



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

Facultade de Ciencias

## Grao en Química

### Memoria do Traballo de Fin de Grao

**Estudio Cinético de Compuestos de Coordinación con Posible Aplicación en Terapia**

**Estudo Cinético de Compostos de Coordinación con Posible Aplicación en Terapia**

**Kinetic Study of Coordination Compounds with Potential Applications in Therapy**

**Alena Vozňáková**

**Curso: 2020 - 2021**

**Convocatoria: Septiembre**

*Director 1:* David Esteban Gómez  
*Director 2:* Emilia Iglesias Martínez



Memoria del Trabajo de Fin de Grado en  
Química por la UDC presentada por  
Dña. Alena Vozňáková en la Facultad de  
Ciencias de la Universidad de A Coruña.

Septiembre 2021



# Agradecimientos

En primer lugar, agradecer a Dr. David Esteban Gómez, por su gran ayuda en la realización de este trabajo, su supervisión, por cuidar cada detalle de este trabajo y sobre todo por su inmensa paciencia.

A Dra. Emilia Iglesias Martínez por guiarme en mi primera investigación, por intentar transmitirme sus conocimientos sobre la cinética química, y por ayudarme analizar e interpretar los resultados experimentales.

A Xabier, mi pareja, por ser un pilar fundamental en mi vida.

A Minia y Sonia, por ser mi gran apoyo durante toda la carrera.

A mi familia, en especial, mi abuela, por ser mi ejemplo a seguir, por su apoyo incondicional y por permitirme llegar hasta aquí.



# Índice

1.	Introducción .....	1
1.1	Medicina nuclear .....	1
1.1.1	Radioterapia .....	2
1.1.2	Radiodiagnóstico .....	4
1.1.3	Radiofármacos .....	7
1.2	Cobre.....	9
1.3	Diseño de radiofármacos .....	11
1.3.1	Isótopos de cobre y su aplicación en medicina nuclear .....	13
1.3.2	Estabilidad termodinámica e inercia cinética de los radiofármacos.....	14
1.3.3	Agentes quelatantes bifuncionales .....	16
2.	Objetivos.....	21
3.	Metodología .....	22
3.1.	Inercia química en presencia de biorreductores: ácido ascórbico (AA) .....	22
3.2.	Inercia química en medio ácido .....	23
4.	Resultados .....	24
4.1.	Inercia química en presencia de biorreductores (ácido ascórbico).....	24
4.1.1.	..Estudio del comportamiento del complejo Cu(2oxa) en presencia de ácido ascórbico .....	26
4.1.2.	Estudio del comportamiento del complejo Cu(CB1A) en presencia de ácido ascórbico .....	33
4.2.	Estudio de la demetalación de los complejos en presencia de ácidos fuertes (HCl y HClO <sub>4</sub> ).....	34
4.2.1.	Estudio de la demetalación de Cu(2oxa) en medio ácido.....	34
4.2.2.	Estudio de la demetalación de Cu(CB1A) en medio ácido .....	39
5.	Conclusiones .....	40





## Abreviaturas

**AA:** Ácido ascórbico

**BFC:** Agente quelatante bifuncional

**CB-cyclam:** 1,4,8,11- tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecano

**CB-cyclen:** 1,4,7,10- tetraazabicyclo[5.5.2]tetradecano

**CB1A:** 4-carboximetil-1,4,8,11- tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecano

**CB-DO2A:** 2,2'-(1,4,7,10tetraazabicyclo[5.5.2]tetradecano-4,10- diil)diacético

**CB-TE2A:** 4,11-bis(carboximetil)-1,4,8,11- tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecano

**Cyclam:** 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano

**Cyclen:** 1,4,7,10-tetraazaciclododecano

**DOTA:** Ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N-N'-N''- N'''-tetraacético

**DTPA:** Ácido dietilentriaminopentaacético

**EECC:** Energía de Estabilización de Campo Cristalino

**EDTA:** Ácido etilendiaminotetraacético

**FDG:** Fluorodeoxiglucosa

**HCl:** Ácido clorhídrico

**HClO<sub>4</sub>:** Ácido perclórico

**NADPH:** Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

**NC:** Neocuproína

**PET:** Tomografía por emisión de positrones

**Sar:** 3,6,10,13,16,19-hexaazabicyclo[6.6.6]jicosano

**SarAr:** N1-(4-aminofenil)-3,6,10,13,16,19-hexaazabicyclo[6.6.6]jicosano-1,8-diamino

**SPECT:** Tomografía por emisión de fotón único

**TACN:** 1,4,7-triazaciclononano

**TETA:** Ácido 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano- N-N'- N''-N'''-tetraacético

**UV-Vis:** Ultravioleta visible

**2oxa:** Ácido 2,2'-(1,7-dioxa-4,10-diazaciclododecano-4,10-diil)diacético

# Cronograma

	Revisión bibliográfica
	Realización de trabajo experimental
	Tratamiento de datos
	Redacción de la memoria

enero						
L	M	X	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

febrero						
L	M	X	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	X	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	X	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	X	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						

junio						
L	M	X	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				

julio						
L	M	X	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	

agosto						
L	M	X	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					

septiembre						
L	M	X	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			





## Resumen

En el presente Trabajo Fin de Grado se realizó un estudio cinético comparativo de dos compuestos de coordinación de  $\text{Cu}^{2+}$  derivados de dos plataformas macrocíclicas diferentes con posible aplicación en la Imagen Molecular.

En concreto, se analizaron dos posibles mecanismos de liberación de cobre(II) en el organismo: i) por acción de biorreductores (ácido ascórbico); y ii) disociación por catálisis ácida (estudio en presencia de ácidos fuertes). El objetivo de este trabajo es estudiar la inercia química de los dos compuestos frente a su disociación en medio acuoso, con finalidad de una posible aplicación de estos en Medicina Nuclear.

## Resumo

No presente Traballo Fin de Grao levouse a cabo un estudo cinético comparativo de dous compostos de coordinación de  $\text{Cu}^{2+}$  derivados de dúas plataformas macrocíclicas diferentes con posible aplicación en Imaxe Molecular.

En concreto, analizáronse dous posibles mecanismos de liberación de cobre(II) no corpo: i) pola acción de biorreductores (ácido ascórbico); e ii) disociación por catálise ácida (estudo en presenza de ácidos fortes). O obxectivo deste traballo é estudar a inercia química dos dous compostos fronte á disociación nun medio acuoso, co obxectivo dunha posible aplicación destes en Medicina Nuclear.

## Abstract

In the present Final Degree Project, a comparative kinetics study of two  $\text{Cu}^{2+}$  coordination compounds derived from two different macrocyclic platforms with possible application in Molecular Imaging was carried out.

Two possible release pathways of copper(II) in the body were studied: i) action of bio-reducers (ascorbic acid); and ii) dissociation in the presence of strong acids. The objective of this work is to analyse the chemical inertness of these two compounds against dissociation in an aqueous medium, with the aim of a possible application of these compounds in Nuclear Medicine.

# 1. Introducción

## 1.1 Medicina nuclear

La medicina nuclear es una especialidad médica interdisciplinaria que emplea elementos radioactivos con fines diagnósticos, terapéuticos o de investigación de enfermedades. Posee una amplia aplicación en diferentes ámbitos como pueden ser la medicina interna, neurología o incluso en psiquiatría, si bien, su uso más habitual sigue siendo en el tratamiento de todos los tipos de cáncer y enfermedades de la sangre, o en el tratamiento paliativo del dolor en el cáncer de huesos.

Generalmente, los elementos radioactivos se administran unidos a sustancias específicas recibiendo el nombre de trazadores radioactivos (radiofármacos), los cuales se distribuyen por el organismo emitiendo radiación. Dependiendo de su finalidad, diagnóstico o terapia, se emplean radioisótopos diferentes, ya que el tipo de emisión del núclido condiciona en gran medida su aplicación final. Así, es frecuente el uso de radioisótopos emisores gamma o de positrones en diagnóstico, ya que la radiación emitida en su decaimiento puede ser detectada desde el exterior del organismo y utilizada posteriormente para generar imágenes; mientras que, el uso de emisores alfa o beta es más frecuente en terapia, donde el radiofármaco es diseñado para depositarse y actuar en una zona específica del organismo (diana).<sup>1</sup>

La historia de la medicina nuclear empieza a finales del siglo XIX, cuando en un corto intervalo de tiempo, diferentes investigadores realizaron los descubrimientos que servirían para establecer sus pilares: Wilhelm Conrad Röntgen descubrió 1895 los rayos X, Antoine Henri Becquerel la radioactividad de uranio en 1896 y Marie Curie la radioactividad natural en 1898. No obstante, la medicina nuclear actual y sus aplicaciones médicas no comienza hasta varias décadas más tarde, cuando en el año 1934 el matrimonio francés Joliot-Curie descubrió la radioactividad artificial y los físicos Arthur Roberts y Robley Evans realizaron los primeros ensayos con yodo radioactivo en 1938.<sup>2</sup> Más tarde, en los años 60, fue introducido el isótopo  $^{99}\text{Tc}^m$  para su uso en medicina,

---

<sup>1</sup> Elliyanti A. An introduction to nuclear medicine in oncological molecular imaging. *AIP Conference Proceedings*. 2019, 2180, 020050. DOI: 10.1063/1.5135559.

<sup>2</sup> Peñafiel Ramírez, A. Historia de la Medicina Nuclear. *Medicina Balear*. 1996, 11 (1), 2255-0569.

elemento que actualmente llega a emplearse hasta en un 80% de las técnicas de exploración.<sup>3</sup>

La incorporación de ordenadores y el diseño de software especializado para la generación de imágenes de diagnóstico tumoral a finales de los años 60, permitió el desarrollo de técnicas novedosas como la Tomografía por Emisión de Fotón único (SPECT - *Single Photon Emission Computed Tomography*) para la obtención de imágenes tridimensionales, gracias al uso acoplado de gammacámaras rotatorias; o más recientemente, la invención del primer escáner para la generación de imágenes mediante Tomografía por Emisión de Positrones (PET - *Positron Emission Tomography*).<sup>4</sup>

En la actualidad, las diferentes técnicas de imagen molecular se encuentran en un continuo desarrollo tecnológico, ya que no sólo son una herramienta fundamental que aporta información *in vivo* sobre los diferentes procesos biológicos y químicos que se dan en un organismo, sino que permite detectar anomalías y/o enfermedades en una etapa muy temprana.

### 1.1.1 Radioterapia

La radioterapia se define como una especialidad físico-médica que utiliza los efectos de la radiación emitida por los radionúclidos sobre un tejido vivo. En la mayoría de los casos su utilidad está orientada al tratamiento del cáncer. Las células malignas asociadas a esta enfermedad mueren o se inactivan bajo el efecto de la radiación. Esto es debido a que su ADN se ve dañado, de forma que se bloquea o inhibe su proliferación.<sup>5</sup> En su uso, pueden diferenciarse: la terapia curativa, cuando el paciente se cura completamente al conseguirse el cambio deseado en todo el tejido maligno, o bien la terapia paliativa, en la que el curso de la enfermedad queda suspendido o ralentizado por acción del radiofármaco.<sup>6</sup>

El objetivo que persigue la radioterapia es una eliminación del tejido maligno que minimice posibles efectos secundarios no deseados. Así, para conseguir el mayor beneficio terapéutico, se diseñan fármacos que permiten administrar dosis altas de radiación de

---

<sup>3</sup> Historia de la Medicina Nuclear - SAMN Sociedad Andaluza de Medicina Nuclear <https://www.samn.es/la-medicina-nuclear/historia/47-historia-de-la-medicina-nuclear> (accessed Apr 1, 2020).

<sup>4</sup> Historia de la Medicina Nuclear - SAMN Sociedad Andaluza de Medicina Nuclear <https://www.samn.es/la-medicina-nuclear/historia/47-historia-de-la-medicina-nuclear> (accessed Apr 1, 2020).

<sup>5</sup> Loveland, W.; Morrissey, D. J.; Seaborg, G. T. *Modern nuclear chemistry*, John Wiley & Sons, 2017.

<sup>6</sup> Granados, M.; Arrieta, O. G.; Hinojosa, J. *Tratamiento del cáncer. Oncología médica, quirúrgica y radioterapia*; Manual Moderno, 2016.

forma selectiva sobre el tumor, manteniendo niveles bajos de la misma en el tejido sano circundante.<sup>7</sup>

La mayoría de los radionúclidos utilizados en radioterapia son emisores de radiación  $\beta$ , aunque también es frecuente el uso de emisores  $\alpha$ , y  $\gamma$ , todas ellas radiaciones de corto alcance (**Tabla 1**). La radiación  $\alpha$  es la menos penetrante de todas, se origina cuando un isótopo inestable emite un núcleo de helio, de tal manera que el núcleo original es transformado en otro. La radiación  $\beta$  es más penetrante que la radiación  $\alpha$ , debido a las diferentes energías que puede presentar, y se puede clasificar en dos tipos:  $\beta^-$ , en la cual las partículas emitidas son electrones y  $\beta^+$ , donde las partículas son positrones (partículas que tienen las mismas características de un electrón, pero con carga positiva). En la desintegración  $\beta$ , igual que en la  $\alpha$ , el núcleo original se transforma en otro. La radiación  $\gamma$  es la más penetrante. Está compuesta por fotones de alta energía que se producen durante la desintegración de núcleos inestables. A diferencia de las radiaciones  $\alpha$  y  $\beta$ , en este caso el núcleo no cambia su identidad, sino que sólo libera energía tras haber decaído desde un núcleo precursor inestable para pasar a un estado de energía más bajo.

Un parámetro importante a la hora de elegir un determinado isótopo para el diseño de un radiofármaco es la vida media de radionúclido (que puede ser del orden de entre horas y días),<sup>8</sup> ya que en ocasiones, limita o impide su posible uso final.

**Tabla 1.** Propiedades de algunos radioisótopos utilizados en radioterapia.<sup>9</sup>

Isótopo	Modo de decaimiento	$t_{1/2}$	Método de producción
<sup>67</sup> Cu	$\beta^-$	61,8 h	Ciclotron, <sup>67</sup> Zn(n,p) <sup>67</sup> Cu
<sup>131</sup> I	$\beta^-$	8 d	Reactor, <sup>130</sup> Te(n, $\gamma$ ) <sup>131</sup> Te $\rightarrow$ <sup>131</sup> I
<sup>186</sup> Re	$\beta^-$	90 h	Reactor, <sup>185</sup> Re(n, $\gamma$ ) <sup>186</sup> Re
<sup>32</sup> P	$\beta^-$	14,3 d	Reactor, <sup>32</sup> S(n,p) <sup>32</sup> P
<sup>225</sup> Ac	$\beta^-$	10 d	Ciclotron, <sup>226</sup> Ra(p,2n) <sup>225</sup> Ac
<sup>67</sup> Ga	$\gamma$	3,3 d	Ciclotron, <sup>67</sup> Zn(p,n) <sup>67</sup> Ga
<sup>211</sup> At	$\alpha$	7,2 h	Ciclotron, <sup>209</sup> Bi( $\alpha$ ,2n) <sup>211</sup> At

<sup>7</sup> Evans, P. M. Anatomical imaging for radiotherapy. *Physics in Medicine and Biology*. 2008, 53(12), R151-91. DOI: 10.1088/0031-9155/53/12/R01.

<sup>8</sup> Qaim, S. M. The present and future of medical radionuclide production. *Radiochimica Acta.*, **2012**, 100(8-9), 635-651. DOI: 10.1524/ract.2012.1966.

<sup>9</sup> Loveland, W.; Morrissey, D. J.; Seaborg, G. T. *Modern nuclear chemistry*, John Wiley & Sons, 2017.



### 1.1.2 Radiodiagnóstico

El objetivo principal de radiodiagnóstico es la obtención de imágenes de calidad suficiente para realizar el diagnóstico de una patología con la menor dosis posible de radiación suministrada al paciente. El método de radiodiagnóstico más antiguo y más sencillo es la radiología convencional. En ella, la radiación empleada es una fuente de rayos X. A medida que esta radiación atraviesa los tejidos en el organismo, ésta se debilita proporcionalmente en función del grosor y la densidad del tejido. Para evaluar y hacer visible la radiación transmitida, se utilizan placas fotográficas que contengan haluros de plata, de forma que la imagen resultante representa una visualización negativa de la densidad del tejido atravesado. Esta técnica se puede combinar con la tomografía computarizada. Sin embargo, debido a que los tejidos blandos absorben muy débilmente los rayos X, es difícil distinguir el tejido blando sano del tejido que presenta algún tipo de patología, por lo que estos métodos no proporcionan alta resolución en la imagen obtenida.<sup>10</sup> Para salvar esta dificultad, en las técnicas de radiodiagnóstico modernas, actualmente se administra al paciente una dosis pequeña radiofármaco por vía oral, intravenosa o por inhalación. Estos radiofármacos, diseñados para el reconocimiento selectivo del tejido patológico, suelen contener en su estructura emisores gamma (**Tabla 2**) con un tiempo de vida corto y una energía en el intervalo de 100-300 keV. Una vez dentro del organismo, se biodistribuyen de forma específica a través de diferentes rutas metabólicas y son captados específicamente por diferentes órganos y tejidos. La radiación gamma que emiten es recogida y analizada mediante un detector y posteriormente convertida en imágenes 2D o 3D de alta resolución. Las técnicas más importantes para detectar la radiación generada por este tipo de radiofármacos y convertirla posteriormente en imágenes son: SPECT y PET.

La **Tomografía por Emisión de Fotón Único**, (SPECT), es una técnica que ha mostrado un creciente interés dentro de la medicina nuclear en los últimos años y que emplea la radiación gamma generada por isótopos radiactivos como el <sup>99m</sup>Tc. Una vez que el radiofármaco ha sido administrado y se ha distribuido anclado a moléculas biológicamente activas, la radiación gamma emitida se detecta mediante una gamma cámara o a través de sistemas anulares con multidetectores y se procesa mediante métodos de reconstrucción tomográfica. La mayoría de sistemas de SPECT utilizan una gran gamma cámara rotatoria suspendida, que puede girar alrededor del paciente,

---

<sup>10</sup> Ryo, U., Y.; Bekerman, C.; Pinsky, S.M. *Atlas of Nuclear Medicine Artifacts and Variants*; Year Book Medical Publishers, 1985.

permitiendo obtener imágenes del cuerpo de diferentes ángulos.<sup>11</sup> Las aplicaciones más importantes de este procedimiento diagnóstico se centran en el estudio del corazón y el cerebro.

**Tabla 2.** Radioisótopos utilizados en SPECT, emisores gamma.<sup>12, 13</sup>

Isótopo	t <sub>1/2</sub>	Método de producción	Aplicación
<sup>99m</sup> Tc	6 h	generador, <sup>99</sup> Mo/ <sup>99m</sup> Tc	Examen de hígado, pulmón, riñones y corazón
<sup>87m</sup> Sr	2,8 h	generador, <sup>87</sup> Y/ <sup>87m</sup> Sr	Examen de hígado y huesos
<sup>123</sup> I	12 h	ciclotron, <sup>123</sup> Te(p,n) <sup>123</sup> I	Examen de cerebro, riñones y tiroides
<sup>111</sup> In	2,8 d	ciclotron, <sup>111</sup> Cd(p,n) <sup>111</sup> In	Hematología
<sup>201</sup> Tl	3,1 d	ciclotron, <sup>203</sup> Tl(p,3n) <sup>201</sup> Pb→ <sup>201</sup> Tl	Examen de miocardio

La **Tomografía de Emisión de Positrones (PET)** es una técnica no invasiva de diagnóstico por imagen que permite obtener imágenes tomográficas 3D *in vivo*, tras la administración de un radiofármaco emisor de positrones (radiofármaco PET). Esta técnica permite conseguir imágenes de elevada resolución de flujo sanguíneo, metabolismo de la glucosa y proteínas, transporte de aminoácidos y división celular. Se trata de una técnica ampliamente utilizada que permite detectar patologías en una etapa muy temprana y que ha logrado sustituir a otras técnicas de diagnóstico al evitar procedimientos invasivos innecesarios. En su uso se requiere un sistema de producción de radioisótopos emisores de positrones o ciclotrón. Este dispositivo permite la aceleración circular de partículas cargadas, positivas o negativas, en un campo magnético oscilatorio, hasta que estas alcancen la energía cinética suficiente como para producir reacciones nucleares al chocar con un material llamado “blanco” o “diana”, momento en el que se obtienen los radioisótopos emisores de positrones (**Tabla 3**).<sup>14</sup> Posteriormente, estos radioisótopos serán acoplados a moléculas orgánicas más complejas, para dar lugar al radiofármaco deseado. Al igual que en el SPECT, también es necesario disponer de una cámara específicamente diseñada para detectar la radiación gamma generada, y del soporte

<sup>11</sup> Valencia-Calderón, C.; Calderón-Valdiviezo, A.; Muntané-Sánchez, A.; Bechich, S.; Oliveró-Rigau, R.; Segura-Cros, C. Descripción y Fundamentos del SPECT y el PET en el Diagnóstico de la Enfermedad Cerebrovascular. *Rev. Ecuat. Neurol.* **2004**, 13 (3), 1019-8113.

<sup>12</sup> Loveland, W.; Morrissey, D. J.; Seaborg, G. T. *Modern nuclear chemistry*; John Wiley & Sons, 2017.

<sup>13</sup> Zaidi, H.; Hasegawa, B. Determination of the attenuation map in emission tomography. *J. Nucl. Med.* **2003**, 44 (2), 291–315.

<sup>14</sup> Altamirano-Ley, J.; Estrada-Sánchez, G., R.; Ramírez-Arias, J., L. Tomografía por emisión de positrones. PET. Fundamentos e indicaciones. *Acta Médica Grupo Ángeles.* **2005**, 3 (3), 179-189.

informático para el almacenamiento y procesado de las señales que darán lugar a la imagen final.<sup>15</sup>

**Tabla 3.** Radioisótopos más utilizados en PET, emisores de positrones.

Isótopo	t <sub>1/2</sub>	Método de producción	Distancia recorrida antes de la aniquilación	Aplicación
<sup>18</sup> F	110 min	ciclotron, <sup>18</sup> O(p,n) <sup>18</sup> F	0,9 mm	Diagnóstico en oncología
<sup>15</sup> O	2,1 min	ciclotron, <sup>14</sup> N(d,n) <sup>15</sup> O	3,5 mm	Examen de arterias cerebrales
<sup>11</sup> C	20,4 min	ciclotron, <sup>14</sup> N(p,α) <sup>11</sup> C	1,7 mm	Examen de cerebro
<sup>68</sup> Ga	1,1 h	ciclotron, <sup>63</sup> Cu(p,n) <sup>68</sup> Ga	4 mm	Estudios de trombosis y arteriosclerosis
<sup>64</sup> Cu	12,7 h	ciclotron, <sup>64</sup> Ni(p,n) <sup>64</sup> Cu	0,2 mm	Diagnóstico en oncología

La obtención de las imágenes PET (**Figura 1**) está basada en la detección de la energía producida por la aniquilación de los positrones liberados. Tras la emisión de un positrón producido por el radioisótopo, este recorre una distancia corta (dependiendo de la energía de emisión) antes de chocar con un electrón, produciéndose la aniquilación de las dos partículas. Debido a esta aniquilación se producen dos fotones de energía de 511keV, que se proyectan en direcciones opuestas con aproximadamente 180°. Su detección simultánea permite localizar la posición del isótopo en el organismo de forma más precisa que en la tomografía SPECT.<sup>16</sup>

La principal diferencia entre las tomografías SPECT y PET consiste en el tipo de isótopo empleado en la generación de las imágenes. Mientras que en SPECT se utilizan los rayos gamma emitidos directamente por los isótopos radioactivos, en PET los dos rayos gamma generados se obtienen por la aniquilación del positrón liberado por el radiofármaco. Si bien la PET permite una localización más precisa del isótopo en el organismo, los isótopos utilizados en la técnica SPECT son más fáciles de obtener y con una vida media más larga.

<sup>15</sup> Blanco, A.C. Radiofármacos PET de uso humano en España: Pasado y presente. *Seguridad Nuclear*. **2007**, 42, 28-35.

<sup>16</sup>Wadas, T., J.; Wong, E., H.; Weisman, G., R.; Anderson C., J. Copper Chelation Chemistry and its Role in Copper Radiopharmaceuticals. *Curr. Pharm. Des.* **2007**, 13, 3-16. DOI: 10.2174/138161207779313768.

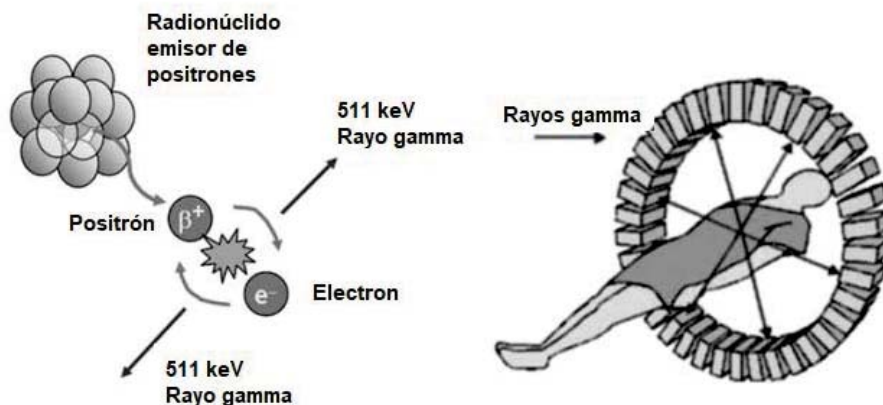


Figura 1. Representación gráfica de la técnica de obtención de imágenes PET.<sup>17</sup>

### 1.1.3 Radiofármacos

Los radiofármacos son medicamentos que contienen uno o varios átomos radioactivos (trazadores) que son administrados de forma que la dosis de radiación emitida permita su uso con fines diagnósticos o terapéuticos.<sup>18</sup> Un radionúclido es un núcleo atómico inestable que, debido a cambios en su estructura interna, se desintegra y emite de forma espontánea radiación ionizante en forma de partículas alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ) o radiación gamma ( $\gamma$ ).

Los radiofármacos se pueden clasificar, según su estructura química, en radionúclidos primarios y compuestos marcados. El primer grupo son soluciones de compuestos inorgánicos del radioisótopo, mientras que los compuestos marcados resultan de la unión de dos componentes: un radionúclido y una biomolécula más compleja (proteína, anticuerpo, aminoácido) que funciona como “vehículo”. Esta última es la que dirige al radiofármaco selectivamente hacia un tejido específico en respuesta a determinadas condiciones fisiológicas.

Una vez sintetizados los radiofármacos se administran al paciente en cantidades de trazas, que rondan  $10^{-11}$  moles, por lo que no se producen modificaciones fisiológicas visibles por interacción con biomoléculas específicas del organismo (efectos

<sup>17</sup> Wadas, T., J.; Wong, E., H.; Weisman, G., R.; Anderson C., J. Copper Chelation Chemistry and its Role in Copper Radiopharmaceuticals. *Curr. Pharm. Des.* **2007**, 13, 3-16. DOI: 10.2174/138161207779313768.

<sup>18</sup> Ferro-Flores, G.; Arteaga de Murphy, C. Radiofármacos de tercera generación. *Comité de Radiofarmacia. Asociación Latinoamericana de Sociedades de Biología y Medicina Nuclear. XX Congreso de ALASBIMN*, 2007, pp 8-16.

farmacodinámicos no deseados). El modo de administración (vía oral, inyección o inhalación) depende de la función o morfología del órgano que se desee evaluar.<sup>19</sup>

Para que un radiofármaco pueda ser empleado *in vivo*, tiene que cumplir una serie de requisitos, entre los que destacan el poseer una alta estabilidad termodinámica y una elevada inercia química frente a la disociación para evitar que el elemento radioactivo se libere en el organismo antes de que el radiofármaco sea excretado. Por ello, antes de realizar experimentos para evaluar su posible toxicidad, es muy importante realizar estudios previos que permitan determinar la estabilidad termodinámica y la inercia química en disolución de los sistemas diseñados. Otro de los requisitos que debe poseer un radiofármaco es un bajo coste y fácil producción. En general, métodos de producción del radioisótopo que sean complejos o métodos de marcación de la biomolécula vector con una química exigente aumentan el coste del producto final, algo que no resulta atractivo para las empresas radiofarmacéuticas.

La distancia geográfica entre el usuario final y el proveedor del radiofármaco, así como el tiempo de vida de éste, son factores que también pueden limitar su uso y viabilidad. En las técnicas de diagnóstico se emplean radiofármacos con períodos de semidesintegración efectivos relativamente cortos, con un tiempo de vida no muy superior al requerido para realizar el estudio clínico. Sin embargo, en tratamientos terapéuticos se prefieren que los radiofármacos que posean un período de semidesintegración efectivo mayor,<sup>20</sup> de tal forma que se pueda maximizar la exposición terapéutica a la radiación.

En la actualidad, los radiofármacos emisores de positrones más empleados en PET son el <sup>15</sup>O, <sup>13</sup>N, <sup>11</sup>C y el <sup>18</sup>F. Sus periodos de semidesintegración son muy cortos, alrededor de 2, 10, 20 y 110 minutos respectivamente, y por ello, su uso está restringido a la proximidad de los ciclotrones en los que se fabrican. Estos radionúclidos habitualmente no tienen la forma química y farmacéutica adecuada para ser administrados directamente como trazadores biológicos, por lo que deben ser incorporados a moléculas más complejas en un laboratorio de radioquímica que debe estar ubicado en las proximidades del ciclotrón, debido al corto periodo de semidesintegración de los radionúclidos.

A día de hoy el trazador PET más utilizado y más importante es la <sup>18</sup>F-2-desoxi-D-glucosa (<sup>18</sup>FDG), debido a sus propiedades biológicas, rápida síntesis, disponibilidad,

---

<sup>19</sup> Chain, C., Y.; Illanes, L. *Radiofármacos en medicina nuclear: Fundamentos y aplicación clínica*. EDULP, 2015.

<sup>20</sup> Chain, C., Y.; Illanes, L. *Radiofármacos en medicina nuclear: Fundamentos y aplicación clínica*. EDULP, 2015.

aplicación en patologías muy diversas y a la posibilidad de ser transportada a centros situados a varias horas desde la ubicación del ciclotrón donde se genera el radionúcleo.<sup>21</sup>

En cuanto al  $^{64}\text{Cu}$ , se trata de un radionúclido de uso muy limitado actualmente en PET, si bien, posee una serie de características radioquímicas que hacen de él un buen candidato para el futuro. El isótopo  $^{64}\text{Cu}$  presenta una vida media larga (12,7 horas), lo que facilita su transporte desde el ciclotrón hasta el centro de su uso clínico. Además, la elevada estabilidad termodinámica observada en compuestos de coordinación derivados de  $\text{Cu}^{2+}$ , permite considerarlo como un elemento muy versátil e interesante a la hora de estudiar su unión con distintos agentes quelatantes. Para su obtención se pueden emplear dos métodos o aproximaciones. En la primera de ellas, la producción del radioisótopo se realiza a partir de  $^{64}\text{Ni}$  ( $^{64}\text{Ni}(p,n)^{64}\text{Cu}$ ), lo cual presenta una desventaja desde el punto de vista económico debido al elevado coste de producción asociado. Como método alternativo, se propone su síntesis es a través de la producción simultánea de  $^{67}\text{Ga}$  y  $^{64}\text{Cu}$  mediante las reacciones nucleares  $^{68}\text{Zn}(p,n)^{67}\text{Ga}$  y  $^{68}\text{Zn}(p,\alpha n)^{64}\text{Cu}$ , si bien, este método no es tan eficiente como el anterior.<sup>22</sup> Debido a esto, actualmente los radiofármacos PET basados en cobre no son de uso extendido. Sin embargo, el gran potencial de este elemento radica en su doble capacidad para actuar como emisor de partículas  $\beta^+$ , usadas para diagnóstico, y como de emisor  $\beta^-$ , de uso en terapia. Por lo que es previsible una optimización de los métodos de producción de estos radionúclidos a corto o medio plazo.

## 1.2 Cobre

El cobre es un metal de transición que junto con la plata y el oro pertenece al grupo 11 de la tabla periódica. Es un metal dúctil y muy abundante sobre la corteza terrestre. Podemos encontrarlo en forma de dos isótopos estables  $^{63}\text{Cu}$  (69,17 %) y  $^{65}\text{Cu}$  (30,83 %), y generalmente mezclado con otros metales (Au, Ag, Bi y Pb) en sulfuros, sulfatos, carbonatos y óxidos minerales. La configuración electrónica de cobre es  $[\text{Ar}]3d^{10}4s^1$ , y su estado de oxidación más estable es  $\text{Cu}^{2+}$ , en el cual presenta una configuración electrónica  $[\text{Ar}]3d^9$ . No obstante, es posible encontrarlo también en otros

---

<sup>21</sup> Altamirano-Ley, J.; Estrada-Sánchez, G., R.; Ramírez-Arias, J., L. Tomografía por emisión de positrones. PET. Fundamentos e indicaciones. *Acta Médica Grupo Ángeles*. **2005**, 3 (3), 179-189.

<sup>22</sup> Szelecsényi, F.; Steyn, G., F.; Dolley, S., G.; Kovács, Z.; Vermeulen, C.; Van der Walt, T., N. Investigation of the  $^{66}\text{Zn}(p,2pn)^{64}\text{Cu}$  and  $^{68}\text{Zn}(p,x)^{64}\text{Cu}$  nuclear processes up to 100 MeV: Production of  $^{64}\text{Cu}$ . *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*. **2009**, 1877-1881. DOI: 10.1016/j.nimb.2009.03.097.

estados de oxidación menos habituales como  $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Cu}^{3+}$  e incluso  $\text{Cu}^{4+}$ , aunque esto muy raramente, y sólo en unos pocos compuestos obtenidos por fluoración.<sup>23,24</sup>

El cobre metálico posee un radio atómico de 128 pm, mientras que el  $\text{Cu}^{2+}$  presenta un radio más pequeño, que oscila entre 57 y 77 pm dependiendo de su índice de coordinación y geometría.<sup>25</sup> Entre ellas, las más frecuentes son: la tetraédrica (IC=4), pirámide de base cuadrada o bipirámide trigonal (IC=5) (IC=5) y la octaédrica (IC=6). En esta última, el poliedro resultante suele presentar distorsiones estructurales debido al efecto de Jahn-Teller, es decir, una elongación o compresión a lo largo de un eje del octaedro debido a la presencia de varios niveles de energía degenerados y no igualmente ocupados en el sistema.

Comparado con el  $\text{Cu}^+$ , el catión  $\text{Cu}^{2+}$  suele ser menos lábil frente al intercambio de ligandos, ya que presenta una energía de estabilización de campo cristalino moderada y condicionada por el efecto Jahn-Teller mencionado anteriormente. Por ello, el catión  $\text{Cu}^{2+}$  es el más adecuado para su incorporación en el diseño de los radiofármacos. Por otro lado, de acuerdo con el principio de ácidos y bases duros y blandos de Pearson (HSAB), el cobre en su estado +2 presenta una dureza fronteriza que favorecerá su coordinación con ligandos que presenten, entre otros, átomos dadores de nitrógeno, oxígeno, azufre o fósforo en su estructura.<sup>26</sup>

En el presente Trabajo de Fin de Grado se presentarán dos complejos formados por el catión  $\text{Cu}^{2+}$  y ligandos quelatantes derivados de dos plataformas macrocíclicas diferentes (Cyclen y CB-Cyclam). Los ligandos macrocíclicos aportan una mayor estabilidad al complejo, gracias al denominado efecto macrocíclico. Éste establece que los complejos de ligandos macrocíclicos son más estables que aquellos con ligandos polidentados lineales con átomos dadores similares. Esto es debido a que en los sistemas macrociclos los átomos dadores se encuentran en posiciones fijas, de forma que estos ligandos presentan una mayor preorganización frente a la coordinación del metal respecto a sistemas de cadena abierta, con el consecuente efecto favorable desde el punto de vista entálpico y entrópico a la energía de enlace. Así, es posible preparar complejos con una estabilidad termodinámica mayor, en comparación con los ligandos análogos lineales. En su diseño, y debido a la naturaleza fronteriza del  $\text{Cu}^{2+}$ , es frecuente que los ligandos incorporen como átomos dadores diferentes heteroátomos que le permitan maximizar su

---

<sup>23</sup> Chambers, C.; Holliday, A., K. *Modern Inorganic Chemistry: An Intermediate Text*, Butterworth, 1975.

<sup>24</sup> Petrucci, R.; Harwood, W. *Química general*; Pearson, 2011.

<sup>25</sup> *Atomic Simulation Group*. <http://abulafia.mt.ic.ac.uk/shannon/radius.php?Element=Cu> (Consultado 2021-6-10).

<sup>26</sup> Wadas, T., J.; Wong, E., H.; Weisman, G., R.; Anderson C., J. Copper Chelation Chemistry and its Role in Copper Radiopharmaceuticals. *Curr. Pharm. Des.* **2007**, 13, 3-16. DOI: 10.2174/138161207779313768.

interacción con el centro metálico, generalmente O, N, P, S y As. Los dos complejos de  $\text{Cu}^{2+}$  estudiados en este trabajo, presentan en su estructura átomos dadores de nitrógeno y oxígeno.

Entender bien la naturaleza del centro metálico seleccionado, resulta fundamental para el diseño de un radiofármaco, ya que en los organismos vivos están presentes diferentes agentes biorreductores y enzimas, como por ejemplo NADPH, o algunos aminoácidos como las vitaminas B o C, que podrían ser capaces de reducir el cobre haciéndolo pasar de un estado de oxidación +2 a +1, modificando de este modo sus propiedades coordinativas. Esta posible reducción provocaría un cambio en la configuración electrónica del metal, que pasaría de  $[\text{Ar}]3d^9$  a  $[\text{Ar}]3d^{10}$ , con el consecuente aumento de su radio iónico y de su carácter como ácido blando de Pearson. Como resultado, el catión  $\text{Cu}^+$  originado tendría una mayor afinidad por dadores más blandos, como el azufre, que suele estar presente en proteínas y otras biomoléculas dentro del organismo. Así, podrían llegar a producirse procesos competitivos en el organismo con estas biomoléculas, de forma que el ion  $\text{Cu}^+$  radiactivo podría llegar a acumularse sobre tejido sano, con el consecuente efecto perjudicial allí donde se ubicase.

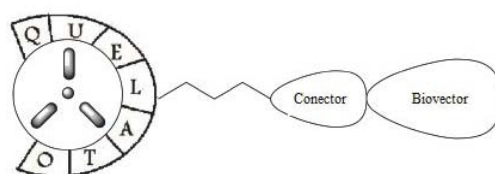
### 1.3 Diseño de radiofármacos

Un radiofármaco generalmente está constituido por un radiometal, un precursor orgánico o agente quelatante (donde se coordina el radiometal), un grupo conector y un biovector o biomolécula. Además, el precursor orgánico destinado a complejar al ion metálico debe disponer al menos de un grupo funcional en su estructura que le permita unirse covalentemente al biovector seleccionado a través de la unidad que actúa como conector. Gracias a esta habilidad recibe el nombre de agente quelatante bifuncional (BFC). El biovector suele ser una pequeña molécula orgánica o inorgánica, un péptido, proteína o anticuerpo. Es la parte esencial del radiofármaco, ya que es el responsable de la interacción selectiva con el tejido de interés. Por eso es importante que la molécula del biovector mantenga una alta especificidad y selectividad después de la unión con el radionúclido.<sup>27</sup>

---

<sup>27</sup> Vermeulen, K.; Vandamme, M.; Bormans, G.; Cleeren, F. Design and Challenges of Radiopharmaceuticals. *Semin. Nucl. Med.* **2019**, 49 (5), 339-356. DOI: 10.1053/j.semnuclmed.2019.07.001.





**Figura 2.** Esquema de un radiofármaco, mostrando las cuatro partes que lo componen.<sup>28</sup>

Se puede decir entonces que el esqueleto orgánico del radiofármaco es el que determina la distribución, metabolismo y eliminación del mismo dentro del organismo, mientras que la emisión del radionúclido es la que permite la detección externa del radiofármaco, o la absorción interna de la radiación cuando este es empleado con fines terapéuticos.<sup>29</sup> Las características específicas de desintegración del radionúclido unido a la molécula de biovector determinan si el radiofármaco se utilizará con fines diagnósticos o terapéuticos. A día de hoy disponemos de una gama amplia de radionúclidos con diferentes características que permiten escoger el radionúclido que mejor se adapte a su aplicación prevista (**Tabla 4**).

**Tabla 4.** Ejemplos de radionúclidos y su aplicación en medicina.<sup>30</sup>

Radionúclido	Tipo de decaimiento	Uso
<sup>18</sup> F	$\beta+$	Diagnóstico en oncología
<sup>15</sup> O	$\beta+$	Examen de arterias cerebrales
<sup>11</sup> C	$\beta+$	Examen de cerebro
<sup>68</sup> Ga	$\beta+$	Estudios de trombosis y arteriosclerosis
<sup>64</sup> Cu	$\beta+$	Diagnóstico en oncología
<sup>99m</sup> Tc	$\gamma$	Examen de hígado, pulmón, riñones y corazón
<sup>87m</sup> Sr	$\gamma$	Examen de hígado y huesos
<sup>123</sup> I	$\gamma$	Examen de cerebro, riñones y tiroides
<sup>111</sup> In	$\gamma$	Hematología
<sup>201</sup> Tl	$\gamma$	Examen de miocardio
<sup>32</sup> P	$\gamma$	Diagnóstico enfermedades óseas
<sup>35</sup> S	$\gamma$	Diagnóstico enfermedades cardiológicas
<sup>51</sup> Cr	$\gamma$	Estudio de eritrocitos
<sup>131</sup> I	$\gamma$	Examen de tiroides
<sup>191m</sup> Ir	$\gamma$	Angiografía

<sup>28</sup> Liu, S.; Edwards, D., S. Bifunctional Chelators for Therapeutic Lanthanide Radiopharmaceuticals. *Bioconjugate Chem.* **2001**, 12, 1, 7–34. DOI: 10.1021/bc000070v.

<sup>29</sup> Sopena-Navales, P.; Plancha-Mansante, M., C.; Martínez-Carsi, C.; Sopena-Monforte, R. Medicina nuclear y radiofármacos. *Radiología*.**2014**, 56 (1), 29-37. DOI: 10.1016/j.rx.2014.07.001

<sup>30</sup> Anderson, K., J.; Welch, M., J. Radiometal-labeled agents (non-Technetium) for diagnostic imaging. *Chem Rev.* **1999**, 99 (9),2219-2234.

En cuanto al método de síntesis de radiofármacos derivados de compuestos de coordinación, uno de los requisitos es que la coordinación entre el ligando y el centro metálico sea lo más simple, rápida y en condiciones de baja temperatura. Si la cinética de formación del complejo es lenta, disminuirá la eficacia del radiofármaco al disminuir su tiempo de vida útil. Hay que recordar que algunos radionúclidos poseen tiempos de vida media cortos, por lo que una cinética de coordinación rápida es determinante para maximizar los tiempos. Por otro lado, la cinética de demetalación del  $\text{Cu}^{2+}$  *in vivo* debe ser lo más lenta posible. El radiofármaco sintetizado debería ser inerte frente a mecanismos de disociación, reacciones de transmetalación o acción de agentes biorreductores presentes en los procesos metabólicos.<sup>31</sup> Esto permitirá que permanezca en el órgano diana el tiempo necesario para la obtención de las imágenes, sin que se libere radionúclido al organismo. Otro de los requisitos es la selectividad del ligando por el catión metálico, ya que en el organismo están presentes otros iones de metales ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ) que podrían producir la reacción de transmetalación y causar la liberación no deseada de radioisótopo y su deposición en tejidos circundantes. Por último, un radiofármaco ha de poseer también una solubilidad adecuada que permita que pueda ser administrado en dosis bajas, y facilite su transporte por el sistema circulatorio para que posteriormente sea eliminado mediante vía renal o hepática.

### 1.3.1 Isótopos de cobre y su aplicación en medicina nuclear

El cobre presenta 29 isótopos con números neutrónicos entre 52 y 80, dos de ellos estables,  $^{63}\text{Cu}$  y  $^{65}\text{Cu}$ , presentes en la naturaleza. El resto de isótopos son radioisótopos con vida media entre 75 ns ( $^{54}\text{Cu}$ ) y 61,3 h ( $^{67}\text{Cu}$ ), y en su preparación, se suele partir de isótopos de elementos vecinos en la tabla periódica empleando un reactor nuclear o un ciclotrón.

No obstante, de estos 27 radioisótopos sólo 6 cumplen los requisitos necesarios para poder ser utilizados en medicina nuclear (**Tabla 5**):  $^{60}\text{Cu}$ ,  $^{61}\text{Cu}$ ,  $^{62}\text{Cu}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{66}\text{Cu}$  y  $^{67}\text{Cu}$ . El más utilizado por sus propiedades, tanto en el radiodiagnóstico, como en terapia, es el  $^{64}\text{Cu}$ . Se trata de un radionúclido ideal para la obtención de imágenes PET, debido a que posee una baja energía de positrones y un tiempo de vida media de 12,7 h, es decir, un

---

<sup>31</sup> Price, E., W.; Orvig, C. Matching chelators to radiometals for radiopharmaceuticals. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, 43, 260-290. DOI: 10.1039/C3CS60304K.

tiempo lo suficientemente largo para ser producido, manipulado y transportado desde el laboratorio desde el laboratorio químico al clínico.

En la actualidad, la ruta más habitual de obtención de  $^{64}\text{Cu}$  es la reacción  $^{64}\text{Ni}(p,n)^{64}\text{Cu}$  en ciclotrones de una energía mayor a 12 MeV, en la cual se bombardea un blanco de  $^{64}\text{Ni}$  enriquecido al 99,6%, y posteriormente, se aísla el radioisótopo generado mediante una separación cromatográfica en una columna de intercambio iónico. Un segundo método de obtención de  $^{64}\text{Cu}$  de alta actividad específica es la reacción nuclear  $^{64}\text{Zn}(n,p)^{64}\text{Cu}$ , en la cual un blanco de  $^{64}\text{Zn}$  es irradiado con un haz neutrones rápidos. Sin embargo, este segundo método origina  $^{65}\text{Zn}$  como subproducto, lo que limita en gran medida la viabilidad de esta ruta. Otra posible ruta alternativa para la obtención del isótopo  $^{64}\text{Cu}$  es a partir de  $^{67}\text{Ga}$  generado por irradiación de un blanco de  $^{68}\text{Zn}$  (reacción nuclear  $^{68}\text{Zn}(p,2n)^{67}\text{Ga}$ ). Si bien es un método relativamente económico, la producción de actividades grandes de  $^{64}\text{Cu}$  es problemática debido al corto periodo de semidesintegración del  $^{67}\text{Ga}$  (3,26 días), que limita en gran medida la separación efectiva de ambos isótopos.<sup>32</sup>

Por último, el isótopo  $^{67}\text{Cu}$  tiene la vida media más larga de todos los isótopos de cobre (61,8 h). Sin embargo, su método de síntesis es muy complejo, ya que requiere un reactor de flujo rápido de neutrones que además encarece bastante su producción.

**Tabla 5.** Propiedades de los radioisótopos de cobre, EC=captura electrónica.<sup>33</sup>

Isótopo	$t_{1/2}$	Modo de decaimiento	Método de producción
$^{60}\text{Cu}$	23,7 min	$\beta^+$ (92,6 %), EC (7,4 %)	ciclotron, $^{60}\text{Ni}(p,n)^{60}\text{Cu}$
$^{61}\text{Cu}$	3,33 h	$\beta^+$ (61,4 %), EC (38,6 %)	ciclotron, $^{61}\text{Ni}(p,n)^{61}\text{Cu}$
$^{62}\text{Cu}$	9,74 min	$\beta^+$ (98 %), EC (2 %)	generador, $^{62}\text{Zn}(\beta^-)^{62}\text{Cu}$
$^{64}\text{Cu}$	12,7 h	$\beta^+$ (18 %), EC (44 %), $\beta^-$ (38 %), $\gamma$ (0,5 %)	ciclotron, $^{64}\text{Ni}(p,n)^{64}\text{Cu}$
$^{66}\text{Cu}$	5,1 min	$\beta^-$ (100 %)	EC, $^{66}\text{Zn}$
$^{67}\text{Cu}$	61,8 h	$\beta^-$ (100 %)	reactor, $^{67}\text{Zn}(n,p)^{67}\text{Cu}$

### 1.3.2 Estabilidad termodinámica e inercia cinética de los radiofármacos

Como se mencionó en el apartado 1.1.3, a la hora de evaluar si un compuesto de coordinación puede llegar a ser interesante para la producción de radiofármacos, es

<sup>32</sup> Cañellas, C., O.; Salgueiro, M., J.; Zubillaga, M. *Radiofármacos: Del laboratorio al paciente*; CJP Ediciones, 2017.

<sup>33</sup> Loveland, W.; Morrissey, D. J.; Seaborg, G. T. *Modern nuclear chemistry*; John Wiley & Sons, 2017.

necesario realizar estudios detallados de su inercia química y estabilidad termodinámica, que aseguren que, tras su administración, el radiometal no abandone la unidad quelatante del radiofármaco y pueda migrar o depositarse libremente por el organismo. Como se comentó anteriormente, esta liberación no deseada podría tener consecuencias perjudiciales, ya que el catión metálico podría interferir en diferentes rutas metabólicas o acumularse en los órganos o tejido (la distribución depende de tipo de metal), donde pueda causar daños mientras el radioisótopo emita, y producir efectos no deseados, muy diferentes a los que persigue su administración como radiofármaco. En el caso concreto del  $\text{Cu}^{2+}$ , este ion suele acumularse en los huesos, hígado y sangre. Otro factor que tener en cuenta en el caso de  $\text{Cu}^{2+}$  es la posible labilidad de los complejos en presencia de agentes biorreductores. Tal y como se mencionó anteriormente, la potencial reducción del  $\text{Cu}^{2+}$  sería una posible vía de liberación del metal en el organismo, bien sea por un proceso competitivo con otro ligando presente, o bien por la disminución de la estabilidad termodinámica tras pasar el ion metálico de estado de oxidación +2 a +1.

Para conocer la estabilidad termodinámica de un compuesto de coordinación es necesario determinar la correspondiente constante de formación del complejo (idealmente en condiciones fisiológicas, medio tamponado y fuerza iónica controlada). Esta constante es una medida de la fortaleza de la interacción entre el ligando y el ion metálico, y permite tanto calcular la especiación en disolución, como realizar estudios comparativos de selectividad de un centro metálico frente a otros ligandos. El método más habitual para la obtención de constantes de estabilidad es la realización de valoraciones potenciométricas, espectrofotométricas o calorimétricas. Las constantes de estabilidad dependen tanto de la naturaleza del metal (carga, radio, configuración, carácter duro-blando) como de la naturaleza del ligando (naturaleza de los átomos dadores, efecto quelato, efecto macrocíclico, basicidad) y del medio (pH, temperatura, fuerza iónica).

La cinética química contempla el estudio de la velocidad de las reacciones químicas, así como de los mecanismos que rigen esas reacciones. El estudio cinético de una reacción se puede realizar en diferentes condiciones experimentales, en las cuales hay varios parámetros que analizar, como el pH (catálisis), la fuerza iónica del medio, la presión, la temperatura o la presencia de agentes reductores u oxidantes, catalizadores, u otros ligandos competitivos. Para todas las posibles reacciones que se pueden dar en el sistema objeto de estudio existe un mecanismo (redox, acido-base, reacciones de sustitución, descomposición, etc.). Sin embargo, asignar un mecanismo específico a un proceso es muy complicado, ya que hay que realizar un estudio exhaustivo de las reacciones.

Una de las posibles vías para abordar el estudio de la cinética de una reacción de disociación de complejos es seguir la descomposición o liberación del centro metálico en medio ácido (disociación por catálisis ácida). En la reacción catalizada por ácido fuerte, un complejo puede llegar a demetalar, ya que los protones presentes en el medio van a competir con el centro metálico por los átomos dadores del esqueleto del ligando. A partir de los datos cinéticos obtenidos experimentalmente es posible realizar un estudio comparativo entre diferentes agentes quelatantes con centros metálicos iguales, determinando la constante de velocidad para el proceso de demetalación y estimando el tiempo de vida que presenta cada uno de los complejos. Así mismo, trabajando en las condiciones de pseudo-orden uno, es posible llegar a determinar el orden de la reacción y la naturaleza de los posibles intermedios.

En el presente trabajo se va a estudiar la inercia química de dos complejos macrocíclicos de  $\text{Cu}^{2+}$  frente a dos ácidos fuertes ( $\text{HCl}$  y  $\text{HClO}_4$ ) y en presencia de un agente biorreductor (ácido ascórbico) en diferentes condiciones experimentales. A priori, cabe esperar, que la elevada estabilidad termodinámica y la rigidez conformacional de los macrociclos generen una elevada inercia química en los complejos derivados a partir de ellos.<sup>34</sup> En este caso, se han seleccionado sistemas macrocíclicos que permiten modular la carga final de los complejos resultantes (uno de los complejos estudiados es neutro y otro posee una carga global +1), por lo que también se estudiará el efecto de la carga global del complejo sobre la labilidad del mismo en las condiciones de estudio.

### 1.3.3 Agentes quelatantes bifuncionales

El agente quelatante bifuncional (BFC) es la parte más importante de un radiofármaco, ya que coordina al radionúclido y lo une covalentemente a la molécula de biovector directamente o a través de un conector. La selección de un BFC se rige por la naturaleza y estado de oxidación del ion metálico. El conector es frecuentemente usado para modificar las propiedades farmacocinéticas del radiofármaco y su biodistribución, alterando su carga neta, lipofilicidad e hidrofiliicidad.<sup>35</sup>

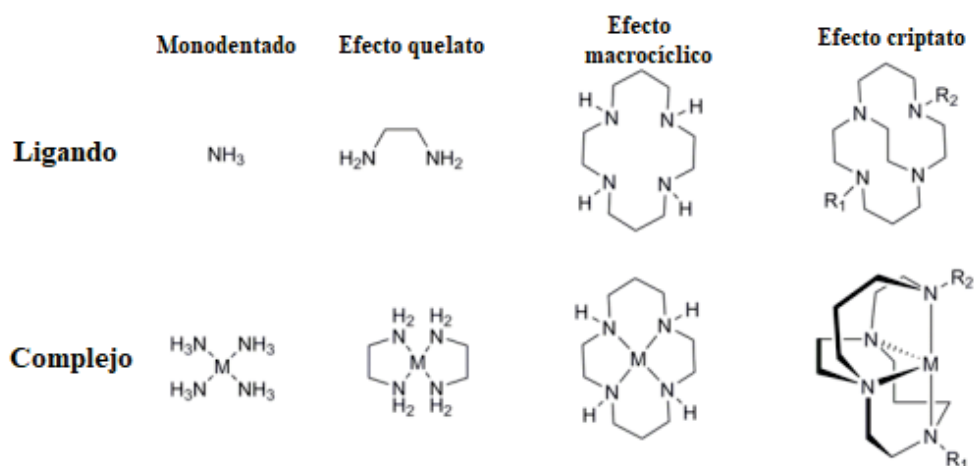
Generalmente, la estabilidad termodinámica en un complejo aumenta siguiendo la secuencia de ligandos  $\text{NH}_3 < \text{etilendiamina} < \text{cyclam} < \text{CB-cyclam}$ , de acuerdo con la

---

<sup>34</sup> Idée, J., M.; Port, M.; Robic, C.; Medina, C.; Sabatou, M.; Corot, C. Role of thermodynamic and kinetic parameters in gadolinium chelate stability. *J Magn Reson Imaging*. **2009**, 30 (6), 1249-58. DOI: 10.1002/jmri.21967.

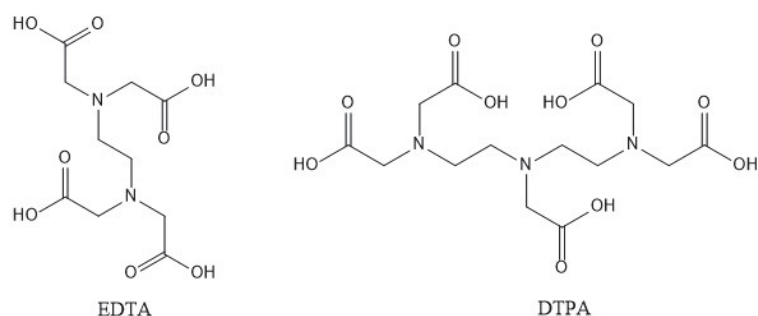
<sup>35</sup> De León-Rodríguez L., M.; Kovacs, Z. The synthesis and chelation chemistry of DOTA-peptide conjugates. *Bioconjugate Chem*. **2008**, 19 (2), 391-402.

presencia de un efecto quelato, macrocíclico y criptato, respectivamente. Hay que destacar que un factor importante en el diseño de los BFC es que el carácter básico de la unidad quelatante es proporcional al número de átomos de nitrógeno presentes en la estructura orgánica del ligando, lo que puede llegar a ser un factor determinante en la estabilidad final del radiofármaco.<sup>36</sup>



**Figura 3.** Ejemplos de diferente topología en ligandos derivados de aminas.

Unos de los primeros agentes quelatantes bifuncionales usados en la radiofarmacología fueron los quelatos acíclicos poliaminocarboxilatos. Entre ellos destacan el EDTA, DTPA (**Figura 4**) y sus derivados, los cuales son capaces de coordinar no sólo al ion  $\text{Cu}^{2+}$ , sino también a una gran variedad de otros iones divalentes. Sin embargo, pese a su alta estabilidad termodinámica *in vitro*, tras su evaluación *in vivo* como potenciales radifármacos utilizando técnicas de incubación en suero, se demostró que eran unidades quelatantes poco útiles debido a la gran labilidad de sus complejos.<sup>37</sup>

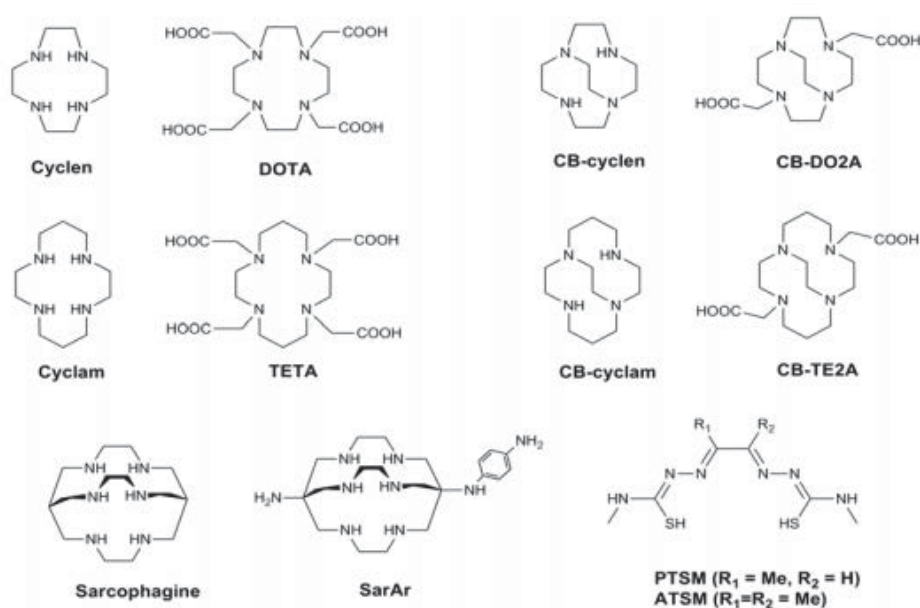


**Figura 4.** Estructuras de quelatos acíclicos poliaminocarboxilatos, EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) y DTPA (pentaacetato de dietilentriamina).

<sup>36</sup> Hao, G.; Singh, A., N.; Oz, O., K.; Sun, X. Recent Advances in Copper Radiopharmaceuticals. *Curr. Radiopharm.* **2011**, 4 (2), 109-21. DOI: 10.2174/1874471011104020109.

<sup>37</sup> Wadas, T., J.; Wong, E., H.; Weisman, G., R.; Anderson C., J. Copper Chelation Chemistry and its Role in Copper Radiopharmaceuticals. *Curr. Pharm. Des.* **2007**, 13, 3-16. DOI: 10.2174/138161207779313768.

Frente a los ligandos acíclicos, los sistemas macrocíclicos poseen unas características mucho más interesantes, ya que la presencia del efecto macrocíclico aumenta la estabilidad de los complejos sintetizados a partir de estos precursores. En la **Figura 5** se recogen algunos de los sistemas más utilizados. En concreto, los **tetraazamacrociclos**, y en particular el ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N, N', N'', N''' tetraacético o DOTA (derivado del cyclen) y el ácido 1,4,8,11-tetraazaciclododecano-1,4,8,11-tetraacético o TETA (derivado del cyclam). Estos sistemas, además de aportar a los complejos una elevada estabilidad, pueden funcionalizarse con relativa facilidad con diferentes brazos dadores, hecho que permite modular sus propiedades coordinantes, así como la posterior conjugación con un biovector seleccionado.

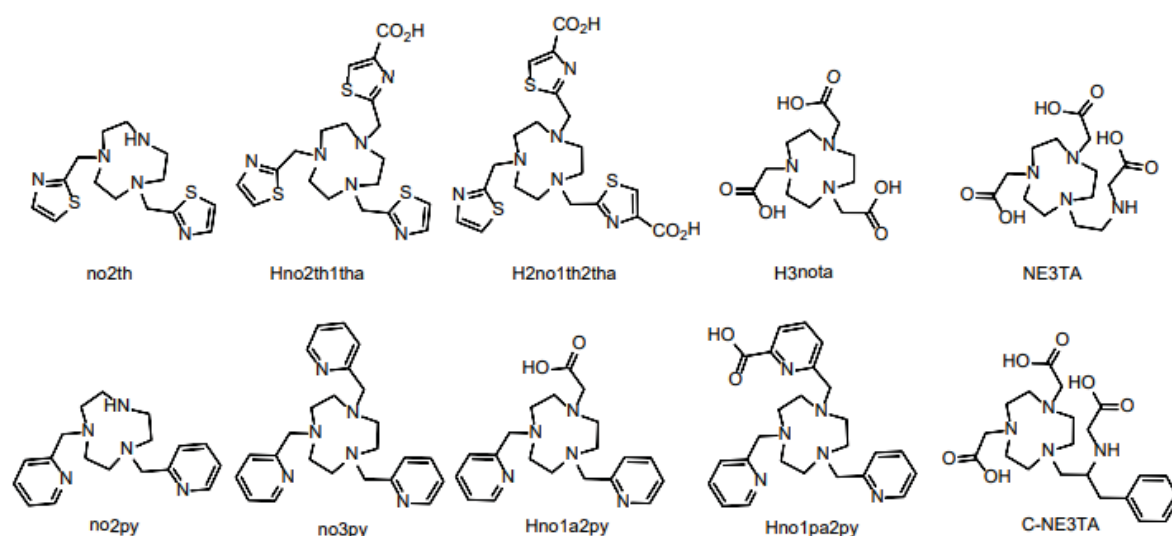


**Figura 5.** Estructuras más comunes de ligandos macrocíclicos utilizados en los radiofármacos de cobre, derivados de las plataformas cyclen, cyclam, CB-cyclam y Sar.

Otros BFC interesantes derivados de tetraazamacrociclos, son los sistemas derivados de CB-cyclen y CB-cyclam (**Figura 5**). Estos poseen en su estructura un puente etilénico que aporta una mayor rigidez y genera la existencia asociada de un efecto criptato. Su incorporación tiene implicaciones no sólo desde el punto de vista termodinámico, al aumentar la estabilidad de los complejos formados, sino también desde el punto de vista cinético, ya que generalmente la inercia química frente a la liberación del metal aumenta considerablemente una vez que éste se ha complejoado en este tipo de sistemas reforzados. El ligando que más destaca en este grupo es el CB-TE2A. El puente cruzado de etileno y dos brazos acetato aportan una notable estabilidad termodinámica *in vivo* y una elevada inercia química al correspondiente complejo de  $\text{Cu}^{2+}$ , que presenta una vida media de 154

horas en condiciones muy drásticas (HCl 5 M, 90°C). Como desventaja, este ligando posee una cinética de complejación o cinética de marcaje muy lenta, incluso en condiciones de síntesis relativamente severas (1h, 85°C, pH=8).<sup>38</sup>

Otra familia de ligandos muy estudiada en los últimos años es la de los derivados de la plataforma macrocíclica de 1,4,7-triazaciclononano o **TACN** (**Figura 6**). Su versatilidad a la hora de ser funcionalizada, así como su flexibilidad, permiten diseñar sistemas que presentan una excelente estabilidad termodinámica e inercia química tras la complejación del metal. La modificación sintética del esqueleto de TACN permite preparar ligandos que dan lugar a complejos metálicos con geometrías de coordinación muy diversas y adecuadas para su posterior aplicación como posibles radiofármacos.<sup>39</sup>



**Figura 6.** Algunos de los sistemas macrocíclicos basados en la plataforma TACN.

Un último grupo de ligandos empleados en la complejación selectiva de <sup>64</sup>Cu son los ligandos quelatantes **hexaazamacrocíclicos** tipo jaula como el Sar (sarcofagina) o su derivado SarAr (**Figura 5**). Estos ligandos destacan por sus rápidas cinéticas de marcaje a temperatura ambiente y su excelente inercia química frente a la demetalación. Sin embargo, presentan varias desventajas como una síntesis covalente muy compleja y un

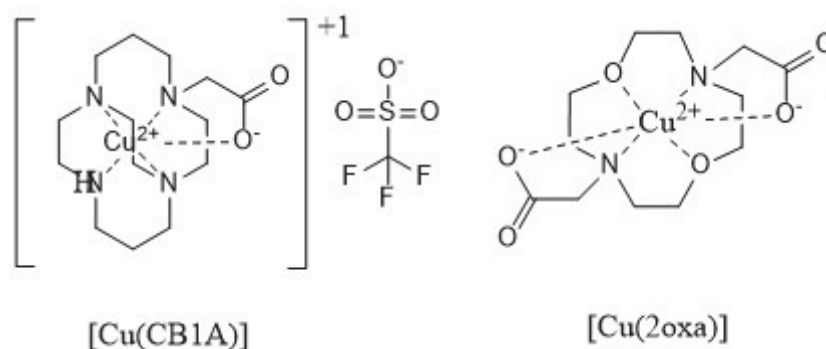
<sup>38</sup> Stigers, D., J.; Ferdani, R.; Weisman, G., R.; Wong, E., H.; Anderson, C., J.; Golen, J., A.; Moore, C.; Rheingold, A., L. A new phosphonate pendant-armed cross-bridged tetraaminechelator accelerates copper(II) binding for radiopharmaceutical applications. *Dalton Trans.* **2010**, 39, 1699-1701. DOI: 10.1039/B920871B.

<sup>39</sup> Joshi, T.; Kubeil, M.; Nsubaga, A.; Singh, G.; Gasser, G.; Stephan, H. Harnessing the Coordination Chemistry of 1,4,7-Triazacyclononane for Biomimicry and Radiopharmaceutical Applications. *ChemPlusChem.* **2018**, 83 (7), 554-564. DOI: 10.1002/cplu.201800103.



elevado carácter lipofílico que complica la biodistribución selectiva de estos posibles radiofármacos en el organismo.<sup>40</sup>

En el presente trabajo se analizará la inercia química frente a la disociación en medio ácido y en presencia de un biorreductor (ácido ascórbico) de dos sistemas derivados de las plataformas CB-Cyclam y Cyclen.



**Figura 7.** Sistemas de  $\text{Cu}^{2+}$  presentados en este trabajo.

El ligando CB1A es un derivado de CB-cyclam funcionalizado con un único brazo acetato, que da lugar a un ligando pentadentado. La presencia de sólo un brazo podría facilitar el marcaje del metal sin disminuir demasiado la estabilidad del complejo. Además, el complejo posee carga global +1, hecho que podría afectar a la disociación del complejo, ya que una carga global positiva debería disminuir, a priori, la afinidad del sistema por el protón en una catálisis ácida.

El ligando (2oxa), es un ligando hexadentado análogo al cyclen que posee dos brazos coordinantes acetato, y en el que dos de los átomos dadores de nitrógeno han sido sustituidos por átomos dadores más duros de oxígeno. Este cambio en la estructura conlleva una disminución de la basicidad del ligando, lo que podría provocar un descenso de la estabilidad de los complejos derivados.<sup>41</sup> Por otro lado, la arquitectura del ligando promueve un entorno octaédrico para el ion metálico, con la consecuente introducción de un claro efecto Jahn-Teller que también podría tener consecuencias importantes de cara a una menor inercia química para el complejo de  $\text{Cu}^{2+}$ .

<sup>40</sup> Lears, K., A.; Ferdani, R.; Liang, K.; Zheleznyak, A.; Andrews, R.; Sherman, C., D.; Achilefu, S.; Anderson, C., J.; Rogers, B., E. In vitro and in vivo evaluation of  $^{64}\text{Cu}$ -labeled SarAr-bombesin analogs in gastrin-releasing peptide receptor-expressing prostate cancer. *J. Nucl. Med.* **2011**, 52 (3), 470-7. DOI: 10.2967/jnumed.110.082826.

<sup>41</sup> Kálmán, F., K.; Nagy, V.; Uzal-Varela, R.; Pérez-Lourido, P.; Esteban-Gómez, D.; Garda, Z.; Pota, K.; Mezei, R.; Pallier, A.; Tóth, E.; Platas-Iglesias, C.; Tircsó, G. Expanding the Ligand Classes Used for Mn(II) Complexation: Oxa-aza Macrocycles Make the Difference. *Molecules.* **2021**, 26 (6), 15-24. DOI: doi.org/10.3390/molecules26061524.

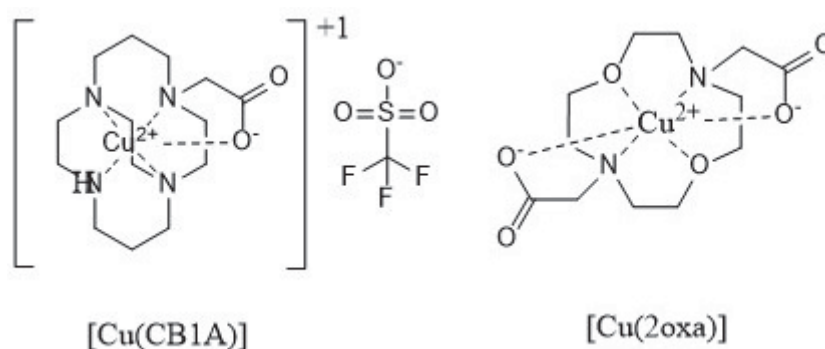
## 2. Objetivos

El presente Trabajo de Fin de Grado se propone como objetivo realizar un estudio cinético comparativo de dos compuestos de coordinación de  $\text{Cu}^{2+}$  para analizar su inercia química frente a la liberación del ion  $\text{Cu}^{2+}$  en dos situaciones experimentales: disociación en medio ácido y en presencia de biorreductores (ácido ascórbico).

En concreto, se han estudiado los siguientes compuestos (**Figura 8**):

- **Cu(2oxa)**, complejo neutro y octaédrico derivado de la plataforma 1,7-dioxa-4,10-diazaciclododecano con dos brazos acetato, en la cual, respecto a la plataforma ciclen, dos de los átomos dadores de nitrógeno han sido sustituidos por átomos dadores de oxígeno.

- **Cu(CB1A)**, catión complejo pentacoordinado derivado de la plataforma rígida CB-cyclam, funcionalizado con un brazo acetato y con una carga global +1.



**Figura 8.** *Compuestos de coordinación de  $\text{Cu}^{2+}$  estudiados en este trabajo.*

### 3. Metodología

#### 3.1. Inercia química en presencia de biorreductores: ácido ascórbico (AA)

Las disoluciones de los reactivos ácido ascórbico (AA), complejos Cu(CB1A), Cu(2oxa) y sales sódicas de la disolución reguladora de fosfato ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), se prepararon por pesada directa del producto sólido en agua bidestilada. Debido a su inestabilidad, las disoluciones de AA se renovaron diariamente. Las disoluciones de neocuproína (NC) se prepararon también por pesada directa, en una mezcla de agua y dioxano de diferente proporción en función de la concentración empleada. En este último caso, se adicionó un pequeño volumen ( $<50 \mu\text{L}$ ) a la mezcla de reacción ( $V = 3,0 \text{ mL}$ ), de forma que, el porcentaje de disolvente orgánico en la mezcla nunca excediese el 2%.

Las experiencias se realizaron en medio ácido débil o neutro utilizando el regulador fosfato  $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$  para mantener el pH constante y fuerza iónica controlada e inferior a 0,5 M, ajustándola con NaCl o  $\text{NaClO}_4$ , a menos que se analizara el efecto de este parámetro.

El avance de la reacción de demetalación se ha monitorizado en todos los casos mediante espectroscopia UV-Vis, registrando la variación de la banda a 454 nm correspondiente al máximo de absorción del complejo de  $\text{Cu}^+$  con la neocuproína,  $[\text{Cu}(\text{NC})_2]^+$ .

Para la realización de espectros y el seguimiento de las cinéticas se utilizó un espectrofotómetro UV/VIS de doble haz UVIKON xs. La temperatura se ha mantenido constante a  $25 (\pm 0.2) ^\circ\text{C}$  mediante circulación de flujo de agua proveniente de un termostato. Las muestras se preparaban en cubetas de cuarzo de 1 cm de paso de luz y los datos han sido registrados por el programa LabVIEW. Los experimentos se realizaron en condiciones de pseudo-primer orden, siendo la concentración de complejo mucho menor que la de reductor. Las constantes de velocidad observadas,  $k_{\text{obs}}$ , se determinaban a partir del ajuste lineal o no-lineal de los datos experimentales  $A-t$  a la ecuación integrada de orden uno, ec. (1), siendo  $A_0$ ,  $A_t$  y  $A_\infty$  las correspondientes lecturas de absorbancia al comienzo de la reacción, a un tiempo intermedio y al final de la misma, respectivamente.

$$A_t = A_\infty - (A_0 - A_\infty) \cdot e^{-k_{\text{obs}} \cdot t} \quad (1)$$

### 3.2. Inercia química en medio ácido

Los estudios de disociación catalizada por ácido clorhídrico o ácido perclórico se realizaron en un *stopped-flow* Bio-Logic SFM-20 que operaba a través de un ordenador mediante el Software Bio-Kine 32 (V4.51) que controla el equipo y permite el ajuste de los datos. Una de las jeringas contiene la disolución del complejo de  $\text{Cu}^{2+}$  y la otra, la disolución de ácido a las concentraciones requeridas, procurando en todo momento mantener la misma fuerza iónica en ambos compartimentos, ajustándola con NaCl o  $\text{NaClO}_4$  según fuera el ácido utilizado.

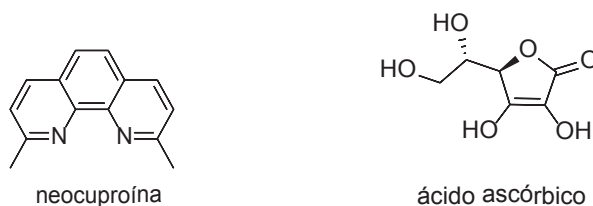
En ambas situaciones experimentales se trabajó manteniendo la temperatura constante e igual a  $298 \pm 0,20$  K. Así mismo, se trabajó con una concentración de complejo del orden de  $80 \mu\text{M}$  siguiendo la disminución de absorbancia asociada a una transición  $\pi \rightarrow \pi^*$  centrada sobre el ligando,  $\lambda$  próxima a 294 nm para ambos complejos **Cu(2oxa)** o **Cu(CB1A)**.

## 4. Resultados

### 4.1. Inercia química en presencia de biorreductores (ácido ascórbico)

Una de las posibles vías de liberación del ion cobre al medio viene determinada por la posible acción de un biorreductor que sea capaz reducir el  $\text{Cu}^{2+}$  complejoado a  $\text{Cu}^+$ . La reducción del centro metálico provocaría un aumento de la labilidad del complejo precursor y promovería la liberación del catión  $\text{Cu}^+$ . Si esto sucede, la reacción de demetalación se puede seguir en presencia de neocuproína (2,9-dimetil-1,10-fenantrolina), un agente quelatante que es muy selectivo para el  $\text{Cu}^+$  y que forma con él un complejo tetraédrico estable. La formación de este complejo en el medio de reacción,  $[\text{Cu}(\text{NC})_2]^+$ , se puede seguir por espectroscopía UV-Vis, debido a la aparición de una banda de transferencia de carga centrada a 454 nm, que le da un color amarillo/anaranjado intenso a la disolución. Debido a que ninguno de los sistemas a estudiar presenta absorción a esta longitud de onda, es posible seguir la posible catálisis por ácido ascórbico sin ninguna interferencia.

El objetivo de esta parte de trabajo es el estudio cinético de la liberación del cobre por la actuación de un biorreductor, ácido ascórbico, analizando si es capaz de reducir el  $\text{Cu}^{2+}$  en  $\text{Cu}^+$ , convirtiendo así un complejo estable e inerte inicial en uno lábil, que podría tener como consecuencia la liberación de catión  $\text{Cu}^+$  a la disolución, donde en presencia de la neocuproína lo señalaría al formar el complejo tetraédrico estable  $[\text{Cu}(\text{NC})_2]^+$ .



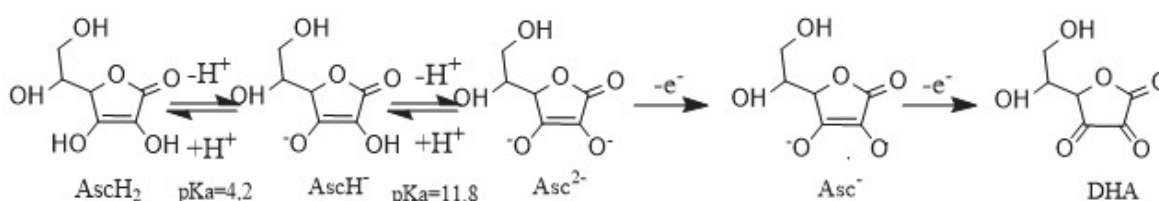
**Figura 9.** Estructuras de neocuproína y ácido ascórbico.

El ácido ascórbico, comúnmente llamado vitamina C, es una vitamina esencial en la dieta humana y un importante agente antioxidante hidrosoluble que se sintetiza químicamente a partir de glucosa.<sup>42</sup> Es un agente reductor moderado, con dos grupos hidroxilo ionizables con  $\text{p}K_{a1} = 4,2$  y  $\text{p}K_{a2} = 11,6$ , siendo en medio neutro mayoritaria la forma de monoanión ascorbato, en la que uno de los grupos  $-\text{OH}$  pierde su protón.<sup>43</sup> Su forma

<sup>42</sup> Serra, H., M.; Cafaro, T., A. Ácido ascórbico: desde la química hasta su crucial función protectora en el ojo. *Acta Bioquím Clín Lationam.* **2007**, 41 (4), 525-32.

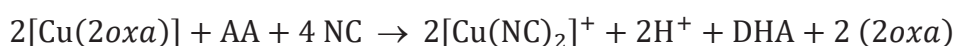
<sup>43</sup> Du, J.; Cullen, J., J.; Buettner, G., R. Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer. *Biochim Biophys Acta.* **2012**, 1826 (2), 443-57. doi: 10.1016/j.bbcan.2012.06.003.

resonante con la carga negativa sobre el oxígeno del grupo carboxílico puede descomponerse liberando CO<sub>2</sub>, por lo que sus disoluciones no son muy estables y es necesario renovarlas cada día. En disolución acuosa, y en presencia de oxidantes, es cuando se convierte en el ácido dehidroascórbico (DHA), cediendo dos protones y dos electrones, manifestando así su carácter como agente reductor:



**Figura 10.** Estructura química de ácido ascórbico y sus principales productos de degradación.

En los ensayos cualitativos iniciales de adición de ácido ascórbico sobre disoluciones de cada uno de los dos complejos en presencia de neocuproína, sólo se observó un cambio de color del azul al amarillo en el caso del complejo **Cu(2oxa)**. Este hecho experimental parece indicar la formación del complejo [Cu(NC)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> característica de la liberación del ion Cu<sup>+</sup> al medio en este complejo. A modo de ejemplo, el proceso general de demetalación catalizada por ácido ascórbico en medio neutro, regulado con buffer de fosfato (H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>/HPO<sub>4</sub><sup>-2</sup>), podría describirse mediante la siguiente reacción:

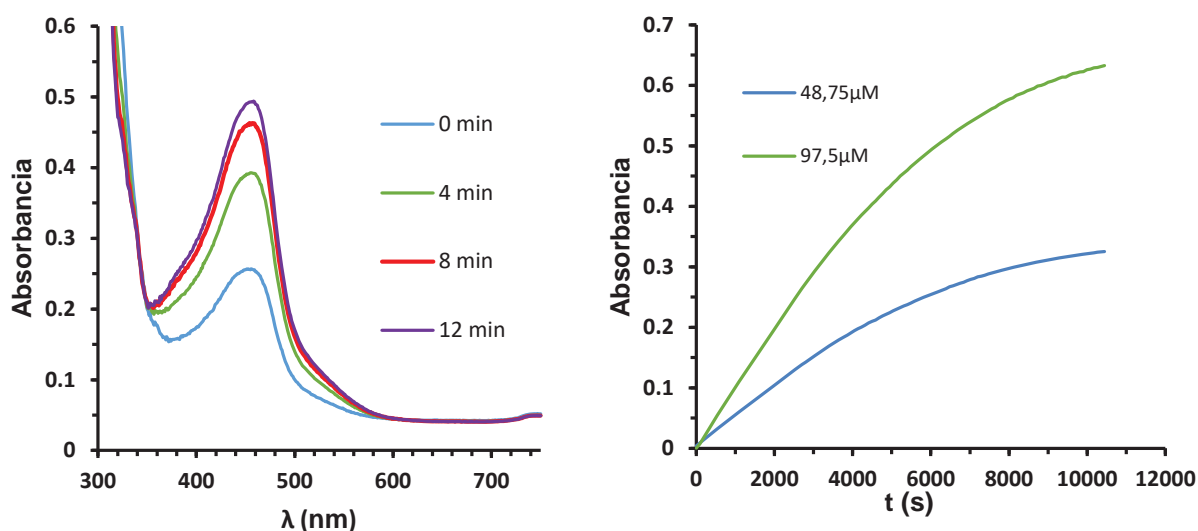


La propia ecuación de la reacción permite comprobar que para realizar un estudio exhaustivo de lo que sucede en el medio, es necesario analizar un análisis detallado de la evolución de los espectros de absorción en el tiempo (perfiles A-t) en función de varios parámetros como:

- La concentración de complejo
- La concentración de agente reductor manteniendo el pH del medio constante
- El efecto del pH
- El efecto de la fuerza iónica

#### 4.1.1. Estudio del comportamiento del complejo Cu(2oxa) en presencia de ácido ascórbico

Se realizó una prueba inicial espectro de reacción en condiciones experimentales de  $[Cu(2oxa)]=39 \mu M$ ,  $[AA]=12 \text{ mM}$ ,  $[NC]=0,111 \text{ mM}$ , buffer  $HPO_4^{2-}/H_2PO_4^- = 0,059 \text{ M}$  y  $pH=4,77$ , monitorizando en el tiempo la banda asociada a la formación del complejo  $[Cu(NC)_2]^+$  ( $\lambda_{max} = 454 \text{ nm}$ ). En la **Figura 11. (izq)** se puede observar el aumento de la absorbancia de dicha banda junto con la presencia de un punto isobéstico a aproximadamente  $590 \text{ nm}$ . Esta prueba nos permite afirmar que se produce la reducción del complejo Cu(2oxa) y la consecuente liberación del metal al medio. Para analizar el efecto de la concentración de complejo sobre la velocidad de reacción se seleccionaron dos concentraciones de trabajo  $48,75$  y  $97,5 \mu M$  **Figura 11 (dcha.)**, manteniendo inalterados el resto de parámetros mencionados anteriormente. Cabe mencionar que ambos ensayos se realizaron en las condiciones experimentales de método de aislamiento, en las que la  $[AA] \gg [Cu^{2+}]$  y la reacción se ajusta a pseudo orden uno. Es imprescindible destacar que durante los ensayos la relación entre las concentraciones de complejo y neocuproína siempre ha de ser  $[NC]/[Complejo] > 2$ , y que el último reactivo que se añade debe ser siempre el complejo de  $Cu^{2+}$ , para obtener los perfiles cinéticos correspondientes a un proceso de orden uno.

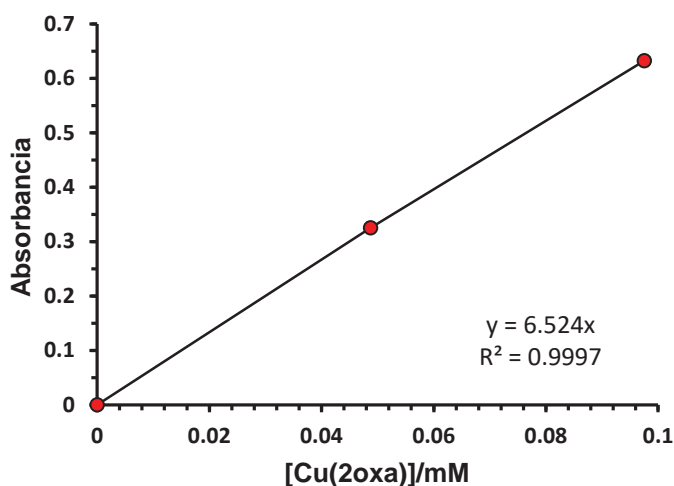


**Figura 11.** (Izq.) Aumento de la absorbancia en el tiempo correspondiente a la formación de  $[Cu(NC)_2]^+$ , en la mezcla de reacción  $[Cu(2oxa)]=39 \mu M$ ,  $[AA]=12 \text{ mM}$ ,  $[NC]=0,111 \text{ mM}$ , tampón  $HPO_4^{2-}/H_2PO_4^- = 0,059 \text{ M}$ ,  $pH=4,77$ , velocidad de registro de espectro  $200 \text{ nm/min}$ . (Dcha.) Perfiles cinéticos a  $454 \text{ nm}$ , para las concentraciones de complejo ensayadas ( $48,75 \mu M$  y  $97,5 \mu M$ ).  $[AA]=9 \text{ mM}$ ,  $[NC]=0,232 \text{ mM}$ , tampón  $HPO_4^{2-}/H_2PO_4^- = 2,33 \text{ M}$ .

Las condiciones experimentales y los valores de  $k_{obs}$  y  $A_0$  obtenidos por ajuste no lineal, se encuentran recogidos en la **Tabla 6**.

**Tabla 6.** Condiciones experimentales y resultados obtenidos del estudio cinético de la influencia de la [Cu(2oxa)] en la reacción de reducción por ácido ascórbico en presencia de neocuproína.

[Cu(2oxa)]/mM	[AA]/mM	[NC]/mM	$A_0$	$A_{\infty}^{ex}$	$k_{obs}/10^{-4} s^{-1}$	$A_{\infty}^{cal}$
0,0487	9	0,232	0,004	0,325	1,64	0,406
0,0975	9	0,232	0,003	0,632	1,65	0,788

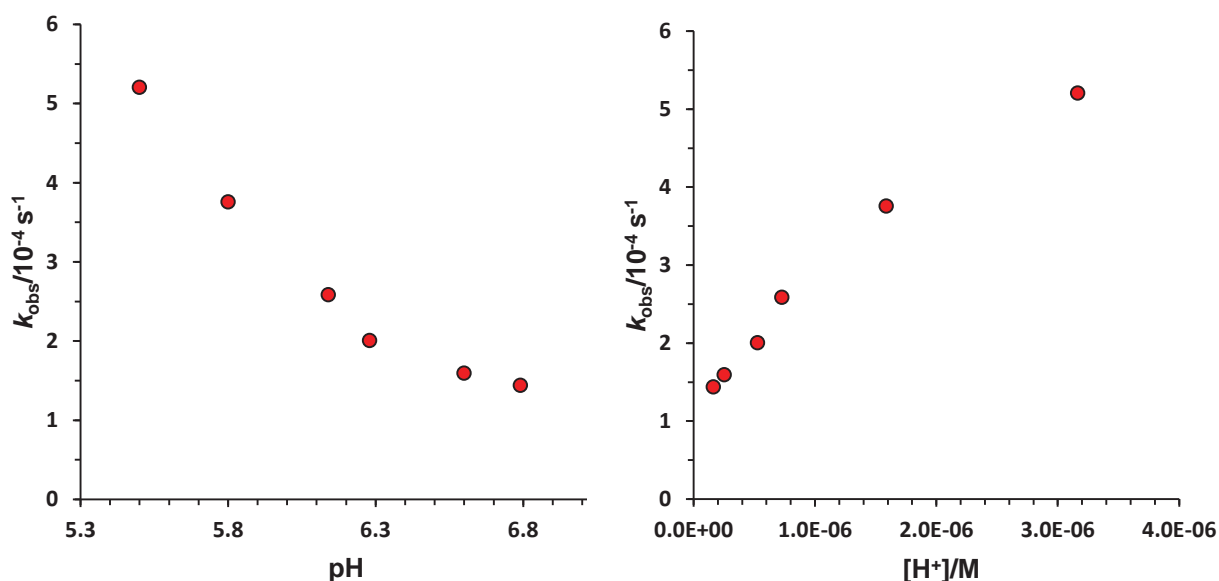


**Figura 12.** Variación de absorbancia con el aumento de [Cu(2oxa)]. En condiciones [AA]=9 mM, [NC]=0,232 mM, tampón  $HPO_4^{2-}/H_2PO_4=2,33$  M.

A la vista de los datos obtenidos, la constante de velocidad observada,  $k_{obs}$ , se puede considerar independiente de la concentración del complejo, determinando un valor medio de  $(1,65 \pm 2,4) \times 10^{-4} s^{-1}$ . La gráfica de  $A_0$  frente a [Cu(2oxa)] (**Figura 12**) resulta ser una línea recta, con ordenada en el origen y un valor de la pendiente de  $6524 L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$  ( $R=0,999$ ), cuyo resultado está de acuerdo con el valor de coeficiente de extinción molar esperado para el complejo  $[Cu(NC)_2]^+$  recogido en bibliografía.

A continuación, se procedió con el estudio del efecto del pH sobre la velocidad de reacción. La experiencia se realizó manteniendo constantes las concentraciones del complejo, neocuproína y ácido ascórbico, y variando la relación de concentraciones del buffer fosfato, de forma que fue posible realizar diferentes experimentos cubriendo el intervalo de pH que va desde 5,5 a 6,8. La representación de los valores experimentales obtenidos de  $k_{obs}$  frente al pH (**Figura 13**) permite comprobar que se produce un descenso significativo de la velocidad de reacción a medida que aumenta el pH del medio.





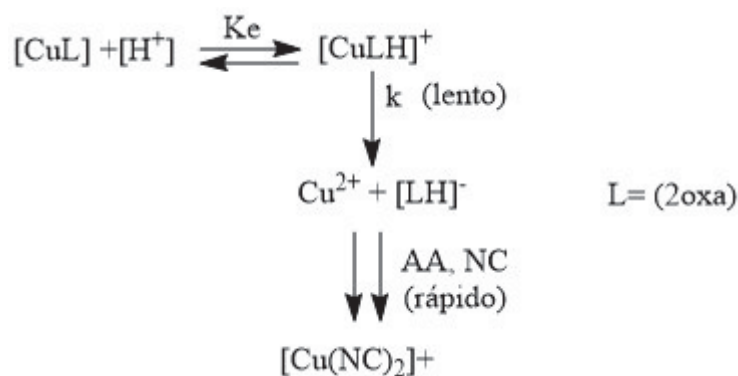
**Figura 13.** Variación de la constante  $k_{obs}$  con el pH del medio en la reacción de reducción de  $Cu^{2+}$  por ácido ascórbico en el complejo  $Cu(2oxa)$ .  $[Cu(2oxa)]=39 \mu M$ ,  $[AA]=12 \text{ mM}$  y  $[NC]=11,11 \text{ mM}$ .

**Tabla 7.** Resultados obtenidos en el estudio de la influencia del pH en la reacción de reducción de  $Cu^{2+}$  por ácido ascórbico en el complejo  $Cu(2oxa)=39 \mu M$ ,  $[AA]=0,012 \text{ M}$  y  $[NC]=11,11 \text{ mM}$ .

pH	$k_{obs}/10^{-4} \text{ s}^{-1}$	$H^+/M$	$H^+/k_{obs}$
5,5	5,208	3,1623E-06	0,00607196
5,8	3,759	1,5849E-06	0,00421626
6,14	2,588	7,2444E-07	0,00279921
6,28	2,008	5,2481E-07	0,00261358
6,6	1,597	2,5119E-07	0,00157288
6,79	1,441	1,6218E-07	0,00112548

A la vista de los datos obtenidos se puede decir que el pH de trabajo es un parámetro fundamental que se debe mantener constante cuando se quiere analizar el efecto del resto de parámetros, ya que una pequeña variación en el pH provoca variaciones importantes en el valor de  $k_{obs}$ .

Los resultados se pueden justificar de acuerdo con el mecanismo que se sugiere a continuación, en el que en una primera etapa se protona el complejo, y posteriormente, es la forma protonada la que libera lentamente el ion  $Cu^{2+}$  (etapa determinante). A continuación, el  $Cu^{2+}$  liberado es reducido rápidamente por el ácido ascórbico y el  $Cu^+$  es complejoado por la neocuproína originando la especie  $[Cu(NC)_2]^+$ :



**Figura 14.** Mecanismo propuesto para la reacción de reducción del complejo Cu(2oxa) por AA.

Este esquema lleva a la siguiente ecuación de velocidad:

$$v = \frac{d[\text{Cu}(\text{NC})_2]^+}{dt} = k[\text{Cu}(2\text{oxa})\text{H}^+] ; [\text{Cu}(2\text{oxa})]_0 = [\text{Cu}(2\text{oxa})] + [\text{Cu}(2\text{oxa})\text{H}^+]$$

Teniendo en cuenta la expresión de  $K_e$ :

$$K_e = \frac{[\text{Cu}(2\text{oxa})\text{H}^+]}{[\text{Cu}(2\text{oxa})] \cdot [\text{H}^+]}$$

Llegamos a:

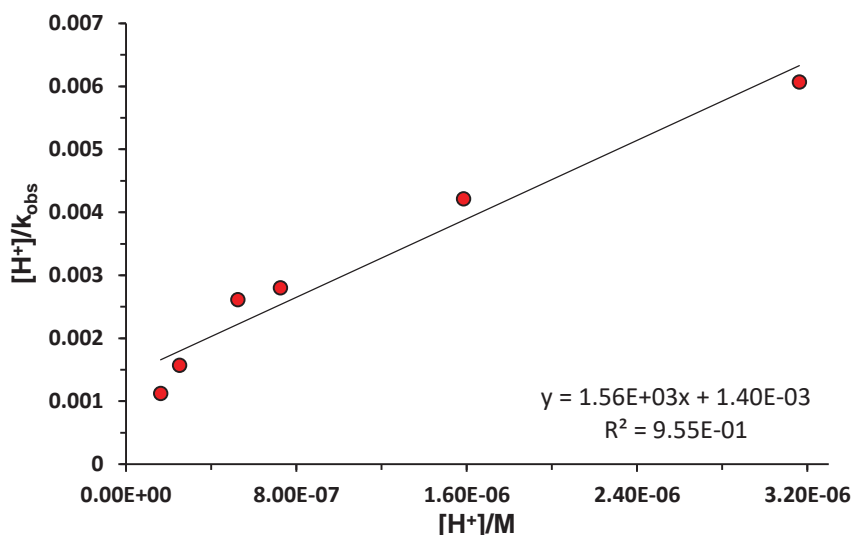
$$[\text{Cu}(2\text{oxa})]_0 = [\text{Cu}(2\text{oxa})\text{H}^+] \cdot \left(1 + \frac{1}{K_e[\text{H}^+]}\right)$$

$$[\text{Cu}(2\text{oxa})\text{H}^+] = \frac{K_e[\text{H}^+][\text{Cu}(2\text{oxa})]_0}{1 + K_e[\text{H}^+]}$$

$$v = \frac{kK_e[\text{H}^+][\text{Cu}(2\text{oxa})]_0}{1 + K_e[\text{H}^+]} = k_{\text{obs}}[\text{Cu}(2\text{oxa})]_0$$

Según esta ecuación  $k_{\text{obs}}$  describe una curva con la  $[\text{H}^+]$ , que al ser linealizada, y tras representar  $k_{\text{obs}}/[\text{H}^+]$  frente a  $[\text{H}^+]$ , debería dar lugar a una recta (**Figura 15**). La pendiente de esta recta es igual a  $1/k$  y su ordenada en el origen es  $1/k \cdot K_e$ . A partir del ajuste de los datos de  $k_{\text{obs}}$  frente a  $[\text{H}^+]$  recogidos en la **Tabla 7** se pudieron determinar los valores de  $k = 6,42 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  y  $K_e = 1,11 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ . Estos datos parecen sugerir que el complejo **Cu2oxa** es susceptible de protonarse por debajo de pH 6,0, lo que debilitaría la interacción

entre uno de los grupos carboxilato y el ion  $\text{Cu}^{2+}$  favoreciendo el proceso de demetalación previo a la reducción en medios ligeramente ácidos.



**Figura 15.** Ajuste lineal de  $k_{obs}$  con la  $[\text{H}^+]$  obtenido en la reducción de  $\text{Cu}(2\text{oxa})$  por ácido ascórbico.

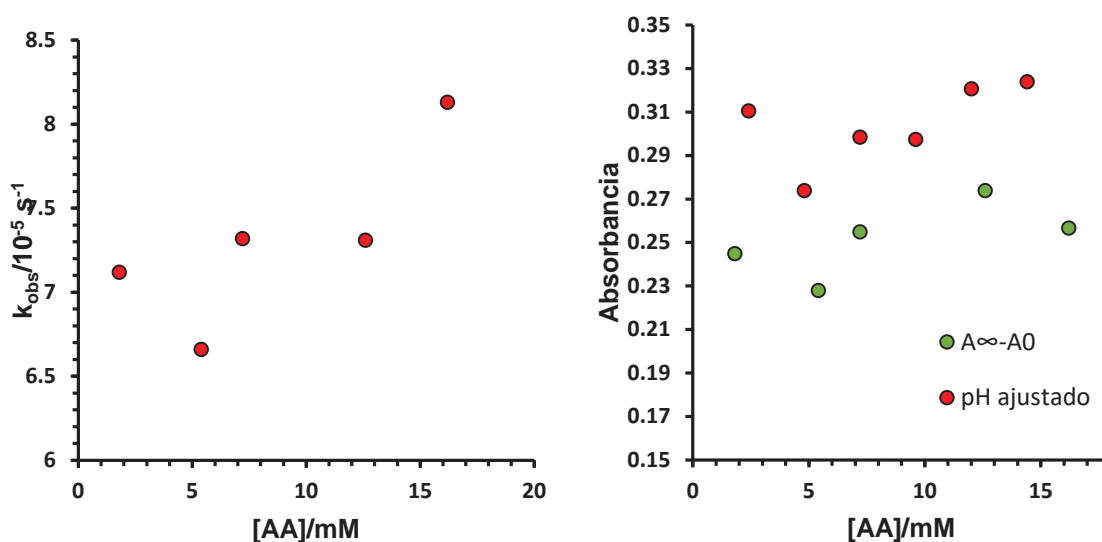
Una vez finalizado el estudio del efecto del pH, se procedió a analizar la influencia de la concentración de ácido ascórbico sobre la velocidad de reacción. Los ensayos se realizaron manteniendo constantes la concentración del complejo  $[\text{Cu}(2\text{oxa})]=48,75 \mu\text{M}$ ,  $[\text{NC}]=0,232 \text{ mM}$ , y la concentración del tampón  $\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4^- = 2,33 \text{ M}$ , fijando un valor de  $\text{pH}=6,19$ , por adición a la mezcla de la misma concentración de  $\text{NaOH}$  respecto a la de ácido ascórbico para neutralizar el protón. En la **Figura 16** se observa la variación de la constante de la velocidad  $k_{obs}$  con la concentración de ácido ascórbico, así como el incremento neto de la absorbancia. Las condiciones experimentales exactas y los resultados de  $k_{obs}$  obtenidos en cada experimento se recogen en la **Tabla 8** y **Tabla 9**.

**Tabla 8.** Condiciones experimentales y resultados obtenidos de la variación de la  $[\text{AA}]$  en la  $k_{obs}$  para la reducción del complejo  $\text{Cu}(2\text{oxa})$ , en presencia de  $[\text{NC}]=0,232 \text{ mM}$ , tampón  $\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4^- = 2,33 \text{ M}$  y  $[\text{Cu}(2\text{oxa})]=48,75 \mu\text{M}$ .

[Cu(2oxa)]/mM	[AA]/mM	[NC]/mM	A <sub>0</sub>	A <sub>∞</sub> <sup>ex</sup> (454 nm)	k <sub>obs</sub> /10 <sup>-5</sup> s <sup>-1</sup>
0,04875	1,8	0,232	0,0690	0,3140	7,12
0,04875	5,4	0,232	0,0766	0,3045	6,66
0,04875	7,2	0,232	0,0741	0,3290	7,32
0,04875	12,6	0,232	0,0885	0,3623	7,31
0,04875	16,2	0,232	0,0647	0,3214	8,13

**Tabla 9.** Condiciones experimentales y resultados obtenidos de la variación de la [AA] en la  $k_{obs}$  para la reducción del complejo Cu(2oxa), manteniendo el pH constante, en la mezcla de reacción de [NC]=0,111 mM, tampón  $\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4=0,286$  M y [Cu(2oxa)]=39  $\mu\text{M}$ .

[Cu(2oxa)]/mM	[AA]/mM	NaOH/mM	[NC]/mM	$A_\infty^{\text{ex}}$ (454 nm)	$k_{obs}/10^{-4} \text{ s}^{-1}$	pH
0,0039	12	12	0,111	0,3207	3,347	6,18
0,0039	9,6	9,6	0,111	0,2974	2,278	6,18
0,0039	7,2	7,2	0,111	0,2985	2,077	6,19
0,0039	4,8	4,8	0,111	0,2739	1,943	6,19
0,0039	14,4	14,4	0,111	0,3239	2,536	6,18
0,0039	2,4	2,4	0,111	0,3106	2,089	6,19



**Figura 16.** (Izq.) Variación de  $k_{obs}$  con la [AA]. (Dcha.) Aumento neto de la absorbancia con la [AA], (●)  $A_\infty - A_0$  sin ajustar el pH y (●) al ajustar el pH en mezcla de reacción de [Cu(2oxa)]=48,75  $\mu\text{M}$ , [NC]=0,232 mM, tampón  $\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4=2,33$  M, y pH de reacción ajustado a 6,19.

Los resultados obtenidos sugieren que no se producen una variación significativa en la velocidad de la reacción en función de la concentración de ácido ascórbico presente en el medio. Esto estaría de acuerdo con el mecanismo de reacción propuesto en el esquema recogido en la **Figura 14**, en el que el ácido ascórbico no participa en la etapa determinante de la velocidad (etapa inicial de protonación del complejo), sino que sólo influye en las etapas rápidas posteriores.

Por último, se realizó estudio del efecto de la fuerza iónica realizando tres ensayos diferentes según las condiciones recogidas en la **Tabla 10**. Los resultados obtenidos se ajustaron a la ecuación de Brönsted-Bjerrum, ec. (2), empleando la ecuación extendida de Debye-Hückel ec. (3), para el coeficiente de actividad con la constante  $B=1,0 \text{ m}^{-1/2}$ . La similitud de los valores obtenidos sugiere que el valor de  $k_{obs}$  es independiente de la fuerza iónica del medio de la reacción.

$$\log k = \log k_o + 2Az_Az_B \frac{\sqrt{I}}{1 + B\sqrt{I}} \quad (2)$$

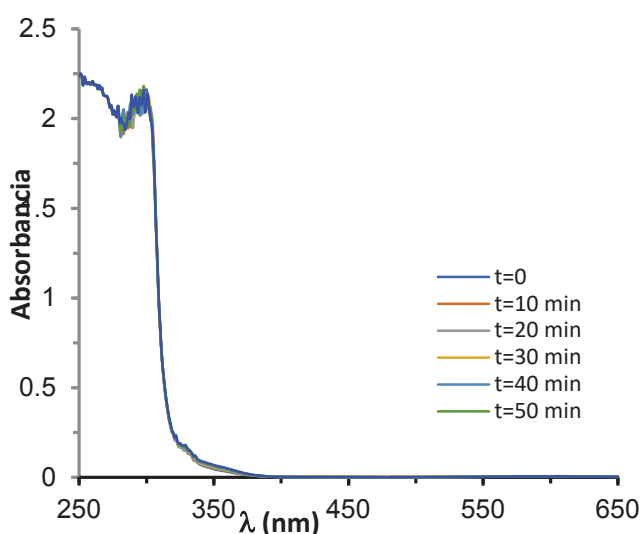
$$\log(\gamma_i) = -\frac{Az_i^2\sqrt{I}}{1 + B\sqrt{I}} \quad (3)$$

**Tabla 10.** Resultados obtenidos y condiciones experimentales para el estudio de la influencia de la fuerza iónica ajustada con  $\text{NaClO}_4$  en el complejo  $\text{Cu}(2\text{oxa})$ .

$k_{obs}/10^{-4}\text{s}^{-1}$	$[\text{H}^+]/\text{M}$	$k_o/\text{H}^+$	$[\text{Cu}(2\text{oxa})]/\text{M}$	$I/\text{M}$	$\sqrt{I/(1+\sqrt{I})}$	$\log k_{obs}$
2,96	0,03	98,97	1,56E-04	0,06	0,2195	0,4726
2,78	0,03	92,82	1,56E-04	0,81	0,6529	0,4447
2,64	0,03	88,17	1,56E-04	0,498	0,5403	0,4224

#### 4.1.2. Estudio del comportamiento del complejo Cu(CB1A) en presencia de ácido ascórbico

Si bien las pruebas cualitativas iniciales realizadas al complejo Cu(CB1A) parecían indicar que éste no reaccionaba en presencia de ácido ascórbico, nos pareció interesante monitorizar la posible evolución de la reacción en una escala de tiempo más grande. De esta forma, se podría evaluar si ésta tal vez finalmente se producía, pero tal vez más lentamente que en el caso del complejo anterior. Así, se registraron en el tiempo una serie de espectros del complejo Cu(CB1A) (**Figura 17**) en condiciones experimentales de 52  $\mu\text{M}$  de complejo a pH 6,56, en presencia de tampón fosfato 0,36 M, 0,014 M de ácido ascórbico y 0,12 mM de neocuproína. Los espectros se registraron durante 1 hora cada 10 minutos, al cabo de los cuales no se observaron cambios significativos, ni en la forma ni en la intensidad de las bandas, así como tampoco indicios de la banda asociada a la formación del complejo  $[\text{Cu}(\text{NC})_2]^+$  característico de la liberación del ion  $\text{Cu}^+$  al medio. Por lo tanto, se concluye que el ácido ascórbico no es capaz de reducir el  $\text{Cu}^{2+}$  coordinado al ligando CB1A en las condiciones experimentales empleadas, pudiendo decir que este complejo es inerte a la vía de demetalación por acción o presencia de este agente biorreductor.



**Figura 17.** Espectro de reacción del complejo Cu(CB1A) a pH 6,56, en la mezcla de reacción  $[\text{Cu}(\text{CB1A})]=52 \mu\text{M}$ ,  $[\text{AA}]=0,014 \text{ M}$ ,  $[\text{NC}]=0,12 \text{ mM}$ , tampón  $\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4^- = 0,36 \text{ M}$ , registrado cada 10 min durante 1h.

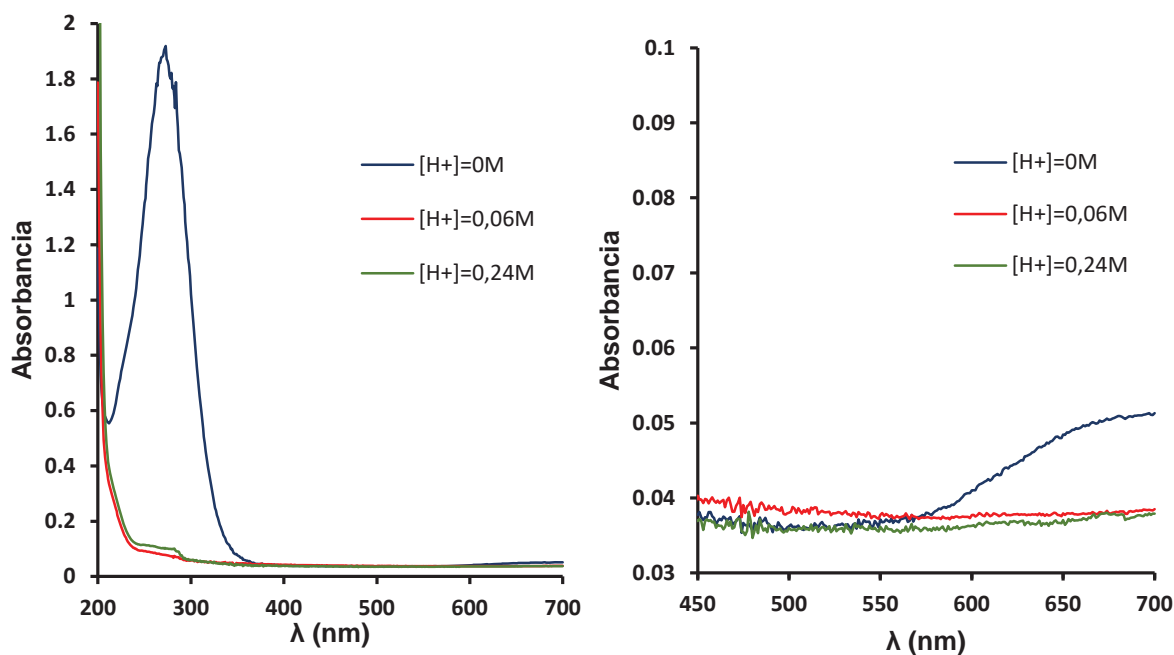
## 4.2. Estudio de la demetalación de los complejos en presencia de ácidos fuertes (HCl y HClO<sub>4</sub>)

Ensayos iniciales de adición de ácido sobre sendas disoluciones stock de ambos complejos **Cu(2oxa)** y **Cu(CB1A)**, permitieron comprobar que sólo el primero de ellos manifestaba un rápido cambio de color. Debido a la rapidez de la reacción, se decidió realizar el estudio cinético de demetalación de este complejo mediante el método *Stopped-flow*. Los experimentos se realizaron en condiciones de pseudo-orden uno, siendo siempre la concentración del ácido mucho mayor que la del complejo al estudiar. Las constantes de velocidad,  $k_{obs}$ , se determinaron para cada concentración de ácido a partir del ajuste no lineal de los datos experimentales A frente a t a la ecuación integrada de primer orden ya mencionada anteriormente, ec (1). Todos los datos experimentales se ajustaron correctamente a la ecuación integrada de primer orden, por lo que se puede concluir que la reacción es de primer orden en la concentración de complejo.

Los datos obtenidos se estudiaron a posteriori según el modelo más adecuado, tal y como está descrito más adelante.

### 4.2.1. Estudio de la demetalación de Cu(2oxa) en medio ácido

Se registraron inicialmente diferentes espectros de absorción de complejo Cu(2oxa); el primero de ellos en agua y otros dos tras haber añadido 0,1 y 0,4 mL de HCl 1,5 M directamente en la cubeta. En la **Figura 18** se pueden apreciar las diferentes bandas que presenta el complejo Cu(2oxa) en agua. La primera de ellas, intensa y centrada a 273 nm, está asociada a transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$  centradas sobre el ligando, mientras que la segunda, poco intensa y centrada en 670 nm está asociada a las transiciones  $d-d$  propias del metal en un entorno octaédrico, y es la responsable de color azul del complejo. Ambas bandas desaparecen tras la adición del ácido al medio, lo que parece sugerir la demetalación del complejo catalizada por los protones del medio.



**Figura 18.** (Izq.) Comparación de los espectros de complejo Cu(2oxa) en agua,  $[HCl]=0,06\text{ M}$  y  $[HCl]=0,24\text{ M}$ . (Dcha.) Ampliación de la banda d-d, centrada sobre 670 nm.

Por consiguiente, se realizó el estudio cinético por el método Stopped-flow, registrando la disminución de absorbancia a 273 nm y variando la concentración de protones entre 0,015 M y 0,14 M, ajustando la fuerza iónica a  $I=0,50\text{ M}$  con NaCl o NaClO<sub>4</sub> en función del ácido empleado. Las condiciones experimentales de los diferentes experimentos y los valores de  $k_{obs}$  y  $A_0$  obtenidos por ajuste no lineal, se encuentran recogidos en la **Tabla 11** (HCl) y **Tabla 12** (HClO<sub>4</sub>).

**Tabla 11.** Valores obtenidos y condiciones experimentales para la constante de velocidad observada  $k_{obs}$  y la variación de la absorbancia en la demetalación en el medio ácido (HCl) de complejo Cu(2oxa) a  $I=0,50\text{ M}$  controlada por NaCl a 25°C.

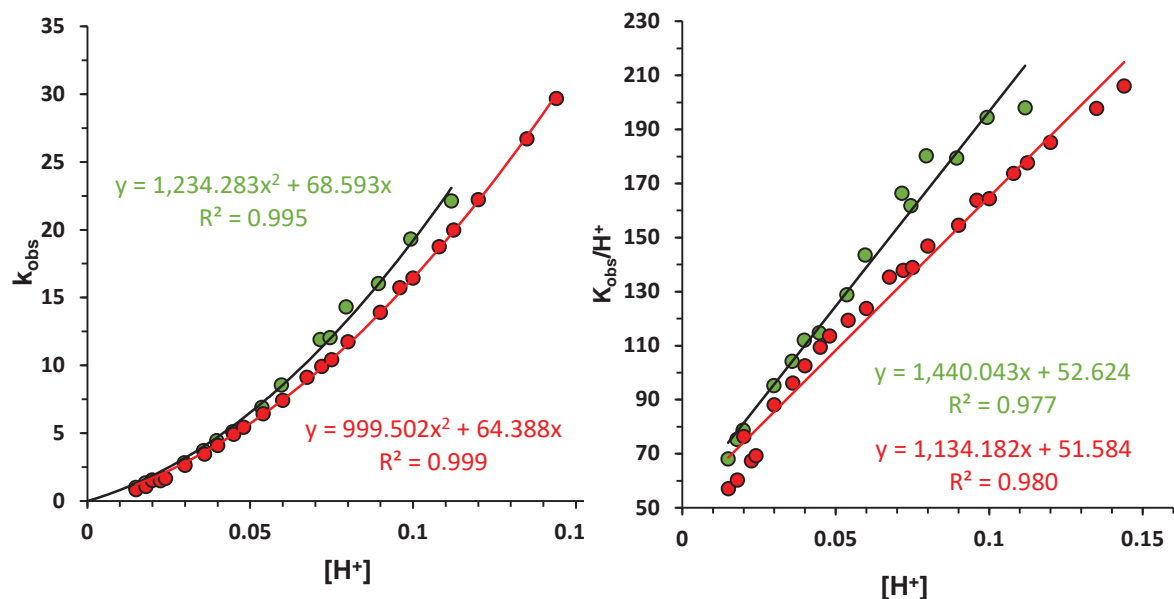
$[H^+]/M$	$k_{obs}/s^{-1}$	$A_0$	$A_\infty$	$A_0-A_\infty$	Cu(2oxa)/mM
0,0149	1,0146	0,2965	0,0179	0,2786	7,80E-02
0,0178	1,3480	0,2336	0,0120	0,2216	6,24E-02
0,0198	1,5652	0,1918	0,0077	0,1840	5,20E-02
0,0298	2,8394	0,2916	0,0093	0,2823	7,80E-02
0,0357	3,7276	0,2322	0,0056	0,2266	6,24E-02
0,0397	4,4521	0,1878	0,0022	0,1856	5,20E-02
0,0447	5,1292	0,2971	0,0193	0,2778	7,80E-02



0,0536	6,9111	0,2278	0,0132	0,2146	6,24E-02
0,0596	8,5547	0,1989	0,0125	0,1864	5,20E-02
0,0715	11,908	0,2916	0,0176	0,2090	6,24E-02
0,0794	14,330	0,2916	0,0193	0,1636	5,20E-02
0,0745	12,057	0,2855	0,0332	0,2523	7,80E-02
0,0894	16,040	0,2322	0,0225	0,1971	6,24E-02
0,0993	19,319	0,1733	0,0199	0,1534	5,20E-02
0,1117	22,134	0,1301	0,0187	0,1114	3,90E-02

**Tabla 12.** Valores obtenidos y condiciones experimentales para la constante de velocidad observada  $k_{obs}$  y la variación de la absorbancia en la demetalación en el medio ácido ( $\text{HClO}_4$ ) de complejo  $\text{Cu}(\text{2oxa})$  a  $I=0,50$  M controlada por  $\text{NaClO}_4$  a  $25^\circ\text{C}$ .

$[\text{H}^+]/\text{M}$	$k_{obs}/\text{s}^{-1}$	$A_0$	$A_\infty$	$A_0-A_\infty$	$\text{Cu}(\text{2oxa})/\text{mM}$
0,015	0,8565	0,5769	0,0429	0,5340	1,56E-01
0,018	1,0863	0,4689	0,0312	0,4376	1,25E-01
0,02	1,5272	0,3806	0,0261	0,3544	1,04E-01
0,0225	1,5151	0,2785	0,0212	0,2573	7,80E-02
0,024	1,6642	0,2359	0,1927	0,0432	6,24E-02
0,03	2,6451	0,5695	0,0319	0,5375	1,56E-01
0,036	3,4651	0,4544	0,0285	0,4258	1,25E-01
0,04	4,1034	0,3560	0,0255	0,3304	1,04E-01
0,045	4,9241	0,2720	0,0338	0,2381	7,80E-02
0,048	5,4531	0,2206	0,0204	0,2002	6,24E-02
0,054	6,4484	0,4323	0,0293	0,4029	1,25E-01
0,06	7,4290	0,3561	0,0267	0,3293	1,04E-01
0,0675	9,1439	0,2642	0,0234	0,2407	7,80E-02
0,072	9,9327	0,1878	0,0222	0,1656	6,24E-02
0,08	11,748	0,3332	0,0208	0,3123	1,04E-01
0,09	13,914	0,2498	0,0221	0,2276	7,80E-02
0,096	15,7317965	0,1983	0,0931	0,1052	6,24E-02
0,075	10,425915	0,5031	0,0340	0,4690	1,56E-01
0,1	16,448254	0,3103	0,0236	0,2866	1,04E-01
0,1125	19,9881155	0,2405	0,0211	0,2194	7,80E-02
0,12	22,239411	0,3040	0,0236	0,2804	1,04E-01
0,108	18,774012	0,3734	0,0256	0,3477	1,25E-01
0,135	26,7091545	0,2227	0,0222	0,2005	7,80E-02
0,144	29,6854475	0,1757	0,0199	0,1557	6,24E-02



**Figura 19.** (Izq.) Variación de  $k_{obs}$  con  $[H^+]$  para el complejo Cu(2oxa) en HCl (verde) y HClO<sub>4</sub> (rojo). (Dcha.) linealización de los datos en las condiciones experimentales de la **Tabla 11** y **Tabla 12**.

Los resultados muestran comportamiento parecido, tanto si la mezcla se acidifica con HCl como con HClO<sub>4</sub>. Esto resulta interesante, ya que parece indicar que independientemente del carácter más o menos coordinante del contraión presente en el medio, Cl<sup>-</sup> o ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>, ambos parecen no participar en el proceso de demetalación que tiene lugar.

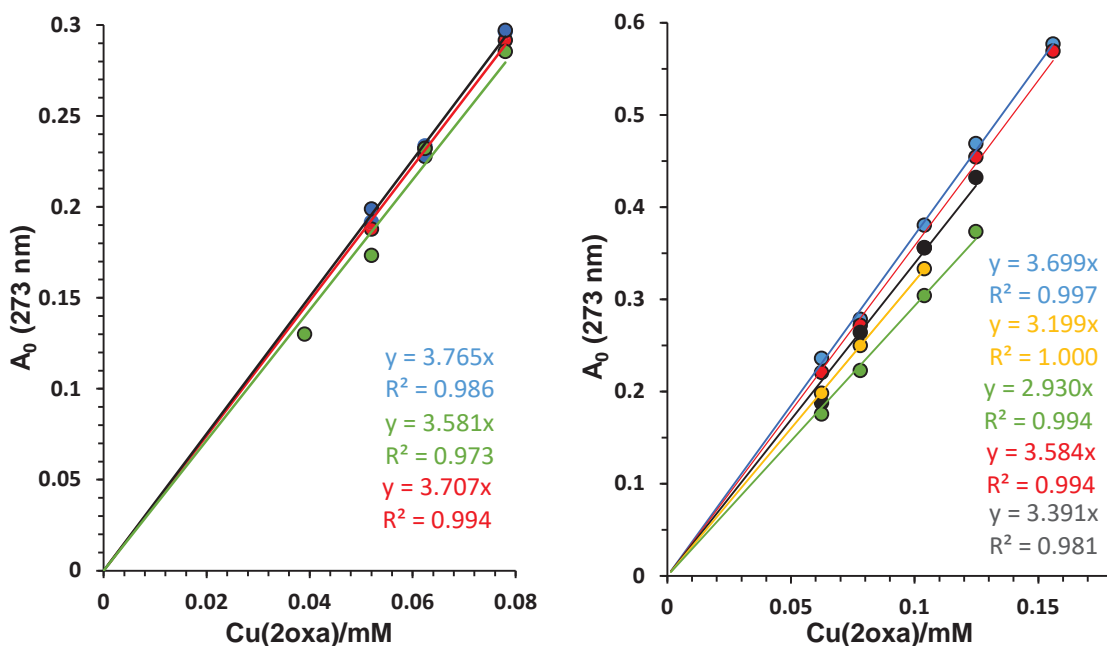
Como se puede apreciar en la **Figura 19**, la gráfica de la variación de  $k_{obs}$  frente a  $[H^+]$ , resulta en una curva cóncava al eje que pasa por el origen. La ley de velocidad que se ajusta a esta situación viene dada por las ecuaciones, ec. (4), polinómica de orden 2 y ec. (5), su forma linealizada:

$$k_{obs} = k_1[H^+] + k_2[H^+]^2 \quad (4)$$

$$k_{obs}/[H^+] = k_1 + k_2 [H^+] \quad (5)$$

Los resultados permiten comprobar que la velocidad del proceso observado aumenta con la  $[H^+]$ . Sin embargo, los valores obtenidos:  $k_1=68,59 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  y  $k_2=1234,3 \text{ M}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para el HCl, y  $k_1=64,39 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  y  $k_2=999,5 \text{ M}^{-2}\text{s}^{-1}$  para el HClO<sub>4</sub>, no presentan diferencias importantes, lo que permite concluir que la naturaleza del anión (Cl<sup>-</sup> o ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>) finalmente no influye en la velocidad de la reacción. Los elevados valores de las constantes podrían estar relacionados con la facilidad de aproximación de los protones a un complejo neutro como es el Cu(2oxa), con el cual, a priori, no habría repulsiones electrostáticas que pudiesen entorpecer el proceso de protonación que precede a la demetalación. Por otro lado, cabe recordar que el entorno octaédrico generado por el

ligando y la consecuente presencia de efecto Jahn-Teller en el complejo de  $\text{Cu}^{2+}$ , podrían también ser responsables de la elevada labilidad del sistema y de los elevados valores obtenidos para ambas constantes, tanto en  $\text{HCl}$  como en  $\text{HClO}_4$ .

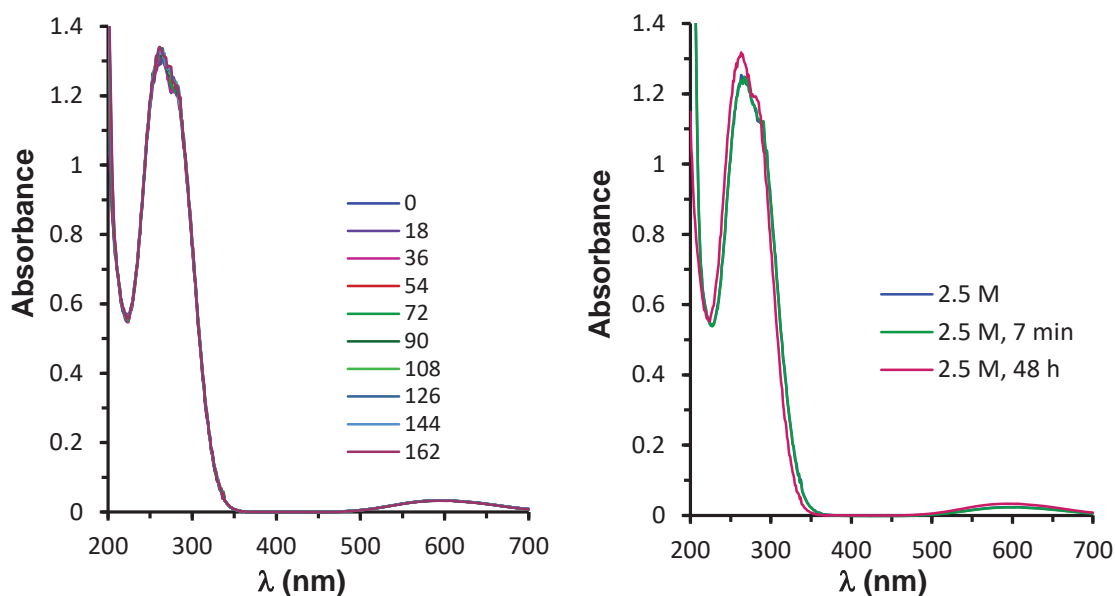


**Figura 20.** Variación de la  $A_0$  con la concentración del complejo  $\text{Cu}(2\text{oxa})$  en  $\text{HCl}$  (izq.) y en  $\text{HClO}_4$  (dcha.) a diferentes intervalos de acidez.

En la **Figura 20** está representada la variación de absorbancia inicial optimizada con la concentración del complejo  $\text{Cu}(2\text{oxa})$  a diferentes intervalos de acidez. Cabe destacar que al final de cada reacción, la absorbancia observada a la longitud de onda seleccionada en la que sólo absorbe el complejo no protonado es casi nula (la gráfica no tiene ordenada en el origen significativa). Este hecho nos permite concluir que tras la adición no se dan condiciones de equilibrio, es decir, el complejo se ha demetalado completamente tras la protonación total del ligando.

#### 4.2.2. Estudio de la demetalación de Cu(CB1A) en medio ácido

Al igual que para el sistema anterior, se ha analizado la variación espectral en el tiempo de una disolución de complejo Cu(CB1A) tras la adición de medio ácido (HCl) en concentración creciente.



**Figura 21.** Espectro de absorción del complejo Cu(CB1A) 0.33 mM obtenido a diferentes concentraciones de HCl, indicadas en la figura en unidades  $\mu\text{M}$  (izq.) y en 2.5 M de HCl, registrado a  $t=0$ , después de 7 min y a las 48 h.

En la **Figura 21** se pueden apreciar las bandas características que presenta este complejo, una de ellas intensa y centrada a 270 nm asociada a transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$  centradas sobre el ligando, y otra centrada a 600 nm asociada a las transiciones  $d-d$  del metal típica de un entorno de pirámide de base cuadrada. Ambas bandas permanecen estables e invariables al incrementar la  $[\text{H}^+]$  desde 18 a 162 mM, por adición de HCl al medio. Igualmente, el espectro registrado en condiciones fuertemente ácidas 2,5 M de HCl inmediatamente después de la adición del ácido tampoco se ve alterado, apreciándose sólo ligeras variaciones pasadas 48 h en estas condiciones. Estas observaciones nos permiten afirmar que el complejo Cu(CB1A) presenta una elevada inercia química frente a la disociación en medio ácido. Tal vez, y a diferencia del complejo Cu(2oxa), el hecho de que el complejo Cu(CB1A) posee una carga global +1 inhiba el ataque del protón en el medio debido a las repulsiones electrostáticas existentes, aunque no se descarta que la ausencia de efecto Jahn-Teller y la elevada rigidez de la plataforma macrocíclica presente en la estructural del ligando también desempeñen un papel muy importante a la hora de bloquear la liberación del metal.

## 5. Conclusiones

En base a los resultados obtenidos en este Trabajo Fin de Grado se puede llegar a las siguientes conclusiones:

- El ácido ascórbico es capaz de reducir al complejo Cu(2oxa) y generar un complejo lábil de Cu<sup>+</sup>. Los resultados demuestran que la velocidad de la reacción es independiente de la concentración de ácido ascórbico, si bien, depende en gran medida del pH del medio. El valor del pH es determinante en la velocidad de la reacción y los resultados obtenidos demuestran que pequeña variación en su valor lleva a variaciones significativas en el valor de la constante de velocidad observada.
- La velocidad de reacción catalizada por biorreductores es independiente de la concentración del complejo y de la fuerza iónica.
- En presencia de ácidos fuertes (HCl y HClO<sub>4</sub>) sólo el complejo Cu(2oxa) demetala rápidamente.
- El complejo Cu(CB1A) es químicamente inerte frente a la demetalación tanto por acción de biorreductores (ácido ascórbico), como en presencia de ácidos fuertes.

Para concluir el presente estudio, los resultados obtenidos permiten descartar al complejo Cu(2oxa) como posible plataforma quelatante en el diseño de radiofármacos, ya que su interacción con los biorreductores en el organismo podrá llevar a efectos indeseados, como por ejemplo la liberación del radionúclido y su deposición en un tejido dentro del organismo. En el caso del complejo Cu(CB1A), los resultados son mucho más prometedores, por lo que el siguiente paso sería ensayar la viabilidad para acoplar este complejo a un biovector.

## Conclusións

En base aos resultados obtidos neste Traballo Fin de Grao, pódese chegar ás seguintes conclusións:

- O ácido ascórbico é capaz de reducir ao complexo Cu(2oxa) e xerar un complexo lábil de Cu<sup>+</sup>. Os resultados mostran que a velocidade de reacción é independente da concentración de ácido ascórbico, pero depende do pH do medio. O pH é decisivo na velocidade da reacción e os resultados obtidos mostran que unha pequena variación no seu valor leva a variacións significativas no valor da constante de velocidade observada.
- A velocidade de reacción catalizada por biorreductores é independente da concentración do complexo e da forza iónica.
- En presenza de ácidos fortes (HCl e HClO<sub>4</sub>) só o complexo Cu(2oxa) demetala rapidamente.
- O complexo Cu(CB1A) é quimicamente inerte fronte á demetalación tanto pola acción de biorreductores (ácido ascórbico), como en presenza de ácidos fortes.

Para concluír o presente estudo, os resultados obtidos permiten descartar ao complexo Cu(2oxa) coma posible plataforma para o deseño de radiofármacos, xa que a súa interacción cos biorreductores no organismo podería levar a efectos non desexados, como por exemplo, a liberación do radionúclido e a súa deposición nun tecido dentro do organismo. No caso do complexo Cu(CB1A), os resultados son moito máis prometedores, polo que o seguinte paso sería ensaiar a viabilidade para acoplar este complexo a un biovector.

## Conclusions

Based on the results obtained in this Final Degree Project, the following conclusions can be drawn:

- Ascorbic acid is able to reduce only the Cu(2oxa) complex and generate a labile  $\text{Cu}^+$  complex. The results have shown that the reaction rate is independent of the concentration of ascorbic acid. However, it depends on the pH of the medium. The pH value is decisive in the rate of the reaction and the results obtained show that a small variation in its value leads to significant variations in the value of the observed rate constant.
- The reaction rate in the presence of ascorbic acid is independent of the concentration of the complex and the ionic strength.
- In the presence of strong acids (HCl and  $\text{HClO}_4$ ) Cu(2oxa) complex rapidly releases the metal ion into the medium.
- The complex Cu(CB1A) is inert to demetallation in acid medium and also to presence of bioreducers (ascorbic acid).

In conclusion, the results obtained in this study, allows us to discard the Cu(2oxa) complexes as possible platform for the design of radiopharmaceuticals, since its interaction with bioreducers in the body may lead to unwanted effects, such as the release of the radionuclide and its deposition in the tissue in the organism. In the case of Cu(CB1A) complex, the results are promising, so the next step could be to test the viability of coupling this complex to a selected biovector.