ estereoquímicamente activo lo constituye la estructura cristalina del complejo [Bi(cyclen)(ClO₄)₃(OH₂)] publicado por Hancock (**Figura II.1**, cyclen = 1,4,7,10-tetraazaciclododcano).^[8] El entorno de coordinación del ion metálico puede describirse como un antiprisma cuadrado, en el que la cara cuadrangular inferior se define por los cuatro átomos de nitrógeno y la superior por los cuatro átomos dadores de oxígeno. Esta estructura presenta distancias Bi-N relativamente cortas [Bi-N(1) = 2,375 Å; Bi-N(2) = 2,412 Å], mientras que las distancias a los átomos dadores de oxígeno son considerablemente mayores [Bi-O(1) = 2,810 Å; Bi-O(4) = 2,81 Å; Bi-O(7) = 2,690 Å]. Las largas distancias Bi-O se explican por la presencia del par $6s^2$ estereoquímicamente activo, que se dirige hacia el lado opuesto al ocupado por los átomos dadores de nitrógeno, originando una estructura que recibe el nombre de hemidirigida. La presencia del par estereoquímicamente activo se ha relacionado con la hibridación del orbital 6s con orbitales $6p$,^[8] de forma que este par electrónico se encuentra localizado preferentemente en una región del entorno del centro metálico.

⁷ R. Shannon, "Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides", *Acta Crystallographica Section A*, vol. 32, no. 5, pp. 751-767, 1976.

⁸ R. Luckay, I. Cukrowski, J. Mashishi, J. H. Reibenspies, A. H. Bond, R. D. Rogers, R. D. Hancock, "Synthesis, stability and structure of the complex of bismuth(III) with the nitrogen-donor macrocycle 1,4,7,10-tetraazacyclododecane. The role of the lone pair on bismuth(III) and lead(II) in determining co-ordination geometry", *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* vol. 5, pp. 901-908, 1997.

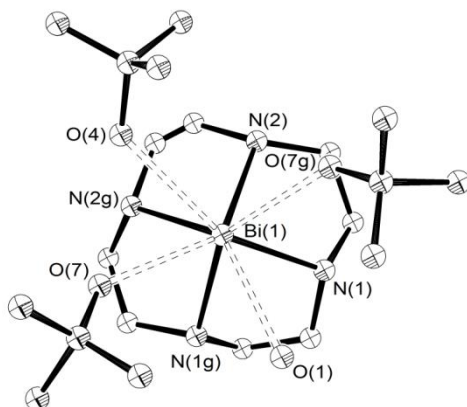


Figura II.1. Estructura cristalina del complejo $[\text{Bi}(\text{cyclen})(\text{ClO}_4)_3(\text{OH}_2)]$ publicada por Hancock. Los elipsoides se representan al nivel de probabilidad del 30%. Los átomos de hidrógeno se omiten para mejorar la visualización de la estructura.

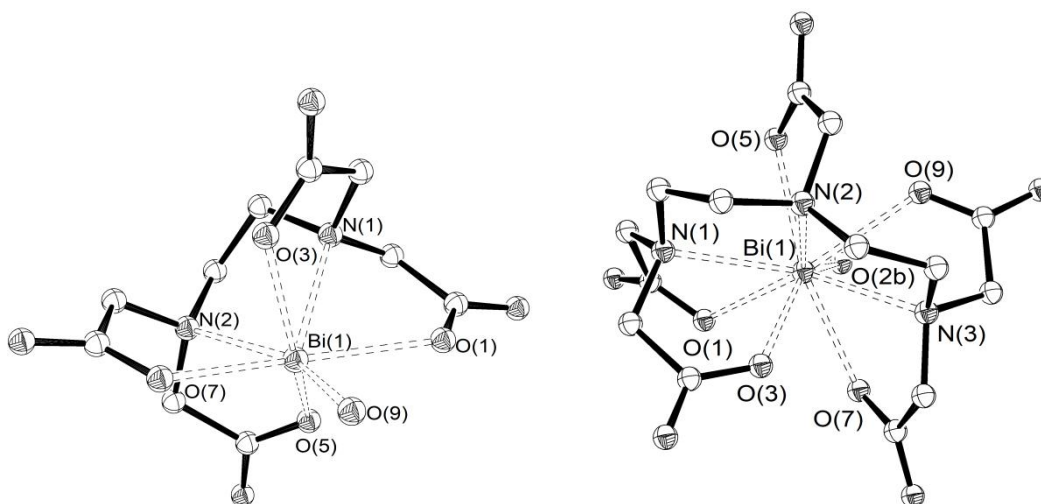
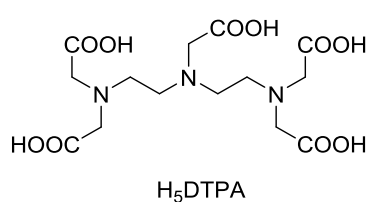
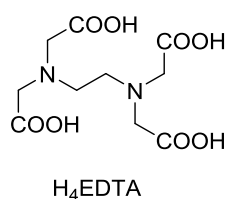


Figura II.2. Estructuras cristalinas de los complejos $[\text{Bi}(\text{AEDT})(\text{OH}_2)]$ [$\text{Bi}(1)\text{-N}(1)$ 2,487 Å; $\text{Bi}(1)\text{-N}(2)$ 2,453 Å; $\text{Bi}(1)\text{-O}(1)$ 2,487 Å; $\text{Bi}(1)\text{-O}(3)$ 2,348 Å; $\text{Bi}(1)\text{-O}(5)$ 2,362 Å; $\text{Bi}(1)\text{-O}(7)$ 2,391 Å; $\text{Bi}(1)\text{-O}(9)$ 2,639 Å] y $[\text{Bi}(\text{DTPA})(\text{OH}_2)]_2^{2-}$ [$\text{Bi}(1)\text{-N}(1)$ 2,639 Å; $\text{Bi}(1)\text{-N}(2)$ 2,535 Å; $\text{Bi}(1)\text{-N}(3)$ 2,627 Å; $\text{Bi}(1)\text{-O}(1)$ 2,563 Å; $\text{Bi}(1)\text{-O}(3)$ 2,369 Å; $\text{Bi}(1)\text{-O}(5)$ 2,479 Å; $\text{Bi}(1)\text{-O}(7)$ 2,494 Å; $\text{Bi}(1)\text{-O}(9)$ 2,598 Å; $\text{Bi}(1)\text{-O}(2b)$ 2,686 Å] con elipsoides representados al nivel de probabilidad del 30%. Los átomos de hidrógeno y contraiones se omiten para mejorar la visualización de la estructura.

Se han preparado y caracterizado un buen grupo de complejos de Bi(III) con ligandos de tipo poliaminocarboxilato, que generalmente contienen átomos dadores de O y N. En este tipo de complejos el ion metálico adopta frecuentemente números de coordinación altos (6-10) y geometrías de coordinación impuestas por la naturaleza del ligando. Los ligandos poliaminocarboxilato pueden clasificarse en dos grandes grupos, ligandos acíclicos y macrocíclicos. Los ligandos acíclicos más importantes son quizás los derivados del AEDT y DTPA (**Figura II.2**) que son potencialmente hexa- y octadentados, respectivamente. La estructura del complejo $[\text{Bi}(\text{AEDT})(\text{OH}_2)]^-$ es interesante por ser la primera estructura de un complejo de Bi(III) con un ligando poliaminocarboxilato que presenta índice de coordinación siete, que se alcanza por la coordinación del ligando hexadentado y una molécula de agua.^[9] Por su parte, el ion metálico en $[\text{Bi}(\text{DTPA})(\text{OH}_2)]^{2-}$ presenta índice de coordinación nueve, de nuevo gracias a la presencia de una molécula de agua coordinada al ion metálico.^[10]

En cuanto a los ligandos de tipo macrocíclico, los más ampliamente estudiados son los derivados de la plataforma cyclen funcionalizada con diferentes tipos de cadenas colgantes. Quizás los miembros más destacados de esta familia de complejos son los de ligandos conteniendo cadenas colgantes de tipo acetato (1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacetato, DOTA^{4-})^[11] y 2-metilpiridina (1,4,7,10-tetrakis(piridin-2-ilmetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecano, Lpy),^[12] (**Figura II.3**). De hecho el ligando DOTA^{4-} forma complejos muy estables con una amplia variedad de iones metálicos, dando lugar a diferentes aplicaciones en medicina, tanto en la preparación de fármacos para uso en el diagnóstico de diferentes patologías como para obtener agentes terapéuticos.^[11] Estructuralmente, los complejos con DOTA y sus derivados suelen presentar índices de coordinación ocho con poliedros de coordinación que se describen como antiprismas cuadrados girados (o *twisted square antiprismatic*, TSAP en inglés). En estas estructuras el ángulo de torsión de la cara cuadrangular definida por los cuatro nitrógenos del macrociclo con respecto a la cara

⁹ R. L. Davidovich, A. V. Gerasimenko, V. B. Logvinova, "Discrete complex anions $[\text{Bi}(\text{EDTA})(\text{OH}_2)]^-$ of seven-coordinate bismuth. Synthesis and crystal structure of thiosemicarbazidium ethylenediaminetetraacetatobismuthate(III) monohydrate", *Zh. Neorg. Khim.*, vol. 46, no 7, pp 1081-1086, 2001.

¹⁰ S. P. Summers, K. A. Abboud, S. R. Farrah, G. J. Palenik, "Syntheses and structures of bismuth(III) complexes with nitrilotriacetic acid, ethylenediaminetetraacetic acid, and diethylenetriaminepentaacetic acid", *Inorg. Chem.*, vol. 33, no. 1, pp. 88-92, 1994.

¹¹ E. Price and C. Orvig, "Matching chelators to radiometals for radiopharmaceuticals", *Chem. Soc. Rev.*, vol. 43, no. 1, pp. 260-290, 2014.

¹² J. Wilson, M. Ferrier, V. Radchenko, J. Maassen, J. Engle, E. Batista, R. Martin, F. Nortier, M. Fassbender, K. John and E. Birnbaum, "Evaluation of nitrogen-rich macrocyclic ligands for the chelation of therapeutic bismuth radioisotopes", *Nuclear Medicine and Biology*, vol. 42, no. 5, pp. 428-438, 2015.

cuadrangular definida por los átomos dadores de las cadenas colgantes es de unos 20° , en lugar de los 45° que se esperan para un antiprisma cuadrado.

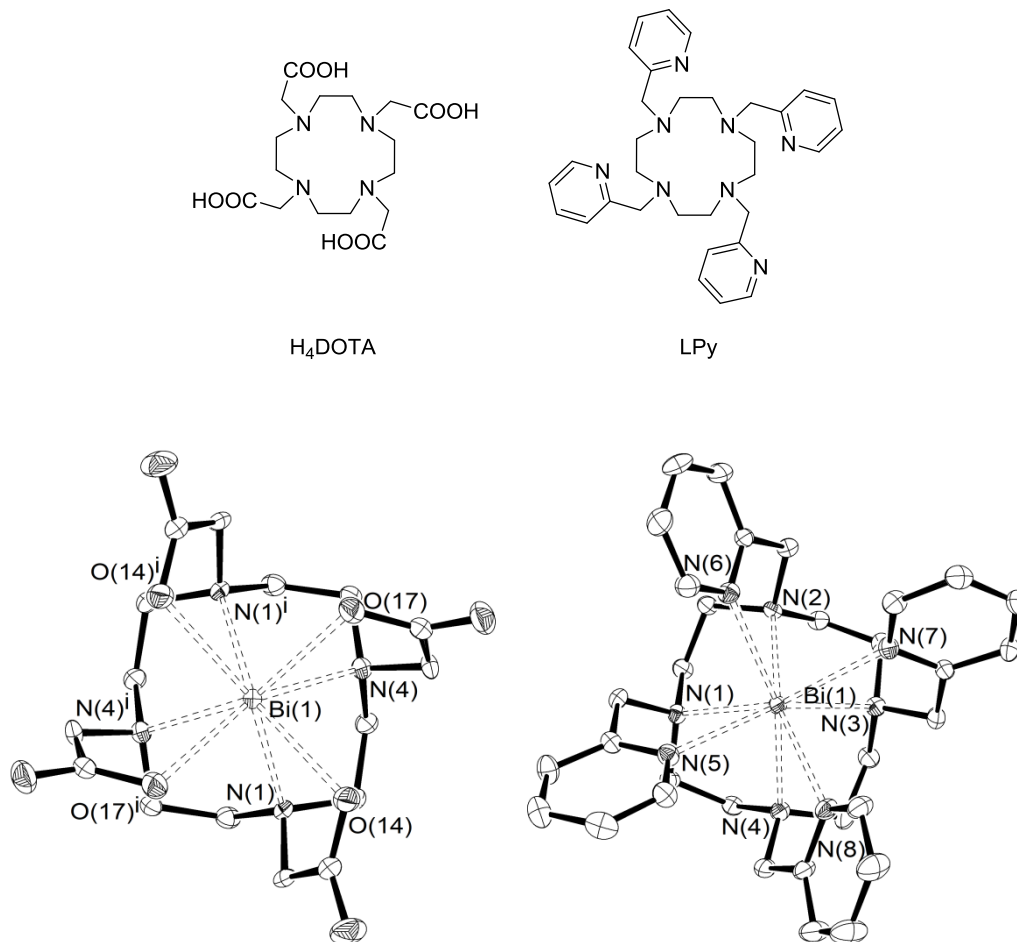


Figura II.3. Estructuras cristalinas de los complejos [Bi(DOTA)] [Bi(1)-N(1) 2,516 Å; Bi(1)-N(4) 2,535 Å; Bi(1)-O(14) 2,580 Å; Bi(1)-O(17) 2,495 Å] y [Bi(LPy)]³⁺ [Bi(1)-N(1) 2,545 Å; Bi(1)-N(2) 2,529 Å; Bi(1)-N(3) 2,532 Å; Bi(1)-N(4) 2,568 Å; Bi(1)-N(5) 2,672 Å; Bi(1)-N(6) 2,623 Å; Bi(1)-N(7) 2,660 Å; Bi(1)-N(8) 2,597 Å] con elipsoides representados al nivel de probabilidad del 30%. Los átomos de hidrógeno y contraiones se omiten para mejorar la visualización de la estructura.

Los complejos de Bi(III) con ligandos de tipo poliaminocarboxilato presentan generalmente constantes de estabilidad muy elevadas, en particular en el caso de los complejos con ligandos de tipo macrocíclico. Por ejemplo, los valores de las constantes de estabilidad $\log K_{\text{BiL}}$ toman valores de 26,7 y 30,3 para los ligandos AEDT^[13] y DOTA,^[11] respectivamente.

¹³ E. Bottari, G. Anderegg, "Complexons. XLII. Study of 1:1 complexes of some tri- and tetravalent metal ions with polyaminocarboxylates by redox measurements", *Helv. Chim. Acta*, vol. 50, no. 8, pp. 2349-2356, 1967.

II.4. Química de coordinación del Bismuto(III)

Las armas tradicionales para combatir el cáncer son la cirugía, la radioterapia externa y la quimioterapia. Sin embargo, existen tumores inoperables, enfermedades metastásicas y otras enfermedades como la leucemia que son difíciles de erradicar. El uso de la terapia de radionúclidos puede ser una alternativa efectiva para ayudar en este tipo de situaciones. La radioterapia es el uso de la radiactividad para atacar y matar células cancerosas y reducir los tumores. La radioinmunoterapia (RIT) es una combinación de radioterapia e inmunoterapia, en la que se conjuga un radionúclido con un anticuerpo monoclonal (bioconjugados de gran peso molecular capaces de interactuar selectivamente con algún receptor celular de membrana sobreexpresado en la superficie de un tumor^[14]), permitiendo la deposición específica de radionúclidos en los tumores. En ella, un radionúclido inestable se descompone con la consiguiente emisión de radiación ionizante de alta energía, de forma que la dosis de radiación se administra específicamente a las células cancerosas, siendo la energía emitida la que provoca la rotura de la doble hélice del ADN y mata a la célula. Sin embargo, es importante que esta emisión no afecte al tejido sano circundante,^[14] y por ello la RIT requiere el uso de quelatos bifuncionales, que son sistemas capaces de formar un complejo estable con el radionúclido, conteniendo además una unidad que lo dirija específicamente a las células cancerosas.^[14, 15] En general, los quelatos bifuncionales contienen cuatro componentes (**Figura II.4**)^[14]:

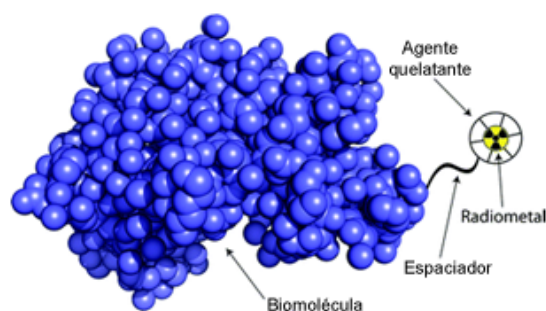


Figura II.4. Estructura resultante de la conjugación de una biomolécula con un complejo formado a partir de un quelato bifuncional.

- 1) **Radiometal:** El radiometal apropiado se elige teniendo en cuenta el objetivo del radiofármaco, ya que existen cientos de radionúclidos con gran variedad

¹⁴ C. Ramogida, C. Orvig, "Tumour targeting with radiometals for diagnosis and therapy", *Chemical Communications*, vol. 49, no. 42, p. 4720, 2013.

¹⁵ S. Hassfjell, M. Brechbiel, "The Development of the α -Particle Emitting Radionuclides ^{212}Bi and ^{213}Bi , and Their Decay Chain Related Radionuclides, for Therapeutic Applications", *Chemical Reviews*, vol. 101, no. 7, pp. 2019-2036, 2001.

de tiempos de vida media y tipos de emisiones. El radionúclido debe producirse con alta pureza química, debe poseer una alta actividad específica y debe estar fácilmente disponible para los hospitales y los centros de investigación. Además, debe tener características de descomposición favorables: la emisión de desintegración debe tener una alta ramificación de las desintegraciones, energía de decaimiento y vida media adecuadas.^[14]

- 2) **Unidad Quelatante:** Es la encargada de complejar y contener al radiometal. Las unidades quelatantes pueden clasificarse en dos grandes grupos: unidades macrocíclicas (o de cadena cerrada) y acíclicas (o de cadena abierta). Mientras que los sistemas macrocíclicos forman generalmente complejos cinéticamente más inertes con respecto a su disociación, los acíclicos suelen tener velocidades de complejación más rápidas.^[16] Los quelatos macrocíclicos sufren cambios conformacionales mínimos durante la coordinación del ión metálico, ya que poseen estructuras rígidas y un elevado grado de preorganización, lo que disminuye la pérdida de entropía durante la complejación. Por su parte, los ligandos acíclicos sufren cambios más drásticos en sus geometrías para disponer sus átomos dadores de manera adecuada para la coordinación del metal, lo que contribuye a una disminución entrópica mayor que en los macrocíclicos. Esta estabilidad termodinámica mayor de los complejos con ligandos macrocíclicos con respecto a ligandos acíclicos similares es lo que se conoce como efecto quelato.^[16] Los ligandos acíclicos presentan la habilidad de coordinar un radiometal rápidamente (a menudo en menos de 15 min a temperatura ambiente), mientras que los macrocíclicos requieren habitualmente calentamiento (60-95°C) durante tiempos prolongados (30-90 min). Esta es una cuestión que debe tenerse en cuenta, particularmente si el quelato bifuncional contiene unidades sensibles al calor o si el radioisótopo posee una vida media corta.^[11]
- 3) **Biovector:** Es generalmente una biomolécula (péptido, anticuerpo, fragmento de anticuerpo) que se une con receptores específicos sobreexpresados en la superficie de las células tumorales (antígenos), transportando así la radiactividad específicamente hacia el tumor. La elección del biovector es crucial en el desarrollo de un radiofármaco idóneo.^[14] El antígeno deseado debe estar lo suficientemente

¹⁶ J. Ribas Gispert, *Química de Coordinación*. Barcelona: Omega, 2000, p. 90.

sobreexpresado comparación con su entorno para generar una respuesta efectiva (actúa como diana) y la biomolécula conjugada o biovector debe poseer una alta afinidad por el mismo.

- 4) **Espaciador:** Es la unidad que conecta el quelato al biovector. Ésta debe ser estable en condiciones fisiológicas y no debe comprometer la afinidad de unión del biovector o la complejación del metal. A menudo, las biomoléculas poseen aminas primarias o tioles libres en su estructura para unirse con el quelato, por lo que es necesario introducir en el quelato una función que sea compatible con el grupo funcional de la biomolécula.^[14]

Para la creación de un radiofármaco eficaz, se deben tener en cuenta tanto la estabilidad termodinámica e inercia cinética del complejo ion metálico-quelato, como la unión covalente estable de la molécula quelatante a la biomolécula. La elección de la unidad quelatante debe realizarse de manera que proporcione el mejor ajuste con el radiometal en función de la química de coordinación acuosa del ion metálico en cuestión (tipo de átomos dadores, número de coordinación y geometría de coordinación), formando un complejo metal-quelato estable e inerte con respecto a su disociación.^[11,14] El radiofármaco debe funcionar como un agente único, por lo que el período de semivida biológica del biovector y el período de semidesintegración del radionúclido son cruciales. Por lo general, los radiometales con semividas largas son los más adecuados para biomoléculas con semividas biológicas largas (tales como anticuerpos), de la misma forma para los radiometales con semividas cortas se combinan preferentemente con moléculas pequeñas o péptidos.^[14]

Típicamente, la estabilidad termodinámica del complejo metálico se mide mediante valoraciones potenciométricas o espectroscopia UV-Vis, que permiten determinar los valores de las constantes termodinámicas de estabilidad que dan cuenta de la afinidad metal-quelato.^[11,14] Sin embargo, hoy en día se considera que la inercia cinética del complejo metal-quelato *in vivo* es más importante que la estabilidad termodinámica. En este sentido es importante destacar que el complejo metálico debe permanecer intacto en un entorno biológico altamente competitivo que contiene diferentes aniones, cationes, proteínas... que pueden competir con el ligando o el ión metálico y desencadenar la disociación del complejo.

Finalmente, se debe tener en cuenta la distribución del agente en el cuerpo, es decir, su biodistribución. Lo ideal es que el agente circule por el torrente sanguíneo y se acumule sólo en el tejido tumoral. El exceso de radiofármaco debe ser excretado, de modo que su acumulación en la diana de interés ocurra en una escala de tiempo

que se corresponda con la vida media del isótopo. El tamaño del metal-quelato también debe tenerse en cuenta, ya que éste puede influir en su biodistribución, y por ello es frecuente realizar estudios de biodistribución de un radiofármaco para poder determinar la cantidad y dosis de radioactividad suministrados a diferentes órganos.^[14]

La presencia de una unidad quelatante en la región de unión del anticuerpo puede afectar negativamente a su capacidad para unirse al antígeno. En consecuencia, la unión del quelato bifuncional al biovector (conjugación) es una cuestión importante. La unión al anticuerpo persigue adjuntar tantos agentes quelatantes por anticuerpo como sea posible sin comprometer la inmunoreactividad de la biomolécula.^[17] La conjugación se realiza normalmente antes de la radiometalación, de manera que se minimice la pérdida de actividad del radioisótopo debido a su desintegración. Los biovectores suelen ser sensibles a las altas temperaturas, por lo que la conjugación debe producirse a temperaturas a las que el vector conserva su integridad.^[14] Entre las posibles estrategias de conjugación, existen tres tipos que son las más utilizadas y que implican: la formación de un enlace peptídico, de una tiourea o de enlaces tioéter. La formación de un enlace peptídico implica el acoplamiento de un ácido carboxílico a una amina primaria, mientras que la segunda estrategia requiere la reacción de un isotiocianato y una amina. Finalmente, los tioéteres se forman normalmente a partir de un tiol y una maleimida.^[17]

II.5. Emisiones nucleares y radioisótopos de bismuto

Los tres tipos de emisiones nucleares pueden clasificarse en:

- Partículas alfa α : Núcleos de Helio ${}^4_2\text{He}^{2+}$ emitidos con una energía comprendida en el rango $(6-16)\times 10^{-13}$ J, lo que significa que pueden ser detenidas por unas pocas hojas de papel. Su emisión disminuye el número atómico en 2 y el número másico en 4. La pérdida de la partícula alfa va acompañada de la emisión de radiación gamma, pero esta última no afecta ni al número atómico ni al másico.

- Partículas beta β : Son electrones emitidos a partir del núcleo con elevada energía cinética). La emisión de una partícula beta va acompañada del aumento del número atómico en una unidad, dejando invariable el número másico, lo que convierte un neutrón en un protón. La energía emitida está en el intervalo $0,03-5,0\times 10^{-13}$ J, pero como son mucho más ligeras que las partículas alfa, las partículas beta viajan mucho

¹⁷ B. M. Zeglis, J. S. Lewis, "A practical guide to the construction of radiometallated bioconjugates for positron emission tomography", *Dalton Trans.* vol.40, pp. 6168-6195, 2011.

más rápido y tienen un mayor alcance (se necesita una barra de aluminio para detenerlas).

- Radiación gamma (rayos X de elevada energía). Su energía se encuentra, en el mismo intervalo que las partículas beta, pero su poder de penetración es mucho mayor (se necesita un escudo de plomo para absorber este tipo de radiación). Su emisión está asociada con frecuencia a la pérdida de partículas alfa o beta. Este fenómeno se origina porque el núclido hijo (producto de una partícula alfa o beta) se encuentra con frecuencia en un estado excitado y cuando tiene lugar la transición desde el estado excitado al fundamental, se emite energía en forma de radiación gamma.^[2]

Los emisores de partículas alfa y beta pueden ser utilizados en medicina nuclear. La cantidad de energía que se transfiere de la radiación ionizante al tejido circundante se cuantifica usando la transferencia lineal de energía (TLE), que se expresa normalmente en kiloelectronvoltios por micrómetro de tejido. Las emisiones de alta TLE disiparán su energía en el tejido cerca de donde se deposite el radionúclido ("intervalo efectivo" más corto), haciéndolo eficaz para tratar pequeños tumores y micrometástasis. Por el contrario, las emisiones de bajo TLE depositarán su energía a lo largo de una zona más amplia del tejido, en zonas más alejadas del radionúclido, haciéndolas más apropiadas para tratar tumores más grandes o mal vascularizados. Los emisores de partículas beta utilizados en radioterapia poseen generalmente TLE bajas ($0,2 \text{ keV}\cdot\mu\text{m}^{-1}$), permitiendo que las partículas alcancen distancias de aproximadamente 50 diámetros celulares. Por ello, la internalización celular es innecesaria y la aproximación del radioisótopo a membrana celular es suficiente. Esto hace que las partículas beta sean apropiadas para tratar tumores grandes o mal vascularizados. Sin embargo, su uso no es adecuado para tratar tumores pequeños ya que puede causar daños a las células vecinas sanas. Por su parte las partículas alfa poseen un TLE muy alto (alrededor de $100 \text{ keV}\cdot\mu\text{M}^{-1}$) y corto alcance, lo que convierte a los radionúclidos emisores de partículas alfa en candidatos ideales para el tratamiento de tumores pequeños.^[14, 15, 18, 19]

Como se apuntó anteriormente, el bismuto forma dos radioisótopos, ^{212}Bi y ^{213}Bi , que constituyen unos de los pocos radionúclidos emisores de partículas α con

¹⁸ M. Brechbiel, "Targeted α -therapy: past, present, future?", *Dalton Transactions*, no. 43, p. 4918, 2007.

¹⁹ T. Nikula, R. Finn, O. Gansow, R. Kozak, C. Pippin, C. Wu, M. Geerlings, C. Apostolidis, M. Curcio and D. Scheinberg, "Alpha particle emitting constructs of recombinant humanized anti-CD33 for myeloid leukemias", *Journal of Immunotherapy*, vol. 16, no. 2, p. 149, 1994.

las características adecuadas para ser utilizados como potenciales agentes terapéuticos. Ambos tienen series de decaimiento ramificadas, que resultan de la emisión de partículas α , partículas β y rayos γ (**Figura II.5**). El ^{212}Bi posee una vida media de 61 min y emite una partícula α con una energía media de 7,8 MeV desde el decaimiento de ^{228}Th al isótopo ^{208}Pb estable por una vía de doble ramificación que implica la producción de ^{208}Tl y ^{212}Po (**Figura II.5**). Se puede emplear ^{224}Ra (vida media 3,6 días) como radionúclido padre en la producción *in situ* de ^{212}Bi para el radiomarcado de quelatos bifuncionales, pues la vida media del ^{212}Bi es demasiado corta para su transporte. Una desventaja del ^{212}Bi es la emisión de rayos γ de alta energía (2,6 MeV) asociados a la generación de ^{208}Tl en un 36% de abundancia, ya que se requieren blindajes pesados para minimizar la exposición del personal a la radiación, lo que limita la utilidad clínica de este radioisótopo.^[15,18,19]

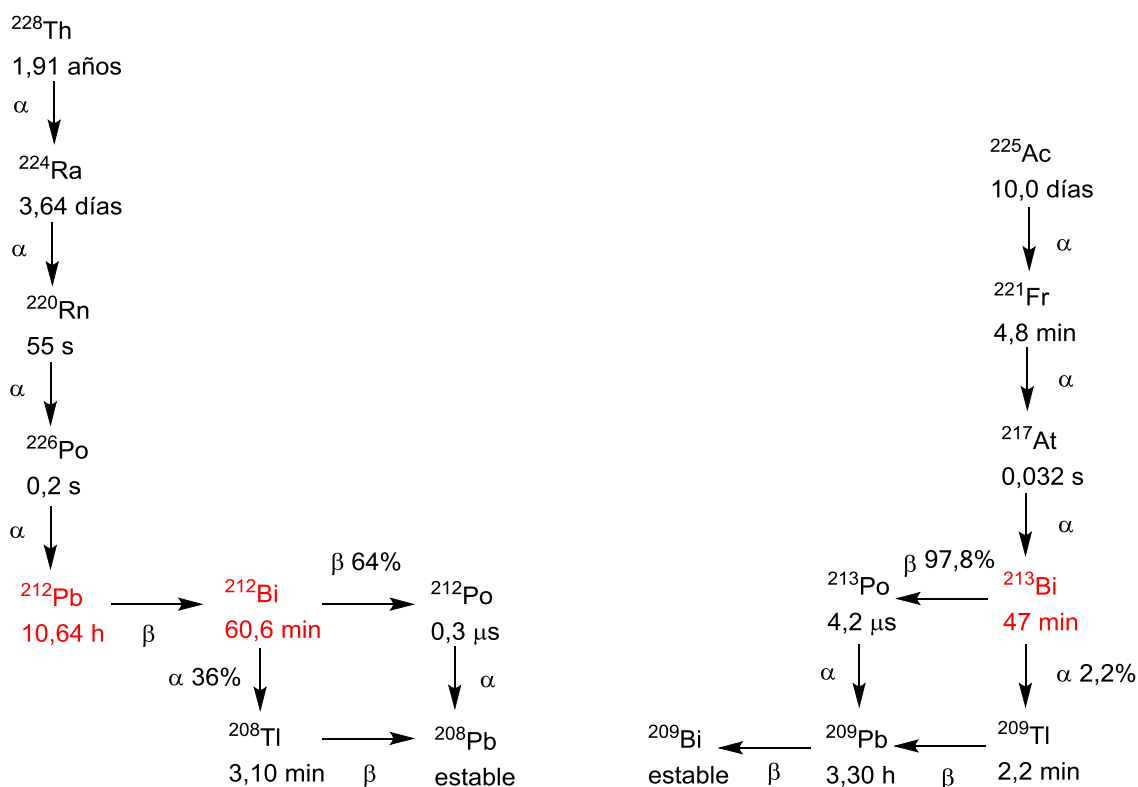


Figura II.5. Esquema de decaimiento para la producción de ^{212}Bi y ^{212}Pb (izquierda) y ^{213}Bi (derecha).

El ^{213}Bi posee una vida media de 46 min^[20] y al desintegrarse genera ^{209}Bi estable emitiendo una partícula α y dos β (**Figura II.5**). Este isótopo tiene la ventaja de emitir fotones de 440 keV que permiten realizar estudios de biodistribución y

²⁰ L. Lima, M. Beyler, R. Delgado, C. Platas-Iglesias and R. Tripier, "Investigating the Complexation of the Pb(II)/Bi(III) Pair with Dipicolinate Cyclen Ligands", *Inorganic Chemistry*, vol. 54, no. 14, pp. 7045-7057, 2015.

dosimetría, así como imagen de cámara- γ . Este isótopo se genera a partir del radionúclido padre ^{225}Ac y su corta vida media y pequeña cadena de decaimiento minimizan los efectos secundarios tóxicos que podrían surgir de los núclidos hijos de vida larga que se podrían redistribuir *in vivo*.^[15, 18]

A pesar de cumplir con algunos de los requisitos para ser utilizados como agentes terapéuticos, la corta vida media de los radioisótopos ^{212}Bi y ^{213}Bi limita sus aplicaciones a células cancerígenas que pueden ser accedidas rápidamente por el biovector. Para solventar este problema, se ha propuesto utilizar el emisor β ^{212}Pb como un generador *in situ* de ^{212}Bi *in vivo*.^[20, 21] El ^{212}Pb posee una vida media de 10,2 h y es el radionúclido parental inmediato del ^{212}Bi . La generación *in vivo* del radioisótopo de bismuto a partir de ^{212}Pb permitiría alargar en la práctica la vida media del ^{212}Bi a aproximadamente 11h.^[18, 20] Con esta estrategia, también se evita la complejación directa del Bi(III), que como se indicó anteriormente puede formar hidróxidos incluso a pH ácido, dificultando enormemente la formación del complejo.^[20] Además, se puede aumentar hasta 10 veces la cantidad de dosis administrada en comparación con la administración directa de ^{212}Bi .^[12]

Los ligandos más usados en estudios con ^{212}Bi y ^{213}Bi poseen estructuras relacionadas con DTPA, DOTA y otros sistemas macrocíclicos (**Figura II.6**). El ligando DOTA no resulta sin embargo adecuado para la preparación de radiofármacos basados en $^{212/213}\text{Bi}$ debido a las cinéticas de formación lentas de los complejos con los radiometales. Como consecuencia, las condiciones de marcaje radioactivo son bastante drásticas (95-100 °C, 5 min, pH 6,0-8,7).^[11] El sistema bifuncional relacionado 3p-C-CEPA-NCS puede marcarse con $^{212/213}\text{Bi}$ en condiciones suaves (25 °C, 5-10 min, pH 5,5), probablemente porque la presencia de dadores adicionales en una de las cadenas colgantes facilita la formación del complejo. Por su parte, el ligando DTPA forma un complejo lábil con $^{212/213}\text{Bi}$, pero la introducción de un grupo ciclohexilo en su estructura (p-SCN-Bn-CHX-A''-DTPA) proporciona una mayor inercia cinética con respecto a la disociación, al tiempo que las condiciones de marcaje pueden ser razonablemente suaves (25 °C, 10-20 min, pH 5).^[11] Otro sistema que presenta buenas propiedades para la complejación de $^{212/213}\text{Bi}$ es triazamacrociclo NETA.

²¹ G. Montavon, A. Le Du, J. Champion, T. Rabung, A. Morgenstern, "DTPA complexation of bismuth in human blood serum", *Dalton Transactions*, vol. 41, no. 28, p. 8615, 2012.

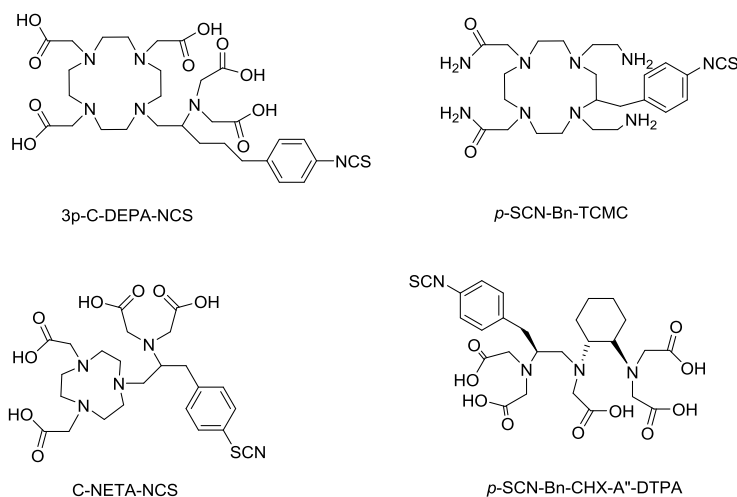
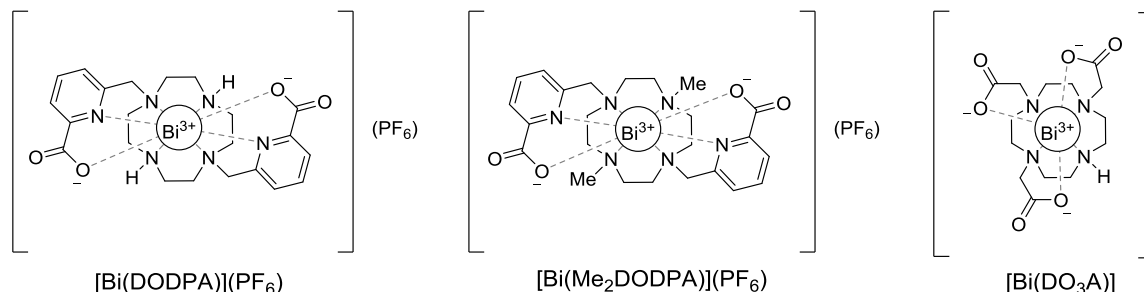


Figura II.6. Selección de quelatos más utilizados para la coordinación de $^{212/213}\text{Bi}$.

En cuanto al plomo, a pesar de que DOTA forma un complejo estable con ^{212}Pb , el complejo resultante ha demostrado ser susceptible a la disociación catalizada por ácido.^[18] Este es un gran inconveniente, ya que como es bien sabido, el Pb es muy tóxico, pues se acumula en tejidos blandos incluyendo órganos vitales como pueden ser el cerebro, entre otros.^[20] Una estrategia para evitar la pérdida de ^{212}Bi (resultado de la radiactividad de ^{212}Pb) es el empleo de liposomas, que actúa como un encapsulador de ^{212}Pb o el uso de agentes quelatantes secundarios para complejar de nuevo a Bi(III).^[21] El reemplazo de los brazos dadores de ácido carboxílico de DOTA por brazos amida, para dar lugar al ligando TCMC y sus derivados, y proporciona un buen quelatante para ^{212}Pb , ya que el complejo presenta una elevada inercia cinética y una estabilidad termodinámica *in vivo* mejor que las del análogo derivado de DOTA.^[11]

III. OBJETIVO

El objetivo principal del presente Trabajo de Fin de Grado ha sido la síntesis y caracterización de los tres complejos de Bi(III) derivados de la plataforma macrocíclica cyclen recogidos en la figura, y la realización de un estudio espectroscópico y termodinámico de su interacción con diferentes aniones inorgánicos.



Como se ha descrito anteriormente en la introducción, los complejos de Bi(III) presentan una potencial aplicación en radioinmunoterapia (RIT), ya que el bismuto posee dos radioisótopos (²¹²Bi y ²¹³Bi) que presentan características óptimas para tal fin. La posible interacción de estos compuestos con grupos funcionales coordinantes presentes en la estructura de células tumorales permitiría que estos sistemas interaccionasen de forma selectiva con estos tejidos, destruyéndolos o inhibiendo su crecimiento. Una de las posibles vías de interacción de estos sistemas con los grupos funcionales sobreexpresados en el tumor es la coordinación de los mismos al centro metálico. Por ello, para conocer su posible capacidad de anclaje al tejido enfermo, resulta interesante estudiar el grado de insaturación en la esfera de coordinación del centro metálico en los complejos empleando diferentes aniones que pueden estar incluso presentes en medio biológico.

El trabajo realizado puede dividirse en dos bloques:

- Por una parte la síntesis, purificación por cromatografía MPLC y caracterización de los complejos mediante las técnicas de análisis más habituales: análisis elemental, espectrometría de masas, espectrometría de resonancia magnética nuclear (RMN), espectroscopia electrónica de absorción y espectroscopia infrarroja.
- Estudio termodinámico y espectroscópico de la interacción de los complejos con diferentes aniones inorgánicos mediante valoraciones espectrofotométricas.

IV. PARTE EXPERIMENTAL

IV.1. Disolventes y reactivos

Los disolventes empleados se utilizaron sin purificación previa adicional.

IV.1.1. Disolventes, reactivos y materiales empleados

Disolvente	Casa Comercial
Acetona PS	Panreac
Acetonitrilo PS, 99.7%	Panreac
Agua deuterada, 99.90% D	Euriso-top
Agua (Milli-Q)	-
Metanol PS, 99,5%	Panreac

Reactivo	Casa Comercial
Ácido clorhídrico; 37% QP	Panreac
Nitrato de bismuto(III) pentahidratado	Sigma-Aldrich
Cloruro sódico PA; 99,0%	Panreac
Nitrato de potasio, 99,0% ACS	Panreac
Hidróxido sódico, PRS-CODEX	Panreac
Sulfato sódico anhidro ACS; 99,0%	Sigma-Aldrich
Azida sódica	Sigma-Aldrich
Fluoruro potásico ACS; 99,0%	Sigma-Aldrich
Bromuro potásico	Panreac
Yoduro potásico; 99,0%	Fluka

Materiales	Casa Comercial
Cartucho de fase reversa C18-HP para cromatografía, tamaño de partícula 15 μm .	InterChim
Microfiltro de celulosa regenerada, tamaño de poro 0,20 μm , diámetro 15 mm	Macharey-Magel

IV.1.2. Cronograma

FEBRERO						
L	M	Mi	J	V	S	D
		1	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28					

MARZO						
L	M	Mi	J	V	S	D
		1	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30	31		

ABRIL						
L	M	Mi	J	V	S	D
					1	2
3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23
24	25	26	27	28	29	30

MAYO						
L	M	Mi	J	V	S	D
1	2	3	4	5	6	7
8	9	10	11	12	13	14
15	16	17	18	19	20	21
22	23	24	25	26	27	28
29	30	31				

JULIO						
L	M	Mi	J	V	S	D
					1	2
3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23
24	25	26	27	28	29	30
31						

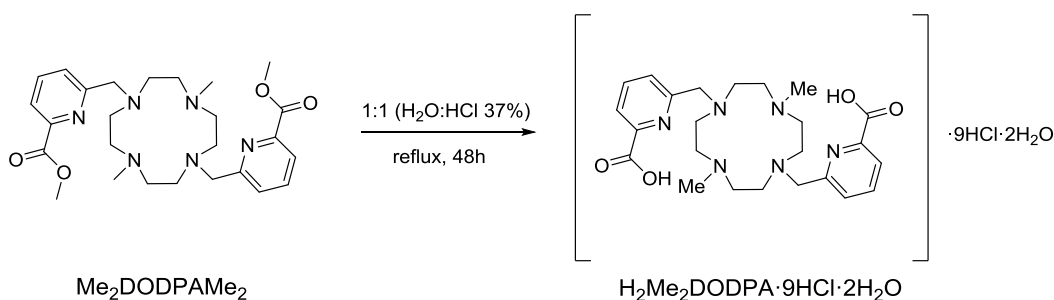
- Síntesis de $[Bi(DODPA)](PF_6)$
- Síntesis de $[Bi(Me_2DODPA)](PF_6)$
- Síntesis de $[Bi(DO_3A)]$
- Caracterización de $[Bi(DODPA)](PF_6)$
- Caracterización de $[Bi(Me_2DODPA)](PF_6)$
- Caracterización de $[Bi(DO_3A)]$
- Estudio de interacción con aniones
- Elaboración de la memoria
- Festivos

IV.1.3. Síntesis

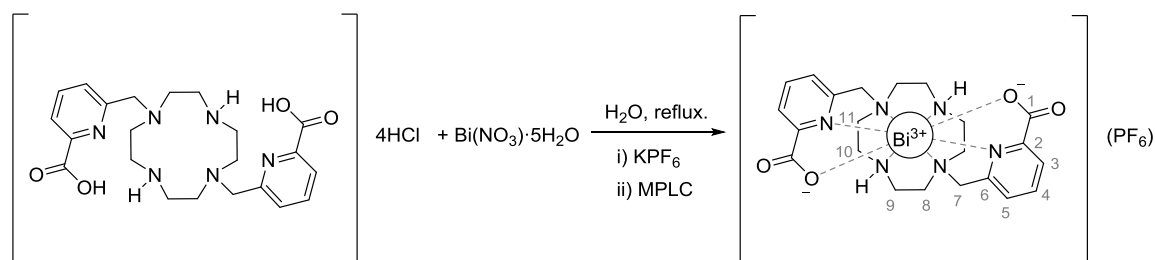
El ligando H_2DODPA y el precursor $\text{Me}_2\text{DODPAOMe}_2$, derivados de la plataforma cyclen, habían sido sintetizados previamente por miembros del grupo de investigación en el cual fue realizado el trabajo contenido en la presente memoria. Ambas especies estaban ya perfectamente aisladas y caracterizadas, y la interpretación de los resultados de los correspondientes análisis elementales, indicaron que el ligando H_2DODPA fue aislado como clorhidrato de acuerdo con la fórmula $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_6\text{O}_4 \cdot 4\text{HCl}$ (**$\text{H}_2\text{DODPA} \cdot 4\text{HCl}$**), mientras que el precursor $\text{Me}_2\text{DODPAOMe}_2$ fue aislado puro de acuerdo con la fórmula $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{N}_6\text{O}_4$ (**$\text{H}_2\text{Me}_2\text{DODPA}$**).

Con el fin de poder determinar la posible influencia de diferentes aniones inorgánicos con los complejos derivados de **H_2DODPA** y **$\text{H}_2\text{Me}_2\text{DODPA}$** , se decidió sintetizar y aislar los correspondientes complejos de bismuto como sales de hexafluorofosfato. El complejo de Bi(III) derivado de DO_3A fue sintetizado *in situ* a partir de $\text{DO}_3\text{A}^t\text{Bu}$ comercial según el procedimiento experimental descrito más abajo.

IV.1.3.1 Hidrólisis de $\text{Me}_2\text{DODPAOMe}_2$

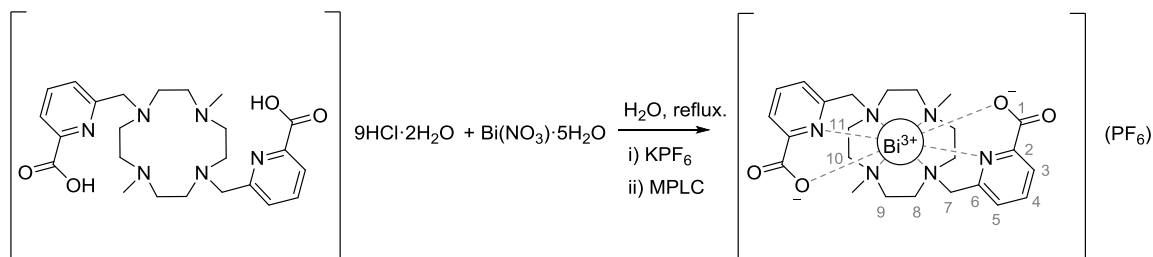


Se disolvieron 0,1029 g de $\text{Me}_2\text{DODPAOMe}_2$ en 4 mL de una disolución 1:1 $\text{H}_2\text{O}:\text{HCl}$ 37% y se calentó a reflujo durante 48h. A continuación, la disolución amarillenta resultante se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo se lavó con agua y concentró a sequedad varias veces, hasta que finalmente se obtuvo un sólido amarillo oscuro (0,1158 g). **Rdto:** 67%. **Análisis Elemental:** C: 34,10%; H: 5,79%; N: 10,37% Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_4 \cdot 9\text{HCl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: C: 34,53%; H: 5,68%; N: 10,07%. **Espectrometría de masas** (ESI^+ , MeOH): m/z (I%): 471,27 (99) [$\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{N}_6\text{O}_4^+$], 509,22 (100) [$\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{KN}_6\text{O}_4^+$].

IV.1.3.2 Síntesis de $[Bi(DODPA)](PF_6)$ 

Sobre una disolución de $H_2DODPA \cdot 4HCl$ (0,5009 g; 0,8514 mmol) en 50 ml de H_2O se añadió $Bi(NO_3)_3 \cdot 5H_2O$ (0,4136 g; 0,8527 mmol), resultando una disolución marrón que presentaba una ligera turbidez blanca. La disolución se agitó a temperatura ambiente durante 30 min, y a continuación se ajustó el pH aproximadamente a 4 con una disolución de NaOH (0,1 M) y se calentó a reflujo durante 24 h. La disolución turbia resultante se filtró, lavando el precipitado repetidas veces con una mezcla acetona:metanol (1:1). El filtrado se concentró a sequedad obteniéndose un aceite amarillo que se redisolvió en metanol y filtró varias veces hasta eliminar la turbidez blanca asociada a la presencia de nitrato de bismuto. La disolución metanólica resultante se concentró a sequedad, y el residuo obtenido se disolvió en la mínima cantidad de agua, añadiéndose a continuación KPF_6 en exceso. Posteriormente, se concentró la disolución acuosa a sequedad en el rotavapor, y el residuo resultante se disolvió en 2,5 mL de una mezcla $CH_3CN:H_2O$ (1:20). La disolución se filtró a través de un microfiltro, y se eluyó en gradiente en una columna de fase reversa C18-HP empleando como eluyentes sendas disoluciones de $CH_3CN:HCOOH$ 0,1% y $H_2O:HCOOH$ 0,1%, de acuerdo con las condiciones experimentales recogidas en el correspondiente cromatograma (véase ANEXO ESPECTROS).

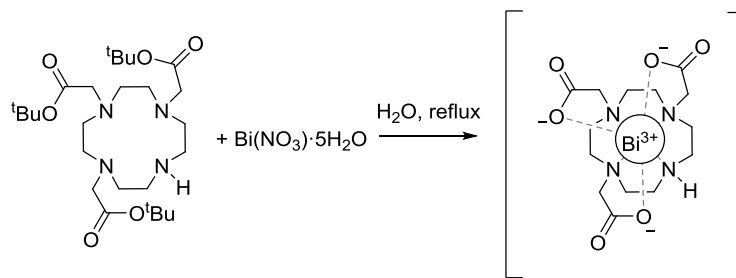
La fracción de 2-4 cv fue concentrada a sequedad empleando un liofilizador, obteniéndose un precipitado de color marrón claro (0,0219 g). **Rdto:** 74%. **Análisis Elemental:** C: 30,42%; H: 3,36%; N: 9,30%. Calculado para $C_{22}H_{34}BiF_6N_6O_7P$ ($[Bi(DODPA)]PF_6 \cdot 3H_2O$): C: 31,14%; H: 4,04%; N: 9,90%. **Espectrometría de masas** (ESI⁺, MeOH): m/z (I%): 649,20 (100) $[C_{22}H_{28}BiN_6O_4]^+$. **Espectroscopia de infrarrojo** (ATR, cm^{-1}): 1455,03 [$\nu(C=N)_{py}$]; 1620,83 [$\nu(C=O)$]. **¹H RMN** (D_2O , 298K, 300 MHz): δ (ppm) = 2,70-4,00 (m, 16H, $-CH_2-$); 4,71 (d, 2H, $-CH_2-py$); 4,89 (d, 2H, $-CH_2-py$, $^2J = 16,2$ Hz), 7,86 (d, 2H, py, $^3J = 7,8$ Hz); 7,99 (d, 2H, py, $^3J = 7,7$ Hz); ; 8,24 (t, 2H, py,); **¹³C-RMN** (D_2O , 298 K, 75.5 MHz): 172,8 (C1); 156,4 (C6); 151,4 (C2); 143,7 (C4); 128,7 (C5); 127,2 (C3); 61,8 (C7); 58,0 (C10); 54,2 (C8); 48,0 (C9); 47,2 (C11).

IV.1.3.3 Síntesis de $[Bi(Me_2DODPA)](PF_6)$ 

Sobre una disolución de $H_2Me_2DODPA \cdot 9HCl \cdot 2H_2O$ (0,1143 g; 0,1369 mmol) en 6 ml de H_2O se añadió $Bi(NO_3)_3 \cdot 5H_2O$ (0,0686 g; 0,1414 mmol), resultando una disolución anaranjada que presentaba una ligera turbidez blanca. La disolución se agitó a temperatura ambiente durante 30 min, y a continuación se ajustó el pH aproximadamente a 4 con una disolución de NaOH (0,1 M) y se calentó a reflujo durante 16 h. La disolución turbia resultante se filtró, lavando el precipitado repetidas veces con una mezcla acetona:metanol (1:1). El filtrado se concentró a sequedad obteniéndose un aceite amarillo que se redisolvió en metanol y filtró varias veces hasta eliminar la turbidez blanca asociada a la presencia de nitrato de bismuto. La disolución metanólica resultante se concentró a sequedad, y el residuo obtenido (0,0824 g) se disolvió en la mínima cantidad de agua, añadiéndose a continuación KPF_6 (0,0833 g). La disolución resultante se filtró a través de un microfiltro, y se eluyó en gradiente en una columna de fase reversa C18-HP empleando como eluyentes sendas disoluciones de $CH_3CN:HCOOH$ 0,1% y $H_2O:HCOOH$ 0,1%, de acuerdo con las condiciones experimentales recogidas en el correspondiente cromatograma (véase ANEXO ESPECTROS).

La fracción de 3-5 cv fue concentrada a sequedad empleando un liofilizador, obteniéndose un precipitado de color ocre (0,0824 g). **Rdto:** 70%. **Análisis Elemental:** C: 34,87%; H: 3,82%; N: 9,41%. Calculado para $C_{24}H_{34}BiF_6N_6O_5P$ ($[Bi(Me_2DODPA)]PF_6 \cdot 1H_2O$): C: 34,30%; H: 4,08%; N: 10,00%. **Espectrometría de masas** (ESI⁺, MeOH): m/z (I%): 677,23 (100) $[C_{24}H_{32}BiN_6O_4]^+$. **Espectroscopia de infrarrojo** (ATR, cm^{-1}): 1466,82 [$\nu(C=N)_{py}$]; 1651,72 [$\nu(C=O)$]. **¹H-RMN** (D_2O , 298 K, 300 MHz): δ (ppm) = 2,40 (s, 6H, $-CH_3$); 2,95-3,70 (m, 16H, $-CH_2-$); 4,82 (m, 4H, $-CH_2-$, $^2J = 9,2$ Hz); 7,97 (dd, 2H, py, $^3J = 7,8$ Hz, $^4J = 0,9$ Hz); 8,06 (dd, 2H, py, $^3J = 7,7$ Hz, $^4J = 0,9$ Hz); 8,33 (t, 2H, py); **¹³C-RMN** (D_2O , 298 K, 75.5 MHz): 171,0 (C1), 156,1 (C6), 148,7 (C2), 142,6 (C4), 127,9 (C5), 126,5 (C3), 59,2 (C7), 56,7 (C10), 54,6 (C8), 53,0 (C12), 50,6 (C9), 43,6 (C11); **¹⁹F-RMN** (D_2O , 298 K, 282 MHz): -72,1 (d, $^1J_{F,P} = 709$ Hz).

IV.1.3.4 Síntesis de [Bi(DO3A)]



Sobre una disolución de DO3A^{tBu} (0,1005 g; 0,2052 mmol) en 6 ml de H₂O se añadió Bi(NO₃)₃·5H₂O (0,1073 g; 0,2237 mmol), resultando una suspensión blanquecina que se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. A continuación, se ajustó el pH aproximadamente a 4 con una disolución de NaOH (0,1 M) y se calentó a reflujo durante 48 h. La disolución amarilla ligeramente turbia resultante se filtró, y el precipitado se lavó con agua. El filtrado se concentró hasta un volumen de aproximadamente 2 mL. Esta disolución se filtró a través de un microfiltro, y se eluyó en gradiente en una columna de fase reversa C18-HP empleando como eluyentes sendas disoluciones de CH₃CN:HCOOH 0,1% y H₂O:HCOOH 0,1%, de acuerdo con las condiciones experimentales recogidas en el correspondiente cromatograma (véase ANEXO ESPECTROS).

La fracción de 2,5-4 cv fue concentrada a sequedad empleando un liofilizador, obteniéndose un precipitado de color blanco (0,1016 g). **Rdto:** 90%. **Análisis Elemental:** C: 21,30%; H: 6,00%; N: 7,00% Calculado para C₁₄H₄₉BiN₄O₁₉·([Bi(DO3A)]·13H₂O): C: 21,38%; H: 6,28%; N: 7,12%. **Espectrometría de masas** (ESI⁺, MeOH): *m/z* (I%): 575,13 (100) [C₁₄H₂₃BiN₄NaO₆]⁺. **Espectroscopia de infrarrojo** (ATR, cm⁻¹): 1644,31 [ν(C=O)]. **¹H RMN** (D₂O, 298K y K, 400 MHz): 4,60-4,25 (m, 4H); 4,19 (a, 2H); 4,04 (a, 2H); 4,00-3,65 (m, 12 H). **¹³C-RMN** (D₂O, 343 K, 100 MHz): 178,4, 178,2 (C=O); 59,7; 59,4; 55,1; 54,0; 52,7 y 45,2 (-CH₂-).

IV.1.4. Técnicas de Purificación

Los complejos fueron purificados por cromatografía en fase líquida de rendimiento medio, MPLC, empleando como fase estacionaria una columna de fase reversa C18 y un equipo Puriflash XS 420 de la casa InterChim, que cuenta con un detector de ultravioleta-visible.

Debido a la elevada polaridad de los complejos, el método de purificación fue optimizado realizando una etapa de acondicionamiento previo en gradiente de la columna. En ella, se emplearon como eluyentes sendas mezclas de acetonitrilo:ácido fórmico 0,1% y agua:ácido fórmico 0,1%, hasta alcanzar un porcentaje del 100% de la mezcla agua:ácido fórmico 0,1%. Posteriormente, tras la inyección del producto a purificar, se realizaron eluciones en gradiente aumentando progresivamente el porcentaje de la mezcla acetonitrilo:ácido fórmico 0,1%. De este modo, se consigue separar los componentes más hidrofílicos (posibles sales, que eluyen en primer lugar) de los más hidrofóbicos, los cuales salen en orden de polaridad decreciente a medida que va aumentando el porcentaje en acetonitrilo.

Las condiciones de elución de cada complejo están recogidas en el correspondiente cromatograma incluido en el apartado de síntesis de cada uno de los complejos. Una vez finalizada la purificación se restauran progresivamente las condiciones iniciales de la columna (100% mezcla agua:ácido fórmico 0,1%) para su regeneración.

IV.1.5. Técnicas de Caracterización

Análisis Elemental

Los porcentajes de carbono, nitrógeno e hidrógeno se han determinado por combustión en el analizador elemental FlashEA1112 (ThermoFinnigan) en los Servicios de Apoyo á Investigación (SAI) de la Universidade da Coruña.

Espectroscopia Infrarroja

Los espectros de infrarrojo se han registrado en el espectrofotómetro FT-IR Nicolet iS 10 de Thermo Scientific, equipado con el accesorio Thermo Scientific Smart iTR por la técnica de ATR (*Attenuated Total Reflectance*) en las instalaciones del Centro de Investigaciones Científicas Avanzadas de la Universidade de Coruña.

Espectrometría de Masas

Los espectros de masas se obtuvieron mediante la técnica de *electrospray* en modo positivo utilizando el espectrómetro de masas LC-Q-q-TOF Applied Biosystems QSTAR Elite de los Servicios de Apoyo á Investigación (SAI) de la Universidade da Coruña mediante la técnica de ionización de *electrospray* en modo positivo.

Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Los espectros de RMN ^1H y ^{13}C fueron registrados a temperatura ambiente utilizando los espectrómetros *Bruker AVANCE 300* (perteneciente al Centro de Investigaciones Científicas Avanzadas, CICA) y *Bruker AVANCE 500* (en el Servicio de Apoyo á Investigación, SAI), mientras que los experimentos realizados a 70°C fueron realizados en un espectrómetro *Bruker AVANCE 400* en los Servicios de Apoyo á Investigación.

Medidas de pH

Las medidas del pH se realizaron a temperatura ambiente con el pH-metro HANNA HI5522 equipado con un electrodo de pH HANNA HI1330.

Espectroscopia Electrónica de absorción (UV-Vis)

Los espectros electrónicos de absorción UV-Vis se registraron en el espectrofotómetro Jasco V650 perteneciente al grupo de investigación QUIMOLMAT empleando cubetas de cuarzo de 1 cm de paso óptico a temperatura ambiente.

IV.1.6. Estudio termodinámico de interacción con aniones

Se realizó un estudio de la interacción de los complejos de Bi(III) con aniones mediante valoraciones espectrofotométricas realizando un seguimiento de la variación de la banda asociada a la transición $6s \rightarrow 6p$. Así, para cada complejo, se utilizaron 2 mL de una disolución acuosa $5 \cdot 10^{-5}$ M del mismo, sobre la que se añadieron progresivamente alícuotas de disoluciones (0,5 M anión: $5 \cdot 10^{-5}$ M complejo) recién preparadas.

El tratamiento de los datos experimentales se llevó a cabo mediante el programa HYPERQUAD^[22], y las constantes de interacción con los diferentes aniones se calcularon a partir de los ajustes no lineales monodimensionales de los perfiles de cada valoración (15-30 longitudes de onda seleccionadas en el intervalo 310-360 nm, con un mínimo de 40 datos de absorbancia para cada longitud de onda).

^[22] P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, "Investigation of equilibria in solution. Determination of equilibrium constants with HYPERQUAD suite programs", *Talanta*, vol. 43, pp. 1739-1753, 1996.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V.1 Síntesis y caracterización

El ligando H_2Me_2DODPA fue preparado a partir del ligando precursor $Me_2DODPAOMe_2$ con un rendimiento global del 67% mediante el procedimiento sintético que se describe en la *Parte Experimental*. Los datos de análisis experimental y el espectro de masas MS-ESI(+) confirmaron que el sólido amarillo oscuro obtenido se corresponde a la especie con la fórmula $C_{24}H_{34}N_6O_4 \cdot 9HCl \cdot 2H_2O$ (señales a m/z 471,27 y 509,22 correspondientes a los iones pseudomoleculares $[C_{24}H_{35}N_6O_4]^+$ y $[C_{24}H_{34}KN_6O_4]^+$, respectivamente).

Los complejos de Bi(III) derivados de los tres receptores fueron preparados en medio ácido a partir del correspondiente ligando precursor siguiendo el procedimiento sintético común descrito en la *Parte Experimental*, y el rendimiento global obtenido en su síntesis fue muy similar, en torno un 70% en los tres casos.

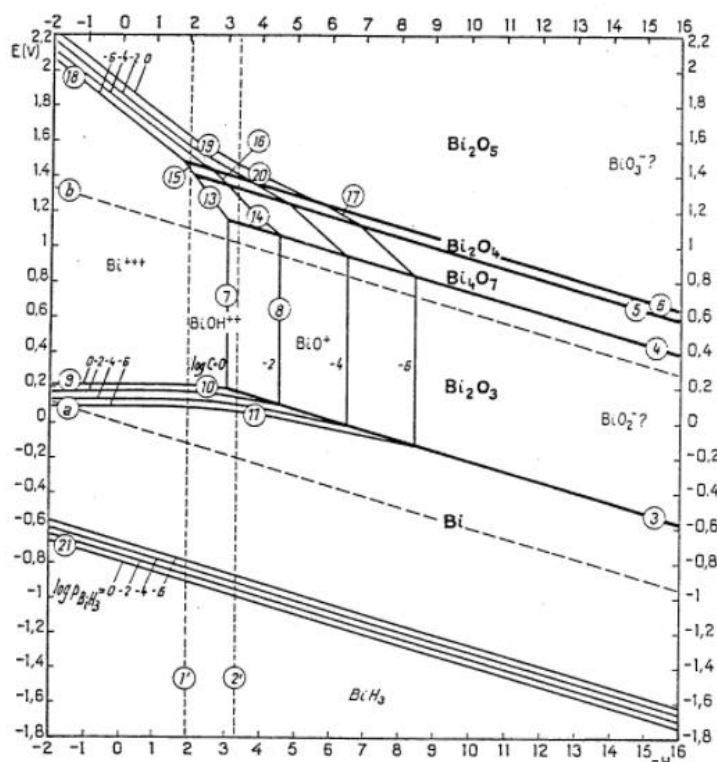


Figura V.1. Diagrama de Pourbaix del Bi. [concentración]= 1,0 M.

Una rápida inspección al Diagrama de *Pourbaix* del bismuto, permite comprender lo que sucede en disolución durante la formación del complejo y el por qué de la necesidad de trabajar en medio ácido durante la síntesis (Figura V.1). En medios ligeramente ácido o básicos, entre otras especies podemos encontrar $[Bi(OH)]^{2+}_{(aq)}$ o $[BiO]^{+}_{(aq)}$ en el medio de reacción, compuestos que inhibirían la síntesis

de los complejos. Sólo a pH inferiores a 3, el Bi(III) se presenta como acuocación debido a su marcado carácter ácido, y la formación de los complejos podría tener lugar por desplazamiento de las moléculas de agua de la esfera de coordinación del metal por parte del ligando. Aún así, la cinética de formación de los complejos es bastante lenta debido a que a ese pH los ligandos se encuentran protonados, por lo que en todos los casos ha sido necesario realizar la síntesis a altas temperaturas para rebasar la energía de activación necesaria para promover la formación de los complejos.

Con el fin de evitar la posible interferencia de los iones nitrato en los estudios de interacción con aniones, los complejos de Bi(III) derivados de H₂DODPA y H₂Me₂DODPA obtenidos como sales de nitrato fueron tratados con KPF₆ para aislarlos como las correspondientes sales de hexafluorofosfato, y posteriormente purificados mediante cromatografía en fase líquida de rendimiento medio (MPLC). Los datos de análisis elemental confirmaron que las especies obtenidas se corresponden con las fórmulas [Bi(DODPA)](PF₆)·3H₂O, [Bi(Me₂DODPA)](PF₆)·H₂O y [Bi(DO3A)]·13H₂O. Los espectros de masas MS-ESI(+) muestran señales correspondientes a los diferentes iones pseudomoleculares a *m/z*: 649,20 para [Bi(DODPA)]⁺, 677,23 para [Bi(Me₂DODPA)]⁺ y 575,13 para [[Bi(DO3A)] + Na⁺] con un 100% de BPI en todos los casos. Por otro lado, los espectros de IR de los complejos registrados mediante la técnica de ATR, muestran las tensiones $\nu(\text{C}=\text{N})_{\text{py}}$ y $\nu(\text{C}=\text{O})$ a valores de 1455 y 1621 cm⁻¹ para [Bi(DODPA)](PF₆)·3H₂O y a 1467 y 1652 cm⁻¹ para [Bi(Me₂DODPA)](PF₆)·H₂O, mientras que para el complejo [Bi(DO3A)] se aprecia, entre otras, la banda característica para la tensión $\nu(\text{C}=\text{O})$ a 1644 cm⁻¹, cuya presencia confirma la formación los complejos.

Los sólidos aislados fueron caracterizados en disolución mediante RMN de ¹H (298 K, 300, 400 o 500 MHz) y de ¹³C (298 K, 125,8 MHz) en D₂O (ver ANEXO ESPECTROS). Los espectros de RMN de ¹H de los complejos [Bi(DODPA)](PF₆)·3H₂O y [Bi(Me₂DODPA)](PF₆)·H₂O presentan señales bien definidas de acuerdo con la presencia de una estructura muy rígida en disolución asociada a un único diastereoisómero con una simetría efectiva C₂. Por otro lado, los espectros de RMN de ¹³C de ambos complejos, muestran 11 señales para [Bi(DODPA)](PF₆)·3H₂O y 12 señales para [Bi(Me₂DODPA)](PF₆)·H₂O, hecho que también confirma la simetría de estas especies en disolución. La similitud estructural de los sistemas hace que los valores para las señales de ¹³C sean prácticamente idénticos, con una señal a 173 ppm para el carbono correspondiente a los grupos

carbonilo coordinados al centro metálico presentes en los brazos picolinato, cinco señales correspondientes a los carbonos sp^2 de los anillos de piridina entre 156 ppm y 127 ppm y cinco correspondientes a los carbonos sp^3 del azamacrociclo y grupo metilénico de los brazos entre 60 ppm y 40 ppm. Además, en el espectro del $[\text{Bi}(\text{Me}_2\text{DODPA})](\text{PF}_6)\cdot\text{H}_2\text{O}$ se puede apreciar una señal a mayores a 53 ppm correspondiente a los sustituyentes metilo incorporados a la plataforma cyclen. Asimismo, el espectro de RMN de ^{19}F para el complejo $[\text{Bi}(\text{Me}_2\text{DODPA})](\text{PF}_6)\cdot\text{H}_2\text{O}$ confirmó la presencia de $(\text{PF}_6)^-$ como contraión, ya que muestra una señal doblete a -72,91 ppm con un acoplamiento $^1J_{\text{F-P}} = 709$ Hz.

En el espectro de RMN de ^1H de $[\text{Bi}(\text{DO3A})]$ se pueden observar señales anchas, lo que sugiere que el receptor en disolución adopta una estructura no rígida en la que los brazos colgantes experimentan una libre rotación, y las cadenas etilénicas del azamacrociclo sufren procesos fluxionales que permiten la interconversión de los protones unidos a cada carbono haciéndolos equivalentes. Estas señales que se vuelven más agudas cuando se aumenta la temperatura, de acuerdo con un proceso de interconversión más rápido, tal y como se puede ver como se puede ver en el espectro registrado a 343 K. Una situación similar se puede apreciar en el espectro de RMN de ^{13}C , para el cual el número de señales presentes está de acuerdo con una simetría efectiva C_v en disolución (**Figura V.1**).

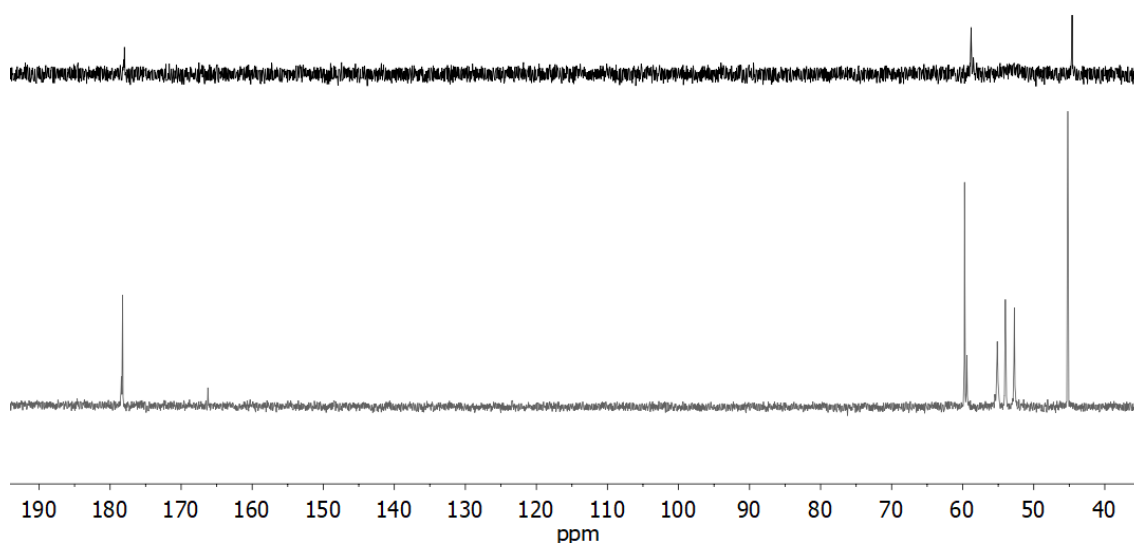


Figura V.1. Espectros de RMN de ^{13}C (D_2O , 298 K, 400 y 125,8 MHz) para $[\text{Bi}(\text{DO3A})]$ a 298 K (arriba) y 343 K (abajo).

V.1.1. Estructura de los complejos en estado sólido

La estructura de un compuesto en estado sólido puede diferir de su estructura en disolución, ya que mientras que en estado sólido se suele observar una única especie condicionada por las fuerzas de empaquetamiento cristalino, en disolución suelen aparecer dos o más conformaciones que se interconvierten entre sí mediante un proceso dinámico. Aún así, es habitual comparar los resultados obtenidos en disolución con los obtenidos en estado sólido, ya que las posibles diferencias estructurales existentes pueden servir de ayuda para entender un comportamiento diferente cuando se compara la estabilidad relativa de dos o más sistemas, o incluso su diferente reactividad o inercia frente a un proceso químico.

La estructura cristalina del complejo $[\text{Bi}(\text{Me}_2\text{DODPA})]^+$ objeto de estudio en el presente trabajo se encuentra descrita en la bibliografía.^[20] Una vista rápida a la estructura nos permite analizar las posibles consecuencias que a nivel estructural puede tener la presencia o no de los grupos metilo en la plataforma cyclen y establecer analogías entre la estructura de los complejos $[\text{Bi}(\text{DODPA})]^+$ y $[\text{Bi}(\text{Me}_2\text{DODPA})]^+$.

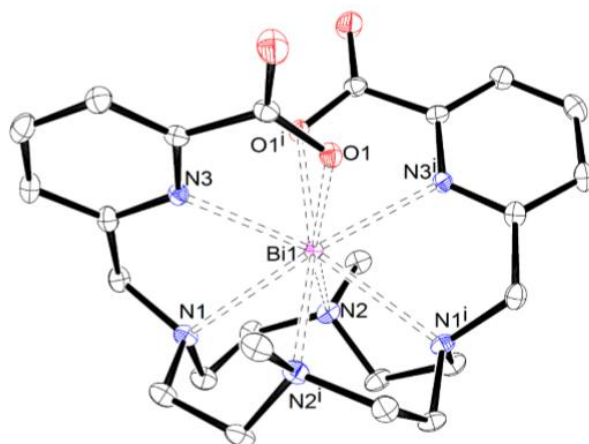


Figura V.2. Estructura molecular del complejo $[\text{Bi}(\text{Me}_2\text{DODPA})]^+$. Para mayor claridad se omiten los átomos de hidrógeno y los aniones nitrato de la red (elipsoides al 30% de probabilidad).

En este complejo el átomo de Bi(III) se encuentra octacoordinado unido a los ocho átomos dadores del ligando. El poliedro de coordinación se puede describir como un antiprisma cuadrado girado (TSAP), compuesto por dos pseudoplanos paralelos: el inferior definido por los átomos de nitrógeno pertenecientes a la unidad macrocíclica y el superior definido por los átomos dadores de los brazos colgantes del ligando. El

plano superior presenta desviaciones de planaridad de 0,38 Å, y el ángulo de torsión, ω , entre estos cuadrados casi paralelos es de $-21,2^\circ$.

En su coordinación, el ligando adopta una conformación *syn* con ambos brazos colgantes coordinados al centro metálico y orientados hacia el mismo lado por encima del plano de la unidad macrocíclica (**Figura V.2**). Como se puede apreciar, la figura, el complejo presenta una estructura acorde a una simetría C_2 , que coincide con lo observado en disolución. En ella, el eje binario pasa por el ión metálico y es perpendicular al plano definido por los 4 átomos de nitrógeno del macrociclo. Los valores de las distancias entre el centro metálico y los átomos dadores recogidos en la **Tabla V.1** indican que las distancias entre el ion Bi(III) y los átomos dadores de nitrógeno de la unidad macrocíclica son aproximadamente 0,12 Å más largas que las distancias entre el ion Bi(III) y los átomos de nitrógeno de los grupos picolinato (Bi(1)-N(3)). Estos valores son ligeramente inferiores (0,1 Å) a los observados para el complejo análogo [Bi(DOTA)]⁻ (2,53 Å),^[11] el cual presenta también unas distancias Bi-O más largas que las distancias Bi-N. Estos datos, considerados en conjunto, permiten sugerir para ambos complejos la presencia del par electrónico estereoquímicamente activo $6s^2$ sobre el átomo de bismuto de acuerdo con una estructura ligeramente hemidirigida.

Tabla V.1. Distancias (Å) de enlace de la esfera de coordinación del centro metálico para el complejo [Bi(Me₂DODPA)]⁺ recogido en la bibliografía.

	[Bi(Me ₂ DODPA)] ⁺
Bi(1)-O(1)	2,390(3)
Bi(1)-N(1)	2,633(4)
Bi(1)-N(2)	2,620(4)
Bi(1)-N(3)	2,503(4)

La conformación *syn* del complejo [Bi(Me₂DODPA)]⁺ implica la aparición de dos posibles helicidades asociadas por un lado, a la disposición relativa de los brazos colgantes (conformaciones Δ ó Λ), y por otro, a la conformación relativa de los anillos quelato resultantes de la coordinación de los dadores de la unidad macrocíclica al centro metálico (conformaciones δ ó λ). La inspección de la estructura cristalina revela la presencia de dos enantiómeros, $\Delta(\delta\delta\delta\delta)$ y $\Lambda(\lambda\lambda\lambda\lambda)$, que cocrystalizan como una mezcla racémica. La conformación que presenta la base macrocíclica de cuatro miembros está de acuerdo con una conformación ($\lambda\lambda\lambda\lambda$) o ($\delta\delta\delta\delta$) para los cuatro puentes etilénicos en disposición tipo “*gauche*” en ambos casos, según el enantiómero.

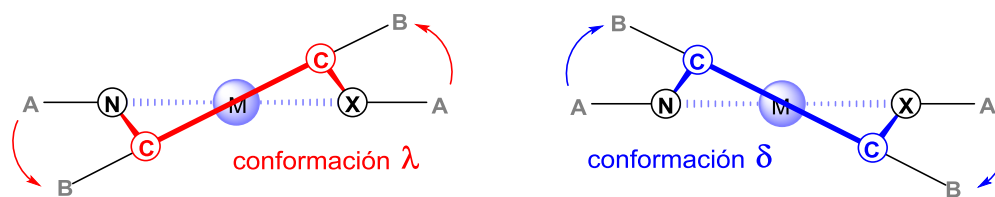


Figura V.3. Posibles conformaciones de los anillos quelatos resultantes de la coordinación simultánea de dos donadores unidos a través de un puente etilénico.

En el caso del complejo $[\text{Bi}(\text{DODPA})]^+$, cabe esperar una estructura similar, en la que la ausencia de los sustituyentes metilo en la subunidad macrocíclica tal vez permita una mayor apertura del ángulo formado por los planos que contienen los grupos picolinato, ángulo que en el caso de complejo $[\text{Bi}(\text{Me}_2\text{DODPA})]^+$ posee un valor de $77,5^\circ$. Esta posibilidad, tal vez podría permitir en disolución la aproximación de un anión a lo largo del eje binario que pasa por el centro metálico y es perpendicular al plano definido por los 4 átomos de nitrógeno del cyclen.

V.2 Estudio espectroscópico y termodinámico de interacción con aniones

Los datos disponibles en la bibliografía sobre la estabilidad termodinámica de los complejos de Bi(III) con H_2DODPA y H_2Me_2DODPA en disolución acuosa indican que ambos complejos son muy estables, presentando unos valores muy elevados para sus constantes de estabilidad determinadas a $25^\circ C$ y $0,5 M KCl$ ($\log K_{BiL} = 32,2 \pm 0,1$ y $34,2 \pm 0,1$, respectivamente), frente a $\log K_{BiL} = 30,3$ observado en el complejo $[Bi(DOTA)]$, sistema macrocíclico muy empleado en la síntesis de radiofármacos.^[20] Los diagramas de especiación de ambos complejos indican que a pH fisiológico ambos se encuentran mayoritariamente como los cationes monovalentes $[Bi(DODPA)]^+$ y $[Bi(Me_2DODPA)]^+$ (**Figura V.4**) con unos valores de pBi ($-\log[Bi(III)]_{libre}$) de 26,0 y 28,6, muy similares al del ligando DOTA ($pBi = 27,0$).

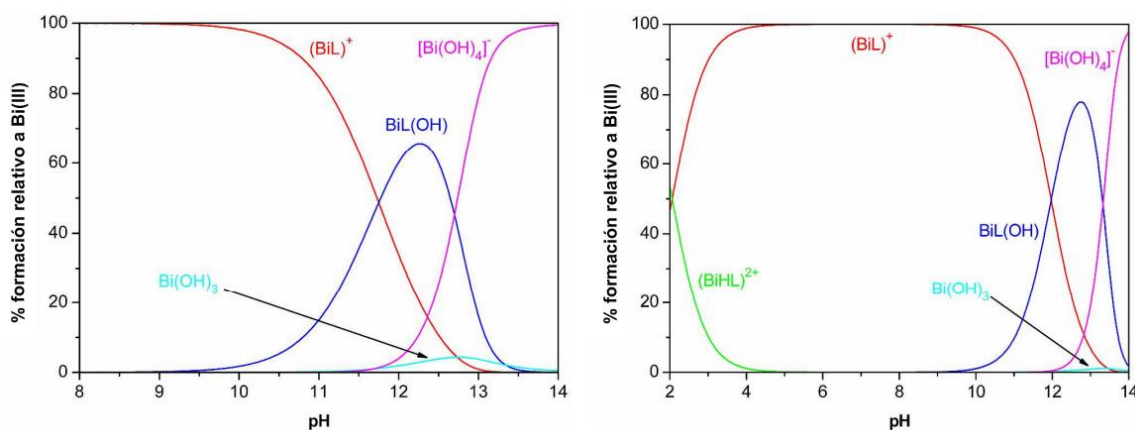


Figura V.4. Diagramas de especiación de H_2DODPA (izquierda) y H_2Me_2DODPA (derecha) en presencia de Bi(III) en disolución acuosa $[Bi^{2+}] = [L] = 10^{-3} M$ y constantes de protonación y estabilidad determinados a $25^\circ C$ y $I = 0,5 M KCl$.

La elevada estabilidad termodinámica de estos sistemas, junto con su marcada inercia química frente a la hidrólisis en medio ácido (1 M HCl), con tiempos de vida media de 23,9 y 12,1 minutos, respectivamente, frente a 22,7 minutos para el derivado de DOTA,^[20] sugieren que ambos complejos cumplen los requisitos que un radiofármaco debe poseer para su posible aplicación.

En el caso del complejo de Bi(III) derivado de DO3A, cabe esperar que éste posea igualmente una elevada estabilidad termodinámica e inercia cinética, sin embargo, éstas serán algo inferiores a las de DOTA, ya que si bien ambos receptores comparten la plataforma macrocíclica cyclen, el DO3A dispone de un brazo acetato

menos en su estructura. Los datos de estabilidad termodinámica recogidos en bibliografía para estos sistemas con diferentes cationes confirman esta tendencia.^[23]

Antes de proceder a la determinación espectrofotométrica de las constantes de asociación de los complejos con diferentes aniones, se realizaron ensayos cualitativos preliminares en disolución acuosa para comprobar la posible interacción de los complejos $[\text{Bi}(\text{DO3A})]$ y $[\text{Bi}(\text{DODPA})]^+$ con los aniones esféricos (F^- , Cl^- , Br^- y I^-) y el anión lineal (N_3^-) (**Figura V.5**). En ellos, se pudo apreciar que únicamente en el caso de $[\text{Bi}(\text{DO3A})]$ se producía una leve variación en la coloración de la disolución en presencia del anión I^- .

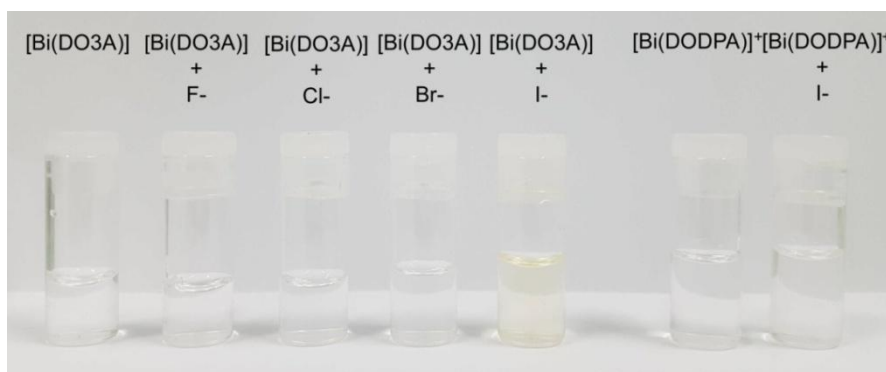


Figura V.5. Ensayos cualitativos de interacción con aniones de los complejos $[\text{Bi}(\text{DO3A})]$ (izquierda) y $[\text{Bi}(\text{DODPA})]^+$ (derecha) (pH= 7).

Ante esta situación, se decidió realizar el estudio de interacción con aniones en disolución acuosa inicialmente con el complejo de Bi(III) derivado de DO3A, si bien se registraron los espectros electrónicos de absorción de los tres complejos objeto de estudio, para seleccionar las longitudes de onda y concentraciones de trabajo en función de los coeficientes de extinción molar de las bandas de absorción en caso de ampliar el estudio al resto de complejos (**Figura V.6**). Los espectros de absorción registrados en disolución acuosa a pH fisiológico ($[\text{complejo}] = 5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$), presentan para el $[\text{Bi}(\text{DO3A})]$ dos bandas a 213 y 299 nm, asociadas a transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ propias del ligando y a la $6s \rightarrow 6p$ centrada en el metal, respectivamente; mientras que para los complejos $[\text{Bi}(\text{DODPA})]^+$ y $[\text{Bi}(\text{Me}_2\text{DODPA})]^+$, se observan 3 bandas. Las dos primeras se corresponden a transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ localizadas sobre los grupos picolinato presentes en las cadenas colgantes de los ligandos (219 y 271 nm para el $[\text{Bi}(\text{DODPA})]^+$ y 221 y 271 nm para el $[\text{Bi}(\text{Me}_2\text{DODPA})]^+$) y una tercera y última, asociada a la transición $6s \rightarrow 6p$ centrada en el metal a 333 y 350 nm, respectivamente.

²³ A. Takacs, R. Napolitano, M. Purgel, A. C. Benyei, L. Zekany, E. Brucher, I. Toth, Z. Baranyai, S. Aime, "Solution Structures, Stabilities, Kinetics and Dynamics of DO3A and DO3A-sulphonamides complexes", *Inorg. Chem*, vol. 53, 2858-2872, 2014

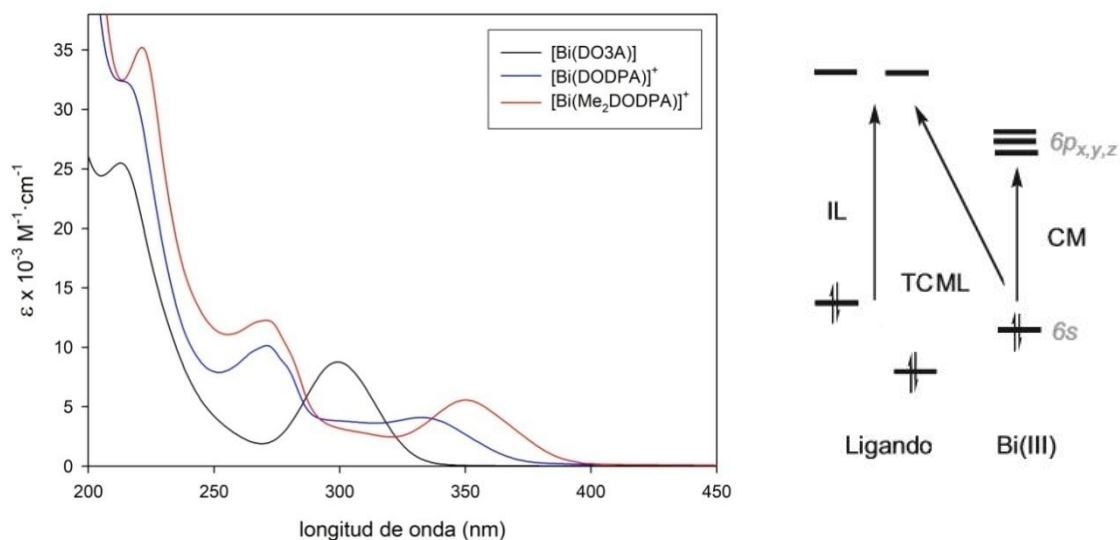


Figura V.6. Espectros electrónicos de absorción de los complejos [Bi(DO3A)] (negro), [Bi(DODPA)]⁺ (azul) y [Bi(Me₂DODPA)]⁺ (rojo) obtenidos en disolución acuosa a 25 °C y pH fisiológico; [complejo]= $5 \cdot 10^{-5}$ M. Diagrama de orbitales moleculares cualitativo en complejos de bismuto(III): (**IL**) Bandas IntraLigando ($\pi \rightarrow \pi^*$) asociadas a transiciones propias de los grupos cromóforos del ligando; (**CM**): Centrada en el Metal, asociada a la transición 6s \rightarrow 6p; y (**TCML**): banda de Transferencia de Carga Metal-Ligando.

Un estudio cuantitativo más detallado para el complejo [Bi(DO3A)] en presencia de un exceso de diferentes aniones permite comprobar cómo la banda 6s \rightarrow 6p centrada en el metal modifica su posición (desplazamiento batocrómico) e intensidad (hipo o hipercromismo) una vez que el complejo interacciona con los aniones presentes en el medio (**Figura V.7**).

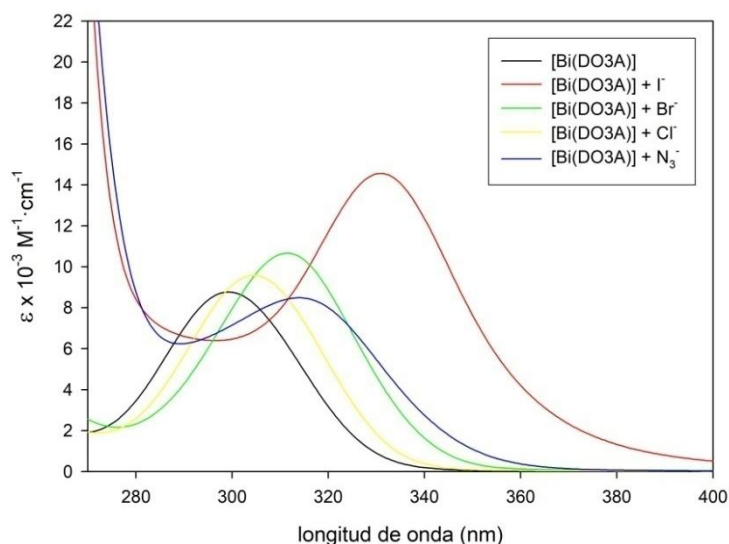


Figura V.7. Espectros electrónicos de absorción del complejo [Bi(DO3A)] en ausencia y presencia de diferentes aniones obtenidos en disolución acuosa a 25 °C y pH fisiológico; [complejo]= $5 \cdot 10^{-5}$ M.

La sensibilidad de esta banda para detectar la interacción con los aniones, junto con su nulo solapamiento con las bandas de absorción propias de los aniones, fue el factor decisivo a la hora de elegirla para la monitorización de su variación durante la valoraciones espectrofotométricas.

Para estudiar la interacción de $[\text{Bi}(\text{DO3A})]$ con diferentes aniones (Cl^- , Br^- , I^- y N_3^-) se valoraron disoluciones de complejo ($5 \cdot 10^{-5}$ M) en agua (pH 6,6) con disoluciones estándar de los aniones (como sus sales de sodio o potasio) de concentraciones 0,5 M. La adición de los aniones sobre las disoluciones provoca en todos los casos un desplazamiento batocrómico de la banda asociada a la transición $6s \rightarrow 6p$ centrada sobre el metal a 299 nm ($\epsilon = 8772 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) (**Figura V.8**).

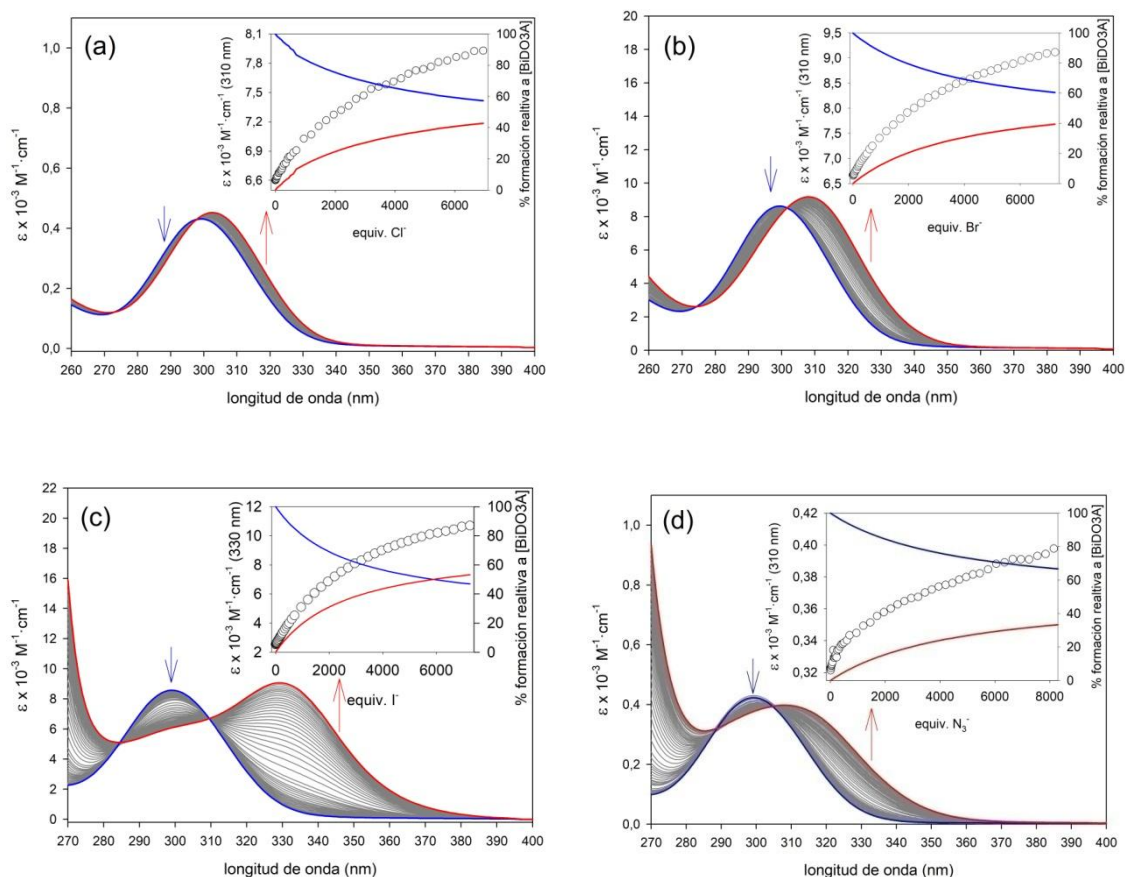
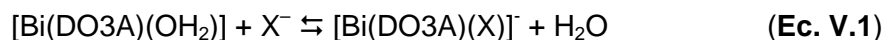


Figura V.8. Conjunto de espectros electrónicos de absorción obtenidos durante las valoraciones en disolución acuosa a 25 °C del complejo $[\text{Bi}(\text{DO3A})]$ ($5 \cdot 10^{-5}$ M) con (a) Cl^- , (b) Br^- , (c) I^- y (d) N_3^- ($[\text{anión}] = 0,5$ M). Insertos: perfiles de valoración a la longitud de onda seleccionada y diagramas de especiación frente a los equivalentes de anión añadidos. En color azul se representa el espectro inicial del complejo en ausencia de anión y en rojo el último espectro de la valoración en exceso de anión. La misma selección de colores se emplea en la representación de los diagramas de especiación recogidos en los insertos.

Los perfiles de las valoraciones y la formación simultánea de dos puntos isobésticos durante las mismas, a 273 y 296 nm en el caso del Cl^- , 275 y 302 nm para el Br^- , 284 y 309 nm para el I^- y 289 y 305 nm para el anión N_3^- , apuntan a la existencia de un único equilibrio para cada anión en disolución, de acuerdo con la **Ecuación V.1**, donde $X = \text{Cl}^-$, Br^- , I^- o N_3^- :



Mediante la regresión no lineal de los correspondientes perfiles de valoración fue posible determinar el valor de las constantes de asociación en todos los casos. Se obtuvieron valores de $\log K_{11}$ de 0,55(1) para Cl^- , 0,49(1) para Br^- , para I^- 0,79(1) y 0,34(1) para N_3^- , todos ellos muy pequeños de acuerdo con una débil interacción complejo-anión. Se hace evidente un orden en la secuencia de afinidad hacia los aniones ($\text{I}^- > \text{Br}^- \approx \text{Cl}^- > \text{N}_3^-$), que discurre paralelo al carácter duro o blando del anión de acuerdo con el Principio de ácidos y bases duros y blandos de Pearson, y que en este caso está directamente relacionado con el carácter fronterizo del catión $\text{Bi}(\text{III})$. Tal y como se comentó en la *Introducción*, este catión prefiere interactuar con ligandos blandos, y de acuerdo con esto, se observa una constante de asociación mayor para el anión I^- respecto a aquellas observadas en el resto de los aniones, las cuales disminuyen a medida que aumenta el carácter duro del anión.

Analizando la estructura de los complejos de $\text{Bi}(\text{III})$, se puede comprobar que estos sistemas carecen de grupos funcionales orgánicos capaces de establecer enlaces de hidrógeno para el reconocimiento aniónico, por lo que la interacción con los aniones únicamente podrá realizarse a través de su coordinación al centro metálico. Para ello, éste debe de estar coordinativamente insaturado, o bien poseer en su esfera de coordinación un ligando fácilmente reemplazable como puede ser una molécula de agua. Esta última situación podría plantearse en el caso del $[\text{Bi}(\text{DO3A})]$, para el cual el entorno de coordinación del $\text{Bi}(\text{III})$ podría describirse como un antiprisma cuadrado girado (TSAP), en una estructura similar a la que presentaría el complejo análogo derivado de DOTA^{4-} ,^[6] en el que una de las posiciones de coordinación estaría ocupada por una molécula de agua (**Figura V.9**).

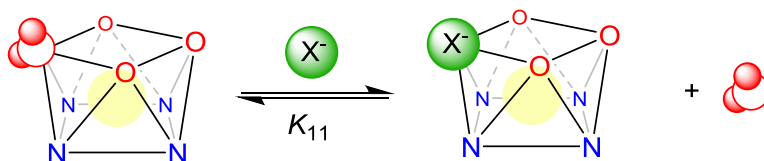


Figura V.9. Posible vía de reconocimiento aniónico de $[\text{Bi}(\text{DO3A})]$ por desplazamiento de la molécula de agua presente en la esfera de coordinación del centro metálico.

En las valoraciones espectroscópicas realizadas para los complejos $[\text{Bi}(\text{DODPA})]^+$ y $[\text{Bi}(\text{Me}_2\text{DODPA})]^+$ con el anión I^- no se aprecian variaciones espectrales significativas, por lo que no fue posible determinar el valor de las constantes de asociación con estos complejos. De acuerdo con la bibliografía, la estructura en estado sólido del complejo $[\text{Bi}(\text{Me}_2\text{DODPA})]^+$ (**Figura V.2.**) presenta un centro metálico perfectamente ocluido en el interior de la cavidad del receptor, coordinado a todos los átomos dadores presentes en la estructura con un $\text{IC} = 8$. Esta situación inhibiría la posibilidad de una interacción de los aniones con el complejo mediante una coordinación de los mismos al centro metálico, ya que el grado de plegamiento existente entre los grupos cromóforos de las cadenas colgantes del receptor impedirían en la aproximación efectiva de los aniones al catión $\text{Bi}(\text{III})$. En el caso del complejo derivado de DODPA, la no presencia de los sustituyentes metilo en el anillo macrocíclico, podría permitir que el ángulo formado por los grupos cromóforos picolinato pudiera abrirse, y permitir la coordinación de un anión a través del eje binario que pasa a través del centro metálico y el centro de la cara cuadrangular definida por los dadores del cyclen. Sin embargo, a la vista de la no variación espectral registrada durante la valoración del complejo $[\text{Bi}(\text{DODPA})]\text{PF}_6$ en disolución, podemos concluir que esta situación no se produce, impidiéndose la coordinación del anión y el reconocimiento efectivo del mismo.

VI. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

A partir de los datos obtenidos en el presente Trabajo de Fin de Grado, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

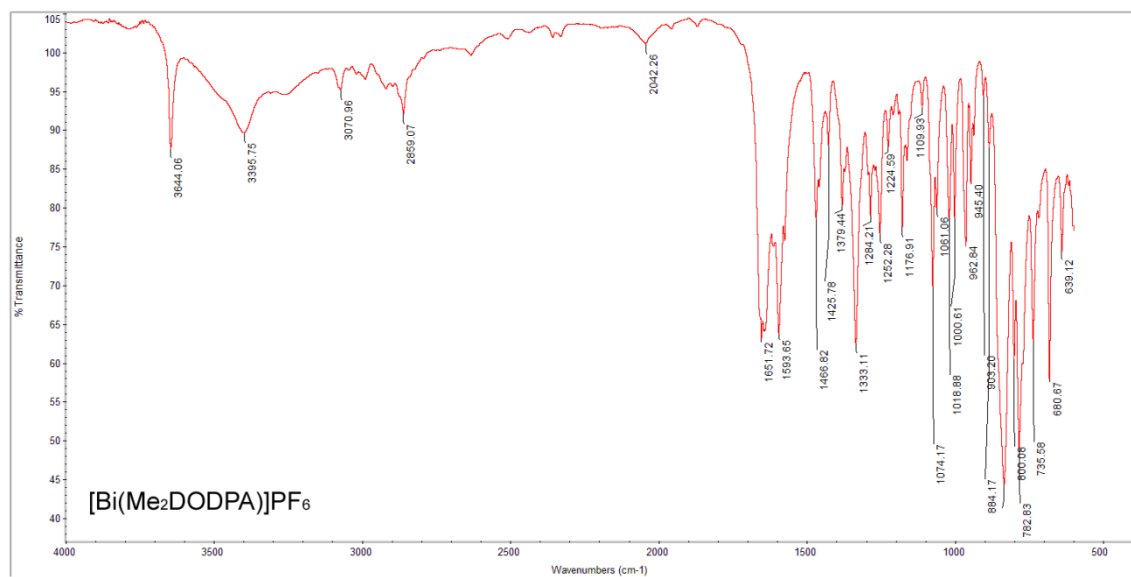
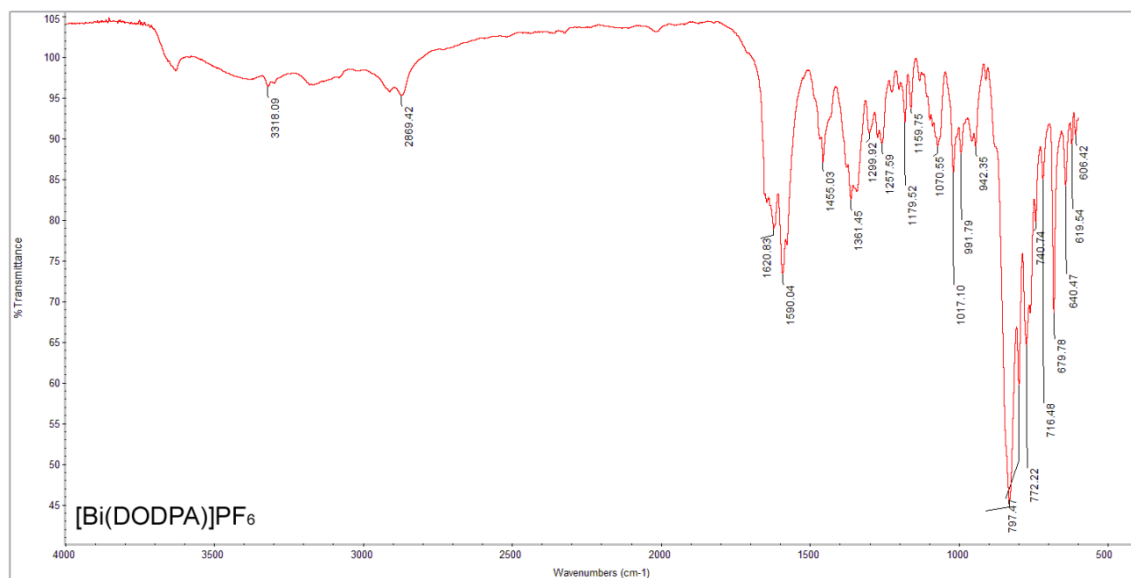
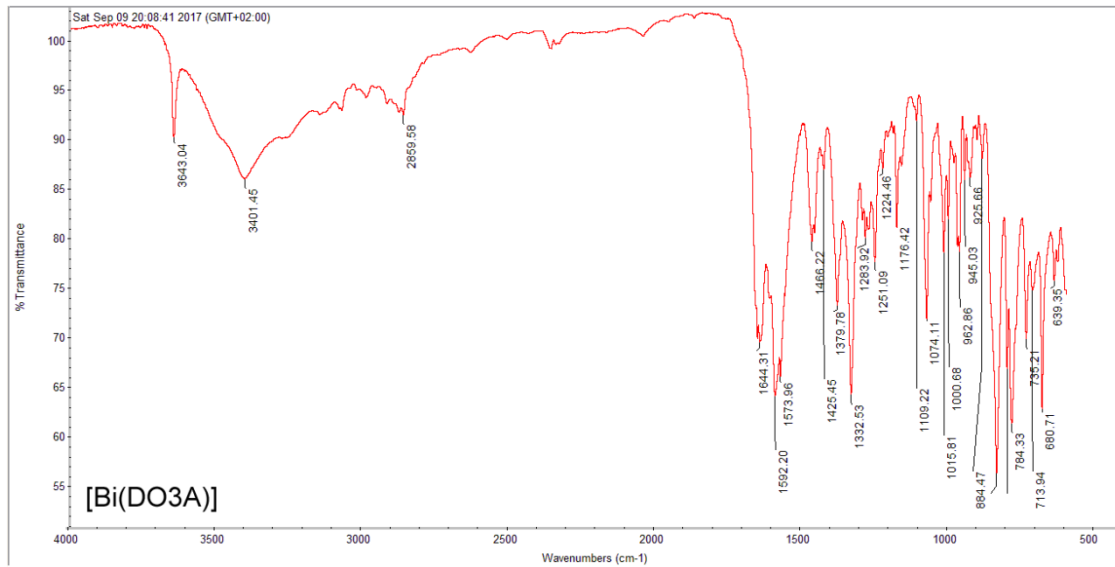
- Los tres complejos de Bi(III) preparados derivados de la plataforma macrocíclica cyclen pueden ser sintetizados de forma eficaz trabajando en condiciones de pH ácido y elevadas temperaturas.
- Los estudios espectrofotométricos reflejan que las diferencias estructurales entre los complejos $[\text{Bi}(\text{DODPA})]^+$, $[\text{Bi}(\text{MeDODPA})]^+$ y $[\text{Bi}(\text{DO3A})]$ asociadas tanto a la naturaleza de los grupos presentes en los brazos coordinantes como a los sustituyentes unidos a los nitrógenos de la plataforma macrocíclica, que tienen consecuencias importantes en cuanto a su habilidad para interactuar con aniones de distinto tamaño y naturaleza.
- El estudio detallado de los espectros de absorción para el complejo $[\text{Bi}(\text{DO3A})]$ en presencia de un exceso de distintos aniones muestra un desplazamiento batocrómico para la banda asociada a la transición electrónica $6s \rightarrow 6p$ centrada en el metal, en todos los aniones estudiados, lo cual indica que es capaz de interactuar con diferentes aniones.
- Las constantes de asociación obtenidas para el complejo $[\text{Bi}(\text{DO3A})]$, son muy pequeñas, lo cual indica una débil interacción con ellos.
- La tendencia de afinidad observada ($\text{I}^- > \text{Br}^- \approx \text{Cl}^- > \text{N}_3^-$), está de acuerdo con la preferencia del bismuto de interactuar en mayor medida con átomos dadores blandos, como el yoduro, frente a átomos dadores duros según el Principio de ácidos y bases duros y blandos de Pearson.
- Los complejos $[\text{Bi}(\text{DODPA})]^+$ y $[\text{Bi}(\text{MeDODPA})]^+$ no interactúan con los aniones objeto de estudio en las mismas condiciones. Probablemente, la estructura de los complejos, con el centro metálico ocluido en el interior de la cavidad macrocíclica impida la aproximación efectiva de los aniones al catión.
- En lo que respecta a su utilidad como potenciales agentes RIT, $[\text{Bi}(\text{DO3A})]$ podría presentar una débil interacción con algún vector de orientación que desplace algún anión débilmente coordinado presente en el medio celular, mientras que los complejos $[\text{Bi}(\text{DODPA})]^+$, $[\text{Bi}(\text{MeDODPA})]^+$, poseen su esfera de coordinación completamente saturada por los dadores presentes en los ligandos.

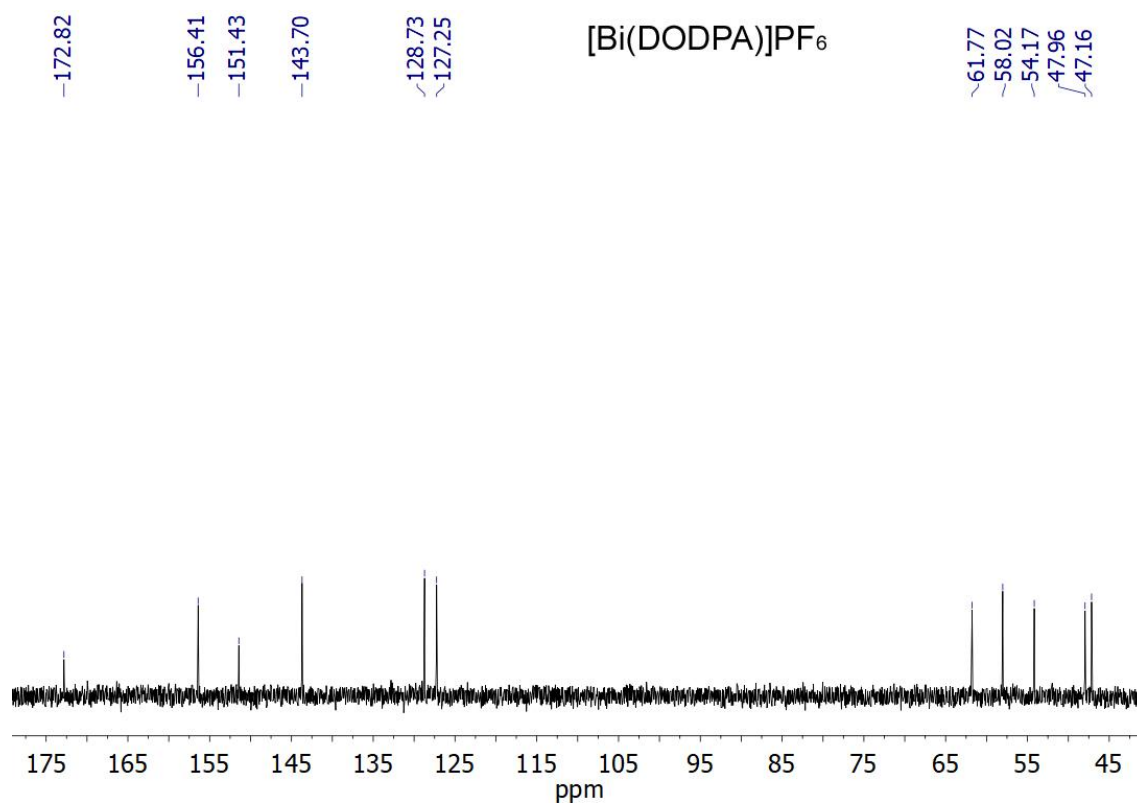
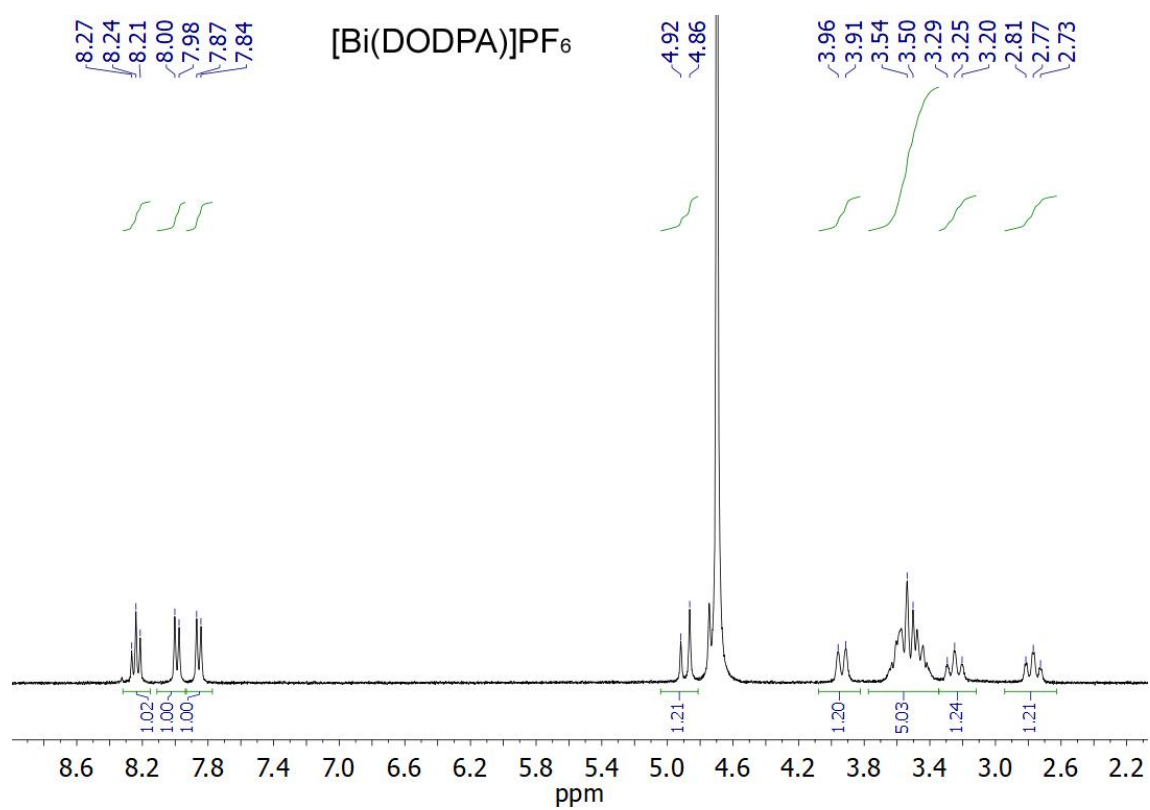
CONCLUSIONS

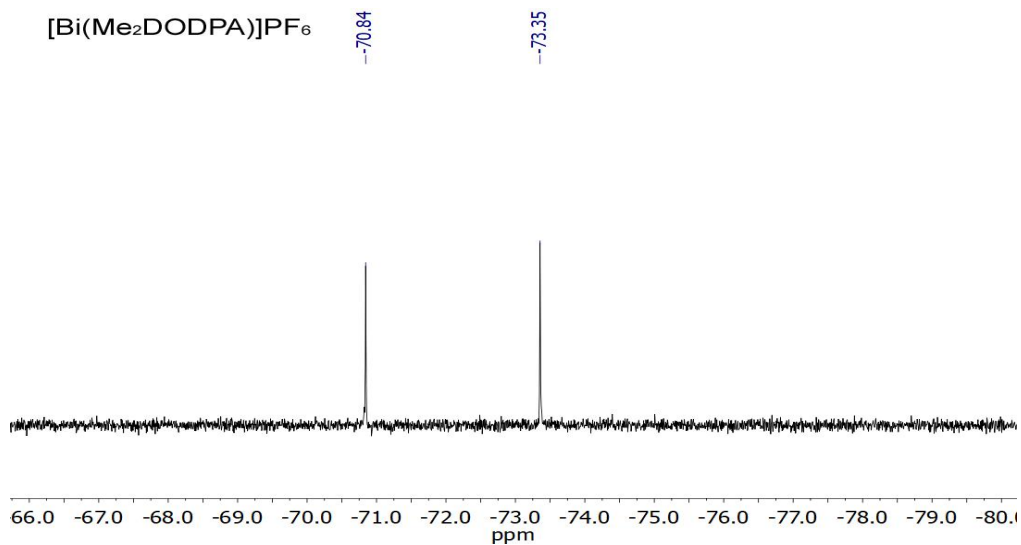
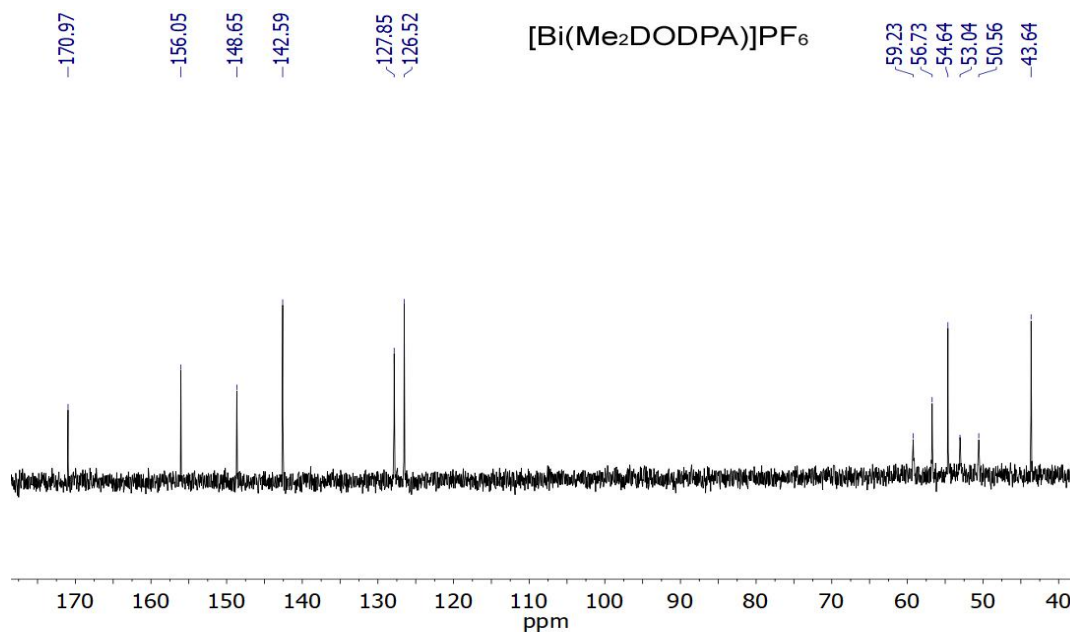
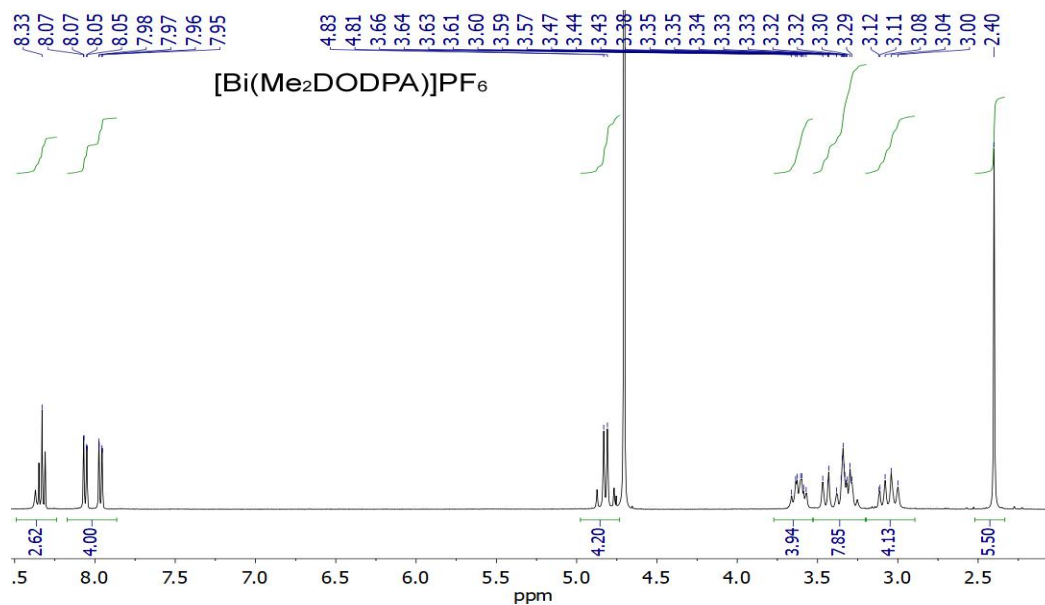
Based on the data obtained in this work, the following conclusions can be drawn:

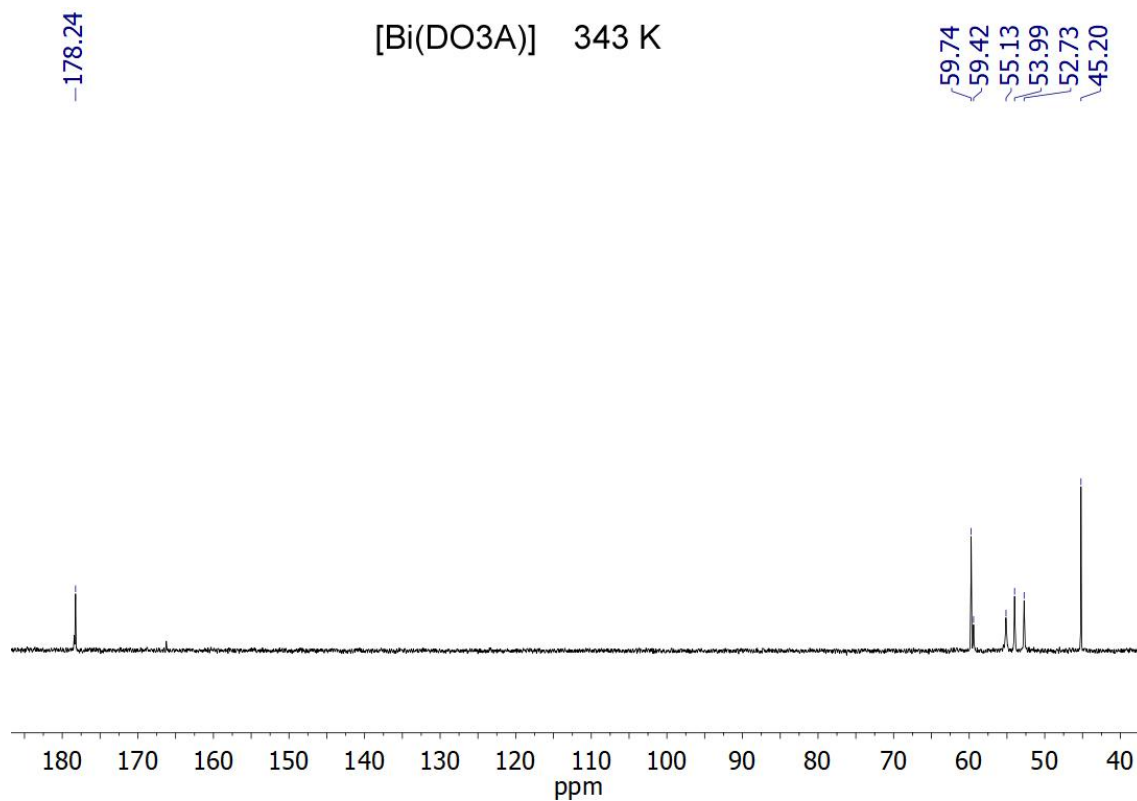
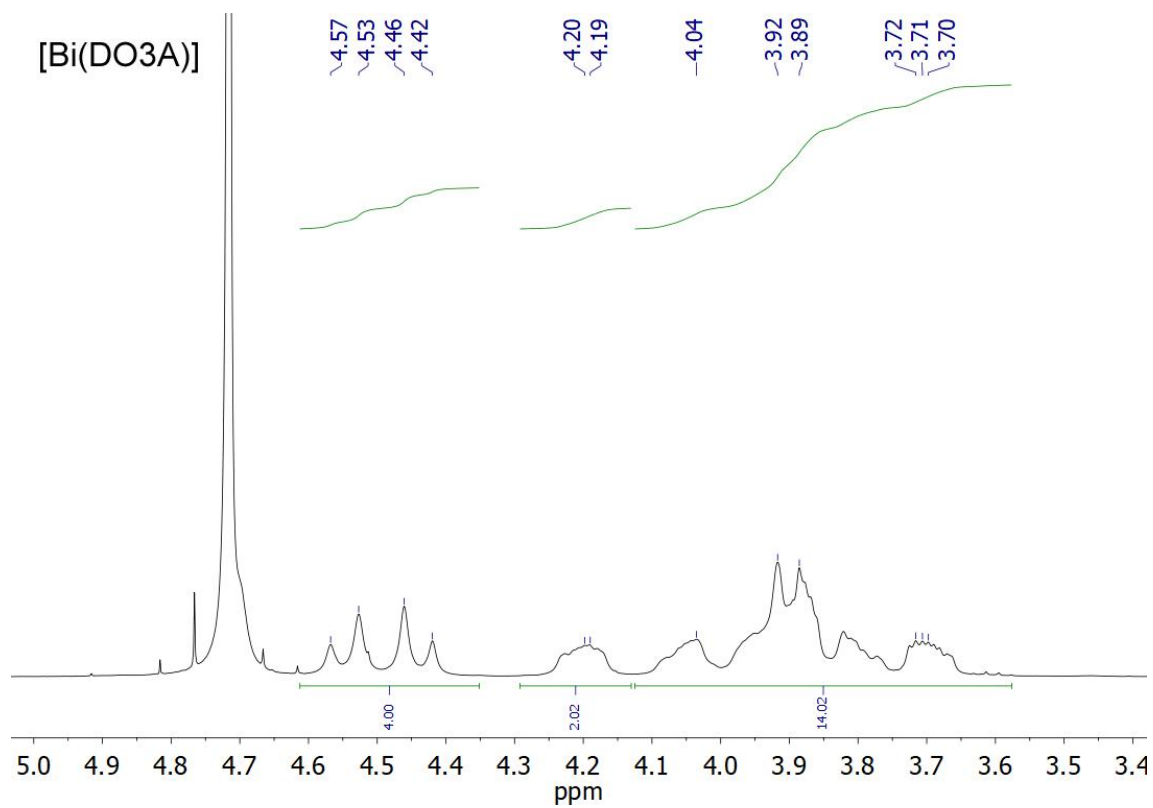
- The three bismuth(III) complexes derived from a cyclen platform studied in this work can be efficiently synthesized in acidic media and high temperature using short reaction times.
- Spectrophotometric studies reflect structural differences among the $[\text{Bi}(\text{DODPA})]^+$, $[\text{Bi}(\text{MeDODPA})]^+$ and $[\text{Bi}(\text{DO3A})]$ complexes, which result in different abilities to bind anions of different size and shape.
- A detailed study of the absorption spectra of $[\text{Bi}(\text{DO3A})]$ recorded in the presence of an excess of different anions show that anion addition provokes a bathochromic shift of the metal $6s \rightarrow 6p$ absorption band, which signals anion coordination.
- The association constants obtained for the interaction of $[\text{Bi}(\text{DO3A})]$ with different anions are low, which indicates a weak binding.
- The binding affinity trend observed ($\text{I}^- > \text{Br}^- \approx \text{Cl}^- > \text{N}_3^-$) agrees with the preference of bismuth(III) to bind soft donor atoms according to Pearson's Hard and Soft Acids and Bases principle.
- Complexes $[\text{Bi}(\text{DODPA})]^+$ and $[\text{Bi}(\text{MeDODPA})]^+$ do not interact with the anions tested in this work under the same conditions. Most likely the ligand wraps the metal ion and does not leave vacant coordination positions for anion binding.
- Regarding their potential as RIT agents, $[\text{Bi}(\text{DO3A})]$ could interact with donor atoms of a potential targeting vector replacing anions and/or water molecules present *in vivo*, while the coordination spheres of the metal ions in $[\text{Bi}(\text{DODPA})]^+$ and $[\text{Bi}(\text{MeDODPA})]^+$ are saturated by the donor atoms of the ligand.

VII. ANEXO ESPECTROS









Title : BIA3X05

Author : ANTONELLA

Sample : [Bi(DODPA)]PF6

Column : F0012 - 20 g - 20.0 g (20 bar)

Solvent A : CH3CN

Solvent C :

Solvent B : H2O

Solvent D :

Channel 1 : UV400:SIG1 ==> 254 nm

Channel 2 : UV400:SIG2 ==> 210 nm

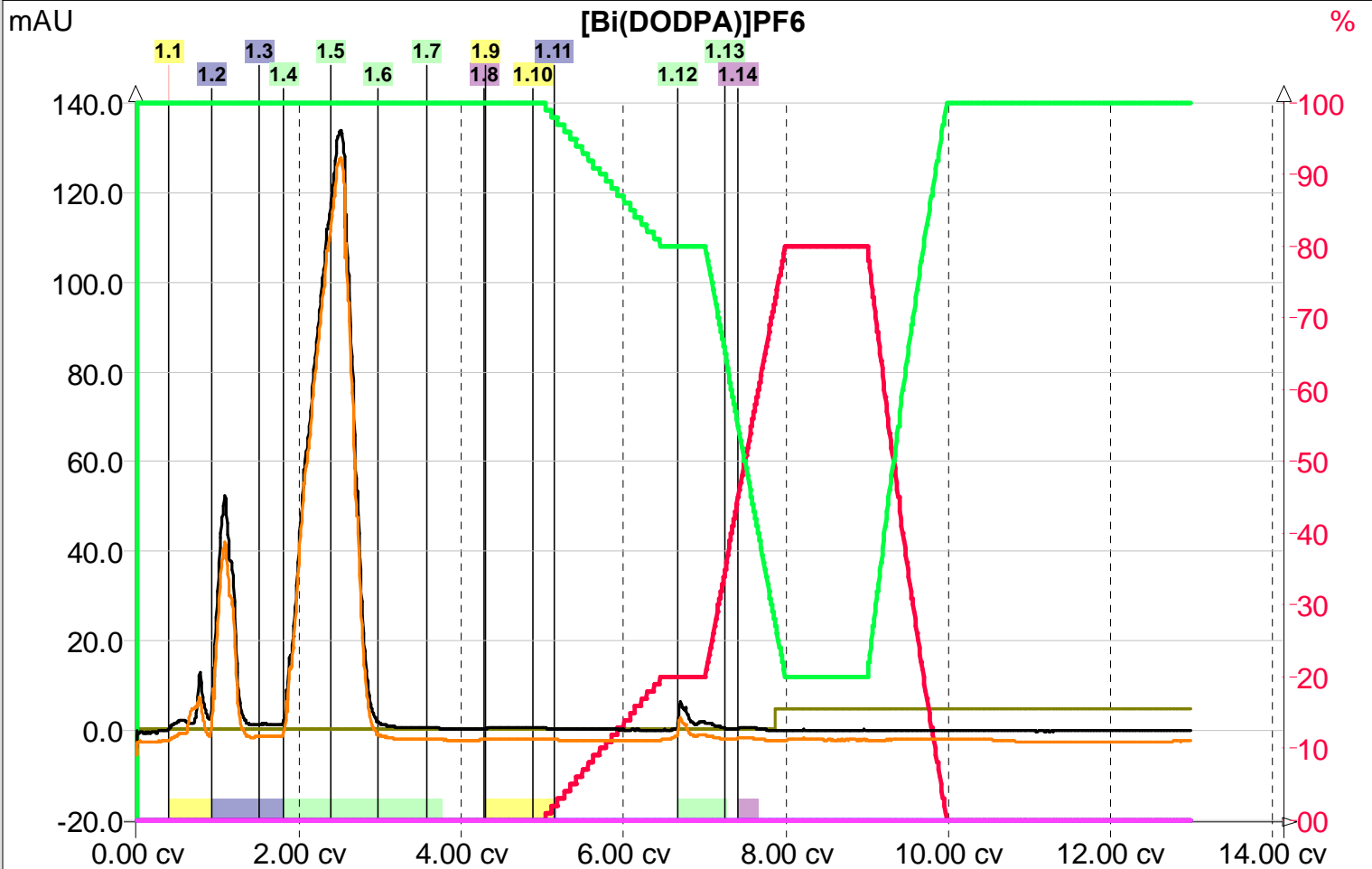
Channel 3 : UV400:SCAN ==> 200-400

Equil+Inject Mode : Equil. (Tabla) + Espere para Inyectar

Stop Mode : Pausa

RUN Time : 4/12/2017 3:19:07 AM

INTENTO PURIFICACION BI - ACN FORMIC 0.1 H2O FORMIC 0.1



Peak Tracking

25 mL			
		001	
		002	
		003	
		004	
		005	
		006	
		007	
		008	
		009	
		010	
		011	
		012	
		013	
		014	
<<	RackSet #1	>>	<< RackSet #2 >>

Collection Table

Rack	Tubos	Fraction	Pico	RSet	Colec.	Volumen	Superficie	%Superficie	Tiempo de Inicio	Tiempo de Fin	Inicio	Fin
1	1	001	001	1	1	10.6	0.2	2.0 %	00:00:49	00:01:53	0.39	0.91
1	2/3	002/003	002	1	1	18.3	1.5	12.9 %	00:01:53	00:03:43	0.91	1.81
1	4/7	004/007	003	1	1	40.3	9.3	82.2 %	00:03:43	00:07:45	1.81	3.77
1	8	008	004	1	1	0.1	0.0	0.0 %	00:08:47	00:08:48	4.28	4.29
1	9/10	009/010	005	1	1	16.9	0.1	0.5 %	00:08:50	00:10:32	4.30	5.13
1	11	011	006	1	1	0.1	0.0	0.0 %	00:10:34	00:10:35	5.15	5.16
1	12/13	012/013	007	1	1	12.3	0.2	1.4 %	00:13:39	00:14:53	6.66	7.26
1	14	014	008	1	1	4.8	0.0	0.2 %	00:15:12	00:15:41	7.41	7.65
-	-	-	-	-	-	314.1	0.1	0.7 %	00:00:00	00:00:00	0.00	0.00

Equilibration Steps

N°	CV	Caudal	%A	%B	%C	%D
01	0.00	15.0	100	00	00	00
02	1.00	15.0	100	00	00	00
03	3.00	15.0	20	80	00	00
04	4.00	15.0	20	80	00	00
05	5.00	15.0	00	100	00	00
06	7.00	15.0	00	100	00	00

Elution Steps

N°	CV	Caudal	%A	%B	%C	%D
01	0.00	10.0	00	100	00	00
02	5.00	10.0	00	100	00	00
03	6.50	10.0	20	80	00	00
04	6.99	10.0	20	80	00	00
05	7.99	10.0	80	20	00	00
06	8.98	10.0	80	20	00	00
07	9.98	15.0	00	100	00	00
08	12.98	15.0	00	100	00	00

Detection Steps

N°	CV	Parameter	Recoger	Umbral	F1
01	0.00	UV400:SIG1 ==> 254 nm	Sí	5	1
		UV400:SIG2 ==> 210 nm	No	5	1
		UV400:SCAN ==> 200-400	No	5	1

Collection Steps

N°	CV	Local	Volumen	Modo	Acción
01	0.00	Sí	12.0	Umbral	Nada

Title : BIA10PF6

Author : ANTONELLA

Sample : [Bi(Me2DODPA)]PF6

Column : F0012 - 20 g - 20.0 g (20 bar)

Solvent A : CH3CN

Solvent C :

Solvent B : H2O

Solvent D :

Channel 1 : UV400:SIG1 ==> 254 nm

Channel 2 : UV400:SIG2 ==> 210 nm

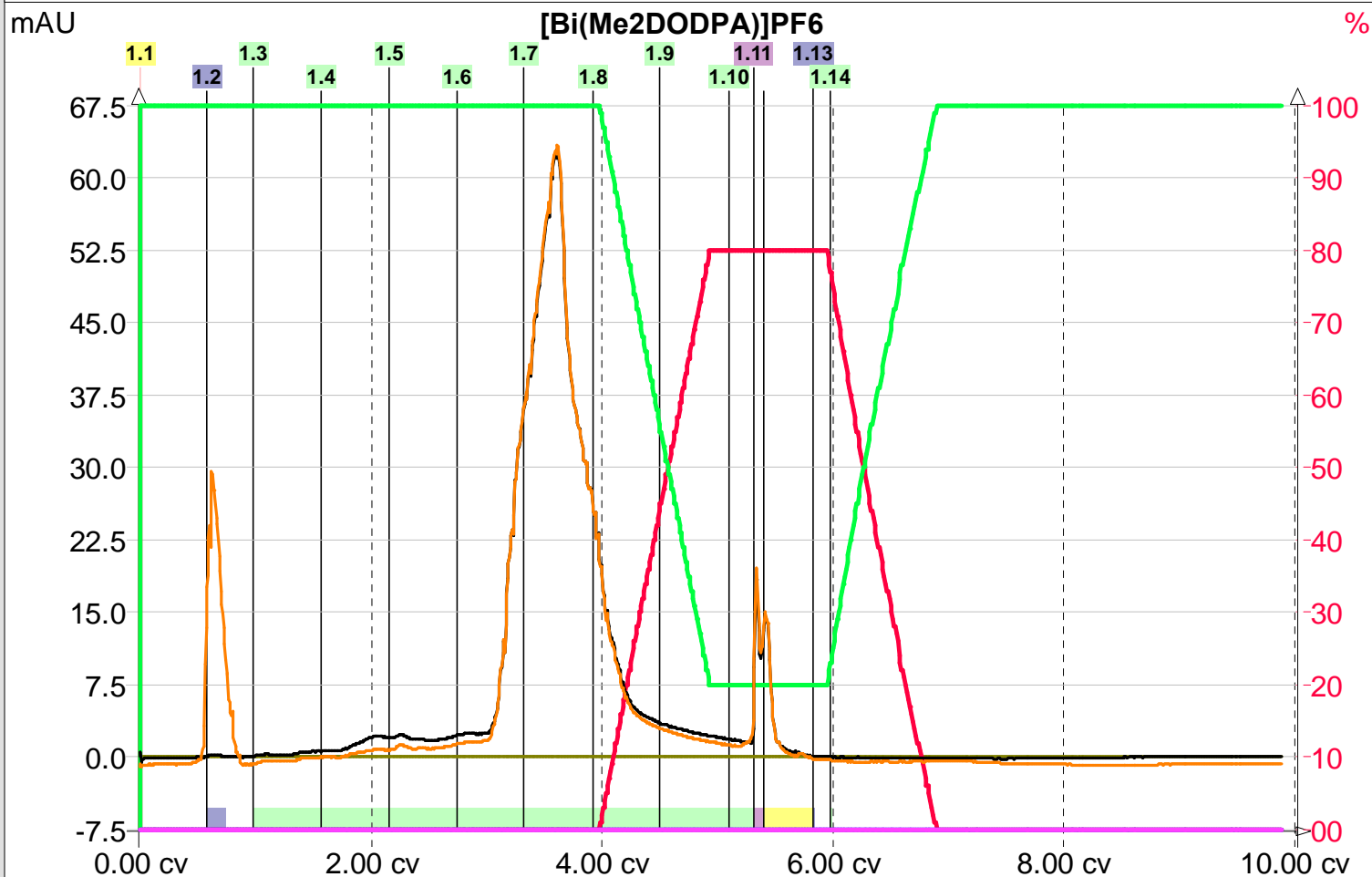
Channel 3 : UV400:SCAN ==> 200-400

Equil+Inject Mode : Equil. (Tabla) + Espere para Inyectar

Stop Mode : Pausa

RUN Time : 5/5/2017 2:29:32 AM

INTENTO PURIFICACION BI - ACN FORMIC 0.1 H2O FORMIC 0.1



Peak Tracking

25 mL			
		001	
		002	
		003	
		004	
		005	
		006	
		007	
		008	
		009	
		010	
		011	
		012	
		013	
		014	
<<	RackSet #1	>>	<< RackSet #2 >>

Collection Table

Rack	Tubos	Fraction	Pico	RSet	Colec.	Volumen	Superficie	%Superficie	Tiempo de Inicio	Tiempo de Fin	Inicio	Fin
1	1	001	001	1	1	0.1	0.0	0.0 %	00:00:01	00:00:02	0.00	0.01
1	2	002	002	1	1	3.4	0.0	0.1 %	00:01:11	00:01:32	0.57	0.74
1	3/10	003/010	003	1	1	88.8	5.2	95.0 %	00:02:01	00:10:54	0.98	5.31
1	11	011	004	1	1	1.8	0.1	2.5 %	00:10:54	00:11:05	5.31	5.40
1	12	012	005	1	1	8.7	0.1	2.7 %	00:11:05	00:11:57	5.40	5.82
1	13	013	006	1	1	0.1	0.0	0.0 %	00:11:58	00:11:59	5.83	5.83
1	14	014	007	1	1	0.1	0.0	0.0 %	00:12:16	00:12:17	5.98	5.99
-	-	-	-	-	-	220.2	-0.0	-0.2 %	00:00:00	00:00:00	0.00	0.00

Equilibration Steps

N°	CV	Caudal	%A	%B
01	0.00	15.0	100	00
02	1.00	15.0	100	00
03	2.50	15.0	00	100
04	5.50	15.0	00	100

Elution Steps

N°	CV	Caudal	%A	%B
01	0.00	10.0	00	100
02	1.96	10.0	00	100
03	3.92	10.0	00	100
04	3.97	10.0	00	100
05	4.94	10.0	80	20
06	5.94	10.0	80	20
07	6.92	15.0	00	100
08	9.88	15.0	00	100

Detection Steps

N°	CV	Parameter	Recoger	Umbral	F1
01	0.00	UV400:SIG1 ==> 254 nm	Sí	0	1
		UV400:SIG2 ==> 210 nm	No	0	1
		UV400:SCAN ==> 200-400	No	0	1

Collection Steps

N°	CV	Local	Volumen	Modo	Acción
01	0.00	Sí	12.0	Umbral	Nada
02	8.37	Sí	12.0	Residuo	Nada

Title : BIA12

Author : ANTONELLA

Sample : [Bi(DO3A)]

Column : F0012 - 20 g - 20.0 g (20 bar)

Solvent A : CH3CN

Solvent C :

Solvent B : H2O

Solvent D :

Channel 1 : UV400:SIG1 ==> 254 nm

Channel 2 : UV400:SIG2 ==> 210 nm

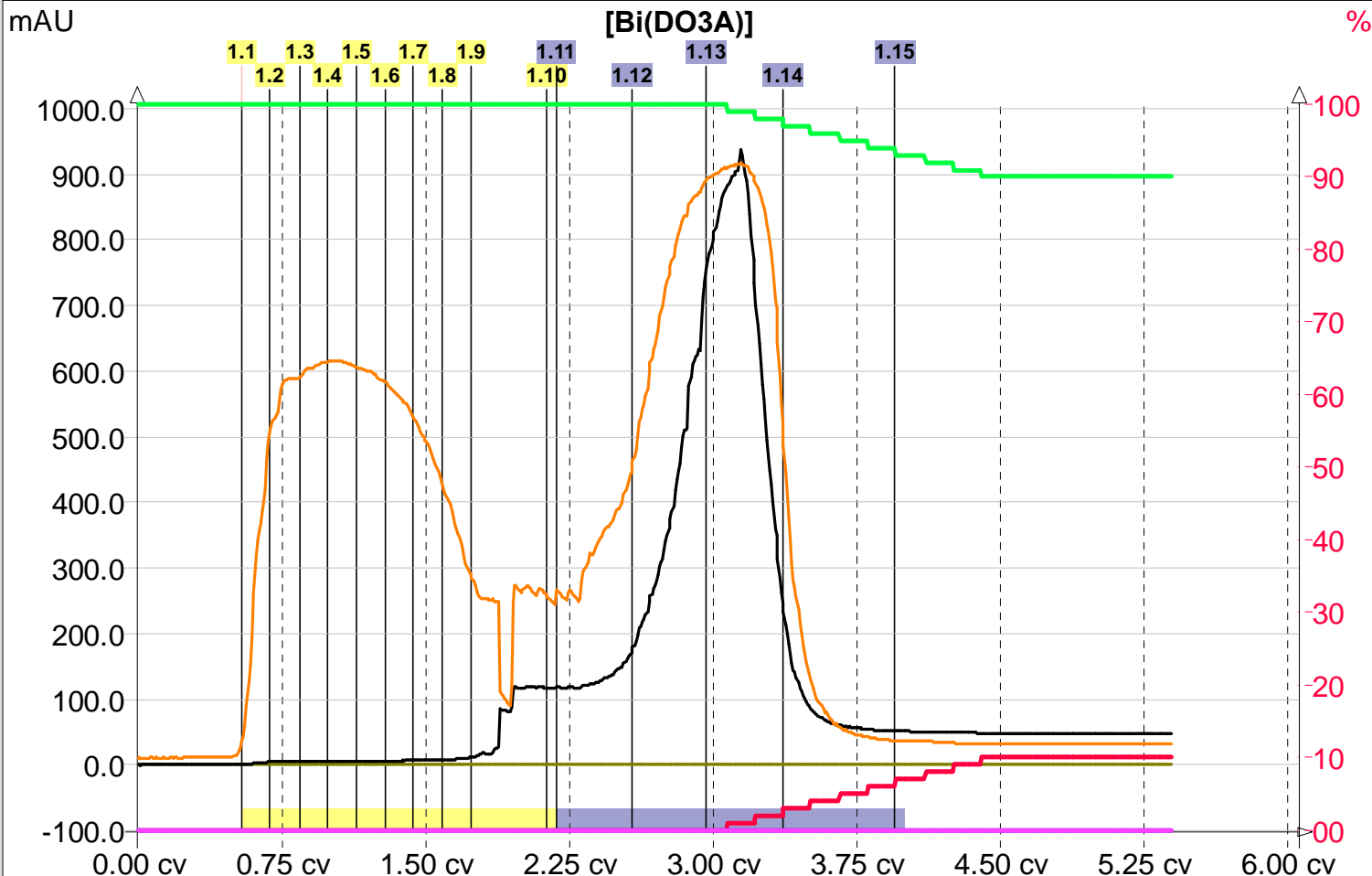
Channel 3 : UV400:SCAN ==> 200-400

Equil+Inject Mode : Equil. (Simple) + Espere para Inyectar

Stop Mode : Pausa

RUN Time : 5/31/2017 7:06:04 AM

INTENTO PURIFICACION A12 - ACN FORMIC 0.1 H2O FORMIC 0.1



Peak Tracking

25 mL			
		001	
		002	
		003	
		004	
		005	
		006	
		007	
		008	
		009	
		010	
		011	
		012	
		013	
		014	
		015	
<<	RackSet #1	>>	<< RackSet #2 >>

Collection Table

Rack	Tubos	Fraction	Pico	RSet	Colec.	Volumen	Superficie	%Superficie	Tempo de Inicio	Tiempo de Fin	Inicio	Fin
1	1/10	001/010	001	1	1	33.7	5.3	6.6 %	00:01:07	00:04:30	0.54	2.18
1	11/15	011/015	002	1	1	37.4	66.7	83.1 %	00:04:30	00:08:14	2.18	4.00
-	-	-	-	-	-	116.3	8.2	10.2 %	00:00:00	00:00:00	0.00	0.00

Elution Steps

N°	CV	Caudal	%A	%B
01	0.00	10.0	00	100
02	3.00	10.0	00	100
03	4.49	10.0	10	90
04	7.98	10.0	10	90
05	8.45	10.0	30	70
06	13.43	10.0	30	70
07	13.93	15.0	80	20
08	15.43	15.0	80	20
09	16.43	15.0	00	100

Detection Steps

N°	CV	Parameter	Recoger	Umbral	F1
01	0.00	UV400:SIG1 ==> 254 nm	Sí	0	1
		UV400:SIG2 ==> 210 nm	No	5	1
		UV400:SCAN ==> 200-400	No	5	1

Collection Steps

N°	CV	Local	Volumen	Modo	Acción
01	0.00	Sí	3.0	Umbral	Nada
02	1.69	Sí	8.0	Umbral	Nada
03	3.07	Sí	12.0	Umbral	Nada
04	4.00	Sí	12.0	Residuo	Nada