



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

# Estudio cinético de la interacción de complejos de metales de transición con moléculas biológicamente relevantes

Marta Vázquez Valero

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) i a través del Dipòsit Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) y a través del Repositorio Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service and by the UB Digital Repository ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.







UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

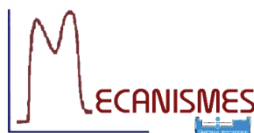
Facultat de Química

Departament de Química Inorgànica i Orgànica, Secció de Química Inorgànica

Programa de doctorado: Química Inorgànica Molecular

# Estudio cinético de la interacción de complejos de metales de transición con moléculas biológicamente relevantes

Marta Vázquez Valero



Grupo de *Mecanismes de Reacció*

Director: Dr. Manuel Martínez López, *Departament de Química Inorgànica i  
Orgànica, Secció de Química Inorgànica, Facultat de Química*

Julio 2016



**Manuel Martínez López**, *Professor Catedràtic del Departament de Química Inorgànica i Orgànica, Secció de Química Inorgànica de la Universitat de Barcelona,*

CERTIFICA: que el trabajo ***Estudio cinético de la interacción de complejos de metales de transición con moléculas biológicamente relevantes*** que presenta Marta Vázquez Valero, para optar al grado de Doctor, ha sido realizado bajo mi dirección en el *Departament de Química Inorgànica i Orgànica, Secció de Química Inorgànica de la Universitat de Barcelona.*

Barcelona, julio de 2016

Manuel Martínez López



**A mi hermano**





## Agradecimientos

En primer lugar, agradecer a Manel toda la ayuda que me ha dado durante estos últimos años y por dejarme decorar el laboratorio a mi gusto. También, agradecer a toda la gente que ha pasado por el grupo de *Mecanismos de Reacción*, porque siempre es una alegría las visitas de Carlos Gallego y Fernando. Aunque especialmente quería dar las gracias a Carlos Rodríguez, ya que él me enseñó prácticamente el funcionamiento de todo el instrumental del laboratorio y a Helena Font, por compartir el primer año de máster conmigo y convertirse en una amiga. También, agradecer los últimos años de tesis con Laura Alcázar y con toda la gente que ha estado unos meses en el laboratorio, desde Erasmus como Jack y Tim a los alumnos de TFG, por alegrarme los días en el laboratorio.

Referente al trabajo realizado, agradecer a Teresa de RMN por todas las tardes que ha pasado conmigo, intentando resolver los espectros de RMN de las muestras tan complicadas, pero siempre con unos resultados excelentes.

En general, agradecer a todo el personal del departamento por la ayuda prestada y por hacerme más fácil este trabajo, sobre todo a César y Ana. De toda la gente del departamento que he conocido durante estos años, quería empezar dando las gracias a las dos primeras personas que conocí, Albert Gutiérrez y Ferrán González. Gracias a los dos por todas las risas y buenos momentos que hemos pasado. También agradecer a Arnald, una persona muy especial para mí, que nunca ha dudado un segundo en ayudarme en cualquier cosa y por sus visitas al Prat. Agradecer también a Pau Clavero, Andreu Presa y Albert Gallén por compartir conmigo los desayunos y destacar a Albert por haber compartido durante un corto tiempo también a mi jefe, él sí que me entiende. Agradecer a los teóricos, especialmente a Jordi Cirera, Jesús Jover y a Silvia, por esas partidas al Mario Kart. Y entre toda la gente del departamento, a los más importantes y a los que se han convertido en unos fantásticos amigos: Alberto, Raúl, Rosa, Beltzane, Saskia y mi Pato.

Agradecer también a mis amigas de la carrera, ya que nunca se ha perdido el contacto y el apoyo ha sido continuo. Muchas gracias a Esther, Silvia, Míriam e Irene.

A mi Manu, porque siempre será mi camarero favorito y sé que aunque pasen 20 años más, seguirá siendo mi amigo y lo tendré a mi lado para lo que necesite. No sólo agradecerle su amistad, sino además la oportunidad de conocer gente estupenda como Jordi Trilla. Me faltan palabras para agradecer a Jordi todos los grandísimos momentos que hemos pasado. Y a Edu, por los ánimos que me ha dado a diario en esta recta final de la tesis. Sin ti, habría sido un final muchísimo más difícil.

A mis amigas de toda la vida, las que conozco desde hace más de 15 años y comparto unos momentos indescriptibles tocando juntas en la banda, a Maria, Laura, Eva y Alba. A Cesc y Pol por sus locuras. Y en general a toda la banda, en especial a la sección de clarinetes, por los conciertos, certámenes y ensayos semanales, que me han cambiado como persona y mejorado la vida. Gracias por compartir la música conmigo, una sensación que recomendaría a cualquiera. Y sobre todo a mi director Xavi, por aguantarme en cada ensayo, que sé que no es fácil.

Y para terminar, a las personas más importantes de mi vida, a mis padres porque siempre me han dado todo lo que han podido y más, y a mi hermano favorito, Xavi.

# ÍNDICE



## Capítulo 1

|   |           |
|---|-----------|
| INTRODUCCIÓN.....   | 1         |
| <b>1.1 Antecedentes de los sistemas estudiados .....</b>              | <b>6</b>  |
| Compuestos de cobalto.....  | 7         |
| Compuestos de rutenio .....   | 10        |
| <b>1.2 Importancia de la sustitución en sistemas biológicos .....</b> | <b>12</b> |
| <b>1.3 Objetivos .....</b>  | <b>14</b> |

## Capítulo 2

|   |           |
|---|-----------|
| ASPECTOS TEÓRICOS.....                          | 17        |
| <b>2.1 Reacciones de sustitución .....</b>      | <b>19</b> |
| Dinámica en solución .....                      | 22        |
| Mecanismo de base conjugada .....               | 24        |
| <b>2.2 Aspectos cinético-mecanísticos .....</b> | <b>26</b> |
| Aspectos cinéticos .....                        | 26        |
| Aspectos termodinámicos de activación.....      | 29        |

## Capítulo 3

|   |           |
|---|-----------|
| SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN .....                        | 33        |
| <b>3.1 Compuestos de Co(III) .....</b>                  | <b>36</b> |
| 3.1.1 Síntesis de los compuestos de Co(III) .....       | 37        |
| Complejación directa.....                               | 38        |
| Utilización de un sintón de Co(III) .....               | 39        |
| 3.1.2 Caracterización de los compuestos de Co(III)..... | 39        |
| Espectroscopia UV-Vis.....                              | 40        |
| Resonancia magnética nuclear.....                       | 40        |
| Determinación de las constantes de acidez .....         | 41        |
| Estructuras cristalinas .....                           | 44        |
| <b>3.2 Compuestos de Ru(II) .....</b>                   | <b>48</b> |
| 3.2.1 Síntesis de los compuestos de Ru(II) .....        | 49        |
| 3.2.2 Caracterización de los compuestos de Ru(II).....  | 50        |
| Espectroscopia UV-Vis.....                              | 50        |
| Resonancia magnética nuclear.....                       | 51        |
| Determinación de constantes de acidez .....             | 52        |
| Estudio voltamperométrico.....                          | 53        |

## Capítulo 4

|   |            |
|---|------------|
| REACCIONES DE SUBSTITUCIÓN SOBRE COMPLEJOS DE Co(III) .....   | 55         |
| <b>4.1 Compuestos de Co(III) con ligandos tripodales .....</b>  | <b>60</b>  |
| [Co(tren)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ](ClO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> .....  | 61         |
| [Co(TPA)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ](CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .....                            | 64         |
| <b>4.2 Compuestos de Co(III) con ligandos macrocíclicos .....</b>   | <b>68</b>  |
| <i>cis</i> -[Co(cyclen)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ](ClO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> .....                            | 69         |
| [Co{(μ-ET)cyclen}(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ](CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .....                   | 78         |
| [Co{(Me) <sub>2</sub> (μ-ET)cyclen}(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ](CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ..... | 94         |
| <b>4.3 Discusión global de resultados para los sistemas de Co(III)..</b>  | <b>108</b> |

## Capítulo 5

|  |     |
|--|-----|
| REACCIONES DE SUBSTITUCIÓN SOBRE COMPLEJOS DE Ru(II) .....   | 115 |
| <i>cis</i> -[Ru(bpy) <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ](CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ..... | 119 |

## Capítulo 6

|  |     |
|--|-----|
| RESUMEN Y CONCLUSIONES .....                       | 135 |
| Síntesis y caracterización de los compuestos ..... | 137 |
| Substitución sobre complejos de Co(III) .....      | 138 |
| Substitución sobre complejos de Ru(II) .....       | 140 |

## Capítulo 7

|   |            |
|---|------------|
| EXPERIMENTAL .....  | 143        |
| <b>7.1 Preparación de compuestos .....</b>  | <b>145</b> |
| 7.1.1 Ligandos .....  | 145        |
| {(Me) <sub>2</sub> (μ-ET)cyclen} .....  | 145        |
| {(μ-ET)cyclen} .....  | 146        |
| TPA·nHClO <sub>4</sub> .....  | 148        |
| 7.1.2 Compuestos de Co(III) .....   | 148        |
| [Co(tren)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ](ClO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> .....  | 148        |
| [Co(TPA)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ](CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .....                            | 150        |
| <i>cis</i> -[Co(cyclen)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ](ClO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> .....                            | 152        |
| [Co{(μ-ET)cyclen}(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ](CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .....                   | 153        |
| [Co{(Me) <sub>2</sub> (μ-ET)cyclen}(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ](CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ..... | 154        |

|  |            |
|--|------------|
| 7.1.3 Compuestos de Ru(II) .....   | 156        |
| [Ru(TPA)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ](CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .....                           | 156        |
| <i>cis</i> -[Ru(bpy) <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ](CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ..... | 157        |
| <b>7.2 Metodología cinética</b> .....  | <b>159</b> |
| 7.2.1 Condiciones de trabajo.....  | 159        |
| Espectroscopia electrónica.....  | 159        |
| Concentración de los reactivos .....   | 160        |
| Intervalo de pH.....   | 161        |
| Temperatura y presión.....   | 161        |
| 7.2.2 Experimentos cinéticos.....  | 162        |
| 7.2.3 Tratamiento de datos .....   | 164        |
| <b>7.3 Instrumental</b> .....  | <b>166</b> |
| 7.3.1 Seguimiento de las reacciones .....  | 166        |
| 7.3.2 Sistemas de presurización .....  | 167        |
| 7.3.3 Determinación de valores del pH y constantes de acidez.....  | 168        |
| 7.3.4 Medidas electroquímicas .....  | 170        |
| 7.3.5 Espectroscopia Ultravioleta-Visible.....   | 170        |
| 7.3.6 Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear.....  | 170        |
| 7.3.7 Espectroscopia de Difracción de Rayos-X.....   | 171        |
| 7.3.8 Análisis elemental de C, N, H y S .....  | 171        |
| 7.3.9 Espectrometría de masas .....  | 172        |

## Capítulo 8

|  |     |
|--|-----|
| BIBLIOGRAFÍA.....                        | 173 |
| APÉNDICE A (CONSTANTES CINÉTICAS) .....  | 185 |
| APÉNDICE B (DATOS CRISTALOGRAFICOS)..... | 205 |





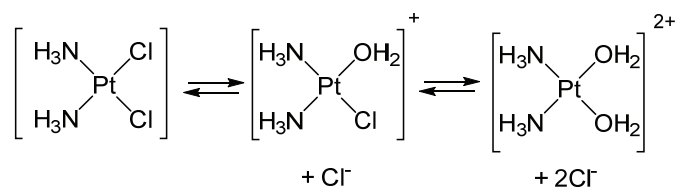
# **CAPÍTULO 1**

*INTRODUCCIÓN*

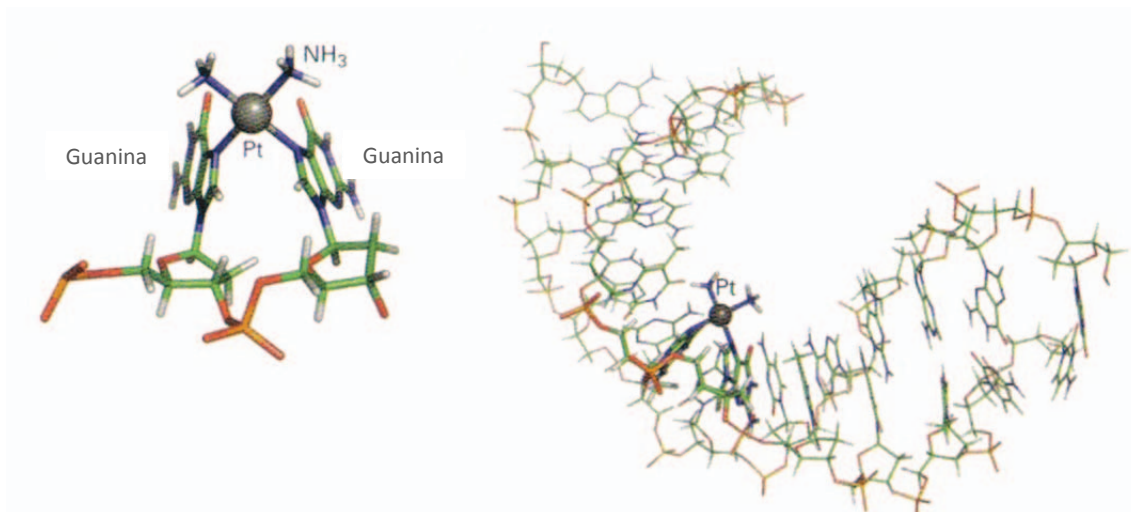


El uso de complejos inertes de metales de transición en estudios fundamentales de procesos que involucran moléculas biológicamente relevantes, es un área de gran interés. Destaca especialmente la química relacionada con la interacción del *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] con polinucleótidos, que se asocia a su actividad antitumoral.<sup>[1-3]</sup> Una de las ventajas más remarcables que aportan los compuestos de coordinación, respecto a la utilización de ligandos libres orgánicos como agentes antitumorales, se basa en la posible variación del número de coordinación, geometría y estado de oxidación del metal.<sup>[4,5]</sup> Estas variaciones permiten un ajuste mucho más específico de la reactividad, como corresponde al comportamiento típico de los compuestos de coordinación. Si consideramos la química del cisplatino, está claro que la cadena de ADN es el objetivo/diana principal para la interacción del compuesto. Esta interacción causa modificaciones en las células cancerígenas, bloqueando su proliferación y resultando en la apoptosis celular. Destacar que las interacciones con la cadena de ADN/ARN pueden ser, aparte de por coordinación clásica, por intercalación, por interacciones débiles o por efectos electrostáticos.<sup>[4]</sup>

El complejo *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] es uno de los descubrimientos más destacables de la química inorgánica medicinal, inicialmente estudiado por B. Rosenberg.<sup>[6]</sup> Su uso como anticancerígeno está aceptado en una gran variedad de sistemas desde 1978, y su mecanismo de acción está perfectamente establecido. Cabe destacar que, una vez dentro de la célula, donde la concentración de cloruros disminuye drásticamente (100 mM extracelular a 4-10 mM intracelular), se produce la solvólisis del complejo (Esquema 1.1). Esta acuoespecie es la que interacciona coordinándose de un modo clásico a la cadena de ADN, pero solamente un porcentaje bajo del complejo inicial desencadena la actividad como antitumoral. La coordinación del cisplatino a los dadores presentes en el ADN, produce una distorsión de su estructura secundaria y bloquea la transcripción de la cadena y su replicación, produciendo apoptosis (Figura 1.1).<sup>[7-10]</sup>



**Esquema 1.1.** Equilibrios de especiación del complejo *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] en el medio biológico relevante.



**Figura 1.1.** Modo de actuación del complejo *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] en su interacción con la cadena de ADN.<sup>[11]</sup>

Tal como se puede observar en la Figura 1.1, la coordinación del cisplatino se produce por la sustitución de los ligandos H<sub>2</sub>O por dos unidades de guanina. Esta preferencia sobre las otras bases de la cadena de ADN es debida a la formación adicional de enlaces de hidrógeno entre los grupos NH del complejo metálico y los grupos carbonilo y fosfato del nucleótido.<sup>[12,13]</sup> Estudios más recientes han demostrado que también es posible la interacción de este complejo con la cadena de ARN. En este caso, se ha observado que la formación de la especie *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)Cl]<sup>+</sup> es la responsable del proceso de sustitución sobre la cadena nucleica.<sup>[14]</sup> Puesto que pequeñas variaciones pueden producir modificaciones notables en la reactividad del compuesto metálico, este tipo de ajuste ha sido el objetivo de muchos estudios descritos en la bibliografía.<sup>[13,15-17]</sup> Entre ellos, destacar el cambio de selectividad que se encuentra en la interacción de un análogo del cisplatino, que muestra una preferencia por la base adenina.<sup>[13]</sup>

Tal como se ha indicado, puesto que sólo un pequeño porcentaje del fármaco cisplatino genera la actividad antitumoral, el resto de complejo administrado es el causante de la toxicidad asociada. Ésta es debida a interacciones con proteínas u otras biomoléculas pequeñas, especialmente las que contienen grupos sulfuro.<sup>[18]</sup> El uso de derivados, como el carboplatino o oxaliplatino,<sup>[12]</sup> se basa precisamente en minimizar estos efectos secundarios. Como alternativa menos agresiva, se ha iniciado el estudio respecto a la utilización de complejos de Pt(IV), que presentan un mecanismo de acción distinto. A diferencia de los compuestos de Pt(II), los complejos de Pt(IV) son octaédricos con una configuración  $t_{2g}^6$  que los hace más estables e inertes y, por tanto, su degradación es menos dominante.<sup>[3]</sup> En cuanto a su mecanismo de acción, la mayoría de complejos de Pt(IV) se reducen por el ascorbato o la glutatona del organismo a Pt(II), y este es el que produce la actividad antitumoral.<sup>[18]</sup> En todos los casos, las variaciones en los ligandos de los complejos de Pt(IV) son los encargados de modificar la permeabilidad a través de las membranas, además de sus potenciales redox. Estos son los factores que afectan a la penetración en las células tumorales y a su reducción a especies de Pt(II).

El mecanismo por el cual se producen las interacciones del centro metálico con las biomoléculas debe, en general, implicar una sustitución activada asociativamente, para poder influir en la selectividad.<sup>[19-21]</sup> Para los compuestos de Pt(II), los ligandos acu más lábiles se intercambian por los grupos **N**-dadores de las bases purínicas (Figura 1.1).<sup>[19-23]</sup> Sin embargo, en los acuocomplejos puede existir un equilibrio ácido-base entre especies hidroxilo en el medio biológico de reacción a pHs próximos al fisiológico, debido a la polaridad del enlace M-OH<sub>2</sub>.<sup>[24-26]</sup> Esto puede producir una disminución de su reactividad por la formación del ligando OH<sup>-</sup> más fuertemente unido al metal y afectar, por tanto, a la selectividad de los procesos.<sup>[27]</sup>

Estudios más recientes, se centran en la identificación de procesos celulares alterados en células cancerígenas, responsables del crecimiento del tumor y de su replicación. Estos estudios se basan en generar una inhibición selectiva de enzimas involucradas en los procesos de metástasis, por interacciones con el complejo de coordinación.<sup>[28,29]</sup> La

selectividad de estos procesos se puede relacionar con el estado de hipoxia existente en algunas células tumorales,<sup>[29-31]</sup> que también permite la distinción respecto a células saludables, y por tanto con procesos redox de los metales implicados. Además, se ha observado una resistencia de estas células con hipoxia a los tratamientos de radioterapia y quimioterapia convencionales, lo que hace aún más interesante el desarrollo de esta clase de compuestos.

### 1.1 Antecedentes de los sistemas estudiados

Para los sistemas estudiados en este trabajo, como norma general, se utilizarán complejos metálicos con esqueletos inertes, y dos posiciones ocupadas por ligandos acuo, más lábiles, en *cis*. Se pretende de este modo, favorecer la formación de quelatos con moléculas biológicamente relevantes, y comparar el comportamiento con el de las especies clásicas de referencia, como el *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>].<sup>[32-34]</sup>

El estudio sobre el uso de complejos octaédricos inertes d<sup>6</sup> se inició históricamente con los complejos de Pt(IV),<sup>[18]</sup> como se ha indicado. Sin embargo, su reactividad siempre se ha asociado a la especie resultante de la reducción a Pt(II) en el medio biológico.<sup>[35-37]</sup> Como alternativa, en este trabajo se presenta la utilización de complejos inertes clásicos con configuración t<sub>2g</sub><sup>6</sup>, sobre los que se han iniciado estudios recientemente.<sup>[38-41]</sup> La base del diseño de estos sistemas consiste en un esqueleto inerte del complejo metálico, que no sea tóxico, y con algunas posiciones de coordinación más lábiles en *cis*. Como para el cisplatino, estas posiciones pueden interactuar con los grupos dadores de las moléculas biológicamente relevantes y, modificar, de este modo, tanto su morfología como su reactividad.<sup>[42]</sup>

Este trabajo se centrará en el estudio de las reacciones de sustitución por moléculas biológicamente relevantes sobre acuocomplejos metálicos de Co(III) y Ru(II). Actualmente existen varias vías de investigación sobre este tipo de compuestos como

anticancerígenos, puesto que presentan una actividad antitumoral notable y una toxicidad menor que los compuestos clásicos de Pt(II).<sup>[18,43,44]</sup>

### **Compuestos de cobalto**

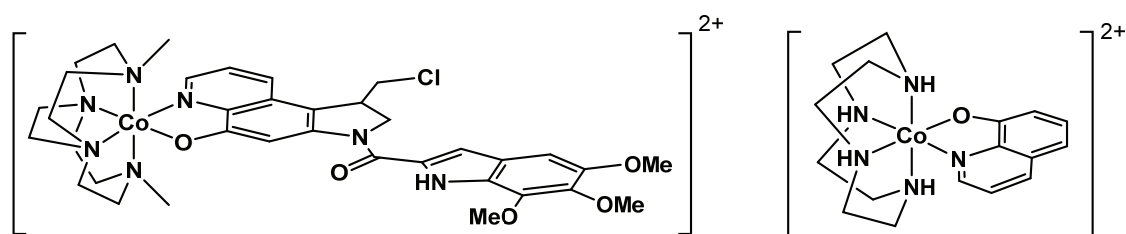
El cobalto es un elemento traza esencial en seres vivos y con un papel crucial en muchos procesos biológicos. La existencia de este metal en el organismo es normalmente en forma de vitamina B12 (cobalamina).<sup>[31]</sup> Puesto que forma parte de nuestro organismo, el cuerpo posee un sistema para la eliminación de un exceso de este metal y, como consecuencia, presentará una toxicidad menor a la mostrada por otros metales no esenciales, como el platino. Las investigaciones iniciales con complejos de cobalto con un posible interés biológico se llevaron a cabo por F.P. Dwyer en 1952.<sup>[45]</sup>

Los compuestos de cobalto representan, pues, una posible alternativa más barata y menos tóxica en comparación con las especies de Pt(II).<sup>[46]</sup> Una de las características en cuanto a reactividad de estos compuestos, observada en varios estudios,<sup>[47,48]</sup> es la hidrólisis catalizada de los enlaces fosfodiéster tras las reacciones de sustitución con polinucleótidos. Se produce así, la ruptura de las cadenas de ADN/ARN y se afecta a su replicación. La estabilización de especies de Co(III) en solución acuosa se ha basado históricamente en la utilización de complejos inertes con grupos **N**-dadores, debido a las características del centro metálico. Este tipo de estructuras, generalmente rígidas, presenta una elevada estabilidad en los medios biológicos, evitando así una posible liberación del ligando que genere toxicidad. La modificación del esqueleto inerte de los complejos, además, permite una modulación de la reactividad del sistema,<sup>[49]</sup> que genera una posible selectividad en la interacción con las cadenas de ADN y ARN.<sup>[50,51]</sup> Así pues, el diseño de estos sistemas se debe considerar cuidadosamente para una actuación posterior con los sistemas biológicos.

Una de las familias interesantes de este tipo de complejos de cobalto desde un punto de vista biológico, es la de los compuestos de Co(III) con un esqueleto **N**-tetradentado completamente inerte y que ofrezca dos posiciones lábiles en *cis*, como los mostrados

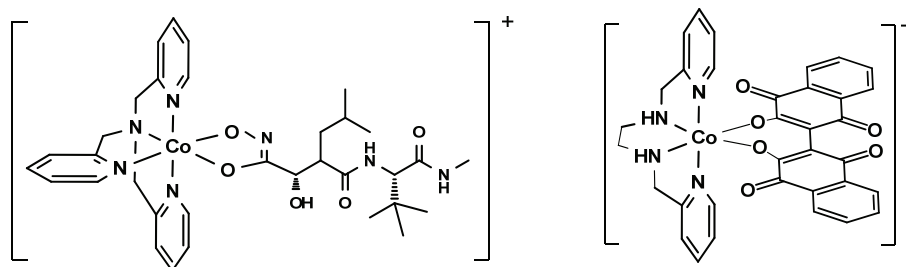


en la Figura 1.2. Estos compuestos resultan relevantes tanto por sus propiedades como intercalantes en su interacción con la cadena de ADN, como por los procesos redox que presentan estas especies, debido a la naturaleza del ligando.<sup>[46,52,53]</sup> La modificación del esqueleto tetradentado puede propiciar, además, un ajuste más específico de sus propiedades químicas. Para algunos complejos similares a los mostrados en la Figura 1.2, se ha detectado la hidrólisis de enlaces fosfodiéster de las cadenas de ADN o ARN mencionada.<sup>[47]</sup> Además, las variaciones en la unidad rígida del complejo metálico se han llegado a relacionar con un posible reconocimiento quiral de algunos  $\alpha$ -aminoácidos.<sup>[54]</sup>



**Figura 1.2.** Complejos de Co(III) con un esqueleto tetradentado inerte usados como agentes antitumorales.

Por otro lado, algunos compuestos de cobalto, como los representados en Figura 1.3, han mostrado una actividad relacionada con la inhibición de ciertas enzimas involucradas en procesos de metástasis, tal como se ha indicado anteriormente. Este grupo de compuestos también tiene una estructura formada por ligandos *N*-tetradentados aunque no macrocíclica. En este caso las propiedades que les hacen interesantes se basan en la liberación del ligando más lábil coordinado al centro de Co(III), que es el responsable de la inhibición de las moléculas diana involucradas en los procesos de proliferación.<sup>[29,55]</sup> El mecanismo de actuación de la mayoría de estos compuestos es vía una reducción del centro de Co(III), convirtiéndolo en un centro más lábil de Co(II), que libera la molécula biológicamente activa dentro de las células tumorales.<sup>[5,56]</sup> La efectividad más elevada del complejo de Co(III) respecto al ligando libre activo, demuestra la importancia del reconocimiento de los sitios diana por parte de estos cobaltocomplejos estables.<sup>[18,30,56,57]</sup>



**Figura 1.3.** Complejos de Co(III) con un esqueleto tetradentado inerte usados como agentes antitumorales activados vía redox.

Otra familia de complejos de cobalto con resultados prometedores como agentes antitumorales *in vitro*, son los formados por dos ligandos bidentados como la bipyridina o la fenantrolina, y con dos posiciones más lábiles en *cis*.<sup>[58-60]</sup> Un aspecto importante a destacar de estos complejos es la solubilidad que presentan en agua. Estos compuestos muestran una interacción directa con la cadena de ADN/ARN, produciendo una modificación tal en el sistema que acaba dando la apoptosis celular.<sup>[61]</sup> Estas interacciones no son por coordinación clásica sino por  $\pi$ -stacking, debida a la intercalación de los anillos aromáticos de bipyridina y fenantrolina con las bases de la cadena de ADN. Las interacciones formadas son por enlace de hidrógeno y de van der Waals, además existen también interacciones electrostáticas con los grupos fosfato de los ácidos nucleicos.<sup>[5,62,63]</sup>

En resumen, los complejos de Co(III) tienen potencial para ser una buena alternativa a los complejos de platino actualmente utilizados como agentes anticancerígenos. Estas especies presentan, sin embargo, una serie de inconvenientes debidos a la química de coordinación propia de este metal. Por un lado, los compuestos tienen una reactividad más baja debido a la configuración electrónica del centro de Co(III), y la elevada carga de las especies dificulta su permeabilidad a través de las membranas celulares. Por otro lado, el mecanismo por el que transcurren sus reacciones de sustitución está activado disociativamente, a diferencia de los sistemas plano-cuadrados de Pt(II),<sup>[20,21]</sup> y por tanto resultan menos selectivos en su interacción con las moléculas biológicamente relevantes.

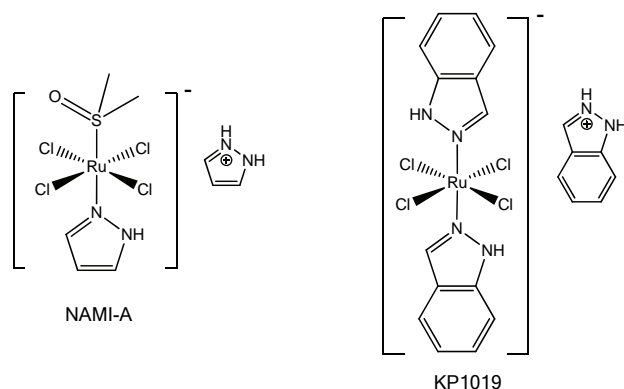
### **Compuestos de rutenio**

En las últimas décadas, ha existido un aumento importante en estudios realizados con complejos de rutenio en cuanto a sus aplicaciones médicas, debido a su menor toxicidad.<sup>[64]</sup> Se han encontrado una gran variedad de complejos de rutenio con una prometedora actividad antitumoral, y con un modo de actuación distinto al observado para el *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>].<sup>[65,66]</sup> Los compuestos de rutenio, en general, no sólo interaccionan con el ADN/ARN de forma covalente o por intercalación, sino que también lo hacen con algunas proteínas, dada la similitud del centro metálico con el hierro. La interferencia con el metabolismo del Fe(III) se ha presentado como una posible explicación para su capacidad como agente antitumoral.<sup>[18,67]</sup>

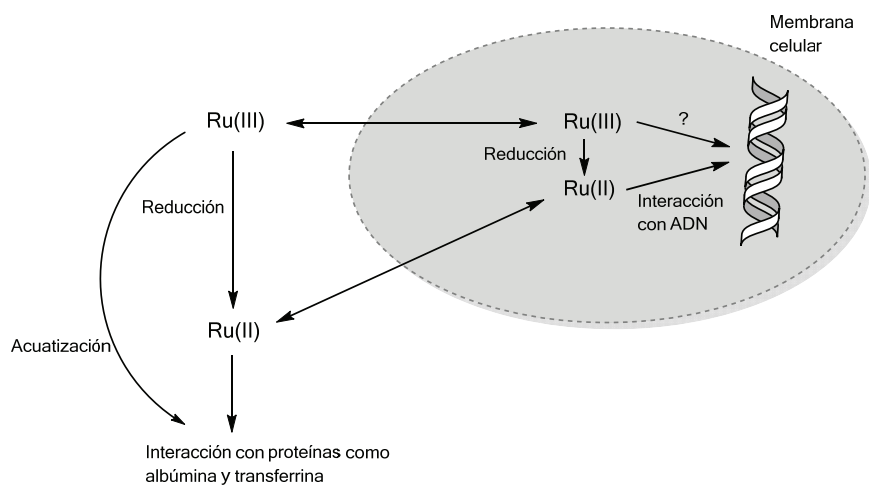
La investigación sobre la actividad biológica de los compuestos de rutenio se inició alrededor de 1980, con posterioridad a los compuestos de platino,<sup>[45]</sup> y con unos resultados muy satisfactorios.<sup>[40,68]</sup> Algunos compuestos de rutenio presentan una actividad antitumoral para varios tipos de líneas *in vivo* y con una toxicidad menor a la mostrada para el cisplatino *in vitro*.<sup>[18]</sup> Entre estos compuestos, cabe destacar el NAMI-A y KP1019 (Figura 1.4), que actualmente se encuentran en fase I de ensayos clínicos.<sup>[4,67,69]</sup>

Desde un punto de vista fundamental, el mecanismo de actuación concreto de estos complejos de rutenio no ha sido todavía determinado. Sin embargo, se sabe que existe una formación de aductos entre estos compuestos y la cadena del ADN,<sup>[44]</sup> y con una posible reducción a complejos de Ru(II) (Esquema 1.2).<sup>[70,71]</sup> Los complejos de Ru(III), igual que los de Pt(IV), pueden ser reducidos por reductores biológicos asequibles como el ascorbato o la glutatona en condiciones fisiológicas, pero manteniendo la conformación octaédrica tras reducirse a Ru(II).<sup>[67]</sup> Como para los complejos de Pt(II), las especies reducidas de Ru(II) se pueden coordinar a biomoléculas que contienen grupos sulfuro al aumentar su carácter blando. En este sentido, el ambiente de hipoxia de algunas células tumorales favorece, tal como se ha indicado, la reducción del metal y su posterior reactividad. Efectivamente, en varios estudios se ha observado un

incremento de la formación de aductos Ru(II)-ADN cuando la presión parcial de  $O_2$  es baja, indicando un mayor porcentaje de especie reducida, y una mejora en la citotoxicidad del compuesto.<sup>[72,73]</sup>



**Figura 1.4.** Complejos de Ru(III) usados como agentes antitumorales en fase I de ensayos clínicos.

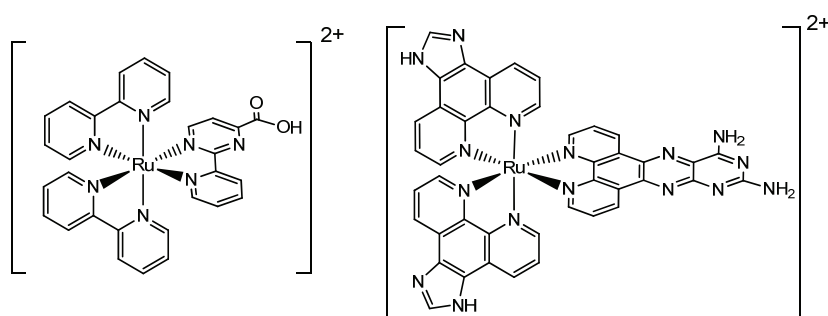


**Esquema 1.2.** Modo de actuación propuesto de los complejos de Ru(III) en la interacción con la cadena de ADN.

Otra alternativa en el modo de acción de los compuestos de Ru(II) como agentes anticancerígenos, también válida para los compuestos de Co(III) anteriores, es la liberación de una molécula activa coordinada en las posiciones más lábiles de este metal en el sitio diana. En una gran variedad de estudios, este tipo de complejos está constituido por un esqueleto inerte, formado por ligandos quelantes polipiridil.<sup>[5,64,74,75]</sup>

La liberación de las moléculas activas está muchas veces activada

fotoquímicamente,<sup>[76,77]</sup> produciéndose posteriormente la interacción con la cadena de ADN.<sup>[78-80]</sup> La terapia fotodinámica representa, pues, una forma selectiva en el modo de actuación de estos compuestos como agentes antitumorales.<sup>[79]</sup> Un ejemplo de este tipo de complejos lo forman los que se muestran en la Figura 1.5.<sup>[74,75]</sup> La especie que aparece a la derecha presenta las características más favorables, puesto que las propiedades de los ligandos como intercalantes son mejores. Además para este compuesto, se ha observado una buena interacción con el ARN, lo que amplía el margen de estudio con otras bases nitrogenadas.<sup>[75]</sup>



**Figura 1.5.** Complejos de Ru(II) con propiedades fotoquímicas e intercalantes propuestos para el uso como agentes antitumorales.

En resumen, los compuestos de rutenio parecen una alternativa prometedora en vista de las propiedades antitumorales menos tóxicas, ya observadas para diferentes especies como el NAMI-A y KP1019.<sup>[4,67,69]</sup> Estos complejos, además, presentan ventajas respecto a los compuestos de otros metales, puesto que la carga del metal se asemeja a la del platino y los mecanismos de sustitución están generalmente activados asociativamente,<sup>[81,82]</sup> propiciando una selectividad frente a las moléculas biológicamente activas. Por otro lado, el paralelismo con los centros de hierro, puede favorecer la eliminación de rutenio en exceso del organismo.

## 1.2 Importancia de la sustitución en sistemas biológicos

En vista de lo expuesto hasta ahora, está claro que el estudio del mecanismo a través del cual transcurren las interacciones de los complejos metálicos con biomoléculas,

puede ayudarnos a entender y a diseñar nuevas especies con una reactividad específica. Los procesos de sustitución que involucran centros metálicos deberán ser lo suficientemente lentos para asegurar el mantenimiento de la molécula activa, y de este modo interactuar con la molécula diana, o bien mantener la interacción una vez formada.<sup>[83]</sup> Esto justifica la necesidad de llevar a cabo un estudio previo respecto a la especiación y estabilidad de los complejos, que se esperan biológicamente activos, en los medios relevantes.<sup>[84]</sup> En este sentido, puesto que los compuestos propuestos para el estudio en esta memoria son diacuo especies en solución, deberá considerarse los posibles procesos de polimerización con puentes  $\text{OH}^-$  en el medio de reacción, tal como se ha observado para compuestos similares.<sup>[26,85,86]</sup> En general, para el estudio de sustitución que se pretende realizar, es preciso diseñar sistemas que eviten la formación de estas especies poliméricas, puesto que suelen ser menos reactivas, en algunos casos convirtiéndose en especies totalmente inertes.<sup>[86]</sup> El comportamiento en solución en un medio similar al biológico es un punto clave a considerar, a pesar de hacer necesariamente algunas simplificaciones.

Resumiendo, la estabilidad que presentan los compuestos en solución acuosa es un aspecto vital en la elección de estas especies.<sup>[87]</sup> En este sentido, por ejemplo, estudios realizados sobre el compuesto de rutenio NAMI-A,<sup>[70]</sup> han indicado que es necesaria una acuatización previa del complejo, tal como ocurre para los compuestos de Pt(II), donde esta etapa se establece como crucial para la formación de la especie activa. El estudio detallado de estos procesos permite evaluar el modo de interacción de las acuo especies generadas con las cadenas de ADN/ARN y con otras moléculas diana en el medio biológico. Además, algunos estudios realizados variando los sustituyentes del complejo, han generado diferencias en la estabilización, acuatización y el modo de interacción con las moléculas biológicamente relevantes, así como el potencial redox y la citotoxicidad.<sup>[88]</sup>

Está claro, por todo lo expuesto, que para la determinación de los mecanismos a través de los cuales transcurren las interacciones de los compuestos de coordinación con las biomoléculas, es importante llevar a cabo un estudio muy detallado y exhaustivo de

los procesos de sustitución.<sup>[3]</sup> De este modo, se pueden averiguar y ajustar los distintos factores que afectan al transcurso de las reacciones, y mejorar la selectividad de estos complejos.<sup>[15,28,89-92]</sup> Una manera simple de realizar este estudio, es introduciendo pequeñas variaciones en el esqueleto inerte, hasta conseguir la mejora deseada.<sup>[93]</sup> Una buena cantidad de esta clase de estudios, están basados en la química del cisplatino y sus derivados,<sup>[15]</sup> determinando las vías por las cuales transcurren los procesos que le proporcionan su actividad biológica.<sup>[17,94]</sup> Como ya se ha mencionado, para la determinación de este mecanismo es necesario llevar a cabo algunas simplificaciones. Entre ellas, se encuentra el estudio cinético de reacciones de sustitución con nucleótidos simples de ADN o ARN, lo que permite la simulación de la interacción que tiene lugar cuando se coordina de manera covalente a las cadenas de polinucleótidos.<sup>[12,13]</sup>

### 1.3 Objetivos

Con los antecedentes presentados, en este trabajo se pretende realizar un estudio cinético-mecanístico de reacciones de sustitución sobre compuestos de Co(III) y Ru(II) con distintos nucleótidos y nucleósidos. Las estructuras elegidas para los compuestos son similares a las indicadas en las Figuras 1.2, 1.3 y 1.5.

Los estudios se llevarán a cabo en un medio con un pH alrededor del fisiológico para aproximarse a condiciones relevantes respecto a su reactividad *in vivo*.

En detalle, los principales objetivos de esta memoria serán:

- ✓ Completar el estudio cinético-mecanístico de sustitución, ya existente a pH < 4,<sup>[95]</sup> de las especies de cobalto *cis*-[Co(cyclen)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> y [Co(tren)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> con diferentes nucleótidos y nucleósidos a pHs cercanos al fisiológico en solución acuosa.

- ✓ Incluir modificaciones sobre los ligandos tetradentados cyclen y tren, y realizar un estudio de sustitución y comparación con los análogos anteriores.
- ✓ Ampliar este estudio de reacciones de sustitución con complejos de Ru(II) con un esqueleto inerte similar (N)<sub>4</sub> en las mismas condiciones.





## **CAPÍTULO 2**

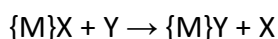
*ASPECTOS TEÓRICOS*



En este Capítulo se tratarán los fundamentos teóricos relacionados con los procesos cinéticos que se estudiarán en la memoria. En primer lugar, se presentarán los aspectos generales sobre la teoría clásica de las reacciones de sustitución, y los tipos de mecanismos íntimos por los cuales transcurren. Posteriormente, se tratarán con más detalle los aspectos cinético-mecanísticos que intervienen en las reacciones, desde cómo se determinan los parámetros cinéticos y de activación, hasta como éstos se asocian a los diferentes tipos de reactividad.

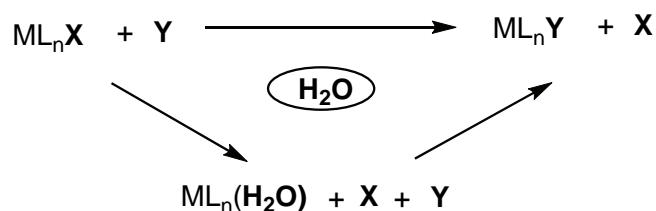
## 2.1 Reacciones de sustitución

Las reacciones de sustitución se definen como el intercambio de ligandos coordinados al metal por otros del medio de reacción, sin alterar el estado de oxidación ni el número de coordinación del ion central (Esquema 2.1). En general, el sistema se simplifica cuando es un solo ligando el que se intercambia en el proceso.<sup>[21]</sup>



**Esquema 2.1.** Representación simplificada de una reacción de sustitución.

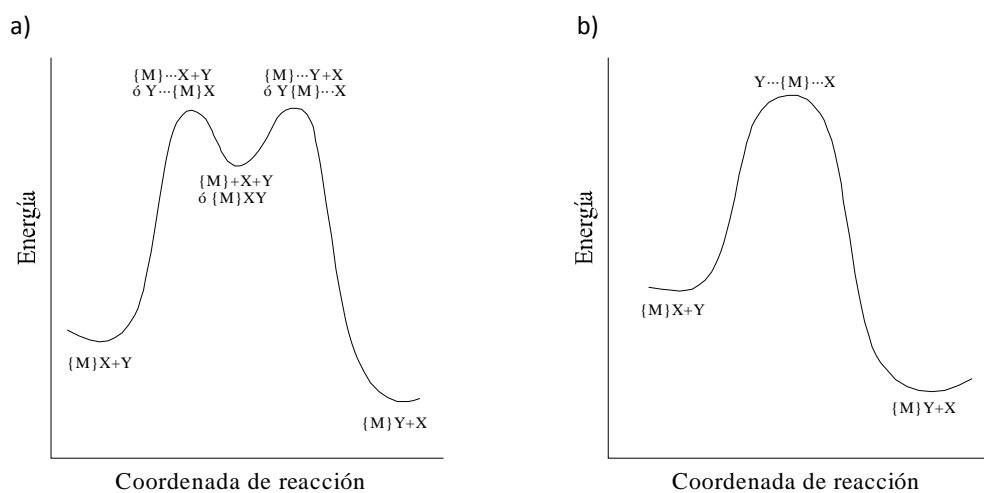
El intercambio de estos ligandos en disolución se puede producir de dos maneras: por reacción directa sin intervención del disolvente (Esquema 2.2, parte superior), o por una combinación con solvólisis del sistema (Esquema 2.2, parte inferior).<sup>[21]</sup> En el estudio que se presenta en esta memoria, los procesos de sustitución están centrados en sistemas octaédricos y con una reactividad más simple, puesto que los ligandos a sustituir son el propio disolvente, es decir, se trata de procesos inversos a la solvólisis en agua.



**Esquema 2.2.** Sustitución simple sin la intervención del disolvente (parte superior) y sustitución por combinación con solvólisis (parte inferior).

Así pues, los valores que presentan las constantes cinéticas de los procesos de sustitución se pueden relacionar con los que corresponden al intercambio de disolvente.<sup>[21,96]</sup> En este sentido, las constantes de velocidad del intercambio de moléculas de agua en la esfera de coordinación de diferentes iones metálicos presenta un amplio registro de valores, que va desde las que corresponden a acuocomplejos muy lábiles de Co(II) con  $k \approx 10^6 \text{ s}^{-1}$ , hasta las de complejos pentaaminados más inertes de Co(III) con constantes cinéticas del orden de  $10^{-6} \text{ s}^{-1}$ . Cuando estas constantes se comparan con las de otros iones metálicos, como por ejemplo Ru(II), también utilizado en este trabajo, el intercambio con el disolvente presenta unos valores intermedios de la velocidad, alrededor de  $10^{-2} \text{ s}^{-1}$ .<sup>[96-99]</sup> Está claro que, a pesar de que el ion Ru(II) tiene la misma configuración inerte que el Co(III), su reactividad es cuatro órdenes de magnitud superior en cuanto a la velocidad.

Las reacciones de sustitución tienen lugar estequiométricamente por unos mecanismos que se clasifican según si es posible detectar, o no, un intermedio de reacción. En la Figura 2.1 se representan los dos casos generales de sustitución. Cuando la reacción transcurre a través de un intermedio verdadero, se encuentran dos casos extremos: asociativo (**A**) y disociativo (**D**) (Figura 2.1a). Por otro lado, cuando no existen especies intermedias, el mecanismo se denomina de intercambio (**I**) (Figura 2.1b).<sup>[20,21,96,100]</sup>



**Figura 2.1.** a) Diagrama energético de un mecanismo **A** o **D**. b) Diagrama energético de un mecanismo **I**.

En resumen, los tres tipos de mecanismos estequiométricos para las reacciones de sustitución se caracterizan por:

**Disociativo (D):** En este mecanismo se produce inicialmente la ruptura total del enlace entre el metal y el ligando saliente. Se forma un intermedio con un número de coordinación inferior al complejo inicial. La etapa determinante de la velocidad corresponde a la disociación del ligando saliente, y es la que presenta una mayor energía de activación. En estos procesos la velocidad de reacción depende principalmente del ligando que se sustituye.

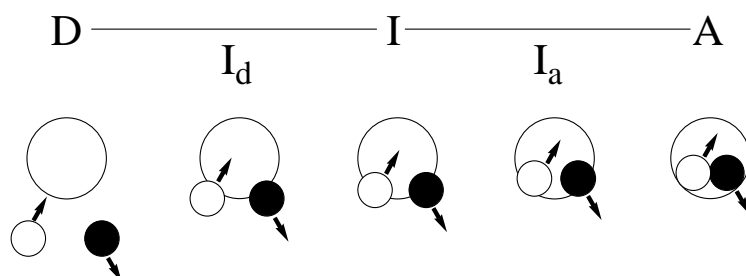
**Asociativo (A):** En este mecanismo la etapa limitante y de mayor energía es la formación del nuevo enlace con el ligando entrante. En este caso el intermedio formado tiene un número de coordinación superior al complejo inicial. En estas condiciones, tanto las características del ligando entrante como saliente (como parte del entorno del ion metálico) modifican de manera significativa la velocidad de reacción.

**Intercambio (I):** En el mecanismo de intercambio no existen especies intermedias en el medio de reacción. La entrada del nuevo ligando y la ruptura del enlace entre el metal y el ligando saliente, tienen lugar de manera simultánea. En este último mecanismo puede realizarse una subdivisión ( $I_a$  o  $I_d$ ), según el grado de coordinación-descoordinación que presenten los ligandos entrante y saliente en el estado de transición. Como consecuencia, se crea una nueva clasificación, denominada de mecanismo íntimo, donde la activación puede ser asociativa o disociativa según la importancia relativa de la ruptura o formación de enlaces en la etapa limitante del proceso.

En términos generales, para complejos octaédricos muchas de las reacciones están activadas disociativamente, especialmente para centros de  $Co(III)$ , y para los compuestos plano-cuadrados la activación asociativa es dominante, a excepción de ciertos complejos organometálicos.<sup>[96,101]</sup> Cabe destacar, sin embargo, que algunos sistemas octaédricos están activados asociativamente, típicamente para metales de

transición voluminosos (segunda y tercera serie) o con un número de electrones d pequeño.

En la Figura 2.2 se muestran esquemáticamente los posibles mecanismos íntimos para las reacciones de sustitución, observándose la gradación citada en cuanto a la activación.<sup>[20,21]</sup> El círculo grande representa la esfera de coordinación del metal y los círculos pequeños, son los ligandos entrantes y salientes del sistema. Cuando los intermedios son identificables en la reacción, los mecanismos existentes son los mostrados en los extremos de la Figura (disociativo (**D**) o asociativo (**A**)), mientras que si el intercambio es sincrónico, el mecanismo es denominado de intercambio (**I**).<sup>[102]</sup> Esto raramente sucede y se encuentran situaciones intermedias como  $I_a$  o  $I_d$  donde alguno de los procesos de formación o ruptura de enlaces es más favorable. La distinción entre los tipos de mecanismos  $I_a$  y **A**, o por otro lado,  $I_d$  y **D**, es un proceso complejo, muchas veces dictado por técnicas espectroscópicas que permitan la detección de especies intermedias en el medio de reacción.<sup>[20,21,100]</sup>

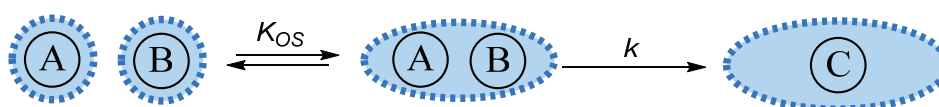


**Figura 2.2.** Representación esquemática de los diferentes mecanismos de sustitución.

### ***Dinámica en solución***

Antes de proceder al estudio detallado de la cinética de los procesos, debe considerarse la dinámica en solución de las especies, es decir, la solvatación y formación de complejos de esfera externa previos a la reacción de sustitución. La presencia de los agregados de esfera externa fue propuesta por primera vez por A. Werner en 1913.<sup>[21]</sup> Éstos se pueden identificar por varias técnicas que incluyen la espectroscopia UV-Vis o de RMN, entre otras. El proceso de formación de estas

especies se representa en el Esquema 2.3 en forma del denominado mecanismo de Eigen-Wilkins,<sup>[20,103]</sup> en el que se definen dos etapas de reacción. En la primera etapa existe una pre-asociación de los reactivos (complejo de esfera externa) en un proceso de equilibrio rápido, el cual produce una esfera de solvatación que incluye las dos especies reactivas. La formación de estos agregados de esfera externa es especialmente favorable cuando mayor es la diferencia entre las cargas de los reactivos. La segunda etapa es propiamente el proceso químico, y es donde tiene lugar la sustitución en nuestro caso. Cabe destacar que, la formación de estos agregados de esfera externa puede producir especies no reactivas, debido a una mala orientación, y por tanto, afectar a la posterior reactividad de los compuestos.<sup>[97,104]</sup>



**Esquema 2.3.** Representación de la reactividad vía formación de complejos de esfera externa.

De la situación representada en el Esquema 2.3, se deriva una ley de velocidad como la indicada en la Ecuación 2.1.<sup>[20]</sup>

$$-d[A]/dt = \frac{kK_{OS}[B]}{1 + K_{OS}[B]} [A] \quad \text{Ecuación 2.1}$$

Cuando el valor de  $K_{OS}[B] \gg 1$ , es decir, todos los reactivos se encuentran en forma de complejo de esfera externa, entonces la Ecuación anterior queda simplificada a una expresión de primer orden:

$$-d[A]/dt = k[A] \quad \text{Ecuación 2.2}$$

La constante de equilibrio de formación del complejo precursor de esfera externa,  $K_{OS}$ , se puede estimar mediante la ecuación de Fuoss-Eigen (Ecuación 2.3).<sup>[102,105,106]</sup> A partir de la termodinámica estadística y leyes cinéticas, esta Ecuación toma en consideración tanto el tamaño, como la carga de los reactivos implicados en la



reacción. De manera sencilla, puede resumirse que los reactivos de gran tamaño y con cargas opuestas interaccionarán más que los reactivos de menor tamaño e igual carga.

$$K_{OS} = \frac{4}{3} \pi a^3 N_A \exp(-V/RT) \quad V = \frac{z_A z_B e^2}{4\pi\epsilon a} \quad \text{Ecuación 2.3}$$

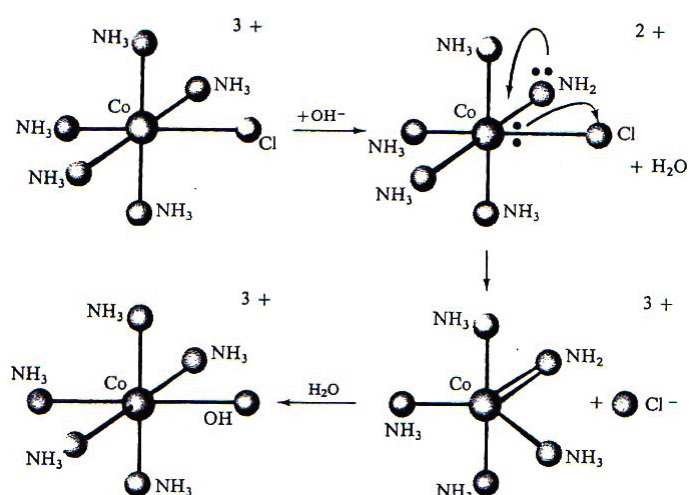
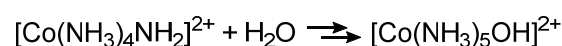
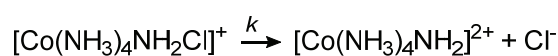
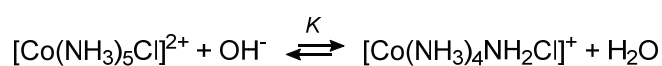
$a$  = distancia mínima entre especies

Como se puede observar en la expresión anterior, el valor de  $K_{OS}$  sólo depende de la carga y de la proximidad entre las especies. A modo de ejemplo, se puede estimar un valor de  $14 \text{ M}^{-1}$  para las interacciones entre dos reactivos con cargas (+2) y (-2) respectivamente, o de alrededor de  $0.15 \text{ M}^{-1}$  si se involucra un catión y una especie neutra.<sup>[21]</sup> De todos modos, también se aprecia un incremento notable de la constante de formación del complejo de esfera externa cuando en el sistema hay involucradas interacciones por enlace de hidrógeno.<sup>[107,108]</sup> Se han encontrado valores alrededor de  $60 \text{ M}^{-1}$  para la interacción entre una especie neutra y una catiónica en presencia de posibles enlaces de hidrógeno, lo que no está de acuerdo con la ecuación de Fuoss-Eigen anteriormente descrita.<sup>[108,109]</sup>

### ***Mecanismo de base conjugada***

El mecanismo de base conjugada representa un aspecto muy importante a tratar en nuestro estudio. Este mecanismo produce una aceleración muy notable de los procesos de sustitución en medio básico y, especialmente en presencia de aminas desprotonables en el complejo metálico.<sup>[101]</sup> El mecanismo fue propuesto por primera vez en 1937 por F. Garrick,<sup>[110]</sup> y se ha desarrollado hasta fechas más recientes mediante cálculos teóricos.<sup>[96,111,112]</sup> Para que tenga lugar este proceso, en general, es necesaria la existencia de al menos un grupo del tipo  $\text{NHR}_2$  coordinado al metal, y resulta especialmente relevante para sistemas activados disociativamente. Destacan entre ellos los sistemas de Co(III) y Ru(III), donde además se ve incrementada la disociatividad del proceso. En el Esquema 2.4 se indica un ejemplo de este tipo de procesos para un compuesto aminado de Co(III), donde, además, se representan las especies involucradas. En este Esquema se puede apreciar inicialmente como el grupo

$\text{OH}^-$  actúa como base, captando uno de los protones de la amina. El complejo desprotonado formado, denominado base conjugada, incrementa su disociatividad por inducción del ligando amiduro sobre uno de los ligandos más lábiles. Posteriormente se produce la entrada rápida final de un ligando acuo sobre el intermedio formado con geometría de bipirámide trigonal, quedando como ligando hidróxido en el complejo final al protonar al grupo amina.



**Esquema 2.4.** Representación del proceso de acuatización por un mecanismo de base conjugada para un complejo pentaamino de  $\text{Co}(\text{III})$ .<sup>[100]</sup>

Las constantes de velocidad asociadas a sistemas que presentan este mecanismo pueden llegar a aumentar hasta en un factor de  $10^8$  respecto al proceso original, dependiendo de la concentración de  $\text{OH}^-$  del medio de reacción.<sup>[100]</sup> Estos procesos se observan generalmente para los cationes metálicos de la primera serie de transición, al ser más pequeños y más polarizantes, permitiendo una mejor desprotonación de los ligandos amina, si se compara con los metales de la segunda serie de transición.<sup>[110]</sup> En este sentido, otro factor determinante para que se produzca este tipo de mecanismo, es la existencia de grupos amina fácilmente desprotonables.

## 2.2 Aspectos cinético-mecanísticos

### Aspectos cinéticos

Generalmente la información cinética que se obtiene de una reacción proviene de la ley de velocidad experimental.<sup>[21,100,113]</sup> Esta ley está asociada a un mecanismo estequiométrico de reacción que se define como una secuencia de etapas elementales que conducen desde los reactivos a los productos. Actualmente existen programas de cálculo para determinar estas velocidades de reacción, donde incluso se estima el número de las posibles especies que aparecen en el sistema.<sup>[114,115]</sup> La velocidad está definida como el cambio de la concentración con el tiempo de uno de los reactivos o productos, y depende, generalmente, de la temperatura, presión y composición del sistema. La expresión de la velocidad de una reacción general  $A + B \rightarrow C$ , es la que se indica en la Ecuación 2.4.

$$v = k [A]^a [B]^b$$

**Ecuación 2.4**

Los valores de  $a$  y  $b$  determinan el orden de la reacción, es decir, si  $a = 1$ , la reacción es de primer orden respecto a A. Para reacciones de segundo orden se encuentran dos posibilidades: cuando  $a = 1$  y  $b = 1$ , o cuando  $a = 2$ . Finalmente, cuando  $a = 0$ , la reacción es de orden cero respecto a A y la velocidad no muestra dependencia con la concentración de esta especie, como se verá más adelante.<sup>[96,101]</sup> El modo en que varía la concentración de A con el tiempo viene determinado por el orden de reacción respecto a esta especie, como se indica en la Ecuación 2.5, donde además se detallan tres situaciones posibles.

$$-d[A] / dt = k [A]^a$$

Si  $a = 0$ :

$$-d[A] / dt = k$$

$$[A]_t = [A]_0 - kt$$

Si  $a = 1$ :

$$-d[A] / dt = k [A]$$

$$\ln[A]_t = \ln[A]_0 - kt$$

Si  $a = 2$ :

$$-d[A] / dt = k [A]^2$$

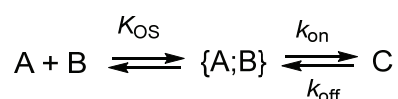
$$1/[A]_t = 1/[A]_0 + kt$$

**Ecuación 2.5**

El tipo de reacción habitual que se considerará en este trabajo es una reacción de primer orden en dos reactivos, con una ley de velocidad:  $v = k[A][B]$ . Para facilitar el tratamiento de los datos, se utilizará un gran exceso de uno de los reactivos (típicamente  $[B]_0 \gg [A]_0$ ) para obtener condiciones de pseudo-primer orden.<sup>[98,101]</sup> En este caso, la concentración de [B], en exceso, no variará sustancialmente durante la reacción ( $[B] \approx [B]_0$ ), y la expresión de la velocidad observada quedará simplificada a:

$$v = k[A][B] = (k[B]_0)[A] = k_{\text{obs}}[A] = -d[A]/dt \quad \text{Ecuación 2.6}$$

La expresión de la constante cinética observada,  $k_{\text{obs}}$ , puede tomar diversas formas. Si se tienen en cuenta los procesos de asociación de especies precursoras mencionados anteriormente, la Ecuación 2.7 representa la situación general, con B como reactivo en exceso.<sup>[20,21,103]</sup>



$$k_{\text{obs}} = \frac{k_{\text{on}}K_{\text{OS}}[B]_0}{1 + K_{\text{OS}}[B]_0} + k_{\text{off}} \quad \text{Ecuación 2.7}$$

La constante  $k_{\text{on}}$  corresponde al proceso de avance desde los reactivos hasta los productos y el término  $k_{\text{off}}$  representa la reacción inversa al proceso estudiado para sistemas de equilibrio.

Frecuentemente se encuentran leyes de velocidad experimentales, que de hecho son derivadas de la Ecuación 2.7, con unas características específicas para cada sistema (Figura 2.3). En resumen, existen tres posibilidades comunes directamente relacionadas con dicha expresión:

- a) El proceso corresponde exactamente a un pre-equilibrio rápido de formación del complejo de esfera externa, seguido de la propia reacción química de sustitución. La ley de velocidad es exactamente la mostrada en la Ecuación 2.7 (Figura 2.3a).<sup>[20]</sup>

- b) La representación de  $k_{\text{obs}}$  frente a la concentración de ligando en exceso es lineal con o sin un valor de ordenada en origen distinto a cero ( $k_{\text{off}}$ ). El comportamiento lineal tiene lugar cuando el valor asociado a  $K_{\text{OS}}$  es pequeño y entonces se puede aproximar  $(1 + K_{\text{OS}}[B]_0) \approx 1$  en la Ecuación 2.7. Así pues, la ley de velocidad queda entonces modificada a la expresión indicada en la Ecuación 2.8, donde el valor de  $k_{\text{on}}'$  se define como  $k_{\text{on}}' = k_{\text{on}}K_{\text{OS}}$  (Figura 2.3b).

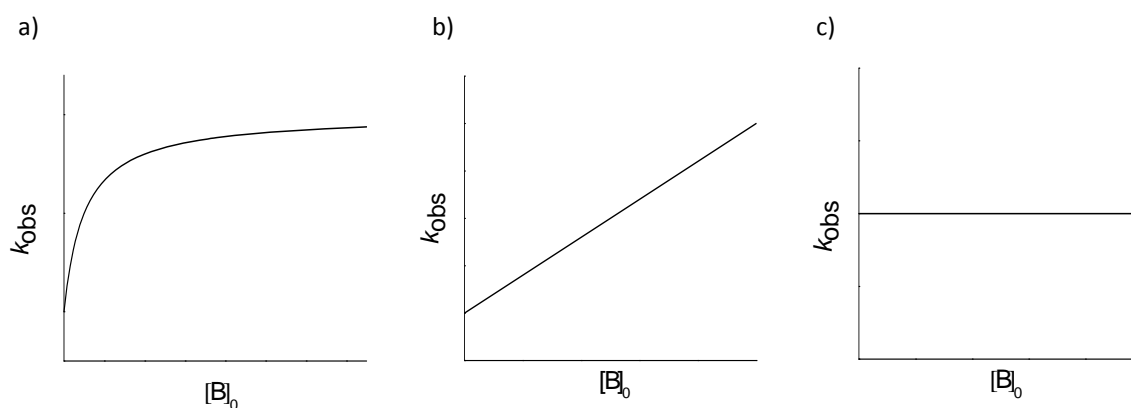
$$k_{\text{obs}} = k_{\text{on}}'[B]_0 + k_{\text{off}}$$

Ecuación 2.8

- c) Si existe una acumulación limitante del complejo de esfera externa, es decir,  $K_{\text{OS}}[B]_0 \gg 1$ , entonces la expresión de la Ecuación 2.7 queda reducida a la Ecuación 2.9, donde no se observa dependencia de la  $k_{\text{obs}}$  con la concentración de ligando en exceso (Figura 2.3c).

$$k_{\text{obs}} = k_{\text{on}} + k_{\text{off}}$$

Ecuación 2.9



**Figura 2.3.** a) Representación de  $k_{\text{obs}}$  en función de  $[B]_0$  según la Ecuación 2.7. b) Representación de  $k_{\text{obs}}$  en función de  $[B]_0$  según la Ecuación 2.8. c) Representación de  $k_{\text{obs}}$  en función de  $[B]_0$  según la Ecuación 2.9.

### **Aspectos termodinámicos de activación**

Una vez establecidos los aspectos cinéticos, el siguiente paso en el estudio es el análisis de la termodinámica de los procesos de activación. De este modo resulta posible la determinación del mecanismo íntimo de las reacciones de sustitución. En general estos parámetros de activación se determinan a partir de la dependencia de la velocidad de reacción con la temperatura y presión de un sistema determinado. A partir del estudio de estos parámetros es posible asignar los diferentes tipos de mecanismos por los que transcurren las reacciones de sustitución.

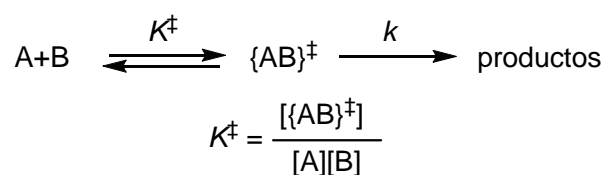
#### *Efecto de la temperatura*

La primera expresión utilizada para cuantificar la dependencia de la constante de velocidad de una reacción química con la temperatura fue propuesta por S. Arrhenius en 1889 (Ecuación 2.10).<sup>[116]</sup> En esta expresión el valor de  $E_a$  corresponde a la energía necesaria para alcanzar un estado en que la reacción tenga lugar,  $R$  es la constante de los gases y  $A$  es un factor preexponencial. Estrictamente, esta Ecuación se puede aplicar únicamente en fase gaseosa y está basada en la observación empírica de que la velocidad de una reacción aumenta de una forma exponencial al incrementar la temperatura.

$$k = A \exp(-E_a/RT)$$

**Ecuación 2.10**

Para el estudio que se realizará en este trabajo, se utilizará el modelo del estado de transición desarrollado con posterioridad por S. Glasstone, J.K. Laidler y H. Eyring.<sup>[117,118]</sup> En el Esquema 2.5 se representa una reacción genérica entre dos reactivos A y B para llegar a los productos pasando por una especie  $\{AB\}^\ddagger$  (complejo activado) en el estado de transición. La ley de velocidad que resulta de esta reacción tiene la expresión mostrada en la Ecuación 2.11.<sup>[21,98,101]</sup> La constante de velocidad  $k$  se puede expresar mediante mecánica estadística, siendo  $k_b$  la constante de Boltzman y  $h$  la constante de Planck.



**Esquema 2.5.** Reacción entre A y B en equilibrio con el complejo activado  $\{AB\}^\ddagger$  que conduce hasta los productos.

$$v = k[\{AB\}^\ddagger] \quad k = \frac{k_b T K^\ddagger}{h} \quad \text{Ecuación 2.11}$$

La energía libre de activación,  $\Delta G^\ddagger$ , relaciona la constante de velocidad con los parámetros termodinámicos de activación gracias a la constante de equilibrio  $K^\ddagger$ , tal como se expresa en la Ecuación 2.12.

$$\Delta G^\ddagger = -RT \ln K^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger \quad \text{Ecuación 2.12}$$

A partir de la Ecuación 2.12 y tras desarrollar las correspondientes expresiones, se obtiene la Ecuación 2.13 (ecuación de Eyring).<sup>[119]</sup> La representación de  $\ln(k/T)$  frente a la inversa de la temperatura es una línea recta con pendiente  $-\Delta H^\ddagger/R$  y ordenada en origen  $\{\ln(k_b/h) + \Delta S^\ddagger/R\}$ , lo que permite la determinación simultánea de los parámetros de activación térmica  $\Delta H^\ddagger$  y  $\Delta S^\ddagger$ . Estos parámetros son la entalpía y entropía de activación respectivamente, y se emplean ampliamente para la discusión de los mecanismos de las reacciones en disolución.<sup>[21]</sup>

$$\ln\left(\frac{k}{T}\right) = \ln\left(\frac{k_b}{h}\right) + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} - \frac{\Delta H^\ddagger}{R} \frac{1}{T} \quad \text{Ecuación 2.13}$$

Los valores de  $\Delta H^\ddagger$  son siempre positivos y se asocian, en el caso de reacciones de sustitución, a la energía necesaria para romper o formar el enlace en la etapa determinante de la velocidad; estos valores son mayores para mecanismos activados disociativamente. Los valores de entropía de activación dependen del tipo de mecanismo que actúa durante el proceso. De un modo simplificado, en una reacción de sustitución, estos valores son positivos para los mecanismos activados

disociativamente (**D** o **I<sub>d</sub>**), puesto que aumenta el desorden; mientras que son negativos para procesos activados asociativamente (**A** o **I<sub>a</sub>**), donde disminuye el desorden en el estado de transición.<sup>[21]</sup> No obstante, los factores solvatacionales pueden dominar los resultados obtenidos en cuanto a  $\Delta S^\ddagger$ . Cuando se trabaja con especies iónicas, éstas ejercen fuerzas electrostáticas de atracción muy fuertes sobre las moléculas de disolvente adyacentes, especialmente si el medio es polar, y producen una variación importante de la ordenación del disolvente implicado en la solvatación al pasar al estado de transición. Este efecto se conoce como electrostricción.<sup>[120]</sup> Así pues, el valor de la entropía de activación constará de dos términos: un término intrínseco ( $\Delta S_{\text{int}}^\ddagger$ ), que representa el cambio entrópico causado por la variación de los ángulos y longitudes de enlace, y un término de electrostricción ( $\Delta S_{\text{elec}}^\ddagger$ ), asociado a los cambios en la entropía debidos a la electrostricción que actúa sobre las moléculas de disolvente que envuelven las especies durante el proceso de activación.<sup>[121]</sup> Se pueden encontrar situaciones diversas a partir de la definición de estos términos, con  $\Delta S_{\text{elec}}^\ddagger < 0$  debido a una separación de cargas en un medio polar, a pesar de que el valor de  $\Delta S_{\text{int}}^\ddagger > 0$ . Otro factor también importante que influye en la determinación del parámetro  $\Delta S^\ddagger$ , es la formación de enlaces por puente de hidrógeno en el estado de transición. Para una gran variedad de sistemas, se ha observado una disminución muy notable en el valor de  $\Delta S^\ddagger$  en procesos que involucran este tipo de interacciones.<sup>[108,122,123]</sup>

#### *Efecto de la presión*

El efecto de la presión sobre la constante cinética  $k$  se puede expresar mediante la ecuación empírica mostrada en la Ecuación 2.14. A partir de esta expresión es posible determinar el valor del volumen de activación,  $\Delta V^\ddagger$ .<sup>[98]</sup>

$$(d \ln k / dP)_T = - \Delta V^\ddagger / RT$$

**Ecuación 2.14**

$$\ln k = \ln k_0 + \frac{\Delta V^\ddagger}{RT} P$$



Este parámetro representa la variación del volumen molar parcial cuando los reactivos se convierten en el complejo activado en el estado de transición, de acuerdo con el Esquema 2.5.<sup>[124-126]</sup> A presiones elevadas esta ecuación no se ajusta al comportamiento real, pero si se opera a las presiones hidrostáticas de trabajo usuales (1-2000 atm), sí que describe correctamente la mayoría de reacciones. El volumen de activación observado es, una vez más, la suma de los componentes intrínsecos y de electrostricción que se han indicado anteriormente para  $\Delta S^\ddagger$ . En sistemas de sustitución simples, o donde solamente los efectos de las cargas sean importantes, el valor de  $\Delta V^\ddagger$  debe mostrar una buena correlación con  $\Delta S^\ddagger$ , con las mismas tendencias en cuanto a la asignación de los mecanismos de los procesos. A pesar de estos hechos, es mucho más fiable el valor del volumen de activación, debido al elevado error experimental intrínseco en la determinación de la entropía de activación. La ausencia de un paralelismo entre  $\Delta S^\ddagger$  y  $\Delta V^\ddagger$  es indicativa de que existen otro tipo de interacciones que tienen un papel importante en los procesos, como pueden ser los enlaces de hidrógeno. Cuando se producen este tipo de interacciones, tiene lugar una ordenación expansiva de las moléculas de disolvente en el estado de transición, lo que implica una disminución en el valor de la entropía pero con un aumento del volumen.

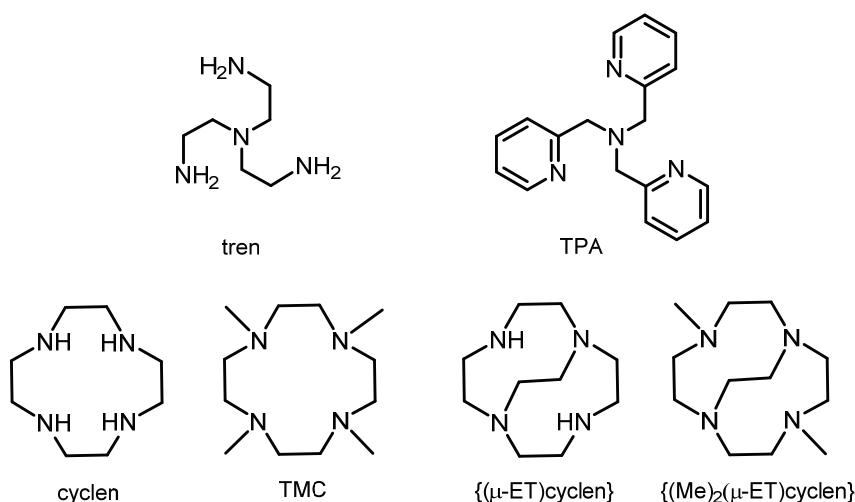
## **CAPÍTULO 3**

### *SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN*



Como ya se ha mencionado en la Introducción (Capítulo 1), el objetivo de nuestro trabajo es la obtención de complejos de metales de transición con dos posiciones sustitucionalmente activas en *cis*. Ésta es la geometría que ha sido ampliamente aceptada como necesaria, dada la posible formación de quelatos que estabilizan y favorecen las interacciones con moléculas biológicamente relevantes.<sup>[4]</sup> Para las reacciones de sustitución cuyo estudio se propone, se han elegido sistemas inertes. De este modo se puede asegurar un buen transporte en el organismo, y una buena intercalación en los casos en que haya posibilidad de interacción con las cadenas de ADN/ARN. Por este motivo, una de las configuraciones ideales para el metal es la  $t_{2g}^6$ , que además permite una buena monitorización por espectroscopia de RMN.

En este estudio se han utilizado metales que aportan ventajas respecto a los complejos de platino, como son el Co(III) y el Ru(II), ambos con configuración  $t_{2g}^6$  de geometría octaédrica. Los complejos propuestos para el estudio de sustitución estarán formados por las dos posiciones sustitucionalmente activas citadas y por un esqueleto inerte. Como punto de partida, este esqueleto inerte lo constituirán los sistemas tetradentados que se indican en la Figura 3.1, que deberán permanecer como espectadores en todas las reacciones de sustitución, evitando la liberación al medio.

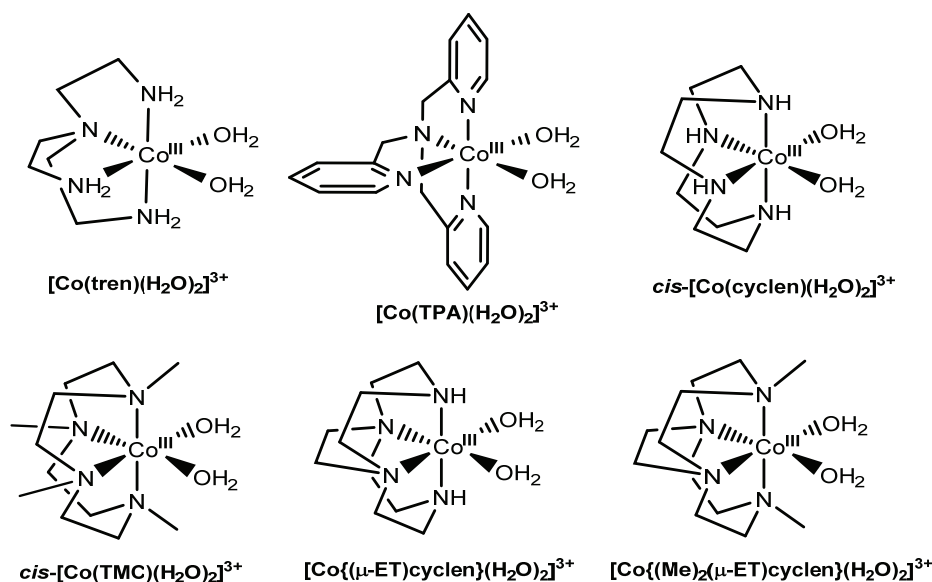


**Figura 3.1.** Sistemas tetradentados utilizados para la síntesis de los complejos de este trabajo.

Para los compuestos preparados, las dos posiciones reactivas en *cis* se han ocupado por ligandos acuo, ya que son las especies solvolíticas en los medios habituales dentro del organismo. El hecho de tener estos ligandos acuo coordinados al metal crea, necesariamente, una dependencia con el pH en las reacciones de sustitución estudiadas. Según el valor de  $pK_a$  de los acuocomplejos, se pueden encontrar *mono-* o *bis-*hidroxoespecies en solución. Estas especies pueden acabar formando unidades diméricas o poliméricas entre los centros metálicos con puentes hidroxilo, como ya se han descrito para compuestos de platino y cobalto,<sup>[24-26,127]</sup> que resultan muy inertes frente a la sustitución.

### 3.1 Compuestos de Co(III)

El objetivo es la obtención de los acuocomplejos de Co(III) mostrados en la Figura 3.2 con los ligandos tetradentados indicados en la Figura 3.1.



**Figura 3.2.** Compuestos propuestos para el estudio de la sustitución de los ligandos acuo en sistemas de Co(III).

Los diacuocomplejos con unidades  $\{\text{Co}^{\text{III}}(\text{tren})\}$  y  $\{\text{Co}^{\text{III}}(\text{TPA})\}$  presentan unas posiciones activas en *cis* no equivalentes. Este efecto deberá producir una reactividad

diferenciada en la sustitución para los dos ligandos acuo, que afectará también al valor de  $pK_a$  de los complejos.

Para la unidad *cis*-{Co<sup>III</sup>(cyclen)}, el compuesto existe como una mezcla de isómeros *sin/anti*, *sin/sin* y *anti/anti* para los grupos *NH* ecuatoriales del ligando macrocíclico en el medio de reacción, teniendo como especie mayoritaria el isómero *sin/anti*.<sup>[128-130]</sup> Al modificar el ligando tetradentado con los grupos *N* parcial o totalmente substituidos, como los ligandos {(μ-ET)cyclen}, {(Me)<sub>2</sub>(μ-ET)cyclen} y TMC (Figura 3.1), se obvian estas formas que pasan a ser forzosamente *anti/anti* y *sin/sin* respectivamente. Además, esta sustitución total del grupo *N*-dador permite modular el aumento de la reactividad de estas especies por un mecanismo de base conjugada a pHs cercanos a la neutralidad.

La síntesis de todos estos compuestos de Co(III) no tuvo complicaciones y se formaron los complejos deseados a excepción de la especie *cis*-[Co(TMC)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup>. A pesar de seguir la vía sintética descrita para sus análogos,<sup>[46,95,131,132]</sup> no se consiguió coordinar el ligando TMC (1,4,7,10-tetrametilcyclen) al metal y las soluciones obtenidas fueron de Co(II). Este hecho debe asociarse al impedimento estérico de los grupos metilo del ligando cuando tiene lugar la incorporación del centro metálico en la cavidad del macrociclo.

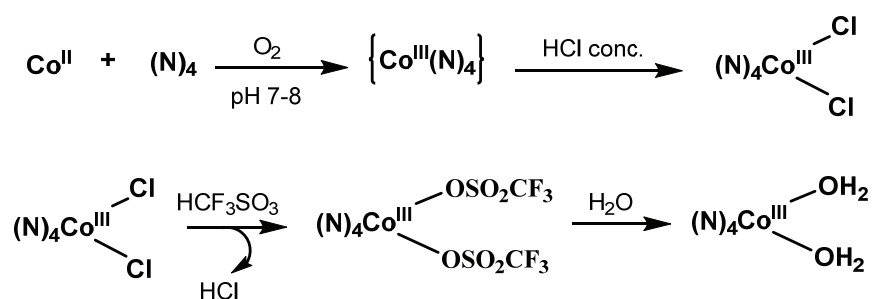
### 3.1.1 Síntesis de los compuestos de Co(III)

Los complejos de Co(III) que se han sintetizado en este trabajo son: [Co(tren)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, [Co(TPA)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, *cis*-[Co(cyclen)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, [Co{(μ-ET)cyclen}(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> y [Co{(Me)<sub>2</sub>(μ-ET)cyclen}(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> (Figura 3.2). Su preparación se ha llevado a cabo según la metodología descrita en la bibliografía,<sup>[46,95,133,134]</sup> tal como se detalla en el Experimental (Capítulo 7). Los compuestos [Co(TPA)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> y [Co{(μ-ET)cyclen}(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> han sido preparados por primera vez en este trabajo.

La técnica preparativa para estos cobaltocomplejos se basa en las dos vías clásicas para la formación de este tipo de compuestos.<sup>[135]</sup> Los complejos *cis*-[Co(cyclen)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, [Co(tren)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> y [Co(TPA)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, se han obtenido por reacción directa de una sal de Co(II) con el ligando tetradentado adecuado y posterior oxidación del metal. Para los compuestos [Co{(μ-ET)cyclen}(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> y [Co{(Me)<sub>2</sub>(μ-ET)cyclen}(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, se ha utilizado un sintón de Co(III) cuya labilidad está modulada mediante ligandos relativamente lábiles. A continuación se detallan las dos vías de síntesis utilizadas.

### Complejación directa

Para este procedimiento se parte de una sal de Co(II), típicamente CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, y el ligando tetradentado adecuado para cada síntesis. El pH se mantiene ligeramente básico para asegurar la forma desprotonada de las aminas del ligando tetradentado en el medio de reacción. Para la posterior oxidación del centro metálico, se somete la muestra a una corriente de aire y se precipita el diclorurocomplejo por la adición de HCl concentrado. Se disuelve el compuesto *cis*-[Co(N)<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>]Cl aislado en ácido triflico concentrado, con corriente de N<sub>2</sub> para eliminar el HCl formado, y se obtiene el intermedio *cis*-[Co(N)<sub>4</sub>(CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>. Éste, al disolverse en agua, produce la substitución rápida de los ligandos triflato lábiles por agua, dando el producto final deseado (Esquema 3.1).

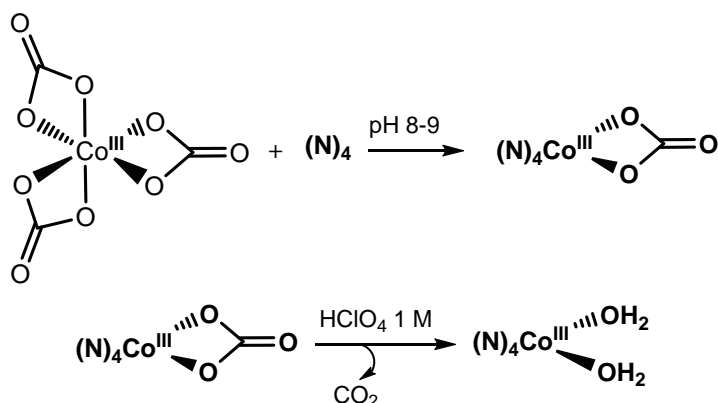


**Esquema 3.1.** Preparación de los complejos de Co(III) vía reacción directa sal de Co(II) con el ligando tetradentado.

### Utilización de un sintón de Co(III)

Para este proceso se parte de una especie relativamente lábil de Co(III), en nuestro caso *trans*-[Co(py)<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>]Cl o Na<sub>3</sub>[Co(CO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>]·3H<sub>2</sub>O, que al reaccionar con el ligando tetradentado, produce la substitución directa de los ligandos.

Para el compuesto [Co{(μ-ET)cyclen}(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, se ha utilizado como precursor el *trans*-[Co(py)<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>]Cl que al reaccionar con el ligando (N)<sub>4</sub> forma la especie *cis*-[Co(N)<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>]Cl. El diacuocomplejo se obtiene finalmente, en este caso, siguiendo las mismas etapas mostradas en el Esquema 3.1. En el Esquema 3.2 se detallan los pasos de síntesis para la formación del compuesto [Co{(Me)<sub>2</sub>(μ-ET)cyclen}(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, a partir del precursor Na<sub>3</sub>[Co(CO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>]·3H<sub>2</sub>O. Éste reacciona con el ligando tetradentado para formar el η<sup>2</sup>-carbonatocomplejo; la simple disolución de este compuesto en medio ácido nos proporciona la especie deseada.



**Esquema 3.2.** Preparación de los complejos de Co(III) vía sintón lábil de Co(III) con el precursor Na<sub>3</sub>[Co(CO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>]·3H<sub>2</sub>O.

### 3.1.2 Caracterización de los compuestos de Co(III)

La caracterización de los compuestos de Co(III) se ha llevado a cabo por espectroscopia electrónica y de resonancia magnética nuclear. Se han determinado los pK<sub>a</sub> de las acuoespecies y, en los casos que ha sido posible, se ha determinado su estructura cristalina mediante difracción de rayos-X.



### ***Espectroscopia UV-Vis***

Se ha registrado el espectro electrónico de cada uno de los compuestos de Co(III) en el intervalo de 300 a 750 nm en disolución acuosa. Para todos ellos se observan dos bandas correspondientes a las transiciones  ${}^1T_{1g} \leftarrow {}^1A_{1g}$  y  ${}^1T_{2g} \leftarrow {}^1A_{1g}$  de las especies de Co(III).<sup>[102]</sup> Las medidas se han realizado a una concentración de HClO<sub>4</sub> 0.1 M para asegurar la existencia única de las diacuoespecies. Los valores de  $\lambda_{\max}$  y sus correspondientes coeficientes de extinción ( $\epsilon$ ) se muestran en la Tabla 3.1. En los casos ya descritos, estos valores se corresponden perfectamente a los de la bibliografía.<sup>[46,95]</sup>

**Tabla 3.1.** Valores de  $\lambda_{\max}$  y de sus coeficientes de extinción ( $\epsilon$ ) de los acuocomplejos de Co(III) sintetizados en este trabajo (0.1 M HClO<sub>4</sub>).

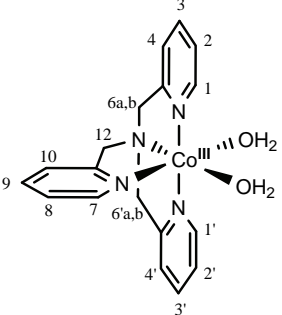
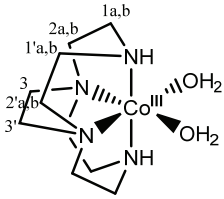
| Especie  | $\lambda_{\max} / \text{nm} (\epsilon / \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1})$ | $\lambda_{\max} / \text{nm} (\epsilon / \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1})$ |
|--|--|--|
| [Co(tren)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ] <sup>3+</sup>                           | 350 (100)  | 505 (105)  |
| * [Co(TPA)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ] <sup>3+</sup>                          | 360 (230)  | 495 (180)  |
| <i>cis</i> -[Co(cyclen)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ] <sup>3+</sup>             | 360 (135)  | 500 (180)  |
| * [Co{(μ-ET)cyclen}(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ] <sup>3+</sup>                 | 360 (110)  | 490 (180)  |
| [Co{(Me) <sub>2</sub> (μ-ET)cyclen}(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ] <sup>3+</sup> | 380 (145)  | 515 (240)  |

\* Caracterizados por primera vez en este trabajo.

### ***Resonancia magnética nuclear***

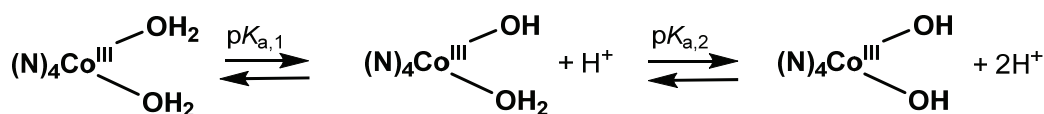
Para los compuestos de Co(III) descritos en la bibliografía, *cis*-[Co(cyclen)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, [Co(tren)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> y [Co{(Me)<sub>2</sub>(μ-ET)cyclen}(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, las señales de su espectro de RMN de <sup>1</sup>H y de <sup>13</sup>C coinciden con las descritas,<sup>[46,95]</sup> y se detallan en el Experimental (Capítulo 7). Cabe destacar que para el complejo *cis*-[Co(cyclen)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup>, se pueden distinguir las geometrías correspondientes a las orientaciones *sin/anti* de los grupos NH en posición ecuatorial del macrociclo en su espectro de RMN de <sup>13</sup>C. Para las nuevas especies de Co(III) sintetizadas en este trabajo, [Co(TPA)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> y [Co{(μ-ET)cyclen}(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup>, el valor de los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) y su respectiva multiplicidad en los espectros de RMN de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C se detallan en la Tabla 3.2.

**Tabla 3.2.** Valores de los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) y su multiplicidad de los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  para los nuevos complejos de Co(III) sintetizados en este trabajo.

| Especie /Disolvente  | $\delta$ /ppm (multiplicidad,{asignación})  |
|--|---|
| $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+} / \text{D}_2\text{O}$                     | RMN $^1\text{H}$<br>4.7 (d,2H{6a}); 5.1 (s,2H{12}); 5.2 (d,2H{6b}); 7.2 (d,1H{10}); 7.5 (t,1H{8}); 7.6 (t,2H{2}); 7.7 (d,2H{4}); 7.8 (t,1H{9}); 8.1 (t,2H{3}); 8.4 (d,1H{7}); 8.7 (d,2H{1}) |
| $[\text{Co}\{\mu\text{-ET}\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+} / \text{D}_2\text{O}$  | RMN $^1\text{H}$<br>3.0 (m,4H{1a}); 3.4 (m,4H{1b}); 3.6 (m,4H{2a}); 3.7 (s,4H{3}); 4.1 (m,4H{2b})   |
|  | RMN $^{13}\text{C}$<br>57.6{3}; 62.8{2}; 63.2{1}  |

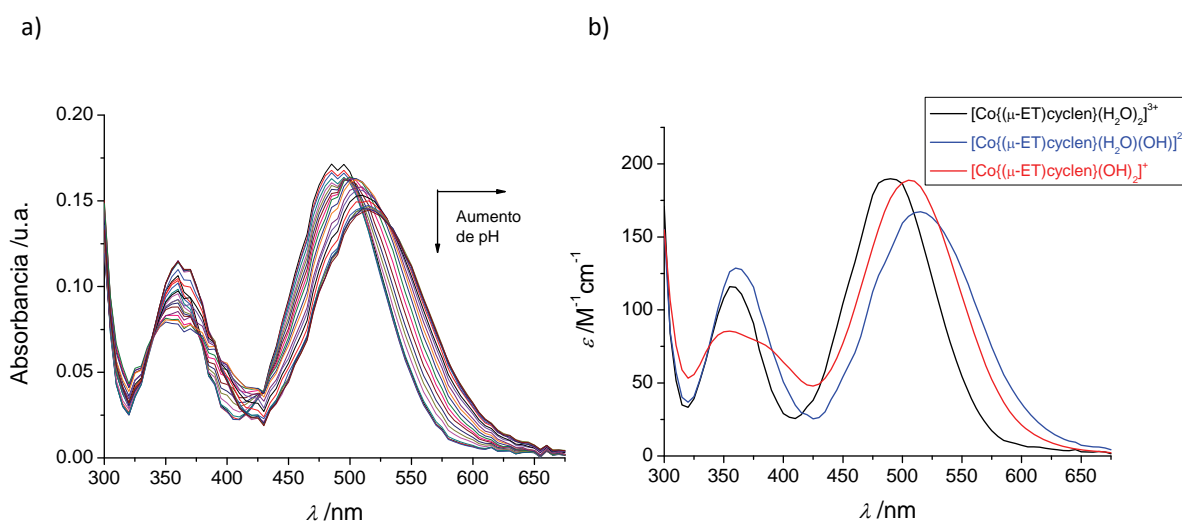
### Determinación de las constantes de acidez

La determinación de los valores de  $\text{p}K_a$  de las acuoespecies de Co(III) preparadas, se ha realizado tanto por potenciometría como por espectroscopia electrónica en disolución acuosa, tal como se describe en el Experimental (Capítulo 7). El Esquema 3.3 muestra, de un modo simple, las reacciones que intervienen para todos los diacuocomplejos de Co(III) estudiados en este trabajo. En estos experimentos el tiempo de adición/equilibrado del valorante es de gran importancia dada la posible contribución de equilibrios en solución que llevan a la formación de especies dimeras de Co(III). Estos equilibrios en solución se estudiarán en más detalle en capítulos posteriores. Como procedimiento estándar la adición ha sido rápida para evitar al máximo la formación de estas especies dimeras en el medio de reacción.



**Esquema 3.3.** Equilibrios ácido-base para las especies de Co(III) estudiadas en este trabajo.

En la Figura 3.3 se muestra un ejemplo de valoración por espectroscopia electrónica; el tratamiento de datos se hace mediante el programa SPECFIT,<sup>[114]</sup> como se detalla en el Experimental (Capítulo 7). Esta metodología aporta ventajas respecto a la valoración potenciométrica, ya que permite trabajar con concentraciones más bajas de complejo metálico y se obtiene una estimación de los espectros electrónicos de las especies involucradas (Figura 3.3b).



**Figura 3.3.** a) Valoración por espectroscopia electrónica de la especie  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  a una concentración  $1 \times 10^{-3}$  M (0.01 M de  $\text{HClO}_4$ ) con  $\text{NaOH}$  0.1 M; 25 °C,  $I = 1$  ( $\text{NaClO}_4$ ). b) Espectros electrónicos calculados para las especies involucradas en los equilibrios ácido-base para el complejo  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ .

Los valores de los  $pK_a$  para todos los diacuocomplejos sintetizados en este trabajo se muestran en la Tabla 3.3, y para los compuestos ya descritos se corresponden con los indicados en la bibliografía.<sup>[134,136-138]</sup>

**Tabla 3.3.** Valores de los  $pK_a$  de los acuocomplejos de Co(III) preparados en este trabajo.

| Especie   | $pK_{a,1}$ | $pK_{a,2}$ |
|---|------------|------------|
| $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$                                 | 5.5        | 8.0        |
| * $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$                                | 3.3        | 6.8        |
| <i>cis</i> - $[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$                  | 5.6        | 8.0        |
| * $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$            | 5.1        | 7.4        |
| $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ | 3.7        | 7.1        |

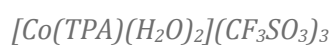
\* Caracterizados por primera vez en este trabajo.

Para las especies *cis*- $[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ ,  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , y  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , el diferente grado de sustitución de los grupos amino del ligando tetradentado está relacionado con la acidez de los ligandos acuo. Aunque la progresiva sustitución de los grupos amino conduce a una mayor basicidad de la amina por efectos inductivos, este factor no parece trasladarse del mismo modo al centro de Co(III). En este caso las basicidades de Brønsted y Lewis van en direcciones opuestas, seguramente por efectos estéricos tal como ya se ha descrito en compuestos similares.<sup>[139]</sup>

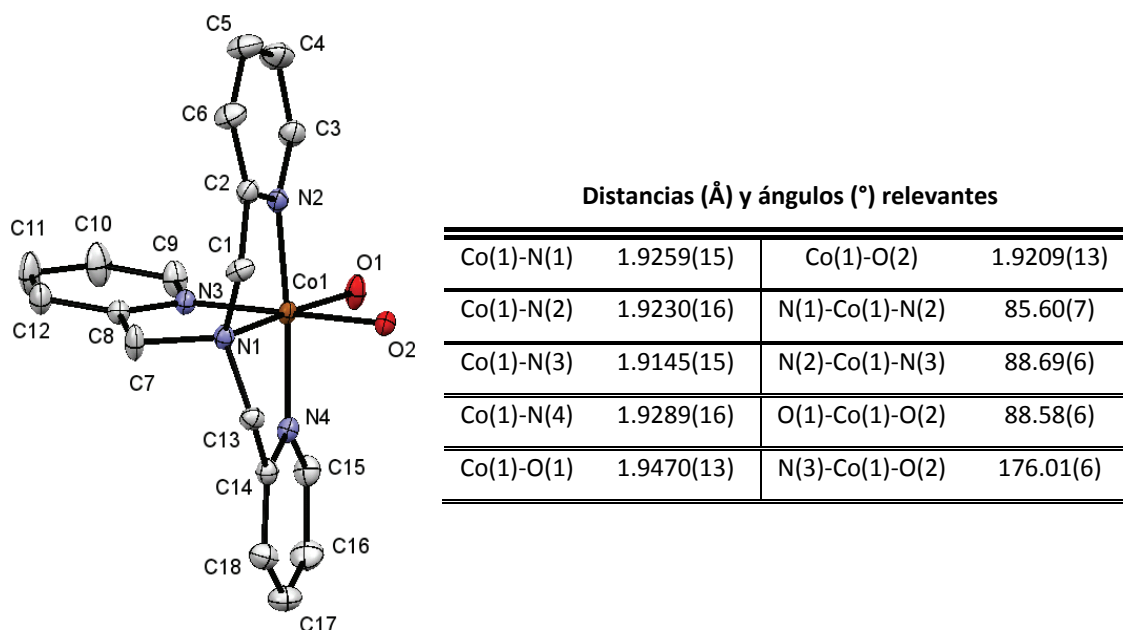
Para los complejos con ligandos tripodales,  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  y  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , los dos ligandos acuo no son equivalentes, por lo que las diferencias entre  $pK_{a,1}$  y  $pK_{a,2}$  han de ser debidas a razonamientos distintos. Para la especie  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , el  $pK_{a,1}$  corresponde al ligando acuo en *trans* a la amina primaria, mientras que para el complejo  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , el  $pK_{a,1}$  se asocia al ligando acuo en *trans* al grupo imina.<sup>[134,140]</sup> El valor de  $pK_{a,2}$  para estos compuestos corresponde al ligando acuo en *trans* a la amina terciaria. En este caso el efecto inductivo que producen los sustituyentes de la amina terciaria sí que está en concordancia directa con los hechos experimentales, proporcionando más densidad de carga al metal, dando lugar a especies más básicas.

**Estructuras cristalinas**

Tal como se ha indicado, para alguno de los compuestos de Co(III) preparados en este trabajo, se ha podido realizar la difracción de rayos-X de monocristal de un modo satisfactorio. Las estructuras analizadas por este método han sido:  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$ ,  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$  y  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$ . En los dos primeros casos, se trata de nuevos compuestos, mientras que la tercera estructura ya estaba descrita en la bibliografía.<sup>[46]</sup>



Para el nuevo catión  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  se ha obtenido la estructura de alta resolución indicada en la Figura 3.4, donde además se resumen las distancias y ángulos de enlace más importantes. En la Tabla B.1 del Apéndice B se indican todos los parámetros cristalográficos para la estructura del complejo  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$ . Gracias a la estructura tripodal del ligando tetradentado TPA, se fuerza una disposición en *cis* para los ligandos acuo coordinados al metal. En esta estructura se pueden observar unos ángulos de 92° y 170° entre los grupos dadores del ligando TPA, lo que proporciona una geometría de coordinación octaédrica ligeramente distorsionada. Las variaciones en las distancias Co-O y Co-N de esta molécula, son debidas a la distinta naturaleza de los grupos amino e imino del ligando tetradentado, lo que diferencia los ligandos acuo coordinados al metal. La distinción entre los ligandos acuo del complejo está asociada, también, a los valores de las constantes de acidez mencionados anteriormente. El primer valor de  $pK_a$  corresponde al ligando acuo en *trans* a la imina, que se relaciona con una distancia más corta para el enlace Co(1)-O(2).

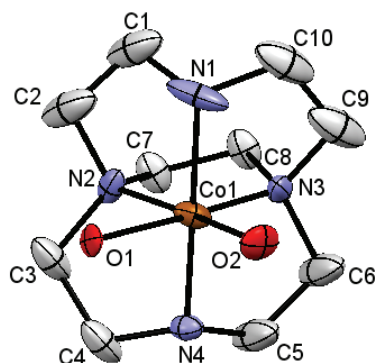


**Figura 3.4.** Diagrama ORTEP del catión del nuevo complejo  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$  y distancias y ángulos de enlace más relevantes. Los elipsoides indican un 55 % de probabilidad.



Para el nuevo compuesto  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$ , las distancias y ángulos de enlace para el catión complejo más relevantes, determinadas por difracción de rayos-X, se resumen en la tabla de la Figura 3.5. Esta estructura es de más baja resolución que el compuesto anterior,  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$ . En la Tabla B.2 del Apéndice B aparecen los parámetros cristalográficos para esta molécula con geometría de coordinación octaédrica. Para este compuesto se fuerza una disposición en *cis* de las dos aguas equivalentes coordinadas al metal por la forma del ligando macrocíclico. En la tabla de la Figura 3.5, se pueden observar unas distancias Co-N más cortas para los enlaces Co-N2 y Co-N3, debido a la mayor rigidez que le proporciona la unidad etilen coordinada a estos grupos amino del ligando tetradentado. Esta disminución también afecta al ángulo N2-Co-N3, siendo menor que para el compuesto análogo de cyclen ( $90.0^\circ$  frente a  $98.7^\circ$ ). El ligando macrocíclico también fuerza un ángulo N(1)-Co(1)-N(4) notablemente inferior a los  $180^\circ$  esperados para una geometría de coordinación

octaédrica, así como unos ángulos mayores a  $90^\circ$  entre los átomos N-Co-O del complejo de cobalto.



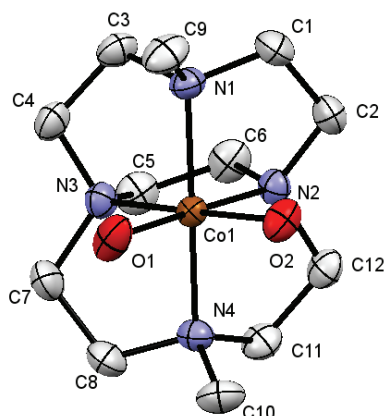
Distancias (Å) y ángulos ( $^\circ$ ) relevantes

|            |          |                 |           |
|------------|----------|-----------------|-----------|
| Co(1)-N(1) | 1.953(3) | Co(1)-O(2)      | 1.901(4)  |
| Co(1)-N(2) | 1.904(4) | N(1)-Co(1)-N(4) | 169.02(9) |
| Co(1)-N(3) | 1.892(4) | N(2)-Co(1)-N(3) | 90.04(8)  |
| Co(1)-N(4) | 1.959(4) | O(1)-Co(1)-O(2) | 85.41(9)  |
| Co(1)-O(1) | 2.059(5) | N(1)-Co(1)-O(1) | 95.55(9)  |

**Figura 3.5.** Diagrama ORTEP del cation del nuevo complejo  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$  y distancias y ángulos de enlace más relevantes. Los elipsoides indican un 55 % de probabilidad.



El diagrama ORTEP de la estructura cristalina determinada para el cation del complejo  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$ , ya descrito anteriormente en la bibliografía,<sup>[46]</sup> se muestra en la Figura 3.6, así como las distancias y ángulos de enlace más relevantes. Esta molécula presenta un cation complejo con los dos ligandos acuo en *cis* equivalentes, igual que para el compuesto análogo anterior,  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$ . En la Tabla B.3 del Apéndice B se resumen los parámetros cristalográficos para este compuesto, que coinciden con los ya descritos. Para este compuesto, también se encuentran distancias Co(1)-N(2) y Co(1)-N(3) más cortas para los grupos amino coordinados a la unidad etilen. Este ligando macrocíclico también fuerza un ángulo de N(1)-Co(1)-N(4) inferior a los  $180^\circ$  esperados, con el consecutivo aumento de los ángulos N-Co-O, distorsionando ligeramente el octaedro de coordinación del centro metálico.



Distancias (Å) y ángulos (°) relevantes

|            |          |                 |           |
|------------|----------|-----------------|-----------|
| Co(1)-N(1) | 2.002(2) | Co(1)-O(2)      | 1.974(2)  |
| Co(1)-N(2) | 1.914(2) | N(1)-Co(1)-N(2) | 84.77(8)  |
| Co(1)-N(3) | 1.911(2) | N(1)-Co(1)-N(4) | 170.12(9) |
| Co(1)-N(4) | 2.003(2) | O(1)-Co(1)-O(2) | 84.82(9)  |
| Co(1)-O(1) | 1.940(2) | N(1)-Co(1)-O(1) | 98.33(9)  |

**Figura 3.6.** Diagrama ORTEP del catión del complejo  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$  y distancias y ángulos de enlace más relevantes. Los elipsoides indican un 55 % de probabilidad.

### Comparación de estructuras cristalinas

La comparación de las estructuras cristalinas presentadas con las de los compuestos análogos  $\text{cis-}[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_3$  y  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_3$ , resulta en distancias y ángulos de enlace muy similares para los dos tipos de entorno octaédrico.<sup>[46,52,141]</sup> Todas estas estructuras se obtienen con una geometría *cis* para los ligandos acuo coordinados al metal. Para los complejos  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_3$  y  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$ , las diferencias en distancias y ángulos provienen de la distinta naturaleza de los grupos dadores del ligando tetradentado que, además, inducen a una distinción entre los ligandos acuo coordinados al metal. Para los complejos  $\text{cis-}[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_3$ ,  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$  y  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$ , la mayor diferencia es debida al grado de sustitución de los grupos amino del ligando macrocíclico, forzando alguno de los parámetros estructurales por efectos estéricos. Otro factor a destacar para estas estructuras, es que la unidad etilen de los ligandos  $\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}$  y  $\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}$ , proporciona una rigidez que diferencia algunas de las distancias y ángulos con el complejo análogo de cyclen. Además, esta unidad distorsiona ligeramente el entorno octaédrico del Co(III), con ángulos de enlace distintos a los esperados.

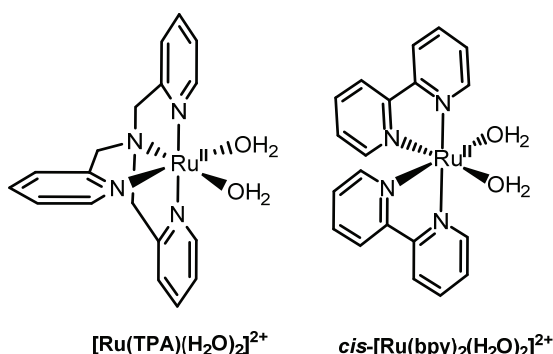


### 3.2 Compuestos de Ru(II)

Para los complejos de Ru(II), el objetivo inicial era la preparación de los acuocomplejos análogos a los caracterizados para el Co(III). Por consiguiente, se procedió a la síntesis del compuesto *cis*-[Ru(cyclen)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> descrito en la bibliografía.<sup>[142-144]</sup> Desafortunadamente, el compuesto obtenido no resulta estable en solución acuosa, medio en el que se produce la oxidación del ligando macrocíclico cyclen, cuando el pH es cercano a la neutralidad. La especie sólo es estable a pH ácido o en disolventes orgánicos, trabajando en condiciones anaeróbicas para evitar procesos de oxidación del Ru(II).<sup>[144,145]</sup> Consecuentemente, los sucesivos intentos se basaron en compuestos de Ru(II) con ligandos sin unidades CH-NH, que causan la reactividad redox de las especies; ligandos como el TPA y {(Me)<sub>2</sub>(μ-ET)cyclen}.

Para la preparación del compuesto [Ru{(Me)<sub>2</sub>(μ-ET)cyclen}(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, el resultado tampoco ha sido satisfactorio a pesar de seguir el procedimiento experimental descrito para compuestos similares.<sup>[46,146]</sup> El producto preparado descompone en contacto con el aire, con la producción de especies de Ru(III), en las condiciones establecidas para el estudio cinético-mecanístico. Estos hechos se pueden asociar a que el tamaño del ion de Ru(II) es mayor que el de Co(III), lo que dificulta su coordinación en la cavidad de la unidad cyclen, imposibilitando la estabilización de ninguno de sus derivados en presencia de otros ligandos abundantes en el medio como es el agua.

En vista de esta problemática, se han preparado como alternativa los acuocomplejos de Ru(II) que aparecen en la Figura 3.7. Se escogieron estas estructuras indicadas, basándonos en datos bibliográficos que mostraban un comportamiento interesante como agentes antitumorales, mediante la intercalación de los anillos aromáticos en las cadenas del ADN/ARN.<sup>[75,78,147]</sup> Además, la elección de la especie *cis*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> es también debida a que posee una metodología de síntesis muy bien establecida, y con una estabilidad indefinida en solución acuosa.

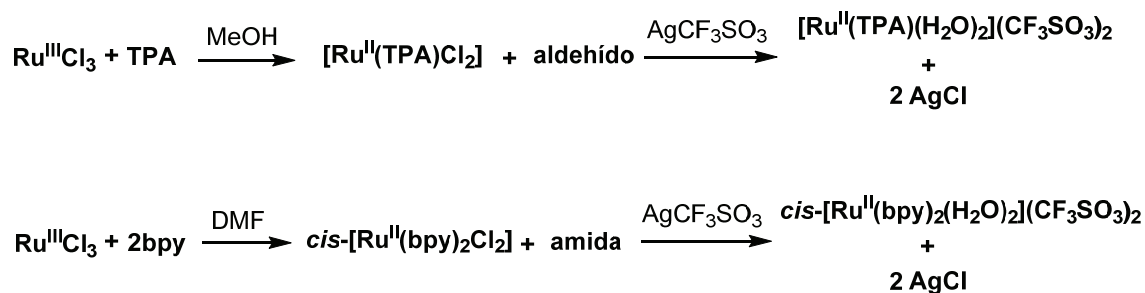


**Figura 3.7.** Complejos de Ru(II) con dos posiciones substitutivamente activas en *cis* sintetizados en este trabajo.

### 3.2.1 Síntesis de los compuestos de Ru(II)

Tal como se ha indicado, los compuestos de Ru(II) sintetizados en este trabajo para el estudio de la substitución de las dos aguas reactivas en *cis*, son los que aparecen en la Figura 3.7 y se han preparado según la metodología descrita en la bibliografía.<sup>[146,148]</sup>

La síntesis se ha realizado según el procedimiento que se detalla en el Experimental (Capítulo 7). Se parte de Ru(III), en forma de  $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , que se reduce a Ru(II) por el disolvente para formar el complejo deseado. Para la obtención del complejo  $[\text{Ru}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$ , se utiliza metanol como reductor, mientras que para el compuesto  $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$ , la *N,N*-dimetilformamida es la que actúa como reductor. En estos procesos de reducción se forman los diclorurocomplejos correspondientes, siempre en disposición *cis*, que en disolución acuosa y con sales de Ag(I), producen los diacuocomplejos de Ru(II). En el Esquema 3.4 se recogen estos métodos de síntesis esquemáticamente.



**Esquema 3.4.** Metodología de síntesis para los compuestos de Ru(II) utilizados en este trabajo.

### 3.2.2 Caracterización de los compuestos de Ru(II)

Los compuestos de Ru(II) obtenidos en este trabajo se han caracterizado por espectroscopia electrónica y de resonancia magnética nuclear. Se han determinado los valores de las constantes de acidez de los acuocomplejos y se han realizado estudios voltamperométricos para la determinación de sus potenciales redox.

#### ***Espectroscopia UV-Vis***

Los espectros electrónicos para los compuestos de Ru(II) sintetizados en este trabajo, se han registrado en el margen de 300 a 750 nm y en disolución acuosa 0.1 M de HClO<sub>4</sub>, para asegurar la presencia única de la diacuoespecie. Estos espectros electrónicos presentan unos valores de los coeficientes de extinción ( $\epsilon$ ) muy elevados,<sup>[102]</sup> como corresponde a las bandas de transferencia de carga metal-ligando (MLCT,  $t_{2g} \rightarrow \pi^*$ ).<sup>[78,149]</sup>

La Tabla 3.4 muestra los valores de las  $\lambda_{\text{max}}$  y sus correspondientes coeficientes de extinción molar ( $\epsilon$ ) para las especies de Ru(II) sintetizadas en este trabajo, que coinciden con los valores descritos en la bibliografía.<sup>[146,148,150]</sup> Para el compuesto [Ru(TPA)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> no ha sido posible la determinación del valor de  $\epsilon$  dado que esta especie descompone a las condiciones de trabajo experimentales.

**Tabla 3.4.** Valores de  $\lambda_{\max}$  y de sus coeficientes de extinción ( $\epsilon$ ) de los acuocomplejos de Ru(II) sintetizados en este trabajo (0.1 M HClO<sub>4</sub>).

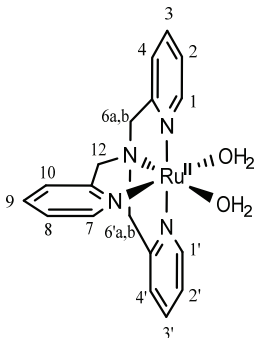
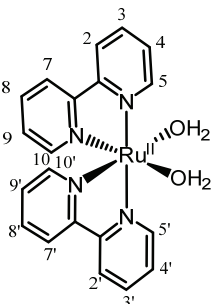
| Especie   | $\lambda_{\max} / \text{nm} (\epsilon / \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1})$ | $\lambda_{\max} / \text{nm} (\epsilon / \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1})$ | $\lambda_{\max} / \text{nm} (\epsilon / \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1})$ |
|---|--|--|--|
| [Ru(TPA)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>                           | 350*   | 395*   | 635*   |
| <i>cis</i> -[Ru(bpy) <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup> | 340 (8260)   | 480 (9770)   | --   |

\* Valor de  $\epsilon$  no determinado debido a la descomposición de la muestra en el medio de reacción.

### Resonancia magnética nuclear

En la Tabla 3.5 se recogen los valores de los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) y su multiplicidad en los espectros de RMN <sup>1</sup>H de las especies de Ru(II) estudiadas en este trabajo, y se corresponden perfectamente con los valores citados en la bibliografía.<sup>[146,150]</sup>

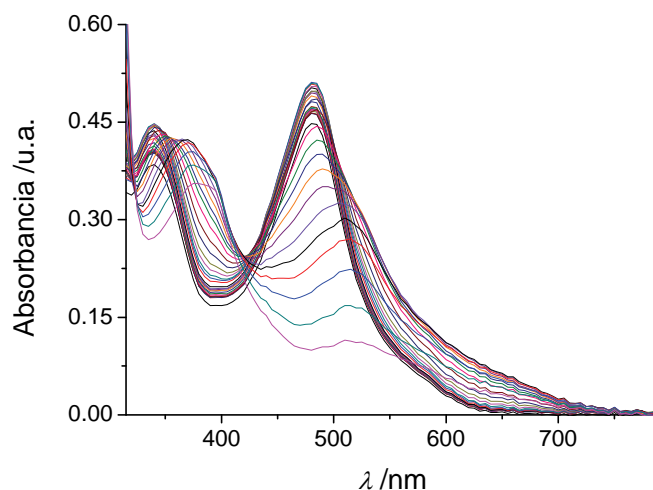
**Tabla 3.5.** Valores de los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) y su multiplicidad de los espectros de RMN de <sup>1</sup>H para los acuocomplejos de Ru(II) sintetizados en este trabajo.

| Especie / Disolvente  | $\delta / \text{ppm}$ (multiplicidad, {asignación})  |
|---|--|
| [Ru(TPA)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup> / CD <sub>3</sub> CN<br>                           | 4.6 (s, 2H{12}); 4.9 (d, 2H{6a}); 5.0 (d, 2H{6b}); 7.1 (d, 1H{10});<br>7.2 (t, 1H{8}); 7.3 (t, 2H{2}); 7.5 (d, 2H{4}); 7.6 (t, 1H{9}); 7.8<br>(t, 2H{3}); 8.7 (d, 2H{1}); 8.9 (d, 1H{7}) |
| <i>cis</i> -[Ru(bpy) <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup> / CD <sub>3</sub> CN<br> | 7.2 (td, 2H{4}); 7.6 (dd, 2H{5}); 7.9 (td, 2H{9}); 8.0 (td, 2H{3});<br>8.3 (td, 2H{8}); 8.4 (dd, 2H{7}); 8.5 (dd, 2H{2}); 9.3 (dd, 2H{10})   |

### Determinación de constantes de acidez

La determinación de las constantes de acidez se ha realizado mediante espectroscopia electrónica para la especie *cis*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> en disolución acuosa. Para el compuesto [Ru(TPA)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> no ha sido posible esta determinación puesto que esta especie descompone en las condiciones de trabajo.

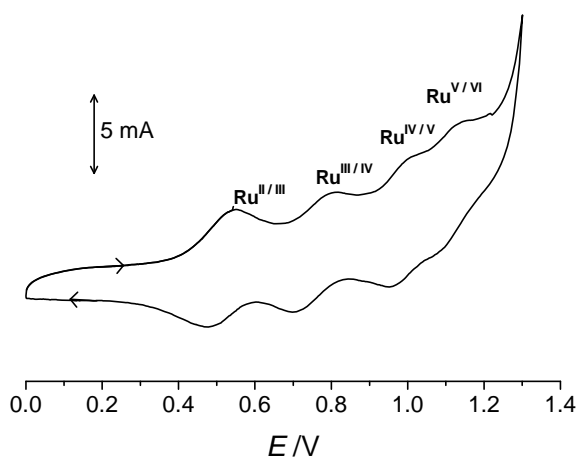
La Figura 3.8 muestra los cambios del espectro electrónico en función del pH para la especie *cis*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>. La compilación de estos cambios espectrales y el valor de pH para cada uno de ellos, permite el cálculo de las constantes de acidez mediante el programa SPECFIT,<sup>[114]</sup> tal como se detalla en el Experimental (Capítulo 7). El valor calculado para estas constantes es de pK<sub>a,1</sub> = 8.7 y pK<sub>a,2</sub> > 11.0, que coinciden con los indicados en la bibliografía.<sup>[150]</sup> Estos valores, notablemente mayores que para los compuestos de Co(III) anteriores, se asocian al menor poder polarizante de un catión (+2) de la segunda serie de transición.



**Figura 3.8.** Valoración por espectroscopia electrónica de la especie *cis*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> a una concentración 1×10<sup>-4</sup> M (0.01 M de HClO<sub>4</sub>) con NaOH 0.1 M; 25 °C, I = 1 (NaClO<sub>4</sub>).

### Estudio voltamperométrico

Para el estudio voltamperométrico del compuesto *cis*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> se ha trabajado en solución acuosa con una concentración de complejo metálico de  $5 \times 10^{-4}$  M, ajustada a una fuerza iónica de 0.1 con NaClO<sub>4</sub>. Al aplicar un barrido de potencial al electrodo de trabajo con una velocidad de 50 mV/s, aparecen 4 señales que, referenciadas respecto al electrodo normal de hidrógeno, son a: 0.71, 0.96, 1.18 y 1.3 V (Figura 3.9). Éstas se corresponden con los valores descritos en la bibliografía.<sup>[150]</sup> La diferencia de potencial entre el pico anódico y el pico catódico de cada par redox corresponde a la transferencia de un electrón con una  $\Delta E \approx 0.059$  V, excepto para el par Ru<sup>III/IV</sup>. La  $\Delta E$  para este par redox es mayor al esperado debido a una componente de irreversibilidad asociada a la pérdida de protones y formación de especies: Ru<sup>IV</sup>=O<sup>2+</sup>.<sup>[150]</sup>



**Figura 3.9.** Voltametría cíclica de una solución acuosa  $5 \times 10^{-4}$  M del complejo *cis*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>, a  $I = 0.1$  (NaClO<sub>4</sub>) y  $v = 50$  mV/s.



## CAPÍTULO 4

*REACCIONES DE SUBSTITUCIÓN SOBRE  
COMPLEJOS DE Co(III)*





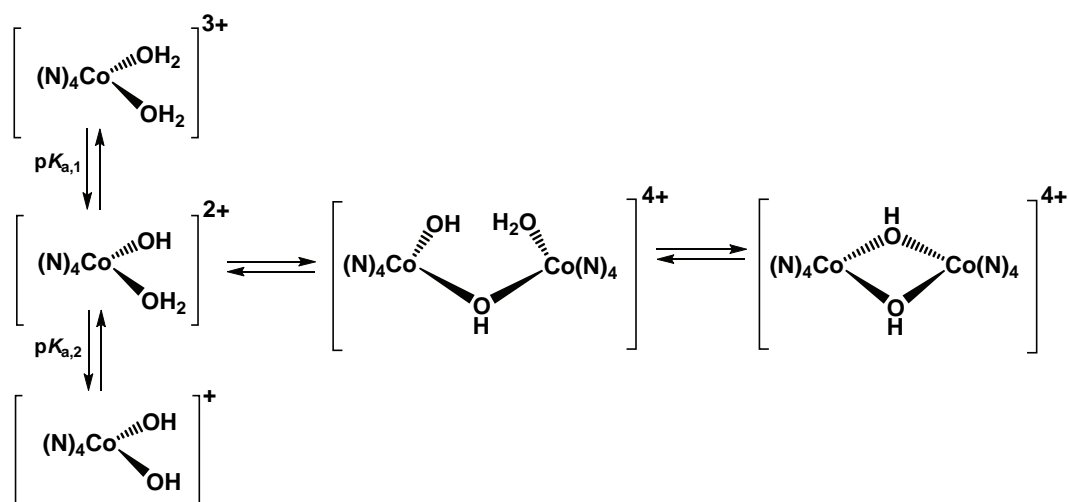
Tal como ya se ha tratado en la Introducción (Capítulo 1), el uso de complejos relativamente inertes de metales de transición en procesos que involucran moléculas biológicamente relevantes como ligandos ha sido ampliamente estudiado, sobre todo para compuestos de Pt(II). Estos sistemas inertes permiten que el complejo pueda mantener su estructura una vez haya interactuado con la molécula diana y que, además, sean inicialmente estables en las condiciones biológicas. Para el diseño general de este tipo de compuestos y para que resulten relevantes, es necesario un esqueleto de coordinación muy inerte y algunas posiciones relativamente lábiles para la sustitución. Estas posiciones reactivas pueden, y deben, interactuar con los grupos dadores de las moléculas biológicas, modificando su reactividad o morfología. La importancia de tener una disposición *cis* de dos de estas posiciones se basa en la posible formación de quelatos que estabilicen y favorezcan las interacciones con esas moléculas.

Para el estudio que se propone en este trabajo sobre reacciones de sustitución con moléculas biológicamente relevantes, el metal inicialmente elegido ha sido el Co(III). Este presenta tanto ventajas como inconvenientes respecto a los compuestos clásicos de Pt(II). En cuanto a las ventajas, cabe destacar que se trata de una alternativa más barata y generalmente menos tóxica; se han observado propiedades antitumorales para algunos compuestos de Co(III) con ciertas enzimas específicas y con muy baja toxicidad.<sup>[29,43,55]</sup> Como inconvenientes, remarcar que, a diferencia del platino, los compuestos de Co(III) siguen generalmente un mecanismo de sustitución activado disociativamente,<sup>[20,21]</sup> lo que no permite una modulación exhaustiva de su interacción con distintas biomoléculas. Por otro lado, destacar también su elevada carga y configuración  $t_{2g}^6$ , que dificulta el paso a través de las membranas y lo hacen químicamente más inerte, respectivamente.

Reproducir *in vitro* las condiciones biológicas es extremadamente difícil, y para poder realizar correctamente el estudio de sustitución sobre estos complejos siempre deben hacerse algunas simplificaciones. Por ejemplo, el pH de las soluciones se debe mantener constante con la ayuda de las soluciones tampón adecuadas y la fuerza

iónica se ajustará a un valor determinado con  $\text{NaClO}_4$ . En este sentido, la elección de la solución tampón resulta vital; la interacción que presentan algunas de las soluciones amortiguadoras, típicamente utilizadas en el estudio con compuestos de este tipo, puede modificar los complejos de partida produciendo reacciones secundarias.<sup>[17,94,151]</sup> Para obviar esta clase de interferencias, se deberá realizar un estudio comparativo de la estabilidad de los acuocomplejos con diferentes soluciones tampón.

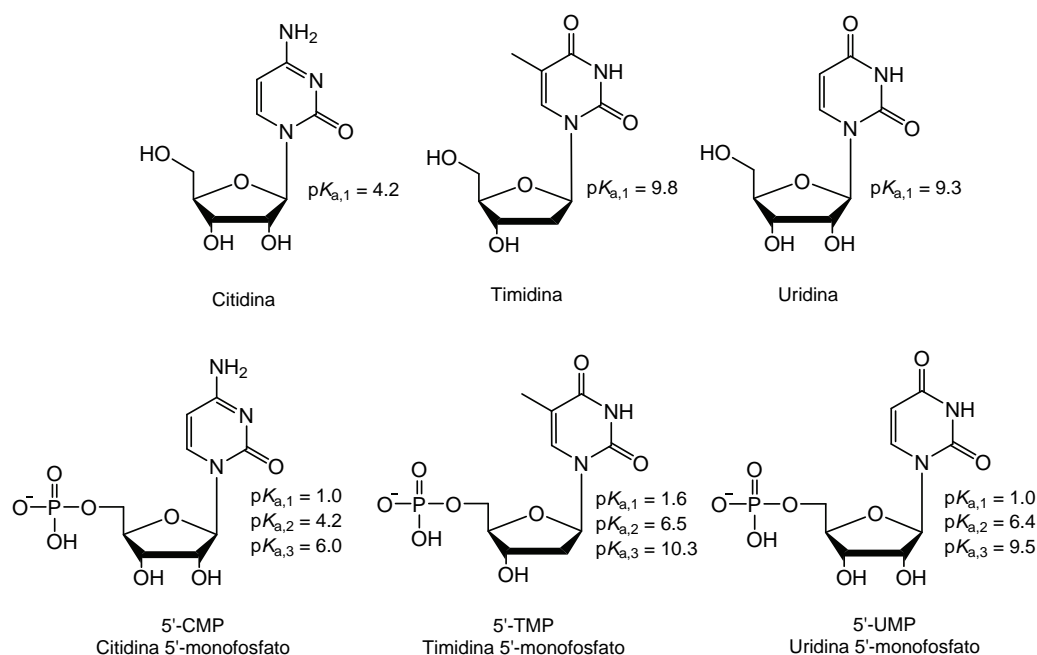
El estudio de sustitución de los acuocomplejos presenta, además, algunas particularidades debido a la naturaleza variable de las especies con el pH del medio de reacción. El hecho de que las aguas coordinadas al metal sean más ácidas que el disolvente, producirá necesariamente una variedad de hidroxoespecies en solución. Además, como ya se ha observado para otros compuestos de Pt(II) y de Co(III), la existencia de estas hidroxoespecies conlleva a la formación de complejos con puentes hidroxilo entre dos o más centros metálicos.<sup>[24-26,127]</sup> Esto puede enmascarar o propiciar algunas reacciones de sustitución como las que se pretende observar. En el Esquema 4.1 se muestran los equilibrios ácido-base involucrados para los acuocomplejos de Co(III) con ligandos tetradentados como los utilizados en este trabajo. También se esquematiza la formación de especies dimeras, ampliamente conocidas, con puentes hidroxilo en solución.<sup>[24,25,152]</sup> Debido a estos equilibrios, también resulta necesario realizar un estudio de la especiación de los compuestos en el medio de reacción deseado. Éste deberá ser previo al estudio cinético-mecanístico de los procesos de sustitución.



**Esquema 4.1.** Equilibrios ácido-base y de dimerización para una especie *cis*-[Co(N)<sub>4</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> en un medio de reacción próximo a pH = 7.

Cabe, evidentemente, destacar que la reactividad de los compuestos de Co(III) puede verse asimismo afectada por la presencia de grupos *NH* en el ligando tetradentado coordinado al metal. Esto puede producir una aceleración de los procesos de sustitución mediante un mecanismo de base conjugada.<sup>[128]</sup> Este hecho proporcionará una interesante modulación de velocidad en la sustitución de los compuestos preparados al ajustar el número de grupos *NH* del ligando tetradentado.<sup>[20,110,111]</sup>

Los acuocomplejos de Co(III) preparados, e indicados en la Figura 3.2, se harán reaccionar con los distintos nucleósidos y nucleótidos, que aparecen en la Figura 4.1 con sus respectivos valores de  $pK_a$ , a pHs próximos al fisiológico. De este modo se pretende simular la interacción que presenta este tipo de complejos con fragmentos del ADN y ARN. No ha sido posible la utilización directa de las nucleobases originales dado que estas presentan una solubilidad muy baja en solución acuosa y en el margen de pH de nuestro trabajo. Evidentemente en este estudio también se incluirá el Cl<sup>-</sup> como ligando entrante, ya que el medio biológico involucra un gradiente de concentración que va de 0.01 M (intracelular) a 0.1 M (extracelular). La utilización del ligando fosfato inorgánico se incorporará al estudio para modelar la interacción que muestra con los diferentes nucleótidos y para manifestar la imposibilidad de su utilización como tampón *in vitro* en este tipo de reacciones de sustitución.



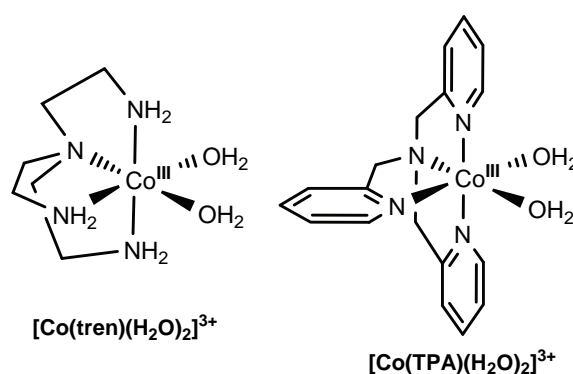
**Figura 4.1.** Nucleósidos y nucleótidos utilizados en este trabajo para el estudio de sustitución sobre los complejos de Co(III).

Tal como se detalla en el Experimental (Capítulo 7), el seguimiento de estas reacciones de sustitución se realizará mediante espectroscopia electrónica. Siempre se trabajará con excesos de como mínimo 10 veces la concentración del ligando a sustituir, lo que corresponde a 20 veces la concentración del complejo de Co(III). Se aseguran, de este modo, unas condiciones de pseudoprimer orden. Además, el RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{31}\text{P}$  facilitará la determinación de las especies intermedias y finales presentes en el medio de reacción.

#### 4.1 Compuestos de Co(III) con ligandos tripodales

El estudio de sustitución sobre compuestos de Co(III) se realizó inicialmente con los derivados de ligandos tripodales indicados en la Figura 4.2. Este tipo de complejos fue escogido en base a que anteriormente en el grupo ya se había estudiado la reactividad frente a la sustitución del complejo  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con nucleósidos y nucleótidos a  $\text{pH} < 4$ , donde el compuesto se encuentra como diacuoespecie.<sup>[95]</sup> La elección del otro

complejo con estructura tripodal,  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , se basó en la ausencia de grupos *NH* en el ligando tetradentado capaces de generar procesos de base conjugada; su reactividad no deberá acelerarse a pHs básicos. Además, para este último compuesto se ha detectado cierta actividad antitumoral, según se describe en la bibliografía. Ésta deriva de la liberación de moléculas activas coordinadas a la unidad  $\{\text{Co}^{\text{III}}\text{TPA}\}$ , que inhiben de manera selectiva a enzimas específicas involucradas en los procesos de metástasis.<sup>[29,55]</sup>



**Figura 4.2.** Complejos de Co(III) con ligandos tripodales utilizados para el estudio de sustitución en este trabajo.

### $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_3$

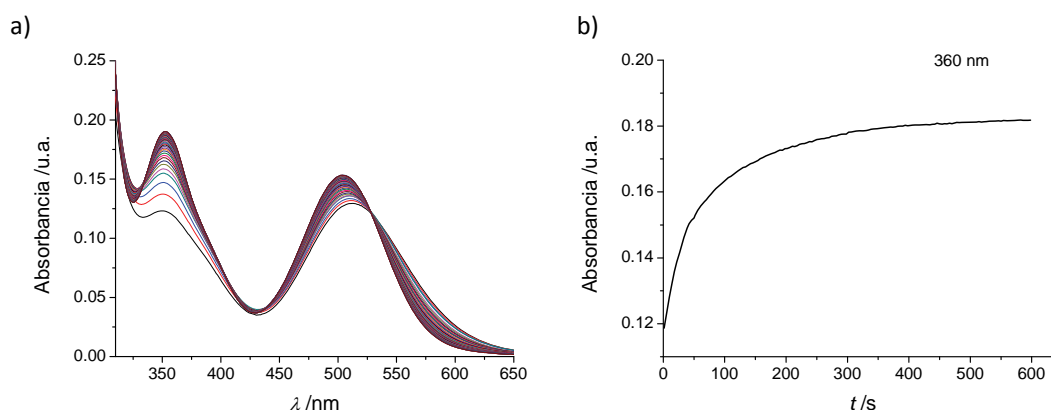
Como ya se ha mencionado, la reactividad del complejo  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con nucleósidos y nucleótidos ya había sido estudiada a pHs más ácidos.<sup>[95]</sup> Para llevar a cabo una aproximación real del comportamiento de estos compuestos dentro del organismo, el rango de pH en nuestro estudio ha sido alrededor del pH fisiológico (6.0 - 8.0).

Como paso previo al estudio de la estabilidad de este compuesto en el medio de reacción, es necesaria la evaluación de la especiación ácida del acuocomplejo de Co(III). Se podrá así averiguar las especies presentes en solución según el pH de cada medio y el tiempo transcurrido. Para este complejo los dos  $pK_a$ , ya conocidos, asociados a las aguas coordinadas al centro de Co(III) son  $pK_{a,1} = 5.5$  y  $pK_{a,2} = 8.0$ ,<sup>[134,137]</sup> lo que nos indica que en el margen de pH de nuestro estudio la especie mayoritaria es

el *mono*-hidroxocomplejo. A pHs más básicos las especies dominantes son tanto el *mono*- como el *bis*-hidroxocomplejo. Cabe destacar, también, que dado que el ligando acuo más ácido es el que se encuentra en disposición *cis* respecto a la amina terciaria, esta será la posición más inerte por donde se empezarán a formar los posibles puentes hidroxilo entre centros metálicos.<sup>[25,140]</sup>

#### *Especiación y estabilidad en el medio de reacción*

Para realizar el estudio de la especiación y estabilidad como tal del complejo  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  en el medio de reacción, se han seguido los cambios temporales de los espectros electrónicos para este compuesto a diferentes condiciones de pH y concentración de complejo metálico. En la Figura 4.3 se muestra un ejemplo de las variaciones en el espectro UV-Vis para la especie  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  a pH 7.0 (MES) y 25 °C durante 10 minutos.



**Figura 4.3.** a) Cambios en el espectro electrónico para la especie  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  a una concentración  $1 \times 10^{-3}$  M y pH 7.0 (0.4 M MES); 10 minutos a 25 °C,  $I = 1$  ( $\text{NaClO}_4$ ). b) Variación de la absorbancia con el tiempo a 360 nm en las mismas condiciones.

El estudio global se ha llevado a cabo en un rango de pH de 6.0 a 8.0 usando diferentes soluciones amortiguadoras de MES y TRIS según el pH deseado. En todos estos experimentos, el complejo  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  experimenta dos etapas de reacción que se pueden asociar a los equilibrios secuenciales de formación de especies dímeras indicados en el Esquema 4.1. Para esta serie de experimentos, se observa un aumento de absorbancia en la banda de 360 nm que se relaciona directamente con la formación

de la especie con puente *bis*-hidroxo. Este tipo de variaciones de los espectros electrónicos ya se habían caracterizado para complejos similares a pHs cercanos a la neutralidad, y correspondían efectivamente a la formación de especies dímeras en solución, manteniendo la integridad estructural del esqueleto inerte del complejo.<sup>[25]</sup>

La determinación de las constantes cinéticas observadas se ha realizado mediante el programa SPECFIT,<sup>[114]</sup> ajustando el cálculo del sistema al modelo matemático:  $2 \times A \rightarrow B$  seguido de  $B \rightarrow C$ , tal como se detalla en el Experimental (Capítulo 7). En la Tabla A.1 del Apéndice A se indican todas las constantes cinéticas determinadas para estos procesos de dimerización de la especie  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  a diferentes pHs, concentraciones de complejo y temperaturas. En esta Tabla se puede observar una dependencia de la velocidad de estos procesos de dimerización con el pH (duración desde 5 a 30 minutos), produciéndose una aceleración a pHs básicos, como es de esperar por la actuación de un mecanismo de base conjugada. Este hecho imposibilita la determinación de las constantes a pH 8.0, al tratarse de procesos extremadamente rápidos, incluso a escala de *stopped-flow*. El hecho de que los valores de estas constantes no dependan de la concentración de complejo de Co(III), da validez al cálculo de reacciones secuenciales realizado, que incluye un proceso de segundo orden.

Se han llevado a cabo algunas pruebas variando la concentración y tipo de solución tampón. En todos los casos los resultados han sido los mismos en cuanto a velocidad y a los espectros electrónicos finales observados. Para asegurar que estos cambios realmente no eran producidos por las soluciones amortiguadoras, se han probado algunos de estos experimentos ajustando el pH sin el uso de soluciones tampón; obteniendo los mismos resultados de dimerización de las especies.

En los experimentos inversos, es decir, añadiendo  $\text{HClO}_4$  hasta una concentración final de 1 M a las disoluciones de los dímeros anteriores, se producen una serie de cambios que finalizan con el espectro electrónico de la especie  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  de partida. Este tipo de comportamiento ya se había encontrado para otros compuestos dímeros



similares descritos en la bibliografía, asegurando así el mantenimiento del esqueleto inerte durante la reactividad observada.<sup>[24,127,153]</sup>

### *Estudio de sustitución de los ligandos acuo*

Para el estudio de sustitución del acuocomplejo  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  y de sus especies derivadas, se probaron distintos ligandos como cloruro y citidina 5'-monofosfato (5'-CMP). El seguimiento de estas reacciones por espectroscopia UV-Vis a diferentes valores de pH, permite observar solamente los cambios asociados a los procesos de dimerización comentados anteriormente. Incluso en experimentos realizados a 50 °C durante 24 horas, los espectros electrónicos no presentaban variaciones adicionales. Estos resultados indican que la especie dímera final con dos puentes hidroxilo es un compuesto termodinámicamente muy estable, e inerte frente a la sustitución en las condiciones razonables para el estudio propuesto.

### *Resumen de resultados*

Para el complejo  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  se ha podido observar la formación de especies dímeras con puentes hidroxilo entre centros de Co(III) alrededor de pH fisiológico y en las condiciones de nuestro estudio. Estos procesos son más rápidos de lo esperado para compuestos con configuración  $t_{2g}^6$ , y su aceleración debe asociarse a la actuación de mecanismos de base conjugada por la presencia de grupos *NH* en el ligando tetradentado. Desafortunadamente, estas especies dímeras con dos unidades  $\mu\text{-OH}$ , resultan inertes frente a la sustitución en el rango de pH de nuestro estudio.

### **$[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$**

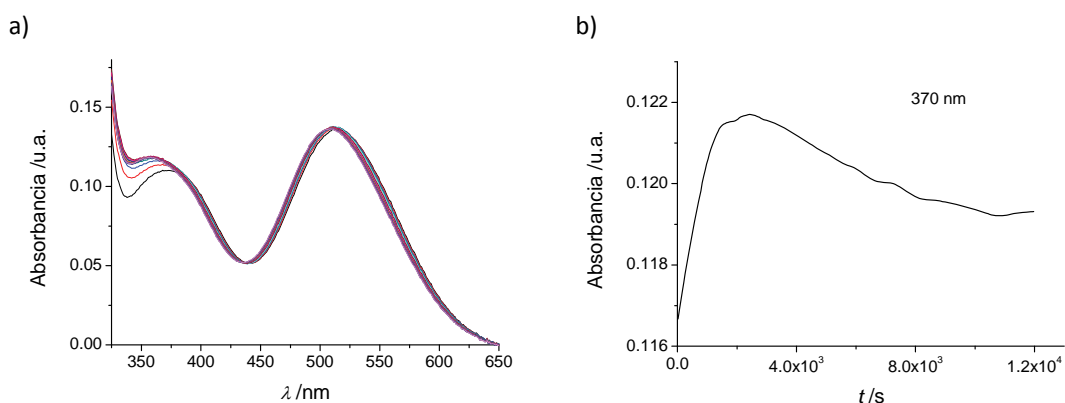
En vista de los resultados obtenidos para el compuesto anterior  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , se procedió a la búsqueda de un compuesto con estructura similar y que no formase estas especies dímeras e inertes en solución. Se probó el compuesto  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  ya que este presenta los grupos *N*-dadores del ligando tetradentado totalmente

substituidos, y se podría esperar una reactividad más lenta frente a la dimerización debido a la ausencia de procesos de base conjugada.

Para el nuevo compuesto  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  preparado en este trabajo, se determinaron inicialmente las constantes de acidez, para proceder a una comparación con el compuesto análogo  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ . Los valores de  $\text{p}K_{\text{a}}$  obtenidos son  $\text{p}K_{\text{a},1} = 3.3$  y  $\text{p}K_{\text{a},2} = 6.8$ , por lo que en el margen de pH de nuestro estudio, siempre se encontrará como una mezcla de *mono-* y *bis*-hidroxoespecies en solución.

#### *Especiación y estabilidad en el medio de reacción*

El estudio de la especiación y estabilidad del complejo  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  en el medio de reacción se llevó a cabo a diferentes pHs y concentraciones de complejo metálico tal como se realizó en el caso anterior. La Figura 4.4 muestra un ejemplo de los cambios temporales del espectro UV-Vis para esta especie a pH 7.0 (HEPES) y 25 °C durante un periodo de 3 horas. Para esta especie se observa el mismo tipo de comportamiento que para el complejo anterior  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ . Las variaciones en los espectros electrónicos se ajustan perfectamente a 2 etapas consecutivas de reacción, que se asocian a los equilibrios de dimerización indicados en el Esquema 4.1; en este caso la escala de tiempo es notablemente más larga, como era de esperar por la ausencia de grupos *NH* en el ligando.



**Figura 4.4.** a) Cambios en el espectro electrónico para la especie  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  a una concentración  $1 \times 10^{-3}$  M y pH 7.0 (0.4 M HEPES); 3 horas a 25 °C,  $l = 1$  (NaClO<sub>4</sub>). b) Variación de la absorbancia con el tiempo a 370 nm en las mismas condiciones.

En la Tabla A.2 del Apéndice A aparecen los valores de las constantes cinéticas observadas para estos procesos de dimerización, que se han ajustado al mismo modelo matemático anterior:  $2 \times A \rightarrow B$  seguido de  $B \rightarrow C$ . Las constantes siguen las mismas tendencias que en el caso anterior, con la única diferencia que a condiciones de  $\text{pH} > 7.5$ , este valor empieza a disminuir. Esto se asocia, en este caso, a la presencia en el medio de reacción de la especie menos reactiva  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{OH})_2]^+$ , debido a que el proceso de dimerización de la especie  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})]^{2+}$  es notablemente más lento que para el análogo  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})]^{2+}$ . Claramente la imposibilidad de actuación de un mecanismo de base conjugada, hace que la velocidad disminuya a pHs más básicos debido a la presencia de la especie  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{OH})_2]^+$ , con dos ligandos  $\text{OH}^-$  más difíciles de disociar que el  $\text{H}_2\text{O}$ .

Para asegurar que la reactividad de la especie  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  en solución es independiente de la solución tampón utilizada, se repitieron algunos de estos experimentos ajustando el pH de modo manual. Los resultados de estas pruebas fueron idénticos a los obtenidos con la utilización de las soluciones amortiguadoras. Como en el caso anterior, debido a que los ligandos acuo coordinados al metal no son equivalentes, habrá una preferencia en el modo de formación de la especie dímera con puentes  $\mu\text{-OH}$ . De nuevo, el agua coordinada al metal en *cis* a la amina terciaria es la más ácida y es por la que se empezará a formar las especies diméricas de Co(III) en solución.<sup>[25,140]</sup>

#### *Estudio de sustitución de los ligandos acuo*

Para el estudio de sustitución de los dos ligandos acuo en *cis* de la especie  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  se utilizaron distintos ligandos: fosfato, timidina, citidina 5'-monofosfato (5'-CMP) y timidina 5'-monofosfato (5'-TMP), a 25 °C. En todos estos experimentos, solamente se apreciaron, en las condiciones habituales, los cambios observados para las dos etapas de dimerización anteriormente citadas, incluso a 50 °C. Este complejo muestra, pues, el mismo comportamiento que su análogo  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , respecto a su dimerización para formar especies muy inertes frente

a la sustitución. A pesar de que en este caso las reacciones de dimerización son bastante más lentas que para la especie  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , debido a la ausencia de procesos de base conjugada, éstas siguen produciéndose preferentemente a la sustitución en las condiciones de este trabajo.

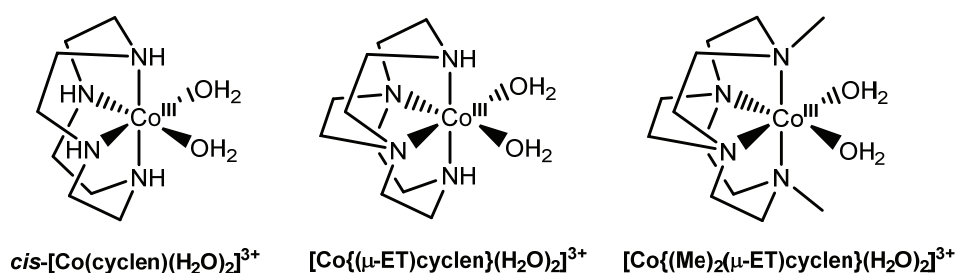
En trabajos anteriores con compuestos con unidades  $\{\text{Co}^{\text{III}}(\text{TPA})\}$  indicados en la bibliografía,<sup>[55]</sup> se habían observado unas velocidades de sustitución relativamente lentas, con unos tiempos de reacción del orden de 7 horas a temperatura ambiente en unas condiciones de  $\text{pH} = 6.5$ . Al comparar estos resultados con los tiempos de dimerización de la especie  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , se corrobora la preferencia de los procesos de dimerización a los de sustitución sobre este complejo, a los pHs de trabajo.

#### *Resumen de resultados*

Para la especie  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  se han podido observar los mismos procesos de dimerización secuenciales que para el complejo  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ . Éstos implican la formación de especies con ligandos  $\mu\text{-OH}$  entre centros metálicos. A diferencia del compuesto con ligando tren, en estas etapas no se produce una aceleración en la reactividad por un mecanismo de base conjugada, debido a la ausencia de los grupos  $\text{NH}$  en el ligando tetradentado. Por esta razón, se encuentra una disminución de la velocidad a pHs más básicos, debida a la mayor proporción de la especie  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{OH})_2]^+$  formada en solución. Para este compuesto,  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , tampoco se ha encontrado ninguna reactividad en cuanto a la sustitución a estos pHs, demostrando el carácter totalmente inerte de las especies  $[\text{Co}(\text{TPA})(\mu\text{-OH})_2]^{4+}$  y  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{OH})_2]^+$  formadas en el medio de reacción en las condiciones de trabajo.

## 4.2 Compuestos de Co(III) con ligandos macrocíclicos

Siguiendo la idea expresada al principio de este Capítulo, los complejos de Co(III) con ligandos macrocíclicos elegidos para el estudio de sustitución en este trabajo, son los que aparecen en la Figura 4.5. Como en el caso del compuesto  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , ya se había realizado un estudio cinético-mecanístico de las reacciones de sustitución para el complejo  $\text{cis-}[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  a  $\text{pH} < 4$ .<sup>[95]</sup> Por tanto, uno de los objetivos iniciales fue completar este estudio a pHs cercanos al fisiológico. Cabe destacar que para este compuesto y en esas condiciones, la reactividad era similar a la observada para el  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , con una aceleración producida por un mecanismo de base conjugada incluso a pHs ácidos.<sup>[95]</sup> Para ralentizar su reactividad, se procedió a la sustitución de los grupos *N*-dadores del ligando tetradentado coordinado al centro de Co(III). Los ligandos propuestos para este estudio fueron los macrociclos con los grupos *N* parcial y totalmente substituidos:  $\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}$  y  $\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}$ , que aparecen en forma de complejo en la Figura 4.5. Como en el caso anterior, las reacciones de sustitución se realizaron con los nucleósidos y nucleótidos que se muestran en la Figura 4.1, además de los ligandos  $\text{Cl}^-$  y fosfato inorgánico.



**Figura 4.5.** Complejos de Co(III) con ligandos macrocíclicos utilizados para el estudio de sustitución de los dos ligandos acuo en *cis*.

Cabe destacar que existe un incremento importante en el uso de este tipo de compuestos debido a sus propiedades y a su robusta estructura encapsulante, que contiene anillos de cinco miembros. Además, hay distintos estudios sobre estos complejos de Co(III) con el ligando cyclen y sus derivados basadas en sus propiedades

redox e intercalantes, y que se relacionan con la existencia de propiedades antitumorales.<sup>[46,52,154]</sup>

En vista de los resultados obtenidos hasta ahora, respecto a la reactividad y especiación en solución de los compuestos con ligandos tripodales (Figura 4.2), se realizó en todos los casos un estudio previo de la especiación y estabilidad en el medio de reacción.

### ***cis*-[Co(cyclen)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>**

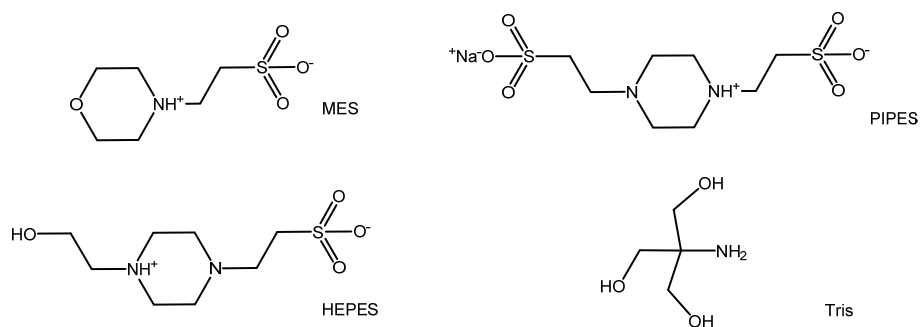
Para el complejo *cis*-[Co(cyclen)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> las dos constantes de acidez determinadas para los ligandos acuo coordinados al metal son  $pK_{a,1} = 5.6$  y  $pK_{a,2} = 8.0$ .<sup>[95]</sup> En el margen de pH de nuestro estudio tendremos, pues, como especie mayoritaria de partida el *mono*-hidroxocomplejo. De todos modos, la formación de especies dímeras deberá también considerarse.

#### *Especiación y estabilidad en el medio de reacción*

El estudio de la especiación y estabilidad del complejo *cis*-[Co(cyclen)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> en el medio de reacción relevante, se realizó a diferentes pHs y concentraciones de complejo metálico a una temperatura de 25 °C. Como en los casos anteriores, para esta especie también se observaron cambios en los espectros electrónicos, en las condiciones del estudio. Éstos, de nuevo, pueden asociarse a los equilibrios secuenciales de formación de especies dímeras mostrados en el Esquema 4.1. Para asegurar la presencia de estas especies dímeras en solución, se realizó un experimento de RMN de <sup>13</sup>C del complejo *cis*-[Co(cyclen)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> a pH 7.5 antes y después de los supuestos procesos de dimerización. El resultado de este experimento fue la obtención de las mismas 4 señales correspondientes a los diferentes grupos C del ligando macrocíclico (ver Experimental) pero ligeramente desplazadas, hecho que corrobora el mantenimiento de la unidad estructural *cis*-{Co<sup>III</sup>(cyclen)} del complejo.

Sorprendentemente, los cambios observados en los espectros UV-Vis del medio de reacción, resultaron dependientes de la solución tampón utilizada en cada caso, y con

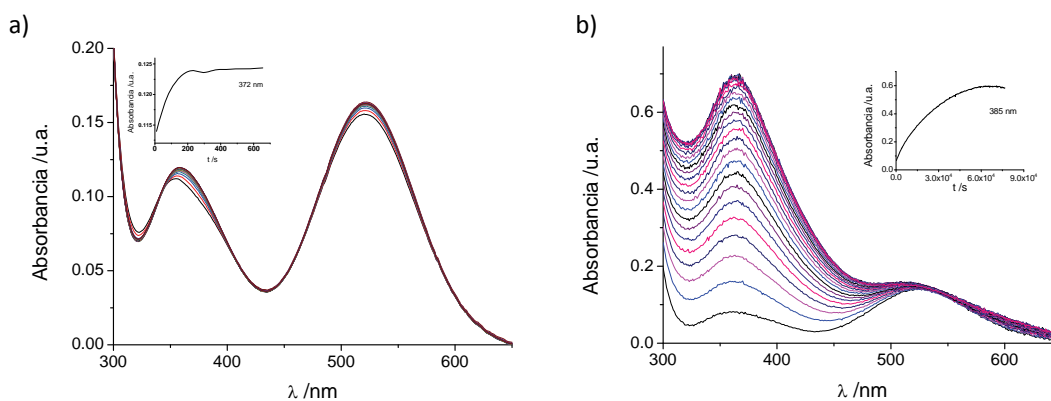
variaciones temporales distintas. Al utilizar MES y TRIS, se apreciaron incluso interacciones tan fuertes con el complejo de Co(III), como para modificar el espectro de la especie de partida. Un estudio exhaustivo con diferentes tipos de solución tampón (Figura 4.6), indicó que la especie HEPES era la que producía una menor variación espectral del complejo de Co(III) inicial a este margen de pH. En vista de estos resultados, todos los experimentos posteriores, tanto de estabilidad como de reacciones de sustitución, se realizaron utilizando HEPES como solución amortiguadora. Para comprobar que los equilibrios en solución anteriormente citados no eran debidos a la solución tampón, se repitieron los experimentos ajustando el pH de manera manual. Estos experimentos proporcionaron resultados muy similares a los obtenidos con soluciones de HEPES, por lo que se validó su utilización.



**Figura 4.6.** Especies tampón utilizadas para la preparación de las soluciones amortiguadoras en este trabajo.

En la Tabla A.3 del Apéndice A aparecen las constantes cinéticas observadas para las reacciones ácido-base de dimerización de la especie *cis*-[Co(cyclen)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup>. El valor de estas constantes se ajusta al modelo matemático: 2 × A → B seguido de B → C, como para las especies [Co(tren)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> y [Co(TPA)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup>. En este caso, la formación de la especie dímica con un solo puente hidroxilo entre los centros de Co(III) tiene una duración aproximada de 10 minutos a 25 °C, y resulta independiente del pH (Figura 4.7a). En cambio, para la segunda etapa son necesarios unos tiempos más largos, incluso a temperaturas más elevadas, 24 horas a 50 °C (Figura 4.7b). Cabe destacar que, de acuerdo con los experimentos de RMN indicados anteriormente, a pesar de los importantes cambios en los espectros UV-Vis de la especie dimerizada, al

añadir  $\text{HClO}_4$  hasta una concentración de 1 M, se obtiene de nuevo el espectro electrónico de la especie de partida, lo que confirma el paralelismo con los compuestos anteriores derivados de tren y TPA en que se mantiene el esqueleto inerte del complejo.



**Figura 4.7.** a) Cambios en el espectro electrónico para la especie  $\text{cis-}[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  a una concentración  $1 \times 10^{-3}$  M y pH 7.0 (0.4 M HEPES); 10 minutos a 25 °C,  $I = 1$  ( $\text{NaClO}_4$ ). b) Cambios consecutivos lentos para la misma reacción; 24 horas a 50 °C.

#### *Estudio de sustitución de los ligandos acuo*

Se ha realizado el estudio de sustitución de los ligandos acuo del compuesto  $\text{cis-}[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  por:  $\text{Cl}^-$ , fosfato inorgánico y citidina 5'-monofosfato (5'-CMP) a temperaturas próximas a 25 °C. En todos estos procesos se observa una mezcla de reacciones que comprende tanto las variaciones producidas por la dimerización descrita anteriormente, como otros cambios asociados a las propias reacciones de sustitución. Dada la complejidad del ajuste matemático de estos procesos, se decidió dejar incubar las soluciones del complejo  $\text{cis-}[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  en el medio de reacción elegido durante 10 minutos. Este es el tiempo necesario para que transcurra totalmente la primera etapa de la dimerización ya descrita. Posteriormente se hicieron reaccionar estas disoluciones equilibradas con los distintos ligandos por los que se desean sustituir los ligandos  $\text{H}_2\text{O}$  coordinados al centro metálico. El rango de pH de este estudio fue entre 6.5 y 7.5, debido a las restricciones en el uso de soluciones amortiguadoras, utilizando como única especie el tampón HEPES (Figura 4.6), que no presenta ningún tipo de interferencia observable con el sistema.



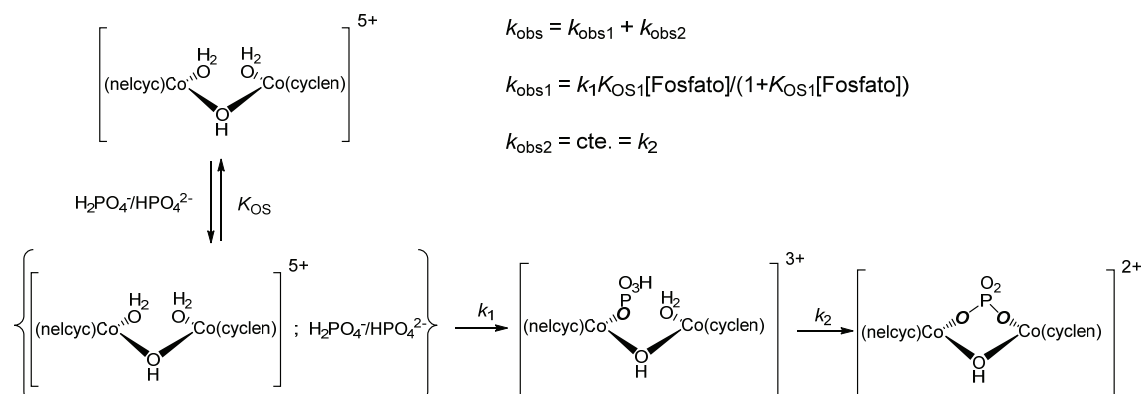
Los resultados de estas reacciones de sustitución fueron sorprendentes. Los tiempos de reacción son extremadamente cortos, a escala de *stopped-flow* ( $t_{1/2} < 200$  s). Se probó, también, la reactividad con estos ligandos frente a la sustitución sobre la especie final de la dimerización (Esquema 4.1), con los dos puentes hidroxilo entre los centros de Co(III), tras una incubación de 24 horas a 50 °C. En este caso, no se observaron modificaciones en los espectros electrónicos, lo cual corrobora el carácter extremadamente inerte de estas especies en el medio de reacción.

**Cloruro** El ligando inicialmente escogido para este estudio de sustitución fue el Cl<sup>-</sup>. Para esta especie no se observó ninguna modificación en el espectro UV-Vis de la especie de Co(III) de partida, incluso aumentando la temperatura y ampliando los tiempos de reacción.

**Fosfato inorgánico** Las reacciones de sustitución con fosfato inorgánico como ligando se realizaron con un exceso de [fosfato] suficiente para asegurar las condiciones de pseudoprimer orden, en el rango de pH de 6.5 a 7.5 a una temperatura de 25 °C. Los cambios temporales de los espectros electrónicos de estas reacciones, muestran dos etapas consecutivas que se ajustan perfectamente al modelo matemático  $A \rightarrow B$ , seguido de  $B \rightarrow C$ . En la Tabla A.3 del Apéndice A se recogen los valores de las constantes cinéticas de pseudoprimer orden observadas, asociadas a estos procesos de sustitución. Se puede apreciar que sólo existe dependencia con la concentración de fosfato para la primera constante cinética observada,  $k_{obs1}$ . Para la segunda etapa,  $k_{obs2}$ , el valor es independiente de la concentración de fosfato, lo que implica bien la formación de una especie quelato en el medio de reacción, o bien, un proceso de isomerización intramolecular.

Se realizaron experimentos de RMN de <sup>31</sup>P para determinar la naturaleza de la especie final en solución con un exceso del ligando fosfato 5 veces la concentración de complejo de Co(III) utilizada en las cinéticas ordinarias. Los resultados de estos experimentos muestran una única señal 19 ppm a campos más débiles que la señal del fosfato inorgánico libre (relación de intensidades 1:9). Esta señal y su intensidad se

asocian a la formación de la especie  $\mu\text{-}\eta^2\text{-OPO}_2\mathbf{O}$  donde el ligando actúa como puente entre los dos centros de cobalto (Esquema 4.2). La formación alternativa de un quelato sobre una misma unidad  $\text{cis-}\{\text{Co}^{\text{III}}(\text{cyclen})\}$  implicaría la aparición de una señal alrededor de 25 ppm respecto a la señal del ligando libre con una intensidad relativa de 1 a 5 ( $[\text{Co}^{\text{III}}] : [\text{fosfato}]$ ), ya observada para complejos similares.<sup>[95,155]</sup> Las ecuaciones mostradas en el Esquema 4.2 hacen referencia a estos procesos y se determinan a partir de las ecuaciones matemáticas que se detallan en los Aspectos teóricos (Capítulo 2). Para la primera etapa, donde se aprecia un comportamiento por saturación en el valor de  $k_{\text{obs}}$  al aumentar la concentración de ligando, se ajusta a la Ecuación 2.7. Para la segunda etapa, al ser  $k_{\text{obs}}$  un valor constante, se podría pensar que se adecúa a la Ecuación 2.9, aunque ésta incluiría la entrada de una segunda molécula de fosfato. Sin embargo, la señal del espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  alrededor de 19 ppm, hace referencia a una especie quelato en modo  $\mu\text{-}\eta^2$ , lo que se asocia con la Ecuación 2.5 de orden 1.



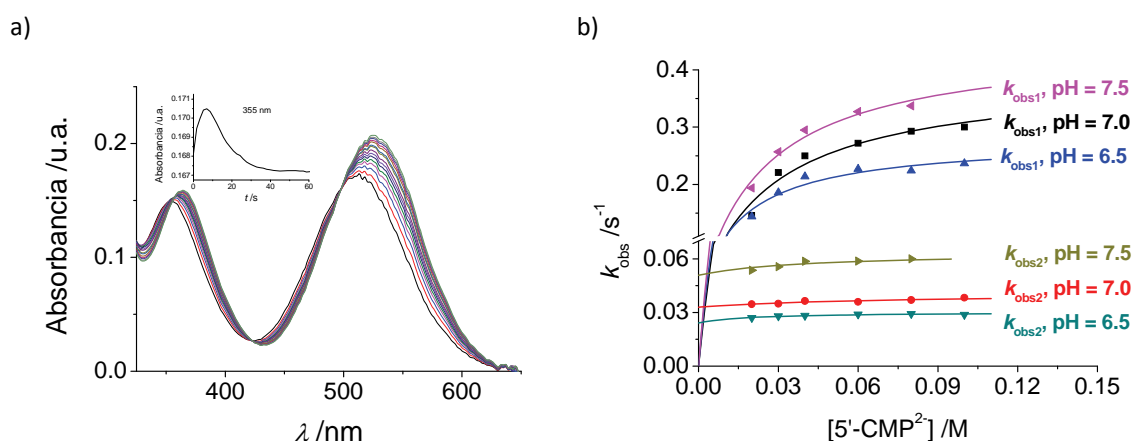
**Esquema 4.2.** Reacciones de sustitución sobre el complejo dímico de  $\text{cis-}[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con el ligando fosfato inorgánico estudiadas en este trabajo.

#### Citidina 5'-monofosfato

Se ha seguido el mismo procedimiento para el estudio de la sustitución por el ligando 5'-CMP. El margen de pH para estas reacciones de sustitución está comprendido entre 6.5 a 7.5 (HEPES) a una temperatura próxima a 25 °C, donde el nucleótido se encuentra en la forma dianiónica 5'-CMP<sup>2-</sup> ( $\text{p}K_{\text{a},3} = 6.1$ )<sup>[156]</sup>. De nuevo, se observan dos etapas consecutivas de reacción con una duración aproximada de 2 minutos, que se ajustan al modelo matemático  $\text{A} \rightarrow \text{B}$ , seguido de  $\text{B} \rightarrow \text{C}$  en condiciones de pseudoprimer orden. La Tabla A.3 del Apéndice A muestra los

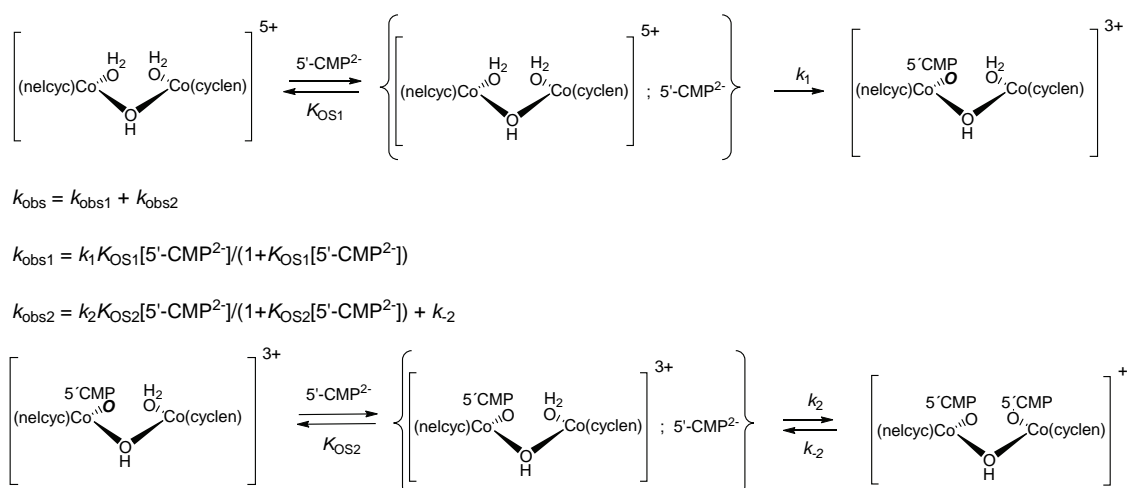
valores de las constantes cinéticas de pseudoprimer orden observadas para estas reacciones a diferentes concentraciones de ligando, temperatura y presión. Para los dos procesos observados, los valores de las constantes dependen tanto de la [5'-CMP] como del pH; los procesos se aceleran al aumentar la basicidad del medio.

En la Figura 4.8a se muestra un ejemplo de los cambios en los espectros electrónicos con el tiempo para la reacción del complejo  $cis\text{-[Co(cyclen)(H}_2\text{O)}_2]^{3+}$ , una vez equilibrado a pH 7.0 y 25 °C, con el ligando 5'-CMP. En la Figura 4.8b se representan las variaciones de los valores de las constantes cinéticas observadas con la [5'-CMP] para todos los experimentos realizados a 25 °C. Esta dependencia muestra un comportamiento de saturación en el valor de  $k_{\text{obs1}}$  y  $k_{\text{obs2}}$  con la concentración de ligando entrante, lo que involucra necesariamente la formación de complejos de esfera externa entre las especies de Co(III) y el ligando a substituir (Ecuación 2.7 del Capítulo 2). Cabe destacar que, la representación de los valores de  $k_{\text{obs2}}$  frente a la concentración de nucleótido muestra un valor de ordenada en origen apreciable. La presencia de esta ordenada en origen, así como el hecho de que los incrementos en la absorbancia dependan de la concentración de ligando, indican que la reacción es un equilibrio en las condiciones del estudio.



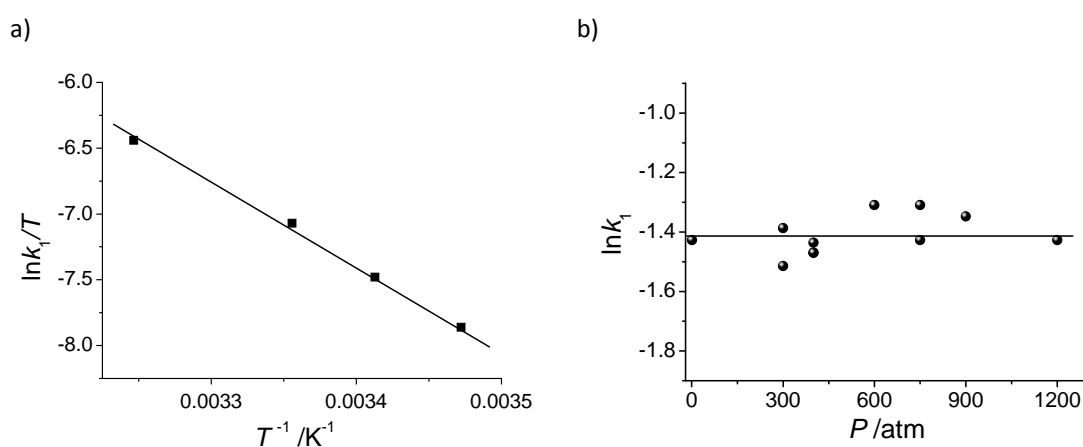
**Figura 4.8.** a) Cambios en el espectro electrónico para la reacción de la especie dímera equilibrada de  $cis\text{-[Co(cyclen)(H}_2\text{O)}_2]^{3+}$  a una concentración  $1 \times 10^{-3}$  M con el ligando 5'-CMP (0.08 M) a pH 7.0 (0.4 M HEPES); 60 segundos a 25 °C,  $I = 1$  ( $\text{NaClO}_4$ ). b) Variación de las constantes cinéticas observadas con la concentración de ligando entrante para la misma reacción a todos los pHs estudiados.

Como en el caso anterior, la determinación de la naturaleza de las especies finales se ha realizado por RMN de  $^{31}\text{P}$  con un exceso de ligando 5'-CMP de 5 veces la concentración de Co(III) utilizada en las pruebas cinéticas. En estos experimentos se observa la aparición de dos señales a 8.4 y 9.2 ppm respecto a la señal del ligando libre en exceso. Ambas señales corresponden a moléculas de 5'-CMP coordinadas de manera monodentada por el grupo fosfato del ligando a los centros de Co(III), tal como se indica en el Esquema 4.3. A partir de la relación de intensidades encontradas para estas señales en los espectros finales de RMN de  $^{31}\text{P}$  en el medio de reacción, se ha podido determinar el valor de la constante de equilibrio  $k_2/k_{-2} \approx 0.25$ . Las ecuaciones que se indican en el Esquema 4.3 hacen referencia a todos los procesos involucrados en estas reacciones y resultan de las ecuaciones matemáticas citadas en los Aspectos teóricos (Capítulo 2). Estos resultados son similares a los descritos en la bibliografía para este mismo sistema,  $\text{cis}[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , con los nucleótidos 5'-AMP y 5'-IMP.<sup>[95]</sup> En este caso tampoco se observa la hidrólisis de fosfato determinada para sistemas parecidos a pHs más elevados.<sup>[48,51,157]</sup> Cuando las disoluciones finales se siguen monitorizando durante 24 horas a 50 °C, se observan unos cambios en los espectros electrónicos que se asocian a la formación de la especie dímera con dos puentes hidroxilo entre centros metálicos, ya descrita en apartados anteriores.



**Esquema 4.3.** Reacciones de sustitución sobre el complejo dímero de  $\text{cis}[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con el ligando 5'-CMP en las condiciones de este trabajo.

Se han determinado los parámetros de activación térmica y bérica para los procesos observados y éstos se recogen en la Tabla 4.1. Estos parámetros se obtienen a partir de la ecuación de Eyring (Ecuación 2.13 del Capítulo 2)<sup>[119]</sup> y de las variaciones de  $\ln k$  frente a la presión (Ecuación 2.14 del Capítulo 2),<sup>[124,158]</sup> como se puede apreciar en la Figura 4.9. Además, en la Tabla 4.1 se muestran las constantes de equilibrio de formación de complejos de esfera externa,  $K_{OS1}$  y  $K_{OS2}$ , y los valores relevantes de las constantes cinéticas  $k_1$  y  $k_2$ .



**Figura 4.9.** a) Representación de la Ecuación de Eyring para la primera etapa de la reacción de la especie dímica equilibrada  $cis\text{-}[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con el ligando 5'-CMP a pH 7.0 (0.4 M HEPES);  $I = 1$  ( $\text{NaClO}_4$ ). b) Representación de  $\ln k_1$  frente a  $P$  a 25 °C para el mismo sistema.

**Tabla 4.1.** Parámetros cinéticos y de activación para la reacción de sustitución del complejo dímero de  $cis\text{-}[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con el ligando 5'-CMP a diferentes pHs (0.4 M HEPES,  $I = 1.0$   $\text{NaClO}_4$ ).

| pH  | $^{298}k_1 / \text{s}^{-1}$ | $^{298}K_{OS1} / \text{M}^{-1}$ | $\Delta H_1^\ddagger / \text{kJ mol}^{-1}$ | $\Delta S_1^\ddagger / \text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$ | $\Delta V_1^\ddagger / \text{cm}^3 \text{mol}^{-1}$ |
|-----|-----------------------------|---------------------------------|--|---|---|
| 6.5 | $0.28 \pm 0.01$             | $65 \pm 13$                     | $61 \pm 1^a$                               | $-55 \pm 2^a$   | No determinado                                      |
| 7.0 | $0.39 \pm 0.03$             | $40 \pm 8$                      | $58 \pm 2^a$                               | $-65 \pm 6^a$   | $\sim 0^{a,b}$                                      |
| 7.5 | $0.45 \pm 0.03$             | $45 \pm 8$                      | $64 \pm 1^a$                               | $-41 \pm 2^a$   | No determinado                                      |
|     | $^{298}k_2 / \text{s}^{-1}$ | $^{298}K_{OS2} / \text{M}^{-1}$ |  |   |   |
| 6.5 | $0.0060 \pm 0.001^c$        | $54 \pm 25$                     |  |   |   |
| 7.0 | $0.0083 \pm 0.004^c$        | $15 \pm 14$                     |  |   |   |
| 7.5 | $0.013 \pm 0.02^c$          | $25 \pm 60$                     |  |   |   |

<sup>a</sup> Determinado a 0.08 M 5'-CMP, donde el valor límite de  $k_{\text{obs}1} \approx k_1$  (Figura 4.8b). <sup>b</sup> Determinado a 25 °C.

<sup>c</sup> Aplicando  $k_2/k_{-2} \approx 0.25$  a la ecuación del Esquema 4.3, de acuerdo con el espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$ .

Respecto a los valores de la Tabla 4.1, para la primera etapa los valores de  $\Delta H^\ddagger$  no son muy elevados, mientras que los de  $\Delta S^\ddagger$  son claramente negativos. Por otro lado, el valor de  $\Delta V^\ddagger$  es prácticamente 0, indicando la falta de correlación entre los parámetros

$\Delta S^\ddagger/\Delta V^\ddagger$  asociada a las interacciones por enlace de hidrógeno en el estado de transición de la reacción.<sup>[108,159,160]</sup> Para la segunda etapa, no ha sido posible el cálculo de estos parámetros de activación, dado que las variaciones de las  $k_{\text{obs}2}$  con la [5'-CMP] son muy pequeñas (Figura 4.8b) y están dominadas por el proceso inverso. Aun así, los valores de  $K_{\text{OS}2}$  obtenidos son similares a los determinados para  $K_{\text{OS}1}$ , a pesar de las diferencias en la carga global del complejo. Esto demuestra que las interacciones en el complejo de esfera externa no son solamente electrostáticas, sino que intervienen, además, interacciones intermoleculares específicas de enlace de hidrógeno, en el complejo de esfera externa.

#### *Resumen de resultados*

Para el compuesto *cis*-[Co(cyclen)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> se observa la formación de los complejos *mono*- y *bis*-hidroxo en solución en las condiciones de nuestro estudio. Al contrario que para los compuestos con ligandos tripodales de la sección anterior, en este caso la especie *mono*-hidroxo es reactiva frente a la sustitución durante unas horas. Sin embargo, las especies que se producen tras los procesos de sustitución acaban formando el complejo dinuclear con dos  $\mu$ -OH, termodinámicamente más estable.

Todos los procesos estudiados se aceleran notablemente en medio básico debido a la actuación de un mecanismo de base conjugada por la presencia de los grupos *NH* del ligando macrocíclico tetradentado.

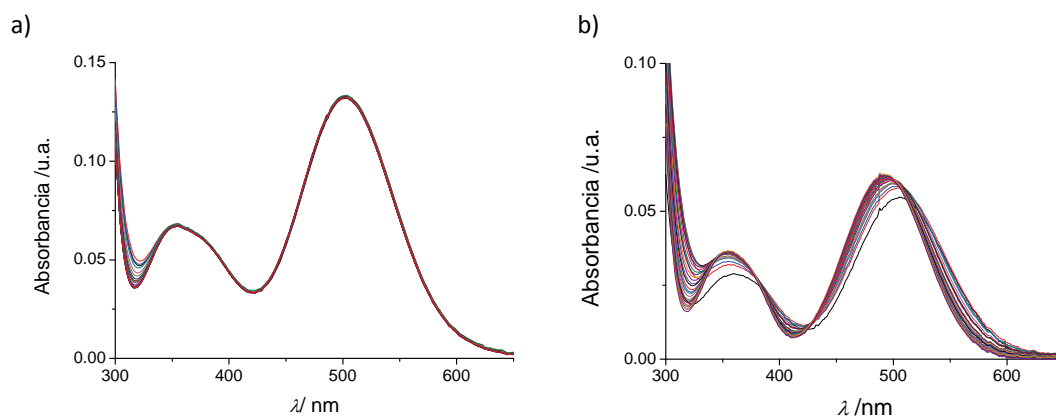
A pesar de que las reacciones de sustitución sobre complejos de Co(III), siguen generalmente mecanismos activados disociativamente,<sup>[20,21]</sup> en el presente estudio los valores de  $\Delta H^\ddagger$  son menores de lo esperado y los de  $\Delta S^\ddagger$  negativos, con unos valores de  $K_{\text{OS}}$  apreciables. La falta de correlación  $\Delta S^\ddagger/\Delta V^\ddagger$  indica que las interacciones del complejo de esfera externa no son sólo debidas a fuerzas electrostáticas, sino que implican además interacciones por enlace de hidrógeno. Este tipo de interacción afecta a los parámetros de activación determinados, teniendo un carácter más asociativo en los procesos de sustitución estudiados.

**$[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$** 

Para el nuevo complejo  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , mostrado en la Figura 4.5, los valores de los  $pK_a$  determinados para las aguas coordinadas al centro metálico son  $pK_{a,1} = 5.1$  y  $pK_{a,2} = 7.4$ . Debido a estas constantes de acidez, en el margen de pH utilizado en nuestro estudio tendremos mayoritariamente la especie *mono*-hidroxo. A pHs más básicos, se formará una mezcla de especies *mono*- y *bis*-hidroxo en solución.

*Especiación y estabilidad en el medio de reacción*

El estudio de la especiación y estabilidad en el medio de reacción para la especie  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , se ha realizado en un rango de pH entre 6.0 y 8.0, a diferentes temperaturas y concentraciones de complejo metálico. Se observan una serie de procesos de 30 minutos de duración a 25 °C que se asocian a los equilibrios de dimerización mostrados en el Esquema 4.1. A pHs más básicos,  $\text{pH} \geq 7.5$ , los cambios en el espectro electrónico son mayores y con un comportamiento notablemente distinto (Figura 4.10). El estudio a temperatura ambiente de estos procesos, seguidos por espectroscopia electrónica, muestra dos etapas de reacción con un valor de  $t_{1/2} < 200$  s para la primera etapa, y que se ajustan al modelo matemático  $2 \times A \rightarrow B$ , seguido de  $B \rightarrow C$ . En la Tabla A.4 del Apéndice A aparecen las constantes cinéticas observadas correspondientes, que siguen unas tendencias idénticas a los casos anteriores. Cabe destacar que, como es de esperar, los procesos de dimerización son bastante más lentos debido a la sustitución parcial de los grupos *N* del ligando macrocíclico (Figura 4.5). Al dejar incubar estas muestras durante 24 horas a 50 °C, no se encuentran cambios adicionales en los espectros UV-Vis. Está claro que para esta especie,  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , la formación del dímero con dos unidades  $\mu\text{-OH}$  es sólo relevante para  $\text{pH} \geq 7.5$ , como se puede apreciar en la Figura 4.10 donde aparece una mayor variación de los espectros electrónicos. A pHs inferiores su formación es solamente parcial en las condiciones de equilibrio indicadas en el Esquema 4.1.



**Figura 4.10.** a) Cambios en el espectro electrónico para la especie  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  a una concentración  $1 \times 10^{-3}$  M y pH 6.5 (0.4 M HEPES); 1 hora a 15 °C,  $I = 1$  ( $\text{NaClO}_4$ ). b) Cambios en el espectro electrónico para la misma especie a una concentración  $5 \times 10^{-4}$  M y pH 7.5 (0.4 M HEPES); 1 hora a 15 °C,  $I = 1$  ( $\text{NaClO}_4$ ).

Como para los compuestos anteriores, se han realizado experimentos de la estabilidad y especiación del compuesto de Co(III) sin el uso de soluciones amortiguadoras y los resultados han sido muy similares. Se comprobó que estas etapas son reversibles mediante la adición de  $\text{HClO}_4$  concentrado hasta pH ácido, como ya se había apreciado para los sistemas anteriores.

#### *Estudio de sustitución de los ligandos acuo*

Los ligandos utilizados para el estudio de sustitución sobre el complejo  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  en las condiciones elegidas son:  $\text{Cl}^-$ , fosfato inorgánico, citidina 5'-monofosfato (5'-CMP), timidina 5'-monofosfato (5'-TMP), uridina 5'-monofosfato (5'-UMP), citidina, timidina y uridina (Figura 4.1). Para todas estas reacciones, se ha utilizado un exceso de ligando entrante suficiente para garantizar condiciones de pseudoprimer orden. Como en el caso del complejo con cyclen, al seguir estas reacciones de sustitución por espectroscopia electrónica, los resultados muestran una mezcla de procesos en el que la etapa más rápida corresponde al proceso de dimerización estudiado anteriormente. Vistos estos resultados, se dejaron incubar las soluciones de  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  en el medio de reacción durante 30 minutos a 25 °C, y posteriormente se le añadió el ligando a sustituir. En estas condiciones a  $\text{pH} \leq 7.5$ , la especie mayoritaria es el dímero con un puente  $\text{OH}^-$  entre centros de Co(III). El

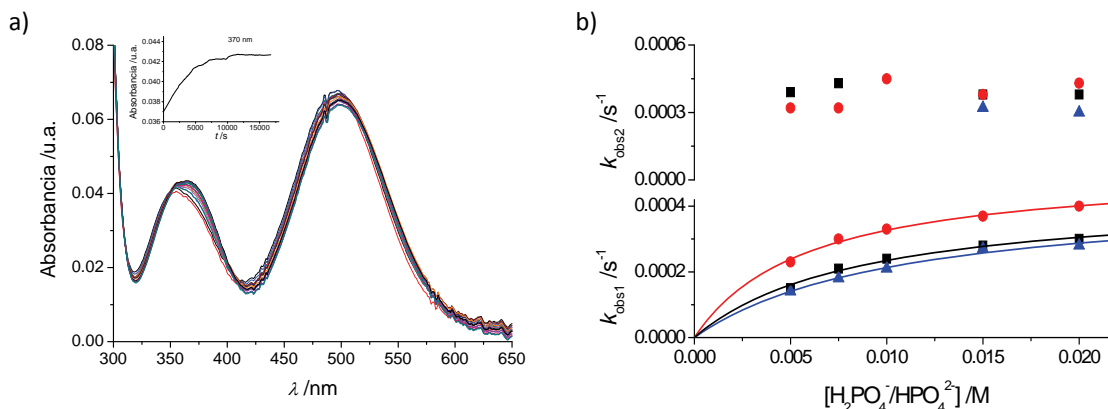


estudio de sustitución se ha realizado a 40 °C, temperatura óptima para el seguimiento de estas reacciones por espectroscopia electrónica a tiempos razonables (4 - 5 horas). El rango de pH de estos experimentos inicialmente diseñado fue entre 6.0 y 8.0, sin embargo, a  $\text{pH} \geq 7.5$  no se observa ningún tipo de reactividad de sustitución, debido a la formación dominante de la especie dimérica con puentes *bis*-hidroxo menos reactiva (Esquema 4.1). En vista de estos resultados, las condiciones para este tipo de experimentos se limitaron al margen de pH de 6.0 a 7.0.

**Cloruro** El ligando inicialmente escogido para este estudio de sustitución ha sido  $\text{Cl}^-$ . La reacción con este ligando no muestra ningún tipo de cambios en el espectro UV-Vis, del mismo modo que para su complejo análogo *cis*- $[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ . Manteniendo el seguimiento de la reacción durante 24 horas a una temperatura superior de 50 °C, tampoco se aprecian cambios.

**Fosfato inorgánico** La reactividad con el ligando fosfato inorgánico se llevó a cabo como modelo para los procesos de sustitución con nucleótidos, después de la incubación de las soluciones del complejo de Co(III) durante 30 minutos a 25 °C. Las variaciones temporales en el espectro UV-Vis, para estos procesos de sustitución a 40 °C, muestran 2 etapas de reacción consecutivas que se ajustan al modelo matemático  $A \rightarrow B$  seguido de  $B \rightarrow C$ , tal como se detalla en el Experimental (Capítulo 7). En la Tabla A.4 del Apéndice A se recogen los valores de las constantes cinéticas de pseudoprimer orden observadas,  $k_{\text{obs}}$ , en función de las distintas variables utilizadas en el estudio. En la Figura 4.11 se muestra un ejemplo de los cambios observados durante estos procesos de sustitución seguidos por espectroscopia UV-Vis. Se puede también observar que sólo el valor de las constantes cinéticas observadas determinadas para la primera etapa del proceso muestra una dependencia con la concentración de ligando y que varía ligeramente con el pH. La segunda constante cinética observada, en cambio, es constante para todas las concentraciones de ligando utilizadas. Esta segunda etapa se puede asociar, por tanto, a la quelación de la molécula de fosfato sobre un centro metálico o a la formación de un puente entre unidades de Co(III). Para esta segunda

etapa no se percibe ningún tipo dependencia con el pH del medio utilizado en este estudio.



**Figura 4.11.** a) Cambios en el espectro electrónico para la reacción de sustitución de la especie dímera equilibrada de  $[\text{Co}\{\{\mu\text{-ET}\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2\}]^{3+}$  a una concentración  $5 \times 10^{-4}$  M con el ligando fosfato inorgánico (0.01 M) a pH 7.0 (0.4 M HEPES); 4 horas a  $40^\circ\text{C}$ ,  $I = 1$  ( $\text{NaClO}_4$ ). b) Variación de las constantes cinéticas observadas para la misma reacción a todos los pHs estudiados ( $\Delta$ , pH=6.0;  $\square$ , pH=6.5;  $\circ$ , pH=7.0; 0.4 M MES/HEPES,  $I = 1.0$  ( $\text{NaClO}_4$ )).

Se han realizado experimentos de RMN de  $^{31}\text{P}$  para determinar la naturaleza de las especies finales, así como el modo de coordinación de este ligando sobre el complejo de Co(III). La concentración de Co(III) es la misma utilizada para las pruebas cinéticas ordinarias. Los resultados para estos experimentos, con una relación inicial de  $[\text{Co}^{\text{III}}] : [\text{P}] = 1 : 5$ , muestran una señal en el espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  a 20 ppm a campos más bajos respecto a la señal intensa del ligando libre ( $[\text{P}]_{\text{total}} : [\text{P}]_{20 \text{ ppm}} = 4.5 : 0.5$ ), lo que se asocia a la formación de la especie  $[(\text{Co}\{\{\mu\text{-ET}\text{cyclen}\}\}_2(\mu\text{-OPO}_2)(\mu\text{-OH}))^{2+}$ . Así pues, la reactividad resulta idéntica a la del complejo *cis*- $[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , con un comportamiento análogo al mostrado en el Esquema 4.2. Por tanto, la dependencia de las  $k_{\text{obs}}$  con la concentración de fosfato se ajusta para la primera etapa a la Ecuación 2.7 y para la segunda a la Ecuación 2.5 de orden 1. El ion fosfato se coordina inicialmente como  $\eta^1\text{-OPO}_3$  y finalmente formando un puente entre los dos centros de Co(III),  $\mu\text{-}\eta^2\text{-OPO}_2\text{O}$ .

Los parámetros cinéticos más relevantes para estas reacciones de sustitución con fosfato inorgánico se indican en la Tabla 4.2. No se han determinado los parámetros de

activación térmica y bérica para este sistema, dada la similitud en el comportamiento con el complejo *cis*-[Co(cyclen)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> anterior.

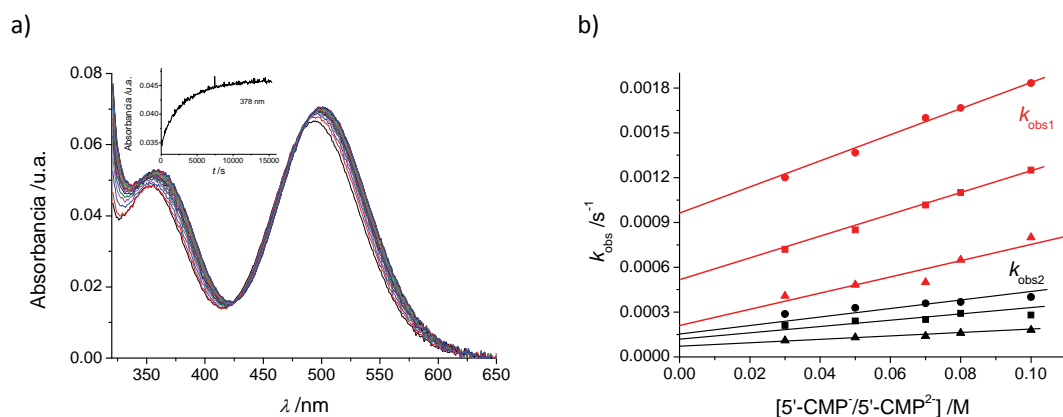
**Tabla 4.2.** Resumen de los parámetros cinéticos para la reacción de la especie dímica incubada de [Co{(μ-ET)cyclen}(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> con fosfato inorgánico a diferentes pHs (0.4 M MES/HEPES, I = 1.0 NaClO<sub>4</sub>).

| Ligando entrante  | pH        | <sup>313</sup> k / s <sup>-1</sup>                   | K <sub>OS</sub> / M <sup>-1</sup> |
|---|-----------|--|-----------------------------------|
| H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> /HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | 6.0       | k <sub>1</sub> = 4.4 × 10 <sup>-4</sup>              | 120 <sup>a</sup>                  |
|   | 6.5       | k <sub>1</sub> = 4.4 × 10 <sup>-4</sup>              |                                   |
|   | 7.0       | k <sub>1</sub> = 5.2 × 10 <sup>-4</sup>              |                                   |
|   | 6.0 - 7.0 | k <sub>2</sub> = 3.7 × 10 <sup>-4</sup> <sup>b</sup> | --                                |

<sup>a</sup> Valor medio para todos los sistemas. <sup>b</sup> Etapa independiente de la concentración (ver texto).

**Citidina 5'-monofosfato** Una vez se ha estudiado la reactividad con fosfato inorgánico, el siguiente paso es la evaluación de la reactividad con los nucleótidos que aparecen en la Figura 4.1. El nucleótido inicialmente elegido para el estudio de sustitución, una vez incubadas las soluciones de Co(III), fue el ligando 5'-CMP. Éste presenta unas características en cuanto a carga muy parecidas al ligando fosfato inorgánico.

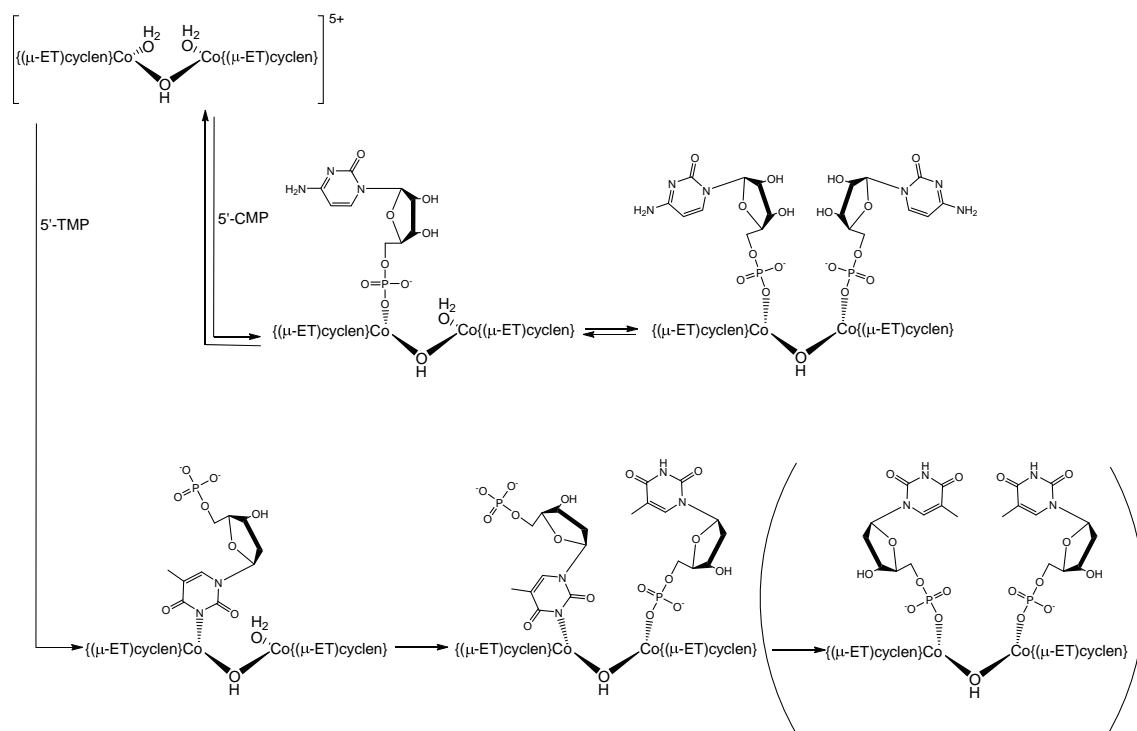
Como en los casos anteriores, el ajuste global de los cambios en el espectro UV-Vis para estas reacciones con el ligando 5'-CMP alrededor de 40 °C, presenta dos etapas consecutivas de reacción que se ajustan al modelo matemático A → B, seguido de B → C. La Tabla A.4 del Apéndice A recoge los valores de estas constantes cinéticas de pseudoprimer orden observadas a las diferentes condiciones de nuestro estudio. En la Figura 4.12 se muestra un ejemplo de los cambios observados en el espectro UV-Vis para la reacción de sustitución del complejo [Co{(μ-ET)cyclen}(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> equilibrado a 40 °C y a pH = 6.5 con el ligando 5'-CMP. También, en la misma Figura, están representados los valores de las constantes cinéticas observadas a diferentes concentraciones y condiciones de pH, mostrando una dependencia con ambas variables (Figura 4.12b). En esta representación se observa un comportamiento lineal y con ordenada en origen en las condiciones de nuestro trabajo, lo que indica la presencia de procesos de equilibrio en el medio de reacción (Ecuación 2.8 del Capítulo 2).



**Figura 4.12.** a) Cambios en el espectro electrónico para la reacción de sustitución de la especie dímera equilibrada de  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  a una concentración  $5 \times 10^{-4}$  M con el ligando 5'-CMP (0.05 M) a pH 6.5 (0.4 M HEPES); 4 horas a 40 °C,  $I = 1$  ( $\text{NaClO}_4$ ). b) Variación de las constantes cinéticas observadas para la misma reacción a todos los pHs estudiados ( $\Delta$ , pH=6.0;  $\square$ , pH=6.5;  $\circ$ , pH=7.0; 0.4 M MES/HEPES,  $I = 1.0$  ( $\text{NaClO}_4$ )).

Como en los casos anteriores, se han realizado experimentos de RMN de  $^{31}\text{P}$  de la mezcla de reacción a diferentes tiempos para la identificación de las especies presentes en solución en cada etapa. Las condiciones iniciales para estos experimentos son  $[\text{Co}^{\text{III}}] : [5'\text{-CMP}] = (1 : 5) \times 10^{-3}$  M a un pH = 6.5. Estos espectros de RMN de  $^{31}\text{P}$  muestran la presencia de una señal inicial a 9.4 ppm a campos más débiles que la señal del ligando libre, seguido de la aparición de otra señal a 14.1 ppm con intensidades relativas 1 : 10 ( $[\text{Co}^{\text{III}}] : [\text{L}_{\text{libre}}]$ ). Estas señales se asocian por tanto a la entrada de 2 moléculas de ligando 5'-CMP coordinadas de manera monodentada por el grupo fosfato del nucleótido sobre el dímero de Co(III), tal como se muestra en el Esquema 4.4 (parte superior). El desplazamiento de las bandas del espectro UV-Vis hacia energías menores, corroboran también estos hechos puesto que disminuye el campo del ligando.

Los datos recogidos en la Tabla 4.3 indican que, contrariamente a lo sucedido para el ligando fosfato inorgánico, estas reacciones dependen del pH, mostrando una aceleración al aumentar la basicidad. Esto puede asociarse, tanto a la mayor proporción de la especie totalmente desprotonada  $5'\text{-CMP}^{2-}$  ( $\text{p}K_{\text{a},3} = 6.1$ ),<sup>[156]</sup> no tan importante para el ligando fosfato inorgánico ( $\text{p}K_{\text{a},2} = 7.2$ ),<sup>[155]</sup> como a la aceleración de los procesos de sustitución por la actuación de un mecanismo de base conjugada.



**Esquema 4.4.** Reacciones de sustitución sobre el complejo dímico incubado de  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con los distintos nucleótidos estudiados en este trabajo.

Se han determinado los parámetros de activación térmica para estas reacciones de sustitución, que también aparecen en la Tabla 4.3. Los valores de  $\Delta H^\ddagger$  son ligeramente inferiores a los esperados y para  $\Delta S^\ddagger$  se encuentra una variedad de valores que comprende datos tanto positivos como negativos. Está claro que la naturaleza de las especies entrantes juega un papel importante en las interacciones del complejo de esfera externa, que no se acumula en este sistema.

**Tabla 4.3.** Resumen de los parámetros cinéticos y de activación para la reacción de la especie dímera incubada de  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con el nucleótido 5'-CMP a diferentes pHs (0.4 M MES/HEPES,  $I = 1.0 \text{ NaClO}_4$ ).

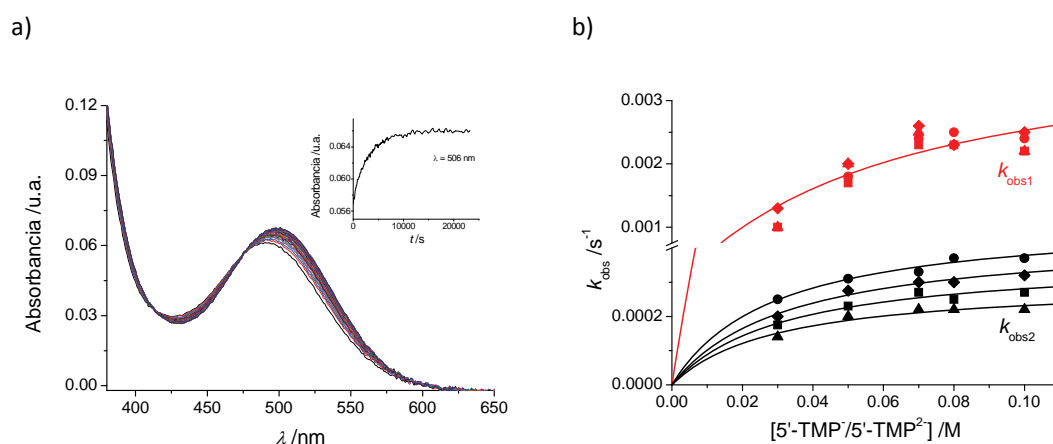
| Ligando entrante                          | pH  | $^{313}k / \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$  | $\Delta H^\ddagger / \text{kJ mol}^{-1}$ | $\Delta S^\ddagger / \text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$ |
|---|-----|--|--|---|
| 5'-CMP <sup>-</sup> /5'-CMP <sup>2-</sup> | 6.0 | $k_1 = 2.1 \times 10^{-3}$               | No determinado                           |   |
|   |     | $k_{-1} = 2.1 \times 10^{-4} \text{ }^a$ |  |   |
|   |     | $k_2 = 9.9 \times 10^{-4}$               |  |   |
|   |     | $k_{-2} = 7.9 \times 10^{-5} \text{ }^a$ |  |   |
|   | 6.5 | $k_1 = 7.7 \times 10^{-3}$               | 115±4                                    | 78±14   |
|   |     | $k_{-1} = 4.8 \times 10^{-4} \text{ }^a$ | 79±5                                     | -58±16  |
|   |     | $k_2 = 1.1 \times 10^{-3}$               | 71±6                                     | -78±20  |
|   |     | $k_{-2} = 1.8 \times 10^{-4} \text{ }^a$ | 129±9                                    | 93±30   |
|   | 7.0 | $k_1 = 9.3 \times 10^{-3}$               | No determinado                           |   |
|   |     | $k_{-1} = 9.2 \times 10^{-4} \text{ }^a$ |  |   |
|   |     | $k_2 = 1.6 \times 10^{-3}$               |  |   |
|   |     | $k_{-2} = 2.4 \times 10^{-4} \text{ }^a$ |  |   |

<sup>a</sup> Constante de la etapa inversa en  $\text{s}^{-1}$ .

**Timidina 5'-monofosfato** Las reacciones de sustitución con el nucleótido 5'-TMP se han llevado a cabo para generalizar el tipo de comportamiento de los diferentes ligandos fosfato con el complejo dímero de  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ . Además, la naturaleza de este ligando permite las dos posibles coordinaciones sobre el centro metálico, **O**- ó **N**-. Cuando la coordinación tiene lugar por el grupo **N**- del nucleótido se produce la desprotonación de la unidad {ONO} del ligando entrante. En el estudio de estos procesos se ha evitado el uso del tampón MES, puesto que éste producía reacciones secundarias de interacción con el nucleótido en las condiciones de nuestro trabajo.

Los cambios temporales en los espectros electrónicos para estas reacciones de sustitución a 40 °C (posteriores al proceso de incubación indicado anteriormente), se ajustan a una secuencia de 2 etapas consecutivas que se adecúan al modelo  $A \rightarrow B$ , seguido de  $B \rightarrow C$ . En la Figura 4.13 se puede apreciar un ejemplo de este tipo de cambios en el espectro UV-Vis para esta reacción, además de la dependencia que presentan las constantes cinéticas observadas con el pH y la concentración de nucleótido. En la Tabla A.4 del Apéndice A aparecen todos los valores de las constantes cinéticas de pseudoprimer orden observadas para este sistema en las diferentes condiciones del estudio. Tal como se puede observar en la Figura 4.13b el valor de

$k_{\text{obs}1}$ , correspondiente a la primera etapa del proceso, no presenta una dependencia con el pH, mientras que para  $k_{\text{obs}2}$ , esta dependencia no es relevante en el estrecho margen de estudio.

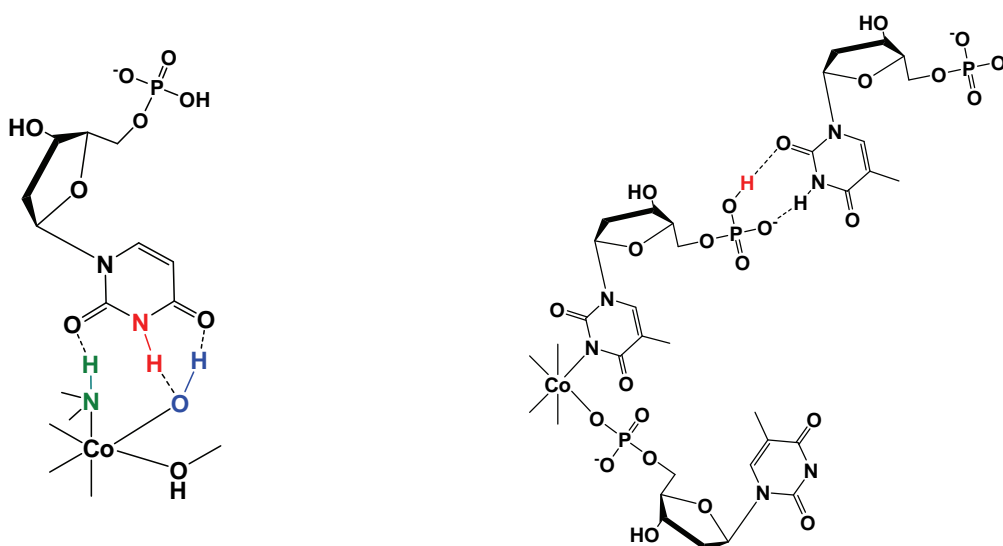


**Figura 4.13.** a) Cambios en el espectro electrónico para la reacción de sustitución de la especie dímica equilibrada de  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  a una concentración  $5 \times 10^{-4}$  M con el ligando 5'-TMP (0.07 M) a pH 6.5 (0.4 M HEPES); 5 horas a 40 °C,  $I = 1$  ( $\text{NaClO}_4$ ). b) Variación de las constantes cinéticas observadas para la misma reacción a todos los pHs estudiados ( $\Delta$ , pH=6.2;  $\square$ , pH=6.5;  $\diamond$ , pH=6.8;  $\circ$ , pH=7.0; 0.4 M HEPES,  $I = 1.0$  ( $\text{NaClO}_4$ )).

Como en los casos anteriores, se han realizado experimentos de RMN de  $^{31}\text{P}$  a diferentes tiempos de reacción para determinar las especies intermedias y finales en solución. La concentración de Co(III) para estas pruebas es la misma usada para las cinéticas ordinarias, con un exceso de 5 veces la concentración de ligando a sustituir. Cuando ha transcurrido 1 hora a una temperatura de 40 °C del proceso de sustitución, sólo aparece una señal intensa a 2.9 ppm correspondiente al ligando libre. En este periodo no se observa la presencia de fosfato coordinado al centro metálico, a pesar de la actividad de sustitución detectada en estas condiciones. Después de un periodo de 4 horas a esta misma temperatura, se puede observar una nueva señal a 12.6 ppm que se asocia a la coordinación de una molécula de ligando por la unidad **O**-fosfato. La intensidad relativa de esta señal respecto al ligando libre nos indica la entrada de una molécula de 5'-TMP por unidad dímica de  $\{\text{Co}^{\text{III}}(\text{N})_4\}$ . Estos resultados indican la formación inicial del complejo  $[(\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\})(\text{N-5'-TMP})(\mu\text{-OH})(\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O}))]^{4+}$  que posteriormente evoluciona a la especie  $[(\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O}))]^{4+}$ .

ET)cyclen})(N-5'-TMP))(\mu-OH)(Co{(\mu-ET)cyclen})(O-5'-TMP))]<sup>2+</sup>. A tiempos largos de reacción esta especie isomeriza formando la especie final [(Co{(\mu-ET)cyclen})(O-5'-TMP))<sub>2</sub>(\mu-OH)]<sup>2+</sup> (Esquema 4.4, parte inferior), evidenciada por la aparición de una nueva señal en el espectro de RMN de <sup>31</sup>P a 17.4 ppm.

La Tabla 4.4 muestra los parámetros cinéticos y de activación relevantes para los procesos de sustitución estudiados con este ligando. Sorprendentemente, la entrada de la primera molécula de 5'-TMP, presenta unos valores de  $\Delta H^\ddagger$  muy bajos, mientras que los de  $\Delta S^\ddagger$  y  $\Delta V^\ddagger$  son negativos. El carácter asociativo de estas reacciones de sustitución se puede relacionar con la formación determinante de complejos de esfera externa entre las unidades {ONO} del nucleótido y los grupos NH del ligando tetradentado (Figura 4.14, izquierda), ya observada para complejos similares.<sup>[161]</sup> Estas interacciones por enlace de hidrógeno en el complejo de esfera externa, pueden determinar la selectividad de algunas reacciones de sustitución, tal como se representa en la Figura 4.14 (derecha), donde se justifica la selectividad de la segunda entrada de nucleótido por el grupo O-fosfato.



**Figura 4.14.** Interacciones por enlace de hidrógeno involucradas para las reacciones entre el complejo dímico de  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  y el nucleótido 5'-TMP.



**Tabla 4.4.** Resumen de los parámetros cinéticos y de activación para la reacción de la especie dímica incubada de  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con los nucleótidos 5'-TMP y 5'-UMP a diferentes pHs (0.4 M HEPES,  $I = 1.0 \text{ NaClO}_4$ ).

| Ligando entrante                          | pH      | $^{313}k / \text{s}^{-1}$  | $K_{\text{OS}} / \text{M}^{-1}$ | $\Delta H^\ddagger / \text{kJ mol}^{-1}$ | $\Delta S^\ddagger / \text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$ | $\Delta V^\ddagger / \text{cm}^3 \text{mol}^{-1}$ |
|---|---------|----------------------------|---------------------------------|--|---|---|
| 5'-TMP <sup>-</sup> /5'-TMP <sup>2-</sup> | 6.2-7.0 | $k_1 = 4.1 \times 10^{-3}$ | 20                              | 43±3 <sup>a</sup>                        | -160±8 <sup>a</sup>                                   | -15±2 <sup>b</sup>                                |
|   | 6.2     | $k_2 = 3.0 \times 10^{-4}$ | 35 <sup>c</sup>                 | No determinado                           |   |   |
|   | 6.5     | $k_2 = 3.5 \times 10^{-4}$ |                                 | 105±5 <sup>a</sup>                       | 20±14 <sup>a</sup>                                    | 0±0.8 <sup>b</sup>                                |
|   | 6.8     | $k_2 = 4.2 \times 10^{-4}$ |                                 | No determinado                           |   |   |
|   | 7.0     | $k_2 = 4.7 \times 10^{-4}$ |                                 | No determinado                           |   |   |
| 5'-UMP <sup>-</sup> /5'-UMP <sup>2-</sup> | 6.5     | $k_1 = 5.0 \times 10^{-3}$ | 10                              | No determinado                           |   |   |
|   |         | $k_2 = 6.0 \times 10^{-4}$ | 20                              |  |   |   |

<sup>a</sup> Determinado a pH = 6.5 y 0.1 M 5'-TMP de acuerdo con el límite de las constantes cinéticas observadas. <sup>b</sup> Determinado a pH = 6.5 y 27 °C usando  $k \approx k_{\text{obs}@[5'\text{-TMP}] = 0.1 \text{ M}}$ , (Figura 4.13b). <sup>c</sup> Valor medio para todos los sistemas.

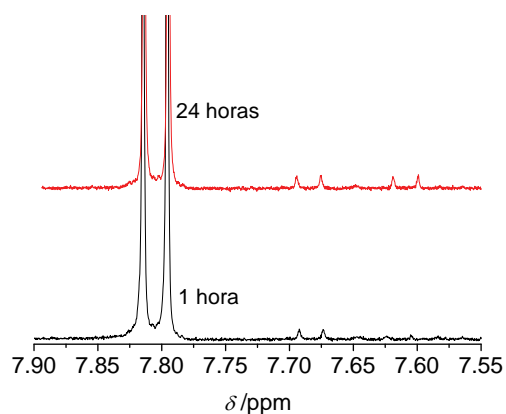
**Uridina 5'-monofosfato** El estudio de sustitución se prosiguió con 5'-UMP como ligando entrante, mostrando un comportamiento totalmente análogo al nucleótido 5'-TMP (Esquema 4.4, parte inferior). Por este motivo, el estudio realizado con este nucleótido sólo se ha llevado a cabo a pH 6.5. En la Tabla A.4 del Apéndice A aparecen las constantes cinéticas de pseudoprimer orden observadas para estos procesos de sustitución. Al comparar estos resultados con los obtenidos para el ligando 5'-TMP se encuentran algunas ligeras variaciones (Tabla 4.4). En cuanto al valor de  $K_{\text{OS}}$ , éstos son levemente menores para el ligando 5'-UMP (10 frente a  $20 \text{ M}^{-1}$ ). Por otro lado, se pueden observar unas constantes cinéticas sensiblemente mayores para el ligando 5'-UMP derivadas del menor impedimento estérico que presenta el nucleótido (Figura 4.1).

**Citidina** Después de la realización del estudio de sustitución con los diferentes fosfatos, se llevó a cabo la reactividad con los nucleósidos mostrados en la Figura 4.1, para hacer una comparación de los sistemas cuando la reactividad tenía lugar únicamente por el grupo **N**- del ligando entrante. El estudio de sustitución con nucleósidos se ha llevado a cabo alrededor de 40 °C, después del pre-equilibrado de las muestras, en el margen de pH 6.0 a 7.0 tal como se ha indicado. Con el uso del programa Specfit,<sup>[114]</sup> los cambios en el espectro UV-Vis para estas reacciones de sustitución se han asociado a 2 etapas consecutivas, que se ajustan a la secuencia A

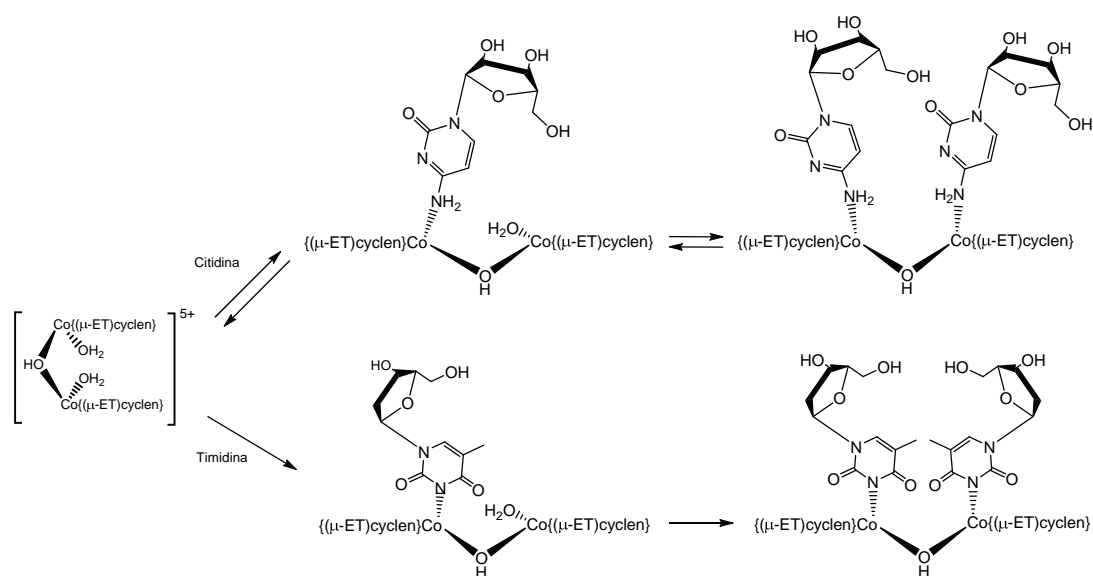
→ B, seguido de B → C. En la Tabla A.4 del Apéndice A aparecen los valores para las constantes cinéticas de pseudoprimer orden observadas en función de las diferentes variables del estudio. Ambas constantes cinéticas,  $k_{obs1}$  y  $k_{obs2}$ , muestran una dependencia con la concentración de este nucleósido. La representación de los valores de  $k_{obs}$  con la concentración de citidina muestra un comportamiento lineal con una ordenada en origen para ambas etapas, hecho que implica un equilibrio en las reacciones (Ecuación 2.8 del Capítulo 2). Se ha podido observar una ligera aceleración de todas las constantes al aumentar el pH del medio, lo que se ha asociado a la actuación de un mecanismo de base conjugada, debido a la presencia de los dos grupos *NH* en el ligando tetradentado.

Los experimentos de RMN de  $^1\text{H}$  con secuencia PRESAT facilitan la detección de las especies intermedias y finales en la reacción de sustitución en las condiciones precisas de nuestro estudio. La concentración de Co(III) es la misma utilizada en las pruebas cinéticas ordinarias. El espectro registrado al cabo de 1 hora de reacción a 40 °C y a pH = 6.1 (con una ratio inicial  $[\text{Co}^{\text{III}}] : [\text{Citidina}] = 1 : 5$ ), muestra la aparición de un pequeño doblete a 7.7 ppm, además del doblete intenso a 7.8 ppm correspondiente al protón *para-* al grupo *N* del anillo de citidina (Figura 4.1). Al repetir este espectro de RMN de  $^1\text{H}$  transcurridas 24 horas desde el inicio de la reacción de sustitución, la señal a 7.7 ppm crece y aparece otra nueva a 7.6 ppm (Figura 4.15). Estos datos indican la formación inicial de un *mono*-citidina complejo, que evoluciona a una especie *bis*-citidina con el tiempo, en un proceso de equilibrio que se muestra en el Esquema 4.5 (parte superior).

Para este sistema solamente se han determinado los parámetros de activación térmica que se indican en la Tabla 4.5, dada la complejidad matemática de los procesos, que implican reacciones de equilibrio. Estos parámetros muestran unos valores muy elevados de  $\Delta H^\ddagger$  con unas  $\Delta S^\ddagger \gg 0$ , lo que se puede asociar a un mecanismo activado disociativamente como es de esperar para las especies de Co(III).



**Figura 4.15.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  con secuencia PRESAT a diferentes tiempos de la reacción de sustitución del complejo dímérico incubado de  $[\text{Co}\{\mu\text{-ET}\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con citidina a  $\text{pH} = 6.1$ ;  $[\text{Co}] : [\text{Citidina}] = (5 : 25) \times 10^{-4} \text{ M}$ .



**Esquema 4.5.** Reacciones de sustitución sobre el complejo dímérico incubado de  $[\text{Co}\{\mu\text{-ET}\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con los distintos nucleósidos estudiados en este trabajo.

**Tabla 4.5.** Resumen de los parámetros cinéticos y de activación para la reacción de la especie dímera incubada de  $[\text{Co}\{\mu\text{-ET}\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con el nucleósido citidina a diferentes pHs (0.4 M MES/HEPES,  $I = 1.0 \text{ NaClO}_4$ ).

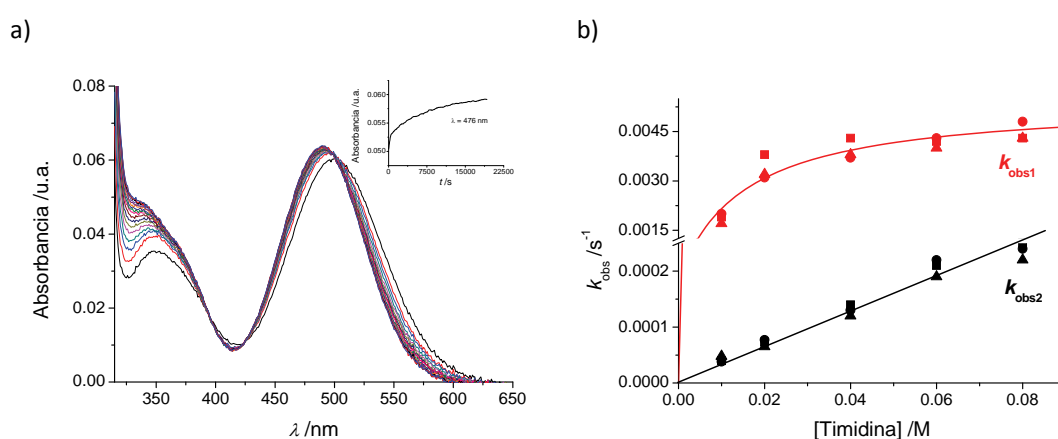
| Ligando entrante | pH  | $^{313}k / \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$         | $\Delta H^\ddagger / \text{kJ mol}^{-1}$ | $\Delta S^\ddagger / \text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$ |
|------------------|-----|---|--|---|
| Citidina         | 6.0 | $k_1 = 12 \times 10^{-3}$                       | No determinado                           |   |
|                  |     | $k_{-1} = 2.8 \times 10^{-4} \text{ a}^{\circ}$ |  |   |
|                  |     | $k_2 = 1.7 \times 10^{-3}$                      |  |   |
|                  |     | $k_{-2} = 2.7 \times 10^{-5} \text{ a}^{\circ}$ |  |   |
|                  | 6.5 | $k_1 = 13 \times 10^{-3}$                       | 95±1                                     | 19±4  |
|                  |     | $k_{-1} = 4.4 \times 10^{-4} \text{ a}^{\circ}$ | 112±1                                    | 50±4  |
|                  |     | $k_2 = 2.6 \times 10^{-3}$                      | 100±5                                    | 20±16   |
|                  |     | $k_{-2} = 3.0 \times 10^{-5} \text{ a}^{\circ}$ | 115±9                                    | 41±30   |
|                  | 7.0 | $k_1 = 17 \times 10^{-3}$                       | No determinado                           |   |
|                  |     | $k_{-1} = 2.0 \times 10^{-3} \text{ a}^{\circ}$ |  |   |
|                  |     | $k_2 = 2.7 \times 10^{-3}$                      |  |   |
|                  |     | $k_{-2} = 6.0 \times 10^{-5} \text{ a}^{\circ}$ |  |   |

<sup>a</sup> Constante de la etapa inversa en  $\text{s}^{-1}$ .

**Timidina** El ligando timidina se escogió entre otros nucleósidos, dada la desprotonación que se produce del grupo *NH* perteneciente al anillo del ligando entrante (Figura 4.1), una vez coordinado al complejo metálico.<sup>[161]</sup> Las variaciones temporales de los espectros electrónicos de esta reacción de sustitución entre pH 6.0 y 7.0 alrededor de 40 °C, muestran de nuevo 2 etapas consecutivas, que se ajustan al mismo modelo matemático comentado anteriormente  $A \rightarrow B$  seguido de  $B \rightarrow C$ . En la Tabla A.4 del Apéndice A aparecen los valores de las constantes cinéticas de pseudoprimer orden observadas para las distintas variables del estudio. Se aprecia una clara dependencia de estas constantes con la concentración de ligando entrante (Figura 4.16), pero con un comportamiento independiente del pH del medio de reacción. La dependencia de estas constantes con la concentración de ligando entrante es diferente en los dos casos. Para la primera etapa, el valor de  $k_{\text{obs1}}$  muestra un comportamiento por saturación (Ecuación 2.7 del Capítulo 2), mientras que para la segunda etapa, la dependencia de  $k_{\text{obs2}}$  con la concentración de nucleósido es lineal (Ecuación 2.8 del Capítulo 2). Los valores recogidos en la Tabla 4.6, tanto de  $k_1$  ( $\text{s}^{-1}$ ) como de las pendientes  $k_2$  ( $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ ), son una media de las constantes cinéticas observadas a los diferentes pHs del estudio (Figura 4.16b). Estos procesos

corresponden a la entrada consecutiva de 2 moléculas de timidina sobre el dímero de Co(III), tal como se muestra en el Esquema 4.5 (parte inferior).

Para estas reacciones se han determinado los parámetros de activación térmicos y béricos que aparecen en la Tabla 4.6. Sorprendentemente, el valor determinado para  $\Delta S^\ddagger$  es prácticamente cero y el valor de  $\Delta V^\ddagger$  es negativo para  $k_1$  y positivo para  $k_2$ . La falta de correlación entre  $\Delta S^\ddagger/\Delta V^\ddagger$  puede estar relacionada con la existencia de interacciones por enlace de hidrógeno con el solvente en el estado de transición del proceso de sustitución. Estos hechos le dan un componente más asociativo a estos sistemas, tal como se ha observado en la sustitución por 5'-TMP, que deberían ser intrínsecamente activados disociativamente debido al centro de Co(III).<sup>[108,159]</sup>



**Figura 4.16.** a) Cambios en el espectro electrónico para la reacción de sustitución de la especie dímica incubada de  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  a una concentración  $5 \times 10^{-4}$  M con el ligando timidina (0.04 M) a pH 7.0 (0.4 M HEPES); 5 horas a 40 °C,  $I = 1$  ( $\text{NaClO}_4$ ). b) Variación de las constantes cinéticas observadas para la misma reacción a todos los pHs estudiados ( $\Delta$ , pH=6.0;  $\square$ , pH=6.5;  $\circ$ , pH=7.0; 0.4 M MES/HEPES,  $I = 1.0$  ( $\text{NaClO}_4$ )).

**Tabla 4.6.** Resumen de los parámetros cinéticos y de activación para la reacción de la especie dímica incubada de  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con los nucleósidos timidina y uridina a diferentes pHs (0.4 M MES/HEPES,  $I = 1.0$   $\text{NaClO}_4$ ).

| Ligando entrante | pH      | $^{313}k / \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ | $K_{\text{OS}} / \text{M}^{-1}$ | $\Delta H^\ddagger / \text{kJ mol}^{-1}$ | $\Delta S^\ddagger / \text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$ | $\Delta V^\ddagger / \text{cm}^3 \text{mol}^{-1}$ |
|------------------|---------|---|---------------------------------|--|---|---|
| Timidina         | 6.0-7.0 | $k_1 = 4.5 \times 10^{-3}$ <sup>a</sup> | 100                             | 95±4                                     | 11±14   | -8±1 <sup>b</sup>                                 |
|                  |         | $k_2 = 3.2 \times 10^{-3}$              | --                              | 90±7                                     | -8±22   | 4±1 <sup>c</sup>                                  |
| Uridina          | 6.5     | $k_1 = 7.7 \times 10^{-3}$ <sup>a</sup> | 40                              | No determinado                           |   |   |
|                  |         | $k_2 = 8.1 \times 10^{-3}$              | --                              |  |   |   |

<sup>a</sup> Comportamiento limitante, en  $\text{s}^{-1}$ . <sup>b</sup> Determinado a pH = 6.5 y 30 °C usando  $k_1 \approx k_{\text{obs}@[\text{Timidina}]=0.08 \text{ M}}$ , (Figura 4.16b). <sup>c</sup> Determinado a pH = 6.5 y 30 °C usando  $k_2 \approx k_{\text{obs}@[\text{Timidina}]=0.08 \text{ M}}/0.08$  (Figura 4.16b).

**Uridina** Finalmente el estudio de sustitución se completó con el ligando uridina, obteniendo unos resultados equivalentes a los indicados para el nucleósido timidina, como es de esperar dada su semejanza estructural (Figura 4.1). Estos resultados manifiestan un paralelismo con el estudio comparativo realizado con los nucleótidos 5'-TMP y 5'-UMP. En vista de estos hechos, no se ha llevado a cabo un estudio exhaustivo de su reactividad. A pH = 6.5 se pueden observar dos etapas de reacción, ambas con unos valores de  $k_{obs}$  dependientes de la concentración de ligando. En la Tabla A.4 del Apéndice A se registran los valores de las constantes cinéticas de pseudoprimer orden observadas para estos procesos de sustitución a 40 °C. Estas reacciones se pueden asociar a la misma secuencia mostrada para el ligando entrante timidina en el Esquema 4.5 (parte inferior). Los datos cinéticos más relevantes determinados para estos experimentos se incluyen en la Tabla 4.6. La aceleración que presenta respecto a la timidina puede asociarse al menor impedimento estérico de este ligando, lo que reafirma la contribución asociativa al proceso. Como se ha podido observar para los nucleótidos análogos 5'-TMP y 5'-UMP, también se aprecia un valor inferior de  $K_{OS}$  para el ligando uridina respecto a la timidina (40 frente a 100 M<sup>-1</sup>).

#### *Resumen de resultados*

Para el complejo  $[Co\{\{\mu\text{-ET}\}\text{cyclen}\}(H_2O)_2\}^{3+}$ , se ha determinado de nuevo la formación en disolución de especies dimeras con puente  $OH^-$  entre centros de Co(III) en el margen de pH de nuestro trabajo. A pHs cercanos al fisiológico, se forma mayoritariamente el dímero con un solo ligando  $\mu\text{-OH}$  entre centros de Co(III), mientras que a  $pH \geq 7.5$  se forma una especie inactiva frente la sustitución con dos hidroxopuentes, tal como ya se ha establecido para el compuesto análogo *cis*- $[Co(\text{cyclen})(H_2O)_2]^{3+}$ . En los procesos de sustitución también se observa la actuación de un mecanismo de base conjugada. De todos modos, la sustitución parcial de los grupos *NH* del ligando macrocíclico disminuye de un modo notable la reactividad de este complejo, tanto en la formación de las especies dimeras, como en las reacciones de sustitución posteriores.

Los estudios cinético-mecanísticos llevados a cabo en estas reacciones de sustitución sobre las disoluciones equilibradas del complejo de Co(III) con moléculas biológicamente relevantes, siguen un mecanismo activado disociativamente como norma general. Sin embargo, se ha observado una preferencia en el modo de coordinación de estos ligandos, lo que da un cierto carácter asociativo al sistema. La aparición de un comportamiento limitante en el valor de  $k_{obs}$ , con un valor apreciable de  $K_{OS}$  es indicativa de la importancia de la formación de complejos de esfera externa. Estos complejos son, en parte, responsables de la diferente coordinación por los grupos **O**- y **N**- del ligando entrante, como se ha podido observar para el nucleótido 5'-TMP. Las interacciones por enlace de hidrógeno formadas entre la unidad {ONO} de la timidina con los grupos *NH* del ligando macrocíclico tetradentado fomentan este tipo de interacciones incrementando la asociatividad del sistema.

### ***[Co{(Me)<sub>2</sub>(μ-ET)cyclen}(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>***

Para completar el estudio de sustitución sobre los compuestos de Co(III) indicados en la Figura 4.5, se utilizó el complejo  $[Co\{(Me)_2(\mu-ET)cyclen\}(H_2O)_2]^{3+}$ . Este compuesto presenta como particularidad que los 4 grupos *N* del ligando macrocíclico tetradentado están totalmente substituidos, evitando así la aceleración de los procesos de sustitución por la actuación de un mecanismo de base conjugada. Asimismo, en este compuesto la ausencia de los hidrógenos sobre los grupos *N* del macrociclo, evita algunas de las interacciones de enlace de hidrógeno observadas para los complejos de cobalto anteriores.

Los valores de los  $pK_a$  de este complejo, asociados a los ligandos acuo coordinados al centro metálico, son  $pK_{a,1} = 3.7$  y  $pK_{a,2} = 7.1$ . Así, en este caso, el sistema existe como mezcla de especies *mono*- y *bis*-hidroxo en el margen de pH de nuestro estudio, de 6.0 a 8.0. Como en los sistemas de cobalto anteriores, se ha realizado un estudio previo respecto a la especiación y estabilidad de este complejo en el medio de reacción a los distintos pHs del estudio.

*Especiación y estabilidad en el medio de reacción*

El estudio de la especiación y estabilidad del complejo  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  se ha llevado a cabo en el intervalo de pH de 5.5 a 8.0 y a 25 °C, con el uso de las soluciones amortiguadoras de MES y de HEPES. Se han ensayado distintas concentraciones de complejo metálico ( $5\text{-}20 \times 10^{-4}$  M) y, para el rango de pH de 5.5 a 6.8, sólo se aprecian unos pequeños cambios lentos en el espectro electrónico con una duración de 1 hora 30 minutos. Estas variaciones en el espectro UV-Vis se podrían asociar inicialmente a la primera etapa de la dimerización mostrada en el Esquema 4.1. Los espectros electrónicos no se modifican pasadas 24 horas a una temperatura de 50 °C en el mismo medio de reacción. Para determinar la naturaleza de estos procesos, se han seguido también mediante RMN de  $^{13}\text{C}$ . Para experimentos a pH = 6.8, aparecen las mismas 4 señales en el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  pertenecientes al ligando macrocíclico (ver Experimental), a tiempo inicial y final de la supuesta dimerización. Como consecuencia, no hay evidencia de la formación de cantidades relevantes de la especie *mono*- $\mu\text{-OH}$  en solución para estas condiciones del estudio, que implicaría una pérdida de la simetría del sistema. Está claro, pues, que las pequeñas variaciones del espectro UV-Vis se asocian a la formación de la especie dímera totalmente simétrica  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\mu\text{-OH})]_2^{4+}$ , en una reacción de equilibrio que está muy poco desplazada hacia esta última especie. Sin embargo, cuando el seguimiento de estos procesos se lleva a cabo a pH > 7.1 (HEPES), las variaciones en el espectro UV-Vis son mucho más notables. En estos experimentos se observan claramente 2 etapas de reacción a unas escalas de tiempo de 20 horas a 25 °C, que se asocian de nuevo a la formación final de los complejos diméricos *bis*- $\mu\text{-OH}$  representados en el Esquema 4.1. Como en los casos anteriores, se han realizado experimentos sin el uso de soluciones tampón, obteniendo los mismos resultados ya citados.

Así pues, el comportamiento de este complejo es substancialmente distinto al de los compuestos de Co(III) anteriores. En el margen de pH de 5.5 a 6.8 se encuentra como especie dominante en solución el complejo monómero  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})]^{2+}$ , con la formación de pequeñas cantidades del dímero



$[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}\{\mu\text{-OH}\}]_2^{4+}$ . A pHs más básicos ( $\text{pH} > 7.1$ ), el equilibrio entre las especies monómera y dímera está significativamente más desplazado hacia ésta última, formándose la especie inerte *bis*- $\mu$ -OH entre centros metálicos en el medio de reacción (Esquema 4.1). En ningún caso se observa en solución la presencia de la especie *mono*- $\mu$ -OH en cantidades significativas.

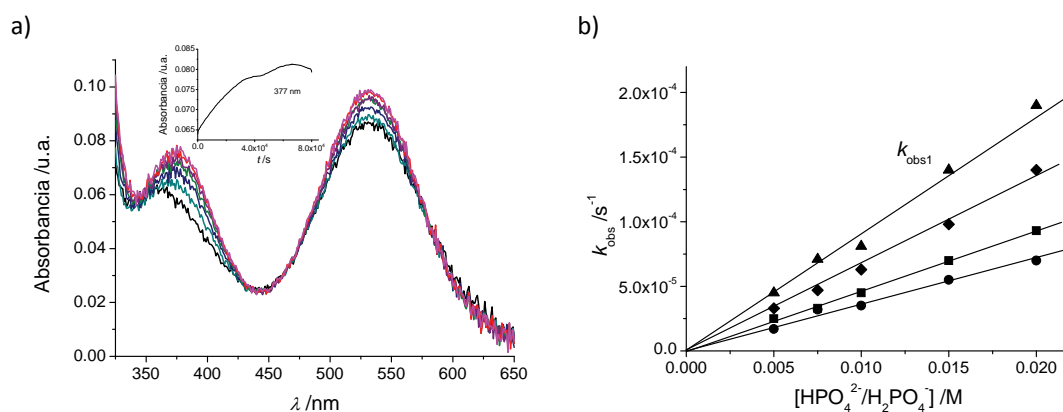
#### *Estudio de substitución de los ligandos acuo*

Las reacciones de substitución sobre el complejo  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  se han estudiado con los ligandos:  $\text{Cl}^-$ , fosfato inorgánico, timidina, uridina, citidina 5'-monofosfato (5'-CMP) y timidina 5'-monofosfato (5'-TMP), alrededor de 50 °C en un margen de pH de 5.5 a 6.8. En este intervalo de pH la especie mayoritaria es el  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})]^{2+}$  como ya se ha señalado. A pHs superiores, en el espectro electrónico sólo se aprecian los cambios asociados a los procesos de dimerización del complejo de cobalto, formando especies muy inertes a la substitución,  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{OH})_2]^+$  y  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}\{\mu\text{-OH}\}]_2^{4+}$ . El estudio de las reacciones de substitución se realizó con excesos de ligando entrante suficientemente altos como para garantizar condiciones de pseudoprimer orden, tal como se detalla en el Experimental (Capítulo 7). En estas condiciones de pH y temperatura las reacciones tienen una duración de 12 a 24 horas.

**Cloruro** Como en todos los casos anteriores, el estudio de substitución se inició con el  $\text{Cl}^-$  como ligando entrante. En concordancia con los compuestos de cobalto anteriores, no se producen variaciones en los espectros electrónicos en las condiciones de trabajo aparte de las pequeñas variaciones indicadas más arriba. Monitorizando la mezcla de reacción durante 24 horas a 50 °C tampoco se aprecian cambios significativos. Es decir, no existen reacciones de substitución por  $\text{Cl}^-$  en estas condiciones.

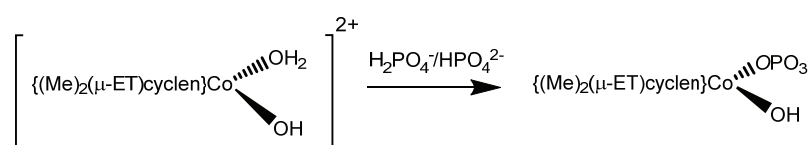
**Fosfato inorgánico** El estudio de la reactividad del complejo  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con el ligando fosfato inorgánico se llevó a cabo, como en los casos anteriores, como modelo para los procesos de substitución con los nucleótidos

indicados en la Figura 4.1. Debido a los cambios espectrales observados inicialmente para el complejo de Co(III) en solución, asociados a la formación de pequeñas cantidades de  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\mu\text{-OH})_2]^{4+}$ , se dejaron incubar las muestras durante 1 hora 30 minutos a 25 °C, antes de añadir el ligando a substituir. Usando la metodología indicada en el Experimental (Capítulo 7), las variaciones temporales de los espectros electrónicos para estas reacciones de substitución se monitorizaron a las condiciones de pH y temperatura relevantes. Los cambios en el espectro UV-Vis observados resultan indicativos de la actuación de una sola etapa de reacción que se ajusta al modelo  $A \rightarrow B$  (Figura 4.17a). En este caso, el máximo en el espectro electrónico se desplaza hacia energías más bajas, como corresponde al cambio a un ligando de campo más débil. Este proceso no se observa a pHs > 7.1, de acuerdo con la formación de las especies inertes  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{OH})_2]^+$  y  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\mu\text{-OH})_2]^{4+}$ , anteriormente citadas. En la Tabla A.5 del Apéndice A se incluyen las constantes cinéticas de pseudoprimer orden observadas para estos procesos a las diferentes variables del estudio. Estos valores de  $k_{\text{obs}}$  siguen una dependencia lineal con la concentración de fosfato (Ecuación 2.8 del Capítulo 2) y se aceleran en medio ácido (Figura 4.17b). Esta aceleración tiene que ser debida al incremento porcentual de la especie más reactiva en solución,  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , que posee dos ligandos unidos más débilmente al centro de Co(III).



**Figura 4.17.** a) Cambios en el espectro electrónico para la reacción de substitución de la especie  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , incubada a una concentración  $5 \times 10^{-4}$  M, con el ligando fosfato inorgánico (0.01 M) a pH 6.5 (0.4 M HEPES); 23 horas a 50 °C,  $I = 1$  ( $\text{NaClO}_4$ ). b) Variación de las constantes cinéticas observadas para la misma reacción a todos los pHs estudiados ( $\Delta$ , pH=5.5;  $\diamond$ , pH=6.0;  $\square$ , pH=6.5;  $\circ$ , pH=6.8; 0.4 M MES/HEPES,  $I = 1.0$  ( $\text{NaClO}_4$ )).

Se han realizado experimentos de RMN de  $^{31}\text{P}$  de la mezcla final de reacción a unas condiciones de  $\text{pH} = 6.0$  y con unas concentraciones relativas  $[\text{Co}^{\text{III}}] : [\text{P}] = 1 : 5$ . La concentración de  $\text{Co(III)}$  es la misma utilizada en las pruebas cinéticas. Los resultados de estos experimentos muestran la aparición de una única señal a 10.5 ppm a campos más bajos respecto a la señal del ligando libre, y con una relación de intensidades entre señales  $\text{Co}^{\text{III}}\text{L} : \text{L}_{\text{libre}} = 1 : 4$ . Esto indica la coordinación de una molécula de fosfato, en modo  $^1\eta\text{-OPO}_3$ , sobre el monómero de  $\text{Co(III)}$ , tal como se representa en el Esquema 4.6.



**Esquema 4.6.** Reacciones de sustitución sobre el complejo  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con fosfato inorgánico en las condiciones de nuestro trabajo.

En la Tabla 4.7 se recogen los parámetros cinéticos y de activación más relevantes para los procesos estudiados. De nuevo, se obtienen unos valores de  $\Delta H^\ddagger$  elevados y positivos para  $\Delta S^\ddagger$  y  $\Delta V^\ddagger$ , de acuerdo con un sistema activado disociativamente, propio de las reacciones de sustitución del ion  $\text{Co(III)}$ .

**Tabla 4.7.** Resumen de los parámetros cinéticos y de activación para la reacción de la especie incubada de  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con el ligando fosfato inorgánico a diferentes pHs (0.4 M MES/HEPES,  $I = 1.0 \text{ NaClO}_4$ ).

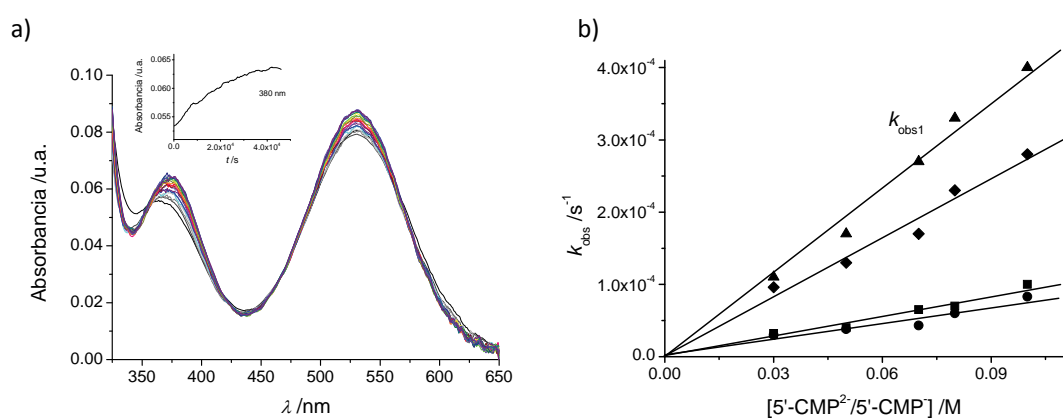
| Ligando entrante                              | pH  | $^{323}k / \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ | $\Delta H^\ddagger / \text{kJ mol}^{-1}$ | $\Delta S^\ddagger / \text{J K}^{-1}\text{mol}^{-1}$ | $\Delta V^\ddagger / \text{cm}^3\text{mol}^{-1}$ |
|---|-----|--|--|--|--|
| $\text{H}_2\text{PO}_4^- / \text{HPO}_4^{2-}$ | 5.5 | $9.3 \times 10^{-3}$                   | No determinado                           |  |  |
|   | 6.0 | $6.7 \times 10^{-3}$                   | No determinado                           |  |  |
|   | 6.5 | $4.6 \times 10^{-3}$                   | $120 \pm 5$                              | $80 \pm 15$  | $23 \pm 1^a$                                     |
|   | 6.8 | $3.6 \times 10^{-3}$                   | No determinado                           |  |  |
|   | 7.1 | No reactivo                            |  |  |  |

<sup>a</sup> Determinado a  $\text{pH} = 6.5$  y  $60^\circ\text{C}$  usando  $k \approx k_{\text{obs}@[\text{fosfato}] = 0.015 \text{ M}} / 0.015$  (Figura 4.17b).

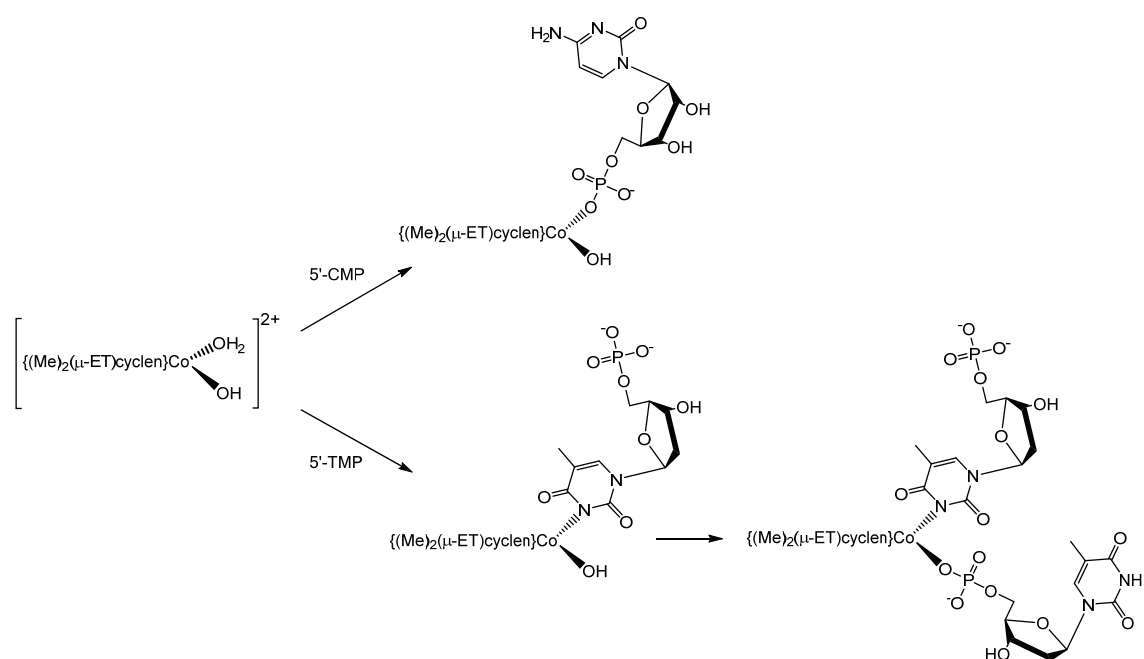
**Citidina 5'-monofosfato** Una vez se ha establecido la reactividad frente la sustitución para el ligando fosfato inorgánico, el siguiente paso en el estudio es la utilización de los nucleótidos indicados en la Figura 4.1. Se ha empezado con el ligando más simple 5'-CMP, por las razones ya indicadas. En estos procesos el nucleótido 5'-

CMP presenta una reactividad similar al ligando fosfato inorgánico en el margen de pH 5.5 a 6.8; en las condiciones de nuestro estudio se encuentra como una mezcla de las formas  $5'-\text{CMP}^-/5-\text{CMP}^{2-}$ .<sup>[156]</sup> Las variaciones en el espectro UV-Vis, una vez equilibradas las soluciones iniciales de Co(III), muestran una única etapa de reacción que se ajusta al modelo  $A \rightarrow B$  mediante el programa Specfit (Figura 4.18).<sup>[114]</sup> La dependencia del valor de estas  $k_{\text{obs}}$  con la concentración de ligando entrante es lineal, tal como se puede apreciar en la Figura 4.18b (Ecuación 2.8 del Capítulo 2). Como es de esperar, no se observa ningún tipo de reactividad frente a la sustitución a pH > 7.1. En la Tabla A.5 del Apéndice A se recogen las constantes cinéticas de pseudoprimer orden observadas para estos procesos a las diferentes variables del estudio.

Como para los casos anteriores, se han realizado experimentos de RMN de  $^{31}\text{P}$  de la solución final con unas concentraciones relativas  $[\text{Co}^{\text{III}}] : [\text{L}] = 1 : 5$  y a pH = 6.0. La concentración de Co(III) es la misma utilizada en las pruebas cinéticas. En estos espectros aparece una única señal a 9.7 ppm a campos más bajos respecto a la señal intensa del ligando libre, con una relación de intensidades entre señales de  $\text{Co}^{\text{III}}\text{L} : \text{L}_{\text{libre}} = 1 : 4$ . Estos resultados indican la coordinación de una molécula de  $5'-\text{CMP}$  por el grupo fosfato de manera monodentada, tal como se muestra en el Esquema 4.7 (parte superior).



**Figura 4.18.** a) Cambios en el espectro electrónico para la reacción de sustitución de la especie  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , incubada a una concentración  $5 \times 10^{-4}$  M, con el ligando  $5'-\text{CMP}$  (0.07 M) a pH 6.5 (0.4 M HEPES); 12 horas a 50 °C,  $I = 1$  ( $\text{NaClO}_4$ ). b) Variación de las constantes cinéticas observadas para la misma reacción a todos los pHs estudiados ( $\Delta$ , pH=5.5;  $\diamond$ , pH=6.0;  $\square$ , pH=6.5;  $\circ$ , pH=6.8; 0.4 M MES/HEPES,  $I = 1.0$  ( $\text{NaClO}_4$ )).



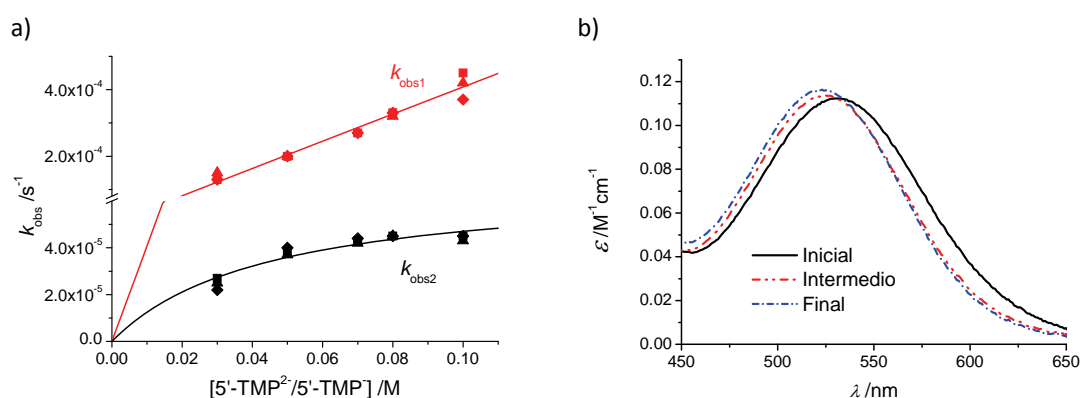
**Esquema 4.7.** Reacciones de sustitución sobre el complejo  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con los distintos nucleótidos estudiados en las condiciones de este trabajo.

En la Tabla 4.8 se incluyen los parámetros cinéticos y de activación más relevantes para estos procesos en las condiciones de nuestro trabajo. Análogamente a la reactividad mostrada para el ligando fosfato, las reacciones se aceleran en medio ácido, donde existe una mayor proporción de la especie  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  menos inerte. Los valores determinados de  $\Delta H^\ddagger$  son elevados y los de  $\Delta S^\ddagger$  positivos, lo que nos indica un comportamiento equivalente a las reacciones de sustitución estudiadas anteriormente.

**Tabla 4.8.** Resumen de los parámetros cinéticos y de activación para la reacción de la especie incubada de  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con el ligando 5'-CMP a diferentes pHs (0.4 M MES/HEPES,  $I = 1.0$  NaClO<sub>4</sub>).

| Ligando entrante                          | pH  | $^{323} k / \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ | $\Delta H^\ddagger / \text{kJ mol}^{-1}$ | $\Delta S^\ddagger / \text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$ |
|---|-----|--|--|---|
| 5'-CMP <sup>-</sup> /5'-CMP <sup>2-</sup> | 5.5 | $3.9 \times 10^{-3}$                     | No determinado                           |   |
|   | 6.0 | $2.7 \times 10^{-3}$                     |  |   |
|   | 6.5 | $0.94 \times 10^{-3}$                    | 124±1                                    | 77±2  |
|   | 6.8 | $0.77 \times 10^{-3}$                    | No determinado                           |   |
|   | 7.1 | No reactivo                              |  |   |

**Timidina 5'-monofosfato** También se ha llevado a cabo el estudio con el ligando 5'-TMP para generalizar las tendencias en la sustitución con los diferentes grupos fosfato. Estas reacciones de sustitución se han seguido por espectroscopia UV-Vis, como es habitual, y una vez equilibradas las soluciones del complejo de Co(III). Los cambios temporales de los espectros electrónicos para estas reacciones muestran 2 etapas que se ajustan al modelo matemático  $A \rightarrow B$ , seguido de  $B \rightarrow C$  (Figura 4.19). A  $\text{pH} > 7.1$  no se observa ningún tipo de reactividad, tal como era de esperar según los resultados indicados en la sección de especiación y estabilidad. La presencia de reacciones secundarias debidas a la utilización del tampón MES, han reducido el margen de pH de trabajo de 6.2 a 6.8. En la Tabla A.5 del Apéndice A se indican las constantes cinéticas de pseudoprimer orden observadas para este sistema en las diferentes condiciones del estudio. En la Figura 4.19a se muestran las variaciones de las  $k_{\text{obs}}$  determinadas con la concentración de ligando entrante y del pH. En cuanto al comportamiento con el pH, estas constantes cinéticas no presentan una dependencia significativa en el estrecho rango de estudio. De todos modos, existen dos tendencias distintas del valor de  $k_{\text{obs}}$  con la concentración de nucleótido según la etapa. Mientras que para  $k_{\text{obs1}}$  la dependencia con la concentración de ligando es lineal (Ecuación 2.8 del Capítulo 2), para  $k_{\text{obs2}}$  se encuentra un comportamiento de saturación a concentraciones elevadas de ligando entrante (Ecuación 2.7 del Capítulo 2).



**Figura 4.19.** a) Constantes cinéticas observadas para la reacción de la especie  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , incubada a una concentración  $5 \times 10^{-4}$  M, con el ligando 5'-TMP a todos los pHs estudiados ( $\Delta$ ,  $\text{pH}=6.2$ ;  $\diamond$ ,  $\text{pH}=6.5$ ;  $\square$ ,  $\text{pH}=6.8$ ; 0.4 M HEPES,  $I = 1.0$  ( $\text{NaClO}_4$ )). b) Espectros electrónicos calculados por Specfit de las especies derivadas del proceso de sustitución con  $[5'\text{-TMP}] = 0.08$  M y pH 6.5 (0.4 M HEPES); 12 horas a  $50^\circ\text{C}$ ,  $I = 1$  ( $\text{NaClO}_4$ ).

Se han realizado de nuevo experimentos de RMN de  $^{31}\text{P}$  de la mezcla de reacción a diferentes tiempos para identificar la naturaleza de las especies presentes; las condiciones han sido  $\text{pH} = 6.5$  y una relación de concentraciones  $[\text{Co}^{\text{III}}] : [\text{L}] = 1 : 5$ . La concentración de Co(III) es la misma utilizada en las pruebas cinéticas. Después de un periodo de 3 horas a  $50\text{ }^\circ\text{C}$  del proceso de substitución, se puede apreciar una señal muy pequeña a 9.3 ppm a campos más bajos de la señal intensa del ligando libre, que aumenta su intensidad pasadas 24 horas en las mismas condiciones. Los resultados parecen indicar la formación de la especie  $\text{Co-O-PO}_3$  solamente en la segunda etapa del proceso. Para completar la determinación de estas especies, se han llevado a cabo experimentos de RMN de  $^1\text{H}$  con secuencia PRESAT a unas condiciones de  $\text{pH} = 6.2$  y con  $[\text{Co}^{\text{III}}] : [\text{L}] = 1 : 5$ . Después de 3 horas de reacción a  $50\text{ }^\circ\text{C}$ , se puede observar la aparición de una señal a 7.9 ppm correspondiente al protón en *para*- al *N* del anillo junto a la señal intensa del ligando libre (Figura 4.1), indicativa de la coordinación inicial por el grupo *N* del nucleótido. El conjunto de estos datos, puesto que las dos etapas dependen de la concentración de 5'-TMP, sugiere la formación inicial del complejo *mono-N*-(5'-TMP) (señal a 7.9 ppm en el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  con secuencia PRESAT), que evoluciona a la especie *bis-N,O*-(5'-TMP) $_2$  a tiempos más largos de reacción (señal a 9.3 ppm en el espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$ ). La secuencia de estos procesos se representa en el Esquema 4.7 (parte inferior). En este sentido, los espectros calculados de las especies intermedia y final mediante el programa Specfit se adecúan a estos resultados (Figura 4.19b). Para la primera reacción, el desplazamiento del máximo en el espectro UV-Vis a energías más elevadas es debido a la coordinación por el grupo *N*-dador del ligando entrante, mientras que para la segunda etapa, prácticamente no se producen variaciones en el valor de  $\lambda_{\text{max}}$  por la formación del enlace *O*-(5'-TMP).

Los parámetros cinéticos y de activación más relevantes para estos procesos de substitución con el ligando 5'-TMP se recogen en la Tabla 4.9. Sorprendentemente, para la primera etapa de reacción, donde la coordinación se produce por el grupo *N*-(5'-TMP), el valor de  $\Delta H^\ddagger$  no es muy elevado y el de  $\Delta S^\ddagger$  es negativo. Como ya se había

observado para el complejo  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  de la sección anterior, la interacción entre la unidad {ONO} del nucleótido y las aguas coordinadas al metal, permite la formación de agregados de esfera externa, que le dan un cierto carácter asociativo al sistema.

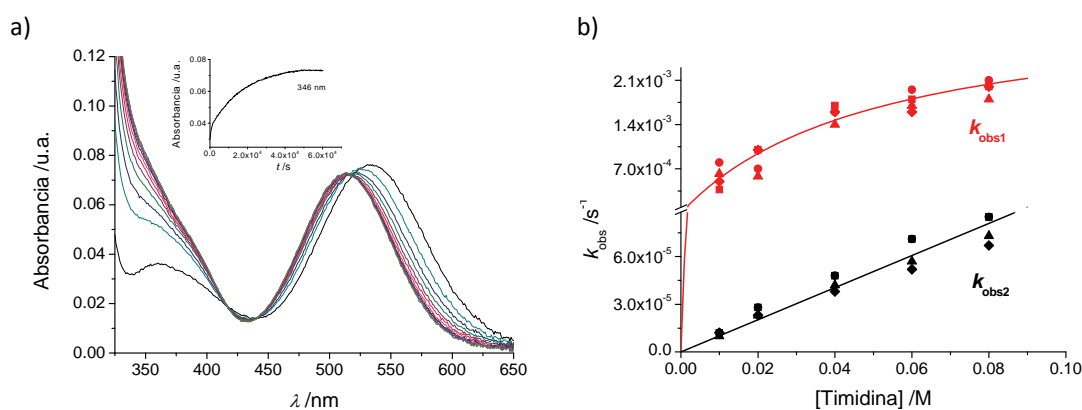
**Tabla 4.9.** Resumen de los parámetros cinéticos y de activación para la reacción de la especie incubada de  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con el ligando 5'-TMP a diferentes pHs (0.4 M HEPES,  $I = 1.0$  NaClO<sub>4</sub>).

| Ligando entrante                          | pH            | $^{323}k / \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$  | $K_{\text{OS}} / \text{M}^{-1}$ | $\Delta H^\ddagger / \text{kJ mol}^{-1}$ | $\Delta S^\ddagger / \text{J K}^{-1}\text{mol}^{-1}$ |
|---|---------------|---|---------------------------------|--|--|
| 5'-TMP <sup>-</sup> /5'-TMP <sup>2-</sup> | 6.2, 6.5, 6.8 | $k_1 = 4.1 \times 10^{-3}$              | --                              | 66±8                                     | -88±23   |
|   |               | $k_2 = 6.8 \times 10^{-5}$ <sup>a</sup> | 25                              | 121±7                                    | 45±21  |
|   | 7.1           | No reactivo                             |                                 |  |  |

<sup>a</sup> Comportamiento limitante, en s<sup>-1</sup>.

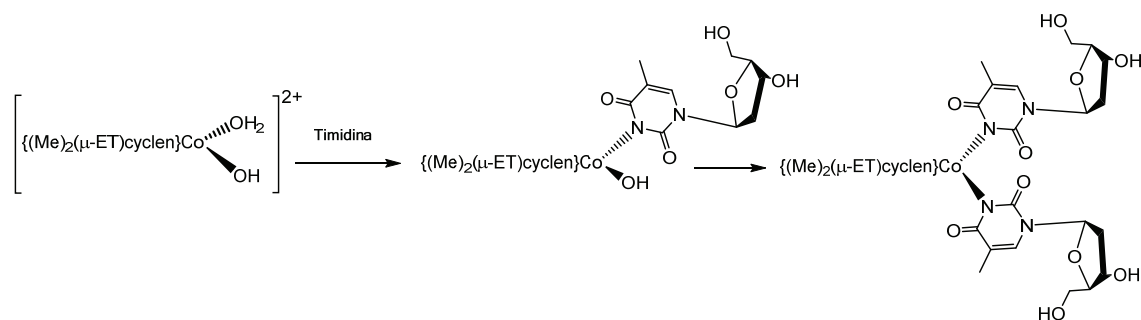
**Timidina** Después de la realización del estudio de sustitución con fosfato inorgánico y los distintos nucleótidos, el estudio se prosiguió con algunos de los nucleósidos indicados en la Figura 4.1. En cuanto a la reacción con el ligando timidina, el seguimiento de estas reacciones de sustitución por espectroscopia UV-Vis se realizó en las mismas condiciones anteriores, después del pre-equilibrado de las soluciones de Co(III). Este proceso presenta 2 etapas secuenciales de reacción que se ajustan al modelo matemático  $A \rightarrow B$ , seguido de  $B \rightarrow C$  (Figura 4.20a). Para este sistema, tampoco se encuentra ningún tipo de reactividad a  $\text{pH} > 7.1$ , a causa de la formación de las especies inertes mencionadas anteriormente y representadas en el Esquema 4.1. En la Tabla A.5 del Apéndice A se recogen todos los valores de las constantes cinéticas de pseudoprimer orden observadas para este tipo de reacciones de sustitución en las diferentes condiciones de nuestro estudio. En la Figura 4.20b se muestran las variaciones de las  $k_{\text{obs}}$  con las concentraciones de ligando y del pH. Para ambos casos los valores de  $k_{\text{obs}1}$  y  $k_{\text{obs}2}$  dependen de la concentración de ligando entrante pero no del pH del medio en el margen estudiado. Como se puede apreciar en la Figura 4.20b, la primera constante observada,  $k_{\text{obs}1}$ , muestra un comportamiento de saturación con la concentración de timidina (Ecuación 2.7 del Capítulo 2), mientras que para  $k_{\text{obs}2}$  la dependencia con la concentración es lineal (Ecuación 2.8 del Capítulo 2).





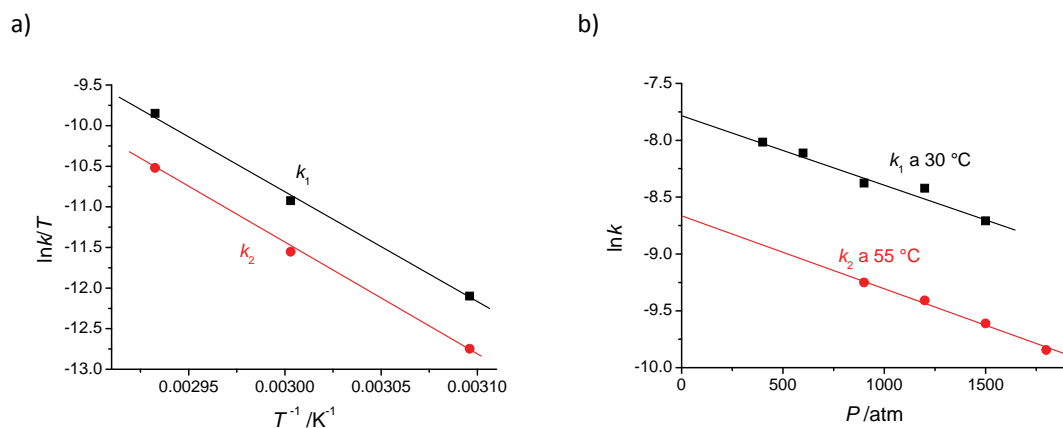
**Figura 4.20.** a) Cambios en el espectro electrónico para la reacción de sustitución de la especie  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , incubada a una concentración  $5 \times 10^{-4}$  M, con el ligando timidina (0.08 M) a pH 6.5 (0.4 M HEPES); 13 horas a 50 °C,  $I = 1$  ( $\text{NaClO}_4$ ). b) Variación de las constantes cinéticas observadas para la misma reacción a todos los pHs estudiados ( $\Delta$ , pH=5.5;  $\diamond$ , pH=6.0;  $\square$ , pH=6.5;  $\circ$ , pH=6.8; 0.4 M MES/HEPES,  $I = 1.0$  ( $\text{NaClO}_4$ )).

Análogamente a los experimentos realizados con los otros complejos de Co(III), el estudio de estos procesos mediante RMN de  $^1\text{H}$  con secuencia PRESAT fue muy revelador respecto a la naturaleza de las especies existentes a diferentes tiempos de reacción. Después de 1 hora a 50 °C a pH = 6.7 y unas concentraciones relativas  $[\text{Co}^{\text{III}}] : [\text{L}] = (0.5 : 2.5) \times 10^{-3}$  M, sólo se apreciaba una pequeña señal a 7.8 ppm aparte de la señal intensa correspondiente al ligando libre a 7.6 ppm; ambas asociadas al protón en *para*- al grupo NH del anillo. El desplazamiento de esta señal a campos más bajos es el esperado a causa de la coordinación del grupo N del anillo de timidina al centro metálico. Después de 24 horas en las mismas condiciones, aparece una nueva señal a 8.1 ppm. Estos resultados corresponden a la formación inicial del complejo *mono*-timidina que evoluciona a la especie *bis*-timidina con el tiempo con una secuencia como la mostrada en el Esquema 4.8.



**Esquema 4.8.** Reacciones de sustitución sobre el complejo  $[\text{Co}(\text{Me}_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con el ligando timidina en las condiciones de nuestro trabajo.

En la Tabla 4.10 se recogen los parámetros cinéticos y de activación más relevantes determinados para estos sistemas en las condiciones de nuestro estudio. Estos parámetros se han determinado a partir de la ecuación de Eyring (Ecuación 2.13 del Capítulo 2) y de la variación de  $\ln k$  frente a  $P$  (Ecuación 2.14 del Capítulo 2), representadas en la Figura 4.21. Para estos procesos, se encuentran unas  $\Delta H^\ddagger$  elevadas, con unos valores de  $\Delta S^\ddagger$  y  $\Delta V^\ddagger$  positivos. Estos corresponden, como es de esperar para un centro de Co(III), a un sistema activado disociativamente en las reacciones de sustitución.



**Figura 4.21.** a) Representación de la Ecuación de Eyring para la reacción de la especie incubada de  $[\text{Co}(\text{Me}_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con el ligando timidina a pH 6.5 (0.4 M HEPES);  $I = 1$  ( $\text{NaClO}_4$ ). b) Representación de  $\ln k$  frente a  $P$  para el mismo sistema.

**Tabla 4.10.** Resumen de los parámetros cinéticos y de activación para la reacción de la especie incubada de  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con los ligandos timidina y uridina a diferentes pHs (0.4 M MES/HEPES,  $I = 1.0 \text{ NaClO}_4$ ).

| Ligando entrante | pH        | $^{323}k / \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$  | $K_{\text{OS}} / \text{M}^{-1}$ | $\Delta H^\ddagger / \text{kJ mol}^{-1}$ | $\Delta S^\ddagger / \text{J K}^{-1}\text{mol}^{-1}$ | $\Delta V^\ddagger / \text{cm}^3\text{mol}^{-1}$ |
|------------------|-----------|---|---------------------------------|--|--|--|
| Timidina         | 5.5 - 6.8 | $k_1 = 3.3 \times 10^{-3}$ <sup>a</sup> | 20                              | $115 \pm 5$ <sup>b</sup>                 | $50 \pm 15$ <sup>b</sup>                             | $15 \pm 2$ <sup>c</sup>                          |
|                  |           | $k_2 = 1.0 \times 10^{-3}$              | --                              | $120 \pm 10$ <sup>b</sup>                | $55 \pm 20$ <sup>b</sup>                             | $18 \pm 1$ <sup>d</sup>                          |
|                  | 7.1       | No reactivo                             |                                 |  |  |  |
| Uridina          | 6.5       | $k_1 = 7.6 \times 10^{-3}$ <sup>a</sup> | 6                               | No determinado                           |  |  |
|                  |           | $k_2 = 9.0 \times 10^{-4}$              | --                              |  |  |  |

<sup>a</sup> Comportamiento limitante, en  $\text{s}^{-1}$ . <sup>b</sup> Determinado a pH = 6.5. <sup>c</sup> Determinado a pH = 6.5 y 30 °C usando  $k_1 \approx k_{\text{obs}}@[\text{Timidina}] = 0.08 \text{ M}$  (Figura 4.20b). <sup>d</sup> Determinado a pH = 6.5 y 55 °C usando  $k_2 \approx k_{\text{obs}}@[\text{Timidina}] = 0.08 \text{ M} / 0.08$  (Figura 4.20b).

**Uridina** El estudio de estos procesos de sustitución también se llevaron a cabo con uridina como ligando entrante. Dada la semejanza estructural y en el comportamiento observado con el ligando anterior, el estudio sólo se realizó a pH = 6.5 y a 50 °C. De nuevo, el seguimiento de estas reacciones muestra 2 etapas consecutivas que se ajustan al modelo matemático anterior  $A \rightarrow B$ , seguido de  $B \rightarrow C$ . En la Tabla A.5 del Apéndice A se incluyen las constantes cinéticas de pseudoprimer orden observadas para estos procesos. Para completar el estudio de estas reacciones, también se han realizado experimentos de RMN de  $^1\text{H}$  con secuencia PRESAT mostrando un paralelismo con el ligando timidina anterior. En vista de estos resultados, los procesos se pueden asociar a la secuencia mostrada en el Esquema 4.8 para el ligando timidina. Los datos cinéticos más relevantes determinados para estos experimentos se incluyen en la Tabla 4.10, donde se aprecia, como en los casos anteriores, una aceleración de los procesos, dado el menor impedimento estérico que presenta el nucleósido uridina respecto al ligando timidina.

#### Resumen de resultados

El comportamiento observado en solución para la especie  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  es distinto al de los compuestos estudiados anteriormente *cis*- $[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  y  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ . A diferencia de éstos, los equilibrios ácido-base que comportan a la formación de especies dimeras con puentes  $\text{OH}^-$  entre centros de Co(III) son sólo dominantes a pH > 7.1. A partir de este valor de pH el

compuesto es inerte a la sustitución debido a la formación tanto de la especie  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{OH})_2]^+$  como de  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\mu\text{-OH})_2]^{4+}$  en el medio de reacción. Así pues, el estudio de los procesos de sustitución sobre el compuesto  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  se ha llevado a cabo entre los pH 5.5 y 6.8, donde la especie mayoritaria es el monómero  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})]^{2+}$  y la formación del dímero es poco significativa. Los tiempos de reacción para estos procesos son notablemente más largos que los análogos con los compuestos anteriores de cobalto. De todos modos, el comportamiento sigue siendo el esperado para los complejos clásicos de Co(III) con configuración  $t_{2g}^6$ . La disminución de la velocidad se asocia a que para la especie  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  no es posible la actuación de procesos de base conjugada, al no existir unidades  $\text{NH}$  en el ligando encapsulante.

Los parámetros de activación determinados para estas reacciones de sustitución son indicativos de un mecanismo activado disociativamente, es decir,  $\Delta H^\ddagger$  elevadas y valores de  $\Delta S^\ddagger$  y  $\Delta V^\ddagger$  positivos. Como excepción cabe destacar los valores obtenidos para el ligando 5'-TMP, como ya se había observado para los compuestos de cobalto anteriores. Con este ligando, son posibles unas interacciones entre la unidad  $\{\text{ONO}\}$ , además del grupo fosfato del nucleótido, con los ligandos acuo coordinados al centro metálico, lo que conlleva a la formación de agregados de esfera externa que le proporcionan un carácter más asociativo al sistema.

### 4.3 Discusión global de resultados para los sistemas de Co(III)

En el estudio cinético-mecánico de las reacciones de sustitución sobre los complejos de Co(III) con ligandos tripodales y macrocíclicos utilizados en este trabajo (Figura 4.2 y 4.5), cabe destacar la importancia de su especiación y estabilidad alrededor del pH fisiológico (6.0 – 8.0). En estas condiciones, los compuestos en solución deberían encontrarse mayoritariamente como hidroxoespecies de cobalto.<sup>[95,134,137]</sup> Sin embargo, en todos los casos se observa la formación de complejos dímeros con ligandos  $\mu$ -OH entre los centros metálicos, tal como se indica en el Esquema 4.1.<sup>[24-26,127]</sup> Estas especies dimeras producen una disminución de la reactividad respecto a las reacciones de sustitución debido a que los ligandos  $\text{OH}^-$  y  $\mu$ -OH formados están más fuertemente unidos al metal, dificultando la sustitución por un mecanismo activado disociativamente, como corresponde a centros de Co(III).<sup>[20,21]</sup>

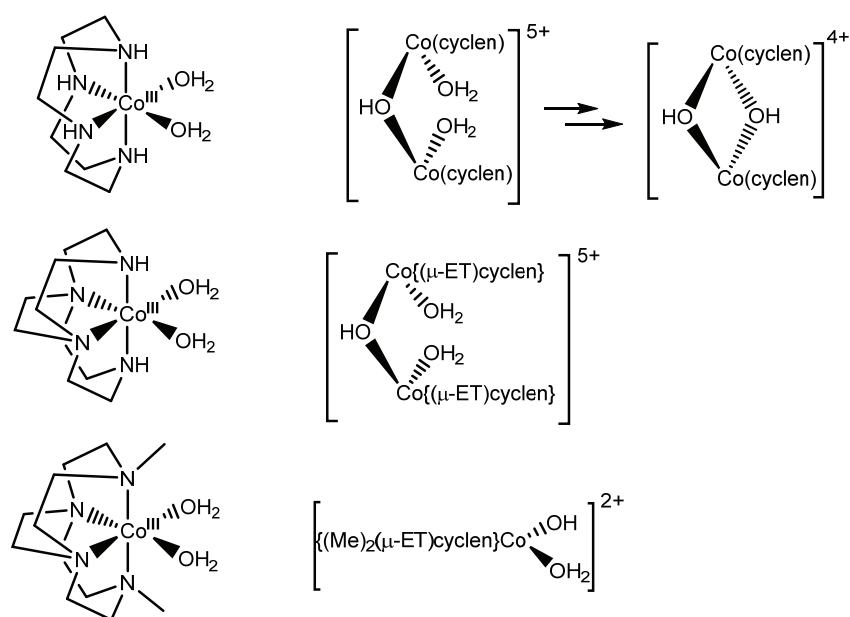
Por otro lado, el uso de diferentes soluciones amortiguadoras, utilizadas para la estabilización del pH, representa un grave inconveniente en algunos casos. La interacción que presentan algunas de las especies de las soluciones tampón, supuestamente inertes, con los complejos de Co(III) utilizados en este estudio, pueden modificar los compuestos de partida, produciendo reacciones secundarias. Estos problemas se han observado muy claramente para el complejo  $\text{cis}[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , donde se ha restringido el uso de las soluciones amortiguadoras a la única especie HEPES. Las interacciones detectadas con otras especies amortiguadoras, producen una modificación más notable del sistema, que incluso no puede asociarse solamente a la formación de complejos de esfera externa. Cabe también destacar la reactividad observada con el fosfato inorgánico en todos los sistemas, lo que imposibilita su uso como amortiguador del pH en estos procesos.

Para los sistemas de Co(III) estudiados con ligandos tripodales (Figura 4.2), la formación en solución de las especies  $\text{cis}[\text{Co}(\text{N})_4(\mu\text{-OH})_2]^{4+}$  y  $\text{cis}[\text{Co}(\text{N})_4(\text{OH})_2]^+$ , produce una falta de reactividad en cuanto a sustitución, en todo el margen de pH estudiado. Cabe destacar que los procesos de dimerización para la especie

$[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  son notablemente más lentos que para el complejo  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , debido a la ausencia de grupos *NH* del ligando tetradentado, lo que evita la reactividad por un mecanismo de base conjugada.<sup>[20,110,111]</sup>

Para el grupo de compuestos de Co(III) con ligandos macrocíclicos tetradentados estudiado (Figura 4.5), se observa, de nuevo, la formación de especies dimeras en solución en las condiciones de nuestro trabajo. En este caso, sin embargo, estas especies presentan una reactividad apreciable frente a la sustitución con las moléculas biológicamente relevantes empleadas en el estudio. A pesar de que el Co(III) tiene una configuración  $t_{2g}^6$ , que lo hace químicamente inerte, la presencia de los grupos *NH* en algunos de los ligandos tetradentados utilizados, acelera su reactividad por un mecanismo de base conjugada. Se ha podido modular este efecto substituyendo total o parcialmente los grupos *N* del ligando tetradentado.

En el Esquema 4.9 se muestran las especies finales presentes en soluciones equilibradas de los complejos de Co(III) estudiados con ligandos macrocíclicos, en las condiciones de nuestro trabajo. Este conjunto indica la preferencia termodinámica por la formación de las especies con ligandos  $\mu\text{-OH}$ . Cabe destacar que, para todos los sistemas, a pHs más básicos se forman las especies *cis*- $[\text{Co}(\text{N})_4(\mu\text{-OH})_2]^{4+}$  y *cis*- $[\text{Co}(\text{N})_4(\text{OH})_2]^+$  que resultan inertes a la sustitución, tal como se ha indicado. Según se muestra en el Esquema 4.9, esta reactividad está relacionada con la presencia de grupos *NH* en el ligando tetradentado. En resumen, las especies de cobalto reactivas en los procesos de sustitución realizados son: el complejo dímero *mono*- $\mu\text{-OH}$  para las especies *cis*- $[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  y  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , y el monómero para la especie  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ . Sin embargo, para el complejo *cis*- $[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , la monitorización de las mezclas de reacción a tiempos largos, indica la formación final de la especie inerte  $[\text{Co}(\text{cyclen})(\mu\text{-OH})_2]^{4+}$  en el medio, incluso en fases posteriores a la sustitución.



**Esquema 4.9.** Especies termodinámicamente estabilizadas en solución para los complejos de Co(III) con ligandos macrocíclicos tetradentados utilizados en el medio de reacción del estudio.

La escala temporal de las diferentes reacciones de sustitución estudiadas en este trabajo, merece una especial atención. Mientras que para la especie *cis*- $[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  los  $t_{1/2}$  son inferiores a 200 segundos a 25 °C, para el compuesto totalmente sustituido,  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2\mu\text{-ET}(\text{cyclen})\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , los tiempos son notablemente más largos (20 horas a 50 °C). Esta última escala de tiempo es la que se esperaría para las sustituciones clásicas sobre metales con configuración  $t_{2g}^6$ , lo que indica la intervención de procesos de base conjugada en los otros casos. Es interesante destacar que, para ninguno de los complejos de Co(III) utilizados en este trabajo se ha observado reactividad con el  $\text{Cl}^-$  como ligando entrante. Este resultado es muy importante, puesto que estas especies en las condiciones biológicas no se verían afectadas por el valor de  $\text{pCl}$  del medio, hecho muy relevante en la reactividad observada para el *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ .

El comportamiento general en cuanto a la sustitución sobre estos complejos es diferente al observado para las especies de Pt(II). Los sistemas de Co(III) presentan una preferencia por los grupos *O* del fosfato en lugar de los grupos *N* de las bases purínicas, a pesar de ser sistemas activados disociativamente. Esta reactividad se ha asociado

incluso a la hidrólisis de los nucleótidos una vez coordinados al centro metálico,<sup>[162-164]</sup> pero siempre en condiciones de pH más básico que el fisiológico.<sup>[157]</sup> Para ninguno de los complejos de Co(III) preparados en este trabajo se han apreciado estas reacciones de hidrólisis en el margen de pH del estudio. Sin embargo, sí que se ha observado que la reacción con nucleótidos donde existe una posible desprotonación del grupo amina, conduce a especies coordinadas a través de este grupo *N*. En estos casos se detecta, sorprendentemente, una naturaleza del proceso con un carácter más asociativo.<sup>[161]</sup>

En la Tabla 4.11 se recoge un resumen de los parámetros cinético-mecanísticos más relevantes para los estudios de sustitución sobre los complejos de Co(III) con ligandos macrocíclicos (Figura 4.5), con los diferentes nucleósidos y nucleótidos utilizados.



**Tabla 4.11.** Resumen de los parámetros cinético-mecanísticos más relevantes para las reacciones de sustitución de las especies de Co(III) con ligandos macrocíclicos estudiadas en este trabajo. Los valores de  $t_{1/2}$  se han extrapolado a 25 °C para el conjunto de los procesos observados y a  $[L] = 0.05$  M cuando es necesario (comportamiento lineal).

***cis*-[Co(cyclen)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup>**

| Ligando entrante | $t_{1/2}$ /s | Dependencia        | $K_{OS} / M^{-1}$ | $\Delta H^\ddagger$ /kJ mol <sup>-1</sup> | $\Delta S^\ddagger$ /J K <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup> | $\Delta V^\ddagger$ /cm <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> |
|------------------|--------------|--------------------|-------------------|---|--|--|
| 5'-CMP           | 3            | $k_1$ : saturación | 65                | 61 ± 1                                    | -55 ± 2  | --   |
|                  |              | $k_2$ : saturación | 54                | No determinado                            |  |  |

**[Co{(μ-ET)cyclen}(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup>**

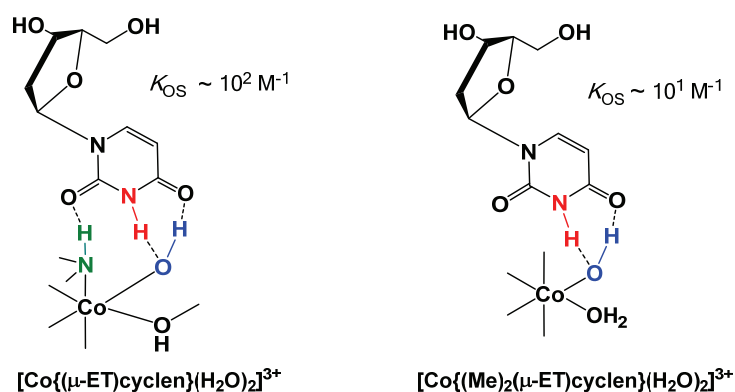
| Ligando entrante | $t_{1/2}$ /s       | Dependencia        | $K_{OS} / M^{-1}$ | $\Delta H^\ddagger$ /kJ mol <sup>-1</sup> | $\Delta S^\ddagger$ /J K <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup> | $\Delta V^\ddagger$ /cm <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> |
|------------------|--------------------|--------------------|-------------------|---|--|--|
| Timidina         | 26×10 <sup>3</sup> | $k_1$ : saturación | 100               | 95 ± 4                                    | 11 ± 14  | -8 ± 1   |
|                  |                    | $k_2$ : lineal     | --                | 90 ± 7                                    | -8 ± 22  | 4 ± 1  |
| Citidina         | 51×10 <sup>3</sup> | $k_1$ : lineal     | --                | 95 ± 1                                    | 19 ± 4   | --   |
|                  |                    | $k_2$ : lineal     | --                | 100 ± 5                                   | 20 ± 16  |  |
| 5'-TMP           | 19×10 <sup>3</sup> | $k_1$ : saturación | 20                | 43 ± 3                                    | -160 ± 8   | -15 ± 2  |
|                  |                    | $k_2$ : saturación | 35                | 105 ± 5                                   | 20 ± 14  | 0 ± 1  |
| 5'-CMP           | 56×10 <sup>3</sup> | $k_1$ : lineal     | --                | 115 ± 4                                   | 78 ± 14  | --   |
|                  |                    | $k_2$ : lineal     | --                | 71 ± 6                                    | -78 ± 20   |  |

**[Co{(Me)<sub>2</sub>(μ-ET)cyclen}(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup>**

| Ligando entrante | $t_{1/2}$ /s       | Dependencia        | $K_{OS} / M^{-1}$ | $\Delta H^\ddagger$ /kJ mol <sup>-1</sup> | $\Delta S^\ddagger$ /J K <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup> | $\Delta V^\ddagger$ /cm <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> |
|------------------|--------------------|--------------------|-------------------|---|--|--|
| Timidina         | 24×10 <sup>4</sup> | $k_1$ : saturación | 20                | 115 ± 5                                   | 50 ± 15  | 15 ± 2   |
|                  |                    | $k_2$ : lineal     | --                | 120 ± 10                                  | 55 ± 20  | 18 ± 1   |
| 5'-TMP           | 59×10 <sup>4</sup> | $k_1$ : lineal     | --                | 66 ± 8                                    | -88 ± 23   | --   |
|                  |                    | $k_2$ : saturación | 25                | 121 ± 7                                   | 45 ± 21  |  |
| 5'-CMP           | 85×10 <sup>4</sup> | $k_1$ : lineal     | --                | 124 ± 1                                   | 77 ± 2   | --   |

Los datos resumidos en la Tabla 4.11 indican 1 ó 2 etapas de reacción y, en general, con mecanismos íntimos activados disociativamente. Esto se pone de manifiesto por los valores elevados de  $\Delta H^\ddagger$  y los de  $\Delta S^\ddagger$  y  $\Delta V^\ddagger$  normalmente positivos. De todos modos, para los sistemas que contienen la unidad {ONO} en el ligando a substituir como la timidina o 5'-TMP (Figura 4.1), se aprecia en algunos casos un comportamiento claramente asociativo con  $\Delta H^\ddagger$  pequeñas y valores de  $\Delta S^\ddagger$  y  $\Delta V^\ddagger$  negativos. Estos resultados divergentes son solamente justificables si se consideran las posibles interacciones, previas a la substitución, entre el complejo de Co(III) y el

ligando entrante en el medio de reacción. Estas asociaciones de esfera externa, no son solamente debidas a fuerzas electrostáticas, sino que las interacciones por enlace de hidrógeno parecen ser dominantes en estos procesos. En este sentido cabe destacar que, la presencia de grupos *NH* en el ligando macrocíclico tetradentado fomenta este tipo de interacciones, tal como se esquematiza en la Figura 4.22. Los valores de  $K_{OS}$  entre los complejos  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  y  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  y la unidad timidina, son un orden de magnitud mayor para la primera especie, que contiene grupos *NH* en la estructura del macrociclo.



**Figura 4.22.** Interacciones por enlace de hidrógeno involucradas para las reacciones de los complejos  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  y  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con el ligando timidina.

La formación de estos agregados de esfera externa añade una selectividad al modo de coordinación de los ligandos entrantes, favoreciendo la coordinación por los grupos *O*- ó *N*- dependiendo de la estructura del ligando.



## CAPÍTULO 5

*REACCIONES DE SUBSTITUCIÓN SOBRE  
COMPLEJOS DE Ru(II)*



Tal como se ha indicado en el Capítulo anterior, los procesos de solvólisis para producir acuopecies reactivas son cruciales en la química en solución de complejos, como el *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]. Otra parte también esencial en el estudio de sus procesos de sustitución, es la especiación de los complejos metálicos a pHs próximos al fisiológico. Como ya se ha indicado, la posible formación de especies con ligandos  $\mu$ -OH es uno de los puntos clave a considerar previamente a cualquier estudio de sustitución, identificando las especies en el medio relevante de reacción. En este aspecto, se deberá evitar la formación de complejos inertes con estructura general *cis*-[M(N)<sub>4</sub>(OH)<sub>2</sub>]<sup>n+</sup> y *cis*-[M(N)<sub>4</sub>( $\mu$ -OH)<sub>2</sub>]<sup>n+</sup>.

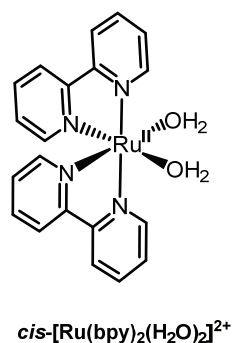
El uso de complejos de Ru(II) es una buena alternativa a los compuestos de Pt(II), por varias razones ya mencionadas en la Introducción de esta memoria. Los resultados de diversos ensayos clínicos llevados a cabo con compuestos de Ru(II) producen pocos efectos secundarios, en parte debido a que las propiedades químicas y redox de este metal, lo semejan al ion Fe(II),<sup>[165]</sup> ampliamente presente en sistemas biológicos. A diferencia del modo de actuación que está establecido para el Pt(II), la actividad del Ru(II) está asociada a una gran variedad de procesos, lo que permite una modulación más amplia en sus mecanismos de actuación. Éstos incluyen la coordinación a biomoléculas,<sup>[166]</sup> procesos redox relacionados con ROS,<sup>[167]</sup> o la intercalación que tiene lugar en varios sitios diana de ciertas biomoléculas.<sup>[74,168]</sup>

A pesar de que el centro de Ru(II) tiene una configuración  $t_{2g}^6$ , que lo debería hacer inerte, los diferentes estudios realizados muestran una relativa labilidad de sus complejos. Además, aunque la especiación de estos compuestos en los medios relevantes no ha sido sistemáticamente determinada, algunos trabajos sobre complejos de Ru(II) con interés biológico,<sup>[64,169]</sup> indican que la formación de especies activas de rutenio, implica necesariamente un proceso de sustitución inicial.

En vista de los resultados obtenidos con los complejos de Co(III) anteriores, se pensó en la utilización de complejos de Ru(II) con estructuras similares, dadas las propiedades que presentaba el metal. En cuanto a la elección de la estructura del

compuesto metálico, en este caso debería evitarse la presencia de unidades {HC-NH} a pHs cercanos a la neutralidad, puesto que éstas aumentan la reactividad redox, produciéndose la oxidación del ligando coordinado al metal.<sup>[144]</sup> Desafortunadamente, el tamaño de la cavidad derivada del ligando con los grupos amina totalmente substituidos, {Me<sub>2</sub>(μ-ET)cyclen}, parece ser demasiado pequeña para estabilizar metales con estado de oxidación (+2) de la segunda serie de transición. Como alternativa, se ha propuesto el uso de complejos de Ru(II) con ligandos polipiridil, dada su importancia como agentes anticancerígenos<sup>[170]</sup> y la estabilidad que presentan sus soluciones acuosas.<sup>[171]</sup>

Por otro lado, aparte del incremento de labilidad mostrado respecto a los complejos de Co(III), los compuestos de Ru(II) siguen generalmente mecanismos activados asociativamente en las reacciones de sustitución, por lo que resultan muy interesantes en cuanto a la diferenciación de biomoléculas. De todos modos se ha observado cierto carácter disociativo para complejos con una fuerte influencia *trans*, o cuando se involucra un mecanismo de base conjugada.<sup>[81,82]</sup> Con todo esto en mente, en este trabajo se realizará un estudio cinético-mecanístico de las reacciones de sustitución sobre el complejo *cis*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>, representado en la Figura 5.1, con los nucleósidos y nucleótidos anteriormente indicados en la Figura 4.1 a pHs cercanos al fisiológico.



**Figura 5.1.** Complejo de Ru(II) con ligandos bipyridina utilizado para el estudio de sustitución en este trabajo.

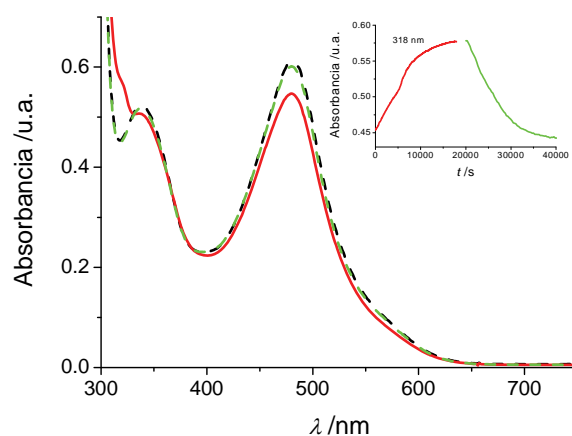
***cis-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>***

Como en la sección anterior, el primer paso antes de la realización del estudio de sustitución, es la determinación de la especiación y estabilidad del complejo *cis*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> en las condiciones de nuestro trabajo. Los valores de los pK<sub>a</sub> para este complejo, previamente conocidos, son pK<sub>a,1</sub> = 8.9 y pK<sub>a,2</sub> > 11.<sup>[150]</sup> Estos valores tan elevados son debidos tanto al estado de oxidación y tamaño del metal, puesto que forma parte de la segunda serie de transición, como a las propiedades del ligando. Así pues, en todos los casos se encontrará como especie dominante en solución la diacuoespecie en el margen de pH de trabajo (6.0 – 8.0). Por esta razón, no se esperan procesos de dimerización en las condiciones del estudio (como los observados para los compuestos de Co(III) anteriores). De todos modos, la presencia de pequeñas cantidades de la especie *cis*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(OH)]<sup>+</sup> puede ser relevante para los procesos de sustitución a pHs > 7.5 y deberá considerarse en algunos casos.

*Especiación y estabilidad en el medio de reacción*

A pesar de lo indicado, el estudio de la especiación y estabilidad de este complejo ha dado resultados sorprendentes. El seguimiento por espectroscopia UV-Vis de soluciones de *cis*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> a una concentración de 1×10<sup>-4</sup> M en las condiciones de nuestro estudio, producen unos pequeños cambios en el espectro, con una duración de 5 horas a 25 °C. Éstos se invierten cuando la muestra se coloca en ausencia de luz, y con la misma duración (Figura 5.2). El proceso es posiblemente debido a la descoordinación parcial de los anillos de bipyridina por procesos fotoquímicos como se ha encontrado en trabajos anteriores en la bibliografía.<sup>[78,172,173]</sup> Estos mismos procesos se han llevado a cabo ajustando el pH sin el uso de las soluciones amortiguadoras, obteniendo resultados idénticos. En vista de las complicaciones que podrían producir toda esta serie de sucesos, todas las reacciones de sustitución posteriores se han realizado en ausencia de luz. En estas condiciones, y como era de esperar, no se encuentra la formación de especies dímeras con ligandos μ-OH entre centros metálicos, ni los procesos fotoquímicos indicados.





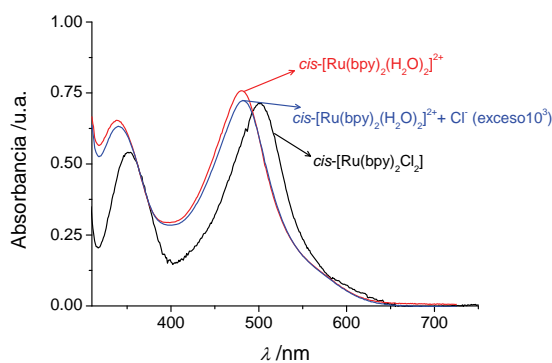
**Figura 5.2.** Cambios en el espectro UV-Vis observados en soluciones de  $cis\text{-[Ru(bpy)}_2\text{(H}_2\text{O)}_2\text{]}^{2+}$  expuestas a la luz (negro a rojo), y el proceso inverso en ausencia de luz (rojo a verde) a 25 °C;  $[\text{Ru(II)}] = 1 \times 10^{-4}$  M, pH 6.5 (0.4 M HEPES),  $I = 1$  ( $\text{NaClO}_4$ ).

#### *Estudio de sustitución de los ligandos acuo*

El estudio de las reacciones de sustitución de los dos ligandos acuo en *cis* del complejo  $cis\text{-[Ru(bpy)}_2\text{(H}_2\text{O)}_2\text{]}^{2+}$  se ha realizado en un margen de pH de 6.0 a 8.0 y alrededor de 25 °C. Tal como se ha mencionado, en este intervalo de pH se encuentra como especie mayoritaria el monómero  $cis\text{-[Ru(bpy)}_2\text{(H}_2\text{O)}_2\text{]}^{2+}$ . Se han utilizado unos excesos de las concentraciones de los ligandos entrantes suficientes para garantizar condiciones de pseudoprimer orden, según ya se ha descrito.

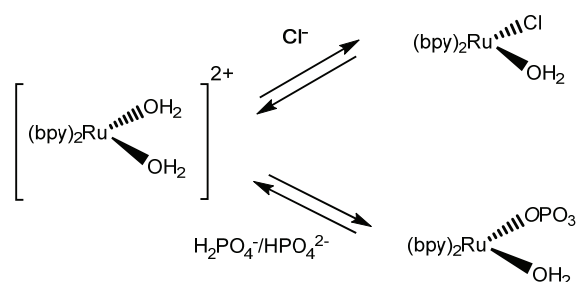
**Cloruro** Como en todos los procesos de sustitución realizados con los compuestos de Co(III) anteriores, el estudio se inició con  $\text{Cl}^-$  como ligando entrante, puesto que es un elemento relevante en nuestro organismo.<sup>[17,89]</sup> A diferencia de lo ocurrido con los complejos de Co(III) de la sección anterior, las reacciones con cloruros conducen a una sustitución parcial de los ligandos acuo coordinados al metal, en las condiciones de nuestro trabajo. Las variaciones en los espectros electrónicos para estos procesos de sustitución muestran una sola etapa que se ajusta, mediante el programa Specfit,<sup>[114]</sup> a la secuencia matemática  $A \rightarrow B$ , tal como se detalla en el Experimental (Capítulo 7). Los pequeños cambios observados en el espectro UV-Vis se asocian a una reacción de equilibrio poco desplazada hacia el clorurocomplejo, con

una duración de 6 horas a 25 °C, incluso con excesos muy elevados de ligando entrante (Figura 5.3). En la Tabla A.6 del Apéndice A se indican las constantes cinéticas de pseudoprimer orden observadas para estas reacciones de sustitución en las condiciones del estudio. Las variaciones de las constantes cinéticas con la concentración de ligando entrante muestran un comportamiento lineal con ordenada en origen, que se acelera a pHs más ácidos (Ecuación 2.8 del Capítulo 2). La disminución de velocidad a pHs elevados está asociada a la presencia residual de la especie  $cis\text{-[Ru(bpy)}_2\text{(H}_2\text{O)(OH)]}^+$  en el medio de reacción. Por una parte, esta especie monohidroxo, produce un complejo de esfera externa menos favorable  $\{+1\}/\{-1\}$  entre los reactivos (a diferencia de  $\{+2\}/\{-1\}$  del diacuocomplejo). Por otro lado, la presencia del ligando  $\text{OH}^-$ , más fuertemente unido al metal, dificulta estadísticamente los procesos de sustitución del agua coordinada. Así pues, la secuencia de procesos que intervienen en esta reacción de sustitución, en las condiciones de nuestro estudio, se representa en el Esquema 5.1 (parte superior).



**Figura 5.3.** Comparación de los espectros electrónicos de las especies  $cis\text{-[Ru(bpy)}_2\text{(H}_2\text{O)}_2\text{]}^{2+}$  (rojo) y  $cis\text{-[Ru(bpy)}_2\text{Cl}_2\text{]}$  (negro) con la obtenida después de la reacción de sustitución de la diacuoespecie con cloruro (azul);  $[\text{Ru(II)}] = 1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ,  $[\text{Cl}^-] = 0.01 \text{ M}$ , pH 7.0 (0.4 M HEPES), 6 horas a 25 °C,  $I = 1$  ( $\text{NaClO}_4$ ).

Puesto que los cambios en los espectros electrónicos de estas reacciones de sustitución son muy pequeños y poco reproducibles, y además están dominados por la etapa de solvólisis del complejo de Ru(II), no se realizó un estudio exhaustivo con  $\text{Cl}^-$  como ligando entrante.



**Esquema 5.1.** Reacciones de sustitución sobre el complejo  $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$  con los ligandos cloruro y fosfato inorgánico en las condiciones de nuestro trabajo.

**Fosfato inorgánico** El estudio de sustitución se continuó con el ligando fosfato inorgánico, como modelo de las interacciones con nucleótidos que se estudiarán posteriormente, alrededor del pH fisiológico. Los cambios temporales en los espectros electrónicos del medio de reacción se ajustan a una única etapa que se adecúa al modelo  $A \rightarrow B$ . En la Tabla A.6 del Apéndice A se indican los valores de las constantes cinéticas de pseudoprimer orden observadas según las diferentes variables del estudio. La dependencia de las  $k_{\text{obs}}$  con la concentración de ligando entrante es lineal y presenta una ordenada en origen (Ecuación 2.8 del Capítulo 2), lo que implica la existencia de un equilibrio en la reacción en las condiciones del estudio, al igual que para el ion  $\text{Cl}^-$ . El valor de las constantes observadas no depende del pH en el rango de trabajo, a pesar de la mayor proporción de la especie  $\text{HPO}_4^{2-}$  en el medio de reacción al aumentar la basicidad ( $\text{p}K_a = 7.22$ ).<sup>[155]</sup> Esto probablemente es debido al incremento paralelo del porcentaje de la especie menos reactiva  $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})]^+$  en solución que compensa este hecho, tal como ya se ha indicado.

Siguiendo la misma metodología que en capítulos anteriores, se realizaron espectros de RMN de  $^{31}\text{P}$  de las mezclas finales de reacción para determinar la naturaleza de las especies presentes. Estos experimentos se realizaron a  $\text{pH} = 6.5$  y a unas concentraciones de  $[\text{Ru}] : [\text{P}] = (0.5:50) \times 10^{-3} \text{ M}$ . El resultado de estas pruebas fue la aparición de una señal a 12.0 ppm a campos más bajos respecto de la señal del ligando libre en exceso, lo que indica la coordinación de una molécula de fosfato sobre el

complejo *cis*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>, en forma de η<sup>1</sup>-OPO<sub>3</sub>, tal como se representa en el Esquema 5.1 (parte inferior).

En la Tabla 5.1 se indican los parámetros cinéticos más relevantes para estos procesos de sustitución en las condiciones del estudio. No se han determinado los parámetros de activación, puesto que este ligando sólo sirve como patrón para las reacciones de sustitución con los nucleótidos posteriores, a la vez que indica la no viabilidad en la utilización de disoluciones de fosfato como estabilizadoras del pH para el estudio *in vitro* de estos procesos.

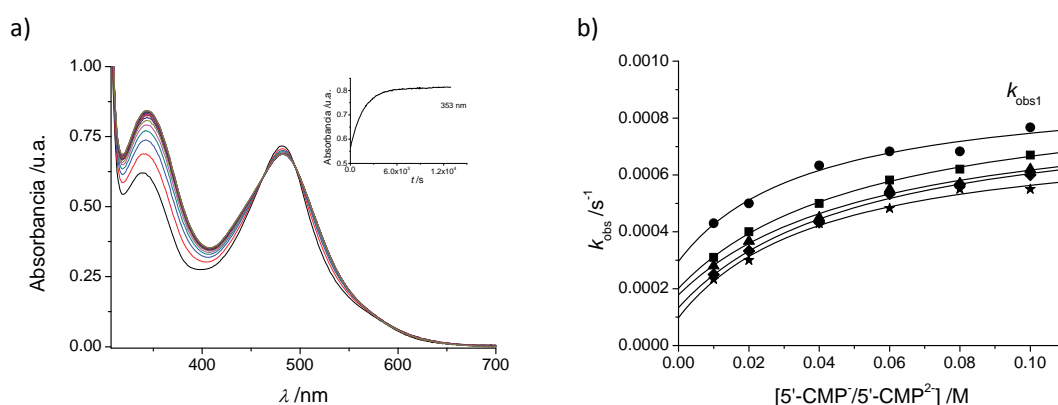
**Tabla 5.1.** Resumen de los parámetros cinéticos más relevantes para la reacción de sustitución del complejo *cis*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> con el ligando fosfato inorgánico a diferentes pHs (0.4 M MES/HEPES, I = 1.0 NaClO<sub>4</sub>).

| Ligando entrante  | pH      | <sup>298</sup> k / M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup>                       |
|---|---------|--|
| H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> /HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | 6.0-8.0 | $k_1 = 1.4 \times 10^{-3}$<br>$k_{-1} = 7.2 \times 10^{-4}$ <sup>a</sup> |

<sup>a</sup> Constante de la etapa inversa en s<sup>-1</sup>.

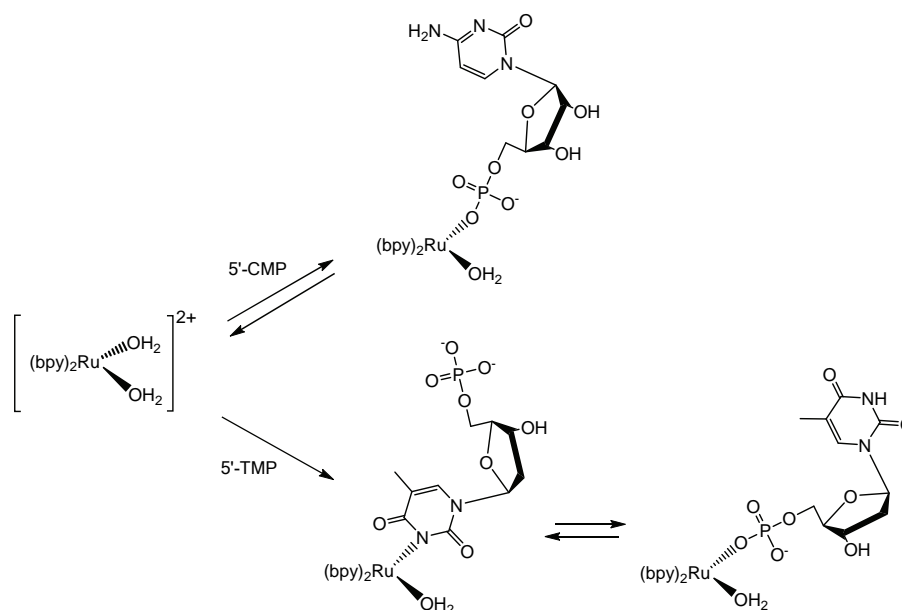
**Citidina 5'-monofosfato** Una vez se ha establecido la reactividad respecto a la sustitución con fosfato inorgánico, el siguiente paso en el estudio es la utilización de los nucleótidos mostrados en la Figura 4.1 como ligandos entrantes. Los experimentos se realizaron de nuevo en un margen de pH de 6.0 a 8.0 a una temperatura alrededor de 25 °C. En cuanto a la sustitución con el nucleótido 5'-CMP, las variaciones temporales en el espectro UV-Vis para estas reacciones, en las condiciones del trabajo, indican de nuevo una sola etapa que se ajusta al modelo A → B (Figura 5.4a). En la Tabla A.6 del Apéndice A se recogen los valores de las constantes cinéticas de pseudoprimer orden observadas para estas reacciones de sustitución según las diferentes variables del estudio. En la Figura 5.4b se puede apreciar la dependencia de los valores de *k*<sub>obs</sub> con la concentración de nucleótido y del pH. La variación con la concentración de ligando entrante muestra un comportamiento de saturación a concentraciones elevadas, con un valor apreciable de ordenada en origen, lo que implica un proceso de equilibrio (Ecuación 2.7 del Capítulo 2), y con acumulación de

complejo de esfera externa. Este proceso de equilibrio está, además, confirmado por el incremento observado de los cambios espectrales al aumentar la concentración de 5'-CMP. Los valores de  $k_{obs}$ , sin embargo, resultan prácticamente independientes del pH, a pesar de la mayor presencia en solución de la especie 5'-CMP<sup>2-</sup> a pHs elevados.<sup>[156]</sup> Esto indica que se produce la misma compensación de efectos descrita para la sustitución por el ligando fosfato inorgánico anterior.



**Figura 5.4.** a) Cambios en el espectro electrónico para la reacción de sustitución de la especie *cis*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> a una concentración  $1 \times 10^{-4}$  M con el ligando 5'-CMP (0.04 M) a pH 7.5 (0.4 M HEPES); 3 horas a 25 °C,  $I = 1$  (NaClO<sub>4</sub>). b) Variación de las constantes cinéticas observadas para la misma reacción a todos los pHs estudiados (☆, pH=6.0; ◇, pH=6.5; Δ, pH=7.0; □, pH=7.5; ○, pH=8.0; 0.4 M MES/HEPES,  $I = 1.0$  (NaClO<sub>4</sub>)).

Como en el apartado anterior, se han realizado experimentos de RMN de <sup>31</sup>P de la solución final de las mezclas de reacción, en este caso a pH = 6.5 y a concentraciones de [Ru] : [5'-CMP] = (0.5:50) × 10<sup>-3</sup> M. Los espectros finales de estos procesos muestran la aparición de una señal a 13.0 ppm a campos más bajos respecto de la señal del ligando libre en exceso, que se asocia de nuevo a la formación de la especie  $\eta^1$ -(O-5'-CMP), tal como se muestra en el Esquema 5.2 (parte superior).



**Esquema 5.2.** Reacciones de sustitución sobre el complejo  $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$  con los diferentes nucleótidos utilizados en las condiciones de nuestro trabajo.

En la Tabla 5.2 se indican los parámetros cinéticos y de activación más relevantes para estos procesos de sustitución en las condiciones del estudio. Los valores de  $\Delta H^\ddagger$  determinados son elevados y los de  $\Delta S^\ddagger$  positivos, adecuándose, sorprendentemente al tratarse de un centro de Ru(II), a un mecanismo activado disociativamente en las reacciones de sustitución.

**Tabla 5.2.** Resumen de los parámetros cinéticos y de activación más relevantes para la reacción de sustitución del complejo  $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$  con el ligando 5'-CMP a diferentes pHs (0.4 M MES/HEPES,  $I = 1.0 \text{ NaClO}_4$ ).

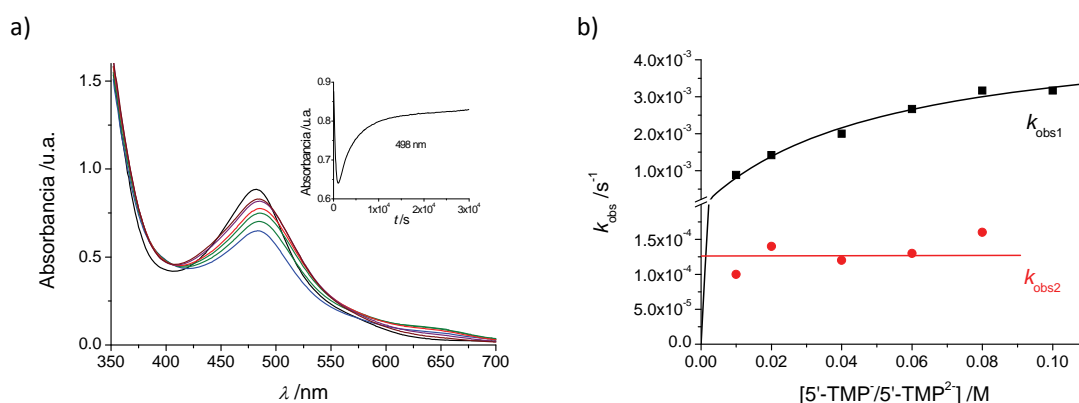
| Ligando entrante                          | pH      | $^{298}k/s^{-1}$              | $K_{OS}/M^{-1}$ | $\Delta H^\ddagger/kJ\text{ mol}^{-1}$ | $\Delta S^\ddagger/J\text{ K}^{-1}\text{ mol}^{-1}$ |
|---|---------|-------------------------------|-----------------|--|---|
| 5'-CMP <sup>-</sup> /5'-CMP <sup>2-</sup> | 6.0-8.0 | $k_1 = 6.8 \times 10^{-4}$    | 22              | $116 \pm 4^a$                          | $84 \pm 12^a$                                       |
|   |         | $k_{-1} = 1.8 \times 10^{-4}$ | --              | $102 \pm 1^a$                          | $20 \pm 2^a$  |

<sup>a</sup> Determinado a pH = 6.5.

#### Timidina 5'-monofosfato

Las reacciones de sustitución con el ligando 5'-TMP se llevaron a cabo para realizar una comparativa con los resultados obtenidos para los compuestos de Co(III) estudiados. Como ya se ha mencionado en el Capítulo anterior, este ligando presenta la particularidad de dos modos de coordinación posibles: por el grupo **O**-fosfato o por el grupo **N**- del anillo de timidina, produciendo la

desprotonación de este último al coordinarse. Estos experimentos se llevaron a cabo en un rango de pH de 6.0 a 8.0 y a una temperatura alrededor de 25 °C. Las variaciones temporales en los espectros UV-Vis de estas reacciones de sustitución, muestran 2 etapas de reacción que se ajustan al modelo matemático  $A \rightarrow B$ , seguido de  $B \rightarrow C$  (Figura 5.5a). En la Tabla A.6 del Apéndice A se muestra el valor de las constantes cinéticas de pseudoprimer orden observadas para estos procesos en las condiciones del estudio. Como se puede observar en la Figura 5.5b, se aprecia una dependencia limitante con la [5'-TMP] para la etapa rápida del proceso (Ecuación 2.7 del Capítulo 2). Para el segundo proceso, no existe dependencia de los valores de  $k_{obs2}$  con la concentración de ligando entrante (Ecuación 2.5 de orden 1, del Capítulo 2).



**Figura 5.5.** a) Cambios en el espectro electrónico para la reacción de sustitución de la especie *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$  a una concentración  $1 \times 10^{-4}$  M con el ligando 5'-TMP (0.04 M) a pH 7.0 (0.4 M HEPES); 4 horas a 25 °C,  $I = 1$  ( $\text{NaClO}_4$ ). b) Variación de las constantes cinéticas observadas,  $k_{obs1}$  y  $k_{obs2}$ , respecto a [5'-TMP] para la misma reacción.

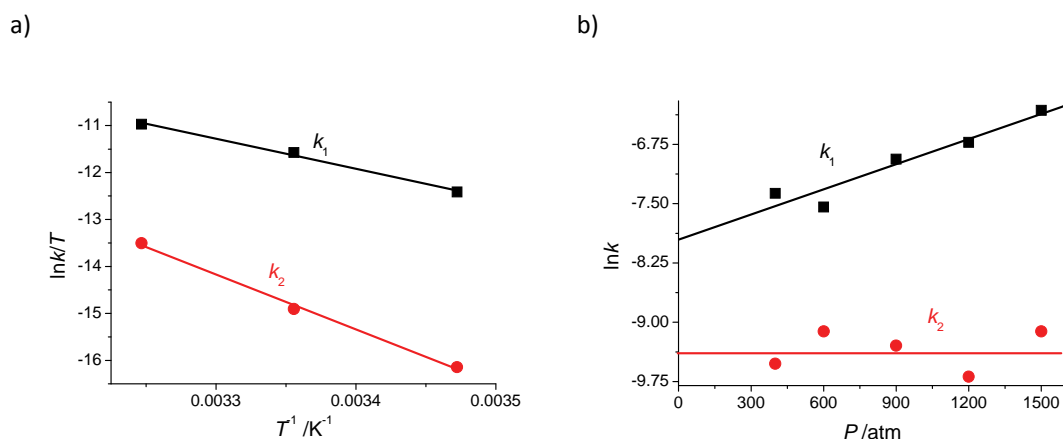
Como en los casos anteriores, se han realizado experimentos de RMN de  $^{31}\text{P}$  a diferentes tiempos de reacción para la detección de las especies presentes en el medio de reacción estudiado, y en las mismas condiciones anteriormente citadas. No ha sido posible determinar adecuadamente el espectro de RMN de la especie resultante de la primera etapa, debido al tiempo necesario para la adquisición de un espectro a unas concentraciones tan diluidas de reactivos. De todos modos, el espectro de RMN a las dos horas del inicio de la reacción, muestra la aparición de una señal a 13.0 ppm que aumenta su intensidad a tiempos más largos de reacción. Esto indica la formación final de la especie *mono- $\eta^1$ -O*-5'-TMP en solución. Por comparación con los experimentos

de sustitución realizados con 5'-TMP como ligando entrante sobre los compuestos de Co(III) anteriores, la primera reacción se asocia a la coordinación de una molécula de ligando por el grupo **N**-5'-TMP. Ésta evoluciona isomerizando posteriormente a una especie **O**-5'-TMP en el medio de reacción estudiado, tal como se representa en el Esquema 5.2 (parte inferior). La falta de dependencia con la concentración de ligando entrante para la segunda etapa del proceso, permite descartar la formación de una especie *bis-N,O*-(5'-TMP)<sub>2</sub>.

Para estos procesos es importante destacar los cambios inesperados observados en el espectro UV-Vis de la mezcla de reacción en la zona de 650 nm (Figura 5.5a). Éstos se tratarán en más detalle en el estudio posterior de las reacciones de sustitución con nucleósidos.

Como se puede apreciar en la Tabla 5.3, existe una dependencia con el pH solamente para los valores de  $k_{obs1}$ , disminuyendo la velocidad de reacción a los pHs más ácidos. Este hecho se asocia a, que a diferencia del ligando 5'-CMP, existe una presencia notable de la especie totalmente desprotonada, más reactiva, a pHs superiores, debido al mayor valor de  $pK_a$  del ligando 5'-TMP ( $pK_a = 6.5$ ).<sup>[161]</sup> En la Tabla 5.3 también se recogen los parámetros cinéticos y de activación más relevantes para estos procesos de sustitución en las condiciones de nuestro estudio. Los parámetros de activación se han determinado a partir de la ecuación de Eyring (Ecuación 2.13 del Capítulo 2) y de la variación de  $\ln k$  frente a  $P$  (Ecuación 2.14 del Capítulo 2), representadas en la Figura 5.6. Para la primera etapa de reacción, se encuentran unos valores de  $\Delta H^\ddagger$  bajos y de  $\Delta S^\ddagger$  negativos que se asocian a un mecanismo activado asociativamente, como los observados para los compuestos de Co(III) anteriores con este ligando. Por el contrario, los parámetros de activación determinados para la segunda etapa de isomerización, se adecúan más a un proceso activado más disociativamente.





**Figura 5.6.** a) Representación de la Ecuación de Eyring para la reacción de la especie *cis*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> con el ligando 5'-TMP a pH 8.0 (0.4 M HEPES); *I* = 1 (NaClO<sub>4</sub>). b) Representación de  $\ln k$  frente a *P* para el mismo sistema a 15 °C.

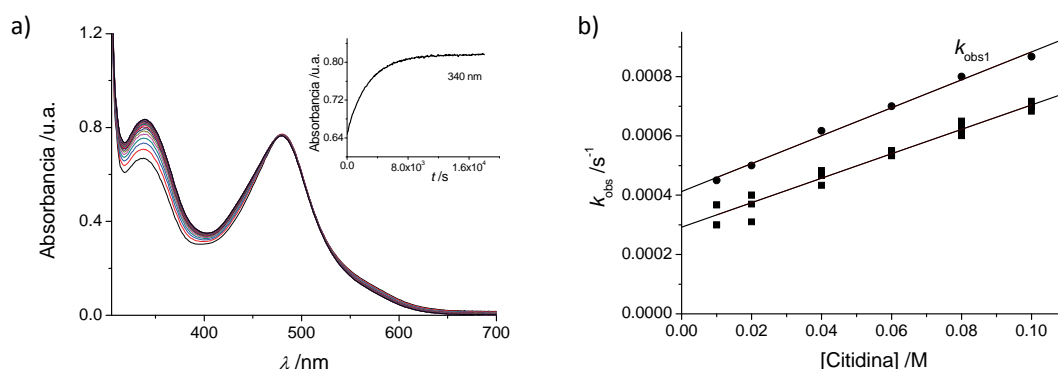
**Tabla 5.3.** Resumen de los parámetros cinéticos y de activación más relevantes para la reacción de sustitución del complejo *cis*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> con el ligando 5'-TMP a diferentes pHs (0.4 M MES/HEPES, *I* = 1.0 NaClO<sub>4</sub>).

| Ligando entrante                          | pH      | <sup>298</sup> <i>k</i> /s <sup>-1</sup> | <i>K</i> <sub>OS</sub> /M <sup>-1</sup> | $\Delta H^\ddagger$ /kJ mol <sup>-1</sup> | $\Delta S^\ddagger$ /J K <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup> | $\Delta V^\ddagger$ /cm <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> |                   |                      |                      |
|---|---------|--|---|---|--|--|-------------------|----------------------|----------------------|
| 5'-TMP <sup>-</sup> /5'-TMP <sup>2-</sup> | 6.0     | $k_1 = 1.5 \times 10^{-3}$               | 17                                      | No determinado                            |  |  |                   |                      |                      |
|   |         | $k_2 = 1.1 \times 10^{-4}$               | --                                      |   |  |  |                   |                      |                      |
|   | 6.5     | $k_1 = 1.6 \times 10^{-3}$               | 36                                      |   |  |  |                   |                      |                      |
|   |         | $k_2 = 1.0 \times 10^{-4}$               | --                                      |   |  |  |                   |                      |                      |
|   | 7.0-8.0 | $k_1 = 5.0 \times 10^{-3}$               | 20 <sup>a</sup>                         |   |  |  | 54±4 <sup>b</sup> | -116±13 <sup>b</sup> | -26±4 <sup>b,c</sup> |
|   |         | $k_2 = 1.2 \times 10^{-4}$               | --                                      |   |  |  | 98±5 <sup>b</sup> | 5±18 <sup>b</sup>    | ~ 0 <sup>b,c</sup>   |

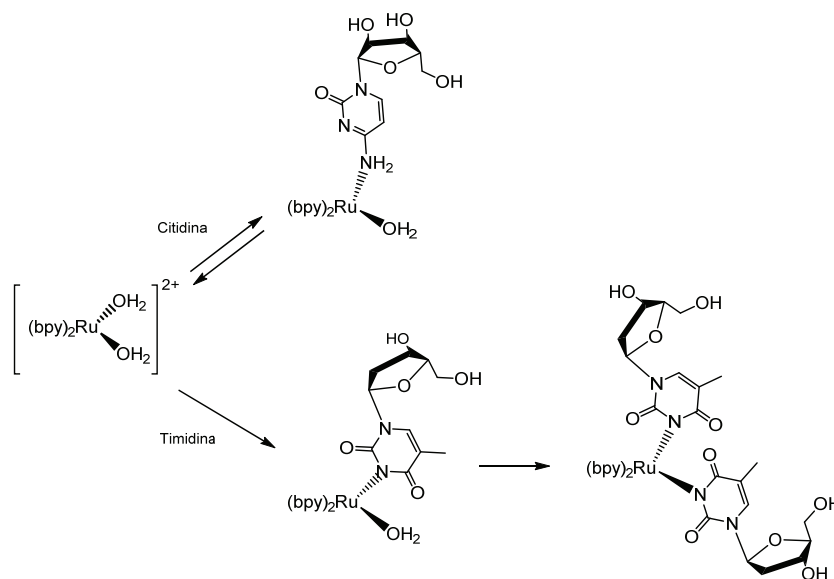
<sup>a</sup> Valor medio de los procesos. <sup>b</sup> Determinado a pH = 8.0. <sup>c</sup> Determinado a 15 °C usando  $k \approx k_{\text{obs}@[5'\text{-TMP}] = 0.1\text{M}}$  (Figura 5.5b).

**Citidina** El estudio de los procesos de sustitución con los nucleósidos indicados en la Figura 4.1, se ha llevado a cabo para establecer las diferencias en el modo de reacción cuando sólo es posible la coordinación por el grupo **N**-dador de las moléculas biológicamente relevantes. En cuanto a la reacción con el ligando no-desprotonable citidina, los cambios temporales en el espectro UV-Vis de estos procesos se ajustan a una etapa simple que se adecúa al modelo A → B (Figura 5.7a). En la Tabla A.6 del Apéndice A se muestra el valor de las constantes cinéticas de pseudoprimer orden observadas para estas reacciones de sustitución según las diferentes variables del estudio. La dependencia de las  $k_{\text{obs}}$  con la concentración de ligando es lineal con un valor apreciable de ordenada en origen, lo que implica un proceso de equilibrio (Ecuación 2.8 del Capítulo 2). Como se puede observar en la

Figura 5.7b, en el margen de pH de 6.0 a 7.5 el valor de las constantes observadas es independiente del pH, mientras que a 8.0 existe una aceleración. Esta aceleración es solamente debida al proceso inverso,  $k_{-1}$ , y se relaciona con la formación de la especie menos reactiva  $cis$ - $[Ru(bpy)_2(H_2O)(OH)]^+$  en el medio de reacción. En resumen, el conjunto de datos de estos procesos corresponden a la entrada de una molécula de citidina, coordinada por el grupo amino, como se representa en el Esquema 5.3 (parte superior).



**Figura 5.7.** a) Cambios en el espectro electrónico para la reacción de sustitución de la especie  $cis$ - $[Ru(bpy)_2(H_2O)_2]^{2+}$  a una concentración  $1 \times 10^{-4}$  M con el ligando citidina (0.02 M) a pH 6.5 (0.4 M HEPES); 4 horas a 25 °C,  $I = 1$  ( $NaClO_4$ ). b) Variación de las constantes cinéticas observadas para la misma reacción a todos los pHs estudiados ( $\square$ , pH=6.0; 6.5; 7.0; 7.5;  $\circ$ , pH=8.0; 0.4 M MES/HEPES,  $I = 1.0$  ( $NaClO_4$ )).



**Esquema 5.3.** Reacciones de sustitución sobre el complejo  $cis$ - $[Ru(bpy)_2(H_2O)_2]^{2+}$  con los diferentes nucleósidos utilizados en las condiciones de nuestro trabajo.

En la Tabla 5.4 se recogen los parámetros cinéticos y de activación más relevantes para estas reacciones de sustitución en las condiciones del estudio. Sorprendentemente, se encuentran dos tipos de comportamiento en estos procesos. Para la entrada del ligando citidina los valores de  $\Delta H^\ddagger$  son pequeños con  $\Delta S^\ddagger$  negativas, adecuándose a un sistema activado asociativamente. Para la reacción inversa, en cambio, las tendencias son más disociativas, con  $\Delta H^\ddagger$  elevadas y  $\Delta S^\ddagger$  positivas.

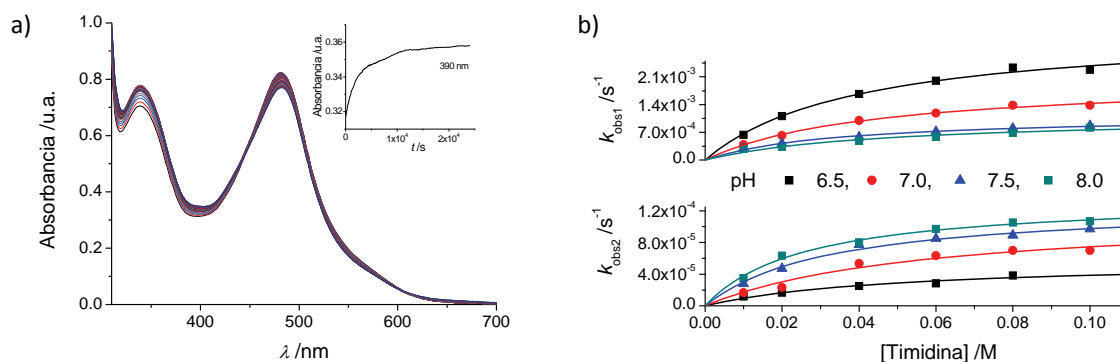
**Tabla 5.4.** Resumen de los parámetros cinéticos y de activación más relevantes para la reacción de sustitución del complejo  $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$  con el ligando citidina a diferentes pHs (0.4 M MES/HEPES,  $I = 1.0 \text{ NaClO}_4$ ).

| Ligando entrante | pH      | $^{298}k / \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ | $\Delta H^\ddagger / \text{kJ mol}^{-1}$ | $\Delta S^\ddagger / \text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$ |
|------------------|---------|---|--|---|
| Citidina         | 6.0-7.5 | $k_1 = 4.4 \times 10^{-3}$              | $59 \pm 5^a$                             | $-96 \pm 16^a$  |
|                  |         | $k_{-1} = 2.9 \times 10^{-4}^b$         | $123 \pm 8^a$                            | $96 \pm 29^a$   |
|                  | 8.0     | $k_1 = 4.4 \times 10^{-3}$              | No determinado                           |   |
|                  |         | $k_{-1} = 4.1 \times 10^{-4}^b$         |  |   |

<sup>a</sup> Determinado a pH = 6.5. <sup>b</sup> Constante de la etapa inversa en  $\text{s}^{-1}$ .

**Timidina** Las reacciones de sustitución con el ligando desprotonable timidina se llevaron a cabo para completar el estudio. En este caso, las variaciones temporales de los espectros electrónicos para estos procesos se ajustan a dos etapas de reacción, es decir, al modelo  $A \rightarrow B$  seguido de  $B \rightarrow C$  (Figura 5.8a). En la Tabla A.6 del Apéndice A se recogen los valores de las constantes cinéticas de pseudoprimer orden observadas para estos procesos según las diferentes variables del estudio. Como se puede apreciar en la Figura 5.8b, para las dos etapas, los valores de  $k_{\text{obs}}$  muestran dependencia con la concentración de ligando entrante y con el pH. En ambos casos se encuentra un comportamiento de saturación a concentraciones elevadas de nucleósido, con un valor apreciable de  $K_{\text{Os}}$  (Ecuación 2.7 del Capítulo 2). Como ya se había visto para los sistemas de Co(III) anteriormente estudiados, la formación de agregados de esfera externa entre los ligandos acuo coordinados al centro metálico con la unidad {ONO} del anillo del nucleósido, es responsable de estas observaciones. En cuanto a la dependencia con el pH, los valores de  $k_{\text{obs1}}$  y  $k_{\text{obs2}}$  siguen tendencias opuestas. Para la primera etapa del proceso, se aprecia una disminución de la velocidad a pHs más elevados, que se asocia de nuevo a la presencia de la especie

menos reactiva  $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})]^+$  en el medio. Para la segunda etapa, en cambio, el proceso se acelera a pHs más básicos seguramente debido a que se favorece la desprotonación de la unidad {ONO} en el agregado de esfera externa. El conjunto de estos procesos se representa en el Esquema 5.3 (parte inferior).



**Figura 5.8.** a) Cambios en el espectro electrónico para la reacción de sustitución de la especie  $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$  a una concentración  $1 \times 10^{-4}$  M con el ligando timidina (0.04 M) a pH 7.5 (0.4 M HEPES); 5 horas a 25 °C,  $I = 1$  ( $\text{NaClO}_4$ ). b) Variación de las constantes cinéticas observadas para la misma reacción a todos los pHs estudiados (0.4 M HEPES,  $I = 1.0$  ( $\text{NaClO}_4$ )).

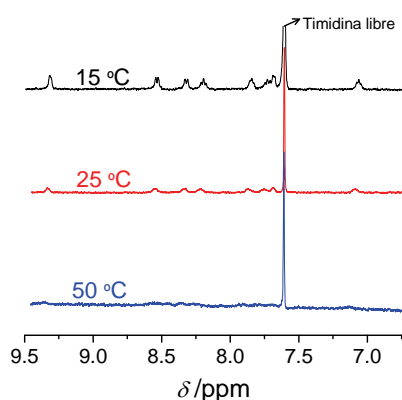
En la Tabla 5.5 se recogen los parámetros cinéticos y de activación más relevantes para estas reacciones en las condiciones de nuestro estudio. En ambas etapas, los parámetros de activación muestran unos valores de  $\Delta H^\ddagger$  bajos y de  $\Delta S^\ddagger$  y  $\Delta V^\ddagger$  negativos, lo que corresponde a un sistema activado asociativamente para estas reacciones de sustitución.

**Tabla 5.5.** Resumen de los parámetros cinéticos y de activación más relevantes para la reacción de sustitución del complejo  $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$  con el ligando timidina a diferentes pHs (0.4 M HEPES,  $I = 1.0$   $\text{NaClO}_4$ ).

| Ligando entrante | pH  | $^{298}k / \text{s}^{-1}$  | $K_{\text{Os}} / \text{M}^{-1}$ | $\Delta H^\ddagger / \text{kJ mol}^{-1}$ | $\Delta S^\ddagger / \text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$ | $\Delta V^\ddagger / \text{cm}^3 \text{mol}^{-1}$ |      |        |                    |
|------------------|-----|----------------------------|---------------------------------|--|---|---|------|--------|--------------------|
| Timidina         | 6.5 | $k_1 = 3.3 \times 10^{-3}$ | 25                              | No determinado                           |   |   |      |        |                    |
|                  |     | $k_2 = 6.0 \times 10^{-5}$ | 20                              |  |   |   |      |        |                    |
|                  | 7.0 | $k_1 = 2.1 \times 10^{-3}$ | 23                              |  |   |   |      |        |                    |
|                  |     | $k_2 = 1.2 \times 10^{-4}$ | 17                              |  |   |   |      |        |                    |
|                  | 7.5 | $k_1 = 1.1 \times 10^{-3}$ | 29                              |  |   |   |      |        |                    |
|                  |     | $k_2 = 1.3 \times 10^{-4}$ | 31                              |  |   |   |      |        |                    |
|                  | 8.0 | $k_1 = 1.1 \times 10^{-3}$ | 22                              |  |   |   | 88±4 | -13±15 | -30±3 <sup>a</sup> |
|                  |     | $k_2 = 1.4 \times 10^{-4}$ | 38                              |  |   |   | 43±1 | -179±3 | -20±3 <sup>a</sup> |

<sup>a</sup> Determinado a pH = 7.0 y 20 °C usando  $k \approx k_{\text{obs}@[\text{timidina}]=0.1 \text{ M}}$  (Figura 5.8b).

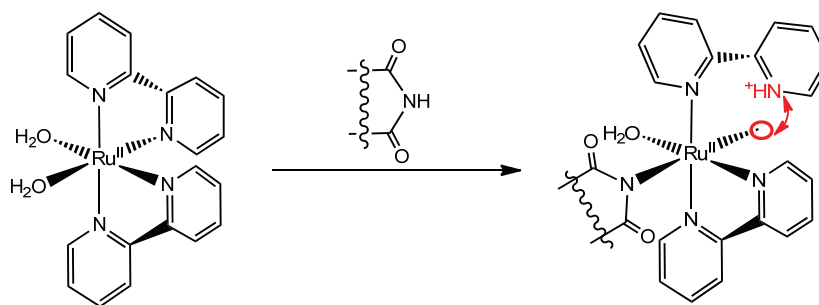
En los procesos de sustitución estudiados con este ligando es importante destacar de nuevo el aumento de absorbancia en el espectro UV-Vis en la zona de 650 nm a pHs < 7.0 en las condiciones del estudio. De hecho, estos cambios son dominantes a pH = 6.0, dificultando la cuantificación de sustitución de los ligando acuo por el nucleósido. Este tipo de comportamiento es equivalente al que ya se había observado durante la utilización de 5'-TMP como ligando entrante a los pHs más ácidos. Para determinar la naturaleza de estos procesos, se siguieron estas reacciones a pH = 6.0 por RMN de  $^1\text{H}$  con secuencia PRESAT, con unas concentraciones de  $[\text{Ru}] : [\text{L}] = (0.5:50) \times 10^{-3} \text{ M}$ . Los resultados de estas pruebas, sobre las soluciones finales de las reacciones de sustitución, indican señales muy anchas a 25 °C, que se ensanchan aún más a 50 °C, pero que se estrechan a 15 °C (Figura 5.9), lo que indica la presencia de un movimiento rápido de los ligandos a temperatura ambiente.



**Figura 5.9.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  con secuencia PRESAT a temperatura variable de la zona aromática de la mezcla final de reacción de la especie  $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$  a una concentración  $1 \times 10^{-4} \text{ M}$  con el ligando timidina (0.001 M) a pH 6.0;  $I = 1$  ( $\text{NaClO}_4$ ).

Se realizaron experimentos electroquímicos para descartar la posible oxidación del centro de Ru(II) a especies paramagnéticas de Ru(III), en las condiciones del estudio que produjeran el efecto observado. En estos experimentos electroquímicos, no se observaron cambios relevantes en el potencial  $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$  durante y tras la sustitución, indicando que el potencial redox de la diacuoespecie es muy similar al de la especie sustituida, descartando así, procesos redox que se activen por sustitución.

Está claro que el proceso observado es, por tanto, de naturaleza fluxional y que involucra la especie de Ru(II), especialmente a pHs más ácidos, donde los grupos *N* del ligando bipyridina pueden ser parcialmente protonados ( $pK_a = 4.4$ ).<sup>[174]</sup> Este proceso se asocia al movimiento  $\eta^2$ - $\eta^1$  de los ligandos bpy, favorecido por la influencia *trans* del nucleósido desprotonado coordinado al centro de Ru(II) (Esquema 5.4).<sup>[100,110]</sup> Para corroborar estas hipótesis, se realizaron experimentos con uridina como ligando entrante, obteniendo los mismos resultados. Este es un hecho muy importante puesto que la actividad de algunos complejos de Ru(II) está directamente relacionada con una posible intercalación de los ligandos aromáticos coordinados al Ru(II) con las cadenas de ADN,<sup>[165,175]</sup> y es especialmente relevante en el medio más ácido existente en tumores.<sup>[176]</sup>



**Esquema 5.4.** Procesos fluxionales derivados de las reacciones de sustitución sobre el complejo *cis*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> con el ligando timidina en las condiciones de nuestro trabajo.

#### Resumen de resultados

El complejo *cis*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> se encuentra como diacuoespecie en el margen de pH estudiado, debido a sus elevados valores de  $pK_a$ , evitando de este modo la formación de especies dímeras observadas para los compuestos de Co(III) anteriores. Sin embargo, la presencia de la especie *cis*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(OH)]<sup>+</sup> a pHs más básicos, disminuye la reactividad observada para este complejo en el medio de reacción y favorece la solvólisis a esos pHs.

En el estudio de sustitución llevado a cabo sobre el complejo *cis*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>, sólo se ha observado la sustitución por dos moléculas de ligando entrante para los

nucleósidos con la unidad desprotonable {ONO}, como son timidina y uridina. El resto de procesos involucra una única etapa con un equilibrio de reacción, incluso con excesos muy elevados de ligando entrante. Todos estos procesos tienen una duración de 3 a 6 horas a una temperatura de 25 °C. En estas reacciones, se ha apreciado una preferencia termodinámica en la coordinación por el grupo **O**-dador, que incluye la isomerización de **N**- a **O**- observada en la reacción con 5'-TMP como ligando entrante. Para los procesos que involucran la coordinación vía **N**-dadores, las reacciones de sustitución están activadas asociativamente debido a la formación de agregados de esfera externa bien orientados, mediante interacciones por enlace de hidrógeno, previos a los procesos de sustitución. Sin embargo, para las reacciones de sustitución vía **O**-, los procesos están claramente activados disociativamente.

De todo el estudio de sustitución realizado, cabe destacar la labilidad del ligando bipyridina sobre el centro de Ru(II), inducida por algunos ligandos entrantes con fuerte influencia *trans* a los pHs más ácidos. La coordinación por la unidad {ONO} desprotonada del anillo de ciertas biomoléculas puede producir una importante labilidad inesperada en el sistema de {Ru<sup>II</sup>(bpy)<sub>2</sub>} estudiado.

## **CAPÍTULO 6**

*RESUMEN Y CONCLUSIONES*





### Síntesis y caracterización de los compuestos

- ✓ Se han sintetizado de manera reproducible los siguientes acuocomplejos de Co(III) y Ru(II):
  - $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_3$
  - $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$
  - *cis*- $[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_3$
  - $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$
  - $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$
  - $[\text{Ru}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$
  - *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$

De estos, el  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$  y  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$  se han obtenido por primera vez en este trabajo.

- ✓ En todos los casos su estructura se basa en un esqueleto (N)<sub>4</sub> inerte con dos posiciones más lábiles en *cis*, ocupadas por ligandos acuo.
- ✓ Los compuestos se han caracterizado mediante las técnicas habituales, es decir: análisis elemental, espectroscopia UV-Vis, resonancia magnética nuclear de <sup>1</sup>H y de <sup>13</sup>C y voltamperometría cíclica. Se han determinado también las constantes de acidez de los ligandos acuo en ese entorno.
- ✓ Se ha analizado la estructura cristalina mediante difracción de rayos-X de los compuestos:  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$ ,  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$  y  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$ .

**Substitución sobre complejos de Co(III)**

- ✓ La química en solución de los complejos de Co(III) preparados se ha encontrado caracterizada por la formación de especies dímeras con ligandos  $\mu$ -OH entre centros metálicos a pHs cercanos al fisiológico.
- ✓ La formación de especies dímeras en solución indica una preferencia termodinámica por la formación de especies con ligandos  $\mu$ -OH. La presencia de las especies  $cis$ -[Co(N)<sub>4</sub>( $\mu$ -OH)]<sub>2</sub><sup>4+</sup> y  $cis$ -[Co(N)<sub>4</sub>(OH)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> conlleva a una disminución de la reactividad frente la sustitución; los ligandos OH<sup>-</sup> están más fuertemente unidos al metal, dificultando su sustitución activada disociativamente.
- ✓ En los procesos de sustitución a pHs próximos al fisiológico es muy importante la elección de la especie amortiguadora. Existen interacciones muy fuertes de estas especies, supuestamente inocentes, con algunos de los compuestos de Co(III) estudiados. En particular el ligando fosfato inorgánico produce la formación de fosfatocomplejos que se han podido caracterizar.
- ✓ La diferente reactividad de las especies estudiadas está influenciada por la presencia de los grupos NH en el ligando macrocíclico tetradentado coordinado al metal. Estos grupos propician procesos de sustitución por un mecanismo de base conjugada. En este trabajo se ha modulado esta reactividad mediante la sustitución total o parcial de los grupos NH.
- ✓ A pesar de la configuración  $t_{2g}^6$  del metal, los tiempos de reacción encontrados para los procesos de sustitución son muy variados, debido a la actuación de un mecanismo de base conjugada en algunos casos. Estos van desde una escala de *stopped-flow* a 25 °C (para la especie  $cis$ -[Co(cyclen)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup>) a 24 horas a 50 °C (para la especie [Co{(Me)<sub>2</sub>( $\mu$ -ET)cyclen}(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup>).
- ✓ Las especies reactivas en solución en las condiciones del estudio son: el complejo dímero con un ligando  $\mu$ -OH para los complejos  $cis$ -

$[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  y  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , y la especie monómera para el complejo  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ , es decir:

- $\text{cis-}[\{\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})\}_2(\mu\text{-OH})]^{5+}$
  - $[\{\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})\}_2(\mu\text{-OH})]^{5+}$
  - $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})]^{2+}$
- ✓ Para ninguno de los sistemas estudiados de Co(III) se aprecia reactividad con el  $\text{Cl}^-$  como ligando entrante, en las condiciones del estudio, lo que representa una importante diferencia respecto a los complejos de Pt(II) biológicamente activos.
- ✓ El comportamiento general en cuanto a la sustitución sobre estos complejos es una preferencia termodinámica por el grupo **O**- de los ligandos entrantes. En ciertos casos donde la coordinación se produce con control cinético vía el grupo **N** desprotonable del ligando, a tiempos largos de reacción se produce la isomerización hacia la forma **O**-fosfato del mismo ligando.
- ✓ Los complejos de Co(III) siguen, generalmente, mecanismos activados disociativamente. Sin embargo, se ha encontrado un grado de asociatividad notable en algunas reacciones. Este deriva de la formación de agregados de esfera externa, previos a las reacciones de sustitución. En estos agregados las interacciones por enlace de hidrógeno con los ligandos acuo coordinados al metal parecen ser dominantes.
- ✓ La existencia de interacciones adicionales formadas con los grupos **NH** del ligando macrocíclico, incrementan la asociatividad del sistema, y en algunos casos son responsables de la diferente coordinación por los grupos **O**- y **N**- del ligando entrante.

**Substitución sobre complejos de Ru(II)**

- ✓ En el estudio de las reacciones de sustitución sobre el complejo *cis*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> se ha establecido que, en las condiciones del trabajo, la diacuoespecie de Ru(II) es la dominante en el medio de reacción debido a los elevados valores de pK<sub>a</sub> del complejo. Consecuentemente, no hay presencia de especies dimeras en solución con ligandos μ-OH, como las observadas para los compuestos de Co(III) anteriores.
- ✓ Las reacciones de sustitución sobre el complejo de Ru(II) tienen una duración de 3 a 6 horas a una temperatura de 25 °C, como corresponde a un sistema más lábil, y en el que los mecanismos de base conjugada no son relevantes por la ausencia de grupos *NH* en los ligandos del esqueleto inerte.
- ✓ La mayoría de procesos estudiados involucran una única etapa en una reacción de equilibrio. Sólo se ha detectado la entrada de dos moléculas de ligando para nucleósidos con la unidad desprotonable {ONO}. En todos los casos existe, de nuevo, una preferencia termodinámica por la coordinación por el grupo **O**-, aunque existen procesos que se caracterizan por un control cinético, formando inicialmente una coordinación vía el grupo **N**-dador.
- ✓ Los procesos de sustitución están activados asociativamente cuando la coordinación se produce vía **N**-dador. En cambio, cuando la coordinación se produce vía **O**-dador, los parámetros de activación se adecúan más a un sistema activado disociativamente.
- ✓ Se aprecia la formación de agregados de esfera externa donde las interacciones por enlace de hidrógeno toman especial relevancia. Entre ellas, destacan las de la unidad {ONO} del anillo de timidina con los ligandos acuo coordinados al metal.

- ✓ Como característica especial del estudio de sustitución realizado sobre el complejo  $cis-[Ru(bpy)_2(H_2O)_2]^{2+}$ , remarcar la labilidad inesperada, producida por los ligandos con unidad {ONO} utilizados, sobre el ligando bipyridina coordinado al centro de Ru(II).



# **CAPÍTULO 7**

*EXPERIMENTAL*



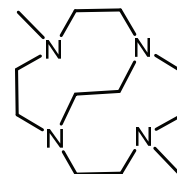


## 7.1 Preparación de compuestos

### 7.1.1 Ligandos

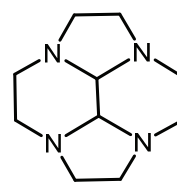
#### $\{(Me)_2(\mu-ET)cyclen\}$

Para la obtención del ligando macrocíclico 4,10-dimetil-1,4,7,10-tetraazabicyclo[5.5.2]tetradecano se sigue el procedimiento descrito en la bibliografía.<sup>[177]</sup> Para el proceso es necesaria la síntesis de varios pasos intermedios tal como se detalla a continuación.



#### *i.* Decahidro-2a,4a,6a,8a-tetraazaciclopenta[fg]acenaftileno

Se prepara una solución de 15.0 g de cyclen (1,4,7,10-tetraazaciclododecano) en 150 cm<sup>3</sup> de acetonitrilo y se añaden 12 cm<sup>3</sup> de glicoxal al 40 % en peso en agua. Esta mezcla se mantiene en agitación durante 30 minutos y posteriormente se calienta 2 horas a 50-60 °C bajo atmósfera de nitrógeno. Se elimina el disolvente y el sólido naranja obtenido se lava con cloroformo. Se purifica el producto por cromatografía en columna de alúmina neutra; se disuelve el producto en una mezcla de cloroformo/hexano (1:1) y se eluye con cloroformo. Se obtienen 15.0 g de un aceite incoloro; el rendimiento es del 86 %.

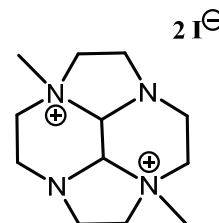


**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K),  $\delta$ /ppm: 2.5-2.8 (m, 8H); 2.9-3.1 (m, 8H); 3.1 (s, 2H).

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K),  $\delta$ /ppm: 50.4; 51.2; 77.4.

#### *ii.* Ioduro de 2a,6a-dimetildodecahidro-2a,4a,6a,8a-tetraazaciclopenta[fg]acenaftileno

Se prepara una solución con 10.0 g de la amina anterior en 300 cm<sup>3</sup> de acetonitrilo y se añade un exceso de MeI (40 cm<sup>3</sup>); la mezcla se mantiene en agitación durante 3 días. Pasado este tiempo, se burbujea nitrógeno a través de la muestra hasta reducir el volumen a la mitad. Se filtra el sólido blanco obtenido; el rendimiento es del 45 %.



**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, D<sub>2</sub>O, 298 K),  $\delta$ /ppm: 43.0; 46.4; 59.0; 64.9; 78.0.

iii. 4,10-dimetil-1,4,7,10-tetraazabicyclo[5.5.2]tetradecano,  $\{(Me)_2(\mu-ET)cyclen\}$

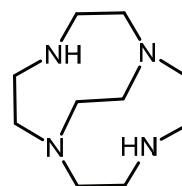
Se disuelven 10.0 g de la amina anterior en 400 cm<sup>3</sup> de etanol y se adicionan, en pequeñas porciones, 8.0 g de NaBH<sub>4</sub>. La mezcla se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 3 días y posteriormente se añade HCl 3 M hasta pH 1. Se evapora el disolvente, se redisuelve el producto en 175 cm<sup>3</sup> de agua y se añade NaOH hasta pH 14. Tras varias extracciones con tolueno se obtiene el producto; el rendimiento es del 81 %.

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K),  $\delta$ /ppm: 2.3 (s, 6H, NCH<sub>3</sub>); 2.5-2.9 (m, 16 H); 2.9 (s, 4H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N).

### $\{(\mu-ET)cyclen\}$

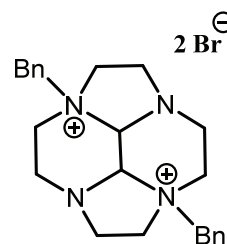
Para la síntesis del ligando 1,4,7,10-tetraazabicyclo[5.5.2]tetradecano se sigue el procedimiento experimental descrito en la bibliografía.<sup>[178]</sup>

Como para el ligando macrocíclico anterior,  $\{(Me)_2(\mu-ET)cyclen\}$ , esta síntesis consta de varias etapas las cuales se describen a continuación.



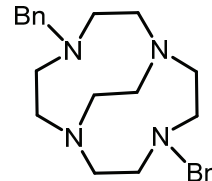
i. Bromuro de 2a,6a-dibenzildodecahidro-2a,4a,6a,8a-tetraazaciclopenta[fg]acenaftileno

A una disolución de 9.0 g de decahidro-2a,4a,6a,8a-tetraazaciclopenta[fg]acenaftileno, producto descrito en el apartado anterior, en 350 cm<sup>3</sup> de acetonitrilo, se añaden 50.0 g de bromuro de benzilo. La mezcla se agita durante 3 días, se filtra el sólido blanco obtenido y se lava con acetonitrilo; el rendimiento es del 80 %.



ii. 4,10-dibenzil-1,4,7,10-tetraazabicyclo[5.5.2]tetradecano

Se disuelven 12.5 g del producto anterior en 300 cm<sup>3</sup> de etanol y se añaden lentamente 33.0 g de NaBH<sub>4</sub>. Se agita la mezcla durante 4 días y posteriormente se adicionan 250 cm<sup>3</sup> de HCl 3 M. Se elimina el disolvente y el residuo se disuelve en agua a la que se le añade NaOH hasta pH 14. Se extrae el producto varias veces con tolueno; el rendimiento es del 75 %.



iii. 1,4,7,10-Tetraazabicyclo[5.5.2]tetradecano, {(μ-ET)cyclen}

Para este proceso se realiza una hidrogenación del producto anterior, 4,10-dibenzil-1,4,7,10-tetraazabicyclo[5.5.2]tetradecano, tal y como se describe en la bibliografía.<sup>[177,178]</sup> Se purga una suspensión de 1.0 g de catalizador 10% Pd/C en 110 cm<sup>3</sup> de ácido acético glacial. Se disuelven 6.3 g del producto anterior en el mismo disolvente y se introducen en un schlenk a contracorriente de H<sub>2</sub>. Se deja reaccionar durante 24 horas manteniendo la presión de H<sub>2</sub> a 1.5 bares. La solución resultante se filtra con celita y se lava 3 veces con 10 cm<sup>3</sup> de ácido acético glacial. Se elimina el disolvente y el residuo se disuelve en agua ajustando el pH hasta 14 con NaOH. Se extrae el ligando orgánico con tolueno; el rendimiento es del 64 %.

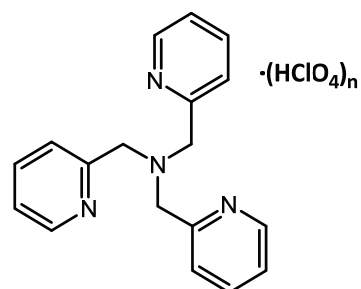
**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K),  $\delta$ /ppm: 2.1 (s, 2H, NH); 2.5-2.9 (m, 16H); 2.7 (s, 4H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N)

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K),  $\delta$ /ppm: 48.4; 50.0; 53.0.

**TPA·nHClO<sub>4</sub>**

Para la síntesis del ligando tris(2-piridilmetil)amina se sigue el procedimiento experimental descrito en la bibliografía.<sup>[179]</sup>

Se añaden 4 cm<sup>3</sup> de 2-picolilamina a una solución de 12.74 g de hidrocloreuro de 2-(clorometil)piridina en 20 cm<sup>3</sup> de agua. Se adicionan, a continuación, durante 1 hora en pequeñas porciones, 15.5 cm<sup>3</sup> de NaOH 10 M y la solución se calienta 30 minutos a 70 °C; el exceso de base se neutraliza con HCl. Se enfría la mezcla y se añaden 10 cm<sup>3</sup> HClO<sub>4</sub> 6 M como precipitante. Tras reposo en frío durante 12 horas, aparecen dos fases, un aceite oscuro y una solución amarilla. Se decanta esta última y se agita la fase oscura con etanol; el producto final es insoluble en este disolvente. El sólido final se lava con éter; el rendimiento es del 32 %.

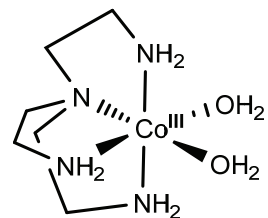


**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, 298 K),  $\delta$ /ppm: 4.3 (s, 6H, CH<sub>2</sub>); 7.6 (t, 3H, H<sub>pyr</sub>); 7.8 (d, 3H, H<sub>pyr</sub>); 8.1 (t, 3H, H<sub>pyr</sub>); 8.7 (d, 3H, H<sub>pyr</sub>).

### 7.1.2 Compuestos de Co(III)

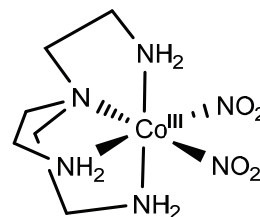
#### **[Co(tren)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>**

La síntesis del complejo perclorato de diacu[tris(2-aminoetil)amina]cobalto(III), se lleva a cabo tal y como se describe en la bibliografía.<sup>[95,133,180]</sup> Para la formación de este compuesto se necesita una serie de pasos intermedios cuya preparación se detalla a continuación.



*i.*  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{NO}_2)_2]\text{Cl}$

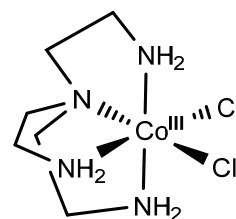
Para la obtención del cloruro de [tris(2-aminoetil)amina]dinitrocobalto(III), a una solución acuosa formada por 4.7 g de  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  y 2.7 g de  $\text{NaNO}_2$  en frío, se añade gota a gota otra solución formada por 5.2 g de  $\text{tren} \cdot \text{HCl}$  (producto comercial) y 1.6 g de  $\text{NaOH}$  en  $7.5 \text{ cm}^3$  de agua. Se burbujea  $\text{O}_2$  a través de la muestra durante 4 horas y se obtiene un producto amarillo oscuro que se lava con  $\text{HCl}$  1 M y acetona; el rendimiento es del 60 %.



**Análisis elemental** para  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{NO}_2)_2]\text{Cl}$  (Exp. (Teór.)): %N 25.4 (25.3); %C 21.7 (21.7); % H 5.5 (5.4).

*ii.*  $[\text{Co}(\text{tren})\text{Cl}_2]\text{Cl}$

La preparación del cloruro de [tris(2-aminoetil)amina] diclorurocobalto(III) se realiza de acuerdo al método descrito en la bibliografía.<sup>[180]</sup>



Se calienta con agitación una suspensión formada por 3.2 g de  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{NO}_2)_2]\text{Cl}$  en  $10 \text{ cm}^3$  de  $\text{HCl}$  6 M hasta que la coloración de la suspensión cambia de marrón a violeta. Se filtra el producto violeta y se lava con etanol y acetona; el rendimiento es del 95 %.

**UV-Vis** ( $\text{HCl}$  conc.),  $\lambda_{\text{max}} / \text{nm}$  ( $\epsilon / \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ): 390 (120); 560 (130).

*iii.*  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_3$

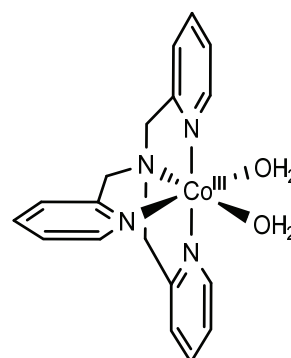
Se disuelve 1.0 g de  $[\text{Co}(\text{tren})\text{Cl}_2]\text{Cl}$  en  $4.0 \text{ cm}^3$  de  $\text{HCF}_3\text{SO}_3$  concentrado en un matraz en forma de corazón de 3 bocas con burbujeo de  $\text{N}_2$ . Se calienta la mezcla a  $90\text{-}100 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 4 horas. Una vez a temperatura ambiente se lava el residuo 3 veces con éter, se calienta a ebullición durante 10 minutos en cloroformo y se decanta. El sólido obtenido se disuelve en  $15 \text{ cm}^3$  de agua y se le añade un exceso de  $\text{NaClO}_4$ . Se obtiene un producto rojo; el rendimiento es del 64 %.

**UV-Vis** (0.1 M  $\text{HClO}_4$ ),  $\lambda_{\text{max}} / \text{nm}$  ( $\epsilon / \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ): 350 (100); 505 (105).

Constantes de acidez:  $\text{p}K_{\text{a},1} = 5.5$ ;  $\text{p}K_{\text{a},2} = 8.0$ .

**[Co(TPA)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>**

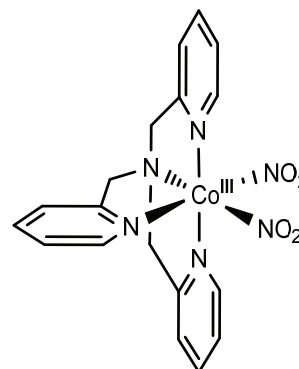
Para la síntesis del nuevo complejo triflato de diaquo[tris(2-piridilmetil)amina]cobalto(III) es necesaria la preparación de una serie de precursores que se detallan a continuación.

*i.* Na<sub>3</sub>[Co(NO<sub>2</sub>)<sub>6</sub>]

El hexanitrocobaltato(III) de sodio se prepara según el método descrito en la bibliografía.<sup>[135]</sup> Se disuelven 12.0 g de NaNO<sub>2</sub> en 12 cm<sup>3</sup> de agua caliente a la que se adicionan 4.0 g de Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O. Cuando la solución cambia a marrón, se añaden lentamente 4 cm<sup>3</sup> de ácido acético al 50 %; por esta solución se pasa una corriente de aire en un baño a 0 °C. Se añaden 20 cm<sup>3</sup> de etanol con agitación hasta la precipitación de un sólido amarillo; el rendimiento es del 95 %.

*ii.* [Co(TPA)(NO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]ClO<sub>4</sub>

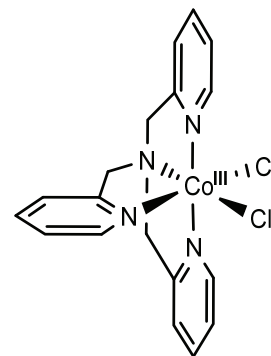
A partir del compuesto anterior se prepara el perclorato de dinitro[tris(2-piridilmetil)amina]cobalto(III), siguiendo el método descrito en la bibliografía.<sup>[131]</sup> A una disolución formada por 2.35 g de TPA (producto comercial) en 150 cm<sup>3</sup> de agua y 30 cm<sup>3</sup> de HClO<sub>4</sub> 2 M, se adiciona gota a gota una solución formada por 3.30 g de Na<sub>3</sub>[Co(NO<sub>2</sub>)<sub>6</sub>] en 165 cm<sup>3</sup> de agua. Tras calentar la mezcla durante 5 minutos, aparece un precipitado naranja; el rendimiento es del 40 %.



**UV-Vis** (H<sub>2</sub>O), λ<sub>max</sub> /nm (ε/M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>): 470 (270).

iii.  $[\text{Co}(\text{TPA})\text{Cl}_2]\text{ClO}_4$

Para la síntesis del perclorato de dicloruro[tris(2-piridilmetil)amina]cobalto(III), se sigue el procedimiento descrito en la bibliografía.<sup>[28]</sup> Se calienta una suspensión de 0.75 g de  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{NO}_2)_2]\text{ClO}_4$  en 6 cm<sup>3</sup> de HCl 6 M hasta que cambia la coloración de marrón a violeta. La disolución se guarda en el congelador durante 12 horas y se filtra el producto obtenido; el rendimiento es del 98 %.



**UV-Vis** (MeOH),  $\lambda_{\text{max}}$  /nm ( $\epsilon/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ): 376 (750); 554 (140).

iv.  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$

Para la preparación de este nuevo compuesto, se sigue una metodología similar a la descrita para el análogo  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_3$ .<sup>[95,133]</sup>

Se disuelven 0.61 g de  $[\text{Co}(\text{TPA})\text{Cl}_2]\text{ClO}_4$  en 4 cm<sup>3</sup> de ácido triflico en corriente de N<sub>2</sub> a 90-100 °C durante 3-4 horas. Tras enfriar la muestra, se añade éter y precipita un sólido rosado. La suspensión de este producto en cloroformo se lleva a ebullición durante 10 minutos y se filtra el intermedio  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{CF}_3\text{SO}_3)_2]\text{CF}_3\text{SO}_3$  formado; el rendimiento es del 91 %.

Finalmente, se disuelve el compuesto anterior en agua y se añaden unas gotas de ácido triflico concentrado. De este modo se obtienen cristales del compuesto  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$ ; el rendimiento de la cristalización es del 40 %.

**UV-Vis** (0.1 M HClO<sub>4</sub>),  $\lambda_{\text{max}}$  /nm ( $\epsilon/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ): 360 (230); 495 (180).

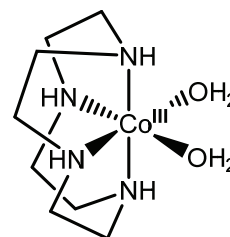
**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, D<sub>2</sub>O, 298 K),  $\delta$  /ppm: 4.7 (d, 2H); 5.1 (s, 2H); 5.2 (d, 2H); 7.2 (d, 1H); 7.5 (t, 1H); 7.6 (t, 2H); 7.7 (d, 2H); 7.8 (t, 1H); 8.1 (t, 2H); 8.4 (d, 1H); 8.7 (d, 2H).

Constantes de acidez:  $\text{p}K_{\text{a},1} = 3.3$ ;  $\text{p}K_{\text{a},2} = 6.8$ .

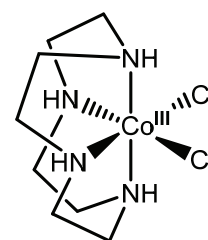


***cis*-[Co(cyclen)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>**

Para la síntesis del perclorato de *cis*-diacu(1,4,7,10-tetraazaciclododecano)cobalto(III) se sigue el procedimiento descrito en la bibliografía.<sup>[95,133,134]</sup> Este proceso consta de varias etapas que se detallan a continuación.

***i.* cis-[Co(cyclen)Cl<sub>2</sub>]Cl**

El cloruro de *cis*-dicloruro(1,4,7,10-tetraazaciclododecano)cobalto(III) se prepara según el procedimiento descrito en la bibliografía,<sup>[181]</sup> con algunas modificaciones.



Se disuelven 3.0 g de cyclen (producto comercial) en 500 cm<sup>3</sup> de agua y se adicionan 5.7 g de CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, tras ajustar la disolución a pH ligeramente básico con NaOH, se somete la disolución a una corriente de aire durante 75 minutos. A continuación se añaden 60 cm<sup>3</sup> de HCl concentrado y se deja cristalizar. El precipitado obtenido se disuelve en HCl 0.1 M y se purifica por cromatografía de intercambio catiónico mediante una columna Dowex 50W×2 utilizando HCl como eluyente con un gradiente de concentración de 0.5 a 4 M. Se obtiene un producto violeta; el rendimiento es del 79 %.

**UV-Vis** (HCl conc.), λ<sub>max</sub>/nm (ε/M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>): 390 (165); 560 (185).

***ii.* cis-[Co(cyclen)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>**

Se sigue el mismo procedimiento experimental que para el análogo [Co(tren)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, utilizando *cis*-[Co(cyclen)Cl<sub>2</sub>]Cl, tal y como se ha indicado anteriormente. Se obtiene un producto rojo; el rendimiento es del 71 %.

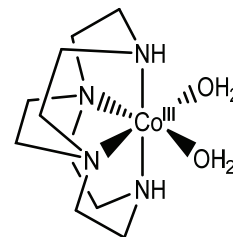
**UV-Vis** (0.1 M HClO<sub>4</sub>), λ<sub>max</sub>/nm (ε/M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>): 360 (135); 500 (180).

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, D<sub>2</sub>O, 298 K), δ/ppm: 50.8 ; 52.8; 56.7; 60.0.

Constantes de acidez: pK<sub>a,1</sub> = 5.6; pK<sub>a,2</sub> = 8.0.

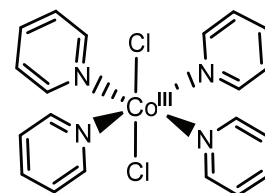
**$[Co\{\mu\text{-ET}cyclen\}(H_2O)_2](CF_3SO_3)_3$**

Para la preparación del nuevo complejo triflato de diaquo(1,4,7,10-tetraazabicyclo[5.5.2]tetradecano)cobalto(III), se sigue el procedimiento indicado en la bibliografía.<sup>[46]</sup> Esta síntesis consta de varias etapas que se describen a continuación.



*i. trans*- $[Co(py)_4Cl_2]Cl \cdot 6H_2O$

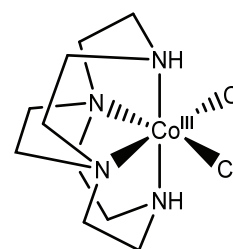
La preparación del cloruro de *trans*-dicloruro tetrapiridinacobalto(III) se lleva a cabo tal y como se describe en la bibliografía.<sup>[182]</sup> Se añaden lentamente 25.0 g de piridina a una solución formada por 10.0 g de  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$  en 6 cm<sup>3</sup> de agua. Se



forma una suspensión azul-rosada, y a continuación se pasa una corriente de  $Cl_2$  hasta que la muestra queda totalmente verde. Se enfría el producto durante 6 horas, se filtra y se lava con HCl 1 M; el rendimiento es del 56%. El producto puede recristalizarse en agua caliente, añadiendo HCl concentrado hasta la aparición de cristales, se filtra y se lava con HCl 1 M y éter; el rendimiento de la recristalización es del 20 %.

*ii. [Co{\mu-ETcyclen}Cl\_2]Cl*

Para la formación del cloruro de dicloruro(1,4,7,10-tetraazabicyclo[5.5.2]tetradecano)cobalto(III), se sigue el procedimiento descrito en la bibliografía.<sup>[46]</sup>



Se añaden 0.80 g de  $\{\mu\text{-ET}cyclen\}$  a una solución formada por 2.40 g de  $[Co(py)_4Cl_2]Cl \cdot 6H_2O$  en 85 cm<sup>3</sup> de MeOH. Se calienta la mezcla a reflujo durante 12 horas. Se concentra el volumen a la mitad y se añade éter para la precipitación del compuesto; el rendimiento es del 63 %.

iii.  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$

La síntesis de este compuesto se ha basado en el procedimiento descrito para el análogo *cis*- $[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_3$ ,<sup>[95,133]</sup> con algunas modificaciones.

Se disuelven en un baño a 0 °C 0.91 g de  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}\text{Cl}_2]\text{Cl}$  en 9 cm<sup>3</sup> de ácido triflico y se calienta la solución durante 15 minutos a 40 °C. Tras enfriar la muestra, se burbujea N<sub>2</sub> durante 15 minutos. El producto  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{CF}_3\text{SO}_3)_2]\text{CF}_3\text{SO}_3$  se precipita y lava con éter; el rendimiento es del 65 %.

El compuesto se disuelve en agua y se le añaden unas gotas de ácido triflico concentrado para la formación de cristales de  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$ ; el rendimiento de la cristalización es del 65 %.

**Análisis elemental** para  $[\text{Co}\{(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ , (Exp. (Teór.)): %N 7.2 (7.3); %C 20.1 (20.3); % H 3.7 (3.8); % S 12.6 (12.5).

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, D<sub>2</sub>O, 298 K),  $\delta$ /ppm: 3.0 (m, 4H); 3.4 (m, 4H); 3.6 (m, 4H); 3.7 (s, 4H); 4.1 (m, 4H).

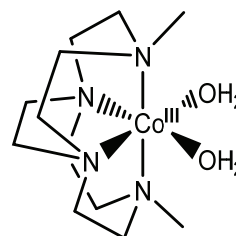
**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, D<sub>2</sub>O, 298 K),  $\delta$ /ppm: 57.6; 62.8; 63.2 ppm.

**UV-Vis** (0.1 M HClO<sub>4</sub>),  $\lambda_{\text{max}}$ /nm ( $\epsilon$ /M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>): 360 (110); 490 (180).

Constantes de acidez:  $\text{p}K_{\text{a},1} = 5.1$ ;  $\text{p}K_{\text{a},2} = 7.4$ .

**$[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$**

El complejo triflato de diacuo(4,10-dimetil-1,4,7,10-tetraazabicyclo[5.5.2]tetradecano)cobalto(III) se prepara según el método indicado en la bibliografía.<sup>[46]</sup> Esta síntesis consta de varios pasos intermedios que se detallan a continuación.



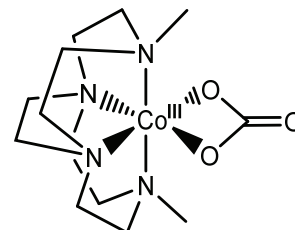
i.  $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{CO}_3)_3] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

Para la formación del precursor tricarbonatocobaltato(III) de sodio se sigue el procedimiento descrito en la bibliografía.<sup>[183]</sup> A una suspensión de 3.5 g de NaHCO<sub>3</sub> en

5 cm<sup>3</sup> de agua en un baño de hielo, se le añade lentamente una solución formada por: 2.5 g de Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 4 cm<sup>3</sup> de agua y 1 cm<sup>3</sup> de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Se mantiene en agitación durante 1 hora a 0 °C y se filtra el producto. Se lava con agua fría, etanol y éter; el rendimiento es del 90 %.

ii. [Co{(Me)<sub>2</sub>(μ-ET)cyclen}CO<sub>3</sub>]Cl

Para la preparación del cloruro de η<sup>2</sup>-carbonato(4,10-dimetil-1,4,7,10-tetraazabicyclo[5.5.2]tetradecano)cobalto(III), se calienta a 60 °C durante 24 horas una solución de 2.0 g de {(Me)<sub>2</sub>(μ-ET)cyclen} y 9.0 g de Na<sub>3</sub>[Co(CO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>]·3H<sub>2</sub>O en 220 cm<sup>3</sup>



de agua. Se filtra el Co<sub>2</sub>O<sub>3</sub> formado por descomposición y la disolución se diluye con 700 cm<sup>3</sup> de agua. Esta solución se pasa a través de una columna de intercambio catiónico Sephadex C-25 y se eluye el producto con una solución de NaCl con un gradiente de concentración de 0.01 a 0.1 M. El eluido se lleva a sequedad y se disuelve en metanol; este último procedimiento se repite varias veces eliminando los restos de NaCl. Finalmente se purifica por cromatografía de exclusión con una columna Sephadex LH-20; el rendimiento es del 45 %.

iii. [Co{(Me)<sub>2</sub>(μ-ET)cyclen}(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>

El producto triflato de diacu(4,10-dimetil-1,4,7,10-tetraazabicyclo[5.5.2]tetradecano)cobalto(III) se obtiene mediante la disolución de 1.4 g del complejo anterior en 50 cm<sup>3</sup> de HClO<sub>4</sub> 1 M y posterior cristalización; el rendimiento es del 68 %.

**UV-Vis** (0.1 M HClO<sub>4</sub>), λ<sub>max</sub>/nm (ε/M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>): 380 (145); 515 (240).

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, D<sub>2</sub>O, 298 K), δ/ppm: 2.9 (s, 6H); 3.0 (dd, 4H); 3.6 (m, 4H); 3.7 (m, 8H); 3.9 (m, 4H).

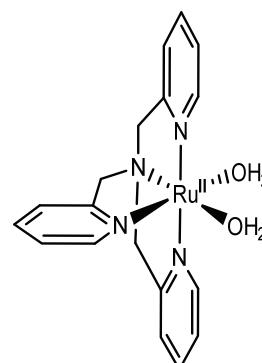
**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, D<sub>2</sub>O, 298 K), δ/ppm: 54.0; 66.0; 67.2; 71.1.

Constantes de acidez: pK<sub>a,1</sub> = 3.7; pK<sub>a,2</sub> = 7.1.

### 7.1.3 Compuestos de Ru(II)

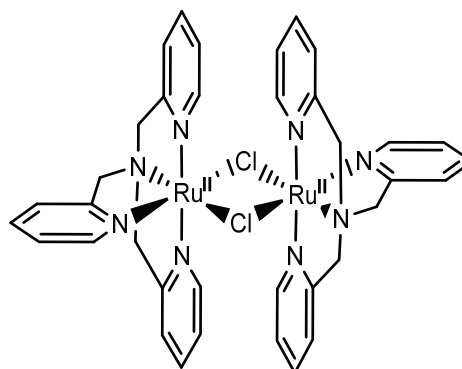
#### **[Ru(TPA)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>**

El compuesto triflato de diacuo[tris(2-piridilmetil)amina] rutenio(II), se prepara según el procedimiento experimental descrito en la bibliografía.<sup>[146,148]</sup> Este proceso consta de dos etapas que se detallan a continuación.



#### *i.* *trans*-[Ru(TPA)Cl]<sub>2</sub>(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·½CH<sub>3</sub>CN

Para la síntesis del dímero *trans*-di-μ-cloruro-bis[tris(2-piridilmetil)amina]-1κ<sup>2</sup>Cl,2κ<sup>2</sup>Cl-dirutenio(II), se sigue el procedimiento ya descrito en la bibliografía.<sup>[184]</sup>



Una solución formada por 2.0 g de TPA·nHClO<sub>4</sub> y 1.74 g de NEt<sub>3</sub> en 100 cm<sup>3</sup> de metanol bajo atmósfera de N<sub>2</sub>, se añade sobre otra solución que contiene 0.90 g de RuCl<sub>3</sub>·3H<sub>2</sub>O en 100 cm<sup>3</sup> de metanol. La mezcla se calienta a reflujo bajo N<sub>2</sub> durante 8 horas. Se filtra el precipitado obtenido y se disuelve en acetonitrilo. Tras filtrar las impurezas, se elimina el disolvente y el sólido naranja formado se lava con éter; el rendimiento es del 24 %.

**UV-Vis** (CH<sub>3</sub>CN), λ<sub>max</sub> /nm: 352; 428.

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CD<sub>3</sub>CN, 298 K), δ/ppm: 4.3 (s, 2H, CH<sub>2,ec</sub>); 4.7 (AB, 2H, CH<sub>2,ax</sub>); 5.0 (AB, 2H, CH<sub>2,ax</sub>); 6.8 (d, 1H, H<sub>pyr,ax</sub>); 6.9 (t, 2H, H<sub>pyr,ec</sub>); 7.0 (d, 1H, H<sub>pyr,ax</sub>); 7.4 (td, 1H, H<sub>pyr,ax</sub>); 7.5 (d, 2H, H<sub>pyr,ec</sub>); 7.7 (td, 2H, H<sub>pyr,ec</sub>); 8.5 (dd, 2H, H<sub>pyr,ec</sub>); 8.8 (d, 1H, H<sub>pyr,ax</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, CD<sub>3</sub>CN, 298 K), δ/ppm: 69.2 (1CH<sub>2,ec</sub>); 70.5 (2CH<sub>2,ax</sub>); 119.3 (1CH<sub>pyr,ec</sub>); 122.3 (2CH<sub>pyr,ax</sub>); 123.3 (1CH<sub>pyr,ec</sub>); 124.5 (2CH<sub>pyr,ax</sub>); 135.0 (1CH<sub>pyr,ec</sub>); 136.4 (2CH<sub>pyr,ax</sub>); 151.7 (1CH<sub>pyr,ec</sub>); 153.8 (2CH<sub>pyr,ax</sub>); 163.2 (1CH<sub>pyr,ec</sub>); 164.4 (2CH<sub>pyr,ax</sub>).

ii.  $[\text{Ru}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$

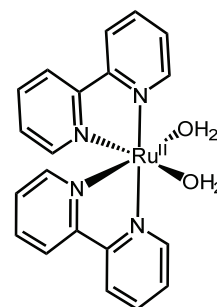
Este complejo de Ru(II) se prepara a partir de una solución formada por 0.40 g del dímero anterior, *trans*- $[\text{Ru}(\text{TPA})\text{Cl}]_2(\text{ClO}_4)_2 \cdot \frac{1}{2}\text{CH}_3\text{CN}$ , en 30 cm<sup>3</sup> de agua, a la que se le añaden 0.19 g de  $\text{AgCF}_3\text{SO}_3$  disueltos en 10 cm<sup>3</sup> de agua. La mezcla se calienta a reflujo durante 12 horas, se elimina el sólido de  $\text{AgCl}$  y el filtrado se lleva a sequedad. El sólido verde obtenido se lava con etanol y éter. El producto es muy higroscópico y descompone rápidamente al manipularlo en las condiciones ambientales necesarias para este estudio.

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CD<sub>3</sub>CN, 298 K),  $\delta$ /ppm: 4.6 (s, 2H); 4.9 (d, 2H); 5.0 (d, 2H); 7.1 (d, 1H); 7.2 (t, 1H); 7.3 (t, 2H); 7.5 (d, 2H); 7.6 (t, 1H); 7.8 (t, 2H); 8.7 (d, 2H); 8.9 (d, 1H).

**UV-Vis** (0.1 M HClO<sub>4</sub>),  $\lambda_{\text{max}}$ /nm: 350; 395; 635.

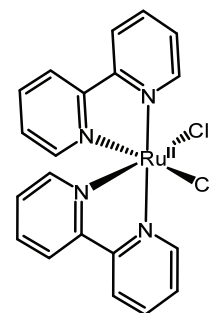
*cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$

La síntesis del compuesto triflato de *cis*-diacuo-bis(2,2'-bipiridina)rutenio(II) se realiza de un modo similar al descrito para el complejo  $[\text{Ru}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$ , pero con algunas modificaciones.<sup>[148]</sup> Ésta consta de dos etapas que se detallan a continuación.



i. *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{Cl}_2]$

Para la preparación del complejo *cis*-bis(2,2'-bipiridina)diclororutenio(II) se sigue el procedimiento experimental indicado en la bibliografía.<sup>[171]</sup>



Se calienta a reflujo una solución formada por 7.80 g de  $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , 9.36 g de bpy y 8.40 g de LiCl en 50 cm<sup>3</sup> de *N,N*-dimetilformamida durante 8 horas. Una vez a temperatura ambiente se añaden 250 cm<sup>3</sup> de acetona y se mantiene la disolución en el congelador durante 12 horas. Se filtra el producto verdoso y se lava con agua, se seca al aire y finalmente con éter; el rendimiento es del 73 %.

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K),  $\delta$ /ppm: 6.8 (td, 2H); 7.4 (td, 2H); 7.5 (td, 2H); 7.6 (dd, 2H); 7.8 (td, 2H); 7.9 (dd, 2H); 8.1 (dd, 2H); 10.3 (dd, 2H).

*ii. cis-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>*

Para la síntesis del compuesto final de Ru(II), se calienta a reflujo durante 3 horas en atmósfera de N<sub>2</sub> una solución formada por 0.50 g de *cis*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] y 0.51 g AgCF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub> en 50 cm<sup>3</sup> de agua a la que se han añadido unas gotas de ácido tríflico concentrado. Se filtra la solución y se elimina el disolvente obteniendo un sólido rojo; el rendimiento es del 66 %.

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CD<sub>3</sub>CN, 298 K),  $\delta$ /ppm: 7.2 (td, 2H); 7.6 (dd, 2H); 7.9 (td, 2H); 8.0 (td, 2H); 8.3 (td, 2H); 8.4 (dd, 2H); 8.5 (dd, 2H); 9.3 (dd, 2H).

**UV-Vis** (0.1 M HClO<sub>4</sub>),  $\lambda_{\text{max}}$ /nm ( $\epsilon$ /M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>): 340 (8260); 480 (9770).

Constantes de acidez: pK<sub>a,1</sub> = 8.7; pK<sub>a,2</sub> > 11.

---

## 7.2 Metodología cinética

### 7.2.1 Condiciones de trabajo

La información cinética de una reacción se puede obtener midiendo una propiedad que varíe durante el proceso y que, además, esté relacionada con la concentración de las especies reactivas, o de los productos. El seguimiento por espectroscopia UV-Vis<sup>[21,185,186]</sup> es una de las técnicas más utilizadas, ya que relaciona la concentración de los reactivos y productos con la absorbancia mediante la ecuación de Lambert-Beer con una sensibilidad muy alta. Otra técnica de gran utilidad para la identificación de las especies presentes a diferentes tiempos de reacción es la resonancia magnética nuclear, mediante la cual es posible determinar especies separadamente.<sup>[187]</sup> Sin embargo, la sensibilidad de esta última técnica es mucho menor.

Para la planificación de los experimentos se pueden modificar diferentes parámetros, típicamente la concentración de reactivos, el pH, la temperatura y la presión. En cada experimento se suele variar solamente uno de estos parámetros de trabajo, por lo que se obtiene una dependencia con cada uno de ellos. Actualmente hay técnicas alternativas de análisis quimiométrico donde todos los parámetros son variables.<sup>[188-190]</sup> Una vez efectuadas las medidas, se tratan los resultados obtenidos con los modelos matemáticos adecuados.<sup>[191]</sup> A partir de estos cálculos se obtienen los parámetros cinéticos y de activación. Estos parámetros permitirán, junto con la ley de velocidad establecida, proponer un mecanismo de reacción de los distintos sistemas presentados en este estudio.<sup>[192]</sup>

#### ***Espectroscopia electrónica***

Como se ha indicado, el desarrollo de las reacciones se ha seguido en general por espectroscopia UV-Vis. Este seguimiento se realiza midiendo la variación de los espectros electrónicos del medio de reacción con el tiempo. Esta variación se cuantifica normalmente a una longitud de onda determinada ( $\lambda$ ), donde la diferencia de absorbancia es máxima entre las soluciones iniciales y finales de la reacción.<sup>[185]</sup>



Asimismo, la variación global de los espectros se utiliza de un modo muy habitual en la actualidad.<sup>[193]</sup>

Para las reacciones estudiadas en este trabajo, el seguimiento de la variación de la absorbancia con el tiempo se ha realizado entre 300 y 750 nm. Para el posterior tratamiento de datos se ha seleccionado generalmente una longitud de onda comprendida entre 350 y 550 nm, donde la mayoría de los compuestos estudiados presentan una mayor absorción debida a las bandas d-d o de TC. De esta forma se consigue que la diferencia entre los espectros iniciales y finales sea lo suficientemente grande para cuantificarse de forma reproducible.

El tratamiento de los datos se ha realizado con los programas SPECFIT<sup>[114]</sup> o REACTLAB;<sup>[115]</sup> éstos permiten hacer un ajuste global de la variación de los espectros electrónicos con el tiempo. A partir de los espectros registrados durante el tiempo, los programas son capaces de predecir el número de especies que intervienen en el proceso, así como simular la variación de las concentraciones y de los espectros para cada una de ellas al introducir un modelo cinético.

### ***Concentración de los reactivos***

En general, para las reacciones estudiadas, la velocidad depende de las concentraciones de los distintos reactivos, por lo que a medida que avanza la reacción sus concentraciones varían. Consecuentemente, se han elegido condiciones de pseudoprimer orden para la realización de los experimentos cinéticos. Es decir, se ha trabajado con un exceso de todos los reactivos menos uno. Típicamente, las concentraciones de los ligandos y  $[H^+]$  se han mantenido en exceso, de forma que la concentración de éstos sea como mínimo 10 veces superior a la concentración del complejo metálico. De este modo, estas concentraciones se pueden considerar constantes durante el tiempo de reacción, quedando como única variable la concentración de complejo metálico. Esta variable es la que se utiliza para la integración de la ecuación diferencial que corresponde a la ley de velocidad. Se determina, así, una constante observada de velocidad de pseudoprimer orden,  $k_{obs}$ ,

que en estas condiciones, depende únicamente de las concentraciones de los otros reactivos en exceso.

Las concentraciones de los complejos metálicos utilizados, se encuentran entre  $5 \times 10^{-5}$  M y  $5 \times 10^{-3}$  M, según el valor del coeficiente de extinción del complejo ( $\epsilon$ ), del camino óptico y de las especificaciones del instrumental utilizado. En cambio, las concentraciones escogidas para los ligandos por los que se substituirá el ligando  $H_2O$  unido al metal, están dentro del margen de 0.004 a 0.1 M, lo que equivale a excesos de 20 hasta 200 para el caso de las substituciones sobre los dos ligandos acuo de los complejos de Co(III) y excesos de 100 a 1000 para las substituciones sobre el mismo tipo de complejos de Ru(II). La  $[H^+]$  se ha mantenido constante mediante el uso de soluciones amortiguadoras, o con soluciones de concentración exactamente conocida de HCl,  $HClO_4$  o NaOH según el caso.

La concentración de las soluciones amortiguadoras ha sido de 0.4 M. Las especies amortiguadoras se han escogido teniendo en cuenta que el valor del pH deseado tiene que estar en el intervalo de  $pH = pK_a \pm 1$ . El valor del pH final se ajusta con soluciones de  $HClO_4$  o NaOH según el pH de trabajo. Todos los experimentos cinéticos se han realizado a fuerza iónica constante 1.0, ajustada mediante la adición de  $NaClO_4$ .

### ***Intervalo de pH***

Los experimentos cinéticos se han realizado en un intervalo de pH cercano al fisiológico, generalmente  $pH = 7 \pm 1$ . En cada caso, en el pH de trabajo, se han considerado los equilibrios ácido-base de los complejos según las constantes de acidez determinadas. En los estudios realizados a presión variable, se ha escogido el pH de trabajo teniendo en cuenta, además, las variaciones con la presión de las constantes de equilibrio ácido-base de las especies tampón utilizadas.

### ***Temperatura y presión***

La temperatura de trabajo se ha elegido considerando tanto la estabilidad térmica de las especies involucradas en el estudio, como su solubilidad y propiedades físicas. Las

especificaciones del instrumental disponible también han influido en la elección, teniendo en cuenta que se desea obtener una velocidad de reacción que permita realizar de una manera adecuada las medidas de la variación de la concentración con el tiempo. Los experimentos cinéticos se han realizado en un intervalo de temperaturas entre 15 y 70 °C, condiciones que permiten una utilización adecuada del distinto instrumental empleado para el seguimiento de las reacciones.

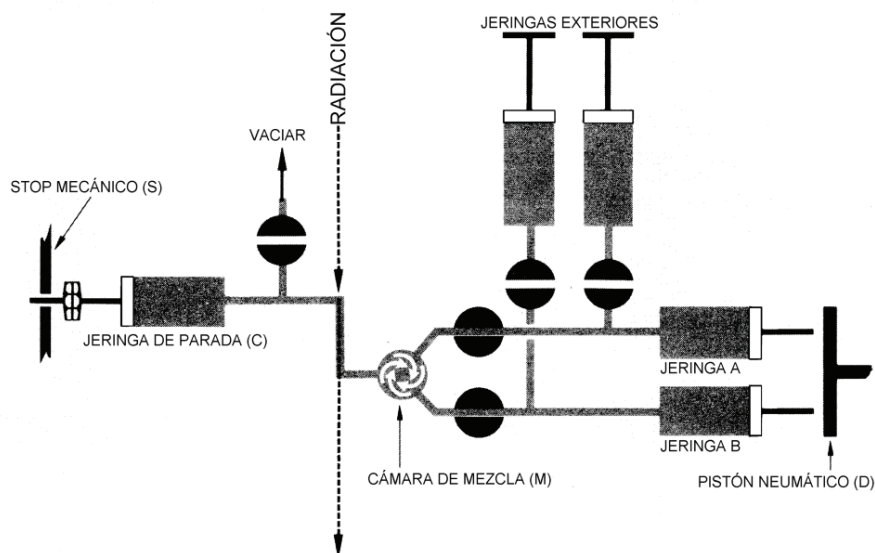
Los sistemas de presurización que se han utilizado permiten trabajar hasta 2500 atmósferas de presión hidrostática. Dado que en todos los sistemas estudiados la variación de las constantes cinéticas con la presión es notable, no ha sido necesario el estudio a condiciones de presión extremas, y las medidas se han realizado entre 1 y 1800 atm.

### 7.2.2 Experimentos cinéticos

Para las reacciones a presión atmosférica con  $t_{1/2} > 200$  s, la mezcla de los reactivos se ha llevado a cabo de manera manual. Para estos experimentos, se introduce en una cubeta un volumen determinado de las distintas disoluciones que contienen el reactivo en exceso, el  $\text{NaClO}_4$  y la solución amortiguadora. Se deja termostatar a la temperatura de trabajo, con una precisión de 0.1 °C, y se añade el volumen necesario de la solución del reactivo que falta, también termostatado. Los volúmenes de las diferentes soluciones tienen que ser los adecuados con el fin de conseguir las concentraciones deseadas para cada experimento.

En las medidas realizadas a presión variable con  $t_{1/2} > 800$  s, la mezcla de reacción se prepara previamente del mismo modo en otro recipiente y después se introduce en la cubeta. Se deja el tiempo necesario dentro de la celda la disolución preparada para que se establezcan las condiciones de presión y temperatura deseadas, y, finalmente, se mide la variación de la absorbancia con el tiempo en el intervalo de longitudes de onda previamente establecido.

Para las reacciones con  $t_{1/2} < 200$  s, las medidas se han realizado utilizando un sistema de mezcla rápida como el que se muestra en la Figura 7.1.<sup>[98,194]</sup>



**Figura 7.1.** Esquema de un sistema de mezcla rápida.

Las jeringas A y B contienen los reactivos termostatados, que se introducen en el circuito del aparato mediante unas jeringas exteriores. El pistón D empuja las disoluciones de los reactivos, y de esta manera se mezclan en la cámara M termostatada. Esto produce un movimiento en la jeringa de parada C, que concluye en el tope fijo S, y que sirve para detener la entrada de líquido en el sistema y activar el dispositivo de registro de la absorbancia de la disolución contenida en la celda. En los experimentos realizados a presión variable, las medidas de las reacciones con  $t_{1/2} < 800$  s se han realizado con un sistema de inyección rápida similar, introducido en un sistema presurizado y termostatado.<sup>[195]</sup>

Para cada uno de los experimentos que se realizan con un sistema de mezcla rápida se preparan dos disoluciones, una con el compuesto en defecto a fuerza iónica y pH adecuados, y la otra con las concentraciones deseadas del reactivo en exceso y los otros reactivos auxiliares a la misma fuerza iónica. Ambas disoluciones se introducen

en las jeringas de carga y, después de estabilizarse temperatura y presión, se procede a la mezcla de las mismas. Dado que los instrumentos utilizados en este trabajo mantienen una relación de volúmenes 1 a 1, las concentraciones de los reactivos tienen que ser el doble de las preparadas para los experimentos cinéticos ordinarios. Se mide a continuación la variación temporal de los espectros electrónicos en el espectrofotómetro elegido mediante una conexión de fibra óptica.

### 7.2.3 Tratamiento de datos

A partir de las medidas de los cambios temporales de los espectros electrónicos de la mezcla de reacción, se calculan las constantes de velocidad de pseudoprimer orden observadas. Históricamente este cálculo se ha llevado a cabo mediante un ajuste de mínimos cuadrados no lineales de las variaciones de la absorbancia con el tiempo a una longitud de onda determinada, según la Ecuación 7.1.<sup>[113]</sup> El ajuste exponencial de la variación de la absorbancia con el tiempo, permite calcular el valor de la constante cinética observada de pseudoprimer orden.

$$A_t = A_\infty + (A_0 - A_\infty) \exp(-k_{obs}t) \quad \text{Ecuación 7.1}$$

Actualmente, el ajuste de los espectros electrónicos se hace de manera global variando simultáneamente todos los parámetros y el cálculo de estas  $k_{obs}$  es mediante un complejo sistema matemático de matrices.<sup>[189]</sup>

Las medidas de la variación de los espectros electrónicos con el tiempo se han realizado con los espectrofotómetros Agilent HP8452A y HP8453, Cary 50 o un J&M TIDAS MMS/16 controlado por el programa TIDASDAQ.<sup>[196]</sup> La simulación de los datos de la variación de los espectros electrónicos con el tiempo se ha realizado mediante los programas SPECFIT<sup>[114]</sup> o ReactLab.<sup>[115]</sup> Estos programas permiten el cálculo de las constantes cinéticas de pseudoprimer orden,  $k_{obs}$ , sin necesidad de estimar los valores de los espectros iniciales ni finales, lo que elimina una fuente de error importante.

El tratamiento de datos con estos programas es, generalmente, de todo el intervalo de longitudes de onda adquirido. En estos casos, el programa realiza un análisis global de la variación de los espectros completos con el tiempo. Una vez hecho este análisis, el programa ajusta la variación de las concentraciones y de los espectros para todas las especies que aparecen en un mecanismo de reacción previamente definido. En situaciones de pseudoprimer orden, los datos experimentales se han adquirido, en primer lugar, haciendo el cálculo de las  $k_{obs}$  a una longitud de onda determinada y posteriormente se ha comparado el resultado con el análisis global de los espectros electrónicos. El método de tratamiento global se ha utilizado siempre para las reacciones en condiciones de segundo orden. En este caso, se han fijado en el programa SPECFIT<sup>[114]</sup> los espectros de las especies iniciales que actúan en la reacción. La validez de la constante de velocidad obtenida se ha confirmado mediante la comparación del espectro final simulado con el obtenido experimentalmente. En todos los casos se observa una buena correlación entre los datos experimentales y las curvas ajustadas. Los errores obtenidos para las constantes cinéticas son, generalmente, inferiores al 10 % cuando se ha trabajado en condiciones de pseudoprimer orden.

Todos los ajustes posteriores, tales como las variaciones de las constantes observadas con las concentraciones de reactivos, y las variaciones de las constantes de velocidad con la temperatura y la presión se han llevado a cabo mediante un programa de ajuste por mínimos cuadrados sin utilizar pesos. Los errores que se citan en el texto de este tipo de ajuste corresponden a la desviación estándar propia del cálculo y, en general, no son superiores al 10 % para los parámetros asociados a las pendientes. Los errores en los parámetros asociados con las ordenadas en origen o con los valores límite son muy superiores, debido al error matemáticamente inherente en su determinación.

## 7.3 Instrumental

### 7.3.1 Seguimiento de las reacciones

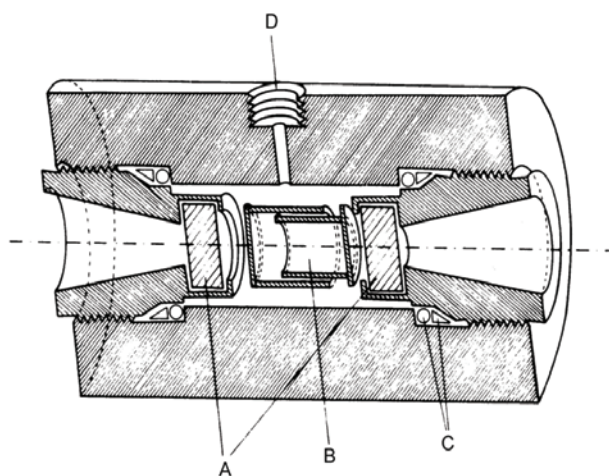
Como se ha dicho, las reacciones estudiadas en este trabajo producen cambios significativos en el espectro UV-Vis del medio de reacción, por lo que la espectroscopia electrónica resulta una técnica adecuada para la obtención de las constantes de velocidad.<sup>[185]</sup> Las reacciones estudiadas presentan una gran variedad de velocidades, por lo que ha sido necesaria una selección del instrumental para realizar las medidas de la variación temporal de los espectros electrónicos con el tiempo. Para esta selección se ha tenido en cuenta el tiempo muerto de mezcla del instrumental y el tiempo de vida media,  $t_{1/2}$ , de las reacciones estudiadas.

Para la realización de las medidas cinéticas a presión ambiente de reacciones con  $t_{1/2} > 200$  s, se han utilizado diferentes instrumentos. Se han empleado unos espectrofotómetros de red de diodos Agilent HP8452A o HP8453, equipados con soporte multicelda, y un espectrofotómetro de barrido Cary 50 provisto también de un soporte multicelda. Estos instrumentos están conectados a un ordenador que controla la adquisición de datos. Para las reacciones con  $t_{1/2} < 200$  s se ha utilizado la unidad de mezcla de un espectrofotómetro de flujo detenido (*stopped-flow*) Applied Photophysics SX18MV, conectado con fibras ópticas a un espectrofotómetro J&M TIDAS MMS/16.

Las medidas de los espectros a alta presión se han realizado con el mismo espectrofotómetro J&M TIDAS MMS/16 mencionado anteriormente, conectado por fibra óptica a un sistema de presurización que depende de los valores de  $t_{1/2}$  de las reacciones, como se describe a continuación.

### 7.3.2 Sistemas de presurización

La presurización del sistema para estudiar las reacciones con  $t_{1/2} > 800$  s se ha realizado con un sistema de aceite y agua acoplado a una celda que contiene la cubeta con la mezcla de reacción.<sup>[158,197,198]</sup> El sistema está conectado a una celda de acero que contiene la cubeta con la muestra y está instalada en el camino óptico del espectrofotómetro (Figura 7.2).

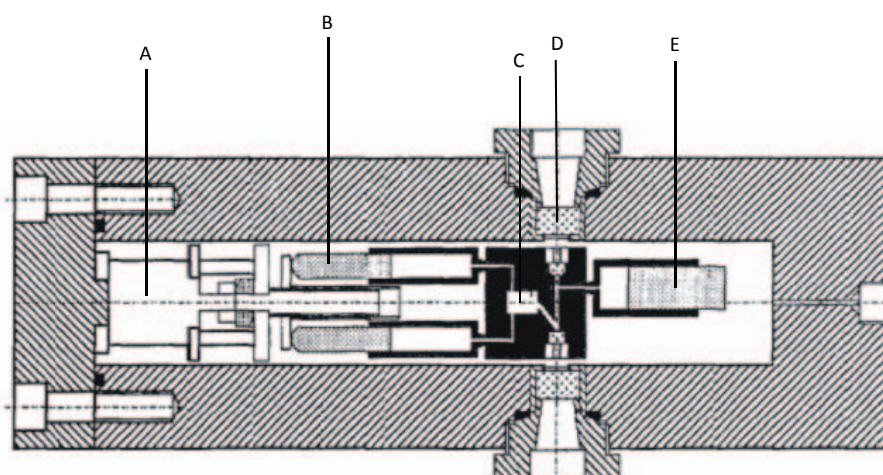


**Figura 7.2.** Esquema de la celda utilizada en el sistema de presurización. En el esquema se puede observar las ventanas de zafiro (A), la cubeta tipo cápsula en su interior (B), las juntas de presión (C), y el orificio de entrada del líquido presurizante (D).

Mediante una bomba hidráulica se comprime aceite, que transmite la presión al agua; ésta transmite la presión al compartimento de la celda que contiene la cubeta con la muestra. La celda tiene dos ventanas de zafiro, de 1 cm de grosor, por las que pasa la radiación. Está envuelta por una camisa conectada a un termostato y dispone en su interior de un compartimento diseñado para contener la cubeta con la mezcla de reacción. La cubeta<sup>[124]</sup> permite una buena transmisión de la presión a la mezcla de reacción. En este trabajo se ha utilizado una cubeta tipo cápsula formada por dos piezas cilíndricas que encajan una dentro de otra (B en la Figura 7.2), cerradas por los lados con ventanas de cuarzo. Estas cubetas no soportan diferencias de presión en ningún momento, ya que su diseño les permite, mediante variaciones del volumen, compensar los gradientes de presión generados en el sistema.<sup>[199]</sup>



Las medidas cinéticas a presión variable para las reacciones más rápidas se han realizado con un sistema de presurización en el que la bomba hidráulica presuriza directamente heptano contenido en una celda, donde se coloca un sistema de inyección rápida (Figura 7.3). Este sistema incluye dos jeringas de carga de policlorotrifluoretileno, y una jeringa de descarga del mismo material. Todo ello en una celda de acero inoxidable reforzada, con dos ventanas de zafiro de 1.6 cm de grosor por las que pasa la radiación, y está rodeada de una camisa conectada a un termostato. El sistema está conectado a un motor encargado de dirigir las jeringas que contienen las disoluciones de los reactivos.<sup>[195]</sup>



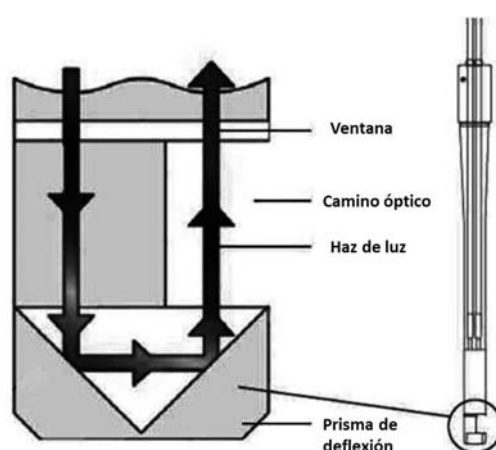
**Figura 7.3.** Figura del sistema *stopped-flow* introducido en una celda de acero para la realización de las medidas a alta presión de reacciones con  $t_{1/2} < 800$  s. En la figura se puede observar el motor eléctrico (A), las jeringas de muestra (B), la unidad de mezcla (C), las ventanas de cuarzo (D) y la jeringa de descarga (E).

### 7.3.3 Determinación de valores del pH y constantes de acidez

Los valores de pH de las disoluciones utilizadas en este trabajo se han medido con un instrumento Crison pH & ION-Meter GLP 22+ con un electrodo de membrana cilíndrica Crison 52 03. Para muestras con un volumen muy pequeño de solución se ha empleado un electrodo más fino Crison 52 09. Todas las medidas de pH se han realizado a 25 °C.

La determinación de los  $pK_a$  de los complejos se ha llevado a cabo tanto potenciométricamente como por espectroscopia electrónica. Las valoraciones potenciométricas se han realizado con un instrumento Metrohm Titrand 888, valorando con NaOH 0.1 M, soluciones de concentración  $2 \times 10^{-3}$  M de complejo metálico en 0.01 M de HClO<sub>4</sub>, a  $I = 1.0$  (NaClO<sub>4</sub>). El tratamiento de datos se ha hecho con el programa Tiamo 2.3 con el cual se obtiene directamente el valor de los  $pK_a$ .<sup>[200]</sup>

La determinación de los  $pK_a$  por espectroscopia UV-Vis se ha realizado con una sonda de inmersión de cuarzo Helma 661.202-UV (Figura 7.4) conectada a un espectrofotómetro Cary 50 mediante fibras ópticas. Se han preparado disoluciones entre  $1 \times 10^{-3}$  M y  $2 \times 10^{-3}$  M de los complejos metálicos y 0.01 M de HClO<sub>4</sub>, a las que además se le ha ajustado la fuerza iónica a 1.0 con NaClO<sub>4</sub>. Estas soluciones se han valorado con pequeñas adiciones de NaOH 0.1 M con el equipo Metrohm Titrand 888 y se ha registrado el espectro UV-Vis cuando las variaciones de pH eran suficientemente apreciables, del orden de 0.01 unidades de pH cuando el valor es cercano al  $pK_a$ . Los datos obtenidos han sido analizados con el programa SPECFIT que permite, a partir de todos los espectros medidos durante la valoración y el valor de los pH en cada uno de estos espectros, el cálculo de las constantes de acidez de los compuestos estudiados.<sup>[114]</sup>



**Figura 7.4.** Esquema de la sonda de inmersión de cuarzo utilizada para la determinación de los  $pK_a$  por espectroscopia UV-Vis.

### 7.3.4 Medidas electroquímicas

Los experimentos de voltametría cíclica en disolución se han realizado con un instrumento BioLogic SP-150. Se han utilizado soluciones acuosas de concentración  $5 \times 10^{-4}$  M de los complejos metálicos con  $\text{NaClO}_4$  como electrolito soporte (0.1 M), a las que se le ha añadido el volumen necesario de solución amortiguadora deseada para conseguir el pH de trabajo. Se ha utilizado un electrodo de trabajo de carbón vitrificado y, como electrodo auxiliar, un hilo de platino. El electrodo de referencia empleado es de Ag/AgCl, 3 M KCl. El sistema se ha purgado con  $\text{N}_2$  para eliminar el oxígeno disuelto; los barridos de potencial se realizaron a varias velocidades.

Los valores que se citan en la memoria para los potenciales de reducción de los centros metálicos están referenciados al electrodo normal de hidrógeno, ENH ( $E_{\text{Ag}^+/\text{AgCl}}^0 (3 \text{ M KCl}) = 0.205 \text{ V}$  respecto a ENH).

### 7.3.5 Espectroscopia Ultravioleta-Visible

Los espectros UV-Vis se han realizado en los espectrofotómetros Agilent HP8452A o HP8453 con detector de diodos en el intervalo de 200-820 nm (HP8452A), o de 190 a 1100 nm (HP8453), o bien con un espectrofotómetro Cary 50 de barrido en el intervalo comprendido entre 200 y 1100 nm. También se ha utilizado un espectrofotómetro J&M TIDAS MMS/16 conectado mediante fibras ópticas en el intervalo comprendido entre 190 y 800 nm.

### 7.3.6 Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear

Todos los espectros de resonancia magnética nuclear se han adquirido en los *Centres Científics i Tecnològics* de la *Universitat de Barcelona*.

Los espectros RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  y  $^{31}\text{P}$  se han registrado en espectrómetros: Varian Mercury 400 MHz, Bruker 400 MHz y Bruker DMX 500 MHz. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  se han referenciado respecto al tetrametilsilano ( $\text{SiMe}_4$ ) para las muestras realizadas en  $\text{CDCl}_3$  o bien respecto al trimetilsililpropionato- $d_4$  de sodio ( $\text{NaTMSP}$ ) para las muestras realizadas con  $\text{D}_2\text{O}$ . Para todos los espectros de RMN de  $^{31}\text{P}$  se ha usado como referencia  $\text{H}_3\text{PO}_4$ .

Los experimentos de RMN de  $^1\text{H}$  con secuencia PRESAT se registran con un tubo interior (*inset*) de  $\text{D}_2\text{O}$  con referencia interna de  $\text{NaTMSP}$ ; permitiendo de este modo trabajar con soluciones acuosas y ajustando el pH manualmente con  $\text{NaOH}$  o  $\text{HClO}_4$  directamente según el pH deseado.

### 7.3.7 Espectroscopia de Difracción de Rayos-X

La resolución de estructuras cristalinas se realizó en la *Unitat de Difracció de RX* en los *Centres Científics i Tecnològics* de la *Universitat de Barcelona*, por parte de la Dra. Mercè Font-Bardia.

En todos los casos se seleccionó un cristal adecuado que se monta en un difractor de monocristal Bruker D8 Venture con microfuelle de Mo ( $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ ) con un detector de área Photon 100 CMOS. Las estructuras fueron resueltas mediante el programa Bruker SHELXTL, y refinadas por el método de mínimos cuadrados en un bloque completo utilizando el programa SHELXL.<sup>[201]</sup>

### 7.3.8 Análisis elemental de C, N, H y S

La determinación del contenido de carbono, nitrógeno, hidrógeno y azufre en los productos sintetizados se ha realizado en un equipo Thermo EA 1108 CHNS-O Carlo Erba Instruments en los *Centres Científics i Tecnològics* de la *Universitat de Barcelona*.

### 7.3.9 Espectrometría de masas

Los espectros de masas ESI se han realizado en un espectrómetro de Trap LCQ DECA XP (Thermo Finnigan) por la *Unitat d'Espectrometria de Masses* de los *Centres Científics i Tecnològics* de la *Universitat de Barcelona*.

## **CAPÍTULO 8**

*BIBLIOGRAFÍA*



- 
- [1] J. A. Cowan, *Inorganic Biochemistry. An Introduction*, Wiley-VCH, **1997**.
- [2] M. S. Davies, S. J. Berners-Price, and T. W. Hambley, *J.Am.Chem.Soc.*, **1998**, *120*, 11380-11390.
- [3] A. V. Klein and T. W. Hambley, in *Ligand Design in Medicinal Inorganic Chemistry*, ed. T. Storr, Wiley, **2014**, Chapter 2.
- [4] M. Zaki, F. Arjmand, and S. Tabassum, *Inorg.Chim.Acta*, **2016**, *444*, 1-22.
- [5] K. L. Haas and K. J. Franz, *Chem.Rev.*, **2009**, *109*, 4921-4960.
- [6] B. Rosenberg, L. van Camp, J. E. Trosko, and V. H. Mansour, *Nature*, **1969**, *222*, 385-386.
- [7] S. J. Lippard, *Science*, **1982**, *218*, 1075-1082.
- [8] Y. Jung and S. J. Lippard, *Chem.Rev.*, **2007**, *107*, 1387-1407.
- [9] R. C. Todd and S. J. Lippard, *Metallomics*, **2009**, *1*, 280-291.
- [10] D. Wang and S. J. Lippard, *Nat.Rev.Drug Discov.*, **2005**, *4*, 307-320.
- [11] P. Atkins, T. Overton, J. Rourke, M. Weller, and F. A. Armstrong, *Inorganic Chemistry*, Oxford University Press, **2006**.
- [12] H. Cui, R. Goddard, K. R. Pörschke, A. Hamacher, and M. U. Kassack, *Inorg.Chem.*, **2014**, *53*, 3371-3384.
- [13] I. A. Riddell, T. C. Johnstone, G. Y. Park, and S. J. Lippard, *Chem.Eur.J.*, **2016**, *22*, 7574-7581.
- [14] C. Polonyi and S. K. C. Elmroth, *Dalton Trans.*, **2013**, *42*, 14959-14962.
- [15] C. Gao, Y. Zhang, T. Wang, J. Chen, Y. Qian, B. Yang, S. Gou, P. Dong, and Y. Zhang, *Appl.Organometal.Chem.*, **2015**, *29*, 481-486.
- [16] T. Soldatovic, S. Jovanovic, Z. D. Bugarcic, and R. van Eldik, *Dalton Trans.*, **2012**, *41*, 876-884.
- [17] J. Bogojeski, Z. Bugarcic, R. Puchta, and R. van Eldik, *Eur.J.Inorg.Chem.*, **2010**, 5439-5445.
- [18] N. Graf and S. J. Lippard, *Adv.Drug Delivery Rev.*, **2012**, *64*, 993-1004.
- [19] M. Mikola, K. D. Klika, A. Hakala, and J. Arpalhti, *Inorg.Chem.*, **1999**, *38*, 571-578.
- [20] M. L. Tobe and J. Burgess, *Inorganic Reaction Mechanisms*, Longman, **1999**.
- [21] R. G. Wilkins, *Kinetics and Mechanisms of Reactions of Transition Metal Complexes*, VCH, **1991**.
- [22] T. Rau and R. van Eldik, *Met.Ions Biol.Syst.*, **1996**, *32*, 339-373.



- [23] J. Kozelka, F. Legendre, F. Reeder, and J. C. Chottard, *Coord.Chem.Rev.*, **1999**, 190-192, 61-82.
- [24] M. M. DeMaine and J. B. Hunt, *Inorg.Chem.*, **1971**, 10, 2106-2113.
- [25] D. R. Meloon and G. M. Harris, *Inorg.Chem.*, **1977**, 16, 434-437.
- [26] S. Siebel, C. Dammann, P. J. Sanz Miguel, T. Drewello, G. Kampf, N. Teubner, P. J. Bednarski, E. Freisinger, and B. Lippert, *Chem.Eur.J.*, **2015**, 21, 17827-17843.
- [27] F. Basolo and R. C. Johnson, *Coordination Chemistry: The Chemistry of Metal Complexes*, W.A. Benjamin, Inc., **1964**.
- [28] P. D. Bonnitcho, B. J. Kim, R. K. Hocking, J. K. Clegg, P. Turner, S. M. Neville, and T. W. Hambley, *Dalton Trans.*, **2012**, 41, 11293-11304.
- [29] T. W. Failes, C. Cullinane, C. I. Diakos, N. Yamamoto, J. G. Lyons, and T. W. Hambley, *Chem.Eur.J.*, **2007**, 13, 2974-2982.
- [30] F. L. S. Bustamante, J. M. Metello, F. A. V. de Castro, C. B. Pinheiro, M. D. Pereira, and M. Lanznaster, *Inorg.Chem.*, **2013**, 52, 1167-1169.
- [31] C. R. Munteanu and K. Suntharalingam, *Dalton Trans.*, **2015**, 44, 13796-13808.
- [32] S. E. Sherman, D. Gibson, A. H. Wang, and S. J. Lippard, *Science*, **1985**, 230, 412-417.
- [33] F. Gonnet, J. Kozelka, and J. Chottard, *Angew.Chem., Int.Ed.*, **1992**, 31, 1483-1485.
- [34] F. Gonnet, F. Reeder, J. Kozelka, and J. C. Chottard, *Inorg.Chem.*, **1996**, 35, 1653-1658.
- [35] M. Galanski and B. K. Keppler, *Inorg.Chim.Acta*, **2000**, 300, 783-789.
- [36] K. Lemma, T. Shi, and L. I. Elding, *Inorg.Chem.*, **2000**, 39, 1728-1734.
- [37] S. Choi, S. Mahalingaiah, S. Delaney, N. R. Neale, and S. Masood, *Inorg.Chem.*, **1999**, 38, 1800-1805.
- [38] S. Moghaddas, P. Hendry, R. J. Geue, C. Qin, A. M. T. Bygott, A. M. Sargeson, and N. E. Dixon, *J.Chem.Soc., Dalton Trans.*, **2000**, 2085-2089.
- [39] A. Rodger, A. Parkinson, and S. Best, *Eur.J.Inorg.Chem.*, **2001**, 2311-2316.
- [40] M. J. Clarke, *Coord.Chem.Rev.*, **2002**, 232, 69-93.
- [41] C. Metcalfe and J. A. Thomas, *Chem.Soc.Rev.*, **2003**, 32, 215-224.
- [42] F. Reeder, F. Gonnet, J. Kozelka, and J. C. Chottard, *Chem.Eur.J.*, **1996**, 2, 1068-1076.
- [43] I. Ott, K. Schmidt, B. Kircher, P. Schumacher, T. Wiglenda, and R. Gust, *J.Med.Chem.*, **2005**, 48, 622-629.
- [44] D. Musumeci, L. Rozza, A. Merlino, L. Paduano, T. Marzo, L. Massai, L. Messori, and D. Montesarchio, *Dalton Trans.*, **2015**, 44, 13914-13925.

- [45] F. P. Dwyer, E. C. Gyarfas, W. P. Rogers, and J. H. Koch, *Nature*, **1952**, *170*, 190-191.
- [46] J. Y. C. Chang, G. L. Lu, R. J. Stevenson, P. J. Brothers, G. R. Clark, K. J. Botting, D. M. Ferry, M. Tercel, W. R. Wilson, W. A. Denny, and D. C. Ware, *Inorg.Chem.*, **2013**, *52*, 7688-7698.
- [47] D. A. Knight, J. B. Delchanty, E. R. Goldman, J. Bongard, F. Streich, L. W. Edwards, and E. L. Chang, *Dalton Trans.*, **2004**, 2006-2011.
- [48] J. Rawlings, W. W. Cleland, and A. C. Hengge, *J.Am.Chem.Soc.*, **2006**, *128*, 17120-17125.
- [49] S. J. Archibald, *Annu.Rep.Prog.Chem., Sect.A: Inorg.Chem.*, **2010**, *106*, 295-318.
- [50] A.-M. Fanning, S. E. Plush, and T. Gunnlaugsson, *Chem.Commun.*, **2006**, 3791-3793.
- [51] M. J. Belousoff, M. B. Duriska, B. Graham, S. R. Batten, B. Moubaraki, K. S. Murray, and L. Spiccia, *Inorg.Chem.*, **2006**, *45*, 3746-3755.
- [52] J. Y. C. Chang, R. J. Stevenson, G. L. Lu, P. J. Brothers, G. R. Clark, W. A. Denny, and D. C. Ware, *Dalton Trans.*, **2010**, *39*, 11535-11550.
- [53] D. C. Ware, W. R. Wilson, W. A. Denny, and C. E. F. Rickard, *Chem.Commun.*, **1991**, 1171-1173.
- [54] S. Tashiro, Y. Ogura, S. Tsuboyama, K. Tsuboyama, and M. Shionoya, *Inorg.Chem.*, **2010**, *50*, 4-6.
- [55] M. Alimi, A. Allam, M. Selkti, A. Tomas, P. Roussel, E. Galardon, and I. Artaud, *Inorg.Chem.*, **2012**, *51*, 9350-9356.
- [56] C. Karnthaler-Benbakka, D. Groza, K. Kryeziu, V. Pichler, A. Roller, W. Berger, P. Heffeter, and C. R. Kowol, *Angew.Chem., Int.Ed.*, **2014**, *53*, 12930-12935.
- [57] M. D. Hall, T. W. Failes, N. Yamamoto, and T. W. Hambley, *Dalton Trans.*, **2007**, 3983-3990.
- [58] D. Dey, A. Roy, A. Ranjani, L. Gayathri, S. Chandraleka, D. Dhanasekaran, M. Akbarsha, C. Y. Shen, H. L. Tsai, M. Maji, N. Kole, and B. Biswas, *J.Chem.Sci.*, **2015**, *127*, 649-661.
- [59] S. Jagadeesan, V. Balasubramanian, P. Baumann, M. Neuburger, D. Häussinger, and C. G. Palivan, *Inorg.Chem.*, **2013**, *52*, 12535-12544.
- [60] J. Liu, X. H. Zou, Q. L. Zhang, W. J. Mei, J. Z. Liu, and L. N. Ji, *Met Based Drugs*, **2000**, *7*, 343-348.
- [61] R. S. Kumar, A. Riyasdeen, M. Dinesh, C. P. Paul, S. Srinag, H. Krishnamurthy, S. Arunachalam, and M. A. Akbarsha, *Arch.Pharm.*, **2011**, *344*, 422-430.
- [62] R. S. Kumar and S. Arunachalam, *Biophys.Chem.*, **2008**, *136*, 136-144.
- [63] R. S. Kumar, S. Arunachalam, V. S. Periasamy, C. P. Preethy, A. Riyasdeen, and M. A. Akbarsha, *J.Inorg.Biochem.*, **2009**, *103*, 117-127.

- [64] C. Mu and C. J. Walsby, in *Ligand Design in Medicinal Inorganic Chemistry*, ed. T. Storr, Wiley, **2014**, Chapter 15.
- [65] A. Bergamo and G. Sava, *Dalton Trans.*, **2011**, *40*, 7817-7823.
- [66] A. W. Han and P. J. Dyson, *Eur.J.Inorg.Chem.*, **2006**, 4003-4018.
- [67] A. Levina, A. Mitra, and P. A. Lay, *Metallomics*, **2009**, *1*, 458-470.
- [68] M. J. Clarke, S. Bitler, D. Rennert, M. Buchbinder, and A. D. Kelman, *J.Inorg.Biochem.*, **1980**, *12*, 79-87.
- [69] C. G. Hartinger, M. A. Jakupec, S. Zorbas-Seifried, M. Groessl, A. Egger, W. Berger, H. Zorbas, P. J. Dyson, and B. K. Keppler, *Chem.Biodivers.*, **2008**, *5*, 2140-2155.
- [70] R. A. Adigun, B. Martincigh, O. Nyamori, B. Omondi, C. Masimirembwa, and R. H. Simoyi, *Dalton Trans.*, **2014**, *43*, 12943-12951.
- [71] R. Trondl, P. Heffeter, C. R. Kowol, M. A. Jakupec, W. Berger, and B. K. Keppler, *Chem.Sci.*, **2014**, *5*, 2925-2932.
- [72] T. V. Harris, R. K. Szilagy, and K. L. McFarlane Holman, *J.Biol.Inorg.Chem.*, **2009**, *14*, 891-898.
- [73] D. Frasca, J. Ciampa, J. Emerson, R. S. Umans, and M. J. Clarke, *Met Based Drugs*, **1996**, *3*, 197-209.
- [74] V. Pierroz, T. Joshi, A. Leonidova, C. Mari, J. Schur, I. Ott, L. Spiccia, S. Ferrari, and G. Gasser, *J.Am.Chem.Soc.*, **2012**, *134*, 20376-20387.
- [75] B. Li, L. Tan, and X. Q. Zou, *J.Iran.Chem.Soc.*, **2012**, *9*, 357-366.
- [76] A. Li, Je. K. White, K. Arora, M. K. Herroon, P. D. Martin, H. B. Schlegel, I. Podgorski, C. Turro, and J. J. Kodanko, *Inorg.Chem.*, **2016**, *55*, 10-12.
- [77] T. R. DeBoer-Maggard and P. K. Mascharak, in *Ligand Design in Medicinal Inorganic Chemistry*, ed. T. Storr, Wiley, **2014**, Chapter 13.
- [78] R. N. Garner, L. E. Joyce, and C. Turro, *Inorg.Chem.*, **2011**, *50*, 4384-4391.
- [79] Y. Zhang, Q. Zhou, Y. Zheng, K. Li, G. Jiang, Y. Hou, B. Zhang, and X. Wang, *Inorg.Chem.*, **2016**, *55*, 4296-4300.
- [80] Y. Sun, L. E. Joyce, N. M. Dickson, and C. Turro, *Chem.Commun.*, **2010**, *46*, 2426-2428.
- [81] I. Rapaport, L. Helm, A. E. Merbach, P. Bernhard, and A. Ludi, *Inorg.Chem.*, **1988**, *27*, 873
- [82] M. Stebler-Roethlisberger, W. Hummel, P. A. Pittet, H. B. Buergi, A. Ludi, and A. E. Merbach, *Inorg.Chem.*, **1988**, *27*, 1358-1363.
- [83] M. Albrecht, G. Rodríguez, J. Schoenmaker, and G. van Koten, *Org.Lett.*, **2000**, *2*, 3461-3464.

- [84] E. Wexselblatt, E. Yavin, and D. Gibson, *Angew.Chem., Int.Ed.*, **2013**, *52*, 6059-6062.
- [85] N. Busto, M. Martínez-Alonso, J. M. Leal, A. M. Rodríguez, F. Domínguez, M. I. Acuña, G. Espino, and B. García, *Organometallics*, **2014**, *34*, 319-327.
- [86] N. de Barrios, G. González, A. Grandas, M. Martínez, and V. Moreno, *Inorg.React.Mech.*, **1999**, *1*, 205-218.
- [87] J. M. Hope, J. J. Wilson, and S. J. Lippard, *Dalton Trans.*, **2013**, *42*, 3176-3180.
- [88] M. Groessl, E. Reisner, C. G. Hartinger, R. Eichinger, O. Semenova, A. R. Timerbaev, M. A. Jakupec, V. B. Arion, and B. K. Keppler, *J.Med.Chem.*, **2007**, *50*, 2185-2193.
- [89] Z. D. Bugarcic, J. Bogojeski, B. Petrovic, S. Hochreuther, and R. van Eldik, *Dalton Trans.*, **2012**, *41*, 12329-12345.
- [90] M. G. Mendoza-Ferri, C. G. Hartinger, A. A. Nazarov, R. E. Eichinger, M. A. Jakupec, K. Severin, and B. K. Keppler, *Organometallics*, **2009**, *28*, 6260-6265.
- [91] N. Besker, C. Coletti, A. Marrone, and N. Re, *J.Phys.Chem.B*, **2007**, *111*, 9955-9964.
- [92] M.-H. Baik, R. A. Friesnes, and S. J. Lippard, *J.Am.Chem.Soc.*, **2003**, *125*, 14082-14092.
- [93] G. L. Lu, R. J. Stevenson, J. Y. Chang, P. J. Brothers, D. C. Ware, W. R. Wilson, W. A. Denny, and M. Tercel, *Bioorg.Med.Chem.*, **2011**, *19*, 4861-4867.
- [94] S. Komeda, H. Yamane, M. Chikuma, and J. Reedijk, *Eur.J.Inorg.Chem.*, **2005**, 4828-4835.
- [95] K. Gómez, G. González, M. Martínez, C. Mendoza, and B. Sienra, *Polyhedron*, **2006**, *25*, 3509-3518.
- [96] A. Bakac, *Physical Inorganic Chemistry; Reactions, Processes and Applications*, Wiley, **2010**.
- [97] A. G. Lappin, *Redox Mechanisms in Inorganic Chemistry*, Ellis Horwood, **1994**.
- [98] A. Bakac, *Physical Inorganic Chemistry; Principles, Methods and Models*, Wiley, **2010**.
- [99] Y. Ducommun and A. E. Merbach, in *Inorganic High Pressure Chemistry*, ed. R. van Eldik, Elsevier, **1986**, pp. 69-114.
- [100] M. L. Tobe, *Inorganic Reaction Mechanisms*, Nelson, **1977**.
- [101] J. D. Atwood, *Inorganic and Organometallic Reaction Mechanisms*, VCH, **1997**.
- [102] J. Ribas, *Coordination Chemistry*, Wiley-VCH, **2008**.
- [103] J. Burgess, *Ions in Solution*, Albion/Horwood, **1999**.
- [104] A. J. Miralles, R. E. Armstrong, and A. Haim, *J.Am.Chem.Soc.*, **1977**, *99*, 1416-1420.
- [105] M. Eigen, *Z.Elek.*, **1960**, *64*, 115

- [106] R. M. Fuoss, *J. Am. Chem. Soc.*, **1958**, *80*, 5059-5061.
- [107] G. González, M. Martínez, and E. Rodríguez, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2000**, 1333-1338.
- [108] M. Martínez, M. A. Pitarque, and R. van Eldik, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1996**, 2665-2671.
- [109] M. Martínez, M. A. Pitarque, and R. van Eldik, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1994**, 3159-3163.
- [110] M. L. Tobe, in *Advances in Inorganic and Bioinorganic Mechanisms, Vol. 2*, ed. A. G. Sykes, Academic Press, **1983**, pp. 1-95.
- [111] B. F. E. Curchod and F. P. Rotzinger, *Inorg. Chem.*, **2011**, *50*, 8728-8740.
- [112] D. De Vito, H. Sidorenkova, F. P. Rotzinger, J. Weber, and A. E. Merbach, *Inorg. Chem.*, **2000**, *39*, 5547-5552.
- [113] J. H. Espenson, *Chemical Kinetics and Reaction Mechanisms*, McGraw-Hill, **1981**.
- [114] R. A. Binstead, A. D. Zuberbuhler, and B. Jung. SPECFIT32, 3.0.34. **2005**. Marlborough, MA, USA, Spectrum Software Associates.
- [115] M. Maeder and P. King. ReactLab. **2009**. East Fremantle, WA. Australia, Jplus Consulting Pty Ltd.
- [116] S. Arrhenius, *Z. Phys. Chem.*, **1889**, *4*, 226
- [117] K. A. Connors, *Chemical Kinetics; The Study of Reaction Rates in Solution*, VCH, **1990**.
- [118] S. Glasstone, K. J. Laidler, and H. Eyring, *The Theory of Rate Processes*, McGraw-Hill, **1941**.
- [119] K. J. Laidler, *Chemical Kinetics*, Harper Collins, **1987**.
- [120] T. W. Swaddle, in *Advances in Inorganic and Bioinorganic Mechanisms, Vol. 2*, ed. A. G. Sykes, Academic Press, **1983**, pp. 95-139.
- [121] G. González, M. Martínez, and E. Rodríguez, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1995**, 891-892.
- [122] M. Crespo, M. Martínez, and E. de Pablo, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1997**, 1231-1235.
- [123] C. Gallego, G. González, M. Martínez, and A. E. Merbach, *Organometallics*, **2004**, *23*, 2434-2438.
- [124] R. van Eldik, in *Inorganic High Pressure Chemistry*, ed. R. van Eldik, Elsevier, **1986**.
- [125] R. van Eldik, *Pure & Appl. Chem.*, **1992**, *64*, 1439
- [126] R. van Eldik and A. E. Merbach, *Comments Inorg. Chem.*, **1992**, *12*, 341-378.
- [127] H. G. Visser, W. Purcell, and S. S. Basson, *Trans. Met. Chem.*, **2003**, *28*, 235-240.

- [128] A. J. Clarkson, D. A. Buckingham, A. G. Blackman, and C. R. Clark, *Inorg.Chem.*, **2000**, *39*, 4769-4775.
- [129] A. J. Clarkson, A. G. Blackman, and C. R. Clark, *J.Chem.Soc., Dalton Trans.*, **2001**, 758-765.
- [130] S. E. Castillo-Blum and M. E. Sosa-Torres, *Polyhedron*, **1995**, *14*, 223-229.
- [131] S. S. Massoud, R. R. Jeanbatiste, T. M. Nguyen, F. R. Louka, and A. A. Gallo, *J.Coord.Chem.*, **2007**, *60*, 2409-2419.
- [132] J. Cho, R. Sarangi, H. Y. Kang, J. Y. Lee, M. Kubo, T. Ogura, E. I. Solomon, and W. Nam, *J.Am.Chem.Soc.*, **2010**, *132*, 16977-16986.
- [133] N. E. Dixon, M. J. Lancaster, G. A. Lawrance, and A. M. Sargeson, *Inorg.Chem.*, **1981**, *20*, 470-476.
- [134] N. E. Brasch, D. A. Buckingham, C. R. Clark, and A. Rogers, *Inorg.Chem.*, **1998**, *37*, 4865-4871.
- [135] G. Brauer, *Handbook of Preparative Inorganic Chemistry*, Academic Press, **1965**, vol. 2, pp. 1541.
- [136] J. Cin, M. Banaszczyk, V. Jubian, and X. Zou, *J.Am.Chem.Soc.*, **1989**, *111*, 186-190.
- [137] A. A. El-Awady and G. M. Harris, *Inorg.Chem.*, **1981**, *20*, 1660-1666.
- [138] D. A. Buckingham, C. R. Clark, A. J. Rogers, and J. Simpson, *Inorg.Chem.*, **1998**, *37*, 3497-3504.
- [139] T. W. Swaddle, *Can.J.Chem.*, **1977**, *55*, 3166
- [140] N. Curtis and G. A. Lawrance, *J.Chem.Soc., Dalton Trans.*, **1985**, 1923-1927.
- [141] Y. Dupre, E. Bartscherer, J. Sander, V. Huch, and K. Hegetschweiler, *Z.Kristallogr.-New Cryst.Struct.*, **1999**, *214*, 407-409.
- [142] K. Queiroz Ferreira, F. G. Doro, and E. Tfouni, *Inorg.Chim.Acta*, **2003**, *355*, 205-212.
- [143] E. Tfouni, K. Queiroz Ferreira, F. Gorzoni Doro, R. Santana da Silva, and Z. Novais de Rocha, *Coord.Chem.Rev.*, **2005**, *249*, 405-418.
- [144] K. Q. Ferreira, L. N. Cardoso, S. Nikolau, Z. N. da Rocha, R. S. da Silva, and E. Tfouni, *Inorg.Chem.*, **2005**, *44*, 5544-5546.
- [145] K. Queiroz Ferreira, A. M. Lucchesi, Z. Novais de Rocha, and R. Santana de Silva, *Inorg.Chim.Acta*, **2002**, *328*, 147-151.
- [146] B. Radaram, J. A. Ivie, W. M. Singh, R. M. Grudzien, J. H. Reibenspies, C. E. Webster, and X. Zhao, *Inorg.Chem.*, **2011**, *50*, 10564-10571.
- [147] J. G. Liu, B. H. Ye, H. Li, L. N. Ji, R. H. Li, and J. Y. Zhou, *J.Inorg.Biochem.*, **1999**, *73*, 117-122.

- [148] Y. Hirai, T. Kojima, Y. Mizutani, Y. Shiota, K. Yoshizawa, and S. Fukuzumi, *Angew.Chem., Int.Ed.*, **2008**, *47*, 5772-5776.
- [149] L. Salassa, C. Garino, G. Salassa, R. Gobetto, and C. Nervi, *J.Am.Chem.Soc.*, **2008**, *130*, 9590-9597.
- [150] J. C. Dobson and T. J. Meyer, *Inorg.Chem.*, **1988**, *27*, 3283-3291.
- [151] M. G. Basallote, J. Duran, M. J. Fernandez-Trujillo, M. A. Máñez, and B. Szpoganicz, *J.Chem.Soc., Dalton Trans.*, **1999**, 1093-1100.
- [152] W. G. Jackson, *Aust.J.Chem.*, **2009**, *62*, 1308-1317.
- [153] M. A. Thacker and W. C. E. Higginson, *J.Chem.Soc., Dalton Trans.*, **1975**, 704-711.
- [154] T. J. Hubin, P. N. A. Amoyaw, K. D. Roewe, N. C. Simpson, R. D. Maples, T. N. Carder Freeman, A. N. Cain, J. G. Le, S. J. Archibald, S. I. Khan, B. L. Tekwani, and M. O. F. Khan, *Bioorg.Med.Chem.*, **2014**, *22*, 3239-3244.
- [155] F. von Seel and G. Bohnstedt, *Z.Anorg.Allg.Chem.*, **1977**, *435*, 257-267.
- [156] P. A. Levene and H. S. Simms, *J.Biol.Chem.*, **1925**, *65*, 519-534.
- [157] R. L. Fanshawe, A. G. Blackman, and C. R. Clark, *Inorg.Chim.Acta*, **2003**, *342*, 114-124.
- [158] R. van Eldik, T. Asano, and W. J. Le Noble, *Chem.Rev.*, **1989**, *89*, 549-688.
- [159] P. V. Bernhardt, C. Gallego, M. Martínez, and T. Parella, *Inorg.Chem.*, **2002**, *41*, 1747-1754.
- [160] A. G. Algarra, G. Aullón, P. V. Bernhard, and M. Martínez, *Inorg.Chem.*, **2014**, *53*, 512-521.
- [161] S. Aoki and E. Kimura, *J.Am.Chem.Soc.*, **2000**, *122*, 4542-4548.
- [162] G. P. Haight, *Coord.Chem.Rev.*, **1987**, *79*, 293-319.
- [163] D. R. Jones, L. F. Lindoy, and A. M. Sargeson, *J.Am.Chem.Soc.*, **1983**, *105*, 7327-7336.
- [164] J. Chin and X. Zou, *J.Am.Chem.Soc.*, **1988**, *110*, 223-225.
- [165] J. Q. Wang, Z. Z. Zhao, H. B. Bo, and Q. Z. Chen, *J.Coord.Chem.*, **2016**, *69*, 177-189.
- [166] H. Huang, P. Zhang, H. Chen, L. Ji, and H. Chao, *Chem.Eur.J.*, **2015**, *21*, 715-725.
- [167] Y. Liu, R. Hammitt, D. A. Lutterman, L. E. Joyce, R. P. Hummel, and C. Turro, *Inorg.Chem.*, **2009**, *48*, 375-385.
- [168] J. A. Rodriguez-Corrales, L. E. Donohoe, B. S. J. Winkel, and K. J. Brewer, *Chem.Commun.*, **2016**, *52*, 2705-2708.
- [169] A. Ashraf, M. Kubanik, F. Aman, H. Holtkamp, T. Söhnel, S. M. F. Jamieson, M. Hanif, W. A. Siddiqui, and C. G. Hartinger, *Eur.J.Inorg.Chem.*, **2016**, *2016*, 1376-1382.

- [170] V. Brabec and O. Novakova, *Drug Resist.Updat.*, **2006**, *9*, 111-122.
- [171] B. P. Sullivan, D. J. Salmon, and T. J. Meyer, *Inorg.Chem.*, **1978**, *17*, 3334-3341.
- [172] X. Sala, I. Romero, I. Rodríguez, A. Llobet, G. González, M. Martínez, and J. Benet-Buchholz, *Inorg.Chem.*, **2004**, *43*, 5403-5409.
- [173] L. M. Loftus, J. K. White, B. A. Albani, L. Kohler, J. J. Kodanko, R. P. Thummel, K. R. Dunbar, and C. Turro, *Chem.Eur.J.*, **2016**, *22*, 3704-3708.
- [174] C. V. Krishnan, C. Creutz, H. A. Schwarz, and N. Sutin, *J.Am.Chem.Soc.*, **1983**, *105*, 5617-5623.
- [175] A. E. Egger, C. G. Hartinger, A. K. Renfrew, and P. J. Dyson, *J.Biol.Inorg.Chem.*, **2010**, *15*, 919-927.
- [176] I. F. Tannock and D. Rotin, *Cancer Res.*, **1989**, *49*, 4373-4384.
- [177] E. H. Wong, G. R. Weisman, D. C. Hill, D. P. Reed, M. E. Rogers, J. S. Condon, M. A. Fagan, J. C. Calabrese, K. C. Lam, I. A. Guzei, and A. L. Rheingold, *J.Am.Chem.Soc.*, **2000**, *122*, 10561-10572.
- [178] W. Niu, E. H. Wong, G. R. Weisman, D. C. Hill, D. J. Tranchemontagne, K. C. Lam, R. D. Sommer, L. N. Zakharov, and A. L. Rheingold, *Dalton Trans.*, **2004**, 3536-3547.
- [179] J. B. Mandel, C. Maricondi, and B. E. Douglas, *Inorg.Chem.*, **1988**, *27*, 2990-2996.
- [180] E. Kimura, S. Young, and J. P. Collman, *Inorg.Chem.*, **1970**, *9*, 1183-1191.
- [181] J. P. Collman and P. W. Schneider, *Inorg.Chem.*, **1966**, *5*, 1380-1384.
- [182] C. N. Elgy and C. F. Wells, *J.Chem.Soc., Dalton Trans.*, **1980**, *12*, 2405
- [183] H. F. Bauer and W. C. Drinkard, *J.Am.Chem.Soc.*, **1960**, *82*, 5031-5032.
- [184] T. Kojima, T. Amano, Y. Ishii, M. Ohba, Y. Okaue, and Y. Matsuda, *Inorg.Chem.*, **1998**, *37*, 4076-4085.
- [185] H. H. Perkampus, *UV-Vis Spectroscopy and its Applications*, Springer, **1992**.
- [186] E. A. V. Ebsworth, D. W. H. Rankin, and S. Cradock, *Structural Methods in Inorganic Chemistry*, Blackwell Scientific, **1991**.
- [187] H. Friebolin, *Basic One- and Two-Dimensional NMR Spectroscopy*, Wiley-VCH, **2005**.
- [188] W. Conway, D. Fernandes, C. Rodríguez, R. Burns, M. Martínez, and M. Maeder, *Aust.J.Chem.*, **2016**, *69*, 262-266.
- [189] A. de Juan, M. Maeder, M. Martínez, and R. Tauler, *Chemom.Intell.Lab.Syst.*, **2000**, *54*, 123-141.
- [190] X. Wang, W. Conway, R. Burns, N. McCann, and M. Maeder, *J.Phys.Chem.A*, **2010**, *114*, 1734-1740.



- [191] A. de Juan, M. Maeder, M. Martínez, and R. Tauler, *Anal.Chim.Acta*, **2001**, *442*, 337-350.
- [192] X. Wang, W. Conway, R. Burns, N. McCann, and M. Maeder, *J.Phys.Chem.A*, **2009**, *114*, 1734-1740.
- [193] M. Maeder and Y. M. Neuhold, *Practical Data Analysis in Chemistry*, Elsevier, **2007**.
- [194] M. Ferrer, M. Martínez, and M. A. Pitarque, *J.Chem.Soc., Dalton Trans.*, **1990**, 1629-1633.
- [195] R. van Eldik, W. Gaede, S. Wieland, J. Kraft, M. Spitzer, and D. A. Palmer, *Rev.Sci.Instru.*, **1993**, *64*, 1355-1357.
- [196] TIDASDAQ 2.20. **2006**. J & M Analytische Mess und Regeltechnik.
- [197] A. Drljaca, C. D. Hubbard, R. van Eldik, T. Asano, M. V. Basilevsky, and W. J. Le Noble, *Chem.Rev.*, **1998**, *98*, 2167-2289.
- [198] F. K. Fleischmann and H. Kelm, *Tetrahedron Lett.*, **1973**, *14*, 3773-3776.
- [199] S. D. Hamann, *Rev.Phys.Chem.Jpn.*, **1980**, *50*, 147-168.
- [200] Tiamo. [2.3], **2011**. Switzerland, Metrohm AG.
- [201] G. M. Sheldrick, *Acta Cryst.*, **2008**, *A64*, 112-122.

# APÉNDICE A

## *CONSTANTES CINÉTICAS*



**Tabla A.1.** Valores de las constantes cinéticas observadas para las reacciones de dimerización de la especie  $[\text{Co}(\text{tren})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  en función de las diferentes variables utilizadas en el trabajo. Cálculo realizado mediante el modelo matemático:  $2 \times \text{A} \rightarrow \text{B}$  seguido de  $\text{B} \rightarrow \text{C}$ .

| Ligando         | Tampón     | pH  | $T$<br>/°C | $P$<br>/atm | $[\text{Co}] \times 10^3$<br>/M | $k_1$<br>/M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> | $k_2 \times 10^3$<br>/s <sup>-1</sup> |     |     |      |
|-----------------|------------|-----|------------|-------------|---------------------------------|---|---------------------------------------|-----|-----|------|
| OH <sup>-</sup> | 0.4 M MES  | 6.0 | 15         | 1           | 2                               | 0.018                                     | 0.20                                  |     |     |      |
|                 |            |     | 25         | 1           | 2                               | 0.31                                      | 0.32                                  |     |     |      |
|                 |            |     | 35         | 1           | 2                               | 0.65                                      | 0.40                                  |     |     |      |
|                 |            | 6.5 | 15         | 1           | 2                               | 0.58                                      | 1.2                                   |     |     |      |
|                 |            |     | 25         | 1           | 2                               | 1.1                                       | 2.9                                   |     |     |      |
|                 |            |     | 35         | 1           | 2                               | 2.3                                       | 7.1                                   |     |     |      |
|                 | 7.0        |     |            | 15          | 1                               | 2   | 2.4                                   | 3.8 |     |      |
|                 |            |     |            | 25          | 1                               | 0.5                                       | 4.4                                   | 4.8 |     |      |
|                 |            |     |            |             |                                 |   | 1                                     | 5.4 | 5.6 |      |
|                 |            |     |            |             |                                 |   | 2                                     | 4.6 | 8.7 |      |
|                 |            |     |            |             |                                 |   | 4                                     | 4.5 | 4.6 |      |
|                 | 0.4 M TRIS |     |            |             |                                 | 5   | 5.2                                   | 7.6 |     |      |
|                 |            |     |            |             |                                 | 35  | 1                                     | 2   | 12  | 10.7 |
|                 |            |     |            |             |                                 | 15  | 1                                     | 2   | 14  | 2.8  |
| 25              |            |     |            |             |                                 | 1   | 2                                     | 17  | 7.9 |      |
| 35              |            |     |            |             |                                 | 1   | 2                                     | 18  | 8.4 |      |

**Tabla A.2.** Valores de las constantes cinéticas observadas para las reacciones de dimerización de la especie  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  en función de las diferentes variables utilizadas en el trabajo. Cálculo realizado mediante el modelo matemático:  $2 \times \text{A} \rightarrow \text{B}$  seguido de  $\text{B} \rightarrow \text{C}$ .

| Ligando         | Tampón      | pH  | $T$<br>/°C | $P$<br>/atm | $[\text{Co}] \times 10^3$<br>/M | $k_1$<br>/M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> | $k_2 \times 10^3$<br>/s <sup>-1</sup> |
|-----------------|-------------|-----|------------|-------------|---------------------------------|---|---------------------------------------|
| OH <sup>-</sup> | 0.4 M MES   | 6.0 | 25         | 1           | 0.5                             | 0.088                                     | 1.5                                   |
|                 |             |     |            |             | 1                               | 0.090                                     | 2.2                                   |
|                 | 0.4 M HEPES | 6.5 | 25         | 1           | 0.5                             | 0.13                                      | 1.0                                   |
|                 |             |     |            |             | 1                               | 0.13                                      | 1.4                                   |
|                 |             | 7.0 | 25         | 1           | 0.5                             | 0.085                                     | 0.82                                  |
|                 |             |     |            |             | 1                               | 0.090                                     | 0.87                                  |
|                 |             | 7.5 | 25         | 1           | 0.5                             | 0.052                                     | 0.72                                  |
|                 |             |     |            |             | 1                               | 0.053                                     | 0.74                                  |

## CONSTANTES CINÉTICAS

**Tabla A.3.** Valores de las constantes cinéticas observadas para las reacciones de sustitución de la especie  $cis\text{-[Co(cyclen)(H}_2\text{O)}_2]^{3+}$  con los ligandos estudiados en función de las diferentes variables utilizadas en el trabajo.

| Ligando              | Tampón      | pH  | T /°C | P /atm | [Co]×10 <sup>3</sup> /M | [Ligando] /M | k <sub>obs1</sub> /s <sup>-1</sup> | k <sub>obs2</sub> ×10 <sup>2</sup> /s <sup>-1</sup> |              |
|----------------------|-------------|-----|-------|--------|-------------------------|--------------|------------------------------------|---|--------------|
| OH <sup>-</sup>      | 0.4 M MES   | 6.0 | 50    | 1      | 1.0                     | --           | --                                 | 5.3×10 <sup>-3</sup>                                |              |
|                      | 0.4 M HEPES | 6.5 | 50    | 1      | 1.0                     | --           | --                                 | 6.3×10 <sup>-3</sup>                                |              |
|                      |             | 7.0 | 25    | 1      | 0.25                    | --           | 12 <sup>a</sup>                    | <sup>b</sup>  |              |
|                      |             |     |       |        |                         | 0.5          | --                                 | 12 <sup>a</sup>                                     | <sup>b</sup> |
|                      |             |     |       |        |                         | 1.0          | --                                 | 13 <sup>a</sup>                                     | <sup>b</sup> |
|                      |             |     | 50    | 1      | 1.0                     | --           | --                                 | 8.2×10 <sup>-3</sup>                                |              |
|                      |             | 7.5 | 50    | 1      | 1.0                     | --           | --                                 | 9.2×10 <sup>-3</sup>                                |              |
| 5'-CMP <sup>2-</sup> | 0.4 M HEPES | 6.5 | 15    | 1      | 1.0                     | 0.08         | 0.092                              | 1.4   |              |
|                      |             |     | 20    |        | 1.0                     | 0.08         | 0.14                               | 2.1   |              |
|                      |             |     | 25    |        | 1.0                     | 0.02         | 0.14                               | 2.7   |              |
|                      |             |     |       |        |                         | 0.03         | 0.19                               | 2.8   |              |
|                      |             |     |       |        |                         | 0.04         | 0.21                               | 2.8   |              |
|                      |             |     |       |        |                         | 0.06         | 0.23                               | 2.9   |              |
|                      |             |     |       |        |                         | 0.08         | 0.22                               | 2.9   |              |
|                      |             |     |       |        |                         | 0.1          | 0.24                               | 2.9   |              |
|                      |             |     |       | 35     |                         | 1.0          | 0.08                               | 0.50  | 6.4          |
|                      |             |     | 7.0   | 15     | 1                       | 1.0          | 0.04                               | 0.12  | 1.9          |
|                      |             |     |       |        |                         |              | 0.08                               | 0.11  | 2.0          |
|                      |             |     |       | 20     |                         | 1.0          | 0.04                               | 0.16  | 2.4          |
|                      |             |     |       |        |                         |              | 0.08                               | 0.17  | 2.7          |
|                      |             |     |       | 25     |                         | 1.0          | 0.02                               | 0.15  | 3.5          |
|                      |             |     |       |        |                         |              | 0.03                               | 0.22  | 3.5          |
|                      |             |     |       |        |                         |              | 0.04                               | 0.25  | 3.6          |
|                      |             |     |       |        |                         |              | 0.06                               | 0.27  | 3.6          |
|                      |             |     |       |        |                         |              | 0.08                               | 0.29  | 3.7          |
|                      |             |     |       |        |                         | 300          | 0.08                               | 0.25  | <sup>b</sup> |
|                      |             |     |       |        |                         |              |                                    | 0.22  | <sup>b</sup> |
|                      |             |     |       | 400    |                         | 0.24         | <sup>b</sup>                       |   |              |
|                      |             |     |       |        |                         | 0.23         | <sup>b</sup>                       |   |              |
|                      |             |     |       | 600    |                         | 0.27         | <sup>b</sup>                       |   |              |
|                      |             |     |       | 750    |                         | 0.27         | <sup>b</sup>                       |   |              |
|                      |             |     |       |        |                         | 0.24         | <sup>b</sup>                       |   |              |
|                      |             |     |       | 900    |                         | 0.26         | <sup>b</sup>                       |   |              |

|   |             |     |    |   |      |       |              |              |
|---|-------------|-----|----|---|------|-------|--------------|--------------|
|   |             |     |    |   | 1200 |       | 0.24         | <sup>b</sup> |
|   |             |     |    |   |      | 0.1   | 0.30         | 3.8          |
|   |             |     | 35 |   | 1.0  | 0.04  | 0.51         | 9.5          |
|   |             |     |    |   |      | 0.08  | 0.56         | 9.5          |
|   |             | 7.5 | 15 | 1 | 1.0  | 0.08  | 0.14         | 2.6          |
|   |             |     | 20 |   | 1.0  | 0.08  | 0.22         | 4.1          |
|   |             |     | 25 |   | 1.0  | 0.02  | 0.19         | 5.4          |
|   |             |     |    |   |      | 0.03  | 0.26         | 5.6          |
|   |             |     |    |   |      | 0.04  | 0.30         | 5.8          |
|   |             |     |    |   |      | 0.06  | 0.33         | 5.9          |
|   |             |     |    |   |      | 0.08  | 0.34         | 6.0          |
|   |             |     | 35 |   | 1.0  | 0.08  | 0.82         | 20           |
| H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> /HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | 0.4 M HEPES | 6.5 | 25 | 1 | 0.5  | 0.01  | <sup>b</sup> | 0.093        |
|   |             | 7.0 | 25 | 1 | 0.25 | 0.004 | 0.052        | <sup>b</sup> |
|   |             |     |    |   | 0.25 | 0.006 | 0.070        | <sup>b</sup> |
|   |             |     |    |   | 0.5  | 0.01  | 0.083        | 0.103        |
|   |             |     |    |   | 0.25 | 0.015 | 0.10         | <sup>b</sup> |
|   |             |     |    |   | 0.5  | 0.015 | 0.10         | <sup>b</sup> |
|   |             |     |    |   | 0.5  | 0.02  | 0.11         | 0.10         |
|   |             |     |    |   | 0.5  | 0.025 | 0.11         | <sup>b</sup> |
|   |             | 7.5 | 25 | 1 | 0.5  | 0.01  | <sup>b</sup> | 0.13         |

<sup>a</sup> Derivado del modelo  $2 \times A \rightarrow B$ , en  $M^{-1}s^{-1}$ . <sup>b</sup> No determinado.

**Tabla A.4.** Valores de las constantes cinéticas observadas para las reacciones de sustitución de la especie  $[Co\{\mu\text{-ET}(\text{cyclen})\}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$  con los ligandos estudiados en función de las diferentes variables utilizadas en el trabajo.

| Ligando   | Tampón      | pH  | T /°C | P /atm | [Co]×10 <sup>3</sup> /M | [Ligando] /M | k <sub>obs1</sub> ×10 <sup>4</sup> /s <sup>-1</sup> | k <sub>obs2</sub> ×10 <sup>4</sup> /s <sup>-1</sup> |
|---|-------------|-----|-------|--------|-------------------------|--------------|---|---|
| OH <sup>-</sup>   | 0.4 M MES   | 6.0 | 15    | 1      | 1.0                     | --           | 1.5×10 <sup>4a</sup>                                | 33  |
|   | 0.4 M HEPES | 6.5 | 15    | 1      | 0.5                     | --           | 2.7×10 <sup>4a</sup>                                | 28  |
|   |             |     |       |        | 1.0                     | --           | 2.4×10 <sup>4a</sup>                                | 23  |
|   |             |     |       |        | 1.5                     | --           | 1.5×10 <sup>4a</sup>                                | 28  |
|   |             |     |       |        | 2.0                     | --           | 1.6×10 <sup>4a</sup>                                | 29  |
|   |             | 7.0 | 15    | 1      | 1.0                     | --           | 0.7×10 <sup>4a</sup>                                | 25  |
|   |             | 7.5 | 15    | 1      | 1.0                     | --           | 1.3×10 <sup>4a</sup>                                | 7.0   |
|   |             | 8.0 | 15    | 1      | 1.0                     | --           | 1.0×10 <sup>4a</sup>                                | 9.0   |
| H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> /HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | 0.4 M MES   | 6.0 | 40    | 1      | 0.5                     | 0.005        | 1.4   | --  |

CONSTANTES CINÉTICAS

|                                     |             |     |    |   |     |        |     |      |
|-------------------------------------|-------------|-----|----|---|-----|--------|-----|------|
|                                     |             |     |    |   |     | 0.0075 | 1.8 | --   |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.01   | 2.1 | --   |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.015  | 2.7 | 3.2  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.02   | 2.8 | 3.0  |
|                                     | 0.4 M HEPES | 6.5 | 40 | 1 | 0.5 | 0.005  | 1.5 | 3.9  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.0075 | 2.1 | 4.3  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.01   | 2.4 | --   |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.015  | 2.8 | 3.8  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.02   | 3.0 | 3.8  |
|                                     |             | 7.0 | 40 | 1 | 0.5 | 0.005  | 2.3 | 3.2  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.0075 | 3.0 | 3.2  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.01   | 3.3 | 4.5  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.015  | 3.7 | 3.8  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.02   | 4.0 | 4.3  |
| CMP <sup>-</sup> /CMP <sup>2-</sup> | 0.4 M MES   | 6.0 | 40 | 1 | 0.5 | 0.03   | 4.1 | 1.1  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.05   | 4.8 | 1.3  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.07   | 5.0 | 1.4  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.08   | 6.5 | 1.6  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.1    | 8.0 | 1.8  |
|                                     | 0.4 M HEPES | 6.5 | 30 | 1 | 0.5 | 0.05   | 2.7 | 0.57 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.08   | 3.3 | 0.68 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.1    | 3.5 | 0.85 |
|                                     |             |     | 40 | 1 | 0.5 | 0.03   | 7.2 | 2.1  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.05   | 8.5 | 2.4  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.07   | 10  | 2.5  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.08   | 11  | 2.9  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.1    | 13  | 2.8  |
|                                     |             |     | 50 | 1 | 0.5 | 0.05   | 28  | 8.5  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.08   | 37  | 9.7  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.1    | 42  | 10   |
|                                     |             | 7.0 | 40 | 1 | 0.5 | 0.03   | 12  | 2.9  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.05   | 14  | 3.3  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.07   | 16  | 3.6  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.08   | 17  | 3.7  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.1    | 18  | 4.0  |
| Timidina                            | 0.4 M MES   | 6.0 | 40 | 1 | 0.5 | 0.01   | 17  | 0.48 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.02   | 32  | 0.65 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.04   | 38  | 1.2  |

|                                     |             |     |    |      |     |      |     |      |
|-------------------------------------|-------------|-----|----|------|-----|------|-----|------|
|                                     |             |     |    |      |     | 0.06 | 40  | 1.9  |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.08 | 43  | 2.2  |
|                                     | 0.4 M HEPES | 6.5 | 30 | 1    | 0.5 | 0.04 | 9.0 | 0.45 |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.06 | 11  | 0.62 |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.08 | 12  | 0.78 |
|                                     |             |     |    | 400  | 0.5 | 0.08 | 13  | 0.76 |
|                                     |             |     |    | 600  | 0.5 | 0.08 | 14  | 0.75 |
|                                     |             |     |    | 900  | 0.5 | 0.08 | 16  | 0.77 |
|                                     |             |     |    | 1200 | 0.5 | 0.08 | 18  | 0.71 |
|                                     |             |     |    | 1500 | 0.5 | 0.08 | 18  | 0.60 |
|                                     |             |     |    | 1800 | 0.5 | 0.08 | 20  | 0.63 |
|                                     |             |     | 40 | 1    | 0.5 | 0.01 | 19  | 0.40 |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.02 | 38  | 0.73 |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.04 | 43  | 1.4  |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.06 | 42  | 2.1  |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.08 | 43  | 2.5  |
|                                     |             |     | 50 | 1    | 0.5 | 0.04 | 120 | 3.8  |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.06 | 120 | 5.5  |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.08 | 130 | 7.0  |
|                                     |             | 7.0 | 40 | 1    | 0.5 | 0.01 | 20  | 0.38 |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.02 | 31  | 0.77 |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.04 | 37  | 1.3  |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.06 | 43  | 2.2  |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.08 | 48  | 2.4  |
| TMP <sup>-</sup> /TMP <sup>2-</sup> | 0.4 M HEPES | 6.2 | 40 | 1    | 0.5 | 0.03 | 10  | 1.4  |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.05 | 20  | 2.0  |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.07 | 25  | 2.2  |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.08 | --  | 2.2  |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.1  | 22  | 2.2  |
|                                     |             | 6.5 | 27 | 400  | 0.5 | 0.1  | 12  | 0.54 |
|                                     |             |     |    | 600  | 0.5 | 0.1  | 13  | 0.57 |
|                                     |             |     |    | 900  | 0.5 | 0.1  | --  | 0.55 |
|                                     |             |     |    | 1000 | 0.5 | 0.1  | 16  | 0.58 |
|                                     |             |     |    | 1200 | 0.5 | 0.1  | 20  | 0.55 |
|                                     |             |     |    | 1500 | 0.5 | 0.1  | 23  | 0.55 |
|                                     |             |     | 30 | 1    | 0.5 | 0.1  | 13  | 0.63 |
|                                     |             |     | 40 | 1    | 0.5 | 0.03 | 10  | 1.8  |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.05 | 17  | 2.3  |



CONSTANTES CINÉTICAS

|          |             |     |    |   |     |       |     |      |
|----------|-------------|-----|----|---|-----|-------|-----|------|
|          |             |     |    |   |     | 0.07  | 23  | 2.7  |
|          |             |     |    |   |     | 0.08  | 23  | 2.5  |
|          |             |     |    |   |     | 0.1   | 22  | 2.7  |
|          |             |     | 50 | 1 | 0.5 | 0.1   | 40  | 8.8  |
|          |             | 6.8 | 40 | 1 | 0.5 | 0.03  | 13  | 2.0  |
|          |             |     |    |   |     | 0.05  | 20  | 2.8  |
|          |             |     |    |   |     | 0.07  | 26  | 3.0  |
|          |             |     |    |   |     | 0.08  | 23  | 3.0  |
|          |             |     |    |   |     | 0.1   | 25  | 3.2  |
|          |             | 7.0 | 40 | 1 | 0.5 | 0.03  | --  | 2.5  |
|          |             |     |    |   |     | 0.05  | 18  | 3.1  |
|          |             |     |    |   |     | 0.07  | 24  | 3.3  |
|          |             |     |    |   |     | 0.08  | 25  | 3.7  |
|          |             |     |    |   |     | 0.1   | 24  | 3.7  |
| Citidina | 0.4 M MES   | 6.0 | 40 | 1 | 0.5 | 0.01  | 3.7 | 0.37 |
|          |             |     |    |   |     | 0.02  | 5.3 | 0.67 |
|          |             |     |    |   |     | 0.04  | 7.5 | 0.97 |
|          |             |     |    |   |     | 0.06  | 9.8 | 1.2  |
|          |             |     |    |   |     | 0.08  | 12  | 1.6  |
|          | 0.4 M HEPES | 6.5 | 30 | 1 | 0.5 | 0.02  | 2.4 | 0.30 |
|          |             |     |    |   |     | 0.04  | 3.4 | 0.40 |
|          |             |     |    |   |     | 0.06  | 4.0 | 0.53 |
|          |             |     |    |   |     | 0.08  | 4.5 | --   |
|          |             |     | 40 | 1 | 0.5 | 0.01  | 5.8 | 0.47 |
|          |             |     |    |   |     | 0.02  | 7.5 | 0.85 |
|          |             |     |    |   |     | 0.04  | 9.7 | 1.4  |
|          |             |     |    |   |     | 0.06  | 12  | 1.8  |
|          |             |     |    |   |     | 0.08  | 16  | 2.2  |
|          |             |     | 50 | 1 | 0.5 | 0.02  | 37  | 4.5  |
|          |             |     |    |   |     | 0.04  | 43  | 6.2  |
|          |             |     |    |   |     | 0.06  | 53  | 7.5  |
|          |             |     |    |   |     | 0.08  | --  | 8.8  |
|          |             | 7.0 | 40 | 1 | 0.5 | 0.01  | 20  | 0.67 |
|          |             |     |    |   |     | 0.02  | 25  | 1.2  |
|          |             |     |    |   |     | 0.04  | 25  | 1.8  |
|          |             |     |    |   |     | 0.06  | 30  | 2.3  |
|          |             |     |    |   |     | 0.08  | 33  | 2.6  |
| Uridina  | 0.4 M HEPES | 6.5 | 40 | 1 | 0.5 | 0.007 | 13  | 0.53 |

|                                     |             |     |    |   |     |       |    |     |
|-------------------------------------|-------------|-----|----|---|-----|-------|----|-----|
|                                     |             |     |    |   |     | 0.013 | 25 | 1.3 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.027 | 44 | 2.2 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.04  | 47 | 3.5 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.053 | 52 | 4.6 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.06  | 53 | 4.8 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.08  | 57 | 6.2 |
| UMP <sup>-</sup> /UMP <sup>2-</sup> | 0.4 M HEPES | 6.5 | 40 | 1 | 0.5 | 0.02  | 10 | 1.9 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.033 | 12 | 2.6 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.047 | 17 | 2.8 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.053 | 21 | 2.9 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.07  | -- | 3.8 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.08  | 24 | 3.8 |

<sup>a</sup> Cálculo realizado mediante las ecuaciones  $2 \times A \rightarrow B$  (en  $M^{-1}s^{-1}$ ), seguido de  $B \rightarrow C$ .

**Tabla A.5.** Valores de las constantes cinéticas observadas para las reacciones de sustitución de la especie  $[Co\{(Me)_2(\mu-ET)cyclen\}(H_2O)_2\}]^{3+}$  con los ligandos estudiados en función de las diferentes variables utilizadas en el trabajo.

| Ligando                                     | Tampón      | pH  | T /°C | P /atm | [Co]×10 <sup>3</sup> /M | [Ligando] /M | k <sub>obs1</sub> ×10 <sup>4</sup> /s <sup>-1</sup> | k <sub>obs2</sub> ×10 <sup>5</sup> /s <sup>-1</sup> |
|---|-------------|-----|-------|--------|-------------------------|--------------|---|---|
| H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> | 0.4 M MES   | 5.5 | 50    | 1      | 0.5                     | 0.005        | 0.43  | --  |
|   |             |     |       |        |                         | 0.0075       | 0.70  | --  |
|   |             |     |       |        |                         | 0.01         | 0.80  | --  |
|   |             |     |       |        |                         | 0.015        | 1.4   | --  |
|   |             |     |       |        |                         | 0.02         | 1.9   | --  |
|   |             | 6.0 | 50    | 1      | 0.5                     | 0.005        | 0.33  | --  |
|   |             |     |       |        |                         | 0.0075       | 0.47  | --  |
|   |             |     |       |        |                         | 0.01         | 0.63  | --  |
|   |             |     |       |        |                         | 0.015        | 0.98  | --  |
|   |             |     |       |        |                         | 0.02         | 1.4   | --  |
|   | 0.4 M HEPES | 6.5 | 50    | 1      | 0.5                     | 0.005        | 0.25  | --  |
|   |             |     |       |        |                         | 0.0075       | 0.33  | --  |
|   |             |     |       |        |                         | 0.01         | 0.45  | --  |
|   |             |     |       |        |                         | 0.015        | 0.70  | --  |
|   |             |     |       |        |                         | 0.02         | 0.93  | --  |
|   |             |     | 60    | 1      | 0.5                     | 0.005        | 0.98  | --  |
|   |             |     |       |        |                         | 0.01         | 1.9   | --  |

CONSTANTES CINÉTICAS

|                                     |             |     |    |      |     |        |      |    |
|-------------------------------------|-------------|-----|----|------|-----|--------|------|----|
|                                     |             |     |    |      |     | 0.015  | 2.9  | -- |
|                                     |             |     |    | 300  | 0.5 | 0.015  | 2.5  | -- |
|                                     |             |     |    | 600  | 0.5 | 0.015  | 1.9  | -- |
|                                     |             |     |    | 900  | 0.5 | 0.015  | 1.4  | -- |
|                                     |             |     |    | 1200 | 0.5 | 0.015  | 1.1  | -- |
|                                     |             |     |    | 1400 | 0.5 | 0.015  | 1.0  | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.02   | 4.2  | -- |
|                                     |             |     | 70 | 1    | 0.5 | 0.005  | 3.9  | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.0075 | 5.9  | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.01   | 6.3  | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.015  | 9.9  | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.02   | 14   | -- |
|                                     |             | 6.8 | 50 | 1    | 0.5 | 0.005  | 0.17 | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.0075 | 0.32 | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.01   | 0.35 | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.015  | 0.55 | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.02   | 0.70 | -- |
| CMP <sup>-</sup> /CMP <sup>2-</sup> | 0.4 M MES   | 5.5 | 50 | 1    | 0.5 | 0.03   | 1.1  | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.05   | 1.7  | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.07   | 2.7  | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.08   | 3.3  | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.1    | 4.0  | -- |
|                                     |             | 6.0 | 50 | 1    | 0.5 | 0.03   | 0.96 | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.05   | 1.3  | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.07   | 1.7  | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.08   | 2.3  | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.1    | 2.8  | -- |
|                                     | 0.4 M HEPES | 6.5 | 50 | 1    | 0.5 | 0.03   | 0.32 | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.05   | 0.40 | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.07   | 0.65 | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.08   | 0.70 | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.1    | 1.0  | -- |
|                                     |             | 6.8 | 50 | 1    | 0.5 | 0.03   | 0.30 | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.05   | 0.38 | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.07   | 0.43 | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.08   | 0.60 | -- |
|                                     |             |     |    |      |     | 0.1    | 0.83 | -- |
|                                     |             |     | 60 | 1    | 0.5 | 0.05   | 1.6  | -- |

|          |             |     |    |      |     |      |     |     |
|----------|-------------|-----|----|------|-----|------|-----|-----|
|          |             |     |    |      |     | 0.08 | 2.4 | --  |
|          |             |     |    |      |     | 0.1  | 3.3 | --  |
|          |             |     | 68 | 1    | 0.5 | 0.05 | 5.0 | --  |
|          |             |     |    |      |     | 0.08 | 7.4 | --  |
|          |             |     |    |      |     | 0.1  | 9.0 | --  |
| Timidina | 0.4 M MES   | 5.5 | 50 | 1    | 0.5 | 0.01 | 3.7 | 1.2 |
|          |             |     |    |      |     | 0.02 | 10  | 2.8 |
|          |             |     |    |      |     | 0.04 | 17  | 4.8 |
|          |             |     |    |      |     | 0.06 | 18  | 7.1 |
|          |             |     |    |      |     | 0.08 | 20  | 8.5 |
|          |             | 6.0 | 50 | 1    | 0.5 | 0.01 | 8.0 | 1.4 |
|          |             |     |    |      |     | 0.02 | 7.0 | 2.3 |
|          |             |     |    |      |     | 0.04 | 16  | 4.6 |
|          |             |     |    |      |     | 0.06 | 19  | 6.8 |
|          |             |     |    |      |     | 0.08 | 21  | 8.2 |
|          | 0.4 M HEPES | 6.5 | 30 | 400  | 0.5 | 0.08 | 3.3 | --  |
|          |             |     |    | 600  | 0.5 | 0.08 | 3.0 | --  |
|          |             |     |    | 900  | 0.5 | 0.08 | 2.3 | --  |
|          |             |     |    | 1200 | 0.5 | 0.08 | 2.2 | --  |
|          |             |     |    | 1500 | 0.5 | 0.08 | 1.7 | --  |
|          |             |     | 50 | 1    | 0.5 | 0.01 | 6.2 | 1.0 |
|          |             |     |    |      |     | 0.02 | 5.8 | 2.3 |
|          |             |     |    |      |     | 0.04 | 14  | 4.2 |
|          |             |     |    |      |     | 0.06 | 17  | 5.7 |
|          |             |     |    |      |     | 0.08 | 18  | 7.3 |
|          |             |     | 55 | 900  | 0.5 | 0.08 | --  | 9.6 |
|          |             |     |    | 1200 | 0.5 | 0.08 | --  | 8.2 |
|          |             |     |    | 1500 | 0.5 | 0.08 | --  | 6.7 |
|          |             |     |    | 1800 | 0.5 | 0.08 | --  | 5.3 |
|          |             |     | 60 | 1    | 0.5 | 0.04 | 63  | 13  |
|          |             |     |    |      |     | 0.06 | 62  | 14  |
|          |             |     |    |      |     | 0.08 | 60  | 25  |
|          |             |     | 68 | 1    | 0.5 | 0.04 | --  | 38  |
|          |             |     |    |      |     | 0.06 | 180 | 55  |
|          |             |     |    |      |     | 0.08 | --  | 73  |
|          |             | 6.8 | 50 | 1    | 0.5 | 0.01 | 5.0 | 1.2 |
|          |             |     |    |      |     | 0.02 | 10  | 2.3 |
|          |             |     |    |      |     | 0.04 | 16  | 3.8 |

CONSTANTES CINÉTICAS

|                                     |             |     |    |   |     |      |     |     |
|-------------------------------------|-------------|-----|----|---|-----|------|-----|-----|
|                                     |             |     |    |   |     | 0.06 | 16  | 5.2 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.08 | 20  | 6.7 |
| TMP <sup>-</sup> /TMP <sup>2-</sup> | 0.4 M HEPES | 6.2 | 50 | 1 | 0.5 | 0.03 | 1.5 | 2.5 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.05 | 2.0 | 3.7 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.07 | *   | 4.2 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.08 | 3.2 | 4.5 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.1  | 4.2 | 4.3 |
|                                     |             | 6.5 | 40 | 1 | 0.5 | 0.05 | 1.2 | 1.3 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.07 | 2.0 | 3.3 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.1  | 2.3 | 5.2 |
|                                     |             |     | 50 | 1 | 0.5 | 0.03 | 1.3 | 2.2 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.05 | 2.0 | 4.0 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.07 | 2.7 | 4.4 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.08 | 3.3 | 4.5 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.1  | 3.7 | 4.5 |
|                                     |             |     | 60 | 1 | 0.5 | 0.05 | 5.0 | 16  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.07 | 7.0 | 22  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.1  | *   | 23  |
|                                     |             |     | 68 | 1 | 0.5 | 0.05 | 9.3 | 28  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.07 | 15  | 45  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.1  | 20  | 63  |
|                                     |             | 6.8 | 50 | 1 | 0.5 | 0.03 | 1.3 | 2.7 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.05 | 2.0 | 3.8 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.07 | 2.7 | 4.3 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.08 | 3.3 | 4.5 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.1  | 4.5 | 4.5 |
| Uridina                             | 0.4 M HEPES | 6.5 | 50 | 1 | 0.5 | 0.01 | 5.3 | 1.3 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.02 | 6.3 | 2.3 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.04 | --  | 4.2 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.05 | 17  | --  |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.06 | 20  | 6.0 |
|                                     |             |     |    |   |     | 0.08 | 23  | 7.5 |

**Tabla A.6.** Valores de las constantes cinéticas observadas para las reacciones de sustitución de la especie  $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$  con los ligandos estudiados en función de las diferentes variables utilizadas en el trabajo.

| Ligando  | Tampón      | pH  | $T$<br>/°C | $P$<br>/atm | $[\text{Ru}] \times 10^4$<br>/M | $[\text{Ligando}]$<br>/M | $k_{\text{obs1}} \times 10^4$<br>/s <sup>-1</sup> | $k_{\text{obs2}} \times 10^4$<br>/s <sup>-1</sup> |    |   |   |       |      |    |
|--|-------------|-----|------------|-------------|---------------------------------|--------------------------|---|---|----|---|---|-------|------|----|
| Cl <sup>-</sup>  | 0.4 M MES   | 6.0 | 25         | 1           | 1                               | 0.025                    | 6.4   | --  |    |   |   |       |      |    |
|  |             |     |            |             |                                 | 0.04                     | 6.5   | --  |    |   |   |       |      |    |
|  |             |     |            |             |                                 | 0.05                     | 7.3   | --  |    |   |   |       |      |    |
|  |             |     |            |             |                                 | 0.075                    | 7.3   | --  |    |   |   |       |      |    |
|  |             |     |            |             |                                 | 0.1                      | 8.0   | --  |    |   |   |       |      |    |
|  | 0.4 M HEPES | 6.5 | 25         | 1           | 1                               | 0.025                    | 4.5   | --  |    |   |   |       |      |    |
|  |             |     |            |             |                                 | 0.04                     | 5.3   | --  |    |   |   |       |      |    |
|  |             |     |            |             |                                 | 0.05                     | 5.0   | --  |    |   |   |       |      |    |
|  |             |     |            |             |                                 | 0.075                    | 5.8   | --  |    |   |   |       |      |    |
|  |             |     |            |             |                                 | 0.1                      | 6.5   | --  |    |   |   |       |      |    |
|  |             |     |            |             |                                 |                          |   | 7.0   | 25 | 1 | 1 | 0.025 | 3.0  | -- |
|  |             |     |            |             |                                 |                          |   |   |    |   |   | 0.04  | 4.0  | -- |
|  |             |     |            |             |                                 |                          |   |   |    |   |   | 0.05  | 4.2  | -- |
|  |             |     |            |             |                                 |                          |   |   |    |   |   | 0.075 | 4.5  | -- |
|  |             |     |            |             |                                 |                          |   |   |    |   |   | 0.1   | 5.5  | -- |
|  |             | 7.5 | 25         | 1           | 1                               | 0.025                    | 1.9   | --  |    |   |   |       |      |    |
|  |             |     |            |             |                                 | 0.04                     | 2.0   | --  |    |   |   |       |      |    |
|  |             |     |            |             |                                 | 0.05                     | 2.4   | --  |    |   |   |       |      |    |
|  |             |     |            |             |                                 | 0.075                    | 3.5   | --  |    |   |   |       |      |    |
|  |             |     |            |             |                                 | 0.1                      | 4.2   | --  |    |   |   |       |      |    |
|  |             |     |            |             |                                 |                          |   | 8.0   | 25 | 1 | 1 | 0.025 | 0.93 | -- |
|  |             |     |            |             |                                 |                          |   |   |    |   |   | 0.04  | --   | -- |
| 0.05   | 1.3         | --  |            |             |                                 |                          |   |   |    |   |   |       |      |    |
| 0.075  | 2.4         | --  |            |             |                                 |                          |   |   |    |   |   |       |      |    |
| 0.1  | 3.3         | --  |            |             |                                 |                          |   |   |    |   |   |       |      |    |
| H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> /HPO <sub>4</sub> <sup>-</sup> | 0.4 M MES   | 6.0 | 25         | 1           | 1                               | 0.01                     | 7.2   | --  |    |   |   |       |      |    |
|  |             |     |            |             |                                 | 0.02                     | 7.5   | --  |    |   |   |       |      |    |
|  |             |     |            |             |                                 | 0.04                     | 7.2   | --  |    |   |   |       |      |    |

CONSTANTES CINÉTICAS

|                                     |             |     |    |   |   |      |     |    |
|-------------------------------------|-------------|-----|----|---|---|------|-----|----|
|                                     |             |     |    |   |   | 0.06 | 7.2 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.08 | 8.3 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.1  | 8.5 | -- |
|                                     | 0.4 M HEPES | 6.5 | 25 | 1 | 1 | 0.01 | 6.2 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.02 | 6.8 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.04 | 8.2 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.06 | 7.7 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.08 | 8.8 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.1  | 8.7 | -- |
|                                     |             | 7.0 | 25 | 1 | 1 | 0.01 | 7.7 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.02 | 7.5 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.04 | 8.5 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.06 | 8.7 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.08 | 8.3 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.1  | 9.0 | -- |
|                                     |             | 7.5 | 25 | 1 | 1 | 0.01 | 8.0 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.02 | 7.3 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.04 | 8.3 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.06 | 8.3 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.08 | 8.5 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.1  | 8.3 | -- |
|                                     |             | 8.0 | 25 | 1 | 1 | 0.01 | 7.3 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.02 | 8.2 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.04 | 7.7 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.06 | 7.3 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.08 | 7.7 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.1  | 8.5 | -- |
| CMP <sup>-</sup> /CMP <sup>2-</sup> | 0.4 M MES   | 6.0 | 25 | 1 | 1 | 0.01 | 2.3 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.02 | 3.0 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.04 | 4.3 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.06 | 4.8 | -- |
|                                     |             |     |    |   |   | 0.08 | 5.5 | -- |

|  |             |     |    |   |   |      |      |    |
|--|-------------|-----|----|---|---|------|------|----|
|  |             |     |    |   |   | 0.1  | 5.5  | -- |
|  | 0.4 M HEPES | 6.5 | 15 | 1 | 1 | 0.01 | 0.61 | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.02 | 0.75 | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.04 | 0.98 | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.06 | 1.3  | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.08 | 1.4  | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.1  | 1.2  | -- |
|  |             |     | 25 | 1 | 1 | 0.01 | 2.5  | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.02 | 3.3  | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.04 | 4.3  | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.06 | 5.3  | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.08 | 5.7  | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.1  | 6.0  | -- |
|  |             |     | 35 | 1 | 1 | 0.01 | 7.8  | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.02 | 10   | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.04 | 14   | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.06 | 18   | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.08 | 20   | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.1  | 22   | -- |
|  |             | 7.0 | 25 | 1 | 1 | 0.01 | 2.8  | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.02 | 3.7  | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.04 | 4.5  | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.06 | 5.5  | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.08 | 5.7  | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.1  | 6.2  | -- |
|  |             | 7.5 | 25 | 1 | 1 | 0.01 | 3.1  | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.02 | 4.0  | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.04 | 5.0  | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.06 | 5.8  | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.08 | 6.2  | -- |
|  |             |     |    |   |   | 0.1  | 6.7  | -- |
|  |             | 8.0 | 25 | 1 | 1 | 0.01 | 4.3  | -- |



CONSTANTES CINÉTICAS

|                                     |             |     |    |     |     |      |     |      |
|-------------------------------------|-------------|-----|----|-----|-----|------|-----|------|
|                                     |             |     |    |     |     | 0.02 | 5.0 | --   |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.04 | 6.3 | --   |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.06 | 6.8 | --   |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.08 | 6.8 | --   |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.1  | 7.7 | --   |
| TMP <sup>-</sup> /TMP <sup>2-</sup> | 0.4 M MES   | 6.0 | 25 | 1   | 1   | 0.01 | 3.0 | 1.2  |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.02 | 4.5 | 0.62 |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.04 | 5.2 | 0.93 |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.06 | 6.8 | 0.97 |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.08 | 9.0 | 0.95 |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.1  | 10  | 0.65 |
|                                     | 0.4 M HEPES | 6.5 | 25 | 1   | 1   | 0.01 | 4.4 | 0.77 |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.02 | 7.0 | 0.86 |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.04 | 9.8 | 1.4  |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.06 | 11  | 0.67 |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.08 | 12  | 0.78 |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.1  | 13  | 0.70 |
|                                     |             | 7.0 | 25 | 1   | 1   | 0.01 | 8.8 | 1.0  |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.02 | 14  | 1.4  |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.04 | 20  | 1.2  |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.06 | 27  | 1.3  |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.08 | 32  | 1.6  |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.1  | 32  | 2.1  |
|                                     |             | 7.5 | 25 | 1   | 1   | 0.01 | 11  | 1.3  |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.02 | 17  | 1.3  |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.04 | 18  | 1.2  |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.06 | 28  | 1.5  |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.08 | 30  | 1.5  |
|                                     |             |     |    |     |     | 0.1  | 35  | 1.4  |
|                                     |             | 8.0 | 15 | 1   | 1   | 0.1  | 12  | 0.28 |
|                                     |             |     |    | 400 | 0.5 | 0.1  | 6.3 | 0.73 |
|                                     |             |     |    | 600 | 0.5 | 0.1  | 5.3 | 1.1  |

|          |             |     |    |      |     |      |     |      |
|----------|-------------|-----|----|------|-----|------|-----|------|
|          |             |     |    | 900  | 0.5 | 0.1  | 9.7 | 0.92 |
|          |             |     |    | 1200 | 0.5 | 0.1  | 12  | 0.62 |
|          |             |     |    | 1500 | 0.5 | 0.1  | 18  | 1.1  |
|          |             |     | 25 | 1    | 1   | 0.01 | 9.0 | 0.97 |
|          |             |     |    |      |     | 0.02 | 14  | 0.88 |
|          |             |     |    |      |     | 0.04 | 18  | 1.2  |
|          |             |     |    |      |     | 0.06 | 28  | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.08 | 30  | 1.1  |
|          |             |     |    |      |     | 0.1  | 30  | 1.1  |
|          |             |     | 35 | 1    | 1   | 0.1  | 53  | 4.2  |
| Citidina | 0.4 M MES   | 6.0 | 25 | 1    | 1   | 0.01 | 3.0 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.02 | 3.2 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.04 | 4.3 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.06 | 5.3 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.08 | 6.2 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.1  | 6.8 | --   |
|          | 0.4 M HEPES | 6.5 | 25 | 1    | 1   | 0.01 | 3.0 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.02 | 3.7 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.04 | 4.6 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.06 | 5.5 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.08 | 6.0 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.1  | 7.0 | --   |
|          |             | 7.0 | 25 | 1    | 1   | 0.01 | 3.7 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.02 | 4.0 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.04 | 4.7 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.06 | 5.3 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.08 | 6.5 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.1  | 7.0 | --   |
|          |             | 7.5 | 15 | 1    | 1   | 0.04 | 1.0 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.06 | 1.4 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.08 | 1.7 | --   |
|          |             |     | 25 | 1    | 1   | 0.01 | 3.7 | --   |

CONSTANTES CINÉTICAS

|          |             |     |    |      |     |      |     |      |
|----------|-------------|-----|----|------|-----|------|-----|------|
|          |             |     |    |      |     | 0.02 | 4.0 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.04 | 4.7 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.06 | 5.5 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.08 | 6.5 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.1  | 7.0 | --   |
|          |             |     | 35 | 1    | 1   | 0.04 | 15  | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.06 | 17  | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.08 | 18  | --   |
|          |             | 8.0 | 25 | 1    | 1   | 0.01 | 4.5 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.02 | 5.0 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.04 | 6.2 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.06 | 7.0 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.08 | 8.0 | --   |
|          |             |     |    |      |     | 0.1  | 8.7 | --   |
| Timidina | 0.4 M HEPES | 6.5 | 25 | 1    | 1   | 0.01 | 6.3 | 0.12 |
|          |             |     |    |      |     | 0.02 | 9.2 | 0.17 |
|          |             |     |    |      |     | 0.04 | 19  | 0.25 |
|          |             |     |    |      |     | 0.06 | 20  | 0.28 |
|          |             |     |    |      |     | 0.08 | 23  | 0.38 |
|          |             |     |    |      |     | 0.1  | 23  | --   |
|          |             | 7.0 | 20 | 400  | 0.5 | 0.1  | 4.8 | 0.38 |
|          |             |     |    | 600  | 0.5 | 0.1  | 7.3 | 0.45 |
|          |             |     |    | 900  | 0.5 | 0.1  | 11  | 0.83 |
|          |             |     |    | 1200 | 0.5 | 0.1  | 18  | 0.75 |
|          |             |     |    | 1500 | 0.5 | 0.1  | 18  | 0.88 |
|          |             |     |    | 1800 | 0.5 | 0.1  | 33  | 1.3  |
|          |             |     | 25 | 1    | 1   | 0.01 | 2.8 | 0.17 |
|          |             |     |    |      |     | 0.02 | 6.2 | 0.23 |
|          |             |     |    |      |     | 0.04 | 12  | 0.53 |
|          |             |     |    |      |     | 0.06 | 14  | 0.63 |
|          |             |     |    |      |     | 0.08 | 14  | 0.70 |
|          |             |     |    |      |     | 0.1  | 14  | 0.70 |

|         |             |     |    |   |   |      |     |       |
|---------|-------------|-----|----|---|---|------|-----|-------|
|         |             | 7.5 | 15 | 1 | 1 | 0.1  | 2.2 | 0.56  |
|         |             |     | 25 | 1 | 1 | 0.01 | 3.0 | 0.28  |
|         |             |     |    |   |   | 0.02 | 4.2 | 0.55  |
|         |             |     |    |   |   | 0.04 | 4.7 | 0.77  |
|         |             |     |    |   |   | 0.06 | 6.3 | 0.75  |
|         |             |     |    |   |   | 0.08 | 7.3 | 0.89  |
|         |             |     |    |   |   | 0.1  | 7.5 | 0.97  |
|         |             |     | 35 | 1 | 1 | 0.1  | 22  | 1.8   |
|         |             | 8.0 | 25 | 1 | 1 | 0.01 | 2.8 | --    |
|         |             |     |    |   |   | 0.02 | 3.3 | 0.63  |
|         |             |     |    |   |   | 0.04 | 4.8 | 0.80  |
|         |             |     |    |   |   | 0.06 | 5.8 | 0.97  |
|         |             |     |    |   |   | 0.08 | 6.8 | 1.1   |
|         |             |     |    |   |   | 0.1  | 8.2 | 1.1   |
| Uridina | 0.4 M HEPES | 6.5 | 25 | 1 | 1 | 0.01 | 2.3 | --    |
|         |             |     |    |   |   | 0.02 | 4.8 | 0.11  |
|         |             |     |    |   |   | 0.04 | 7.4 | 0.083 |
|         |             |     |    |   |   | 0.06 | 11  | 0.15  |
|         |             |     |    |   |   | 0.08 | 12  | 0.13  |
|         |             |     |    |   |   | 0.1  | 13  | 0.17  |
|         |             | 8.0 | 25 | 1 | 1 | 0.01 | 2.0 | 0.22  |
|         |             |     |    |   |   | 0.02 | 2.6 | 0.47  |
|         |             |     |    |   |   | 0.04 | 3.8 | 0.75  |
|         |             |     |    |   |   | 0.06 | 4.5 | 0.88  |
|         |             |     |    |   |   | 0.08 | 4.7 | 0.92  |
|         |             |     |    |   |   | 0.1  | 5.2 | 0.93  |

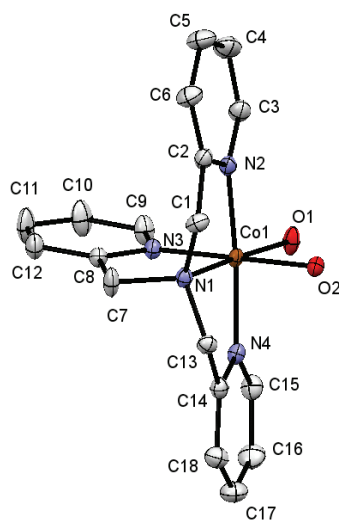


## **APÉNDICE B**

### *DATOS CRISTALOGRAFICOS*



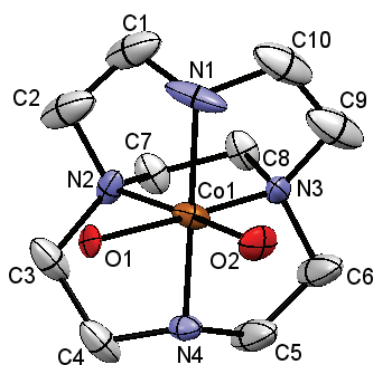
**Tabla B.1.** Datos cristalográficos y de refinamiento pertenecientes a la estructura cristalina del compuesto  $[\text{Co}(\text{TPA})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$ .



|  |  |
|--|--|
| Fórmula empírica                         | $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{CoF}_9\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}_3$                                  |
| Peso molecular                           | 832.53   |
| Temperatura                              | 100(2) K   |
| Longitud de onda                         | 0.71073 Å  |
| Sistema cristalográfico                  | Ortorrómbico   |
| Grupo espacial                           | P b c a  |
| Parámetros de la celda unidad            | $a = 20.2697(8)$ ; $b = 9.7254(4)$ ; $c = 32.1052(14)$ Å<br>$\alpha = 90$ ; $\beta = 90$ ; $\gamma = 90$ ° |
| Volumen                                  | $6328.9(5)$ Å <sup>3</sup>   |
| Z  | 8  |
| Densidad (calculada)                     | $1.747$ Mg/m <sup>3</sup>  |
| Coefficiente de absorción                | $0.855$ mm <sup>-1</sup>   |
| F(000)                                   | 3360   |
| Intervalo de medida, $\theta$            | $2.377$ ° a $30.093$ °   |
| Intervalo de los índices h,k,l           | $-24 \leq h \leq 28$ , $-13 \leq k \leq 13$ , $-44 \leq l \leq 45$   |
| Reflexiones medidas                      | 73709  |
| Datos / restricciones / parámetros       | 9279 / 6 / 454   |
| $F^2$ (goodness of fit)                  | 1.031  |
| R (índices finales) [ $I > 2\sigma(I)$ ] | $R_1 = 0.0393$ , $wR_2 = 0.0930$   |
| R (índices totales)                      | $R_1 = 0.0591$ , $wR_2 = 0.1031$   |

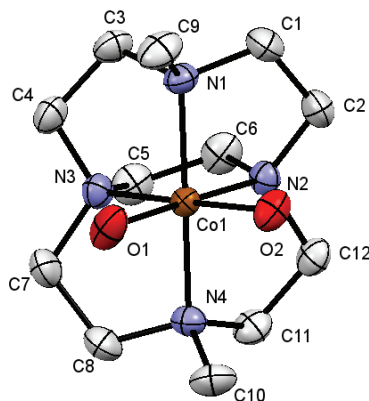


**Tabla B.2.** Datos cristalográficos y de refinamiento pertenecientes a la estructura cristalina del compuesto  $[\text{Co}\{\{\mu\text{-ET}\text{cyclen}\}\}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$ .



|  |   |
|--|---|
| Fórmula empírica                         | $\text{C}_{13}\text{H}_{28}\text{CoF}_9\text{N}_4\text{O}_{12}\text{S}_3$   |
| Peso molecular                           | 758.50  |
| Temperatura                              | 100(2) K  |
| Longitud de onda                         | 0.71073 Å   |
| Sistema cristalográfico                  | Monoclínico   |
| Grupo espacial                           | P 21/n  |
| Parámetros de la celda unidad            | $a = 9.0812(4)$ ; $b = 22.5814(13)$ ; $c = 13.3340(7)$ Å<br>$\alpha = 90$ ; $\beta = 95.368(2)$ ; $\gamma = 90^\circ$ |
| Volumen                                  | $2722.4(2)$ Å <sup>3</sup>  |
| Z  | 4   |
| Densidad (calculada)                     | $1.851 \text{ Mg/m}^3$  |
| Coefficiente de absorción                | $0.985 \text{ mm}^{-1}$   |
| F(000)                                   | 1544  |
| Intervalo de medida, $\theta$            | $2.368^\circ$ a $26.396^\circ$  |
| Intervalo de los índices h,k,l           | $-11 \leq h \leq 10$ , $-28 \leq k \leq 28$ , $-16 \leq l \leq 16$  |
| Reflexiones medidas                      | 32892   |
| Datos / restricciones / parámetros       | 5568 / 83 / 382   |
| $F^2$ (goodness of fit)                  | 1.068   |
| R (índices finales) [ $I > 2\sigma(I)$ ] | $R_1 = 0.0727$ , $wR_2 = 0.1616$  |
| R (índices totales)                      | $R_1 = 0.0747$ , $wR_2 = 0.1631$  |
| Código CCDC                              | 1400867   |

**Tabla B.3.** Datos cristalográficos y de refinamiento pertenecientes a la estructura cristalina del compuesto  $[\text{Co}\{(\text{Me})_2(\mu\text{-ET})\text{cyclen}\}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$ .



|  |  |
|--|--|
| Fórmula empírica                         | $\text{C}_{12}\text{H}_{36}\text{CoCl}_3\text{N}_4\text{O}_{17}$   |
| Peso molecular                           | 673.73   |
| Temperatura                              | 273(2) K   |
| Longitud de onda                         | 0.71073 Å  |
| Sistema cristalográfico                  | Triclínico   |
| Grupo espacial                           | P -1   |
| Parámetros de la celda unidad            | $a = 9.5622(5)$ ; $b = 10.3779(6)$ ; $c = 13.0054(7)$ Å<br>$\alpha = 87.1770(18)$ ; $\beta = 88.5510(17)$ ; $\gamma = 83.6860(17)$ ° |
| Volumen                                  | 1280.96(12) Å <sup>3</sup>   |
| Z  | 2  |
| Densidad (calculada)                     | 1.747 Mg/m <sup>3</sup>  |
| Coefficiente de absorción                | 1.067 mm <sup>-1</sup>   |
| F(000)                                   | 700  |
| Intervalo de medida, $\theta$            | 2.465 ° a 30.555 °   |
| Intervalo de los índices h,k,l           | $-13 \leq h \leq 13$ , $-14 \leq k \leq 14$ , $-17 \leq l \leq 18$   |
| Reflexiones medidas                      | 23455  |
| Datos / restricciones / parámetros       | 7583 / 68 / 370  |
| $F^2$ (goodness of fit)                  | 1.045  |
| R (índices finales) [ $I > 2\sigma(I)$ ] | $R_1 = 0.0540$ , $wR_2 = 0.1485$   |
| R (índices totales)                      | $R_1 = 0.0612$ , $wR_2 = 0.1562$   |
| Código CCDC                              | 905150   |





