

INDICE

CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN

1- Acerca de la Química Bioinorgánica	pag. 2
1.1- Historia de la Química Bioinorgánica	pag. 2
1.2 - Alcance de la Química Bioinorgánica	pag. 3
1.3 - Química Inorgánica Medicinal	pag. 4
1.4 - Toxicidad de los compuestos metálicos	pag. 6
2 - Química del cobre	pag. 7
2.1 - Compuestos de cobre	pag. 8
2.2 - Química en solución acuosa	pag. 11
3 - El cobre en sistemas biológicos	pag. 11
3.1 - Metabolismo del cobre	pag. 12
3.1.1 - Absorción	pag. 13
3.1.2 - Transporte	pag. 13
3.1.3 - Metabolismo intracelular	pag. 13
3.1.4 - Excreción	pag. 14
3.2 - Coordinación del cobre en biomoléculas	pag. 15
3.2.1 - Tipos de coordinación del cobre en enzimas	pag. 15
3.2.2 - Coordinación del cobre en el sitio de transporte de Cu de la albúmina sérica	pag. 18
4 - Química medicinal del cobre	pag. 18
4.1 - Complejos con actividad antiinflamatoria	pag. 19
4.2 - Compuestos con actividad antiepiléptica	pag. 20
4.3 - Compuestos de cobre con actividad quimioterápica	pag. 21
4.4 - Compuestos utilizados para suplementar cobre	pag. 21
5 - Objetivos y metodología del trabajo de tesis	pag. 22
6 - Referencias	pag. 24

CAPÍTULO 2: PARTE EXPERIMENTAL

1 - Caracterización analítica de los complejos	pag. 28
2 - Espectros de resonancia paramagnética electrónica	pag. 28
3 - Espectros Infrarrojos	pag. 28
4 - Espectros electrónicos	pag. 28
5 - Espectros de dicroísmo circular	pag. 28
6 - Determinación de las estructuras cristalinas por difracción de rayos X	pag. 29
7 - Voltametría cíclica	pag. 29
8 - Lipofilia	pag. 29
9 - Actividad superóxido dismutasa mimética	pag. 30
10 - Estudio de la estequiometría de la interacción de los complejos Cu(dipéptido) con ADN	pag. 31
11 - Estudio de la interacción de los complejos Cu(dipéptido)	pag. 31

con ADN, mediante medidas de dicroísmo circular	pag. 32
12 - Estudio de la interacción entre los complejos y el ADN mediante medidas de resonancia paramagnética electrónica	pag. 33
13 - Actividad antiproliferativa	pag. 35
13.1 - Cultivos celulares	pag. 35
13.2 - Ensayo de proliferación celular- Bioensayo del Cristal violeta	pag. 36
14 - Referencias	pag. 36

CAPÍTULO 3: SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN ANALÍTICA DE LOS COMPUESTOS. ESTUDIO DE SU SOLUBILIDAD Y LIPOFILIA

1 - Introducción	pag. 39
1.1 - Los dipéptidos como ligandos	pag. 39
1.2 - Especiación en el sistema Cu(II)-dipéptido	pag. 40
1.3 - Métodos de síntesis de los complejos de Cu(II)	pag. 42
1.4 - Estudios de solubilidad y lipofilia de los complejos	pag. 43
2 - Resultados y discusión	pag. 43
2.1 - Síntesis de los complejos de Cu(II) con dipéptidos	pag. 43
2.1.1 - Materiales	pag. 44
2.1.2 - Síntesis de los complejos de Cu(II) con dipéptidos	pag. 44
2.1.3 - Obtención de monocristales	pag. 46
2.2 - Caracterización analítica de los complejos	pag. 46
2.3 - Solubilidad de los complejos Cu(dipéptido)	pag. 47
2.4 - Lipofilia de los complejos Cu(dipéptido)	pag. 48
3 - Conclusiones	pag. 49
4 - Referencias	pag. 49

CAPÍTULO 4: ESTUDIO DE LAS ESTRUCTURAS CRISTALINAS DE LOS COMPLEJOS MEDIANTE DIFRACCIÓN DE RAYOS X.

1 - Introducción	pag. 52
1.1 - Comportamiento de los grupos funcionales de aminoácidos y péptidos como ligandos para sitios metálicos	pag. 52
1.2 - Estructuras de complejos de cobre con dipéptidos	pag. 56
1.2.1 - Estructuras de compuestos de Cu(II) con estequiometría metal ligando 1:1	pag. 57
1.2.2 - Estructuras con estequiometría metal:ligando 1:2	pag. 61
1.2.3 - Resumen de antecedentes estructurales de complejos Cu-dipéptido	pag. 61
2 - Resultados y discusión	pag. 62
2.1 - Índice de coordinación 5	pag. 63
2.1.1 - Estructura de [Cu(gly-val)] · 1/2H ₂ O	pag. 63
2.1.2 - Estructura cristalina del complejo [Cu(val-gly)]	pag. 65
2.1.3 - Estructura de [Cu(ala-val)]	pag. 66

2.1.4 - Estructura de [Cu(ala-ile)]	pag. 69
2.1.5 - Estructura del compuesto [Cu(ala-phe)] · 1/2H ₂ O.	pag. 71
2.1.6 - Estructura del complejo [Cu(ala-thr)] · 1/2H ₂ O	pag. 73
2.1.7 - Estructura cristalina del complejo [Cu(ala-tyr)] · 1/2H ₂ O	pag. 75
2.1.8 - Estructura cristalina del compuesto [Cu(val-phe)]	pag. 77
2.1.9 - Estructura cristalina del complejo [Cu(phe-val)]	pag. 79
2.1.10 - Estructura cristalina del complejo [Cu(phe-leu)]	pag. 79
2.1.11 - Estructura cristalina del complejo [Cu(phe-phe)]	pag. 81
2.1.12 - Comparación y discusión de los resultados obtenidos para el primer grupo de compuestos (2.1)	pag. 83
2.2 - Estructura cristalina del compuesto [Cu ₃ (ala-leu) ₃ (H ₂ O) ₃ (CO ₃)] · PF ₆ · H ₂ O	pag. 85
2.3 - Estructura del complejo [Cu(his-gly) ₂ (H ₂ O) ₂] · 6H ₂ O	pag. 88
3 - Conclusiones	pag. 89
4 - Referencias	pag. 91

CAPÍTULO 5: ESTUDIO ESTRUCTURAL DE LOS COMPLEJOS MEDIANTE ESPECTROSCOPIA INFRARROJA

1 - Introducción	pag. 94
1.1 - Modos del grupo amino (-NH ₂)	pag. 94
1.2 - Modos del grupo amida	pag. 94
1.3 - Modos del grupo carboxilato (COO ⁻)	pag. 95
2 - Resultados y discusión	pag. 96
2.1 - Espectros infrarrojos de los complejos de Cu(dipéptido) con estructura cristalina conocida.	pag. 96
2.1.1 - ala-val y Cu(ala-val)	pag. 96
2.1.2 - gly-val y Cu(gly-val)	pag. 99
2.1.3 - ala-leu y Cu(ala-leu)	pag. 100
2.1.4 - ala-ile y Cu(ala-ile)	pag. 100
2.1.5 - ala-phe y Cu(ala-phe)	pag. 101
2.1.6 - ala-thr y Cu(ala-thr)	pag. 102
2.1.7 - ala-tyr y Cu(ala-tyr)	pag. 102
2.1.8 - val-gly y Cu(val-gly)	pag. 103
2.1.9 - val-phe y Cu(val-phe)	pag. 103
2.1.10 - phe-val y Cu(phe-val)	pag. 104
2.1.11 - phe-leu y Cu(phe-leu)	pag. 104
2.1.12 - phe-phe y Cu(phe-phe)	pag. 105
2.1.13 - his-gly y Cu(his-gly) azul	pag. 106
2.2 - Espectros de los complejos Cu(dipéptido) cuyas estructuras cristalinas no fueron resueltas	pag. 108
2.2.1 - ala-gly y Cu(ala-gly)	pag. 108
2.2.2 - ala-ala y Cu(ala-ala)	pag. 108
2.2.3 - phe-ala y Cu(phe-ala)	pag. 109

2.2.4 - Espectro del complejo Cu(his-ala)	pag. 109
2.3 - Análisis general de los espectros IR de los Cu(dipéptidos)	pag. 110
2.3.1 - Modos del grupo RNH ₂	pag. 110
2.3.2 - Modos del grupo amida	pag. 111
2.3.3 - Modos del carboxilato	pag. 112
3 - Conclusiones	pag. 113
4 - Referencias	pag. 113

CAPÍTULO 6: ESTUDIO ESTRUCTURAL DE LOS COMPLEJOS MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA DE ESPÍN ELECTRÓNICO

1 - Introducción	pag. 116
1.1 - Espectroscopía de resonancia de espín electrónico	pag. 116
1.1.1 - Generalidades	pag. 116
1.1.2 - Origen	pag. 116
1.2 - Espectros de resonancia de espín electrónico de compuestos de Cu(II)	pag. 119
1.2.1 - Espectros anisotrópicos de complejos de Cu(II)	pag. 119
1.2.1.1 - Espectros de soluciones congeladas de compuestos de Cu(II)	pag. 120
1.2.1.2 - Espectros de compuestos de Cu(II) bajo la forma de polvo	pag. 121
1.2.2 - Espectros isotrópicos de Cu(II): espectros de soluciones a temperatura ambiente	pag. 122
2 - Resultados y discusión	pag. 124
2.1 - Espectros de polvo de muestras policristalinas	pag. 125
2.2 - Espectros de soluciones acuosas congeladas a 77 K	pag. 128
2.3 - Espectros de soluciones a temperatura ambiente	pag. 131
3 - Conclusiones	pag. 133
4 - Referencias	pag. 134

CAPÍTULO 7: ESTUDIO ESTRUCTURAL DE LOS COMPLEJOS EN SOLUCIÓN MEDIANTE ESPECTROSCOPIA ELECTRÓNICA

1 - Introducción	pag. 137
2 - Resultados y discusión	pag. 138
3 - Conclusiones	pag. 141
4 - Referencias	pag. 141

CAPÍTULO 8: ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO REDOX DE LOS COMPLEJOS MEDIANTE VOLTAMETRÍA CÍCLICA

1 - Introducción	pag. 143
2 - Resultados y discusión	pag. 145
3 - Conclusiones	pag. 147
4 - Referencias	pag. 147

CAPÍTULO 9: ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD SUPERÓXIDO DISMUTASA MIMÉTICA DE LOS COMPLEJOS

1 - Introducción	pag. 150
1.1 - Rol bioquímico de la enzima superóxido dismutasa	pag. 150
1.2 - Efectos farmacológicos de la enzima SOD y de compuestos con actividad SOD mimética	pag. 154
1.3 - Métodos para la determinación de la actividad SOD mimética	pag. 156
2 - Resultados y discusión	pag. 157
3 - Conclusiones	pag. 158
4 - Referencias	pag. 159

CAPÍTULO 10: ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN DE LOS COMPLEJOS CON ADN

1 - Introducción	pag. 162
1.1 - Estructura del Ácido desoxirribonucleico y modos de interacción de compuestos metálicos con ADN	pag. 162
1.1.1 - Intercalación	pag. 165
1.1.2 - Unión de esfera externa	pag. 166
1.1.3 - Unión de esfera interna	pag. 166
1.1.4 - Ruptura de hebra	pag. 166
1.2 - Métodos experimentales tradicionalmente utilizados para el estudio de la interacción de moléculas con ADN	pag. 167
1.2.1 - Métodos que estudian la variación de las propiedades del ADN	pag. 167
1.2.1.1 - Espectroscopía ultravioleta	pag. 167
1.2.1.2 - Dicroísmo circular	pag. 167
1.2.1.3 - Resonancia Magnética Nuclear	pag. 168
1.2.1.4 - Estudio de propiedades hidrodinámicas	pag. 169
1.2.1.5 - Determinación de las constantes de unión mediante medidas de fluorescencia	pag. 169
1.2.2 - Métodos que estudian la variación de propiedades del metal o del complejo	pag. 169
1.2.2.1 - Espectroscopía ultravioleta-visible	pag. 169
1.2.2.2 - Espectros de dicroísmo circular	pag. 169
1.2.2.3 - Espectros de resonancia de espín electrónico	pag. 170
1.3 - Propuesta	pag. 171
2 - Resultados y discusión	pag. 171
2.1 - Determinación de la estequiometría de la interacción con ADN de los complejos Cu(dipéptido)	pag. 172
2.2 - Estudio de la interacción con ADN mediante espectroscopia de resonancia de espín electrónico	pag. 173
2.3 - Estudio de la interacción con ADN mediante medidas	

de Dicroísmo Circular

3 - Conclusiones

4 - Referencias

pag. 178

pag. 188

pag. 188

CAPÍTULO 11: ESTUDIOS *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD ANTIPROLIFERATIVA DE LOS COMPUESTOS

1 - Introducción

1.1 - Mecanismos de acción quimioterápica de los complejos de cobre

1.1.1 - Actividad Superóxido dismutasa mimética

1.1.2 - Producción de especies tóxicas del oxígeno

1.1.3 - Interacción con el ADN

1.1.4 - Daño a las mitocondrias

1.1.5 - Inducción de muerte celular por apoptosis

1.2 - Antecedentes de compuestos de cobre con actividad antitumoral

1.2.1 Compuestos con bis(tiosemicarbazonas)

1.2.2 Compuestos con tiosemicarbazonas

1.2.3 Compuestos con salicilatos

1.2.4 Compuestos con derivados de fenantrolina

1.2.5 Compuestos de cobre con aminoácidos y oligopéptidos

1.2.6 Otros compuestos de cobre con actividad quimioterápica

1.3 - Selección del modelo y de los complejos para la determinación de actividad antiproliferativa utilizados en este trabajo de tesis

2 - Resultados y discusión

3 - Conclusiones

4 - Referencias

pag. 192

pag. 193

pag. 193

pag. 194

pag. 195

pag. 195

pag. 195

pag. 196

pag. 196

pag. 196

pag. 197

pag. 197

pag. 198

pag. 198

pag. 199

pag. 200

pag. 202

pag. 202

pag. 205

CAPÍTULO 12: CONCLUSIONES GENERALES

APÉNDICE 1: ESPECTROSCOPIA DE DICROÍSMO CIRCULAR

pag I

APÉNDICE 2: ESPECTROS DE RESONANCIA DE ESPÍN ELECTRÓNICO

pag V

APÉNDICE 3: ESPECTROS RPE Y SUS SIMULACIONES, CORRESPONDIENTES A LOS ESTUDIOS DE INTERACCIÓN CU(DIPÉPTIDO) ADN

pag XVII

pag. XXVIII

APÉNDICE 4: VOLTAGRAMAS

APÉNDICE 5: DATOS DE LAS ESTRUCTURAS CRISTALINAS Y SU RESOLUCIÓN

pag. XXXIV

pag. XCII

APÉNDICE 6: PUBLICACIONES