



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

Facultade de Ciencias

Grado en Química

Memoria del Trabajo de Fin de Grado

**ESTUDIO DE LA SELECTIVIDAD DE LIGANDOS ACÍCLICOS
EN EL DISEÑO DE RADIOFÁRMACOS BASADOS EN COBRE**

**ESTUDO DA SELECTIVIDADE DE LIGANDOS ACÍCLICOS
NO DESEÑO DE RADIOFÁRMACOS BASEADOS EN COBRE**

**STUDY OF THE SELECTIVITY OF ACYCLIC LIGANDS IN THE
DESIGN OF COPPER-BASED RADIOPHARMACEUTICALS**

Aarón Pérez Esperón

Curso: 2023 – 2024

Convocatoria: Febrero

Director/a 1: David Esteban Gómez

Director/a 2: M^a Isabel Brandariz Lendoiro

Memoria del Trabajo de Fin de Grado en
Química por la UDC presentada por
Aarón Pérez Esperón en la Facultad de
Ciencias de la Universidade da Coruña.

Febrero 2024

Agradecimientos

En primer lugar, agradecer a mis tutores, el Dr. David Esteban Gómez y la Dra. M^a Isabel Brandariz Lendoiro, el trato recibido durante toda la realización de este Trabajo de Fin de Grado. Gracias a ellos he sido capaz de comprender todo lo relacionado con esta investigación y he aprendido a que nunca se debe tirar la toalla en ningún aspecto de la vida, por lo que destaco su papel como docentes y como una gran ayuda a nivel personal.

También quiero darle las gracias al grupo de investigación con el que he trabajado por facilitarme los datos experimentales y por darme la posibilidad de utilizar sus instrumentos para poder llevar a cabo esta investigación. En especial a Fátima, por haberme tratado tan bien en el laboratorio y a la Dra. M^a José González Castro por haber sido como una madre para mi durante los años que he estudiado este Grado.

Quiero agradecer también a todos mis amigos que empezaron esta aventura conmigo hace unos años y con los que he pasado muy buenos ratos como Varela, Verdeal, Jorge, Sandá, Pablo y Marta entre muchos otros.

Por último, quiero agradecer a las personas más importantes para mí: mis abuelos de la costa, mis abuelos de la rúa, mi hermano y mis tíos; pero en especial, darles las gracias a mis padres, quienes siempre me han apoyado en todo y me han ayudado a poder lograr mi objetivo. A todos ellos muchas gracias por el cariño recibido y haberme tratado tan bien siempre.

Abreviaturas

ACN: acetonitrilo

ATP: adenosín trifosfato

ATR: reflectancia total atenuada

BaBaSar: 4,4'-((3,6,10,13,16,19-hexaazabicyclo[6.6.6]eicosano-1,8-diilbis(azanedil))bis(metilen)dibenzoico

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

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

DiamSar: 3,6,10,13,16,19-hexaazabicyclo[6.6.6]eicosano-1,8-diamino

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

DTPA: ácido N α -dietilentriaminopentaacético

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético

EECC: Energía de Estabilización de Campo Cristalino

FDG: Fluorodeoxiglucosa

HSAB: Teoría ácido-base duro-blando

Hno1a2py: 2-(4,7-bis(piridin-2-ilmetil)-1,4,7-triazonan-1-il)acético

Hno1pa2py: 1-Metilpicolinato-4,7-bis(piridin-2-ilmetil)-1,4,7-triazaciclononano

H2no2pa1py: 1,4-Bis(6-carboxi-2-picolinil)-7-(2-picolinil)-1,4,7-triazaciclononano

H3nota: 2,2',2''-(1,4,7-triazonano-1,4,7-tril)triacético

H3no3pa: 6,6',6''-((1,4,7-triazonano-1,4,7-tril)tris(metileno))tricolínico

IC: índice de coordinación

LMTC: Transferencia de carga ligando-metal

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

NETA: ácido [4-[2-(biscarboximetil-amino)etil]-7-carboximetil-[1,4,7]triazonan-1-il]-acético

NE3TA: [7-[2-(carboximetil)amino]etil]-1,4,7-triazaciclononano-1,4-diacético

no2th: 1,4-bis(tiazol-2-ilmetil)-1,4,7-triazaciclononano

no2th-EtBzNCS: 2,2'-((7-(4-isotiocianatofenetil)-1,4,7-triazonano-1,4-dil)bis(metilene))ditiazole

no2py: 1,4-bis(piridin-2-ilmetil)-1,4,7-triazaciclononano

no3py: 1,4,7-tris(piridin-2-ilmetil)-1,4,7-triazaciclononano

OC: Octeotride

PET: Tomografía por emisión de positrones

ROI: zona de estudio

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

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

SPECT: Tomografía por emisión de fotón simple

SSRs: Receptor de somatostatina

SUV: Standard Uptake Value

TACN: 1,4,7-triazaciclononano

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

UV-Vis: Ultravioleta-visible

Y3-TATE: Tyr(3)-Octreotato

Índice

I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....	2
II.1. Marco histórico.....	3
II.1.1. A nivel mundial.....	3
II.1.1. A nivel nacional.....	4
II.2. Medicina Nuclear e Imagen Molecular.....	5
II.2.1. Tomografía de Emisión de Positrones PET.....	7
II.3. Química del Cobre.....	12
II.3.1. Propiedades del cobre.....	12
II.2.1. Química de coordinación del cobre.....	13
II.4. Radiofármacos de cobre.....	14
II.4.1 Estabilidad termodinámica e inercia química en los radiofármacos.....	16
II.4.2. Diseño de radiofármacos de ^{64}Cu	18
II.4.3 Aplicaciones de los complejos de cobre.....	27
III. OBJETIVO.....	29
IV. PARTE EXPERIMENTAL.....	31
IV.1. Cronograma.....	32
IV.2. Síntesis de $[\text{Cu}(\text{CpDEDPA})]$	33
IV.3. Técnicas de caracterización.....	34
IV.4. Determinación de constantes de protonación y estabilidad.....	35
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
V.1. Estudio estructural en estado sólido.....	38
V.2. Estudio termodinámico en disolución.....	45
VI. CONCLUSIONES.....	50
VII. ANEXO ESPECTROS.....	54

I. RESUMEN

Resumen

En este Trabajo de Fin de Grado se ha llevado a cabo un estudio bibliográfico sobre diferentes complejos de cobre(II) que pueden ser utilizados en medicina nuclear como posibles radiofármacos, tanto en diagnóstico como en terapia.

Además, se evaluó la estabilidad termodinámica en disolución de tres complejos de cobre(II) derivados de los ligandos $H_2CHxDEDPA$, $H_2CpDEDPA$ y $H_2CBuDEDPA$, realizando un análisis estructural y comparativo en estado sólido, con el objetivo de analizar su selectividad y potencial aplicación en el diseño de radiofármacos basados en estos sistemas.

Palabras clave: Termodinámica, estabilidad, radiofármaco, química de coordinación

Resumo

Neste Traballo Fin de Grao realizouse un estudo bibliográfico sobre diferentes complexos de cobre(II) que poden ser utilizados en medicina nuclear como posibles radiofármacos, tanto no diagnóstico como na terapia.

Ademais, avalíouse a estabilidade termodinámica en disolución de tres complexos de cobre(II) derivados dos ligandos $H_2CHxDEDPA$, $H_2CpDEDPA$ e $H_2CBuDEDPA$, realizando unha análise estrutural comparativa en estado sólido, co obxectivo de analizar a súa selectividade e potencial aplicación no deseño de radiofármacos baseados nestes sistemas.

Palabras clave: Termodinámica, estabilidade, radiofármaco, química de coordinación

Abstract

In this Final Degree Project, a bibliographic study has been carried out on different copper(II) complexes that can be used in nuclear medicine as possible radiopharmaceuticals, both in diagnosis and therapy.

In addition, the thermodynamic stability in solution of three copper(II) complexes derived from the ligands $H_2CHxDEDPA$, $H_2CpDEDPA$ and $H_2CBuDEDPA$ was studied, carrying out a structural and comparative study in solid state with the aim of analyzing their selectivity and potential application in the design of radiopharmaceuticals based on these systems.

Keywords: Thermodynamic, stability, radiopharmaceuticals, coordination chemistry

II. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

II.1. Marco histórico.

II.1.1. A nivel mundial.

La década de los 40 fue un período muy importante en la medicina nuclear, ya que esta empezó a desarrollarse como especialidad impulsada por la construcción en 1946 del primer reactor capaz de producir radionúclidos. Sin embargo, el origen de esta disciplina se remonta a 1895 con el hallazgo de los rayos X por parte de Wilhelm Röntgen, quien realizó las primeras radiografías de toda la historia.¹ Posteriormente, varios científicos contribuyeron a ella a través de sus investigaciones, como Marie Curie y Henri Becquerel, con el descubrimiento de la radioactividad natural y la radioactividad del Uranio, respectivamente; o el posterior descubrimiento de la radioactividad artificial por Irène Joliot-Curie y Frederic Joliot o los estudios de Hans Geiger y Walter Müller sobre el diseño de los detectores de radiación.

En la década de los 30 también se consiguieron grandes avances en el campo de la medicina nuclear, ya que fue cuando se construyó el primer ciclotrón y se empleó el radioisótopo de yodo ¹³¹I para realizar estudios relacionados con la tiroides, comenzando a utilizarse este tipo de medicina en terapia.

En los años 60 se generan una gran cantidad de radionúclidos cuya principal aplicación es la medicina, sobre todo en lo referido a la etapa de diagnóstico, y fue a comienzos de esta década cuando aparece el radioisótopo ⁹⁹Tc, el cual destaca por su uso en este campo debido a sus excelentes cualidades y a su facilidad para incorporarlo a ciertos fármacos.

Es importante resaltar la importancia de la gammagrafía en la Medicina Nuclear, técnica sobre la que cabe mencionar dos eventos históricos. El primero de ellos data de 1951, año en el cual los científicos Reed y Libby construyeron el Scanner con cristal de centelleo de NaI, permitiendo así la realización de la primera gammagrafía; y el segundo, en 1958 cuando Hal Oscar Anger construyó la primera gammacámara, la cual es uno de los detectores más empleados en medicina nuclear hoy en día.

A partir de esta década se desarrollaron una gran cantidad de tecnologías cuya principal base eran los radioisótopos. Entre ellas hay que destacar la aparición del SPECT en la década de los 70 y la del PET en la década de los 80, técnicas en las que es posible

¹ Peñafiel Ramírez, A. *Historia de La Medicina Nuclear Aspectos Generales*.

localizar determinados radiofármacos dentro del cuerpo humano y generar imágenes de este en tres dimensiones.²⁴

En los últimos años se ha incrementado considerablemente el interés en estas técnicas, las cuales están en continuo desarrollo con el objetivo de adquirir un mayor conocimiento del ser humano a nivel biológico, químico y genético, de cara a mejorar el tratamiento de una mayor cantidad de enfermedades y dolencias, muchas de ellas abordables haciendo uso de radiofármacos.

II.1.1. A nivel nacional.

En España hubo que esperar hasta 1948 para que apareciesen las primeras investigaciones acerca de los radioisótopos. En 1951 se publicaron los primeros libros sobre Medicina Nuclear en español y se creó la Junta de energía nuclear española. Años después, ciudades como Barcelona, Madrid, Sevilla o San Sebastián tendrán centros dedicados a la investigación de esta especialidad de la medicina. En 1958 se inauguró el Centro Nacional de Energía Nuclear “Juan Vigón”, establecimiento en el que se produjeron los primeros radioisótopos en nuestro país. Ocho años después entró en vigor la Ley de energía nuclear y ya en la década de los 80 se fundó el Consejo de Seguridad Nacional, para la gestión y uso correcto de las especies radiactivas, ya que es de vital importancia su adecuada manipulación, así como el correcto tratamiento de sus residuos. En esta década fue cuando se fundó ENRESA, ente nacional que se ocupa de esta labor tan importante.

El PET no llega a nuestro país hasta 1995, cuando se instala en un centro madrileño. Como sucedía a nivel global, se produce un gran incremento en las investigaciones relacionadas con la Medicina Nuclear. Hoy en día en España existen una gran cantidad de centros y científicos formados en esta especialidad, además también ha aumentado considerablemente el número de publicaciones y de equipamiento empleado para poder investigar en este campo.^{3 4}

² 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).

³SEMnim- Sociedad Española de Medicina Nuclear e Imagen Molecular <https://semnim.es/la-medicina-nuclear/historia-de-la-medicina-nuclear/>

⁴ Facultad de CC Físicas UCM

http://nuclear.fis.ucm.es/research/thesis/rosa_gantes_trabajo_sep07.pdf

II.2. Medicina Nuclear e Imagen Molecular.

Es importante definir correctamente este término para poder posteriormente comprender su importancia. La medicina nuclear es la parte de la medicina que se encarga de tratar, diagnosticar e investigar las dolencias y enfermedades de los seres humanos empleando para ello los radioisótopos o isótopos radioactivos.⁵ Se basa en el diferente comportamiento o respuesta que manifiestan las diferentes partes de nuestro cuerpo cuando son expuestas a esta radiación.

En esta especialidad se emplean lo que se conoce como radiofármacos, sustancias que emiten radiación al contener en su estructura uno o más de un radioisótopo, y que pueden ser empleadas con fines de diagnóstico o en el tratamiento de muchas enfermedades. Las más habituales son las de la tiroides, cerebro, corazón o huesos y, sobre todo, destaca su uso contra determinados tipos de cáncer. Así, por ejemplo, el ¹³¹I se emplea en radioterapia para tratar el cáncer de tiroides, mientras que el ⁷⁷Lu destaca por su gran uso en enfermedades neuroendocrinas.⁶ Dentro del ámbito del diagnóstico, los emisores de positrones (PET) y los emisores gamma (gammagrafía y SPECT), son los más adecuados, ya que generan una radiación electromagnética carente de masa, con un elevado poder de penetración y menor agresividad que otro tipo de radiaciones. Para fines terapéuticos se utilizan radioisótopos emisores α y β , los cuales son muy adecuados para tratar una gran variedad de enfermedades. Hay que destacar que los radioisótopos emisores de partículas α no son adecuados para el diagnóstico, ya que estas partículas son las más ionizantes y las menos penetrantes, lo que no favorece en absoluto su penetración en los tejidos u órganos de nuestro cuerpo.

Una enfermedad que afecta a una gran cantidad de personas (50 millones en el mundo) es la demencia. Una dolencia que afecta principalmente a habitantes de los países menos desarrollados y que se ha visto incrementada en los últimos años a un ritmo anual de 10 millones de nuevos afectados. La predicción acerca del número de pacientes estimados para esta enfermedad en 2030 es de 82 millones y 152 millones para 2050.⁷ Una de las formas más habituales de la demencia es el Alzheimer. El número de afectados supone en torno a un 70% del total de casos de demencia a nivel mundial, y tres de cada

⁵ Formación Alcalá

https://www.formacionalcala.com/articulos/166/que-es-la-medicina-nuclear-y-en-que-casos-se-utiliza?gad_source=1&gclid=EAIaIQobChMI09WOpbiBhAMVCqmDBx0afQBhEAAYASAAEgldfvD_BwE

⁶ Definición de radiofármaco - Diccionario de cáncer - National Cancer Institute

<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/radiofarmaco> (accessed Apr 8, 2020).

⁷ Organización Mundial de la salud

<https://www.who.int/es/news/item/07-12-2017-dementia-number-of-people-affected-to-triple-in-next-30-years>

cuatro pacientes de esta dolencia no son diagnosticados. Para un mejor pronóstico y posible tratamiento, se considera de vital importancia una detección temprana esta enfermedad, pero al tratarse de una enfermedad cerebral el uso de diferentes técnicas de diagnóstico está muy limitado. Por ello, recientemente se ha comenzado a estudiar el posible empleo nuevas técnicas de diagnóstico, como el PET, para reducir esta preocupante cifra.

Las investigaciones realizadas hasta la fecha han establecido que esta enfermedad está totalmente correlacionada con la aparición de placas amiloides en la zona cerebral. Estas placas son el resultado una disfunción en una proteína, que provoca su acumulación o formación de agregados en una determinada zona, impidiendo la comunicación entre las neuronas y provocando graves problemas de salud. Al tratarse de placas formadas en el cerebro, realizar operaciones como la biopsia para detectar su existencia conlleva una elevada complejidad. Por ello, se comenzó a investigar el uso de técnicas PET en su diagnóstico y seguimiento, ya que permiten la obtención de imágenes de elevada calidad en tres dimensiones facilitando la posible detección de esta patología de una forma no invasiva. Los radiofármacos empleados se inhalan, ingieren o inyectan para su introducción en nuestro cuerpo, dentro del cual van a emitir radiación que posteriormente será detectada por los especialistas con la ayuda de un detector y finalmente generar imágenes tridimensionales de nuestro organismo. Con esta información, los médicos pueden detectar disfunciones o patologías en una determinada parte del cuerpo y tomar decisiones de cómo intervenir para intentar solucionar ese problema.

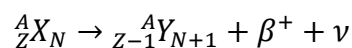
El uso de estos compuestos radioactivos en terapia suele estar asociado a la destrucción de tejidos o células con cáncer, siendo frecuente en ella el uso de radioisótopos como ^{32}P , ^{89}Sr , ^{90}Y , ^{131}I , ^{153}Sm , ^{186}Re o ^{198}Au . Las células tumorales van absorbiendo la radiación emitida por los radiofármacos y destruyéndose al mismo tiempo. Es importante destacar que la administración del radiofármaco se realiza en dosis muy pequeñas y que estas están sometidas a un riguroso control para evitar que los pacientes se vean expuestos a grandes cantidades de radiación, para evitar posibles efectos secundarios negativos en su salud. Afortunadamente, el diseño de radiofármacos se persigue siempre facilitar su rápida expulsión del organismo, lo que se traduce en un menor riesgo para el paciente.

Gracias al uso de los radioisótopos en medicina a nivel mundial se han salvado una gran cantidad de vidas. Hoy en día los radiofármacos son empleados en más de 30 millones de procedimientos anuales de diagnóstico y en el tratamiento de más de 60 patologías diferentes.

II.2.1. Tomografía de Emisión de Positrones PET.

Es una técnica no invasiva con una elevada sensibilidad que se caracteriza por su gran resolución, tanto espacial, como temporal. Se basa en el empleo de radiotrazadores marcados suministrados en cantidades muy pequeñas al organismo (nivel traza) y que no provocan efectos adversos. Es una técnica muy empleada, ya que la generación de radioisótopos emisores de positrones es abundante y el reemplazo de un isótopo y su radioisótopo emisor de positrones análogo en el fármaco testado no provoca cambios en su comportamiento químico.

La desintegración de radioisótopos empleados en PET ocurre de la siguiente manera:



Donde el radioisótopo X se desintegrará produciendo un núcleo más estable (Y), emitiendo un positrón (β^+) y un neutrino (ν). La emisión de este último provoca que varíe la energía del positrón emitido, lo que se traduce en que este tipo de reacciones tengan una energía variable, al contrario de lo que sucede al emitir partículas gamma, cuya energía está fijada para cada radioisótopo. Debido a esto, cuando se habla de emisión de positrones suele hacerse referencia a un máximo de energía y a una media de esta, ya que su valor va a variar dependiendo de cada caso. El positrón realizará un mayor recorrido hasta su encuentro con el electrón, cuanto mayor sea su energía de emisión, y este suele ser del orden de milímetros y se produce rápidamente (10^{-9} s).¹⁴

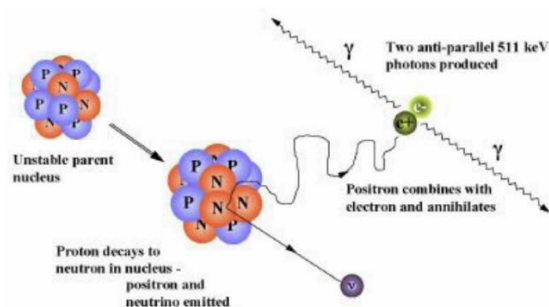


Figura 1. Representación de los fotones emitidos al colisionar un positrón con un electrón.

Cabe mencionar que los positrones son partículas subatómicas iguales a los electrones en masa y espín, pero se diferencian en la carga eléctrica (negativa para el electrón y positiva para el positrón). Son lo que se conoce como antipartículas, el conjunto

total de estas conforma la antimateria.⁸ Cuando una partícula (electrón) colisiona con una antipartícula (positrón) se produce una eliminación de ambas, produciéndose de esta manera la emisión de energía. Tras la anulación mutua de estas dos partículas se emiten fotones en sentidos totalmente opuestos, formando 180° entre sí (véase **Figura 1**).⁹

Existe una gran cantidad de radiofármacos para PET que se emplean principalmente en el ámbito de la investigación, sin embargo, sólo un reducido número de estos se emplean hoy en día en labores clínicas. Para poder utilizar estos compuestos *in vivo*, estos deben cumplir una serie de requisitos como: poseer una elevada facilidad de penetración en la diana, una gran afinidad por la zona de unión (donde debe disociarse lentamente) o que se metabolice muy poco para facilitar la realización del modelo matemático. Además, para que su uso *in vivo* sea adecuado, deben absorberse poco de forma inespecífica, ya que si no se generarían señales que podrían interferir en el estudio. En la **Tabla 1** se recogen algunos de los fármacos más empleados actualmente en el diagnóstico clínico junto con su utilidad.¹⁰

Tabla 1. Radiofármacos utilizados con mayor frecuencia en estudios PET.

Radiofármaco	Utilidad diagnóstica
2- ¹⁸ F- fluoro- 2- desoxi-D- glucosa (¹⁸ F- FDG)	Evaluación del metabolismo de cerebro y corazón. Estudio de tumores
¹⁸ F- fluoruro de sodio (¹⁸ F- NaF)	Estudios óseos
¹⁸ F-dihidroxifenilalanina (¹⁸ F-DOPA) ¹⁸ F-Fallypride ¹⁸ F- desmetoxifallypride (¹⁸ F-DMFP)	Evaluación de enfermedades cerebrales relacionadas con el sistema dopaminérgico
3'- ¹⁸ F-fluoro-3'-desoxi-L-timidina (¹⁸ F-FLT)	Caracterización de tumores
¹⁸ F- colina (¹⁸ F- Ch)	Compuesto específico para el cáncer de próstata, hepatocarcinoma y algunos tumores cerebrales
¹⁵ O- H ₂ O	Estudio de la perfusión de miocardio y cerebro
¹⁸ F- cloruro de amonio (¹³ N- NH ₄ Cl)	Estudio de la perfusión de miocardio

⁸ Física moderna - Paul Allen Tipler - Google Libros

https://books.google.es/books?id=25Hv0YwrhvoC&pg=PA482&lpg=PA482&dq=positron+%22particula+elemental%22&source=bl&ots=JcraRmFr9-sig=5BUYpFODhk6e3mX_K3tbLdkMoQ8&hl=es-419&ei=tWkBTcfTOcGVnfwk-3lDQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false (accessed Apr 9, 2020).

⁹ J.Cal-González, E.Vicente, J.L. Herraiz, S.España, E. Herranz, J.M. Udías. Grupo de Física Nuclear, Dpto.Física Atómica, Molecular y Nuclear,UCM

<http://nuclear.fis.ucm.es/CDTEAM/articulos%20pdf/PDF%20PUBLICACIONES%20IMAGEN%20MEDICA/PET-cal-gonzalez-2008.pdf>

¹⁰ Yamil Chain, Luis Illanes. Radiofármacos en Medicina Nuclear. Fundamentos y aplicación clínica.

<https://libros.unlp.edu.ar/index.php/unlp/catalog/view/409/376/1284-1>

Entre los radiofármacos utilizados en PET destaca el uso del ^{18}F -FDG, el cual se emplea para indicar de forma indirecta la proliferación celular, que es provocada por el incremento en el metabolismo glucídico, en el cual sí que influye de manera directa el ^{18}F -FDG (véase **Figura 2**).¹¹

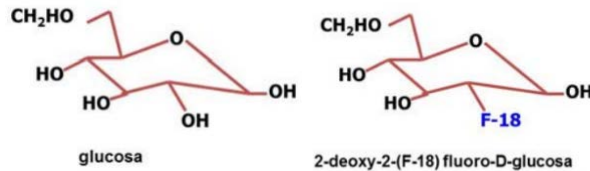


Figura 2. Estructura de las moléculas de glucosa y ^{18}F -FDG.

El ^{18}F -FDG es un análogo de la glucosa¹² y se emplea como marcador de procesos metabólicos que tienen lugar en células sanas y tumorales, estando más concentrado en estas últimas, ya que se acumula de manera intracelular (véase **Figura 3**). Se introduce en las células de nuestro organismo a través de los receptores de membrana y sigue el mismo camino metabólico que la glucosa hasta que sufre el proceso de fosforilación (debido a la hexoquinasa en presencia de la glucosa-6-fosfatasa) y se transforma en ^{18}F -FDG-6-fosfato. A raíz de este proceso ya no sigue la misma vía de la glucosa y se acumula en las células. En células tumorales se degrada glucosa anaeróticamente pese a que este mecanismo está más desfavorecido energéticamente (2 moléculas de ATP por cada molécula de glucosa) que los procesos aeróbicos (en la oxidación de glucosa se obtienen 38 moléculas de ATP). La elevada velocidad de obtención de energía mediante este proceso (100 veces mayor) permite que estas células prefieran un metabolismo anaeróbico, dado que se consumirá una gran cantidad de glucosa debido a esta gran rapidez.

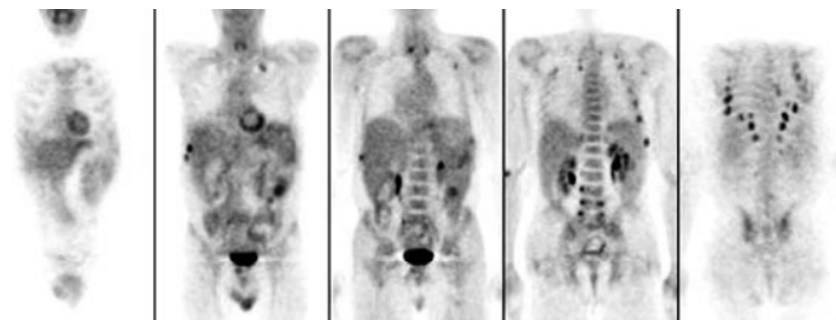


Figura 3. Cortes coronales en un paciente con osteomalacia tras captar el radiofármaco ^{18}F -FDG.

¹¹ Blanco, A. C. Radiofármacos PET de Uso Humano En España: Pasado y Presente

¹² Adlín López Díaz, Lissette Mejías. Estudio PET/CT con ^{18}F -Fluorodesoxiglucosa en oncología <https://www.medigraphic.com/pdfs/actamedica/acm-2017/acm172i.pdf>

Antes de la realización de una prueba PET con ^{18}F -FDG es importante que los pacientes sigan unas normas para que el análisis se pueda realizar correctamente. Así, por ejemplo, se recomienda no realizar ejercicio el día anterior a la prueba, ya que el aumento de actividad muscular provoca un incremento de la concentración del radiofármaco en el sistema muscular que podría falsear el resultado de la prueba o disminuir notablemente su sensibilidad. Además, es recomendable ingerir pocos carbohidratos y realizar un ayuno de 8 horas previos a la prueba. De esta forma no se produce una competición entre el ^{18}F -FDG y la glucosa por los receptores de membrana celular, situación que provocaría una pérdida de sensibilidad en la técnica. Hay que tener especial cuidado con los pacientes que padecen de diabetes y debe controlarse el nivel de glucemia, ya que sólo puede realizarse el estudio PET cuando el paciente presenta valores de nivel glucémico menores de 130 mg/dL (véase **Figura 4**).



Figura 4. Imágenes de ^{18}F -FDG en laringe y otras estructuras debidas a una inadecuada preparación del paciente.

El PET permite obtener una medida de la concentración del radiofármaco empleado por gramo de tejido, relacionándolo con lo que pesa cada persona analizada y con cuanto se ha utilizado de ese radiofármaco. Además, se puede detectar de forma visual si la concentración de este compuesto en una determinada zona es algo habitual o anómalo, en caso de que no fuese lo correcto se evaluaría y se trataría adecuadamente. En la práctica se puede cuantificar de manera relativa cuanta glucosa consume un tumor, para esta cuantificación se emplea el SUV (*Standard Uptake Value*),¹³ el cual se puede calcular de la siguiente manera para cada zona de estudio (ROI):

$$SUV = \frac{\text{Actividad en ROI (MBq)/vol(mL)}}{\text{Actividad inyectada(MBq)/peso paciente(g)}}$$

¹³ Jéssica Mariel Ferreyra. Evaluación de los factores metodológicos que afectan la cuantificación de imágenes de PET/CT. <https://ricabib.cab.cnea.gov.ar/310/1/1Ferreyra.pdf>

Debido a los cortos períodos de tiempo de desintegración de algunos radioisótopos, para poder trabajar con ellos es necesario que el ciclotrón donde se producen esté situado muy cerca del laboratorio donde se realiza el análisis. Si bien los radiofármacos que contienen flúor suelen ser los más empleados, su corto tiempo de vida hace necesario la generación de radiofármacos basados en otros radioisótopos que posean un mayor tiempo de semidesintegración, de forma que esto permita ampliar su tiempo de vida útil y evite que sea tan necesaria la cercanía del ciclotrón al laboratorio clínico.¹⁴ Es aquí donde entra en juego la Química de Coordinación, ya que la producción de radioisótopos de iones metálicos ha experimentado un gran desarrollo en los últimos años y ha permitido desarrollar radiofármacos basados en compuestos de coordinación para su uso como trazadores en PET.

Estos sistemas deben de reunir una serie de características, siendo indispensable que presenten una elevada estabilidad termodinámica y una elevada inercia química frente a la liberación del isótopo radioactivo. Si no son estables, hay posibilidades de que el complejo reaccione y el radioisótopo acabe en nuestro organismo antes de poder eliminarlo mediante su excreción, lo cual supondría un grave problema de salud. Además, si el radioisótopo se libera progresivamente en el organismo puede producir señales de fondo, disminuyendo la relación señal-ruido respecto a la diana objeto de estudio.

En este trabajo se ha analizado la estabilidad termodinámica de tres complejos de cobre(II) derivados de tres ligandos acíclicos (véase **Figura 5**), basándonos en datos experimentales obtenidos en el laboratorio mediante las técnicas potenciométrica y espectrofotométrica. El principal objetivo es determinar si estos complejos son estables, como paso previo a valorar su posible aplicación como radiofármacos en la tomografía de emisión de positrones (PET) empleando el isótopo radioactivo ⁶⁴Cu.

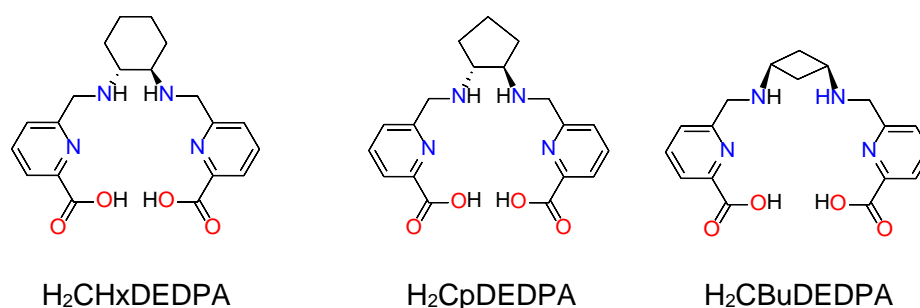


Figura 5. Estructura de los tres ligandos quelatantes acíclicos analizados en este trabajo de investigación.

¹⁴ Sánchez, I. P.; Revista, L. *Radiofármacos PET Distinguido Lector*, 2001; Vol. 20.

II.3. Química del Cobre.

II.3.1. Propiedades del cobre.

El cobre es un elemento de la tabla periódica que pertenece al grupo 11 y al período 4, siendo un metal de la primera serie de transición. En estado fundamental su configuración electrónica debería ser $[\text{Cu}] = [\text{Ar}]3d^94s^2$, si bien, desde el punto de vista electrónico está más favorecida la configuración $[\text{Cu}] = [\text{Ar}]3d^{10}4s^1$ con todos sus orbitales 3d ocupados.¹⁵

Habitualmente, el cobre suele actuar con un estado de oxidación +2, pero también puede hacerlo con un estado de oxidación +1. Es su estado elemental no presenta alótropos y tiene varios isótopos, entre los que destacan principalmente sus isótopos naturales, el ^{63}Cu y el ^{65}Cu , con abundancias del 69,2 y 30,2%, respectivamente.

Es un metal de color naranja rojizo en estado puro que se emplea habitualmente en la preparación de aleaciones como el bronce (Cu y Sn) o el latón (Cu y Zn), empleadas en la fabricación de muchos componentes debido a sus específicas propiedades mecánicas. Su color característico es debido a que la separación energética entre su banda d (ocupada) y su banda s-p es muy pequeña (220 kJ/mol). La excitación de los electrones de una banda a otra está provocada por fotones que se encuentran en la región azul y verde del espectro electromagnético, lo que se traduce en una reflexión de sus colores complementarios, amarillo y rojo. Este elemento destaca por su gran capacidad para conducir la electricidad y el calor (tiene la conductividad térmica más elevada de todos los elementos metálicos), lo que lo hace ideal para aplicaciones de conducción térmica y eléctrica. Además, presenta una elevada ductilidad y maleabilidad lo que hace que sea un elemento muy utilizado en la industria.

Cuando se encuentra en disolución acuosa predomina su estado de oxidación divalente y la mayoría de sus sales son de color azul. Esto es debido a que en disolución el cobre(II) se solvata de moléculas de agua y forma el catión complejo hexaacuocobre(II), $[\text{Cu}(\text{OH}_2)_6]^{2+}$, cuyas transiciones d-d son responsables de su coloración. El cambio en el entorno de coordinación del ion modifica tanto la posición y como la forma de estas bandas, por lo que es posible observar otras tonalidades, como el color verdoso del anión complejo $[\text{CuCl}_4]^{2-}$, donde los Cl^- han remplazado a las H_2O en la esfera de coordinación el metal generando un entorno tetraédrico.

¹⁵ Ralph H. Petrucci, F. Geoffrey Herring, Jeffrey D. Madura y Carey Bissonnette. Química General. Décima edición. 2011. https://quimica247403824.files.wordpress.com/2018/11/quimica_general_petrucci.pdf

Los complejos de Cu(II) son muy estables en disolución acuosa, lo que hace que sea muy difícil su oxidación a Cu(III). De hecho, el cobre aparece en estado de oxidación (III y IV) fundamentalmente en sólidos inorgánicos, como es el caso del compuesto Cs_2CuF_6 obtenido por fluoración de CsCuCl_3 a 540K, donde el cobre se presenta en estado de oxidación (IV).¹⁶

II.2.1. Química de coordinación del cobre.

El índice de coordinación de un elemento metálico está totalmente relacionado con su estado de oxidación y con su radio atómico. En el caso del cobre, para el catión Cu(II) el valor de su radio iónico varía entre 57 y 77 pm, dependiendo de su índice de coordinación (IC= 4, IC= 5 o IC= 6 que son los más habituales). Para un IC= 6, el Cu(II) presentará diferentes geometrías, destacando la geometría octaédrica (IC= 6) que suele presentar una típica distorsión tetragonal por efecto de Jahn-Teller. En estos compuestos los enlaces metal-ligando axiales tienen una longitud diferente a los que están en posición ecuatorial, lo que nos indica que el octaedro estará distorsionado (alargado o comprimido).¹⁷ Para IC=5, el cobre puede presentar dos tipos de geometrías: bipirámide trigonal o pirámide de base cuadrada, mientras que, si su índice de coordinación es 4, presentará una geometría tetraédrica.

Según la teoría de ácidos y bases, duros y blandos de Pearson (HSAB), los ácidos blandos (baja densidad de carga) se unirán a las bases blandas, y los ácidos duros (elevada densidad de carga) lo harán con las bases duras. El Cu(I) es considerado un ácido blando, mientras que el Cu(II) es considerado un ácido intermedio en cuanto a su dureza. Un aspecto a tener en cuenta en sus complejos derivados de este ion es la diferente labilidad de sus complejos en función de los diferentes estados de oxidación que puede presentar, siendo el Cu(I) más lábil frente al intercambio de ligandos que el Cu(II). Debido a esto, es muy importante en el diseño de un radiofármaco que el ligando empleado establezca de forma efectiva al ion Cu(II), ya que de esta manera se evitaría la liberación del ion libre en el organismo.¹⁸ Debido a esto, es frecuente que los ligandos empleados contengan N, O, S o P en su estructura para maximizar la estabilidad de los complejos resultantes. Estos deben distribuirse en el esqueleto de la unidad quelatante radiofármaco atendiendo a una

¹⁶ Geoff Rayner-Canham. Química inorgánica descriptiva.

¹⁷ Anderson, C. J.; Wadas, T. J.; Wong, E. H.; Weisman, G. R. Cross-Bridged Macrocyclic Chelators for Stable Complexation of Copper Radionuclides for PET Imaging. *Q. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2008**, 52 (2), 185–192. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4286870/>

¹⁸ Wadas, T.; Wong, E.; Weisman, G.; Anderson, C. Copper Chelation Chemistry and Its Role in Copper Radiopharmaceuticals. *Curr. Pharm. Des.* 2006, 13 (1), 3–16. <https://doi.org/10.2174/13816120779313768>.

topología que maximice su interacción con el ion metálico y consecuentemente la estabilidad final del complejo. En los sistemas objeto de estudio (**Figura 5**), se estudian tres complejos formados a partir de ligandos acíclicos, los cuales poseen en su estructura átomos dadores de N y O que permitirán una mejor estabilización del centro metálico en su estado de oxidación Cu(II).

En el caso de los radiofármacos basados en cobre, es muy importante analizar siempre la estabilidad redox de los complejos preparados, ya que esta podría llegar a limitar o impedir su uso. Si el Cu(II) presente en el radiofármaco llegase a reducirse a Cu(I) debido a la acción de agentes reductores presentes en el cuerpo humano, como el NADPH o el ácido ascórbico, las preferencias coordinativas del metal cambiarían completamente, provocando una mayor afinidad hacia dadores más blandos como el S presente en la estructura de multitud de moléculas de nuestro organismo, como las proteínas. Esto supondría un grave problema de selectividad, al favorecerse una posible liberación del metal desde el radiofármaco y la posterior acumulación del radioisótopo en zonas del organismo no deseadas (órganos o tejidos sanos), provocando efectos perjudiciales para el paciente.¹⁷

II.4. Radiofármacos de cobre.

Como se ha mencionado anteriormente, existen dos isótopos de cobre que destacan por su abundancia natural, ⁶³Cu y ⁶⁵Cu. Además de estos dos isótopos, existen veintiún radioisótopos con un tiempo de vida de desintegración no supera el segundo (que imposibilita su manipulación y uso), y otros cinco (⁶⁰Cu, ⁶¹Cu, ⁶²Cu, ⁶⁴Cu y ⁶⁷Cu) que sí podrían llegar a utilizarse en la Medicina Nuclear.

Como se aprecia en la **Tabla 2**,¹⁹ el radioisótopo que posee un mayor tiempo de vida media es el ⁶⁷Cu (2,57 días), lo que lo hace un candidato ideal para su uso en la generación de radiofármacos en terapia. La mayoría de estos isótopos pueden producirse en ciclotrones, salvo el ⁶⁴Cu que debe obtenerse en un reactor. Este último destaca entre el resto porque su emisión de positrones (β^+) es muy baja, y su tiempo de vida (12,7 h) lo convierte en un candidato adecuado para su uso en PET.

¹⁹ Ahmedova, A.; Todorov, B.; Burdzhiev, N.; Goze, C. Copper Radiopharmaceuticals for Theranostic Applications. **2018**. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.08.051>.

Tabla 2. Radioisótopos de cobre con posible aplicación en medicina nuclear.

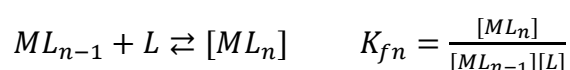
Isotope	Half-life	Decay (%)	Major radiation (%) [keV]	Average tissue penetration	Source	Production reactions	Application
^{60}Cu	23.70 min	β^+ (93) EC (7)	β^+ 1980.5 (49) γ 1333 (88)	4.4 mm	Cyclotron	$^{60}\text{Ni}(p,n)^{60}\text{Cu}$	radioimaging
^{61}Cu	3.33 h	β^+ (62) EC (38)	β^+ 1215.2 (51) γ 283 (12) γ 656 (11)	2.6 mm	Cyclotron	$^{61}\text{Ni}(p,n)^{61}\text{Cu}$	radioimaging
^{62}Cu	9.67 min	β^+ (98) EC (2)	β^+ 2926 (97)	6.1 mm	Generator Cyclotron	$^{62}\text{Zn}/^{62}\text{Cu}$ $^{62}\text{Ni}(p,n)^{62}\text{Cu}$	radioimaging
^{64}Cu	12.70 h	β^+ (19) EC (41)	β^+ 653.1 (17) γ 1346	0.7 mm	Reactor	$^{nat}\text{Zn}(p,xn)^{64}\text{Cu}$ $^{63}\text{Cu}(n,\gamma)^{64}\text{Cu}$	radioimaging;
		β^- (40)	β^- 578.7 (39)	0.95 mm	Cyclotron	$^{64}\text{Ni}(p,n)^{64}\text{Cu}$ $^{64}\text{Ni}(d,2n)^{64}\text{Cu}$	radiotherapy
^{67}Cu	2.57 d (62.01 h)	β^- (100)	β^- 395 (50)	0.61 mm	Reactor Cyclotron	$^{67}\text{Zn}(n,p)^{67}\text{Cu}$ $^{68}\text{Zn}(p,2p)^{67}\text{Cu}$ $^{70}\text{Zn}(p,\alpha)^{67}\text{Cu}$	radiotherapy

A la vista de sus propiedades emisivas, las imágenes obtenidas con el radioisótopo de ^{64}Cu van a tener peor calidad y resolución en comparación a las obtenidas con los sistemas comerciales basados en ^{18}F , debido a que su actividad es 5,5 veces menor a la del ^{18}F . Así, para lograr imágenes de una calidad similar sería necesario emplear dosis grandes de radiofármaco basado en ^{64}Cu . Afortunadamente, la toxicidad del ^{64}Cu es 10 veces menor que la del ^{18}F , por lo que, aunque haya que emplear una mayor cantidad del radioisótopo de cobre, en realidad su empleo supondría menores riesgos para la salud.¹⁹ Por lo tanto, el ^{64}Cu es un excelente candidato en el diseño de radiofármacos para el diagnóstico por PET de diferentes enfermedades.

Como se ha mencionado previamente el ^{67}Cu destaca por sus excelentes características de desintegración, pero pese a este gran tiempo de vida media, este radioisótopo tiene serias desventajas desde el punto de vista de su producción. Su generación presenta numerosas dificultades técnicas, ya que es necesario un reactor de flujo de neutrones o haces de protones de elevada energía y también trabajar con compuestos de Zn (^{68}Zn , ^{67}Zn) que presentan un coste muy elevado. Por todo esto, y aunque podría ser un firme candidato en terapia y diagnóstico debido a sus propiedades, existen sólo unos cuantos estudios científicos relacionados con este radioisótopo.

II.4.1 Estabilidad termodinámica e inercia química en los radiofármacos.

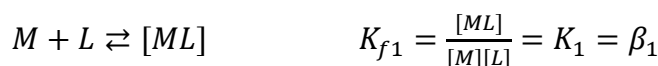
Los complejos con posible aplicación como radiofármacos deben tener una adecuada inercia cinética y una gran estabilidad termodinámica. En esta memoria se analizó la estabilidad termodinámica de tres complejos de Cu(II), la cual viene dada por su constante de estabilidad (o de formación) y su valor nos permite tener información acerca de la concentración relativa de las especies presentes en el equilibrio. Estas constantes nos indican también el grado de afinidad que tienen los diferentes ligandos con el metal en disolución. A continuación, se muestra de forma general la reacción de formación de un complejo entre un metal (M) y un ligando (L):



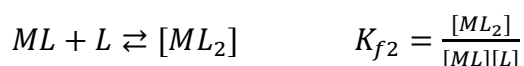
En complejos con ligandos monodentados existen varias etapas previas a la formación del complejo final, por lo que tiene más sentido analizar las constantes globales de la reacción (β_n) en vez de cada una de las etapas por separado (K_f), y así llevar a cabo la comparación de sus estabilidades en disolución.

$$\beta_n = K_1 \times K_2 \times \dots \times K_{fn}$$

Para un primer equilibrio:



Para un segundo equilibrio:



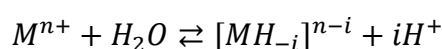
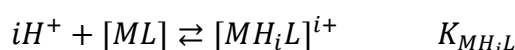
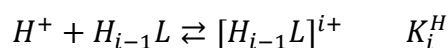
Para el proceso global de la reacción:

$$\beta_2 = K_1 \times K_2 = \frac{[ML]}{[M][L]} \times \frac{[ML_2]}{[ML][L]} = \frac{[ML_2]}{[M][L^2]}$$

Habitualmente, el valor de las constantes de etapa (K_f) va disminuyendo a medida que aumenta el número de etapas (n). Esto es debido a factores estadísticos, estéricos o coulómicos, los cuales justifican la mayor o menor dificultad de coordinación entre el metal y el ligando. Sin embargo, el valor de las sucesivas β_n va a aumentar a medida que aumenta el número de etapas, ya que su valor es acumulativo (a mayor valor de n, mayor será el valor de β_n).

$$K_{f1} > K_{f2} > K_{f3} \dots > K_{fn} \quad \beta_1 < \beta_2 < \beta_3 \dots < \beta_n$$

Es importante mencionar que en la determinación de β_n es importante tener en cuenta los posibles equilibrios de ácido-base en los que se encuentren implicados los ligandos y complejos, tanto aquellos relacionados con los diferentes grados de protonación que estas especies pueden llegar a sufrir, como los asociados a la formación de posibles hidroxocomplejos o la posible hidrólisis del ion libre en disolución:



En el caso de un ligando polidentado quelatante como son los recogidos en el presente trabajo, la complejación se produce en una única etapa y la constante de formación global β_1 se puede relacionar con la energía libre de Gibbs (ΔG), la entalpía (ΔH) y la entropía (ΔS) a través de las siguientes expresiones:

$$\Delta G = -R \times T \times \ln \beta_1 \quad \Delta G = \Delta H - T \times \Delta S$$

Donde,

$$\Delta H - T \times \Delta S = -R \times T \times \ln \beta_1 \quad \ln \beta_1 = \frac{\Delta S}{R} - \frac{\Delta H}{R \times T} \quad \beta_1 = e^{\frac{\Delta S}{R} - \frac{\Delta H}{R \times T}}$$

El valor de ΔG indica el grado de espontaneidad de la reacción llevada a cabo, si es positivo el proceso no será espontáneo y si es negativo si lo será, siendo en este caso la reacción más favorable desde un punto de vista termodinámico. Como se aprecia en la ecuación anterior, el aumento del valor de β_1 se traduce en un aumento de la espontaneidad de la reacción, por lo que esta será más favorable. Su dependencia de la entalpía y de la entropía implica que sea necesario considerar toda una serie de factores que afectarán también al valor de la constante (véase **Tabla 3**).

Tabla 3. Clasificación de los factores que influyen en el valor de las constantes de estabilidad de los complejos según R.T. Meyers.

FACTORES ENTÁLPICOS	FACTORES ENTRÓPICOS
Efecto del campo de los ligandos (EECC)	Efecto quelato
Entalpía de disolución de ligandos	
Cambios de entalpía de ligando libre y coordinado	Cambios de solvatación del complejo
Variación de la fuerza de enlace debido al ion y a los ligandos	
Repulsión estérica entre ion y ligandos	Entropías de disolución de iones y ligandos

Para confirmar la posible utilización de los complejos objeto de estudio como radiofármacos en Medicina Nuclear, y antes de cualquier ensayo clínico, se hace indispensable realizar un estudio termodinámico exhaustivo, que además debería ser completado con un análisis cinético completo que asegure la inercia química en disolución del sistema.

II.4.2. Diseño de radiofármacos de ^{64}Cu .

En el diseño de los radiofármacos basados en iones metálicos es fundamental que los radioisótopos se acumulen selectivamente en la zona que se desea (diana), minimizando las posibles acumulaciones de estos en zonas sanas de nuestro organismo. Habitualmente, la selectividad del radiofármaco suele lograrse anclando una biomolécula a la unidad quelatante que aloja el radioisótopo, de tal forma que este llegue unido a ella a la diana de interés.¹⁸ Así, se puede decir que estructuralmente, un radiofármaco específico está constituido por un radionúclido, un conector, un agente quelatante bifuncional (BFC), y una molécula o biomolécula marcadora que se encarga de que el radionúclido llegue a la zona receptora del tejido u órgano enfermo (véase **Figura 6**).²⁰

La principal función de los BFC es la de asegurar el transporte del radionúclido bloqueando su liberación. Su forma de unión con la molécula biovector es de carácter covalente, pudiendo estar unida a ella de forma directa o a través de un conector.

²⁰ Leyva Ramos, E., Leyva Ramos, S., & Cortés García, C. J. (2013). Agentes quelantes bifuncionales utilizados en la síntesis de radiofármacos. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 44(1), 7-23. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57929946002>

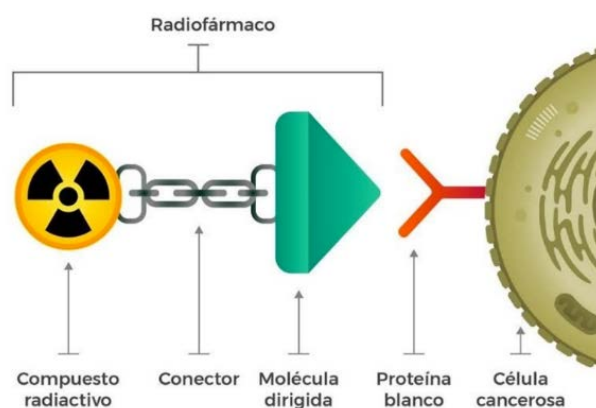


Figura 6. Esquema de un radiofármaco de marcado específico.

En la elección de un BFC depende de varios factores, entre los que destacan el estado de oxidación del metal seleccionado y su naturaleza dura o blanda, pero, además:

- Debe coordinarse fuertemente con el radioisótopo, formando un complejo estable que no provoque modificaciones en el estado de oxidación del metal.

- Debe tener una elevada fortaleza frente a la radiólisis, ya que el empleo de una elevada radiación β^- provocaría la generación de radicales libres que destacan por su gran reactividad. Estos provocarían que el quelato formado se descomponga y el radionúclido se distribuyese de manera inadecuada, provocando un considerable aumento en la toxicidad del radiofármaco.

- Debe tener una elevada hidrofiliicidad, ya que esto favorecería su excreción y eliminación de la sangre.

- En condiciones fisiológicas (pH neutro) debe formar un complejo estable termodinámicamente, para que el radioisótopo permanezca inalterado.

- El quelato metálico debe formarse con una mínima isomerización, es decir, debe hacerlo generando la mínima cantidad de isómeros posibles.

- Su conjugación con la biomolécula requiere unas determinadas condiciones de temperatura, pH y tiempos de reacción.²⁰

Un dato para considerar cuando se diseñan estos agentes basados en cobre es que, a mayor número de N en su estructura, la basicidad de los ligandos aumenta, provocando generalmente una disminución en la estabilización del complejo formado.

Hay varios efectos que producen modificaciones en la estabilidad termodinámica de los complejos formados, como el efecto quelato (etilendiamina), el efecto macrocíclico (cyclam) o el efecto criptato (CB-cyclam). Si se comparan las estabilidades de diferentes complejos formados con ligandos derivados de aminas (véase **Figura 7**), se observa que la presencia estructural de estos efectos provoca un considerable aumento en la estabilidad del complejo, siendo el más estable el complejo formado con CB-cyclam ya que el efecto criptato es el que produce una mayor estabilidad.²¹

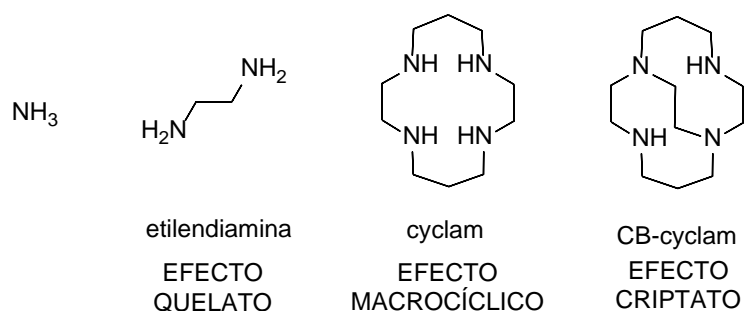


Figura 7. Estructura de diferentes ligandos derivados de aminas empleados para la formación de complejos metálicos.

Los tipos de agentes quelatantes bifuncionales empleados en el diseño de radiofármacos es muy variado. Entre ellos destacan ligandos acíclicos poliaminocarboxílicos como el DTPA, el cual es un quelato derivado del EDTA empleado en lantánidos y metales como Mn(II) e In(III). Este compuesto se emplea para conjugarse con macromoléculas y péptidos (véase **Figura 8**) y su constante de complejación con el Cu(II) es muy elevada ($\log K_{\text{Cu-DTPA}} = 21,4$). Sin embargo, no resulta adecuado para la generación de radiofármacos basados en Cu(II), ya que tanto el DTPA como sus derivados dan lugar a complejos muy lábiles con este ion.

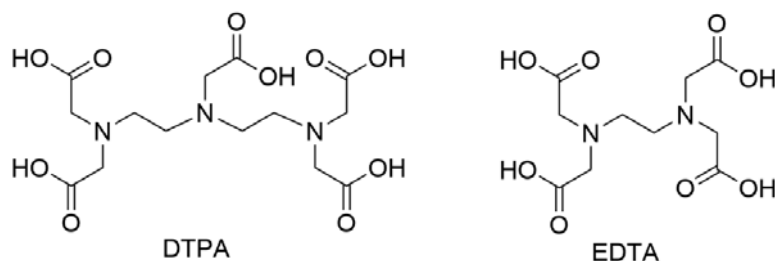


Figura 8. Representación estructural del DTPA y EDTA.

²¹ 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.

Existen también otros sistemas acíclicos basados en ditiocarbamatos, bis-tiosemicarbazonas y bases de Schiff empleados en el diseño de radiofármacos de cobre, si bien su estabilidad es muy inferior a la obtenida con sistemas macrocíclicos.¹⁸ Entre estos últimos destacan el DOTA y sus derivados (véase **Figura 9**) o el TETA, capaces de formar complejos muy estables con el Cu(II) y con unas propiedades adecuadas para su uso en medicina nuclear.

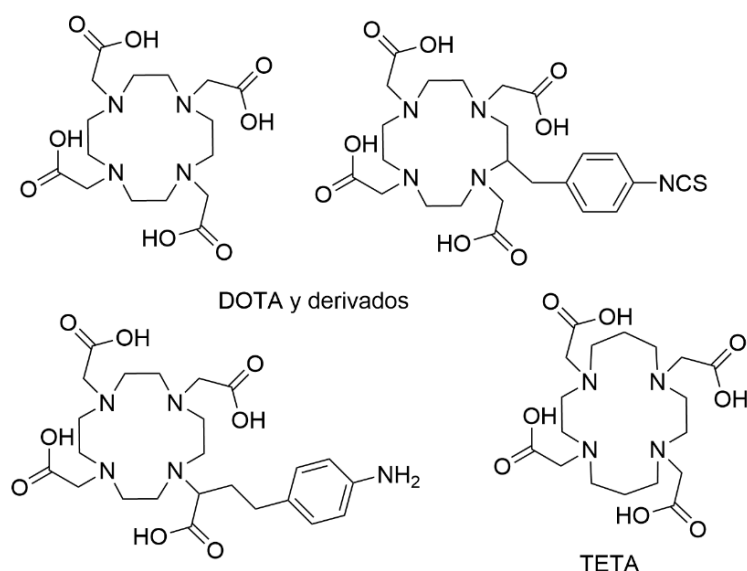


Figura 9. Representación estructural del TETA y del DOTA.

Estos compuestos pueden ser fácilmente funcionalizables para su posterior conjugación con el biovector seleccionado. Además, la modificación en la naturaleza y número de los brazos colgantes presentes permite la modulación de sus propiedades coordinantes, así de propiedades fisicoquímicas. Las propiedades coordinativas del cobre(II), pequeño tamaño y dureza intermedia según Pearson, hace que los complejos derivados de DOTA y TETA gocen de una considerable estabilidad termodinámica. Es frecuente encontrar sistemas con brazos colgantes (picolinatos, carboxilatos, fosfonatos) que provocarán una mejor complejación del ligando con el metal y, por lo tanto, la formación de complejos de mayor estabilidad termodinámica. Además, si se añaden unidades puente en estos derivados del cyclam, se produce un incremento en la rigidez de la estructura, provocando una mayor inercia química. Pero este proceso tiene una gran desventaja, ya que para su formación son necesarias elevadas temperaturas, condiciones experimentales que no es posible emplear cuando en la estructura del radiofármaco están presentes determinadas biomoléculas o biovectores.

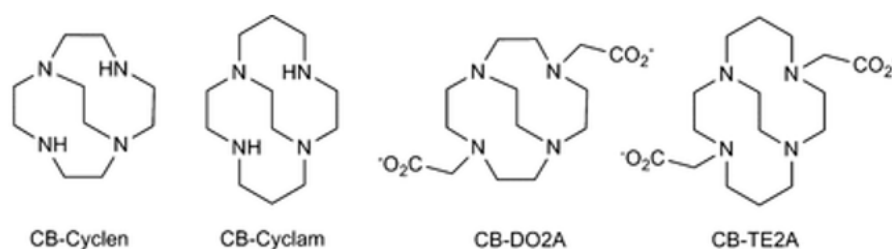


Figura 10. Representación estructural de agentes quelatantes bifuncionales que presentan efecto criptato con puentes de etilo.

Algunos sistemas de este tipo son precursores derivados de CB-cyclen (CB-DO2A) y del CB-cyclam (CB-TE2A), los cuales presentan un puente etilo que aumentará la rigidez del sistema, provocando un aumento en la estabilidad debido al efecto criptato. (véase **Figura 10**). El complejo formado por el catión Cu(II) y el ligando CB-TE2A tiene un tiempo de vida media muy elevado (154 horas) cuando se emplean elevadas temperaturas (90°C) y HCl muy concentrado (5 M). Este elevado tiempo de vida media es debida a la estabilidad termodinámica del complejo gracias al puente etilo que presenta el ligando, y a sus dos brazos con los acetatos. El inconveniente de la utilización de este ligando con efecto criptato es que tarda mucho tiempo en producirse la unión con el metal, es decir, la formación del complejo será muy lenta. Esta lentitud cinética se intentó solucionar mediante el uso de condiciones extremas, ya que a pH= 8 (ligeramente básico) y a una elevada temperatura (85°C), el proceso durará 1 hora.²²

Además de estos, también cabe destacar otros sistemas derivados de la plataforma TACN, la cual forma un complejo de elevada estabilidad con el cobre(II) ($\log K_{\text{Cu(II)-TACN}} = 15,52$). Dicha estabilidad puede aumentar en función de la naturaleza coordinante de los brazos colgantes incorporados al esqueleto macrocíclico, originando un gran número de posibles sistemas como el NOTA y sus análogos NETA o NE3TA (véase **Figura 11**). Estos dos últimos presentan gran afinidad para quelatar con diferentes metales, lo que hace que sea muy interesante su estudio para diagnosticar o tratar enfermedades, en especial los quelatos formados con el NETA, que destacan por su posible uso en radioinmunoterapia.

²² 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.

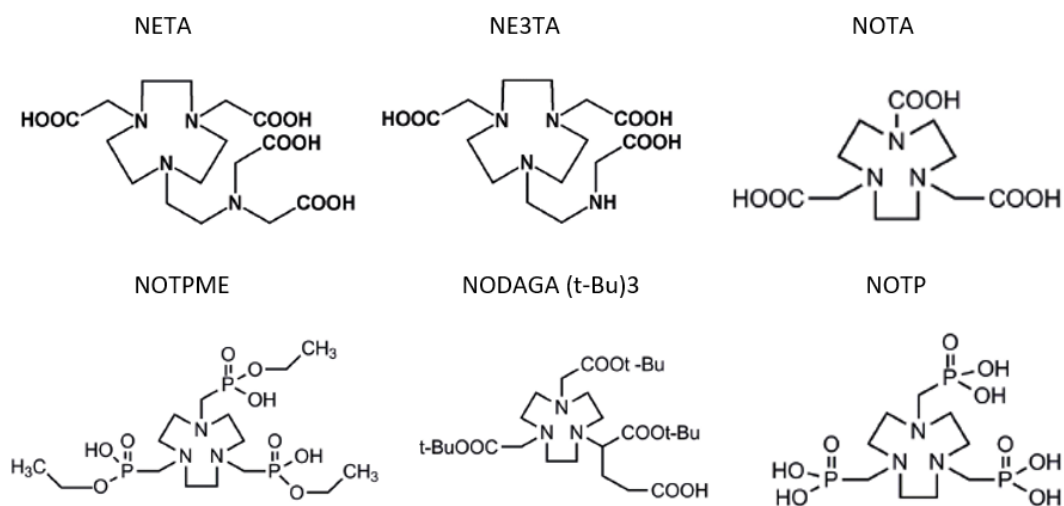


Figura 11. Representación estructural del NOTA y sus derivados.

Gracias a la gran versatilidad de funcionalización que tienen estos compuestos, la plataforma macrocíclica de TACN es muy adecuada para su estudio y utilización como posibles radiofármacos, permitiendo la preparación de una gran variedad de complejos con diferentes geometrías (véase **Figura 12**).

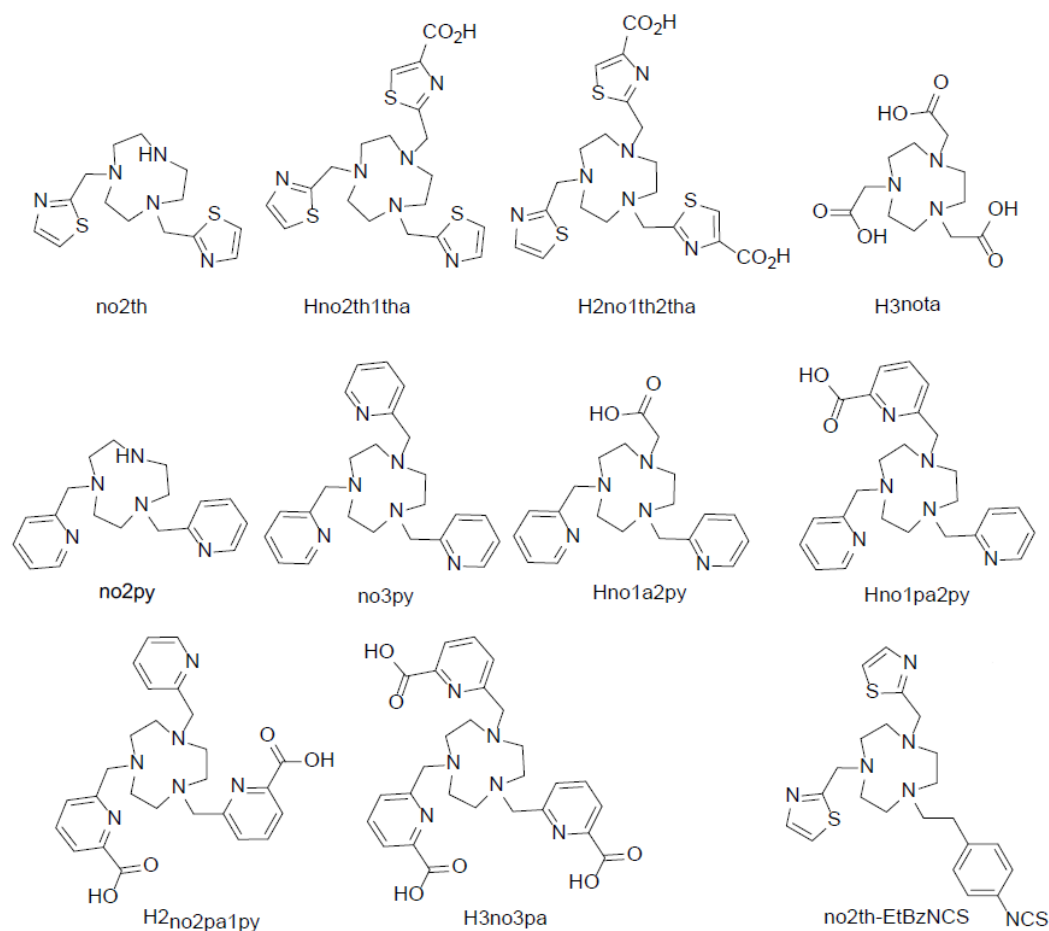


Figura 12. Sistemas macrocíclicos basados en la plataforma de TACN.

En los últimos años se han realizado estudios acerca de la complejación con cobre de varios de los derivados del TACN como el no3py, no2pa y no3pa, los cuales presentaban brazos con grupos picolinato. Tras analizar su estabilidad, se observó que a medida que aumentan los brazos con estos grupos funcionales, se producía un descenso en la selectividad en esos compuestos. El complejo formado entre el cobre (II) y el ligando no3py presenta una geometría octaédrica distorsionada (efecto Jahn-Teller) y una gran estabilidad, dado que el valor de su constante es elevado ($K_{[Cu(no3py)]^{2+}}=10^{27,4}$).

Otro tipo de derivados de TACN a tener en cuenta en el diseño de radiofármacos basados en cobre son el Hno1pa2py y sus derivados, los cuales presentan brazos carboxipicolil y picolil en sus estructuras; o los sistemas derivados de no2th con brazos metiltiazol, en los cuales fue posible analizar incluso la posible implicación en la coordinación de dadores blandos como el azufre en los brazos colgantes manteniendo la plataforma TACN como estructura base.^{23 24} Muchos de estos compuestos presentan características apropiadas para su uso en medicina nuclear, tales como su inercia química frente a medios ácidos, su velocidad a la hora de complejarse con el metal o su estabilidad termodinámica.²⁵

Por último, en lo referido a BFC utilizados en la formación de complejos de cobre con posible uso como radiofármacos destacan los hexaazamacrocíclicos tipo jaula (Sar y sus derivados). Estos ligandos son muy inertes químicamente frente a la demetalación y sus velocidades de complejación con el ion metálico a temperatura ambiente son rápidas (5-10 minutos), lo que hace que sean muy adecuados para su utilización en medicina nuclear. Sin embargo, su uso está imitado por la dificultad de síntesis de los complejos y la baja selectividad en su biodistribución por el organismo asociada al alto carácter lipófilo de estos compuestos. Para tratar de solucionar este problema, se han sintetizado derivados del Sar con grupos que aporten un mayor carácter hidrofílico (ácidos carboxílicos o aminos) como el DiAmSar, BaBaSar o AnAnSar (véase **Figura 13**).²⁶

²³ Rocío Uzal-Varela, Veronique Patinec, Raphaël Tripier, Laura Valencia, Marcelino Maneiro, Moisés Canle, Carlos Platas-Iglesias, David Esteban-Gómez, Emilia Iglesias.

<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2022.111951>

²⁴ 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.

²⁵ Lima, A. P.; Roger, L. M.; Esteban-Gómez, M.; Delgado, D.; Platas-Iglesias, R.; Patinec, C.; Tripier, V. 1,4,7-Triazacyclononane-Based Bifunctional Picolinate Ligands for Efficient Copper Complexation. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2017**, 2017, 2435. <https://doi.org/10.1002/ejic.201700176>.

²⁶ 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 ⁶⁴Cu-Labeled SarAr-Bombesin Analogs in Gastrin-

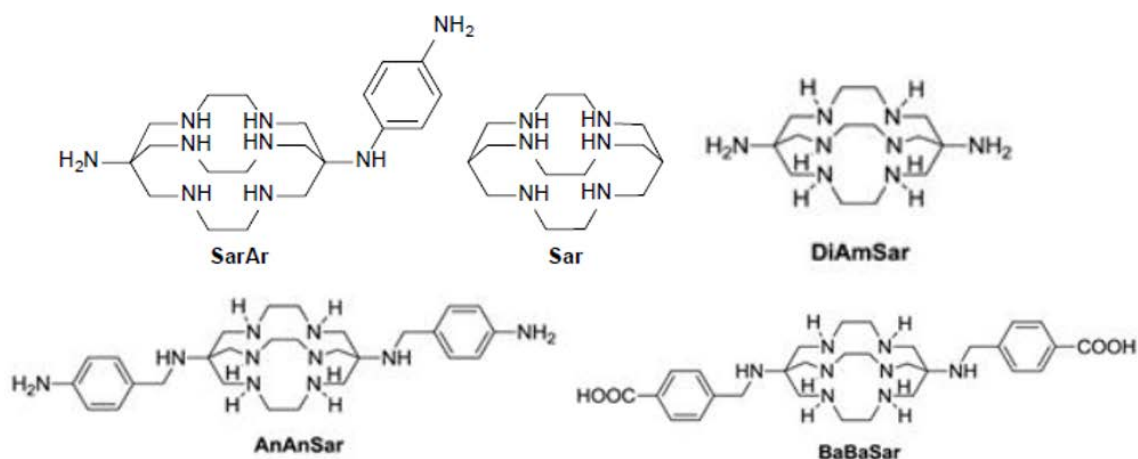


Figura 13. Estructura del Sar y de sus derivados.

En cuanto a los conectores, hay una amplia variedad y su función, además de emplearse como elemento muy importante en la unión de biomoléculas y BFC, es la modificación de la distribución y farmacocinética del radiofármaco. En la **Figura 14** se muestran los tipos de conectores que se emplean actualmente en la preparación de radiofármacos.²⁰

En función del tipo de conector empleado es posible modificar la lipofilicidad, la hidrofiliicidad y la carga neta el radiofármaco, provocando de esta manera cambios en las propiedades y biodistribución del radiofármaco. Así, por ejemplo, si se emplea una cadena alifática sencilla, se producirá un aumento de la lipofilicidad y eliminación hepática; mientras que si se incorporan fragmentos tipo ácido poliaspártico o poliglicina (polipéptidos), se producirá un aumento en la hidrofiliicidad y depuración via renal.

Es importante que la biomolécula marcada esté poco tiempo en el torrente sanguíneo para evitar que los tejidos u órganos sanos estén mucho tiempo expuestos a la radioactividad emitida por el radioisótopo. Sin embargo, este tiempo debe ser suficiente para que el conjugado formado pueda unirse al sitio receptor diana y el radiofármaco se acumule eficientemente en la zona que se desea marcar para mejorar la resolución final de la imagen y poder realizar el diagnóstico adecuadamente. Por ello, es frecuente la incorporación de grupos disulfuro o éster en el espaciador, ya que se ha observado que estos facilitan que los radiofármacos se eliminen de la sangre de nuestro organismo de una forma más rápida mediante el sistema renal.

Releasing Peptide Receptor-Expressing Prostate Cancer. *J. Nucl. Med.* **2011**, 52 (3), 470–477.
<https://doi.org/10.2967/jnumed.110.082826>.

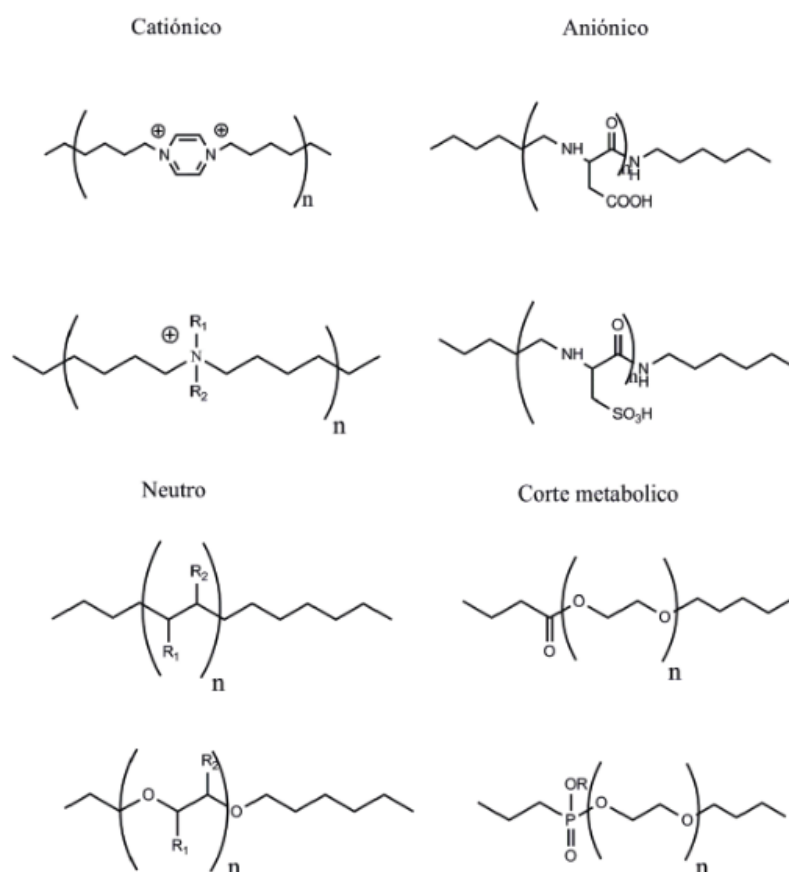


Figura 14. Conectores empleados en la fabricación de radiofármacos.

Existen numerosas técnicas empleadas para realizar este proceso de radiomarcado, entre las cuales destacan la del premarcado y postmarcado (véase **Figura 15**).²⁰ El primer uso de esta primera técnica fue en 1985 para realizar la unión entre el radioisótopo de ^{67}Cu y un anticuerpo monoclonal. Se basa en la formación de un complejo formado por el BFC y el radionúclido, para posteriormente conjugarse con la biomolécula marcada. Por otro lado, la técnica de postmarcado está basada en que el BFC se conjugue con la biomolécula marcadora en un primer momento para posteriormente hacerlo con el radionúclido. Esta técnica destaca porque la actividad biológica de la biomolécula no se va a ver afectada, lo que justifica que sea la técnica más empleada para desarrollar radiofármacos hoy en día.

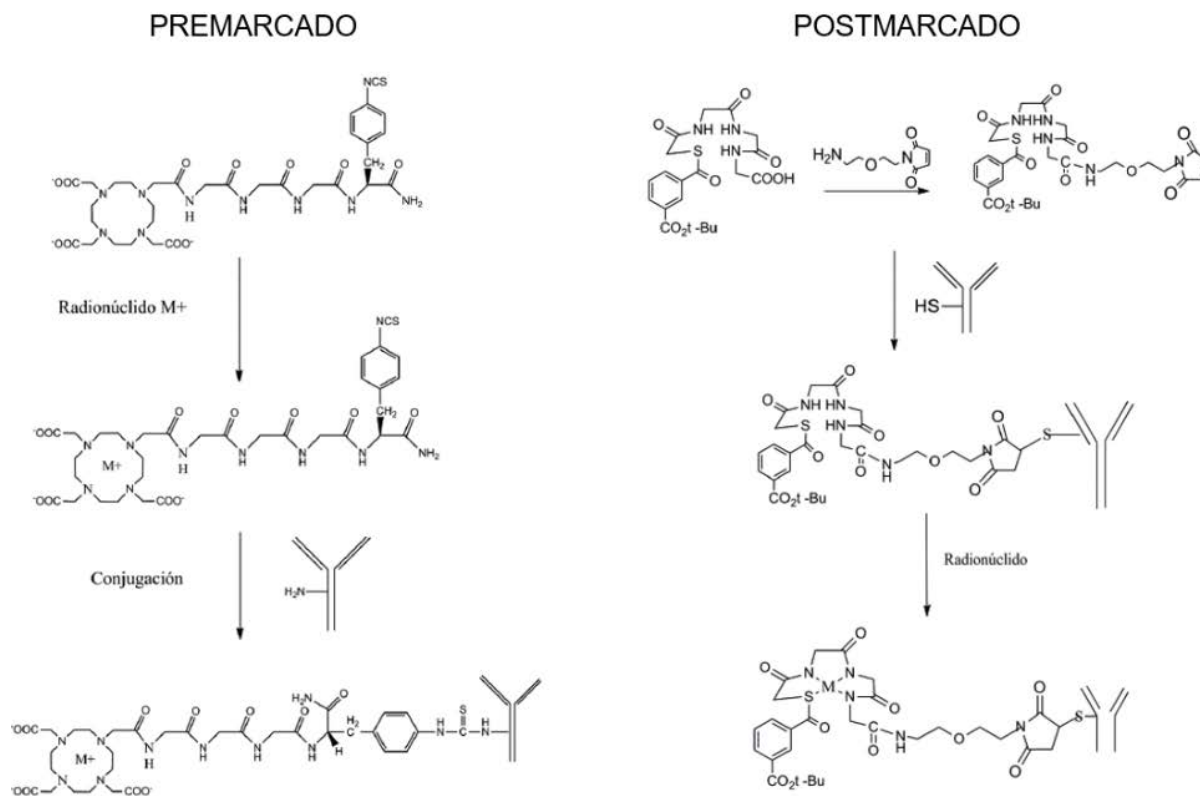


Figura 15. Representación general de la técnica de postmarcado y de premarcado utilizando un agente quelatante bifuncional.

II.4.3 Aplicaciones de los complejos de cobre.

La angiogénesis, esto es, la formación de nuevos vasos sanguíneos, es un proceso necesario para que se produzca un crecimiento del tumor, por lo que si se lograra inhibir sería un gran avance terapéutico en la lucha contra el cáncer. El Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGF) y los factores de transcripción HIF son una serie de factores que afectan considerablemente en la angiogénesis. El Bevacizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado (medicamento) que se une al VEGF para prevenir la formación de nuevos vasos sanguíneos, empleándose para tratar una gran variedad de procesos cancerígenos. La incorporación de este anticuerpo en la estructura de un radiofármaco podría ser una posible vía para favorecer su acumulación en zonas tumorales. Así, se han desarrollado algunos basados en cobre como el ^{64}Cu -DOTA-bevacizumab y el ^{64}Cu -NOTA-bevacizumab. Diferentes investigaciones llevadas a cabo con estos sistemas demostraron que la utilización del NOTA como agente quelatante mejoraba las imágenes obtenidas en

PET respecto a las obtenidas con el derivado de DOTA.²⁷ La menor estabilidad del ⁶⁴Cu-DOTA *in vivo* provoca una mayor acumulación hepática del radioisótopo, disminuyendo su selectividad. Su reemplazo por la subunidad quelatante ⁶⁴Cu-NOTA demostró una gran eficacia en el diagnóstico de xenoinjertos de carcinoma renal con respuesta tumoral de inhibición mTOR.²⁸

Otro biovector ampliamente estudiado es la somatostatina, una hormona polipeptídica neuroreguladora que consta de 14 aminoácidos en su estructura y que está localizada fundamentalmente en el aparato digestivo (tracto digestivo) y en el cerebro (hipotálamo). Desempeña varias funciones como la reducción de la motilidad en determinadas zonas de nuestro organismo o la regulación de hormonas (del crecimiento, gastrointestinales, pancreáticas). Los receptores de somatostatina (SSRs) interactúan con radiofármacos bioconjugados basados en TETA que presentan una gran selectividad en el diagnóstico de patologías tumorales de pulmón y de los sistemas neuroendocrino y nervioso central. Existen también otros biovectores análogos a la somatostatina como son el OC o el γ 3-TATE, empleados en la síntesis de radiofármacos basados en Cu(II) para la obtención de imágenes PET de tumores neuroendócrinos. Diferentes ensayos farmacocinéticos llevados a cabo con ⁶⁴Cu-TETA-OC han demostrado que, además de cumplir con las condiciones ya mencionadas anteriormente para poder ser utilizado como radiofármaco, posee una rápida eliminación de la sangre vía renal en un porcentaje aceptable, siendo capaz de detectar lesiones mediante PET con una buena sensibilidad.²⁹

²⁷ Kim, H., Koo, H. J., Ahn, J., Kim, J. Y., Choi, J. Y., Lee, K. H., Kim, B. T., & Choe, Y. S. (2020). Synthesis and characterization of ⁶⁴Cu- and Cy5.5-labeled tetraiodothyroacetic acid derivatives for tumor angiogenesis imaging. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 28(1), 115212. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.115212>

²⁸ Chang, A. J., Sohn, R., Lu, Z. H., Arbeit, J. M., & Lapi, S. E. (2013). Detection of rapalog-mediated therapeutic response in renal cancer xenografts using ⁶⁴Cu-bevacizumab immunoPET. *PLoS one*, 8(3), e58949. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058949>

²⁹ Anderson, C. J., Dehdashti, F., Cutler, P. D., Schwarz, S. W., Laforest, R., Bass, L. A., Lewis, J. S., & McCarthy, D. W. (2001). ⁶⁴Cu-TETA-octreotide as a PET imaging agent for patients with neuroendocrine tumors. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, 42(2), 213–221.

III. OBJETIVO

El objetivo fundamental de este Trabajo de Fin de Grado ha sido la realización de un estudio termodinámico de tres complejos de Cu(II), para determinar su estabilidad termodinámica y analizar como esta se ve afectada en función de factores estructurales propios de los ligandos. Los ligandos precursores, que se diferencian en el tipo de espaciador que presenta cada uno de ellos, son derivados del ligando acíclico H₂DEDPA (véase **Figura 16**). Los tres ligandos fueron sintetizados previamente por miembros del grupo de investigación IMMO-TEP.

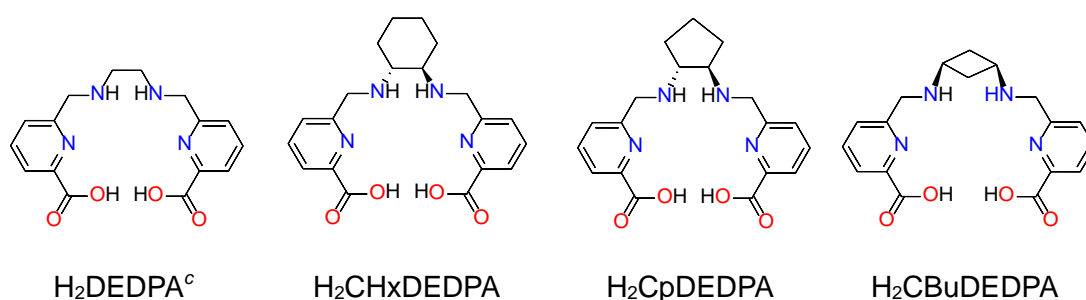


Figura 16. Estructura de los ligandos derivados del H₂DEDPA.

El complejo [Cu(CpDEDPA)] fue sintetizado y caracterizado mediante espectrometría de masas (MS-ESI⁺), espectroscopía infrarroja (IR) y difracción de rayos X como parte del trabajo de este TFG en los laboratorios del CICA, siguiendo el procedimiento descrito en el apartado **IV.2** de esta memoria. Las constantes de protonación de los tres ligandos se determinaron por potenciometría, mientras que las constantes de estabilidad de los complejos fueron determinadas de mediante espectroscopía UV-Vis en el laboratorio de Química-Física 1 en la Facultad de Ciencias.

Con los datos obtenidos en este trabajo, los datos bibliográficos y los aportados por el grupo de investigación en el que fue realizado el presente trabajo, ha sido posible llevar a cabo este estudio termodinámico comparativo para determinar la selectividad de los tres sistemas quelatantes frente al ion Cu(II) y analizar si son posibles candidatos para su utilización en generación de radiofármacos basados en cobre(II) para su uso en Medicina Nuclear.

IV.PARTE EXPERIMENTAL

IV.1. Cronograma.

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

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

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




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





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

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

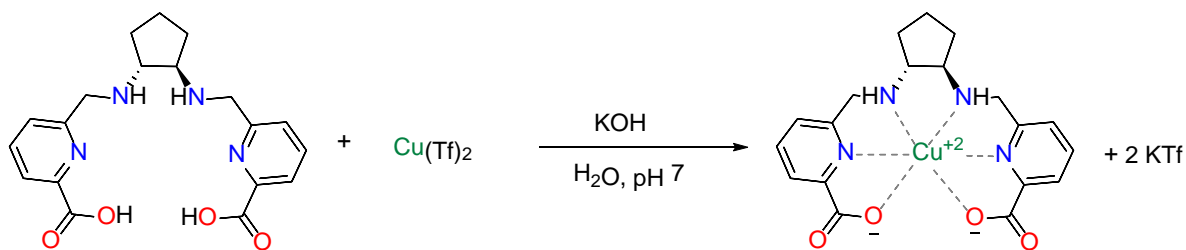
MAYO						
L	M	Mi	J	V	S	D
	1	2	3	4	5	6
7	8	9	10	11	12	13
14	15	16	17	18	19	20
21	22	23	24	25	26	27
28	29	30				

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

	Revisión bibliográfica.
	Análisis matemático y estadístico de los datos.
	Elaboración de la introducción

	Seminarios de resolución de dudas
	Tutorías de supervisión y orientación
	Elaboración de la memoria
	Festivos

IV.2. Síntesis de [Cu(CpDEDPA)].



El complejo [Cu(CpDEDPA)] se preparó a partir del ligando H₂CpDEDPA facilitado por el grupo de investigación en el cual se realizó el presente trabajo.

Se disolvieron 0,0592 g (0,0960 mmoles) de H₂CpDEDPA·2TFA·H₂O (sólido amarillento) en 7 mL de H₂O en un matraz de fondo redondo de 25 mL, registrándose un valor de pH inicial de 2,1. Sobre esta disolución se añadieron 0,0470 g (0,1425 mmoles) de Cu(Tf)₂ (sólido azul), apreciándose un cambio rápido de coloración (azulada). El valor del pH tras la adición de la sal de cobre(II) disminuye ligeramente hasta un valor de 1,3 (valor fuera del intervalo de medición del pH-metro empleado). Con el fin de promover la complejación del ion Cu(II) se realizaron adiciones sucesivas de 10 µL de una disolución concentrada de potasa hasta alcanzar un valor de pH de 8,7. Una vez alcanzado este valor se observa la aparición de turbidez en la disolución debida a la precipitación del exceso de ion Cu(II) como hidróxido. Para eliminarlo del medio, se sometió la disolución a una centrifugación durante 25 minutos a 6000 revoluciones por minuto. El sobrenadante fue retirado con ayuda de una jeringuilla y filtrado a través de un filtro de celulosa. La disolución azulada obtenida se dejó reposar en un cristizador en ausencia de luz, apreciándose la formación de cristales azul claro, por lo que se decidió liofilizar la disolución y proceder a posterior purificación del residuo obtenido mediante una cromatografía líquida de medio rendimiento (MPLC) en fase inversa. Se empleó una columna C16AQ con H₂O/ACN como disolventes, con un detector UV (entre 200-400 nm para poder ver todo el espectro UV). El seguimiento del proceso mediante espectrometría de masas ESI⁺ permitió confirmar que el complejo de interés [Cu(CpDEDPA)] sale en torno a 46% de acetonitrilo, por lo que se recogieron las fracciones correspondientes a esta proporción de mezcla y se concentraron juntas en un rotavapor. Antes de llegar a sequedad, se trasvasó el contenido del balón a un vial y la disolución acuosa resultante se liofilizó. Se obtuvieron 0,0199 g (48% rendimiento) de un sólido azul que fue caracterizado mediante espectrometría MS-ESI⁺ y espectroscopia infrarroja (véanse **Figuras A1** y **A2**, ANEXO espectros).

Se obtuvieron monocristales del compuesto aptos para su estudio mediante difracción de rayos X por lenta difusión de acetona sobre una disolución acuosa concentrada del complejo.

IV.3. Técnicas de caracterización

Espectrometría de Masas (MS-ESI⁺)

La caracterización mediante espectrometría de masas fue realizada en el Centro Interdisciplinar de Química y Biología (CICA) de la Universidad de la Coruña utilizando un espectrómetro de masas de trampa iónica (Amazon Speed ETD)-Bruker, empleándose la técnica de ionización por *electrospray* en modo positivo (MS-ESI⁺).

Espectroscopia Electrónica de absorción (UV-VIS)

Para la realización de los espectros de absorción UV-VIS se empleó un espectrofotómetro de doble haz Uvikon-XS (Bio-Tek Instruments), en el laboratorio de investigación de Química-Física de la Facultad de Ciencias de la Coruña. Para ello, se utilizaron a 25°C cubetas de cuarzo de 1 cm de paso óptico en todas las mediciones realizadas.

Difracción de rayos X

Los monocristales del complejo [Cu(CpDEDPA)] fueron analizados en la Universidad de Vigo en un difractor Bruker D8 Venture con un detector CMOS Photon 100 y radiación Mo-K α ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) generada por una fuente de microfocalización de brillo alto Incoatec equipada con óptica multicapa Incoatec Helios.

Cromatografía líquida de medio rendimiento (MPLC)

Esta técnica se utilizó para la purificación del compuesto, empleando una columna C16AQ y trabajando en fase inversa. Este proceso de purificación fue realizado en el centro de investigaciones científicas avanzadas (CICA) de la Universidad de la Coruña.

Espectroscopia Infrarroja (IR)

El espectro de IR fue realizado mediante reflectancia total atenuada (ATR) en el Centro Interdisciplinar de Química y Biología (CICA) de la Universidad de la Coruña empleándose un espectrofotómetro Nicolet510 que trabaja entre 500-4000 cm⁻¹.

IV.4. Determinación de constantes de protonación y estabilidad.

Se determinaron las constantes de protonación de los tres ligandos análogos derivados de H₂DEDPA mediante la técnica potenciométrica, mientras que para la determinación de las constantes de estabilidad de los complejos de Cu(II) se usó el método espectrofotométrico. Todos los experimentos se realizaron a 25°C y con la fuerza iónica constante ajustada a $I = 1$ M, añadiendo como electrólito inerte, NaCl.

Valoraciones potenciométricas

Para la determinación de las constantes de protonación se han llevado a cabo una serie de valoraciones potenciométricas empleando una celda de doble pared, termostatazada a 25°C. En la realización de las medidas, se estuvo burbujeando N₂ en la superficie de las disoluciones de trabajo para evitar la posible carbonatación de estas. La disolución se homogeneizaba con agitador magnético.

El proceso está automatizado, estando conectados tanto la bureta como el pH-metro a un ordenador desde el que se ordenan las adiciones de valorante y se recoge los datos de emf (fuerza electromotriz) del pH metro. La valoración potenciométrica se realizó con una bureta automática (Crison microBu 2030) empleando una jeringuilla de 2,5 mL. Los valores obtenidos del potencial fueron registrados en un pH-metro (Crison micropH 2000), el cual está conectado a dos electrodos: uno de vidrio (Radiometer pHG211) y uno de referencia (Radiometer REF201), tal y como se muestra en el montaje realizado para el experimento (véase **Figura 17**).



Figura 17. Montaje de la valoración potenciométrica.

Los datos de las valoraciones potenciométricas se introducen en el Hyperquad, un programa de ajuste para constantes muy utilizado en bibliografía. Al programa es necesario suministrarle los datos de pendiente, p , y potencial formal, E^0 , del electrodo utilizado, que se determinan en un calibrado. Dado que el electrodo responde a la ec de Nernst la fuerza electromotriz, E , viene dada por,

$$E = E^0 + p \log[H^+]$$

Al realizar una valoración de ácido fuerte-base fuerte, ambas de concentración conocida y con la fuerza iónica ajustada, se conoce la concentración de protón en cada punto de la valoración y por tanto un ajuste lineal permite determinar E^0 y p .

Valoraciones espectrofotométricas

Se pudo comprobar que los complejos de Cu(II) de CH_xDEDPA²⁻ disociaban a valores de pH relativamente bajos, y si bien esto es indicativo de una elevada estabilidad, es un factor que limita la determinación de las constantes de estabilidad por potenciometría, por lo que se tuvo que utilizar la técnica espectrofotométrica. La determinación de constantes de estabilidad se determina frecuentemente con fuerza iónica $I = 0,15$ M de NaCl. En este caso con concentración 0,15 M de ácido se encontró que los complejos no estaban disociados y fue necesario bajar más el pH, por lo que la fuerza iónica se aumentó a $I = 1$ M.

Las valoraciones espectrofotométricas de los complejos de Cu(II) se realizan añadiendo en las cubetas distintas concentraciones de ácido HCl, mientras que la concentración de complejo se mantiene constante (la fuerza iónica iónica $I = 1$ M se alcanza añadiendo la cantidad necesaria de NaCl). Al aumentar la concentración de protón se consigue disociar el complejo. Los espectros se obtuvieron con un Uvikon-XS (Bio-Tek Instruments) de doble haz con celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico. Estos datos se introducen en el programa pHab, de la suite Hyperquad, que determina la constante de estabilidad y permite obtener los espectros de las especies implicadas.

V.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V.1. Estudio estructural en estado sólido

El complejo [Cu(CpDEDPA)] se preparó a partir del ligando H₂CpDEDPA facilitado por el grupo de investigación en el cual se realizó el presente trabajo, siguiendo el protocolo de síntesis recogido en la parte experimental. El rendimiento obtenido tras la purificación mediante cromatografía líquida de medio rendimiento (MPLC) empleando una columna C16AQ fue de un 50%. El análisis mediante MS-ESI⁺ confirmó la formación del complejo al apreciarse en el espectro un pico a m/z 418,07, correspondiente al complejo monoprotonado [Cu(CpHDEDPA)]⁺ de fórmula molecular [C₁₈H₁₉CuN₄O₄]⁺. El desplazamiento de las señales en los espectros de IR asociadas a las tensiones C=O y C=N en el complejo (1624 y 1591 cm⁻¹), respecto a su posición en el ligando libre (1667 y 1577 cm⁻¹) confirman igualmente la coordinación del centro metálico.³⁰

Se obtuvieron monocristales del compuesto aptos para su estudio mediante difracción de rayos X por lenta difusión de acetona sobre una disolución acuosa concentrada del complejo. La red cristalina presenta al complejo neutro e incluye cuatro moléculas de agua por unidad asimétrica. El complejo presenta una simetría C₂ ligeramente distorsionada en la que el eje binario de simetría bisecta la unidad de ciprotilamina y contiene al ion metálico (véase **Figura 18b**).

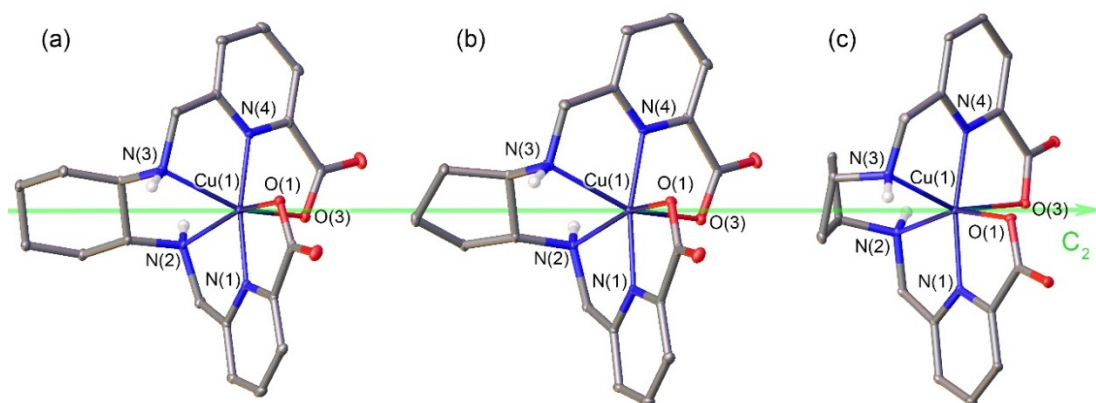


Figura 18. Estructuras de rayos X de: **(a)** [Cu(CH_xDEDPA)]·(CH₃)₂CO·H₂O, **(b)** [Cu(CpDEDPA)]·4H₂O y **(c)** [Cu(CBuDEDPA)] con elipsoides representados al 30% de probabilidad. Las moléculas de disolvente y los átomos de H unidos a átomos de C han sido omitidos en la representación para facilitar la visualización de las estructuras.

El entorno de coordinación del metal se puede describir como octaédrico distorsionado, en el que el centro metálico está coordinado a los dos grupos carboxilato y a los cuatro átomos de nitrógeno del ligando. Las unidades de piridilo están dispuestas en una posición

³⁰ Hatice Vural. A novel copper (II) complex containing pyrimidine-4-carboxylic acid: Synthesis, crystal structure, DFT studies, and molecular docking, Journal of Molecular Structure, Volume 1265, 2022, 133390, ISSN 0022-2860. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.133390>.

trans, en la que la orientación relativa de los planos que contienen a ambas subunidades es cercana a la ortogonalidad $81,9^\circ$, en lo que se denomina una conformación *twist-wrap*.³¹ Las distancias y ángulos de enlace de la esfera de coordinación del ion Cu(II) están recogidas en la **Tabla 4** y **Tabla 5**, respectivamente. En el poliedro de coordinación es posible observar cómo los valores de los ángulos entre átomos dadores adyacentes oscilan entre $75,9$ [N(3)-Cu(1)-O(3)] y $112,2^\circ$ [N(1)-Cu(1)-N(3)], mientras que los valores correspondientes a los ángulos que relacionan las posiciones *trans*, varían entre $153,7$ [N(2)-Cu(1)-O(3)] y $168,7^\circ$ [N(1)-Cu(1)-N(4)], ambos intervalos con desviaciones importantes respecto a los valores ideales de 90 y 180° .

Con anterioridad a este estudio, miembros del equipo de investigación en el que he realizado el presente trabajo habían aislado y caracterizado mediante difracción de rayos X las estructuras de los complejos de Cu(II) derivados de $H_2CHxDEDPA$ y $H_2CBuDEDPA$. Este hecho permitió realizar un estudio estructural comparativo de los tres complejos, con el objetivo de analizar tanto el efecto de la naturaleza del espaciador sobre la capacidad coordinante de los ligandos, como entender el grado de distorsión que estos podrían llegar a inducir en el poliedro de coordinación del Cu(II). Al igual que sucede en el complejo derivado de $H_2CpDEDPA$, en los complejos derivados del espaciador ciclohexilo y ciclobutilo, [Cu(CHxDEDPA)] y [Cu(CBuDEDPA)] el centro metálico se encuentra coordinado a los seis átomos dadores presentes en los ligandos, generando un entorno octaédrico distorsionado en una conformación *twist-wrap* (véase **Figura 18**). A la vista de los ángulos experimentales entre dadores situados en posiciones *trans*, (véase **Tabla 5**), con valores de $149,4$ a $168,3^\circ$ para estos complejos, se puede decir que en ellos también existe una fuerte distorsión del entorno octaédrico.

Este hecho está reforzado por el valor de las distancias de enlace en el entorno de coordinación, ya que en los tres complejos estas difieren significativamente para dadores que implican el mismo tipo de átomo, de acuerdo con una fuerte distorsión octaédrica (véase **Tabla 4**). Este efecto es particularmente pronunciado en las distancias Cu(1)-O(1) y Cu(1)-O(3), las cuales difieren en $0,181$, $0,224$ y $0,179$ Å para [Cu(CHxDEDPA)], [Cu(CpDEDPA)] y [Cu(CBuDEDPA)], respectivamente. En los tres complejos es posible observar dos conjuntos de distancias de enlace Cu(II)dador, el primero de ellos engloba a aquellas distancias de enlace más cortas que se corresponderían con los átomos dadores situados en el plano ecuatorial del poliedro N(1), N(2), N(4) y O(1); mientras que el segundo

³¹ R. Ferreirós-Martínez, D. Esteban-Gómez, C. Platas-Iglesias, A. De Blas and T. Rodríguez-Blas, Dalton Trans., 2008, 5754.

estaría conformado por las distancias de enlace mayores, asignadas a los dadores situados en las posiciones axiales, N(3) y O(-3). Esta elongación tetragonal del poliedro estaría asociada a la existencia de un efecto Jahn-Teller típico en complejos octaédricos de Cu(II), más pronunciada en este caso en el complejo derivado de H₂CpDEDPA a la vista de sus distancias de enlace.^{32,33} Una distorsión similar de la esfera de coordinación había sido observada anteriormente en el complejo [Cu(Dedpa)] con espaciador etilo y en otros complejos análogos N-alquilados derivados de H₂CH_xDEDPA.^{34,35}

Tabla 4. Distancias de enlace en los entornos de coordinación del ion Cu(II) determinadas mediante difracción de rayos X y valores de parámetro de forma calculados mediante el software SHAPE para coordinación octaédrica S(OC-6) y prismática trigonal S(TRP-6).

	H ₂ CH _x DEDPA	H ₂ CpDEDPA	H ₂ CBuDEDPA
Cu(1)-N(1)	1,9283(17)	1,916(2)	1,944(2)
Cu(1)-N(2)	2,1429(19)	2,122(2)	2,156(2)
Cu(1)-N(3)	2,2651(19)	2,303(3)	2,258(2)
Cu(1)-N(4)	1,9748(17)	1,962(2)	1,993(2)
Cu(1)-O(1)	2,0961(15)	2,079(2)	2,1102(18)
Cu(1)-O(3)	2,2771(15)	2,294(2)	2,2887(18)
S(OC-6)	4,786	4,629	3,541
S(TRP-6)	6,243	6,375	9,581

Tabla 5. Ángulos de enlace (°) en los entornos de coordinación del ion Cu(II) determinadas mediante difracción de rayos X.

		[Cu(CH _x DEDPA)]	[Cu(CpDEDPA)]	[Cu(CBuDEDPA)]
Dadores en <i>cis</i> plano ecuatorial (valor ideal 90°)	N(1)-Cu(1)-N(2)	80,1	80,1	78,1
	N(2)-Cu(1)-N(4)	105,2	107,2	113,2
	N(4)-Cu(1)-O(1)	95,4	93,7	93,1
	O(1)-Cu(1)-N(1)	79,5	80,9	77,1
Dadores en <i>cis</i> ecuatorial-axial (valor ideal 90°)	N(1)-Cu(1)-O(3)	94,2	93,5	96,7
	N(1)-Cu(1)-N(3)	112,2	113,0	105,6
	N(2)-Cu(1)-O(3)	92,1	87,5	93,1
	N(2)-Cu(1)-N(3)	91,7	83,5	80,7
	N(4)-Cu(1)-O(3)	75,9	77,8	80,1
	N(4)-Cu(1)-N(3)	78,0	77,6	79,9
	O(1)-Cu(1)-O(3)	92,7	106,2	107,2
O(1)-Cu(1)-N(3)	93,0	92,5	89,3	
Dadores en posición axial (valor ideal 180°)	O(1)-Cu(1)-N(2)	159,3	157,2	149,4
	N(4)-Cu(1)-N(1)	168,7	168,1	168,3
	O(3)-Cu(1)-N(3)	153,7	149,8	154,6

³² Ammeter, J.; Büergi, H. B.; Gamp, E.; Meyer-Sandrin, V.; Jensen, W. P. Static and Dynamic Jahn-Teller Distortions in CuN₆ Complexes. Crystal Structures and EPR Spectra of Complexes between Copper(II) and Rigid, Tridentate Cis, Cis-1,3,5-Triaminocyclohexane (Tach: Cu(Tach)₂(ClO₄)₂, Cu(Tach)₂(NO₃)₂. Crystal Structure of Ni(Tach)₂(NO₃)₂. *Inorg. Chem.* **1979**, *18* (3), 733–750. <https://doi.org/10.1021/ic50193a042>.

³³ Deeth, R. J.; Hitchman, M. A. Factors Influencing Jahn-Teller Distortions in Six-Coordinate Copper(II) and Low-Spin Nickel(II) Complexes. *Inorg. Chem.* **1986**, *25* (8), 1225–1233. <https://doi.org/10.1021/ic00228a031>.

³⁴ Ramogida, C. F.; Boros, E.; Patrick, B. O.; Zeisler, S. K.; Kumlin, J.; Adam, M. J.; Schaffer, P.; Orvig, C. Evaluation of H₂CH_xdedpa, H₂Dedpa- and H₂CH_xDEDPA-N,N'-Propyl-2-NI Ligands for ⁶⁴Cu(II) Radiopharmaceuticals. *Dalton Trans.* **2016**, *45* (33), 13082–13090. <https://doi.org/10.1039/C6DT00932H>.

³⁵ Boros, E.; Cawthray, J. F.; Ferreira, C. L.; Patrick, B. O.; Adam, M. J.; Orvig, C. Evaluation of the H₂DEDPA Scaffold and Its CRGDyK Conjugates for Labeling with ⁶⁴Cu. *Inorg. Chem.* **2012**, *51* (11), 6279–6284. <https://doi.org/10.1021/ic300482x>.

Para analizar en mayor detalle el grado de distorsión en el entorno de coordinación del ion Cu(II), se realizó un estudio estructural, determinando los parámetros de forma en los tres complejos para diferentes poliedros regulares de índice de coordinación 6, mediante el uso del programa de software SHAPE.^{36, 37, 38} El resultado de este análisis confirma la coordinación octaédrica en los tres complejos, con valores del parámetro de forma [S(OC-6)] siempre inferiores a los obtenidos para una geometría prismática trigonal [S(TRP-6)]. El menor grado de distorsión se observa en el complejo de [Cu(CBuDEDPA)], presentando [Cu(CHxDEDPA)] y [Cu(CpDEDPA)] un grado de distorsión muy similar (valor ideal para una coordinación octaédrica regular [S(OC-6)] = 0). Los datos confirman la fuerte distorsión del poliedro octaédrico anteriormente descrita en base a los datos experimentales de distancias y ángulos de enlace del poliedro de coordinación. Las diferencias en el grado de distorsión están sin duda relacionadas con la naturaleza del espaciador presente en el esqueleto orgánico de cada ligando, el cual impone diferentes restricciones estructurales a la hora de envolver el centro metálico tras la coordinación. Si se analizan las desviaciones de los ángulos de mordida N(3)-Cu(1)-N(2) en los tres espaciadores y el ángulo diedro N-C-C-N en los derivados de ciclohexilo y ciclopentilo (véase **Figura 19**), todo parece indicar que el espaciador ciclobutilo induce una menor distorsión del poliedro, con un valor de 91,7° muy próximo al ideal de 90°. Por otro lado, si se compara la tensión estructural del esqueleto orgánico de los ligandos, antes y después de la coordinación al centro metálico, es posible apreciar una menor variación del ángulo diedro N-C-C-N en el espaciador ciclohexilo, con una diferencia de 0,1° frente a los 7,5° observados en el derivado de ciclopentilo (ambas calculadas respecto a los valores ideales en las diaminas libres, 60,4 y 72,5°, respectivamente). Esto se traduce en la existencia de una menor tensión estructural en el esqueleto orgánico del espaciador ciclohexilo tras la coordinación al ion Cu²⁺. Para el espaciador ciclobutilo, a la hora de analizar la posible tensión estructural del esqueleto rígido, resulta interesante comparar la variación en la distancia interatómica entre los donadores amina, siendo posible observar una disminución de 1,253 Å tras la coordinación (3,167 Å) que implicaría un aumento de la tensión en el ciclo (véase **Figura 19**). De hecho, la coordinación se produce una inversión del pliegue del anillo de ciclobutilo, desplazándose

³⁶ Alvarez, S.; Avnir, D.; Llundell, M.; Pinsky, M. Continuous Symmetry Maps and Shape Classification. The Case of Six-Coordinated Metal Compounds Electronic Supplementary Information (ESI) Available: Tables of CSD Refcodes, Structural Parameters and Symmetry Measures for the Studied Compounds. See <http://www.rsc.org/suppdata/Nj/B2/B202096n/>. *New J. Chem.* **2002**, 26 (8), 996–1009. <https://doi.org/10.1039/b200641n>.

³⁷ Alvarez, S. Polyhedra in (Inorganic) Chemistry. *Dalton Trans.* **2005**, No. 13, 2209. <https://doi.org/10.1039/b503582c>.

³⁸ Pinsky, M.; Avnir, D. Continuous Symmetry Measures. 5. The Classical Polyhedra. *Inorg. Chem.* **1998**, 37 (21), 5575–5582. <https://doi.org/10.1021/ic9804925>.

los carbonos no funcionalizados 0,536 Å respecto a su posición en la amina libre en relación con carbonos funcionalizados. Cabe esperar que ambos factores estructurales afecten decisivamente a la estabilidad termodinámica de los complejos resultantes. Por un lado, una mayor tensión estructural en el espaciador afectaría negativamente desde el punto de vista entálpico, mientras que una mayor distorsión del octaedro regular, lo haría favorablemente al permitir una mayor distorsión por efecto Jahn-Teller, con la consecuente liberación de una mayor EECC. Así, será necesario analizar conjuntamente ambas contribuciones a la hora de justificar la tendencia observada en los valores de las constantes de estabilidad determinadas experimentalmente para los tres complejos.

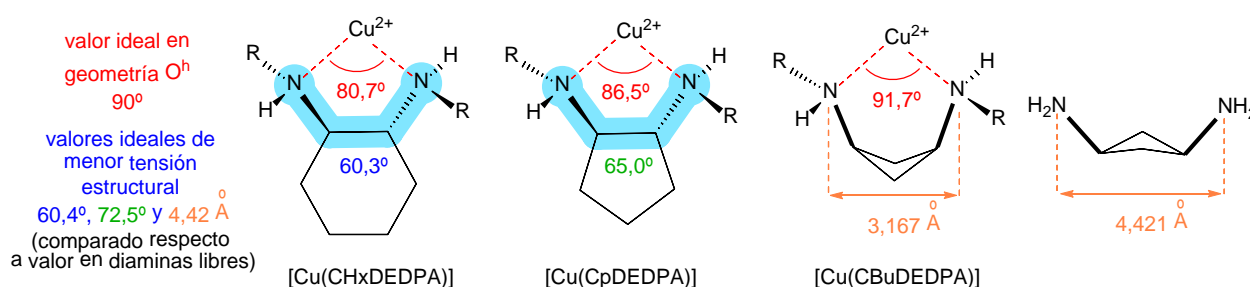


Figura 19. Valores del diferente ángulo de mordida de los espaciadores empleados en el diseño de los ligandos y de los ángulos diedros N-C-C-N observados en los complejos [Cu(CHxDEDPA)], [Cu(CpDEDPA)] y [Cu(CBuDEDPA)].

La existencia de fuentes de quiralidad en la estructura de los ligandos permite definir diferentes diastereoisómeros para una conformación *twist-wrap*, atendiendo a: (i) la organización espacial del anillo quelato que implica a ambos dadores nitrógeno amina tras la coordinación al centro metálico (conformaciones λ/δ , **Figura 20**); (ii) los centros estereogénicos presentes en el esqueleto del ligando (átomos de carbono) (configuraciones R/S, **Figura 21**) y (iii) los centros estereogénicos originados tras la coordinación de los dadores nitrógeno amina (configuraciones R/S), que están directamente relacionados con la orientación espacial de los brazos picolinato, conformaciones Λ y Δ (que se corresponden con las combinaciones RR y SS de los nitrógenos amina, respectivamente) (**Figura 22**).

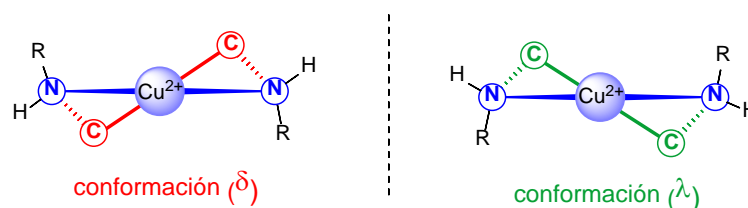


Figura 20. Fuente de quiralidad derivada de la conformación adoptada por los anillos quelatos en [Cu(CHxDEDPA)] y [Cu(CpDEDPA)] tras la coordinación de los grupos amina secundaria al centro metálico (anillo quelato está orientado hacia atrás).

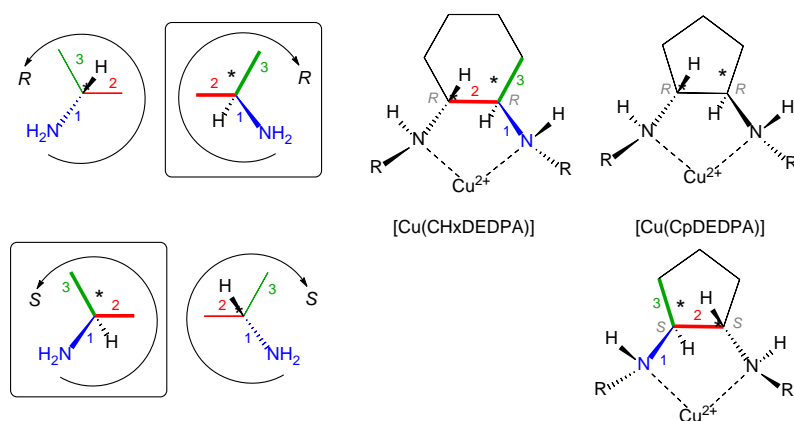


Figura 21. Fuente de quiralidad derivada de la configuración de los carbonos estereogénicos presentes en el esqueleto de las aminas precursoras en los complejos $[\text{Cu}(\text{CHxDEDPA})]$ y $[\text{Cu}(\text{CpDEDPA})]$. Se representan únicamente las conformaciones de menor energía tras la coordinación del ion metálico $[\Lambda(\lambda)\text{-}RR]$ y $[\Delta(\delta)\text{-}SS]$, resaltando en un recuadro aquellas representaciones que facilitan la asignación al presentar el átomo de hidrógeno orientado hacia atrás.

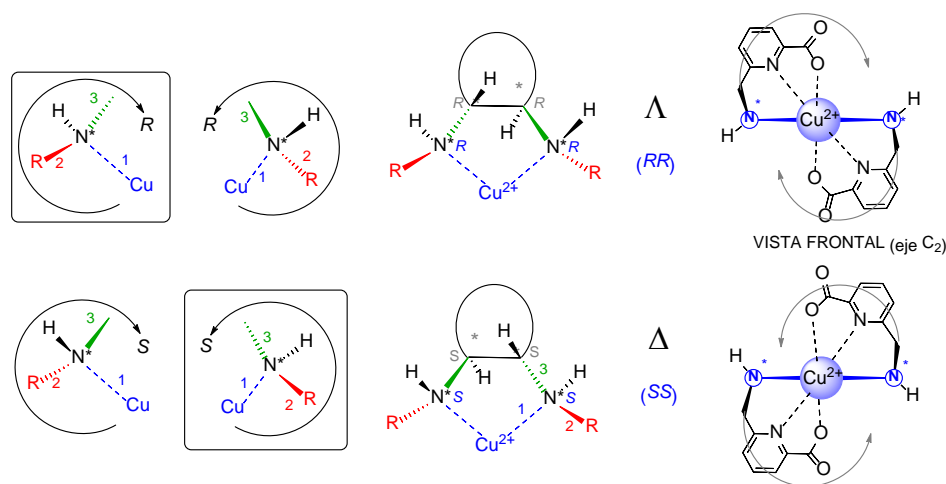


Figura 22. Fuente de quiralidad generada en los átomos de nitrógeno estereogénicos tras la coordinación al centro metálico en los complejos $[\text{Cu}(\text{CHxDEDPA})]$ y $[\text{Cu}(\text{CpDEDPA})]$. Se representan únicamente las conformaciones de menor energía tras la coordinación del ion metálico $[\Lambda(\lambda)\text{-}RR]$ y $[\Delta(\delta)\text{-}SS]$, resaltando en un recuadro aquellas representaciones que facilitan la asignación al representar el átomo de hidrógeno orientado hacia atrás. Se incluye también una representación frontal respecto al eje C_2 de los complejos para facilitar la visualización de las orientaciones espaciales Δ y Λ .

El ligando $\text{H}_2\text{CHxDEDPA}$ fue preparado a partir de la amina enantioméricamente pura $(1R,2R)$ -ciclohexano-1,2-diamina, y tras su coordinación al centro metálico, el complejo $[\text{Cu}(\text{CHxDEDPA})]$ cristalizó en el grupo espacial no centrosimétrico $P2_12_12_1$, observándose únicamente la conformación *twist-wrap* $[\Lambda(\lambda)\text{-}RR]$ en la celda unidad (véase **Figura 23**). En el caso del ligando $\text{H}_2\text{CpDEDPA}$, este fue preparado a partir de una mezcla racémica de la diamina comercial, $(1R,2R)$ -ciclopentano-1,2-diamina y $(1S,2S)$ -ciclopentano-1,2-diamina, lo que daría pie a la presencia de dos posibles diastereoisómeros (cada uno con su

correspondiente enantiómero) tras la coordinación al centro metálico (véase **Figura 23**). El complejo, cristalizó en el grupo centrosimétrico $P2_1/n$, siendo posible observar la presencia del par de enantiómeros $[\Lambda(\lambda)\text{-}RR]$ y $[\Delta(\delta)\text{-}SS]$ en la celda unidad. Estos datos parecen sugerir que las conformaciones $[\Lambda(\lambda)\text{-}RR]$ y $[\Delta(\delta)\text{-}SS]$ deben de estar energéticamente más favorecidas frente a las $[\Delta(\delta)\text{-}RR]$ y $[\Lambda(\lambda)\text{-}SS]$ para ambos espaciadores, siendo determinante trabajar con las aminas enantioméricamente puras, si lo que se desea es aislar uno de los enantiómeros en particular.

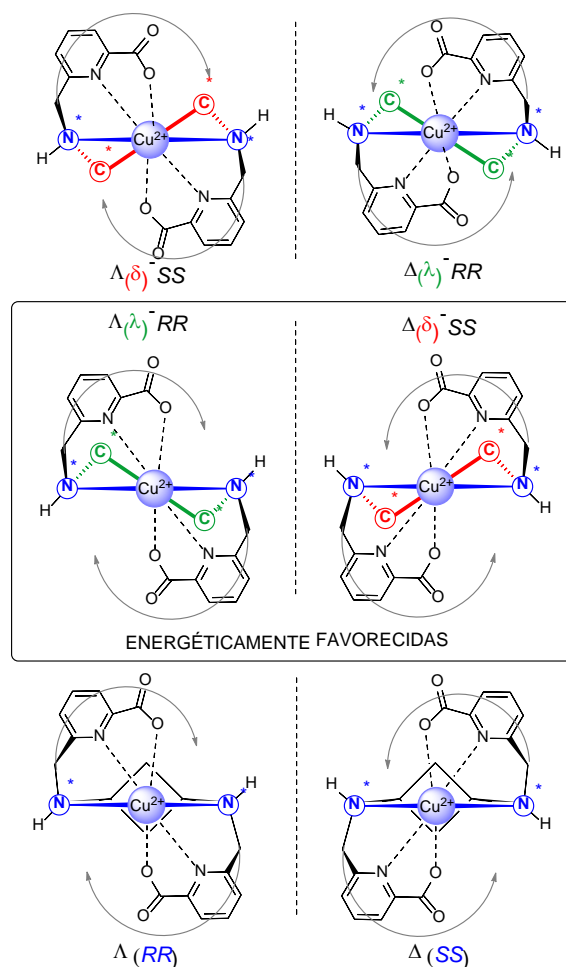


Figura 23. Conformación de los diastereoisómeros (pares de enantiómeros) presentes en las celdas unidad de resultantes de la organización espacial de los anillos quelatos (λ/δ), orientación espacial de las cadenas picolinato (Δ/Λ) en función de las configuraciones de los centros estereogénicos presentes o generados tras la coordinación en los complejos $[\text{Cu}(\text{CHxDEDPA})]$, $[\text{Cu}(\text{CpDEDPA})]$ y $[\text{Cu}(\text{CBuDEDPA})]$.

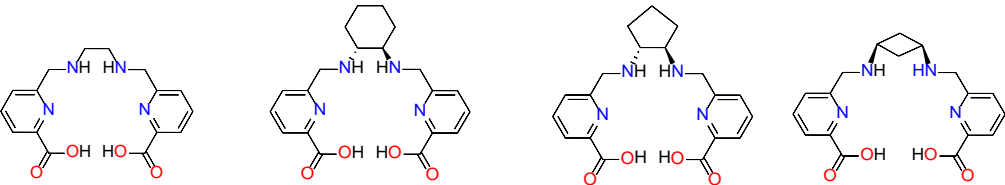
La incorporación de espaciador ciclobutilo en el esqueleto orgánico no permite la existencia de isomería asociada a conformaciones λ/δ de anillos quelatos, por lo que para el complejo $[\text{Cu}(\text{CBuDEDPA})]$ sólo será posible obtener del par de enantiómeros Λ / Δ , asociados a la orientación relativa de los brazos picolinato, combinaciones $(RR) / (SS)$ de

los átomos de nitrógeno amina. Este complejo cristalizó en el grupo centrosimétrico $P2_1/c$, siendo posible observar ambos enantiómeros en la celda unidad del cristal.

V.2. Estudio termodinámico en disolución.

Las constantes de protonación de los tres complejos análogos derivados de H_2DEDPA y sus constantes de estabilidad con $Cu(II)$, se encuentran recogidas en la **Tabla 6**, determinadas empleando una fuerza iónica $I = 1,0$ M NaCl. En la misma tabla se encuentran los valores de la bibliografía para $H_2CHxDEDPA$ obtenidos con $0,15$ M NaCl³⁹ y $0,1$ M $(Me_4)(NO_3)$,⁴⁰. Los datos son comparables a estos últimos, lo que sugiere que la diferente naturaleza del electrolito empleado, o su diferente concentración, no tiene un impacto decisivo sobre el valor de las constantes de protonación.

Tabla 6. Constantes de protonación y constantes de estabilidad de los complejos de $Cu(II)$ determinadas mediante valoraciones potenciométricas y espectrofotométricas ($0,1$ M NaCl, 25 °C).



	DEDPA ²⁻ ^c	CHxDEDPA ²⁻	CpDEDPA ²⁻	CBuDEDPA ²⁻
I	1 M NaCl	1 M NaCl	1 M NaCl	1 M NaCl
$\log K_1^H$	9,00 ^c / 8,69 ^b	9,41(1) / 9,23 ^a / 9,13 ^b	9,05(1)	8,95(1)
$\log K_2^H$	6,30 ^c / 6,18 ^b	6,45(1) / 6,47 ^a / 6,44 ^b	6,51(2)	6,87(1)
$\log K_3^H$	3,06 ^c / 3,08 ^b	3,35(2) / 2,99 ^a / 3,25 ^b	3,28(3)	3,32(2)
$\log K_4^H$	2,59 ^c / 2,33 ^b	2,48(2) / 2,40 ^a / 2,40 ^b	2,51(4)	2,52(3)
$\Sigma \log K_i^H$ ($i = 1-4$)	20,95 ^c /	21,69 / 21,09 ^a / 21,22 ^b	22,18	20,19
$\log K_{CuL}$	19,16 ^d	25,11(1)	22,18(1)	20,19(1)
pCu ^e	18,5	24,0	21,4	19,5

^a Datos medidos en $0,15$ M NaCl³⁹. ^b Datos medidos en $0,1$ M $(Me_4N)(NO_3)$ ⁴⁰. ^c Datos medidos en $0,15$ M NaCl⁴¹. ^d Datos medidos en $0,15$ M NaCl⁴¹. ^e pCu definido como $-\log [Cu(II)]_{libre}$, para $[L]_{tot} = 10$ μ M y $[Cu(II)]_{tot} = 1$ μ M

La primera y segunda constantes de protonación ($\log K_1^H$ y $\log K_2^H$) corresponden a la protonación de los átomos de nitrógeno de los grupos amina de los ligandos. Se puede

³⁹ Ramogida, C. F.; Cawthray, J. F.; Boros, E.; Ferreira, C. L.; Patrick, B. O.; Adam, M. J.; Orvig, C. H_2CHX Dedpa and H_4CHX Octapa—Chiral Acyclic Chelating Ligands for $^{67/68}Ga$ and ^{111}In Radiopharmaceuticals. *Inorg. Chem.* **2015**, *54* (4), 2017–2031. <https://doi.org/10.1021/ic502942a>.

⁴⁰ Ferreirós-Martínez, R.; Esteban-Gómez, D.; Platas-Iglesias, C.; De Blas, A.; Rodríguez-Blas, T. Zn(II), Cd(II) and Pb(II) Complexation with Pyridinecarboxylate Containing Ligands. *Dalton Trans.* **2008**, No. 42, 5754–5765. <https://doi.org/10.1039/b808631a>.

⁴¹ Boros, E.; Ferreira, C. L.; Cawthray, J. F.; Price, E. W.; Patrick, B. O.; Wester, D. W.; Adam, M. J.; Orvig, C. Acyclic Chelate with Ideal Properties for ^{68}Ga PET Imaging Agent Elaboration. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132* (44), 15726–15733. <https://doi.org/10.1021/ja106399h>.

observar que el valor de $\log K_1^H$ aumenta ligeramente tras reemplazar el espaciador flexible etilo presente en el ligando H₂DEDPA por el espaciador rígido ciclohexilo en H₂CHxDEDPA. Un efecto similar había sido ya observado previamente en otros sistemas poliaminocarboxilato estructuralmente relacionados, que difieren entre sí únicamente en la naturaleza del espaciador, como son el EDTA y su derivado ciclohexílico *trans*-CDTA (véase **Figura 25**).⁴² Este hecho puede ser atribuido, al menos en parte, a los efectos inductivos del anillo ciclohexilo, que debido a su mayor carácter dador de carga incrementa la basicidad de estos nitrógenos respecto a la que introduce el espaciador etilo.⁴³ Cuando se compara la basicidad de estos átomos de nitrógeno en los espaciadores rígidos, el valor de $\log K_1^H$ disminuye siguiendo la secuencia H₂CHxDEDPA > H₂CpDEDPA > H₂CBuDEDPA, lo que refleja una menor cooperación entre los átomos de nitrógeno de los grupos amina durante la primera etapa de protonación.⁴⁴ En el caso de $\log K_2^H$, el valor obtenido para H₂CBuDEDPA es con diferencia el mayor de todos, lo que pone de manifiesto la menor repulsión electrostática existente entre los grupos amino cuando ambos están protonados debido a la mayor distancia interatómica existente entre las posiciones 1 y 3 del anillo de ciclobutilo, respecto a las existentes entre ambos grupos en los espaciadores ciclopentilo o ciclohexilo.

Las constantes de estabilidad de los complejos de Cu(II) fueron determinadas mediante valoraciones espectrofotométricas. Los espectros de absorción de los complejos muestran la banda característica debida al grupo cromóforo picolinato centrada a 270 nm. Durante las valoraciones, la intensidad de esta banda disminuye progresivamente a medida que disminuye el valor de pH del medio debido a la disociación del complejo, dando lugar a la aparición de la especie H₄L²⁺ en disolución. El ajuste no lineal de los datos experimentales (véase **Figura 24**) permitió determinar los valores de las constantes de estabilidad recogidas en la **Tabla 6**. A partir de los estos valores se puede comprobar que el complejo derivado del ligando H₂CHxDEDPA presenta la constante de estabilidad termodinámica más elevada de esta serie de complejos, con un valor considerable de $\log K_{CuL} = 25,11$. Este resultado representa un aumento considerable de la estabilidad del complejo respecto al determinado para el complejo análogo flexible derivado del ligando H₂DEDPA.

⁴² Kálmán, F. K.; Tircsó, G. Kinetic Inertness of the Mn²⁺ Complexes Formed with AAZTA and Some Open-Chain EDTA Derivatives. *Inorg. Chem.* **2012**, *51* (19), 10065–10067. <https://doi.org/10.1021/ic300832e>.

⁴³ Zhang, T.; Liu, J.-M.; Huang, X.-F.; Xia, B.; Su, C.-Y.; Luo, G.-F.; Xu, Y.-W.; Wu, Y.-X.; Mao, Z.-W.; Qiu, R.-L. Chelant Extraction of Heavy Metals from Contaminated Soils Using New Selective EDTA Derivatives. *J. Hazard. Mater.* **2013**, *262*, 464–471. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.08.069>.

⁴⁴ Vágner, A.; D'Alessandria, C.; Gambino, G.; Schwaiger, M.; Aime, S.; Maiocchi, A.; Tóth, I.; Baranyai, Z.; Tei, L. A Rigidified AAZTA-like Ligand as Efficient Chelator for ⁶⁸Ga Radiopharmaceuticals. *ChemistrySelect* **2016**, *1* (2), 163–171. <https://doi.org/10.1002/slct.201500051>.

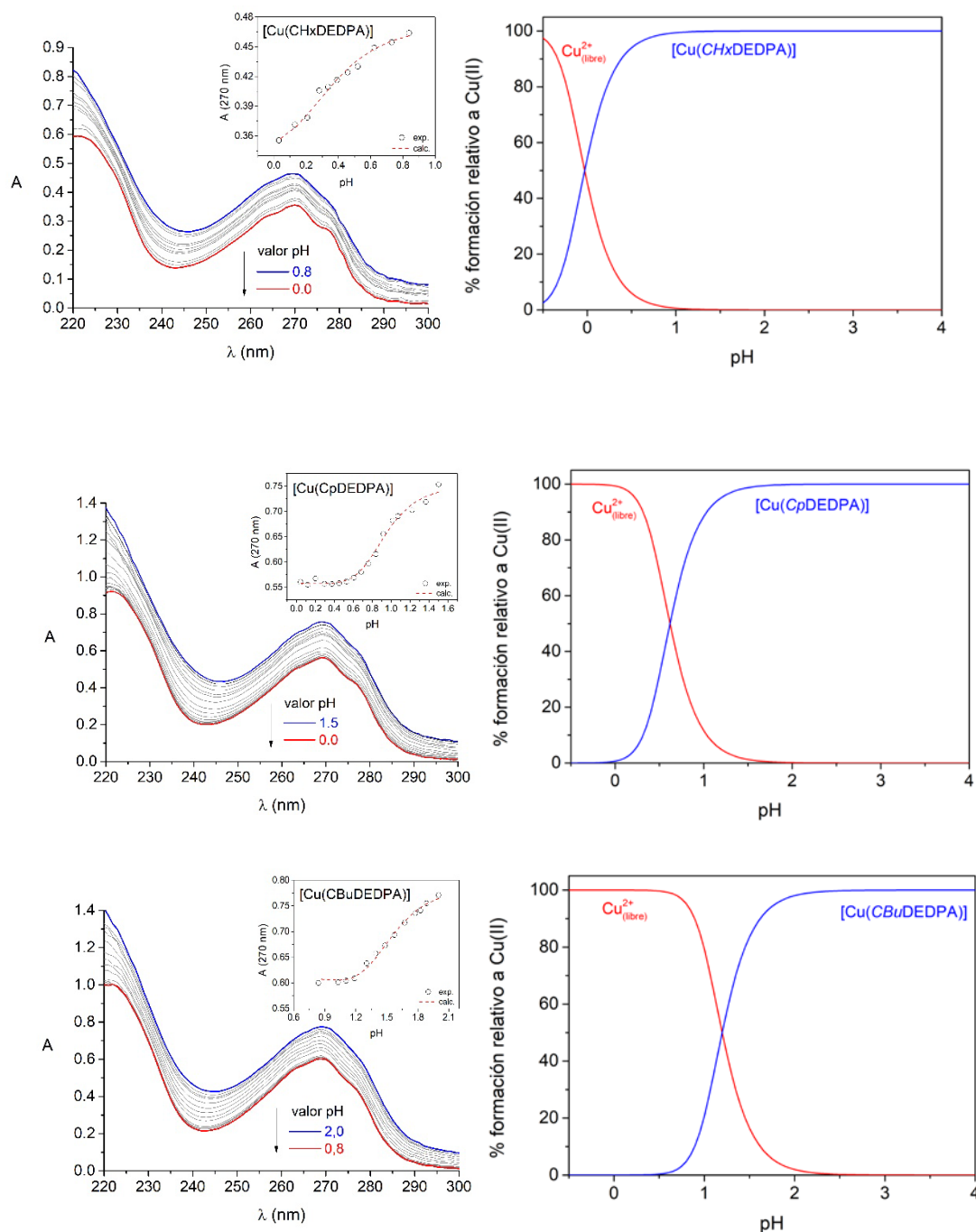


Figura 24. Valoraciones espectrofotométricas en función del pH y diagramas de especiación de los complejos $[\text{Cu}(\text{CHxDEDPA})]$ ($3,68 \times 10^{-5} \text{ M}$, $I = 1 \text{ M NaCl}$) (arriba); $[\text{Cu}(\text{CpDEDPA})]$ ($6,36 \times 10^{-5} \text{ M}$, $I = 1 \text{ M NaCl}$) (centro) y $[\text{Cu}(\text{CBuDEDPA})]$ ($6,68 \times 10^{-5} \text{ M}$, $I = 1 \text{ M NaCl}$) (abajo). En los insertos de las valoraciones se representa la variación experimental de la absorbancia durante las valoraciones a 270 nm, así como el ajuste del cálculo para la determinación de la constante de estabilidad mediante una línea punteada.

Las constantes de estabilidad determinadas para el resto de los complejos de $\text{Cu}(\text{II})$ con los estos ligandos rígidos siguen la tendencia $[\text{Cu}(\text{CHxDEDPA})] > [\text{Cu}(\text{CpDEDPA})] > [\text{Cu}(\text{CBuDEDPA})]$, siendo esta última aún un orden de magnitud superior a la registrada para $[\text{Cu}(\text{DEDPA})]$.⁴¹ Estos datos parecen indicar que la modulación estructural del ligando

orientada a la introducción de un espaciador rígido tiene un impacto beneficioso en términos de estabilidad del complejo, un efecto que es particularmente pronunciado para el derivado de ciclohexilo [Cu(CH_xDEDPA)]. El menor valor de la constante detectada para el complejo derivado de H₂CpDEDPA, podría estar relacionado con la mayor tensión estructural observada en este espaciador tras la coordinación al ion Cu(II) que afectaría negativamente desde el punto de vista entálpico, disminuyendo así el valor de la constante de estabilidad del complejo resultante. Por otro lado, parece que la menor distorsión estructural del entorno octaédrico en el complejo derivado de ciclobutilo, junto con la tensión estructural del anillo de ciclobutilo, podrían estar relacionadas con una menor contribución entálpica favorable a la estabilidad del complejo [Cu(CBuDEDPA)], siendo tal vez ambos factores determinantes a la hora de condicionar la menor estabilidad del complejo resultante. La estabilidad de los complejos metálicos para aplicaciones médicas a pH fisiológico se evalúa generalmente analizando los correspondientes valores pM (pCu), que a menudo se definen como $-\log [\text{Cu(II)}]_{\text{libre}}$ para una concentración total de metal de 1 μM y una concentración total de ligando de 10 μM .⁴⁵ Los valores de pCu calculados en estas condiciones siguen de cerca la tendencia observada para el log K_{CuL} (véase **Tabla 6**). Esto no es sorprendente, dado que tanto el ligando H₂DEDPA, como los tres derivados descritos en el presente trabajo muestran una basicidad similar, como claramente indica el valor parecido de la suma de los valores log K^{H} determinados para cada ligando.

Las constantes de estabilidad y los valores de pCu determinados aquí son comparables a los de complejos con ligandos comúnmente utilizados como quelatantes de ⁶⁴Cu (véase **Figura 25**) como DOTA (log K_{CuL} = 22,0; pCu = 17,6; 0,1 M KCl),⁴⁶ NOTA (log K_{CuL} = 21,6; pCu = 18,4; 1,0 M Na(ClO₄))^{47,48} o bispa (log K_{CuL} = 18,9; pCu = 19,3; 0,1 M KNO₃).⁴⁹ Los derivados de CB-cyclam presentan constantes de estabilidad muy elevadas (log K_{CuL} = 27,1 para CB-cyclam), aunque para este tipo de ligandos es necesario

⁴⁵ Harris, W. R.; Raymond, K. N.; Weitzel, F. L. Ferric Ion Sequestering Agents. 6. The Spectrophotometric and Potentiometric Evaluation of Sulfonated Triccatecholate Ligands. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103* (10), 2667–2675. <https://doi.org/10.1021/ja00400a030>.

⁴⁶ Tircsó, G.; Tircsóné Benyó, E.; Garda, Z.; Singh, J.; Trokowski, R.; Brücher, E.; Sherry, A. D.; Tóth, É.; Kovács, Z. Comparison of the Equilibrium, Kinetic and Water Exchange Properties of Some Metal Ion-DOTA and DOTA-Bis(Amide) Complexes. *J. Inorg. Biochem.* **2020**, *206*, 111042. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2020.111042>.

⁴⁷ Bevilacqua, A.; Gelb, R. I.; Hebard, W. B.; Zompa, L. J. Equilibrium and Thermodynamic Study of the Aqueous Complexation of 1,4,7-Triazacyclononane-N,N',N''-Triacetic Acid with Protons, Alkaline-Earth-Metal Cations, and Copper(II). *Inorg. Chem.* **1987**, *26* (16), 2699–2706. <https://doi.org/10.1021/ic00263a029>.

⁴⁸ Kubíček, V.; Böhmová, Z.; Ševčíková, R.; Vaněk, J.; Lubal, P.; Poláková, Z.; Michalíková, R.; Kotek, J.; Hermann, P. NOTA Complexes with Copper(II) and Divalent Metal Ions: Kinetic and Thermodynamic Studies. *Inorg. Chem.* **2018**, *57* (6), 3061–3072. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.7b02929>.

⁴⁹ Comba, P.; Grimm, L.; Orvig, C.; Rück, K.; Wade, H. Synthesis and Coordination Chemistry of Hexadentate Picolinic Acid Based Bispidine Ligands. *Inorg. Chem.* **2016**, *55* (24), 12531–12543. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.6b01787>.

realizar el radiomarcaje a altas temperaturas, lo que supone una seria desventaja a la hora de su potencial aplicación.⁵⁰

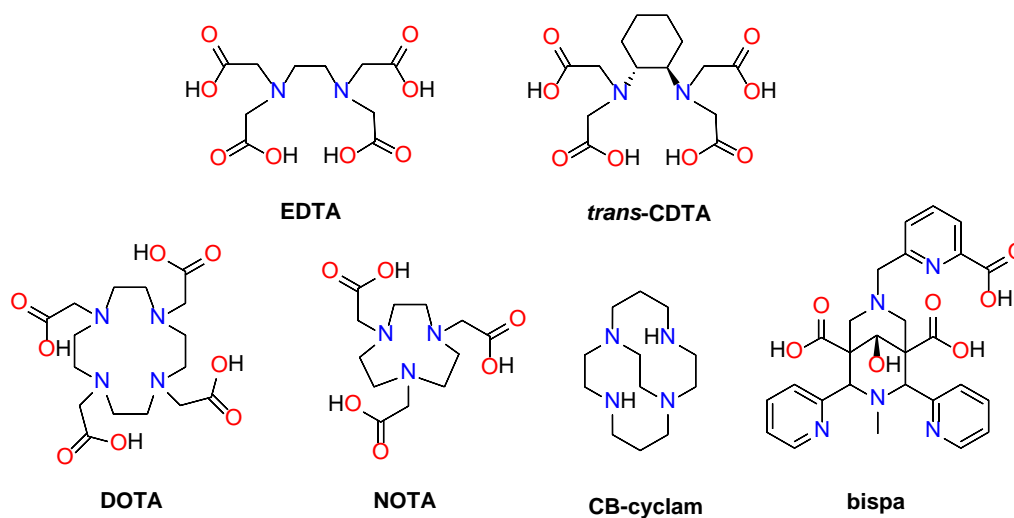


Figura 25. Selección de sistemas relevantes empleados en la química de radiomarcaje de ion Cu(II).

⁵⁰ Sun, X.; Wuest, M.; Weisman, G. R.; Wong, E. H.; Reed, D. P.; Boswell, C. A.; Motekaitis, R.; Martell, A. E.; Welch, M. J.; Anderson, C. J. Radiolabeling and In Vivo Behavior of Copper-64-Labeled Cross-Bridged Cyclam Ligands. *J. Med. Chem.* **2002**, 45 (2), 469–477.

VI.CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

En base a los datos experimentales obtenidos en el presente trabajo, se puede concluir que:

- Es necesario emplear aminas enantioméricamente puras para asegurar la obtención de un único isómero tras la coordinación al ion Cu(II) con los ligandos H₂CHxDEDPA y H₂CpDEDPA.
- Los tres complejos estudiados presentan una conformación *twist-wrap*, en la que el ion Cu(II) presenta un IC= 6 y un entorno octaédrico distorsionado con fuerte efecto Jahn-Teller.
- La introducción de espaciadores rígidos en la estructura del ligando mejora considerablemente la estabilidad de todos los complejos formados respecto a la observada en el complejo análogo derivado del ligando flexible H₂DEDPA.
- La estabilidad termodinámica de los complejos formados tiene una clara relación con la tensión estructural generada en los ligandos tras la coordinación al centro metálico. En este caso, la tensión del esqueleto orgánico de los ligandos parece ser determinante a la hora de justificar la tendencia experimental observada en la estabilidad de los complejos frente a la contribución entálpica favorable asociada al efecto Jahn-Teller.

Los tres complejos estudiados presentan constantes de estabilidad considerablemente altas a pH fisiológicos, siendo la mayor de estas la del complejo [Cu(CHxDEDPA)]. Para valorar su posible aplicación en el campo de la Medicina Nuclear sería necesario completar estos resultados realizando un estudio cinético completo que confirmase su inercia química frente a la disociación en condiciones fisiológicas y realizar los correspondientes ensayos de radiomarcage antes de cualquier prueba en modelo animal.

CONCLUSIONES

En base aos datos experimentais obtidos no presente traballo, pódese concluír que:

- É necesario empregar aminas enantiomericamente puras para asegurar a obtención dun único isómero tras a coordinación ao ion Cu(II) cos ligandos H₂CHxDEDPA e H₂CpDEDPA.
- Os tres complexos estudados presentan unha conformación *twist-wrap*, na que o ión Cu(II) presenta un IC= 6 e un entorno octaédrico distorsionado con forte efecto Jahn-Teller.
- A introdución de espaciadores ríxidos na estrutura dos ligandos mellora considerablemente a estabilidade de todos os complexos formados respecto á observada no complexo análogo derivado do ligando flexible H₂DEDPA.
- A estabilidade termodinámica dos complexos formados ten unha clara relación coa tensión estrutural xerada nos ligandos tras a coordinación ao centro metálico. Neste caso, a tensión do esqueleto orgánico nos ligandos parece ser determinante á hora de xustificar a tendencia experimental observada na estabilidade dos complexos, fronte á contribución entálpica favorable asociada ao efecto Jahn-Teller.

Os tres complexos estudados presentan constantes de estabilidade considerablemente altas a pH fisiolóxicos, sendo a maior destas a do complexo [Cu(CHxDEDPA)]. Para valorar a súa posible aplicación no campo da Medicina Nuclear sería necesario completar estes resultados realizando un estudo cinético completo que confirmase a súa inercia química fronte á disociación en condicións fisiolóxicas e realizar os correspondentes ensaios de radiomarcaxe antes de calquera proba en modelo animal.

CONCLUSIONS

Based on the experimental data obtained in the present work, it can be concluded that:

- It is necessary to use enantiomerically pure amines to ensure that a single isomer is obtained after coordination to the Cu(II) ion with the H₂CHxDEDPA and H₂CpDEDPA ligands.
- The three complexes studied present a twist-wrap conformation, in which the Cu(II) ion presents an IC= 6 and a distorted octahedral environment with strong Jahn-Teller effect.
- The introduction of rigid spacers in the ligand structure considerably improves the stability of all the complexes formed with respect to that observed in the analogous complex derived from the flexible H₂DEDPA ligand.
- The thermodynamic stability of the complexes has a clear relationship with the structural strain generated in the ligands after coordination to the metal center. In this case, the strain of the organic skeleton of the ligands seems to be determinant to justify the experimental stability trend versus the favorable enthalpic contribution associated with the Jahn-Teller effect.

All the three complexes present considerably high stability constants at physiological pH, the highest of these being that of the [Cu(CHxDEDPA)] complex. In order to evaluate their possible application in the field of Nuclear Medicine, it would be necessary to complete these results by carrying out a complete kinetic study to confirm their chemical inertness against dissociation under physiological conditions and to perform the corresponding radiolabeling tests prior to any test in an animal model.

VII. ANEXO ESPECTROS

ESPECTROSCOPIA IR

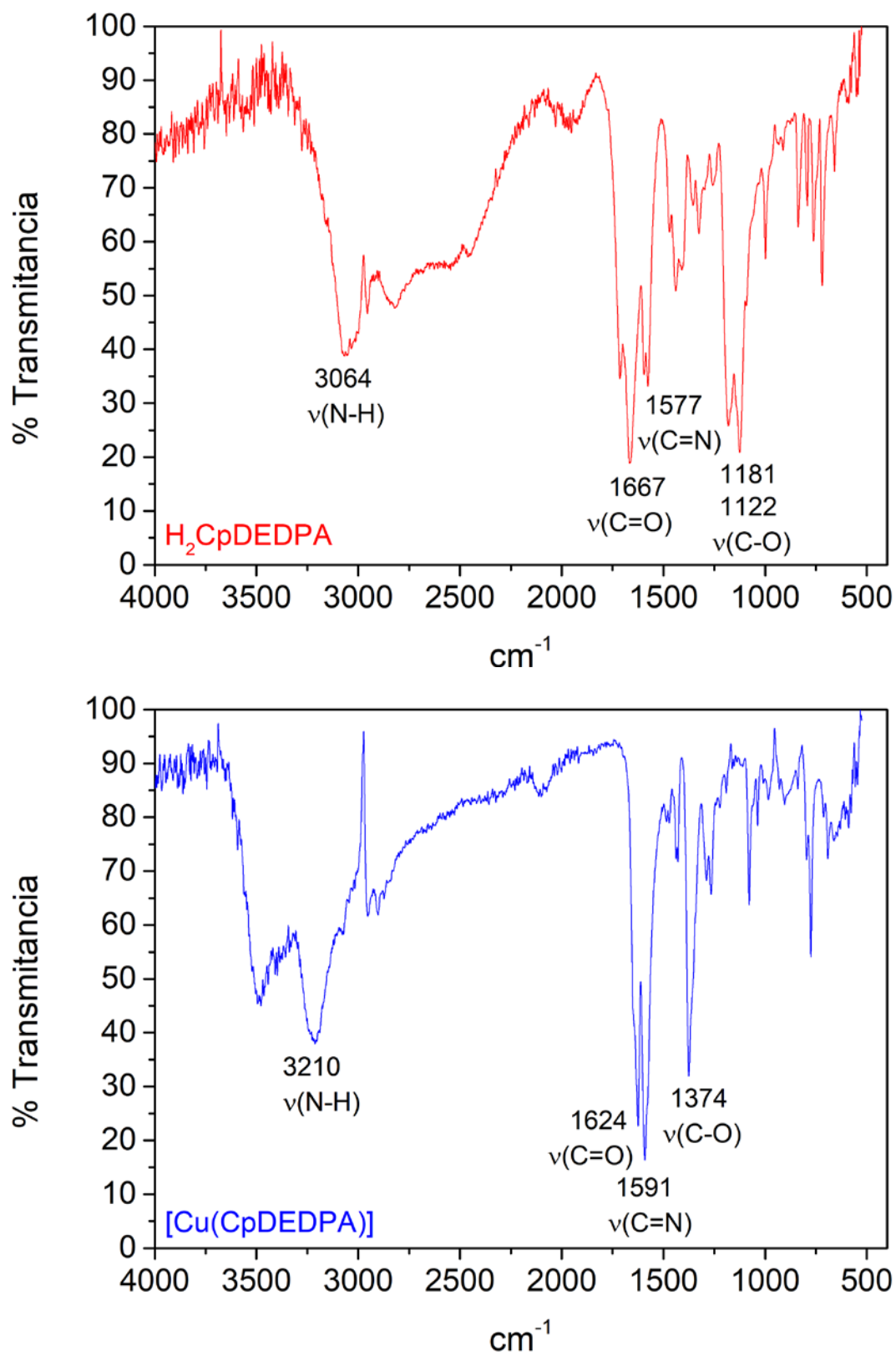


Figura A1. Espectros de IR del ligando libre $[H_2(CpDEDPA)]$ (arriba) y del complejo $[Cu(CpDEDPA)]$ (abajo).

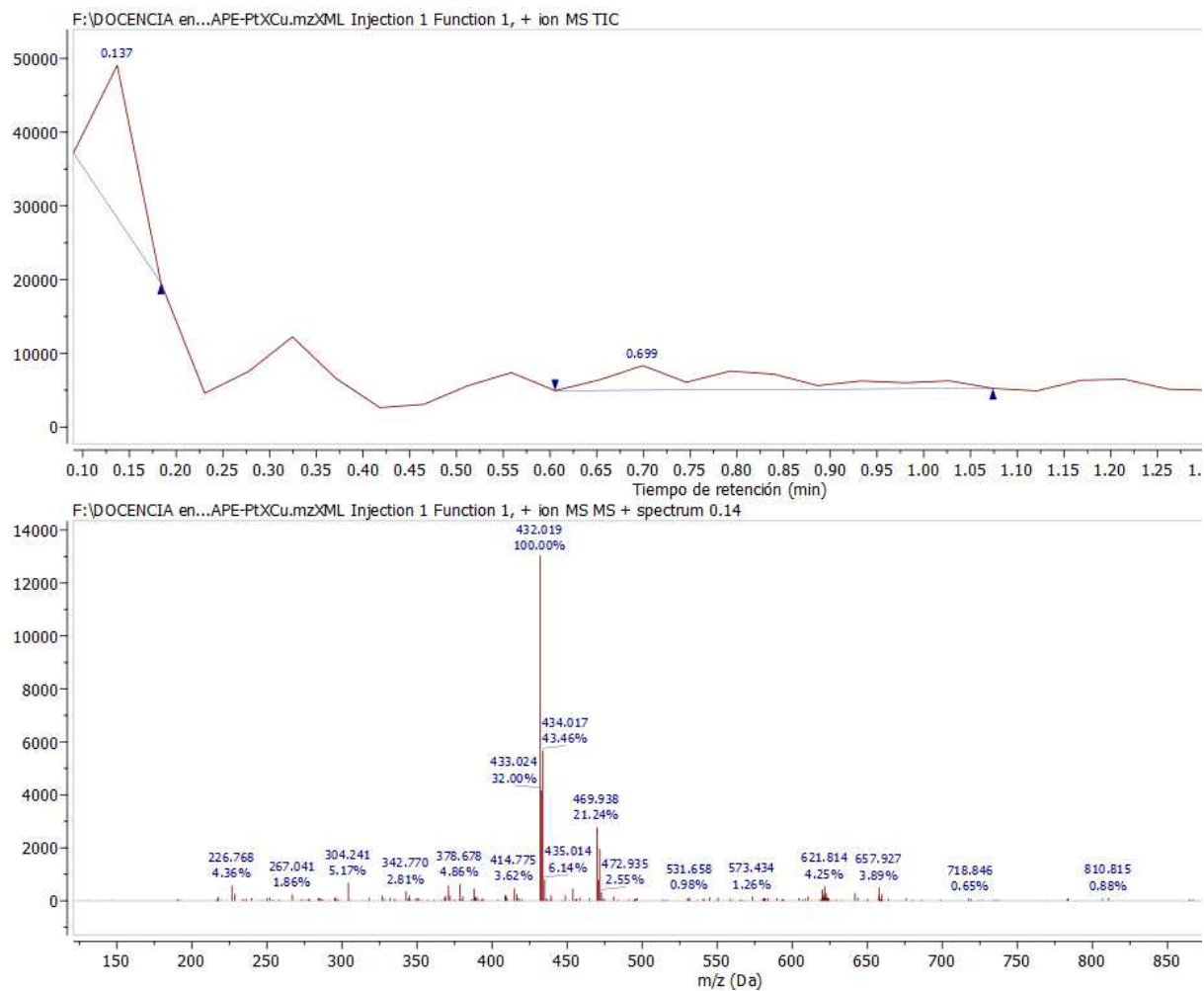
ESPECTROMETRÍA DE MASAS ESI⁺

Figura A2. Espectros de masas ESI⁺ del complejo [Cu(CpDEDPA)].