



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

**“SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS HEPTACOORDINADOS
DE Sn (IV) DERIVADOS DE PIRIDINA Y SU ESTUDIO PRELIMINAR DE
ACTIVIDAD CITOTÓXICA, ANTI-INFLAMATORIA Y ANTIOXIDANTE”**

T E S I S

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICAS

PRESENTA

Q. ARTURO GÓNZALEZ HERNÁNDEZ

TUTOR: DRA. ELIZABETH GÓMEZ PÉREZ



**Ciencias
Químicas**

2007

H. Jurado

Presidente	Dra. Teresa Mancilla Percino	Escuela Superior de Medicina-IPN
Vocal	Dr. Rafael Moreno Esparza	Facultad de Química-UNAM
Secretario	Dr. Pankaj Sharma	Instituto de Química-UNAM
Primer suplente	Dr. Andrés Navarrete Castro	Facultad de Química-UNAM
Segundo suplente	Dra. Mónica Mercedes Moya Cabrera	Instituto de Química-UNAM

Agradecimientos

A la **UNAM**, por darme la oportunidad de obtener el conocimiento necesario para un mejor desarrollo personal y así contribuir a mejorar nuestro país.

Agradezco el apoyo económico brindado para realizar mis estudios de Maestría al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, (CONACYT), 195811 y al PAPIIT proyectó IN217506.

A la Dra. Elizabeth Gómez Pérez por el todo el apoyo que me brindo para la realización de este trabajo. Por todas las cosas que me enseñó, por su paciencia y sobre todo por toda la confianza que deposito en mi durante este tiempo.

Al Dr. Juan Manuel Fernández González por todo el apoyo que me brindo durante la realización del presente trabajo.

A la M. en C. Maria Teresa Ramírez Apan y M. en C. Antonio Camacho por la realización de las pruebas biológicas.

A los técnicos de difracción de rayos-X de monocristal Simón Hernández Ortega y Rubén A. Toscano (Instituto de Química, UNAM), por la resolución de las estructuras presentadas en este trabajo.

A Francisco Javier Pérez y a Luis Velasco por las determinaciones de Espectrometría de Masas.

A los miembros del jurado por las observaciones realizadas para mejorar el trabajo.

El trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de *Inorgánica 5*, Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), bajo la dirección de la Dra. Elizabeth Gómez Pérez, con la beca (195811) otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y con el apoyo del PAPIT proyecto IN217506.

Índice

Nuevos compuestos sintetizados	i
Resumen	1
I. Introducción	3
II. Antecedentes	5
II.1 El estaño sus derivados y propiedades	5
II.2 Bases de Schiff	7
II.3 Compuestos de estaño(IV) derivados de bases de Schiff	9
II.3.1 Número de coordinación 5	9
II.3.2 Número de coordinación 6	12
II.3.3 Número de coordinación 7	14
III. Objetivos	17
III.1 Objetivo general	17
III.2 Objetivos particulares	17

PARTE A.

IV. Síntesis y Caracterización	19
IV.1 Capítulo 1	19
V.1.1 Síntesis de 2,6-piridincarboxialdehído (1)	19
IV.1.1.1 Resultados y Discusión	19
IV.1.2 Síntesis de:	
bis(N-2-hidroxifenil)-2,6-bis(aldimina) piridina (1.1),	
bis(N-2-hidroxi-5-metilfenil)-2,6-bis(aldimina) piridina (1.2),	
bis(N-2-hidroxi-5-clorofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina (1.3) y	
bis(N-2-hidroxi-5-nitrofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina (1.4)	20
IV.1.2.1 Caracterización de las bases 1.1-1.4 por RMN ¹ H	20

IV.1.2.2 Caracterización de las bases 1.1-1.4 por RMN ¹³ C	21
IV.1.2.3 Caracterización de 1.1-1.4 por IR	23
IV.1.2.4 Caracterización de 1.1-1.4 por EM	24
 IV.2. Capítulo 2.	 26
IV.2.1 Síntesis de:	
bis(N,N'-di(2-hidroxilatofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dimetil estaño (2.1) ,	
bis(N,N'-di(2-hidroxilato-5-metilfenil)-2,6-bis(aldimina) piridina) -dimetil estaño (2.2) ,	
bis(N,N'-di(2-hidroxilato-5-clorofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dimetil estaño (2.3) ,	
bis(N,N'-di(2-hidroxilato-5-nitrofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dimetil estaño (2.4) ,	
bis(N,N'-di(2-hidroxilatofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dibutil estaño (2.5) ,	
bis(N,N'-di(2-hidroxilato-5-metilfenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dibutil estaño (2.6) ,	
bis(N,N'-di(2-hidroxilato-5-clorofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dibutil estaño (2.7) ,	
bis(N,N'-di(2-hidroxilato-5-nitrofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dibutil estaño (2.8) y	
bis(N,N'-di(2-hidroxilatofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-difenil estaño (2.9)	26
IV.2.1.1 Caracterización de 2.1-2.9 por RMN de ¹ H	28
IV.2.1.2 Caracterización de 2.1-2.9 por RMN de ¹³ C	31
IV.2.1.3 Caracterización de 2.1-2.9 por RMN de ¹¹⁹ Sn	34
IV.2.1.4 Caracterización de 2.1-2.9 por IR	35
IV.2.1.5 Caracterización de 2.1-2.9 por EM	36
IV.2.1.6 Difracción de rayos-X de 2.5, 2.6 y 2.9	36

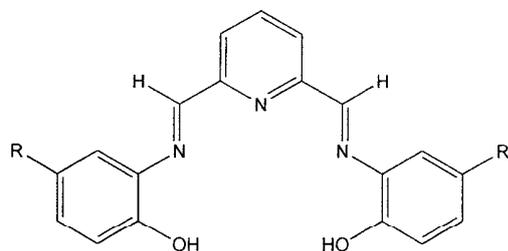
IV.3 Capítulo 3	43
IV.3.1 Síntesis de:	
bis(N,N'-di(2-hidroxilatofenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dimetil estaño (3.1),	
bis(N,N'-di(2-hidroxilato-5-metilfenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dimetil estaño (3.2),	
bis(N,N'-di(2-hidroxilato-5-clorofenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dimetil estaño (3.3),	
bis(N,N'-di(2-hidroxilato-5-nitrofenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dimetil estaño (3.4),	
bis(N,N'-di(2-hidroxilatofenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dibutil estaño (3.5),	
bis(N,N'-di(2-hidroxilato-5-metilfenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dibutil estaño (3.6),	
bis(N,N'-di(2-hidroxilato-5-clorofenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dibutil estaño (3.7) y	
bis(N,N'-di(2-hidroxilato-5-nitrofenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dibutil estaño (3.8)	43
IV.3.1.1 Caracterización de 3.1-3.8 por RMN de ¹ H	44
IV.3.1.2 Caracterización de 3.1-3.8 por RMN de ¹³ C	47
IV.3.1.3 Caracterización de 3.1-3.8 por RMN de ¹¹⁹ Sn	50
IV.3.1.4 Caracterización de 3.1-3.8 por IR	51
IV.3.1.5 Caracterización de 3.1-3.8 por EM	52
IV 3.1.6 Difracción de rayos-X de 3.1y 3.5	52

Parte B

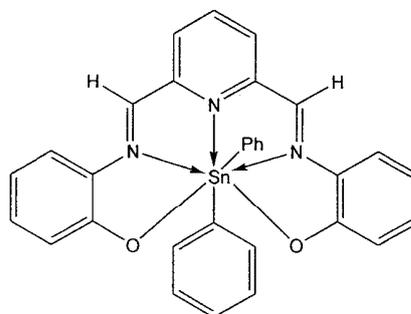
V. Actividad Biológica	58
V.1 Actividad Citotóxica	58
V.1.1 Descripción de los resultados	60
V.2 Actividad antioxidante	64

V.2.1 Descripción de los resultados	65
V.2.1.1 Método del DPPH (2,2-difenil picril hidracilo)	65
V.2.1.2 Ensayo SRTBA (sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico)	66
V.3 Actividad anti-inflamatoria	68
V.3.1 Descripción de los resultados	69
V. 3.1.1 En el edema inducido con TPA (13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol) en la oreja de ratón	69
VI Conclusiones	73
VII Parte experimental	75
VII.1 Instrumentación	75
VII.2 Procedimiento para la síntesis de 2,6-piridincarboxialdehído (1)	76
VII.3 Procedimiento para la síntesis de las bases de Schiff 1.1-1.4	76
VII.4 Procedimiento para la síntesis de los complejos 2.1-2.9 y 3.1-3.8	78
VII.5 Procedimiento del bioensayo de citotoxicidad	88
VII.6 Procedimiento del ensayo de actividad antioxidante	91
VII.6.1 Reacción de anti-radicales (DPPH)	91
VII.6.2 Inhibición de la peroxidación de lípidos en cerebro de ratón (SRATB)	93
VII.6.2.1 Determinación de MDA (malonaldehído)	94
VII.7 Procedimiento del ensayo de actividad anti-inflamatoria	96
VII.7.1 Edema inducido con TPA	96
VIII. Bibliografía	98

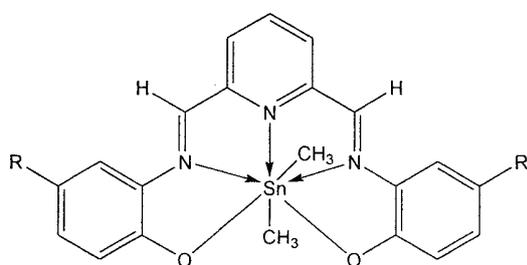
Nuevos compuestos sintetizados



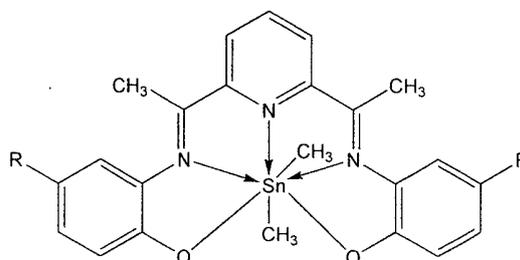
1.2 R= CH₃
1.3 R= Cl
1.4 R= NO₂



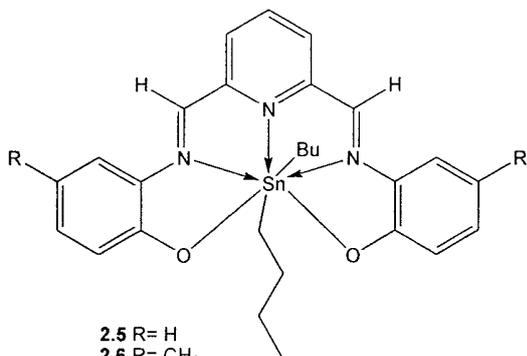
2.9



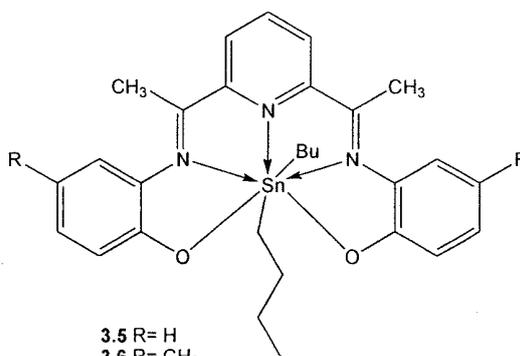
2.1 R= H
2.2 R= CH₃
2.3 R= Cl
2.4 R= NO₂



3.1 R= H
3.2 R= CH₃
3.3 R= Cl
3.4 R= NO₂



2.5 R= H
2.6 R= CH₃
2.7 R= Cl
2.8 R= NO₂



3.5 R= H
3.6 R= CH₃
3.7 R= Cl
3.8 R= NO₂

RESUMEN

El siguiente trabajo comprendió la síntesis de 3 nuevas bases de Schiff, las cuales se sintetizaron a partir de un equivalente de 2,6-piridincarboxialdehído y dos equivalentes de un *o*-aminofenol sustituido en reflujo de etanol. Estas bases de Schiff se hicieron reaccionar con óxidos de estaño en reflujo de una mezcla tolueno/metanol (4:1) para obtener así los complejos heptacoordinados de estaño(IV). La reacción condujo a rendimientos bajos, razón por la cual se procedió a realizar la síntesis de dichos complejos de estaño (IV) *in situ* bajo las condiciones de reacción antes mencionadas, partiendo de 2,6 piridincarboxialdehído ó 2,6-diacetilpiridina, *o*-aminofenoles sustituidos y óxidos de estaño (metil, butil, fenil). Al realizar la síntesis de estos compuestos en un solo paso los rendimientos aumentaron de 30% a 95%. Las tres bases de Schiff y los 17 compuestos de estaño (IV) obtenidos se caracterizaron mediante la Espectroscopia en el Infrarrojo, la Espectrometría de masas, la Resonancia Magnética Nuclear y en algunos casos por Difracción de rayos-X. Además, se llevó a cabo la determinación de la actividad citotóxica, anti-inflamatoria y antioxidante de algunos compuestos de estaño (IV) sintetizados.

En cuanto a la actividad citotóxica se realizó manejando seis líneas celulares cancerosas (sistema nervioso central, leucemia, colon, próstata, mama y pulmón) y se demostró que los compuestos son citotóxicos. La actividad anti-inflamatoria, se comprobó a través del método: 1) edema inducido con TPA en oreja de ratones macho, en donde los compuestos mostraron actividad anti-inflamatoria importante y en algunos casos es más baja que el del anti-inflamatorio de referencia (Indometacina). Finalmente, la actividad antioxidante se comprobó a través de dos métodos: 1) reducción del radical libre estable 2,2-difenil picril hidracilo (DPPH) y 2) el método de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (SRATB), en la inhibición de peroxidación de lípidos en cerebro de rata.

En el primer método los compuestos mostraron actividad antioxidante moderada, ya que reducen el radical DPPH en un porcentaje menor que el α -tocoferol, el cual se utilizó como referencia, mientras que, en el segundo método, algunos de los compuestos inhibieron la peroxidación de lípidos a una concentración más baja que el antioxidante de referencia (Quercetina).

I. INTRODUCCION

El estaño es un elemento esencial para la vida, ya que se considera que la ingesta diaria de éste en el cuerpo humano debe ser de 3.6 mg.^[1] El estaño se obtiene de los minerales en varias maneras, comúnmente por la reducción de sus óxidos con carbono y su purificación es efectuada por disolución del metal en ácido y por deposición del metal electrolíticamente.^[2]

El estaño se encuentra en dos estados de oxidación Sn (II) y Sn(IV), el primero forma únicamente especies tetraédricas en las cuales tres átomos donadores ocupan las esquinas del tetraedro y un par de electrones la cuarta posición el cual presenta características estructurales y estereoquímicas importantes. En el segundo caso, el estaño(IV), al igual que el estaño(II), forma especies tetraédricas pero con la diferencia de que en cada esquina del tetraedro siempre existe un átomo donador, sin embargo, al expandir su capa de valencia y utilizar sus orbitales *d* puede formar especies pentacoordinadas y hexacoordinadas, así como especies con números de coordinación más altos, las cuales no son encontradas frecuentemente.^[2] El estaño(IV) no tiene una preferencia para reaccionar con ácidos y bases duras ó blandas.^[3]

Los compuestos de estaño han sido de gran interés desde la preparación del primer compuesto organoestaño (Et_2SnI_2) por Edward Frankland en 1853, el uso de este tipo de compuestos se ha incrementado de manera importante.^[4] Una de las áreas de mayor estudio está relacionada con la síntesis, ya que los compuestos diorganoestaño fueron los primeros que se utilizaron como estabilizadores del PVC,^[5] en catálisis para la producción de espumas de poliuretano,^[6] en reacciones de transesterificación,^[7] y en la reacción de vulcanización de siliconas.^[8] En la década de los 50s los compuestos triorganoestaño fueron utilizados en grandes cantidades en la agricultura como fungicidas, conservadores de madera y como antiensuciantes de pinturas debido a

que presentan propiedades biocidas.^[9] A mediados de la década de los 80s se prohibió el uso de este tipo de compuestos debido a la contaminación ambiental.

Por otra parte, los compuestos organestaño presentan actividad biológica, la cual es conocida debido a sus aplicaciones como biocidas,^[10-12] anti-fungicidas,^[13] anti-tuberculosis,^[14] anti-microbianos,^[15-19] cardiovasculares^[20-21] y anti-inflamatorios.^[22-24] Actualmente, una de las áreas de mayor interés y que se ha estudiado ampliamente es su actividad citotóxica frente a ciertos tipos de cáncer principalmente los derivados de carboxilatos de estaño(IV). A la fecha se han descrito varios trabajos de investigación relacionados con la actividad biológica de compuestos organometálicos que contienen enlaces N→Sn, O→Sn y S→Sn, dentro de los cuales se encuentran principalmente derivados de aminoalcoholes,^[25] aminoácidos,^[26] péptidos^[27] y carboxilatos.^[28-29]

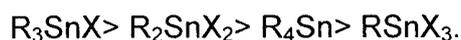
II. ANTECEDENTES

II.1 El estaño, sus derivados y propiedades.

La mayoría de los compuestos de estaño conocidos presentan estado de oxidación (IV), en los cuales se pueden introducir grupos alquilo al átomo de estaño por la alquilación completa del tetracloruro de estaño con un agente organometálico. Los compuestos tetraorganoestaño (R_4Sn) obtenidos se hacen reaccionar nuevamente con $SnCl_4$ en proporciones apropiadas para obtener cloruros de triorganoestaño (R_3SnCl), diorganoestaño (R_2SnCl_2) y monorganoestaño ($RSnCl_3$), los cuales reaccionan con grupos nucleofílicos que tienen átomos donadores como O, N y S principalmente para dar alcóxidos, amidas, tioalcóxidos, carboxilatos de alquilestaño entre otros. También reaccionan con hidruros metálicos para obtener hidruros de alquilestaño y otras especies reactivas como son: $R_3Sn\cdot$ y $R_2Sn\cdot$; por último los halogenuros de organoestaño pueden ser hidrolizados para formar óxidos.^[30]

Los compuestos organoestaño, principalmente los hidruros, alcóxidos, óxidos y amidas se utilizan en síntesis orgánica. Un gran número de compuestos trialquilestaño(IV) con aplicaciones biológicas son usados industrialmente y algunos compuestos dialquilestaño(IV) se utilizan como catalizadores para determinadas reacciones orgánicas y como estabilizadores del PVC.^[30]

La actividad biológica de los compuestos de estaño (IV) depende del número y de la naturaleza de los sustituyentes unidos al átomo de estaño. La toxicidad disminuye en el siguiente orden:



Los compuestos triorganoestaño son los más tóxicos y en general biológicamente activos, pero al incrementarse la longitud de la cadena alquílica de los grupos R, la toxicidad disminuye considerablemente. Los compuestos diorganoestaño son menos tóxicos que los compuestos triorganoestaño pero muestran un comportamiento similar y la toxicidad de los compuestos tetraorganoestaño es mucho menor que la de los compuestos triorganoestaño. Por último los monoorganoestaño presentan la toxicidad más baja y no exhiben actividad biológica.^[1]

El estaño presenta 10 isótopos en la naturaleza, de los cuales el ^{120}Sn es el más abundante con 32.97% (Tabla 1) y tiene un espín nuclear $I = 0$, lo cual es una desventaja ya que no es un núcleo activo en RMN. Los núcleos ^{115}Sn , ^{117}Sn y ^{119}Sn tienen un espín nuclear de $I = \frac{1}{2}$ y son activos en RMN. De estos tres núcleos el ^{119}Sn es el que se utiliza en RMN, ya que su abundancia es de 8.58% la cual es ligeramente mayor que la del ^{117}Sn (7.57%) y mucho mayor que la del ^{115}Sn (0.34%).^[30]

Tabla 1. Isótopos del estaño y algunos datos físicos.

Isótopo	Abundancia (%)	Espín nuclear I	Momento nuclear magnético μ
112	0.95	0	-
114	0.65	0	-
115	0.34	$\frac{1}{2}$	-0.9132
116	14.24	0	-
117	7.57	$\frac{1}{2}$	-0.9949
118	24.01	0	-
119	8.58	$\frac{1}{2}$	-1.0409
120	32.97	0	-
122	4.71	0	-
124	5.98	0	-

La caracterización espectroscópica es de particular importancia y específicamente la RMN y la espectroscopia Mössbauer, ya que proporciona información importante de la estructura de los compuestos de estaño(IV) tanto en estado sólido como en solución.^[30] En la RMN de ^1H y ^{13}C de los compuestos organoestaño algunas veces se observan constantes de acoplamiento $^2J(^1\text{H}-^{119/117}\text{Sn})$ y $^1J(^{13}\text{C}-^{119/117}\text{Sn})$ que junto con algunos datos en el estado sólido y en base a una ecuación proporcionan información sobre el ángulo de enlace C-Sn-C en solución.^[31]

En la RMN de ^{119}Sn el desplazamiento químico es muy importante ya que proporciona información estructural y geométrica de los compuestos organoestaño. Los valores de desplazamiento químico de los compuestos con número de coordinación cuatro se encuentran entre -40 y -120 ppm, mientras que para compuestos con número de coordinación cinco se encuentran de -90 a -330 ppm, y de -125 a -515 ppm para derivados con número de coordinación seis. Para los organoestanos con número de coordinación siete los valores de desplazamiento químico se encuentran a partir de -400 ppm y se desplazan hacia frecuencias bajas dependiendo de la naturaleza de los átomos donadores y de los sustituyentes unidos al átomo de estaño(IV).^[32-34]

II.2 Bases de Schiff.

Las bases de Schiff desempeñan un papel importante como ligantes en la química de coordinación aun después de casi un siglo de su descubrimiento, ya que forman complejos estables con la mayoría de los metales de transición, así como con elementos del grupo principal. El interés en los complejos de bases de Schiff se ha desarrollado ampliamente en diferentes áreas de la química, como son: la síntesis, el análisis de sus propiedades espectroscópicas, sus propiedades magnéticas, difracción de rayos X en monocristal y la catálisis entre otras.^[35]

Las bases de Schiff se han estudiado de manera muy importante debido a su enorme diversidad para formar macrociclos, muchos de los cuales incluyen el uso de 2,6 diformilpiridina ó 2,6 diacetilpiridina como bloques constructores. Por ejemplo, la preparación selectiva de macrociclos pentadentados, a partir de la condensación de dicarbonilpiridinas con α,ω -diaminoéteres y cationes pequeños como Mg^{2+} , con cationes más grandes como Ca^{2+} , Sr^{2+} y Ba^{2+} se obtiene el macrociclo hexadentado y finalmente cuando se utiliza Pb^{2+} se forma el macrociclo dinuclear.^[36] (Figura 1)

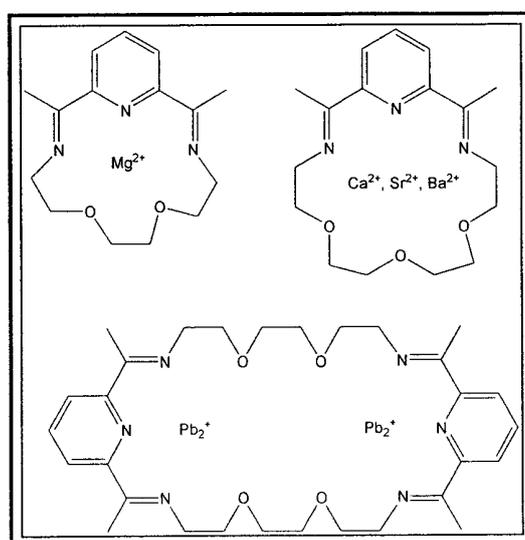


Figura 1.

Recientemente, esta clase de moléculas han sido utilizadas como modelos para sistemas biológicos y en el control de la estereoquímica en complejos hexacoordinados de Ti y Zr [(base de Schiff) MCl_2], los cuales son potenciales catalizadores para la polimerización de alquenos.^[37]

II.3 Compuestos de estaño(IV) derivados de bases de Schiff.

En la literatura existe una gran cantidad de complejos de estaño(IV) derivados de bases de Schiff pero también existe una gran variedad de compuestos de estaño(IV) con diferentes ligantes como son carboxilatos,^[38] carboxilatos con piridinas,^[39-40] fosfonatos^[41] y oxalatos,^[42] piridinas,^[43-44] ácido pirazincarboxílico,^[45-46] con derivados que contienen calcógenos y nitrógeno,^[47] con ligantes que contienen azufre,^[48] con cupferronato,^[49] con nitrato,^[50] con oxidiacetato y aminodiacetato^[51] entre otros.

Los compuestos de estaño(IV) derivados de bases de Schiff han llamado la atención en vista de sus potenciales aplicaciones en medicina, química y biotecnología,^[52-55] por la actividad antitumoral *in vivo* e *in vitro* que presentan,^[56-57] por su actividad biocida,^[58-59] y desde el punto de vista de síntesis,^[60] análisis estructural,^[61] y estereoquímica.^[62]

II.3.1 Número de coordinación 5.

Los compuestos de estaño(IV) con número de coordinación 5 son los que más se han estudiado debido a su capacidad para formar especies monoméricas con ligantes tridentados, que presentan átomos donadores ONO. Estas especies tienen la característica de formar un enlace de coordinación intramolecular entre el nitrógeno del ligante y el átomo de estaño(IV), el cual al fusionarse forma anillos de cinco y seis miembros. El desplazamiento químico en RMN de ¹¹⁹Sn para los complejos de tipo **1** y **5** se encuentra entre -140 y -330 ppm, estos desplazamientos son típicos de compuestos diorganoestaño pentacoordinados^[63] y se ha observado que el desplazamiento químico se incrementa en el siguiente orden:



Los valores de desplazamiento químico para los complejos de tipo **6** se encuentran entre -87.9 y -81.2 ppm, lo cual sugiere la presencia del enlace de coordinación $N \rightarrow Sn$ y una geometría de bipirámide trigonal distorsionada.^[64]

Mediante el estudio de difracción de rayos-X de los complejos **1-6** se determinó, en todos los casos, que la geometría es una bipirámide trigonal distorsionada donde los grupos más electronegativos se encuentran en las posiciones axiales y el átomo de nitrógeno junto con los grupos unidos al átomo de estaño(IV) adoptan posiciones ecuatoriales.^[60,61,64-67] (Figura 2)

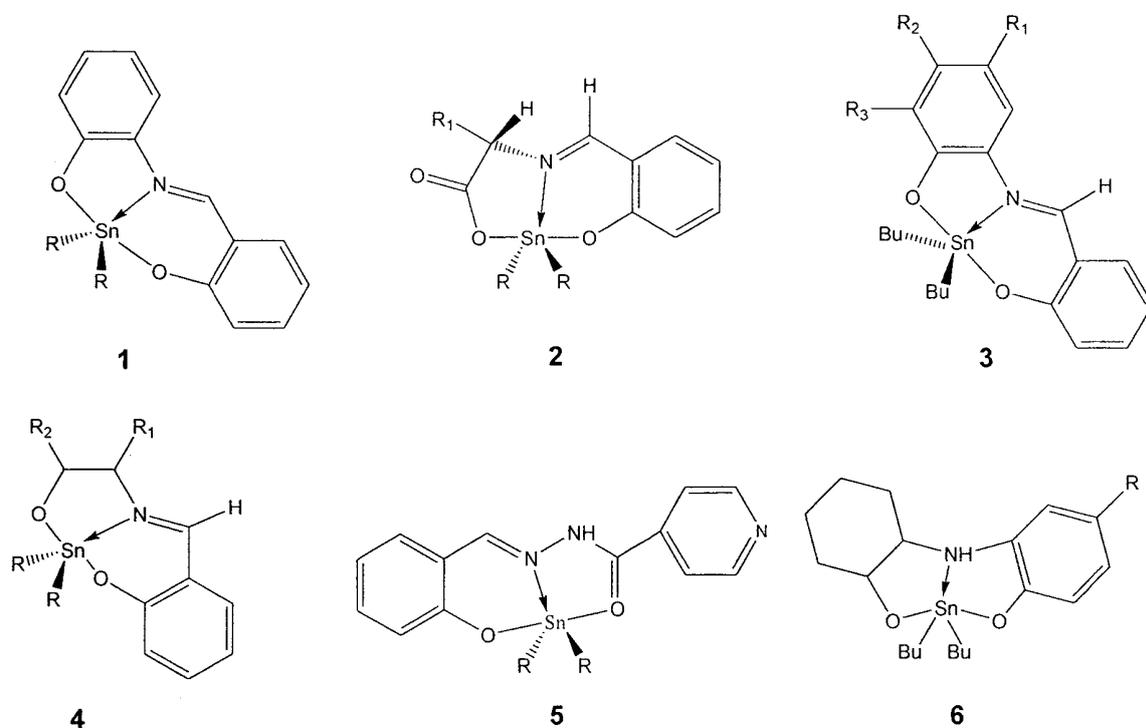


Figura 2.

Por otro lado, los compuestos de tipo **1** incrementan su número de coordinación de cinco a seis por coordinación de una molécula de disolvente (H_2O , CH_3OH) originando la formación de especies octaédricas de tipo **7** (Figura 3). Los desplazamientos químicos de los complejos de tipo **7** se encuentran entre -328 y -542 ppm estos valores son típicos de especies hexacoordinadas de estaño(IV)^[68]

y se incrementan cuando los grupos R son sustituidos por grupos más electronegativos como halógenos.

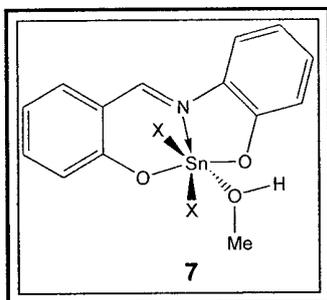


Figura 3.

Los complejos de tipo 3 y 4 forman arreglos diméricos debido al auto-ensamblamiento del átomo de estaño(IV) con los átomos donadores de oxígeno. Esto ocurre a través de la formación de un anillo de cuatro miembros Sn_2O_2 . Los complejos de tipo 8 y 9 (Figura 4) ejemplifican este tipo de estructuras en donde el átomo de estaño(IV) posee una geometría octaédrica debido a la formación de puentes intermoleculares $\text{O}\dots\text{Sn}$.^[60,61]

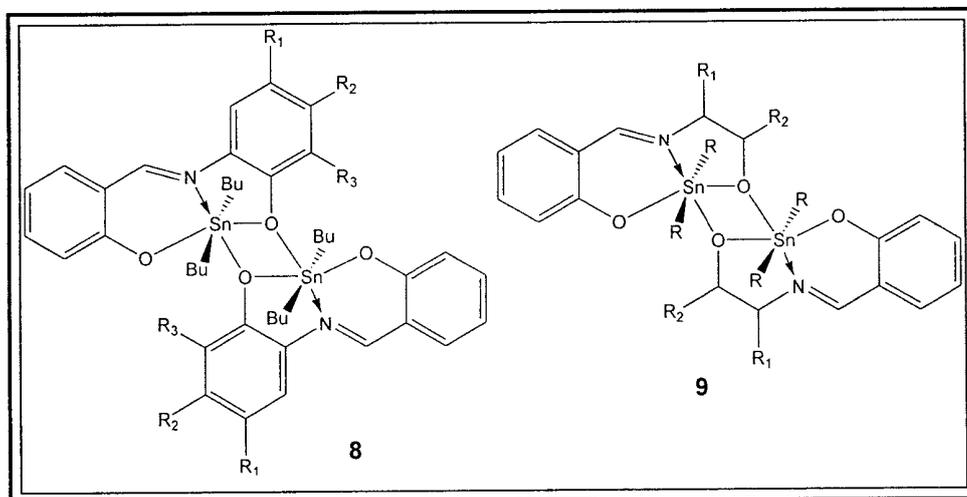


Figura 4.

Los complejos de tipo **6** se probaron *in vitro* contra cinco líneas celulares tumorales de origen humano: U251 (células cancerígenas del sistema nervioso central), PC-3 (células de adenocarcinoma de próstata), K-562 (células de leucemia mieloblástica crónica), HCT-15 (células de adenocarcinoma de colon) y MFC-7 (adenocarcinoma de glándulas mamarias) y MT2 (linfocitos-T) en donde los complejos presentaron actividad citotóxica en contra de estas líneas celulares^[64] y los complejos de tipo **9** fueron probados *in vitro* contra bacterias Gram positivo (*Bacillus subtilis*), Gram Negativo (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) y contra dos bacterias sulfato reductoras (SRB) (*Desulfuvibrio longus*, *Desulfomicrobium asphaeronum*), los compuestos mostraron actividad bactericida y biocida.^[60]

II.3.2 Número de coordinación seis.

Los compuestos de estaño(IV) con número de coordinación seis existen en menor proporción que los compuestos con número de coordinación cinco y generalmente forman especies monoméricas con ligantes tetradentados que presentan átomos donadores ONNO. Estos complejos forman dos enlaces de coordinación intramolecular entre los nitrógenos de la imina y el átomo de estaño(IV) (complejo **10**),^[69] así como con ligantes tridentados con átomos donadores ONN y SNN, en donde el átomo de nitrógeno que proviene de una piridina se coordina al átomo de estaño(IV) (complejos **11-13**). Los valores de desplazamiento químico para el complejo **10** se encuentran entre -542 y -398 ppm los cuales corresponden a especies hexacoordinadas.

Mediante el estudio por difracción de rayos-X de los complejos **10-13**^[62,70] se determinó que poseen una geometría octaédrica y se observó, en los complejos **11** y **13** (Figura 5), que los grupos más electronegativos unidos al átomo de estaño(IV) se encuentran en las posiciones axiales y los átomos donadores ONN ó SNN junto con el grupo R se encuentran en las posiciones ecuatoriales. En el caso

de los complejos **10** y **12** los grupos R unidos al átomo de estaño(IV) se encuentran en las posiciones axiales mientras que los grupos electronegativos ocupan las posiciones ecuatoriales.

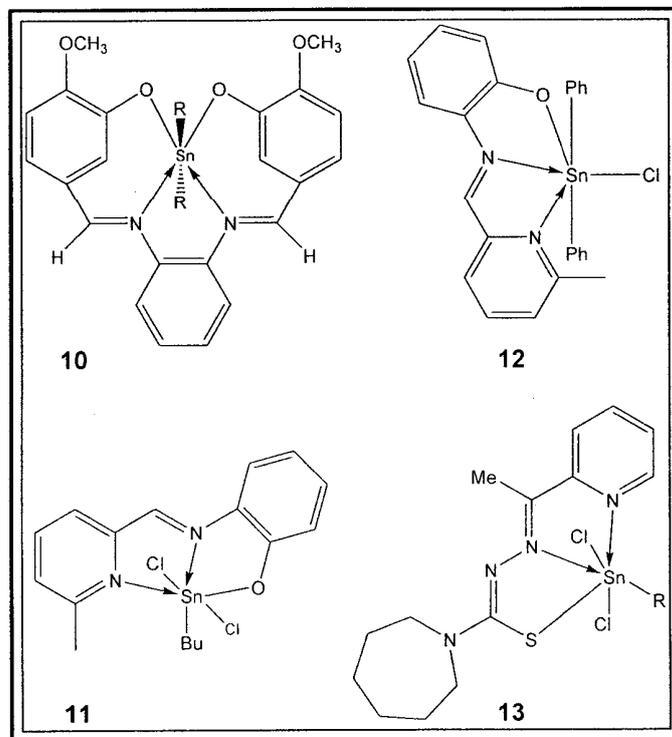


Figura 5.

También se ha encontrado que algunos organoestananos forman arreglos poliméricos en donde el número de coordinación del átomo de estaño es seis. El complejo **14** es un ejemplo de un polímero de fórmula Ph_2SnL_3 , el cual presenta en la unidad asimétrica media molécula de benceno. (Figura 6) Dentro del polímero hay interacciones intramoleculares débiles las cuales forman puentes *cis* entre el átomo de estaño(IV) y el átomo de oxígeno del carboxilato del ligante de una de las unidades vecinas. Este complejo presenta una geometría de bipirámide trigonal ligeramente distorsionada con los dos átomos de oxígeno del ligante aminoacetato en posiciones axiales y los grupos fenilo junto con el átomo de nitrógeno en las posiciones ecuatoriales, sin considerar las interacciones débiles $\text{Sn}\dots\text{O}$.^[71]

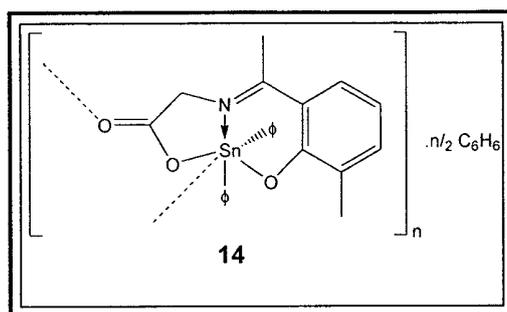


Figura 6.

El complejo **14** presentó actividad citotóxica en siete líneas celulares humanas: A498 (cáncer renal), WIDR (carcinoma de colon), M19 MEL (melanoma), IGROV (cáncer de ovario), H226 (células cancerígenas de pulmón), MFC-7 y EVSA-T (cáncer de pecho).^[71]

II.3.3 Número de coordinación siete.

Los compuestos de estaño(IV) con este número de coordinación son poco comunes aunque en la literatura se han descrito ligantes derivados de 2,6 diacetilpiridina con bis(semicarbazona y tiosemicarbazona) los cuales forman bases de Schiff pentadentadas con átomos donadores XNNNX (X = O, S) con un alto potencial para formar compuestos de estaño tetra, penta, hexa y heptacoordinados.^[72-75] El desplazamiento químico en RMN de ¹¹⁹Sn para complejos del tipo **15** se encuentra entre -370 y -510 ppm, los cuales corresponden a especies heptacoordinadas en solución, este valor se desplaza 100 ppm a frecuencias bajas en comparación con los complejos hexacoordinados análogos. Las constantes de acoplamiento de algunos de estos complejos presentan valores de ²J(¹H, ¹¹⁹Sn= 115.8 Hz) y ¹J(¹³C, ¹¹⁹Sn= 1215 Hz) los cuales son valores muy grandes y están de acuerdo para especies heptacoordinadas de estaño(IV).^[76]

Los complejos de tipo **16** son especies diméricas con centros simétricos en donde los dos átomos de estaño(IV) se auto-ensamblan por dos puentes asimétricos Sn-O...Sn y además uno de los sitios de coordinación está ocupado por una molécula de disolvente (H₂O). Los complejos **17** presentan un ciclo trinuclear [ⁿBu₂SnL¹]₃, el cual al coordinarse por un ligante aminoacetato y por ambos oxígenos de un grupo carboxilato en forma bidentada forman el plano ecuatorial. En ambos complejos la geometría alrededor de los átomos de estaño(IV) es una bipirámide pentagonal, donde los grupos R unidos a este se encuentran en posiciones axiales.^[71] Sin embargo, en solución los complejos forman especies monoméricas pentacoordinadas, ésto se ha evidenciado con base en los desplazamientos químicos en RMN ¹¹⁹Sn los cuales se encuentran en el intervalo de -175 a -214 ppm.

El complejo **18** derivado de 1,10 fenantrolina es otro ejemplo de molécula que posee geometría de bipirámide pentagonal distorsionada, donde los átomos del ligante junto con los nitrógenos de la fenantrolina definen el plano ecuatorial y los grupos fenilo ocupan las posiciones axiales, y los enlaces N→Sn son aproximadamente 0.4 Å más largos que los normalmente encontrados para los complejos aminoestannos. (Figura 7)

El complejo **18** presentó actividad citotóxica en siete líneas celulares humanas: A498 (cáncer renal), WIDR (carcinoma de colon), M19 MEL (melanoma), IGROV (cáncer de ovario), H226 (células cancerígenas de pulmón), MFC-7 y EVSA-T (cáncer de pecho).^[71]

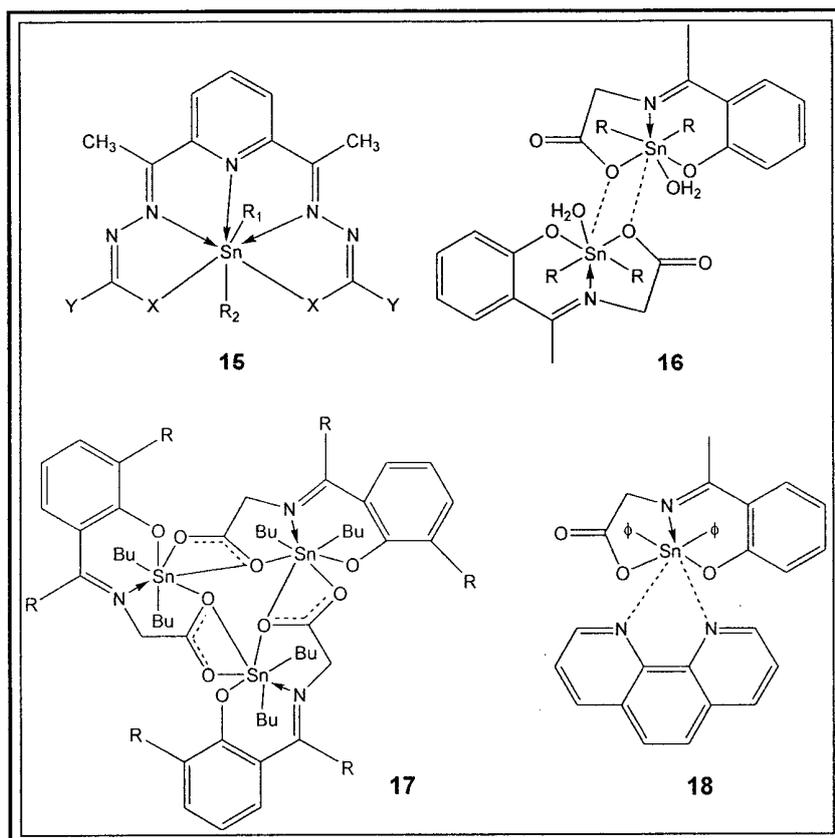


Figura 7.

III. OBJETIVOS.

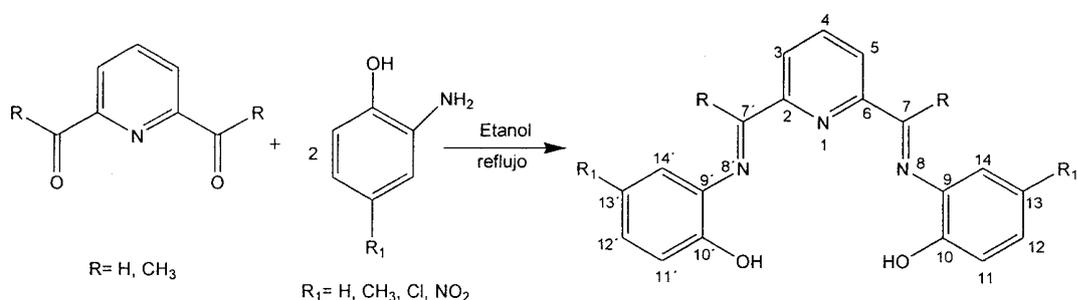
Los compuestos de estaño(IV) son importantes, desde el punto de vista químico, por la diversidad estructural que presentan y desde el punto de vista biológico, por la actividad que muestran. Por lo tanto, es interesante contribuir al estudio estructural y químico de moléculas nuevas con potencial aplicación biológica, es importante hacer notar que los complejos de estaño que más se han estudiado son los pentacoordinados y los ejemplos con número de coordinación siete son escasos, por lo que en el presente trabajo se describe la síntesis y caracterización de compuestos heptacoordinados de estaño(IV) derivados de bases de Schiff así como el estudio preliminar de la evaluación de la actividad citotóxica, anti-inflamatoria y anti-oxidante, para la realización del trabajo se fijaron los siguientes objetivos.

III.1 Objetivo General.

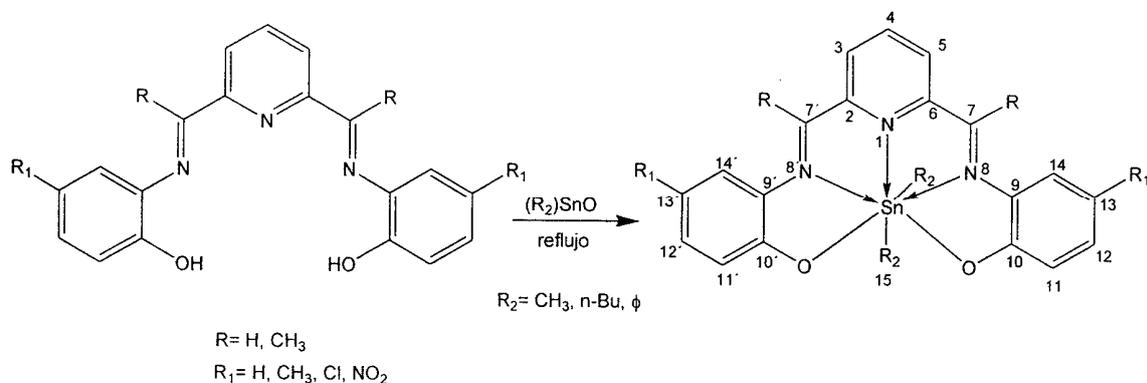
Sintetizar y caracterizar complejos heptacoordinados de estaño(IV) derivados de bases de Schiff de tipo piridínico y realizar un estudio preliminar de actividad citotóxica, antioxidante y anti-inflamatoria.

III.2 Objetivos particulares.

- Sintetizar y caracterizar bases de Schiff pentadentadas a partir de 2,6-piridincarboxialdehído y 2,6-diacetilpiridina con aminofenoles sustituidos.



- Sintetizar los complejos heptacoordinados de estaño(IV) con las bases de Schiff pentadentadas utilizando diferentes óxidos de estaño.



- Caracterizar los compuestos heptacoordinados de estaño(IV) por RMN de ^1H , ^{13}C , ^{119}Sn , IR, EM y por difracción de rayos-X en el caso de obtener cristales adecuados para realizar su estudio.
- Evaluar la actividad citotóxica de algunos compuestos sintetizados en líneas celulares de cáncer humano las cuales son: cáncer de colon (HTC-15), cáncer de mama (MCF-7), leucemia mieloblástica crónica (K-562), cáncer de glía del sistema nervioso central (U-251), cáncer de próstata (PC-3) y cáncer de pulmón (SKLU-1).
- Evaluar la actividad antioxidante de algunos compuestos sintetizados a través del método químico DPPH (2,2-difenil picril hidracilo) y del método biológico SRATB (sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico).
- Evaluar la actividad antiinflamatoria de algunos complejos sintetizados sobre el edema inducido con TPA (13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol) en oreja de ratones macho.

PARTE A

IV. Síntesis y caracterización

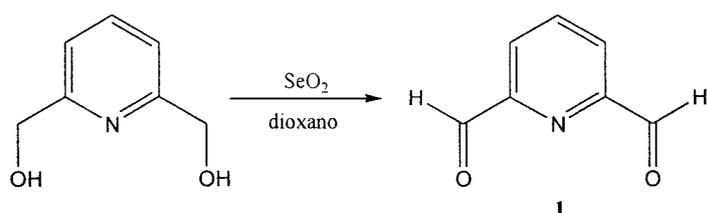
IV.1 Capítulo 1.

IV.1.1 Síntesis de 2,6-piridincarboxialdehído (1).

Se han descrito varios métodos para realizar la síntesis de aldehídos y cetonas. La reacción más común y con rendimientos del 95% para su obtención involucra el uso de dióxido de selenio con alcoholes.^[77] Otras rutas incluyen el uso de cloruro de oxalilo en dimetil sulfóxido,^[78] dióxido de manganeso,^[79] catálisis heterogénea^[80] y lutidina con óxido de selenio.^[81] Sin embargo, muchos de estos métodos presentan diferentes inconvenientes tales como el uso de cantidades grandes de materias primas y a veces debido a la irreproducibilidad de los experimentos, la obtención de productos no deseados, rendimientos bajos al utilizar piridinas desactivadas y el uso de catalizadores que comúnmente son muy caros.

IV.1.1.1 Resultados y Discusión.

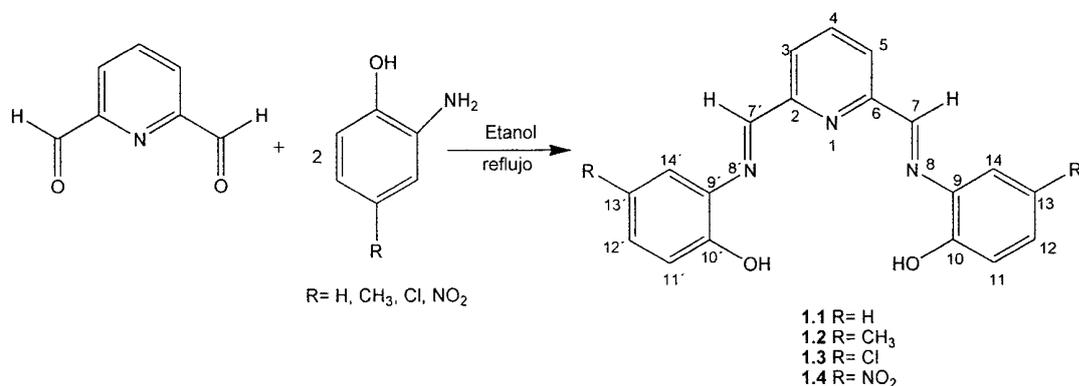
La oxidación de alcoholes primarios y secundarios con dióxido de selenio es una ruta atractiva y fácil para la obtención de aldehídos y cetonas, por lo cual el 2,6-piridincarboxialdehído (1) se preparó por este método en dioxano como disolvente, la mezcla de reacción se mantuvo bajo reflujo durante cuatro horas; obteniéndose un sólido color crema con un $pf = 124-126^{\circ}C$ (Esquema 1). Es importante mencionar que la metodología para la preparación del compuesto 1 se encuentra descrita en la literatura,^[77] las propiedades físicas y la caracterización espectroscópica del compuesto preparado están de acuerdo con lo publicado.^[82]



Esquema 1.

IV.1.2 Síntesis de bis(N-2-hidroxifenil)-2,6-bis(aldimina) piridina (1.1), bis(N-2-hidroxi-5-metilfenil)-2,6-bis(aldimina) piridina (1.2), bis(N-2-hidroxi-5-clorofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina (1.3) y bis(N-2-hidroxi-5-nitrofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina (1.4).

Las bases de Schiff **1.1-1.4** se obtuvieron por reacción de 2,6-piridincarboxialdehído (**1**) con dos equivalentes del correspondiente aminofenol. (Esquema 2)



Esquema 2.

IV.1.2.1 Caracterización de las bases 1.1-1.4 por RMN de ¹H.

Es importante mencionar que la síntesis del compuesto **1.1** se encuentra descrita en la literatura^[83-84] pero no sus datos espectroscópicos, por lo que en este trabajo se describen. En los espectros de RMN ¹H de las bases de Schiff **1.1-1.4** se observan señales para la mitad de la molécula debido al eje de simetría C₂.

En el espectro de RMN de ^1H de la base de Schiff **1.1** mostró una señal simple para los protones de la imina (H-7 y H-7') en 8.88 ppm de acuerdo a lo antes mencionado, en la región aromática las señales triple y doble en 7.96 y 8.28 ppm respectivamente, se asignaron a los protones H-4, H-3 y H-5 de la piridina, mientras que, las señales en 6.94, 7.04, 7.26 y 7.43 ppm se asignaron a los protones H-13, H-14, H-12 y H-11, respectivamente, del anillo aromático. La asignación de los compuestos **1.2-1.4** se realizó de manera similar a **1.1** y los datos espectroscópicos se encuentran resumidos en la Tabla 2.

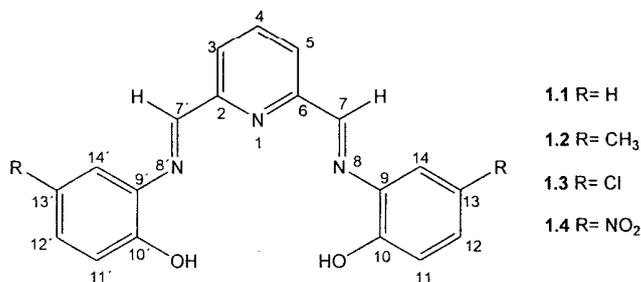
IV.1.2.2 Caracterización de las bases 1.1-1.4 por RMN de ^{13}C .

La RMN de ^{13}C el compuesto **1.1**, igual que en el espectro de protón, presenta una señal única para cada núcleo equivalente de carbono. En 159.0 ppm aparece una señal que se asignó a los carbonos imínicos C-7 y C-7', asimismo, se observaron dos señales en 137.1 y 123.5 ppm las cuales corresponden a los carbonos C-4, C-3 y C-5 de la piridina. Las señales en 138.1, 152.1, 116.9, 129.0, 120.3 y 120.1 ppm se asignaron a los carbonos C-9, C-10, C-11, C-12, C-13 y C-14, respectivamente, del anillo aromático. La asignación de los compuestos **1.2-1.4** se realizó de manera similar a **1.1** y los datos espectroscópicos se encuentran resumidos en la Tabla 3.

En el caso de la base de Schiff **1.2** fue necesario realizar un experimento de correlación heteronuclear (HETCOR) para la asignación inequívoca de todas las señales debido a que las señales del aminofenol aparecen en la región aromática, muy cercanas a las de la piridina y por lo tanto son complicadas de asignar. Las señales en 115.7, 118.3 y 129.1 ppm corresponden a los carbonos, C-5, C-14, y C-12 ya que correlacionan con los hidrógenos H-5, H-14 y H-12 del aminofenol, mientras que la señal en 20.1 ppm correlaciona con H-15, los protones del grupo metilo del aminofenol.

Tabla 2

Datos de RMN de ^1H de los compuestos 1.1-1.4



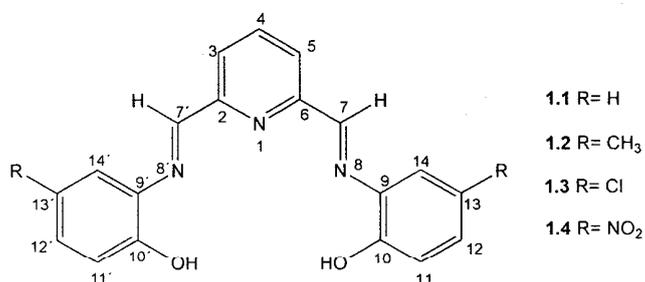
Compuestos	H-3,H-5	H-4	H-7	H-11	H-12	H-14
1.1^a	8.28 (d, $J = 7.8$)	7.96 (t, $J = 7.7$)	8.88 (s)	7.43 (dd, $J = 8.1, 1.3$)	7.26 (td, $J = 8.2, 1.5$)	7.04 (dd, $J = 8.2, 1.3$)
1.2^b	7.81 (d, $J = 7.8$)	7.33 (t, $J = 7.8$)	8.16 (s)	6.33 (dd, $J = 8.2, 1.5$)	6.21 (d, $J = 8.2$)	6.47 (s)
1.3	8.42 (d, $J = 7.3$)	7.91 (t, $J = 7.6$)	8.70 (s)	7.03 (d, $J = 8.2$)	6.87 (d, $J = 8.6$)	7.18 (s)
1.4	8.47 (d, $J = 7.5$)	7.96 (t, $J = 7.4$)	8.81 (s)	7.02 (d, $J = 8.5$)	7.69 (s)	8.06 (s)

a) El desplazamiento químico del protón H-13 es 6.94 (td, $J = 7.98, 1.3$), b) El desplazamiento para los protones de los grupos metilo es 1.65 (s, H-15).

s: singulete; d: doblete; t: triplete; dd: doble de dobles; td: triple de dobles, m: multiplete; y $|J|$ Hz.

Tabla 3

Datos de RMN de ^{13}C de los compuestos **1.1-1.4**



Compuestos	1.1	1.2	1.3	1.4
C-2, C-6	155.0	154.2	154.3	158.0
C-3, C-5	123.5	123.0	123.8	124.4
C-4	137.1	136.8	137.5	137.6
C-7, C7'	159.0	157.1	159.7	161.8
C-9, C-9'	138.1	135.3	137.3	137.3
C-10, C-10'	152.1	149.5	150.8	154.3
C-11, C-11'	116.9	115.7	117.6	115.6
C-12, C-12'	129.0	129.1	128.2	124.1
C-13, C-13'	120.3	128.3	124.2	140.6
C-14, C-14'	120.1	118.3	118.8	116.6
C-15, C-15'		20.1		

IV.1.2.3 Espectrofotometría de Infrarrojo (IR).

En los espectros de IR el primer indicativo de que las bases de Schiff **1.1-1.4** se formaron es la ausencia de la banda $\nu_{\text{C=O}}$ del aldehído en 1718 cm^{-1} . La presencia de bandas debido a la ν_{OH} en el intervalo de 3381 y 3446 cm^{-1} y la $\nu_{\text{C=N}}$ en el intervalo de 1623 y 1627 cm^{-1} confirmaron la formación de las bases de Schiff (Tabla 4).

Tabla 4

Datos de los espectros de IR de las bases de Schiff **1.1-1.4**

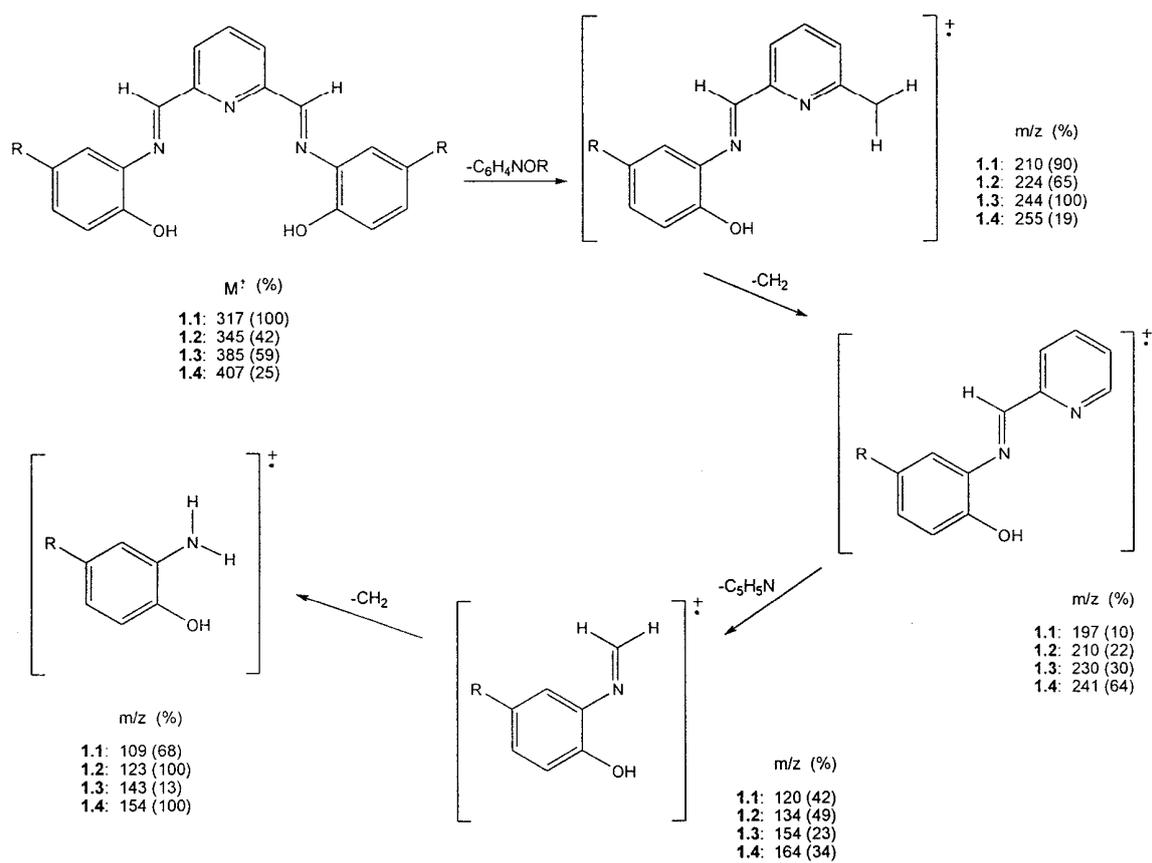
Compuesto	$\nu_{\text{Sn-O}}$	$\nu_{\text{C=N}}$
1.1	3446	1623
1.2	3400	1624
1.3	3381	1624
1.4	3483	1627

ν (cm^{-1})

IV.1.2.4 Espectrometría de masas.

La espectrometría de masas mostró los iones $m/z = 317, 345, 385, 407$ correspondientes al peso molecular de las bases de Schiff **1.1-1.4**, en el Esquema 3 se observa el posible patrón de fragmentación.

El patrón de fragmentación para las bases de Schiff **1.1-1.4** es similar e inicialmente se observa, la pérdida del ion fragmento $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NOR}$ el cual corresponde al fenol sustituido y al nitrógeno de la imina, posteriormente se observa la pérdida del ion fragmento $-\text{CH}_2$ que corresponde a un grupo metileno, seguido de la pérdida del ion fragmento $-\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ correspondiente a la pérdida de piridina, nuevamente se observa la pérdida del ion fragmento $-\text{CH}_2$, y por último se observa el ion $-\text{C}_6\text{H}_6\text{NOR}$ el cual corresponde al aminofenol, este fragmento representa el pico base en los compuestos **1.2** y **1.4**.

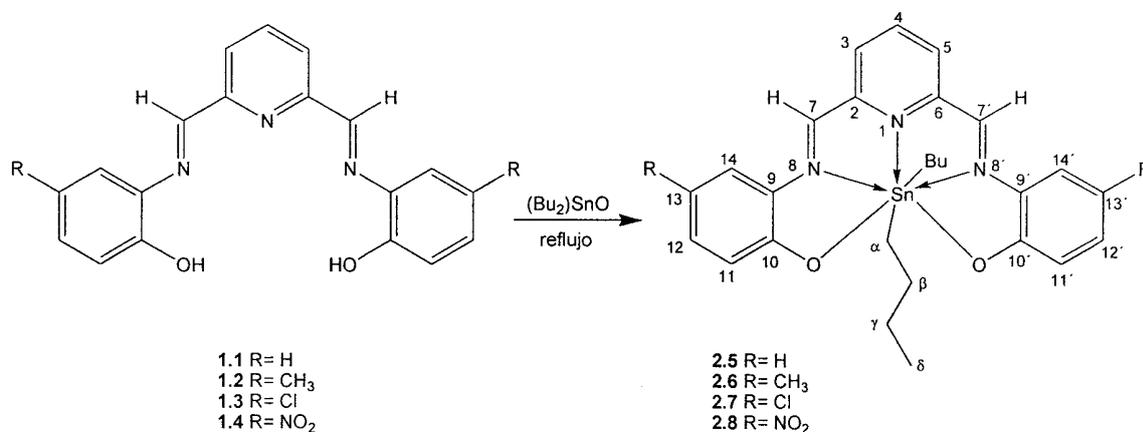


Esquema 3.

IV.2 Capítulo 2.

IV.2.1 Síntesis de bis(*N,N'*-di(2-hidroxilatofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dimetil estaño (2.1), bis(*N,N'*-di(2-hidroxilato-5-metilfenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dimetil estaño (2.2), bis(*N,N'*-di(2-hidroxilato-5-clorofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dimetil estaño (2.3), bis(*N,N'*-di(2-hidroxilato-5-nitrofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dimetil estaño (2.4), bis(*N,N'*-di(2-hidroxilatofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dibutil estaño (2.5), bis(*N,N'*-di(2-hidroxilato-5-metilfenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dibutil estaño (2.6), bis(*N,N'*-di(2-hidroxilato-5-clorofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dibutil estaño (2.7), bis(*N,N'*-di(2-hidroxilato-5-nitrofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dibutil estaño (2.8) y bis(*N,N'*-di(2-hidroxilatofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-difenil estaño (2.9).

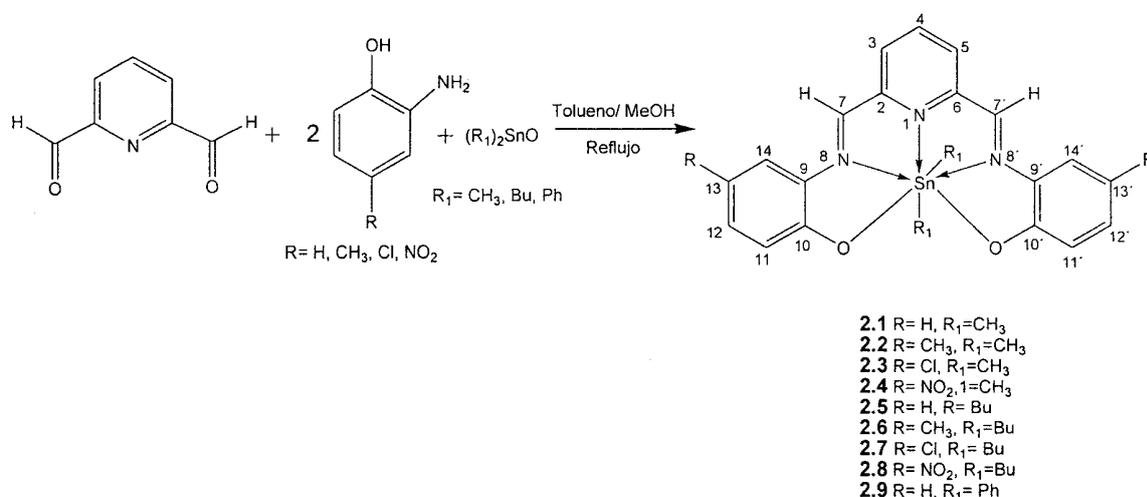
Los complejos 2.5-2.8 se obtuvieron por reacción de las bases de Schiff 1.1-1.4 con óxido de dibutil estaño en una mezcla tolueno/metanol (4:1), obteniéndose así los compuestos de estaño(IV) con rendimientos del 30%. (Esquema 4)



Esquema 4.

Debido a que los rendimientos para la obtención de los complejos **2.5-2.8** fueron bajos, cuando se hizo reaccionar la imina con el correspondiente óxido de estaño, se procedió a realizar la síntesis de estos complejos en un solo paso para lo cual se hizo reaccionar el 2,6-piridincarboxialdehido con el aminofenol correspondiente y el óxido de dibutil estaño, bajo las mismas condiciones de reacción, los rendimientos aumentaron de 30% a 95%.

A través de esta metodología se obtuvieron los complejos **2.5-2.8** con buenos rendimientos, por lo que se procedió a sintetizar los complejos **2.1-2.4** y **2.9** en un solo paso utilizando óxidos de dimetil y difenil estaño bajo las mismas condiciones de disolvente y temperatura con la variante en los tiempos de reacción dependiendo del óxido de estaño utilizado. (Esquema 5) Todos los complejos se caracterizaron por RMN de ^1H , ^{13}C , ^{119}Sn , espectrofotometría de infrarrojo, espectrometría de masas y en algunos casos por difracción de rayos-X.



Esquema 5.

IV.2.1.1 Caracterización de los compuestos 2.1-2.9 por RMN de ^1H .

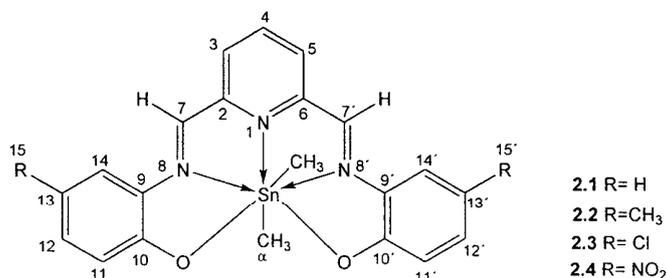
Se realizó un análisis comparativo de los desplazamientos químicos de las bases de Schiff **1.1-1.4**, con respecto a los complejos **2.1-2.9**. Para los compuestos **2.1-2.3** y **2.5-2.8** la señal simple del protón imínico H-7 y la señal doble H-3, H-5 de la piridina aparecen entre 8.66-8.94 y 7.17-8.17 ppm, las cuales se desplazan a menor frecuencia (~ 0.50 ppm) con respecto a las bases de Schiff. Sin embargo, la señal triple H-4 de la piridina de los compuestos **2.1-2.3** y **2.5-2.8** se desplaza a mayor frecuencia (~ 0.78 ppm) con respecto a las bases de Schiff, estas diferencias en el desplazamiento químico se atribuyen a la formación del enlace de coordinación entre el nitrógeno de la piridina y el átomo de estaño ($\text{N}\rightarrow\text{Sn}$) y también se han encontrado en complejos pentacoordinados de silicio y estaño.^[85,44]

Los compuestos **2.1-2.3** muestran una señal simple entre 0.20 y 0.03 ppm, la cual corresponde a los protones de los grupos metilo unidos al átomo de estaño (H_α). Asimismo, para estos compuestos se observa las señales satélite debidas al acoplamiento del $^{119/117}\text{Sn}-^1\text{H}$, cuyos valores son $^2J(^1\text{H}-^{119}\text{Sn}) = 113.7, 114$ y 110.9 Hz, respectivamente, y para el acoplamiento $^2J(^1\text{H}-^{117}\text{Sn})$ son de 108.7 y 109.5 Hz. Se sabe que la magnitud de la constante de acoplamiento spín-spín $^2J(^{119}\text{Sn}-^1\text{H})$ ésta relacionada con el número de coordinación en compuestos de estaño. Para los complejos pentacoordinados los valores de estas constantes oscilan entre 64 y 79 Hz,^[86-87] mientras que, para complejos heptacoordinados, el valor es mayor [$^2J(^{119}\text{Sn}-^1\text{H}) = 115.8$ Hz].^[75] En este contexto se puede esperar que los complejos **2.1-2.3** presenten estructuras heptacoordinadas en solución. Adicionalmente, el protón imínico H-7 de los compuestos **2.1** y **2.2** también presentará acoplamiento con el estaño $^nJ(^{119}\text{Sn}-^1\text{H})$ con valores de 14.2 y 13.1 Hz respectivamente. (Tabla 5)

El complejo **2.2** presenta una señal simple en 2.54 ppm, la cual corresponde a los protones de los grupos metilo del aminofenol (H-15).

Tabla 5

Datos de RMN ^1H para los compuestos **2.1-2.3**



Compuesto	CH ₃ Sn	H-3,H-5	H-4	H-7	H-11	H-12	H-13	H-14
2.1	H _α : 0.20 (s) [113.7, 108.7]	7.76 (d) J = 7.8	8.14 (t) J = 7.8	8.68 (s) [14.2]	7.52 (dd) J = 8.2, 1.5	7.28 (td) J = 8.6, 1.5	6.60 (td) J = 8.2, 1.2	7.12 (dd) J = 8.5, 1.2
2.2	H _α : 0.03 (s) [114, 109.5]	7.83 (d) J = 7.8	8.13 (t) J = 7.7	8.76 (s) [13.1]	7.00 (dd) J = 8.6, 2.0	6.83 (d) J = 8.5		7.53 (s)
2.3	H _α : 0.05 (s) [110.9]	7.95 (d) J = 7.4	8.20 (t) J = 7.1	8.94 (s)	7.08 (d) J = 8.4	6.85 (d) J = 8.9		7.58 (s)

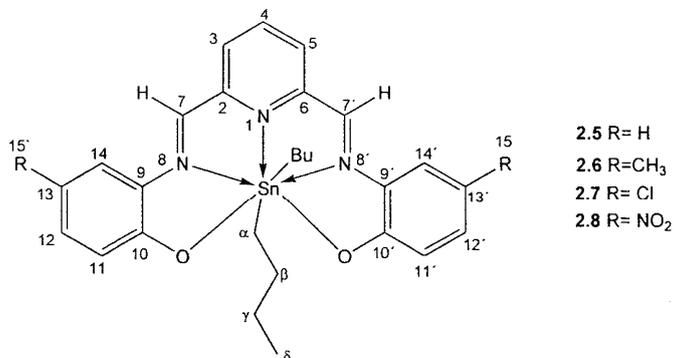
El desplazamiento químico está en ppm con respecto al TMS, las constantes de acoplamiento $^nJ = ({}^1\text{H}-{}^{119/117}\text{Sn})$ están entre corchetes.

s: singulete; d: doblete; t: triplete; dd: doble de dobles; td: triple de dobles; m: multiplete; y |J| Hz.

Los espectros de RMN de ^1H de los compuestos **2.5-2.8** en la región alifática presentan las señales correspondientes a los protones de los grupos butilo entre 0.68 y 0.92 ppm para los protones de los grupos metileno (H_{α-γ}), a frecuencia menor aparece una señal triple la cual corresponde a los protones de los grupos metilo (H_δ). El complejo **2.6** presenta una señal simple en 2.27 ppm, la cual se asignó a los protones de los grupos metilos del aminofenol (H-15). La asignación de los protones aromáticos es similar a la descrita para los complejos **2.1-2.3** y los datos se encuentran resumidos en la Tabla 6.

Tabla 6

Datos de RMN ^1H para los compuestos 2.5-2.8



Compuesto	nBuSn	H-3,H-5	H-4	H-7	H-11	H-12	H-13	H-14
2.5	H _δ : 0.50 (t) J = 6.6 H _{α,β,γ} : 0.71-0.92 (m)	7.78 (d) J = 7.6	8.15 (t) J = 7.7	8.71 (s)	7.52 (t) J = 7.9	7.23 (t) J = 8.2	6.57 (t) J = 7.3	7.11 (d) J = 8.4
2.6	H _δ : 0.50 (t) J = 6.2 H _{α,β,γ} : 0.71-0.92 (m)	7.71 (d) J = 7.7	8.11 (t) J = 7.7	8.67 (s)	7.01 (d) J = 8.6	7.10 (dd) J = 8.6, 1.9		7.31 (s)
2.7	H _δ : 0.50 (t) J = 5.7 H _{α,β,γ} : 0.71-0.92 (m)	7.83 (d) J = 7.1	8.19 (t) J = 6.9	8.69 (s)	7.18 (d) J = 8.4	7.01 (d) J = 9.0		7.49 (s)
2.8	H _δ : 0.50 (t) J = 3.9 H _{α,β,γ} : 0.68-0.85 (m)	8.17 (d) J = 7.7	8.34 (t) J = 7.9	8.66 (s)	7.18 (d) J = 7.1	7.01 (d) J = 9.1		7.49 (s)

s: singulete; d: doblete; t: triplete; dd: doble de dobles; m: multiplete; y |J| Hz.

IV.2.1.2 Caracterización de los complejos 2.1-2.9 por RMN de ^{13}C .

Los datos de RMN de ^{13}C de los compuestos **2.1-2.3** y **2.5-2.8** muestran que las señales para los C-10, C-4 y C-3, están desplazadas a frecuencias bajas aproximadamente ($\Delta\delta = 10, 6$ y 4 ppm) respectivamente, comparado con los ligantes **1.1-1.4**, mientras que el carbón imínico (C-7) de los compuestos antes mencionados se desplaza a frecuencias altas aproximadamente ($\Delta\delta = 7$ ppm), este hecho es atribuido a la presencia del enlace de coordinación ($\text{N} \rightarrow \text{Sn}$) entre el nitrógeno de la piridina y el estaño.^[44]

Los espectros de RMN de ^{13}C de los compuestos **2.1-2.3** muestran una señal entre 11.9 y 12.1 ppm que corresponde a los grupos metilo unidos al átomo de estaño (C_α). Además, en el espectro del compuesto **2.2** se observaron las señales satélite debido al acoplamiento $^{119}\text{Sn}-^{13}\text{C}$ y $^{117}\text{Sn}-^{13}\text{C}$ de los grupos metilo. (Tabla 7) Los valores de las constantes de acoplamiento son $^1J(^{119}\text{Sn}-^{13}\text{C}) = 1216$ Hz y $^1J(^{117}\text{Sn}-^{13}\text{C}) = 1163$ Hz, los cuales están de acuerdo a lo descrito en la literatura para compuestos heptacoordinados de estaño [$^1J(^{119}\text{Sn}-^{13}\text{C}) = 1215$ Hz].^[75]

Los valores de la constante de acoplamiento $^nJ(^{119}\text{Sn}-^{13}\text{C})$ proporcionan información estructural valiosa, ya que la magnitud depende linealmente del ángulo de enlace C-Sn-C, esta relación ésta dada por la siguiente ecuación:

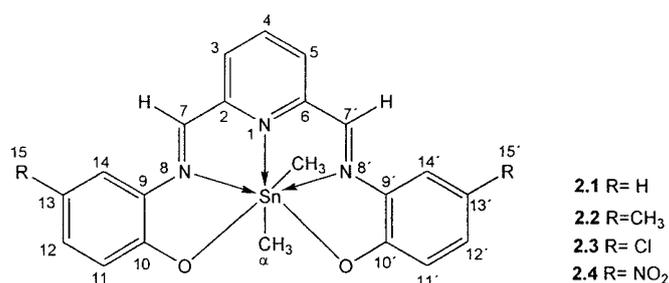
$$|J(^{119}\text{Sn}-^{13}\text{C})| = 11.4\theta - 875 \quad (1)$$

en donde θ es el ángulo Me-Sn-Me, por tanto conociendo la constante de acoplamiento podemos calcular el ángulo de enlace y en consecuencia se puede predecir la geometría del compuesto en solución.^[31]

Utilizando la ecuación descrita anteriormente y con el valor de constante de acoplamiento $J(^{119}\text{Sn}-^{13}\text{C}) = 1216 \text{ Hz}$ del complejo **2.2** se calculó el ángulo de enlace C-Sn-C en solución el cual presenta un valor de 183° , este valor nos indica que la geometría de bipirámide pentagonal está ligeramente distorsionada.

Tabla 7

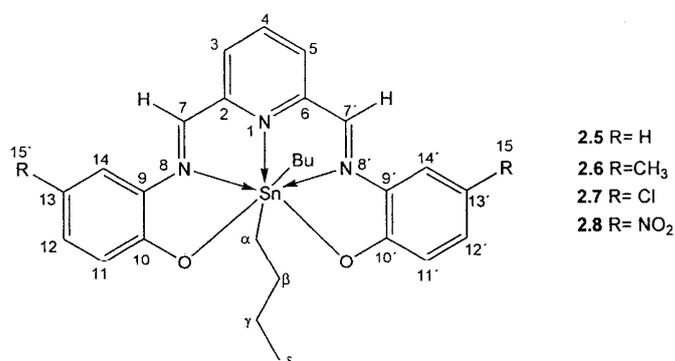
Datos de RMN de ^{13}C de los compuestos **2.1-2.3**



Compuestos	2.1	2.2	2.3
C-2, C-6	148.2	148.3	147.8
C-3, C-5	125.2	124.1	123.7
C-4	134.1	135.1	133.3
C-7, C7'	166.0	163.4	163.4
C-9, C-9'	136.6	137.9	140.6
C-10, C-10'	140.5	141.0	141.5
C-11, C-11'	115.2	116.9	117.2
C-12, C-12'	129.5	129.1	130.0
C-13, C-13'	123.6	126.0	127.1
C-14, C-14'	116.3	122.4	119.4
C α	11.9	12.1[1216, 1163]	12.0
C-15, C-15'		20.6	

El desplazamiento químico está en ppm con respecto al TMS, las constantes de acoplamiento $^nJ(^{13}\text{C}-^{119/117}\text{Sn})$ están entre corchetes.

Datos de RMN de ^{13}C de los compuestos 2.5-2.8



Compuestos	2.5	2.6	2.7	2.8
C-2, C-6	149.0	149.1	148.6	148.0
C-3, C-5	125.2	124.0	124.2	128.5
C-4	134.0	135.5	133.9	135.2
C-7, C7'	166.6	164.8	165.0	171.0
C-9, C-9'	137.0	136.0	138.0	142.3
C-10, C-10'	140.6	140.3	140.9	144.4
C-11, C-11'	115.0	116.2	116.4	114.9
C-12, C-12'	130.1	129.5	130.1	129.3
C-13, C-13'	123.3	124.7	125.8	128.6
C-14, C-14'	116.7	123.0	119.8	121.8
C α	26.6	26.5	26.4	26.2
C β	31.2	31.0	31.1	30.8
C γ	27.7	27.7	27.6	27.3
C δ	13.5	13.5	13.5	13.5
C-15, C-15'		20.7		

Los compuestos **2.5-2.8** en el espectro de RMN de ^{13}C presentan señales en 26, 31, 27 y en 13.5 ppm las cuales fueron asignadas a los carbonos C_α , C_β , C_γ y C_δ , respectivamente, de los grupos butilo. El complejo **2.6** presenta una señal simple en 20.7 ppm, la cual se asignó a los carbonos de los grupos metilos del aminofenol (C-15). La asignación de los átomos de carbono es similar a la descrita para los complejos **2.1-2.3** y los datos se encuentran resumidos en la Tabla 8.

IV.2.1.3 Caracterización de los complejos 2.1-2.9 por RMN de ^{119}Sn .

Los desplazamientos químicos de RMN de ^{119}Sn para los compuestos **2.1-2.7** se encuentran entre -388.9 a -404.5 ppm, (Tabla 9) estos valores sugieren la formación de especies heptacoordinadas en solución, ya que de acuerdo con lo descrito en la literatura para compuestos de estaño con número de coordinación siete se esperan desplazamientos desde -400 ppm.^[34]

Tabla 9

Datos de RMN de ^{119}Sn de los compuestos **2.1-2.9**

Compuestos	δ : ppm	Compuesto	δ : ppm
2.1	-398.2	2.5	-404.5
2.2	-392.8	2.6	-401.6
2.3	-388.9	2.7	-397.5
2.4	-	2.8	-400.9
		2.9	-

Para los compuestos **2.4** y **2.9** no se realizaron las determinaciones por RMN de ^1H , ^{13}C y ^{119}Sn debido a la pobre solubilidad en los disolventes conocidos. Sin embargo, se realizaron estudios de RMN en el estado sólido ^{13}C -CPMAS y los desplazamientos químicos se describen en la parte experimental.

IV.2.1.4 Espectrofotometría de infrarrojo.

Los espectros de IR para **2.1-2.9** muestran bandas de absorción $\nu_{C=N}$ entre 1561 y 1594 cm^{-1} . (Tabla 10) Estas bandas se desplazan aproximadamente 30 y 60 cm^{-1} a frecuencias bajas con respecto a las bases de Schiff (1624-1627) esta diferencia se ha asociado con el desplazamiento de la densidad electrónica del átomo de nitrógeno de la imina hacia el átomo de estaño.^[61] Adicionalmente, aparecen dos bandas de absorción en el infrarrojo lejano, la primera de intensidad media entre 438 y 423 cm^{-1} la cual pertenece a la vibración $\nu_{N \rightarrow Sn}$. La segunda banda de intensidad media aparece entre 586 y 564 cm^{-1} , la cual se asignó a la vibración ν_{Sn-O} , estos valores son similares a los descritos para complejos hexacoordinados de estaño derivados de bases de Schiff.^[67] Además, entre 631 y 646 cm^{-1} aparece una banda que corresponde a la vibración ν_{Sn-C} y es análoga a la encontrada en compuestos triorganoestaño derivados de dipéptidos.^[22]

Tabla 10

Datos de los espectros de IR de los compuestos **2.1-2.9**

Compuesto	$\nu_{C=N}$	ν_{Sn-C}	ν_{Sn-O}	$\nu_{N \rightarrow Sn}$
2.1	1565	630	569	437
2.2	1575	635	-	438
2.3	1569	635	-	437
2.4	1594	646	586	-
2.5	1568	633	564	436
2.6	1573	635	-	430
2.7	1568	637	579	432
2.8	1570	631	578	423
2.9	1561	633	565	-

ν (cm^{-1})

IV.2.1.5 Espectrometría de masas.

La espectrometría de masas para los complejos **2.1-2.9** mostró el ion molecular correspondiente a especies monoméricas, además se detectaron los iones fragmento $C_5H_3N-(CH=N-C_6H_4R_1)_2SnR_2^+$, $C_5H_3N-(CH=N-C_6H_4R_1)_2Sn^+$, todos los complejos presentan un patrón de fragmentación similar.

IV.2.1.6 Difracción de rayos-X para los complejos 2.5, 2.6 y 2.9.

Para los complejos **2.5, 2.6 y 2.9** se obtuvieron cristales adecuados para su estudio por difracción de rayos-X, los complejos **2.5 y 2.6** cristalizaron en una solución de diclorometano y el complejo **2.9** en una mezcla de diclorometano/metanol. Todos los complejos cristalizaron en el sistema cristalino monoclinico y en los grupos espaciales $P2_1/n$ o $C2/c$. Los datos cristalinos, las distancias y ángulos selectos se encuentran en las tablas 11, 12, 13 y 14. En las estructuras moleculares (Figuras 8, 9 y 10) se puede observar que la geometría alrededor del átomo de estaño es una bipirámide pentagonal distorsionada donde dos átomos de oxígeno y tres átomos de nitrógeno forman el plano ecuatorial mientras que los dos grupos butilo o fenilo se encuentran en las posiciones axiales. El complejo **2.5** muestra 2 moléculas en la unidad asimétrica mientras que **2.9** cristalizó con una molécula de disolvente.

Los ángulos de enlace en los complejos **2.5, 2.6 y 2.9** son $C(23)-Sn(1)-(C27)/C(53)-Sn(2)-C(57)$ $169.3(3)/171.1(3)$ Å, $C(25)-Sn(1)-C(29)$ $176.0(3)$ Å y $C(23)-Sn(1)-C(29)$ $174.1(1)$ Å respectivamente, estos valores indican que la bipirámide pentagonal esta distorsionada. Esta distorsión también se puede observar en los valores de los ángulos que forman el plano ecuatorial, los cuales se encuentran en el intervalo de 66.4 a 84.1° en todos los casos, siendo el ángulo O-Sn-O el más grande y el menor N-Sn-N.

Para **2.5** las distancias N(1)-Sn(1)/N(31)-Sn(2), N(9)-Sn(1)/N(39)-Sn(2) y N(16)-Sn(1)/N(46)-Sn(2) son 2.411(5)/2.427(5) Å, 2.427(5)/2.395(5) Å y 2.426(5)/2.424(5) Å respectivamente. Estas distancias son menores que la suma de los radios de Van der Waals (3.75 Å) pero mayores que la suma de los radios covalentes (2.15 Å)^[88] indicando la formación de enlaces de coordinación N→Sn.

Para el complejo **2.6** las distancias N(1)-Sn(1), N(9)-Sn(1) y N(16)-Sn(1) son 2.408(5) Å, 2.404(5) Å y 2.438(5) Å y no difieren significativamente de las encontradas en el compuesto **2.5**.

Para el complejo **2.9** las distancias N(1)-Sn, N(8)-Sn y N(10)-Sn son 2.386(2) Å, 2.363(2) Å y 2.421(2) Å, las cuales son ligeramente menores que las que presentan los complejos **2.5** y **2.6**, este hecho puede atribuirse a las diferencias en electronegatividad entre los sustituyentes butilo y fenilo^[89] unidos al átomo de estaño(IV).

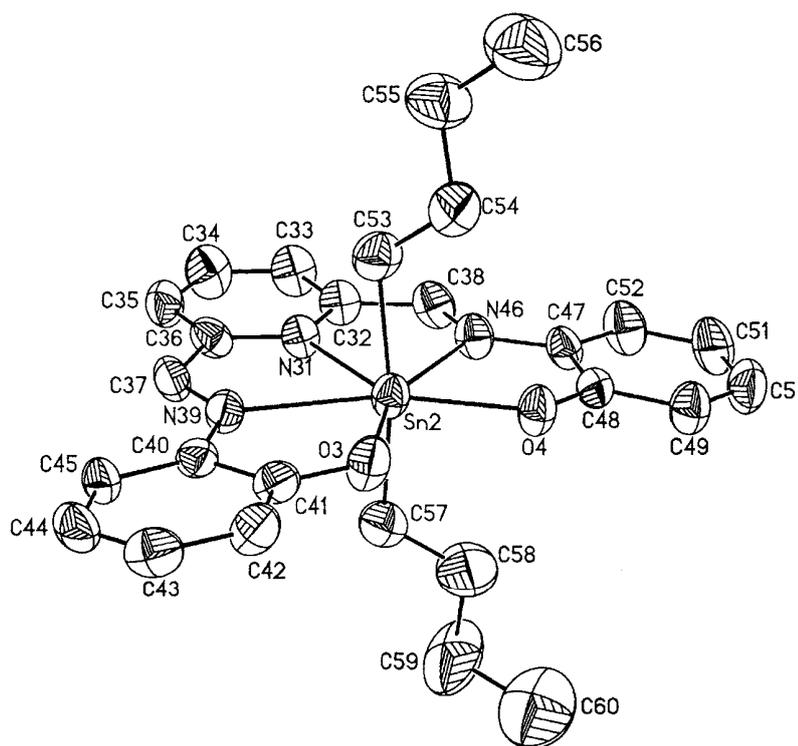
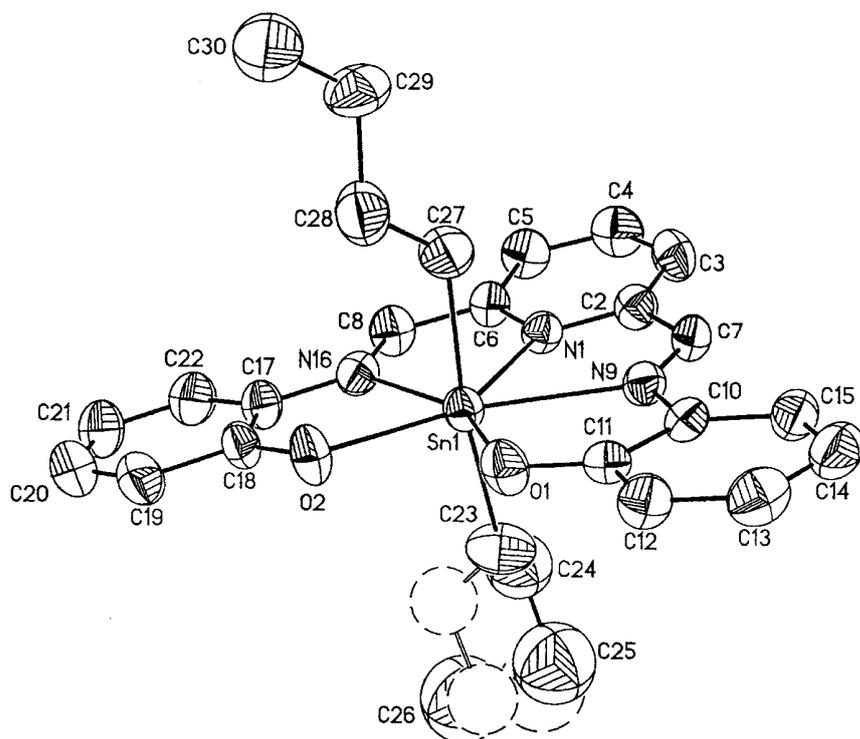
Las distancias Sn(1)-O(1)/Sn(2)-O(2) para el complejo **2.5** son 2.172(4)/2.160(4) Å y Sn(2)-O(3)/Sn(2)-O(4) 2.166(4)/2.157(4) Å mientras que para **2.6** y **2.9** las distancias Sn(1)-O(1) y Sn(1)-O(2) son 2.160(4) Å, 2.187(4) Å y 2.131(2) Å, 2.157(2) Å, respectivamente, en este último caso estas distancias son ligeramente menores que la de los complejos **2.5** y **2.6**.

Las distancias Sn-C para **2.5**, **2.6** y **2.9** se encuentran en el intervalo de 2.128 a 2.156 Å y están de acuerdo con las distancias descritas en la literatura para compuestos heptacoordinados de estaño(IV) que contienen ligantes pentadentados.^[90, 71,72,74]

Tabla 11. Datos cristalográficos para 2.5, 2.6 y 2.9.

	2.5	2.6	2.9
<i>Datos del compuesto</i>			
Fórmula	C ₅₄ H ₃₂ N ₆ O ₄ Sn ₂	C ₃₀ H ₃₇ Cl ₂ N ₃ O ₂ Sn	C ₃₁ H ₂₃ N ₃ O ₂ Sn,CH ₄ O
PM (g/mol ⁻¹)	1096.88	661.22	620.26
Tamaño (mm)	0.35x0.32x0.05	0.38x0.33x0.05	0.29x0.22x0.10
Color	rojo	rojo	rojo
<i>Datos del cristal</i>			
Sistema cristalino	monoclínico	monoclínico	monoclínico
Grupo espacial	P2 ₁ /n	C2/c	P2 ₁ /n
<i>Parámetros de celda</i>			
a (Å)	19.666(1)	21.342(1)	12.285(1)
b (Å)	14.099(1)	14.816(1)	14.855(1)
c (Å)	19.897(1)	22.084(1)	15.763(1)
α (°)	90	90	90
β (°)	112.71(1)	115.17(1)	108.72(1)
γ (°)	90	90	90
V (Å ³)	5089.6(4)	6320.3(7)	2724.5(4)
Z	8	4	4
ρ (g/cm ³)	1.431	1.390	1.512
<i>Datos de colección</i>			
Intervalo de θ para datos de colección.(°)	1.82-25.0	1.73-24.99	2.22-25.37
No. Reflex. colectadas.	41037	25535	22497
No. Reflex. Independ (R _{int}).	8951(0.0777)	5572(0.0964)	4960(0.0338)
Datos	8951	5572	4960
No. Parámetros	596	401	391
<i>Refinamiento</i>			
GOOF	0.966	0.960	1.057
Índices finales			
R [>2σ(I)] (R ₁ /wR ₂)	0.061	0.061	0.031
Índices finales (todos los datos) ((R ₁ /wR ₂)	0.101	0.111	0.077

A



B

Figura 8. Perspectiva molecular de 2.5.

Tabla 12. Distancias y ángulos de enlace selectos para 2.5

Distancias (Å)

A		B	
Sn(1)-O(1)	2.172(4)	Sn(2)-O(3)	2.166(4)
Sn(1)-O(2)	2.160(4)	Sn(2)-O(4)	2.157(4)
Sn(1)-C(23)	2.128(7)	Sn(2)-C(53)	2.139(6)
Sn(1)-C(27)	2.156(6)	Sn(2)-C(57)	2.148(7)
Sn(1)-N(1)	2.411(5)	Sn(2)-N(31)	2.427(5)
Sn(1)-N(9)	2.395(5)	Sn(2)-N(39)	2.399(5)
Sn(1)-N(16)	2.426(5)	Sn(2)-N(46)	2.424(5)
C(11)-O(1)	1.307(7)	C(41)-O(3)	1.320(7)
C(18)-O(2)	1.307(7)	C(48)-O(4)	1.306(7)
C(10)-N(9)	1.400(7)	C(47)-N(46)	1.397(7)
C(17)-N(16)	1.399(7)	C(40)-N(39)	1.387(7)
C(7)-N(9)	1.287(7)	C(37)-N(39)	1.271(7)
C(8)-N(16)	1.288(7)	C(38)-N(46)	1.272(7)

Ángulos (°)

C(23)-Sn(1)-C(27)	169.3(3)	C(53)-Sn(2)-C(57)	170.1(3)
O(1)-Sn(1)-O(2)	84.1(2)	O(3)-Sn(2)-O(4)	82.2(2)
O(1)-Sn(1)-N(9)	71.9(2)	O(3)-Sn(2)-N(39)	72.1(2)
O(2)-Sn(1)-N(16)	71.3(2)	O(4)-Sn(2)-N(46)	71.8(2)
O(1)-Sn(1)-N(1)	138.1(2)	O(3)-Sn(2)-N(31)	138.1(2)
O(2)-Sn(1)-N(1)	137.7(2)	O(4)-Sn(2)-N(31)	137.6(2)
N(9)-Sn(1)-N(16)	132.7(2)	N(39)-Sn(2)-N(46)	131.9(2)
N(9)-Sn(1)-N(1)	66.2(2)	N(39)-Sn(2)-N(31)	66.0(2)
N(1)-Sn(1)-N(16)	66.3(2)	N(31)-Sn(2)-N(46)	65.9(2)
N(1)-Sn(1)-C(23)	88.7(2)	N(31)-Sn(2)-C(53)	84.5(2)
N(1)-Sn(1)-C(27)	81.0(2)	N(31)-Sn(2)-C(57)	86.1(2)

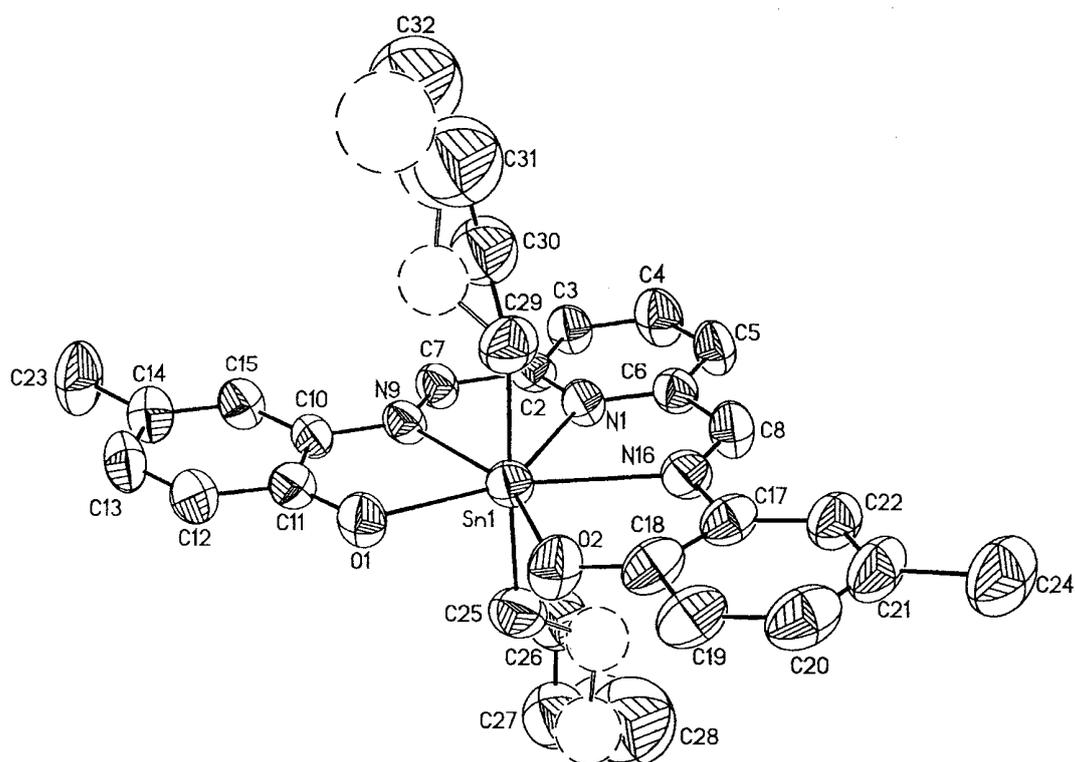


Figura 9. Perspectiva molecular de 2.6.

Tabla 13. Distancias y ángulos de enlace selectos para 2.6

Distancias (Å)		Ángulos (°)	
Sn(1)-O(1)	2.160(4)	C(25)-Sn(1)-C(29)	176.0(3)
Sn(1)-O(2)	2.187(4)	O(1)-Sn(1)-O(2)	84.6(2)
Sn(1)-C(25)	2.144(7)	O(1)-Sn(1)-N(9)	71.6(2)
Sn(1)-C(29)	2.136(7)	O(2)-Sn(1)-N(16)	71.4(2)
Sn(1)-N(1)	2.408(5)	O(1)-Sn(1)-N(1)	137.9(2)
Sn(1)-N(9)	2.404(5)	O(2)-Sn(1)-N(1)	137.4(2)
Sn(1)-N(16)	2.438(5)	N(9)-Sn(1)-N(16)	132.3(2)
C(11)-O(1)	1.321(7)	N(9)-Sn(1)-N(1)	66.2(2)
C(18)-O(2)	1.315(7)	N(1)-Sn(1)-N(16)	66.1(2)
C(10)-N(9)	1.383(7)	N(1)-Sn(1)-C(25)	88.9(2)
C(17)-N(16)	1.402(7)	N(1)-Sn(1)-C(29)	87.3(3)
C(7)-N(9)	1.275(7)	C(29)-Sn(1)-N(9)	90.9(3)
C(8)-N(16)	1.284(7)	C(25)-Sn(1)-N(9)	88.8(3)

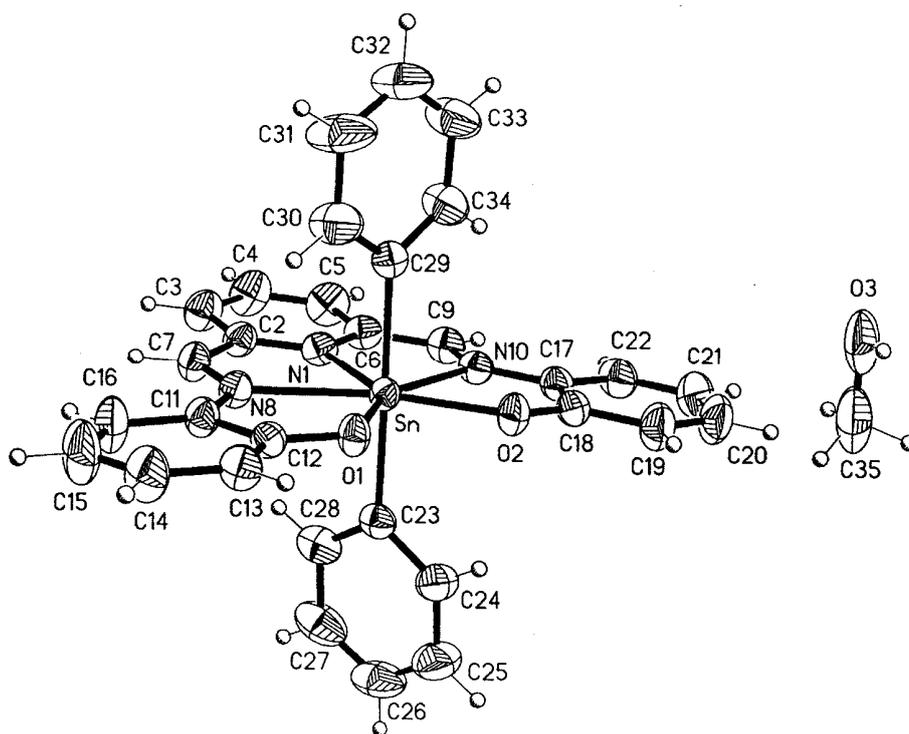


Figura 10. Perspectiva molecular de 2.9.

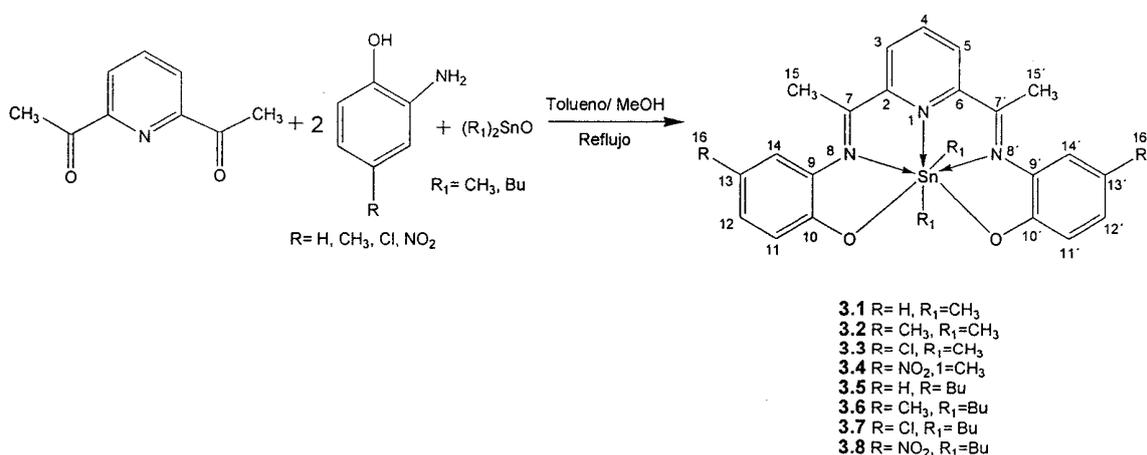
Tabla 14. Distancias y ángulos de enlace selectos para 2.9

Distancias (Å)		Ángulos (°)	
Sn-O(1)	2.131(2)	C(23)-Sn-C(29)	174.1(1)
Sn-O(2)	2.157(2)	O(1)-Sn-O(2)	82.2(7)
Sn-C(23)	2.155(3)	O(1)-Sn-N(8)	73.0(7)
Sn-C(29)	2.168(3)	O(2)-Sn-N(8)	155.2(8)
Sn-N(1)	2.386(2)	O(1)-Sn-N(1)	140.1(8)
Sn-N(8)	2.363(2)	O(2)-Sn-N(1)	137.5(7)
Sn-N(10)	2.421(2)	N(10)-Sn-N(8)	133.3(8)
C(12)-O(1)	1.324(3)	N(10)-Sn-N(1)	66.2(8)
C(18)-O(2)	1.311(3)	N(1)-Sn-N(8)	67.1(8)
C(11)-N(8)	1.396(3)	N(1)-Sn-C(23)	88.1(1)
C(17)-N(10)	1.393(4)	N(1)-Sn-C(29)	86.3(9)
C(7)-N(8)	1.277(3)	C(23)-Sn-N(8)	153.6(8)
C(9)-N(10)	1.278(4)	C(29)-Sn-N(10)	86.0(9)

IV.3 Capítulo 3.

IV.3.1 Síntesis de bis(*N,N'*-di(2-hidroxilatofenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dimetil estaño (3.1), bis(*N,N'*-di(2-hidroxilato-5-metilfenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dimetil estaño (3.2), bis(*N,N'*-di(2-hidroxilato-5-clorofenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dimetil estaño (3.3), bis(*N,N'*-di(2-hidroxilato-5-nitrofenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dimetil estaño (3.4), bis(*N,N'*-di(2-hidroxilatofenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dibutil estaño (3.5), bis(*N,N'*-di(2-hidroxilato-5-metilfenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dibutil estaño (3.6), bis(*N,N'*-di(2-hidroxilato-5-clorofenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dibutil estaño (3.7) y bis(*N,N'*-di(2-hidroxilato-5-nitrofenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dibutil estaño (3.8).

Los complejos 3.1-3.8 se obtuvieron en un solo paso por reacción de 2,6-diacetilpiridina con el aminofenol correspondiente y óxidos de estaño en una mezcla tolueno/metanol (4:1) con rendimientos entre 90 y 95%. (Esquema 6) Todos los complejos se caracterizaron por RMN de ^1H , ^{13}C , ^{119}Sn , espectrofotometría de infrarrojo, espectrometría de masas y en algunos casos por difracción de rayos-X.



Esquema 6.

IV.3.1.1 Caracterización de los compuestos 3.1-3.8 por RMN de ^1H .

De manera similar que en los compuestos **2.1-2.9** se realizó un análisis comparativo de los desplazamientos químicos de las bases de Schiff **1.1-1.4**, con respecto a los complejos **3.1-3.8**. Para los compuestos **3.1-3.3** y **3.5-3.8** la señal simple en el intervalo de 2.73 a 3.04 ppm corresponde al metilo unido carbono imínico (H-15). La señal doble H-3, H-5 de la piridina aparece entre 7.71 y 8.17 ppm, la cual se desplaza a menor frecuencia (~ 0.38 ppm) con respecto a las bases de Schiff.

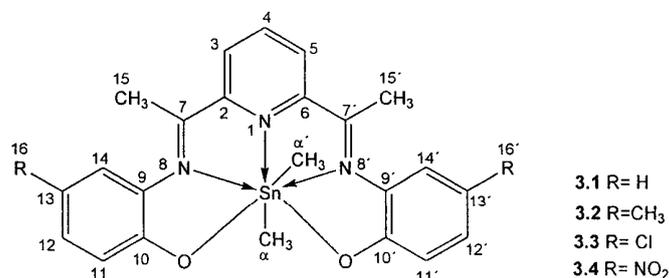
Sin embargo, el protón H-4 de la piridina de los compuestos **3.1-3.3** y **3.5-3.8** se desplaza a mayor frecuencia (~ 0.89 ppm) con respecto a las bases de Schiff, estas diferencias en el desplazamiento químico se atribuyen al enlace de coordinación entre el nitrógeno de la piridina y el átomo estaño ($\text{N} \rightarrow \text{Sn}$), este comportamiento es análogo al encontrado en los compuestos **2.1-2.3** y **2.5-2.8**, así como en los complejos pentacoordinados de estaño y silicio derivados de piridina.^[44,85]

En los espectros de RMN de ^1H de los compuestos **3.1-3.3** aparece una señal simple entre -0.31 y 0.10 ppm, la cual corresponde a los protones de los grupos metilo unidos al átomo de estaño(IV) (H_α). También se observan las señales satélite debidas al acoplamiento $^{119/117}\text{Sn}-^1\text{H}$, cuyos valores son $^2J(^1\text{H}-^{119}\text{Sn}) = 114$, 111.9 y 111.3 Hz, respectivamente, y para el acoplamiento $^2J(^1\text{H}-^{117}\text{Sn})$ son de 107.2, 107.1 y 106.8 Hz, estos valores son muy similares a los valores encontrados en los compuestos **2.1-2.3**, los cuales están de acuerdo a lo descrito en la literatura para compuestos heptacoordinados de estaño(IV).^[75]

Para el complejo **3.2** aparece una señal simple en 2.54 ppm, la cual corresponde a los protones de los grupos metilo del aminofenol (H-16). La asignación de los protones es similar a la descrita para los complejos **2.1-2.3** y los datos se encuentran resumidos en la Tabla 15.

Tabla 15

Datos de RMN ^1H para los compuestos **3.1-3.3**



Compuesto	CH ₃ Sn	H-3,H-5	H-4	H-15	H-11	H-12	H-13	H-14
3.1	H _α : -0.31 (s) [114, 107.2]	7.78 (d) J = 7.8	7.97 (t) J = 7.4	2.73 (s)	7.03 (dd) J = 8.2,1.3	6.79 (td) J = 8.5,1.6	6.18 (td) J = 8.5,1.5	6.61 (dd) J = 8.3,1.3
3.2	H _α : 0.10 (s) [111.9, 107.1]	7.97 (d) J = 7.9	8.22 (t) J = 7.7	2.86 (s)	a	7.04 (s)		7.17 (s)
3.3	H _α : 0.11 (s) [111.3, 106.8]	8.05 (d) J = 7.8	8.28 (t) J = 7.8	2.88 (s)	7.16 (d) J = 8.4,2.4	7.03 (s)		7.35 (s)

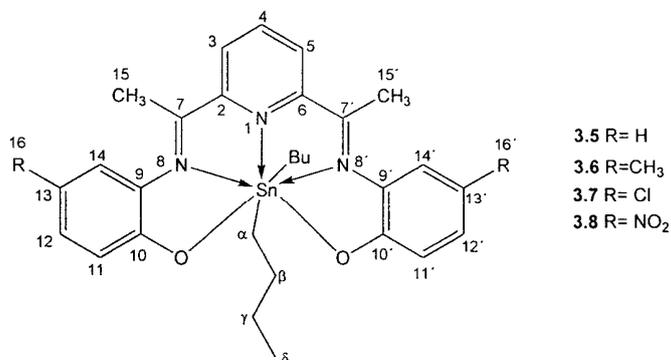
a) La señal se encuentra traslapada con la del disolvente. El desplazamiento químico está en ppm con respecto al TMS, las constantes de acoplamiento $^nJ=(^1\text{H}-^{119/117}\text{Sn})$ están entre corchetes.

s: singulete; d: doblete; t: triplete; dd: doble de dobles; td: triple de dobles; m: multiplete; y $|J|$ Hz.

En el espectro de RMN de ^1H de los compuestos **3.5-3.8** en la región alifática aparecen señales múltiples entre 0.68 y 0.94 ppm que corresponden a los grupos metileno (H_{α-γ}), a frecuencia menor aparece la señal triple la cual corresponde a los metilos de los grupos butilo unido al átomo de estaño(IV) (H_δ). El complejo **3.6** presenta una señal simple en 2.27 ppm, la cual se asignó a los protones de los grupos metilos del aminofenol (H-16). La asignación de los protones restantes es muy similar a los encontrados para los complejos **3.1-3.3** y se encuentran en la Tabla 16.

Tabla 16

Datos de RMN ^1H para los compuestos 3.5-3.8



Compuesto	nBuSn	H-3,H-5	H-4	H-15	H-11	H-12	H-13	H-14
3.5	H _δ : 0.48 (t) J = 6.8 H _{α,β,γ} : 0.71-0.94 (m)	7.99 (d) J = 7.8	8.24 (t) J = 7.5	2.88 (s) J = 8.2, 1.3	7.35 (dd) J = 8.2, 1.6	7.22 (td) J = 8.3, 1.6	6.56 (td) J = 8.5, 1.6	7.13 (dd)
3.6	H _δ : 0.48 (t) J = 6.8 H _{α,β,γ} : 0.68-0.94 (m)	7.96 (d) J = 7.8	8.22 (t) J = 7.7	2.88 (s)	a	7.04 (s)		7.16 (s)
3.7	H _δ : 0.50 (t) J = 5.7 H _{α,β,γ} : 0.71-0.94 (m)	8.04 (d) J = 7.8	8.28 (t) J = 8.3	2.88 (s) J = 8.9, 2.0	7.33 (dd) J = 8.9	7.04 (d)		7.15 (d) J = 8.9
3.8	H _δ : 0.52 (t) J = 6.7 H _{α,β,γ} : 0.68-0.85 (m)	8.23 (d) J = 7.8	8.45 (t) J = 8.3	3.04 (s) J = 7.5	7.16 (d) J = 9.3	7.10 (d)		8.18 (dd) J = 9.3, 2.6

a) La señal se encuentra traslapada con la del disolvente.

s: singulete; d: doblete; t: triplete; dd: doble de dobles; m: multiplete; y |J| Hz.

IV.3.1.2 Caracterización de los compuestos 3.1-3.8 por RMN de ^{13}C .

A diferencia de los complejos **2.1-2.3** y **2.5-2.8** los espectros de RMN de ^{13}C de los complejos **3.1-3.3** y **3.5-3.8** presentan una señal entre 18.8 y 19.3 ppm la cual fue asignada a los metilos unidos al carbono imínico (C-15).

Los espectros de RMN de ^{13}C de los compuestos **3.1-3.3** y **3.5-3.8** muestran las señales para los C-10, C-4 y C-2 entre 149.7-151.0, 131.5-135.6 y 150.6-151.9 ppm, respectivamente. El análisis comparativo de desplazamientos químicos con respecto al ligante indicó una protección de ($\Delta\delta = 4, 6$ y 4 ppm) para C-10, C-4 y C-2, respectivamente, mientras que el carbón imínico (C-7) de los compuestos antes mencionados se desplaza a frecuencias altas aproximadamente ($\Delta\delta = 9$ ppm) con respecto a los ligantes **1.1-1.4**, estas diferencias también se observaron en los complejos **2.1-2.3** y **2.5-2.8** (ver Pág.31) y se han atribuido a la presencia del enlace de coordinación $\text{N} \rightarrow \text{Sn}$ entre el nitrógeno de la piridina y el estaño.^[44]

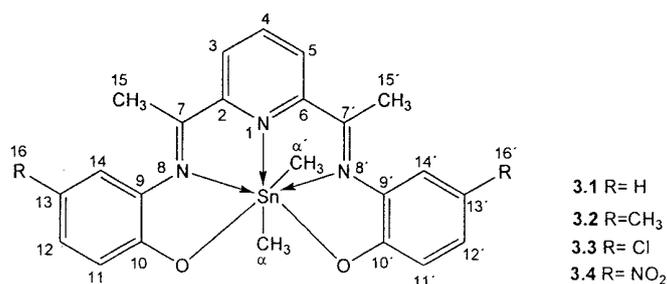
Para los compuestos **3.1-3.3** se observa una señal entre 12.3 y 12.5 ppm que corresponde a los grupos metilo unidos al átomo de estaño(IV) (C_α). Además, para el compuesto **3.3** se aprecian las señales satélite debidas al acoplamiento $J(^{119/117}\text{Sn}-^{13}\text{C})$ con el ^{13}C de los grupos metilo (C_α), dichos valores son $^1J(^{119}\text{Sn}-^{13}\text{C}) = 1200$ Hz y $^1J(^{117}\text{Sn}-^{13}\text{C}) = 1155$ Hz, estos valores son muy similares a los encontrados en el compuesto **2.2** y están de acuerdo con los datos de la literatura (ver Pág. 31). Adicionalmente, para el C-11 del compuesto **3.3** se observó la señal satélite debida al acoplamiento $^nJ(^{119}\text{Sn}-^{13}\text{C})$ la cual tiene un valor de 557 Hz.

El complejo **3.2** presenta una señal simple en 20.9 ppm, la cual se asignó a los carbonos de los grupos metilos del aminofenol (C-16). La asignación de los átomos de carbono es similar a la descrita para los complejos **2.1-2.3** y los datos se encuentran resumidos en la Tabla 17.

Con el valor de las constantes de acoplamiento y utilizando la ecuación 1 (Capítulo 2) se calculo el ángulo C-Sn-C en solución del complejo **3.3**, el cual tiene un valor de 182° indicando que la geometría de bipirámide pentagonal ideal esta ligeramente distorsionada y es similar al del compuesto **2.2**.

Tabla17

Datos de RMN de ^{13}C de los compuestos **3.1-3.3**

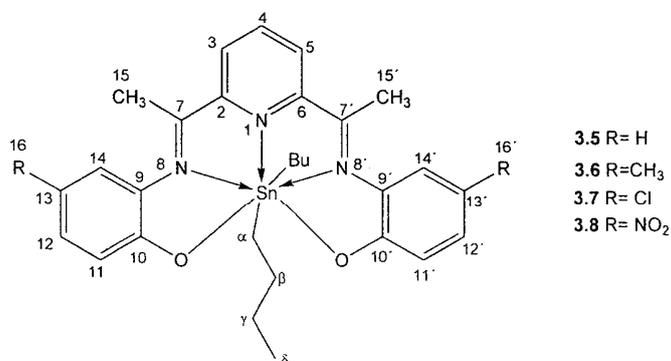


Compuestos	3.1	3.2	3.3
C-2, C-6	151.5	150.6	151.8
C-3, C-5	124.1	123.3	123.2
C-4	131.5	133.3	132.1
C-7, C7'	164.7	163.2	163.6
C-9, C-9'	141.3	140.8	141.3
C-10, C-10'	149.8	149.8	150.3
C-11, C-11'	113.7	122.1	118.6[557]
C-12, C-12'	130.8	130.6	131.0
C-13, C-13'	123.0	128.2	124.2
C-14, C-14'	121.5	122.9	122.4
C α	12.3	12.5	12.5[1200, 1155]
C-15, C-15'	18.8	19.0	19.0
C-16,C-16'		20.9	

El desplazamiento químico esta en ppm con respecto al TMS, las constantes de acoplamiento $^nJ=(^{13}\text{C}-^{119/117}\text{Sn})$ están entre corchetes.

Tabla 18

Datos de RMN de ^{13}C de los compuestos **3.5-3.8**



Compuestos	3.5	3.6	3.7	3.8
C-2, C-6	151.2	151.3	151.9	155.5
C-3, C-5	123.3	122.8	123.1	125.3
C-4	132.0	133.2	131.9	135.1
C-7, C7'	166.1	164.0	164.5	171.4
C-9, C-9'	140.8	140.6	141.2	142.2
C-10, C-10'	150.5	149.7	151.0	150.6
C-11, C-11'	113.5	121.9	118.0	120.0
C-12, C-12'	131.6	130.8	131.5	130.0
C-13, C-13'	122.9	123.0	123.9	127.9
C-14, C-14'	122.3	122.4	122.2	121.5
C α	26.5	26.5	26.4	26.2
C β	31.6	31.5	31.7	31.9
C γ	28.0	28.0	28.0	28.0
C δ	13.6	13.5	13.6	13.5
C-15, C-15'	19.0	19.0	19.0	19.3
C-16, C-16'		20.7		

Los compuestos **3.5-3.8** en su espectro de RMN de ^{13}C muestran señales en 26, 31, 28 y 13.ppm, para los carbonos C_α , C_β , C_γ y C_δ respectivamente las cuales se asignaron a los metilenos y al grupo metilo de los grupos butilo unidos al átomo de estaño(IV). El complejo **3.6** presenta una señal simple en 20.7 ppm, la cual se asignó a los carbonos de los grupos metilos del aminofenol (C-16). La asignación de los átomos de carbono es similar a la descrita para los complejos **2.5-2.8** y los datos se encuentran resumidos en la Tabla 18.

IV.3.1.3 Caracterización de los complejos 3.1-3.8 por RMN ^{119}Sn .

Los desplazamientos químicos de RMN de ^{119}Sn para los compuestos **3.1-3.3** y **3.5-3.8** se encuentran entre -376.2 y -398.2 ppm, (Tabla19) los cuales indican que los complejos son especies heptacoordinadas y probablemente poseen una geometría de bipirámide pentagonal en solución, estos valores son similares a los encontrados para los complejos **2.1-2.3** y **2.5-2.8**, los cuales están de acuerdo con los datos de la literatura.^[34]

Tabla 19

Datos de RMN de ^{119}Sn de los compuestos **3.1-3.8**

Compuesto	δ : ppm	Compuesto	δ : ppm
3.1	-388.6	3.5	-398.2
3.2	-381.1	3.6	-396.3
3.3	-376.2	3.7	-392.1
3.4	-	3.8	-392.4

Para el compuestos **3.4** no se realizaron las determinaciones por RMN de ^1H , ^{13}C y ^{119}Sn debido a la poca solubilidad en los disolventes conocidos. Sin embargo, se realizaron estudios de RMN en el estado sólido ^{13}C -CPMAS y los desplazamientos químicos se describen en la parte experimental.

IV.3.1.4 Espectrofotometría de Infrarrojo.

Los espectros de IR para los complejos **3.1-3.8** muestran bandas de absorción $\nu_{C=N}$ entre 1581 y 585 cm^{-1} , estas bandas se desplazan aproximadamente entre 30 y 66 cm^{-1} a frecuencias bajas con respecto a las bases de Schiff lo que indica la coordinación del nitrógeno de la imina al átomo de estaño, este comportamiento está de acuerdo a lo descrito en la literatura^[61].

Adicionalmente, aparecen dos bandas de absorción en el infrarrojo lejano, la primera de intensidad media entre 437 y 424 cm^{-1} que se asignó a la vibración $\nu_{N \rightarrow Sn}$. La segunda banda aparece entre 587 y 573 cm^{-1} y corresponde a la vibración ν_{Sn-O} , estos valores concuerdan con los descritos en la literatura.^[67] (Tabla 20)

Además, entre 649 y 617 cm^{-1} aparece una banda que corresponde a la vibración ν_{Sn-C} , éstos valores son similares a los encontrados en compuestos triorganoestaño derivados de dipéptidos.^[22]

Tabla 20

Datos de los espectros de IR de los compuestos **3.1-3.8**

Compuesto	$\nu_{C=N}$	ν_{Sn-C}	ν_{Sn-O}	$\nu_{N \rightarrow Sn}$
3.1	1583	-	576	435
3.2	1585	617	587	424
3.3	1584	-	583	437
3.4	1581	649	574	432
3.5	1582	-	574	434
3.6	1584	617	587	432
3.7	1582	-	583	431
3.8	1581	649	574	432

ν (cm^{-1})

IV.3.1.5 Espectrometría de masas.

La espectrometría de masas para los complejos **3.1-3.8** mostró el ión molecular correspondiente para especies monoméricas, además los iones fragmento $C_5H_3N-(CH=N-C_6H_4R_1)_2SnR_2^+$, $C_5H_3N-(CH=N-C_6H_4R_1)_2Sn^+$, los cuales fueron detectados para todos los complejos. Todos los complejos presentan un patrón de fragmentación similar al de los complejos **2.1-2.9**.

IV.3.1.6 Difracción de rayos-X para los complejos 3.1 y 3.5.

Los complejos **3.1** y **3.5** cristalizaron en una solución de diclorometano y se obtuvieron cristales adecuados para su estudio por difracción de rayos-X, ambos complejos cristalizaron en el sistema cristalino monoclinico y en el grupo espacial C2/c. Los datos cristalinos, las distancias y ángulos selectos se encuentran en las tablas 21, 22 y 23. En las estructuras moleculares (Figuras 11 y 12) se puede observar que la geometría alrededor del átomo de estaño es una bipirámide pentagonal distorsionada donde dos átomos de oxígeno y tres átomos de nitrógeno forman el plano ecuatorial, mientras que, los dos grupos metilo o butilo se encuentran en las posiciones axiales. El complejo **3.5** muestra 1.5 moléculas en la unidad asimétrica debido a que en la molécula A el Sn(1), N(1) y C(4) se encuentran en posiciones especiales generando por simetría la mitad de la molécula B.

Los ángulos de enlace en los complejos **3.1**, y **3.5** son C(14)-Sn(1)-C(14a) 174.6(1) Å y C(14)-Sn(1)-(C14a)/ C(45)-Sn(2)-C(49) 175.3(4)/171.5(3) Å respectivamente, estos valores indican que la bipirámide pentagonal está distorsionada. Esta distorsión también se puede observar en los valores de los ángulos que forman el plano ecuatorial, los cuales se encuentran en el intervalo de 65.1 a 87.6° para todos los casos. El ángulo O-Sn-O es el más grande y el ángulo N-Sn-N es el menor.

Para el complejo **3.1** las distancias N(1)-Sn(1), N(7)-Sn(1) y N(7a)-Sn(1) son 2.409(2) Å, 2.444(2) Å y 2.444(2) Å, estas distancias son similares a las encontradas en el compuesto **2.5** y **2.6**, pero son ligeramente mayores que las distancias del complejo **2.9** y están de acuerdo con las encontradas en la literatura para compuestos heptacoordinados de estaño(IV).^[90, 71,72,74]

Para **3.5** las distancias N(1)-Sn(1)/N(21)-Sn(2), N(6)-Sn(1)/N(29)-Sn(2) y N(6a)-Sn(1)/N(36)-Sn(2) son 2.423(7)/2.419(6) Å, 2.443(5)/2.442(6) Å y 2.443(5)/2.429(6) Å, respectivamente. Estas distancias son menores que la suma de los radios de Van der Waals (3.75 Å)^[88] pero mayores que la suma de los radios covalentes (2.15 Å) indicando la formación de enlaces de coordinación N→Sn, y son similares a las distancias de los complejos **2.5**, **2.6** y **3.1** pero son ligeramente más grandes que las distancias encontradas en **2.9**, estas pequeñas diferencias se atribuyen a la electronegatividad de los sustituyentes unidos al átomo de estaño(IV).^[91]

Las distancias Sn(1)-O(1) y Sn(1)-O(1a) del complejo **3.1** son iguales y tienen un valor de 2.144(2) Å, mientras que para el complejo **3.5** las distancias Sn(1)-O(32)/Sn(1)-O(32a) son 2.162(4) Å y Sn(2)-O(2)/Sn(2)-O(3) 2.149(5)/2.132(4) Å, respectivamente, estas distancias están de acuerdo con las distancias encontradas en los complejos **2.5**, **2.6** y **2.9**.

Las distancias Sn-C de los complejos **3.1** y **3.5** tienen un valor de 2.127(2) y 2.125(6) Å, respectivamente, estas distancias están de acuerdo con el intervalo encontrado para los compuestos **2.5**, **2.6** y **2.9**, y concuerdan con los datos de la literatura.^[73]

Tabla 21. Datos cristalográficos para 3.1 y 3.5

	3.1	3.5
<i>Datos del compuesto</i>		
Fórmula	C ₂₃ H ₂₃ N ₃ O ₂ Sn	C ₈₈ H ₁₀₅ N ₉ O ₇ Sn ₃
PM (g/mol)	492.13	1756.88
Tamaño (mm)	0.40x0.26x0.16	0.36x0.16x0.15
Color	rojo	rojo
<i>Datos del cristal</i>		
Sistema cristalino	monoclínico	monoclínico
Grupo espacial	C2/c	C2/c
<i>Parámetros de celda</i>		
a (Å)	15.187(5)	29.041(1)
b (Å)	9.830(5)	18.130(1)
c (Å)	14.772(5)	17.304(1)
α (°)	90	90
β (°)	110.22	104.26
γ (°)	90	90
V (Å ³)	2069.3(14)	8830.5(7)
Z	4	6
ρ (g/cm ³)	1.580	1.322
<i>Datos de colección</i>		
Intervalo de θ para datos de colección	2.52-25.0	2.25-25.0
No. Reflex. colectadas.	8229	35692
No. Reflex. Independ. (R _{int}).	1824(0.0441)	7772(0.0855)
Datos.	1824	7772
No. Parámetros	135	489
<i>Refinamiento</i>		
GOOF	1.001	1.023
Indices finales		
R [I>2σ(I)] (R ₁ /wR ₂)	R ₁ =0.019	R ₁ =0.068
Indices finales	wR ₂ =0.052	wR ₂ =0.140
(todos los datos) (R ₁ /wR ₂)	0.020,0.052	0.109,0.140

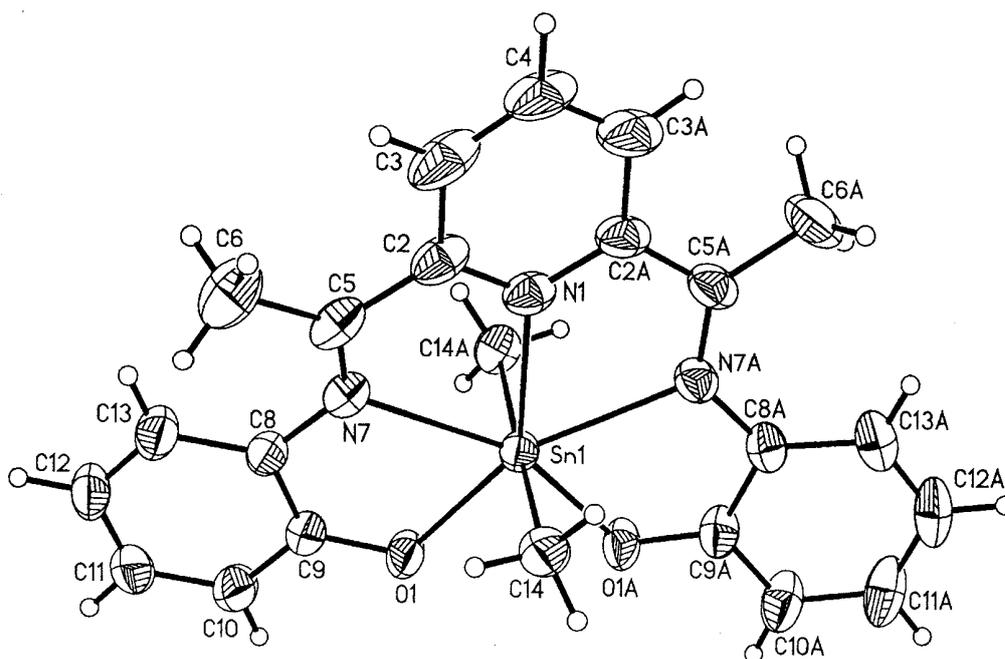


Figura 11. Perspectiva molecular de 3.1.

Tabla 22. Distancias y ángulos de enlace selectos para 3.1

Distancias (Å)		Ángulos (°)	
Sn(1)-O(1)	2.144(2)	C(14)-Sn(1)-C(14a)	174.6(1)
Sn(1)-O(1a)	2.144(2)	O(1)-Sn(1)-O(1a)	84.6(8)
Sn(1)-C(14)	2.127(2)	O(1)-Sn(1)-N(7)	71.5(6)
Sn(1)-C(14a)	2.127(2)	O(1a)-Sn(1)-N(7a)	71.5(6)
Sn(1)-N(1)	2.409(2)	O(1)-Sn(1)-N(1)	137.6(8)
Sn(1)-N(7)	2.444(2)	O(1a)-Sn(1)-N(1)	137.6(8)
Sn(1)-N(7a)	2.444(2)	N(7)-Sn(1)-N(7a)	132.1(9)
C(9)-O(1)	1.315(2)	N(7)-Sn(1)-N(1)	66.1(4)
C(9a)-O(1a)	1.315(2)	N(1)-Sn(1)-N(7a)	66.1(4)
C(8)-N(7)	1.391(3)	N(1)-Sn(1)-C(14)	87.3(5)
C(8a)-N(7a)	1.391(3)	N(1)-Sn(1)-C(14a)	87.3(5)
C(5)-N(7)	1.295(3)	C(14a)-Sn(1)-N(7)	89.0(8)
C(5a)-N(7a)	1.295(3)	C(14)-Sn(1)-N(7)	89.0(8)

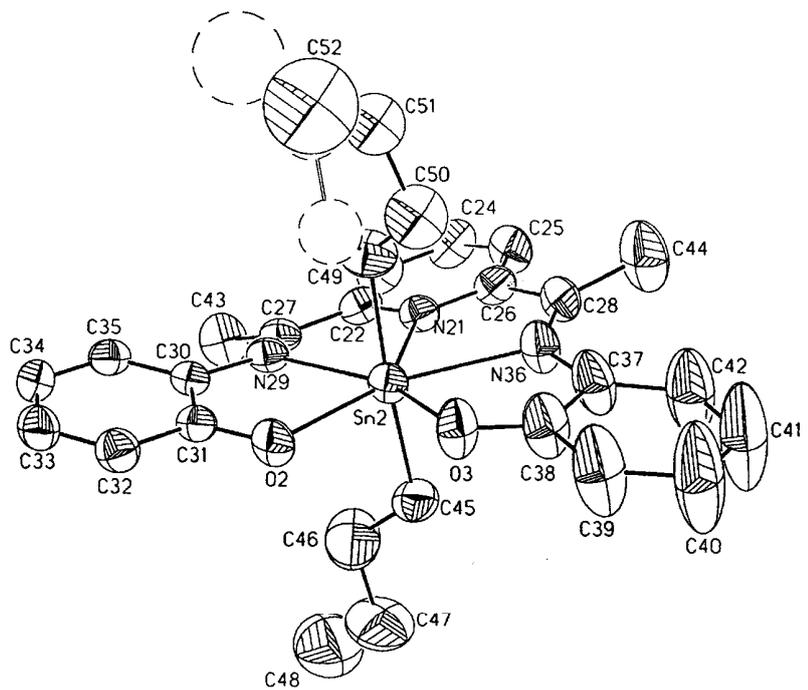
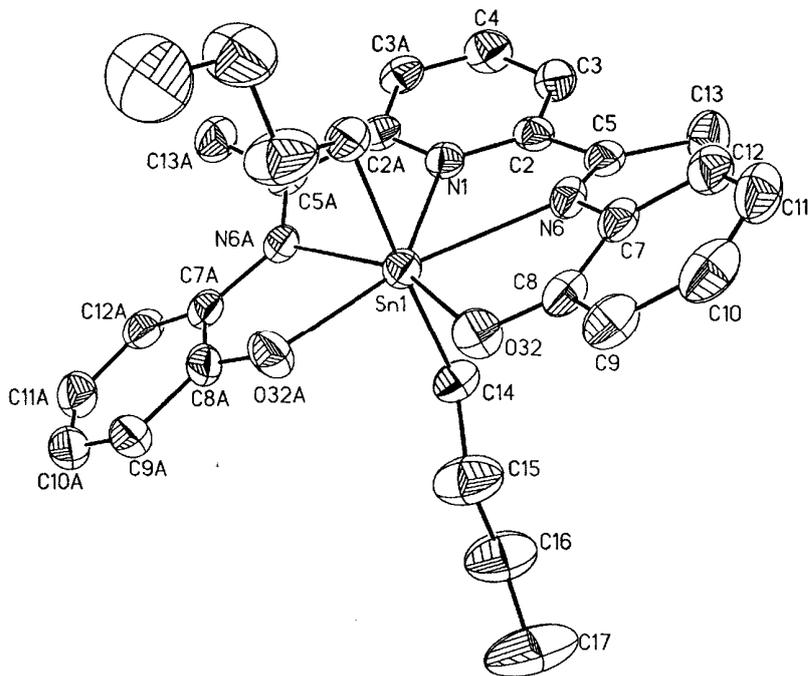
A

Figura 12. Perspectiva molecular de 3.5.

B

Tabla 23. Distancias y ángulos selectos para 3.5

Distancias (Å)

Sn(1)-O(32)	2.162(4)	Sn(2)-O(2)	2.149(5)
Sn(1)-O(32a)	2.162(4)	Sn(2)-O(3)	2.132(5)
Sn(1)-C(14)	2.125(6)	Sn(2)-C(45)	2.131(8)
Sn(1)-C(14a)	2.125(6)	Sn(2)-C(49)	2.105(8)
Sn(1)-N(1)	2.423(7)	Sn(2)-N(21)	2.419(6)
Sn(1)-N(6)	2.443(5)	Sn(2)-N(29)	2.442(6)
Sn(1)-N(6a)	2.443(5)	Sn(2)-N(36)	2.429(6)
C(8)-O(32)	1.294(8)	C(31)-O(2)	1.291(8)
C(8a)-O(32a)	1.294(8)	C(38)-O(3)	1.282(9)
C(7)-N(6)	1.409(8)	C(37)-N(36)	1.387(1)
C(7a)-N(6a)	1.409(8)	C(30)-N(29)	1.399(8)
C(5)-N(6)	1.284(8)	C(27)-N(29)	1.272(8)
C(5a)-N(6a)	1.284(8)	C(28)-N(36)	1.283(9)

Ángulos (°)

C(14)-Sn(1)-C(14a)	175.3(4)	C(45)-Sn(2)-C(49)	171.5(3)
O(32)-Sn(1)-O(32a)	87.6(3)	O(2)-Sn(2)-O(3)	84.6(2)
O(32)-Sn(1)-N(6)	71.0(2)	O(2)-Sn(2)-N(29)	71.6(2)
O(32a)-Sn(1)-N(6a)	71.0(2)	O(3)-Sn(2)-N(36)	72.4(2)
O(32)-Sn(1)-N(1)	136.2(2)	O(2)-Sn(2)-N(21)	136.8(2)
O(32a)-Sn(1)-N(1)	136.2(2)	O(3)-Sn(2)-N(21)	138.6(2)
N(6a)-Sn(1)-N(6)	130.3(3)	N(29)-Sn(2)-N(36)	131.5(2)
N(6a)-Sn(1)-N(1)	65.1(2)	N(29)-Sn(2)-N(21)	65.3(2)
N(1)-Sn(1)-N(6)	65.1(2)	N(21)-Sn(2)-N(36)	66.1(2)
N(1)-Sn(1)-C(14)	87.6(2)	N(21)-Sn(2)-C(45)	86.8(3)
N(1)-Sn(1)-C(14a)	87.6(2)	N(21)-Sn(2)-C(49)	85.0(3)

PARTE B

V. Actividad Biológica

Los compuestos pentacoordinados,^[64,92-93] hexacoordinados^[93] y algunos heptacoordinados de estaño(IV)^[39,41,76] poseen actividad citotóxica importante en células cancerosas de próstata, colon, mama, pulmón, sistema nervioso central, entre otras, algunos complejos pentacoordinados de estaño(IV) principalmente derivados de péptidos^[19,22-24] y bases nucleosídicas^[20] presentan actividad anti-inflamatoria. Sin embargo, los compuestos más estudiados son los de número de coordinación cinco, mientras que complejos con número de coordinación siete son escasos. Por lo que es importante contribuir al conocimiento de este tipo de sistemas, de acuerdo con lo expuesto anteriormente se realizaron las pruebas de actividad citotóxica y anti-inflamatoria a las nuevas moléculas sintetizadas en este trabajo. Por otra parte, en la literatura no existen informes de compuestos organoestaño(IV) que presenten actividad antioxidante por esta razón se realizó el estudio de dicha actividad.

V.1 Actividad citotóxica.

El término Citotoxicidad es muy amplio, ya que se usa tanto para medir efectos tóxicos específicos, inhibición del crecimiento celular o bien muerte celular. Dependiendo a que nivel de organización celular se quiera evaluar la citotoxicidad, hay un gran número de bioensayos^[94] los cuales varían en complejidad, especificidad y costo, como se muestra en la Tabla 24.

Tabla 24 Tipos de bioensayos.

Criterio de citotoxicidad	Parámetros Experimentales
Morfología Celular	<ol style="list-style-type: none"> 1. Tamaño de la célula 2. Contacto célula-célula 3. Número, tamaño, forma e inclusión de núcleos 4. Formación de vacuolas nucleares y citoplasmáticas
Viabilidad Celular	<ol style="list-style-type: none"> 1. Captación de colorantes vitales 2. Ensayo de Exclusión con azul de tripano 3. Cuenta de células viables 4. Eficiencia de clonación (remplantación)
Adhesión celular	<ol style="list-style-type: none"> 1. Adhesión de los cultivos a superficies 2. Desadhesión de cultivos a superficies 3. Adhesión célula—célula
Proliferación Celular	<ol style="list-style-type: none"> 1. Incremento en el número de células 2. Incremento en el DNA y RNA total 3. Incremento en el contenido de proteínas totales 4. Formación de colonias
Daño en la Membrana celular	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pérdida de enzimas citosólicas (LDH, GOT, GPT) 2. Pérdida de iones y cofactores 3. Salida de colorantes o isótopos en células precargadas
Recaptación / Incorporación	<ol style="list-style-type: none"> 1. timidina y síntesis de DNA 2. Uridina y síntesis de RNA 3. Síntesis de aminoácidos y proteínas
Efectos metabólicos	<ol style="list-style-type: none"> 1. Inhibición de la cooperatividad metabólica 2. Depleción de cofactores 3. Deterioro en la función mitocondrial

El cáncer es una enfermedad muy común, por lo que es difícil de definir, pero se dice que es un proceso de microevolución que se produce en una escala temporal de meses o años en una población de células, donde la mutación, la competencia y la selección natural son el ingrediente básico del cáncer.

Las células cancerosas se distinguen por 2 propiedades: (a) crecimiento incontrolable de las células que se originan en tejidos normales sin responder a los factores normales de regulación, (b) la propiedad de invadir y colonizar territorios normalmente reservados por otras células debido a la falta de adherencia mutua entre ellas. Se definen dos clases de tumores, en el caso de que las células neoplásicas permanezcan agrupadas en una masa única se dice que el tumor es benigno, y generalmente hay curación completa extrayendo la masa quirúrgicamente. Un tumor canceroso maligno es aquel que tiene la capacidad de invadir tejidos circundantes a través del torrente sanguíneo o vasos linfáticos y formar tumores secundarios o metástasis en otros lugares del cuerpo.^[95]

V.1.1.Descripción de los Resultados.

Para realizar los ensayos de citotoxicidad se tomaron en cuenta los complejos de estaño(IV) **2.5-2.8** (Figura 13), siendo estos los que presentaron mayor solubilidad en disolventes polares tales como etanol y a su baja toxicidad por tener grupos butilo unidos al átomo de estaño(IV). Las líneas celulares utilizadas en este estudio fueron: cáncer de colon (HTC-15), cáncer de mama (MCF-7), leucemia mieloblástica crónica (K-562), cáncer de glía del sistema nervioso central (U-251), cáncer de próstata (PC-3) y cáncer de pulmón (SKLU-1). Inicialmente se realizó un cernimiento primario en donde las células son expuestas a las sustancias a probar 5 μ M por 48h, el porcentaje de inhibición del crecimiento se determinó por el método colorimétrico usando como cromóforo a la sulforodamina B, la cual se une a las proteínas de las células viables. Los resultados indicaron que todos los complejos presentan actividad citotóxica, por lo que se procedió a determinar la

CI₅₀ (concentración del compuesto que produce un 50% de inhibición en la proliferación celular) para cada una de las líneas celulares antes mencionadas. Para lo cual se realizaron curvas de concentración vs respuesta llevando a cabo el procedimiento que se encuentra descrito en la parte experimental para cada uno de los puntos de la curva. Una vez obtenidos los resultados de las curvas del logaritmo de la concentración vs porcentaje de inhibición se graficaron. A cada gráfica se le aplicó una regresión lineal, obteniendo así su ecuación correspondiente y de esta se despejó el valor de la concentración a la cual se obtenía el 50% de inhibición de la siguiente forma:

$$CI^{50} = (50-b) / m$$

Adicionalmente, se determinó la CI₅₀ del *cis*-platino, un agente quimioterapéutico comúnmente utilizado en el tratamiento del cáncer, en la Tabla 25 se presentan los resultados obtenidos.

Tabla 25. Valores de CI₅₀ (μM) de los complejos **2.5-2.8**.

Compuesto	HTC-15 colon	MFC-7 mama	K-562 leucemia	U-251 SNC	PC-3 próstata	SKUL-1 pulmón
2.5	4.1±0.05	1.9±0.09	0.97±0.2	1.6±0.10	4.9±0.30	1.8±0.10
2.6	6.4±0.40	2.3±0.30	3.7±0.30	2.4±0.10	4.8±0.30	2.1±0.30
2.7	3.04±0.30	3.5±0.50	2.9±0.10	4.5±0.10	5.3±0.30	2.1±0.06
2.8	0.51±0.09	1.01±0.10	0.29±0.01	0.78±0.08	1.62±0.14	0.57±0.05
<i>cis</i> -platino	13.83±0.7	13.03±1.3	15.20±1.4	9.09±0.8	15.94±1.2	7.13±0.2

Los datos representan el promedio de n = 3-4 experimentos ± error estándar de la media.

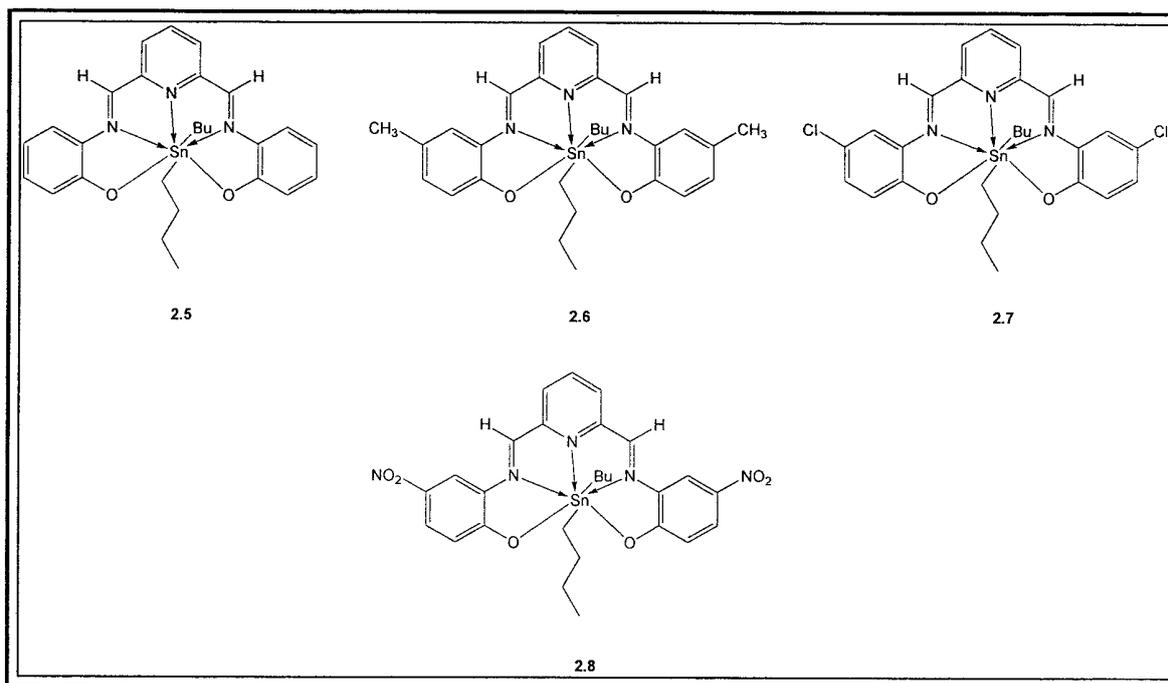


Figura 13.

De acuerdo con los valores de la Tabla 25, observamos que el complejo **2.8** que contiene un grupo nitro en posición *para* al oxígeno del anillo aromático es el que muestra la mayor actividad citotóxica contra la línea celular HTC-15 (cáncer de colon) la cual es 27 veces mayor que la del *cis*-platino, mientras que al cambiar el grupo nitro por un átomo de cloro **2.7** o hidrógeno **2.5**, la actividad disminuye aproximadamente 22 y 23 veces respectivamente. El complejo **2.6** resultó ser el menos activo frente a esta línea celular, pero su actividad es 2 veces mayor que el *cis*-platino.

Para la línea celular MFC-7 (cáncer de mama) se observa que el compuesto **2.8** presenta la mayor actividad citotóxica, la cual es 12.9 veces mayor que la del *cis*-platino, seguida por los complejos **2.5** y **2.6** cuya actividad citotóxica es de 6.8 y 5.6 veces mayor que el *cis*-platino. El complejo **2.7** resultó ser el menos activo contra esta línea celular, sin embargo, es 3.7 veces mayor que el *cis*-platino.

En la línea celular K-562 (leucemia mieloblástica crónica) se observa que el complejo **2.8** presenta la mayor actividad citotóxica, la cual es 52.4 veces mayor que la del *cis*-platino. Los complejos **2.5** y **2.7** también mostraron una actividad de aproximadamente 15.6 y 5.2 veces mayor con respecto al estándar. El complejo **2.6** resultó ser el menos activo frente a esta línea celular, pero su actividad es 4.1 veces mayor que la del *cis*-platino.

Para las líneas celulares U-251 (cáncer de glía del sistema nervioso central) y PC-3 (cáncer de próstata) el complejo **2.8** presenta la mayor actividad citotóxica, la cual es 11.6 y 9.8 veces mayor al valor del *cis*-platino. El complejo **2.7** es el menos activo contra estas dos líneas celulares, sin embargo, la actividad es mayor que el *cis* platino aproximadamente 2 veces para U-251 y 3 veces para PC-3.

Finalmente, para la línea celular SKLU-1 (cáncer de pulmón) el complejo **2.8** resultó ser el más activo (aproximadamente 12.5 veces que el *cis*-platino). Mientras que, los complejos **2.6** y **2.7** fueron los menos activos, pero su actividad es de 3.3 veces mayor que el del estándar.

Los resultados obtenidos de este estudio, muestran que para las seis líneas celulares probadas todos los complejos de estaño **2.5-2.8** presentaron mayor actividad citotóxica que el *cis*-platino. El compuesto **2.8** que contiene al grupo nitro en su estructura resultó ser el complejo más activo contra todas las líneas celulares probadas.

Al comparar los complejos **2.5-2.8** entre sí encontramos que el compuesto **2.7** muestra la menor actividad citotóxica para cuatro de las seis líneas celulares MFC-7, U-251 (cáncer de glía del sistema nervioso central), PC-3 (cáncer de próstata) y SKLU-1 (cáncer de pulmón), para esta última línea celular el complejo **2.6** presentó la misma actividad que el complejo **2.7**.

Con el análisis anteriormente expuesto no es posible establecer de manera evidente cual sustituyente o fragmento de la molécula es responsable de la actividad observada, por lo que es necesario llevar a cabo estudios de relación estructura-actividad. Por otro lado, el mecanismo de acción por el cual los complejos de estaño interactúan con las células se ha estudiado ampliamente pero no existe evidencia concluyente que permita explicar su mecanismo de acción. Algunas investigaciones sugieren que una interacción con el ADN a nivel del grupo fosfato podría estar relacionada con tal actividad.^[96-97] Otros estudios indican que la interacción con el ADN o fragmentos del mismo con halogenuros o carboxilatos de estaño dependen del pH, ya que se ha observado que a valores de pH = 7.4 dicha interacción no se detecta.^[98]

V.2 Actividad antioxidante

Un antioxidante se define como un compuesto químico que hallándose presente a bajas concentraciones con respecto a las de un sustrato oxidable, retarda o previene la oxidación de dicho sustrato.^[99] Estas sustancias deben estar presentes en el organismo en una concentración suficiente que permita prevenir el estrés oxidativo. El estrés oxidativo se define como la pérdida del equilibrio entre la producción de oxidantes y la actividad antioxidante del sistema fisiológico.

Existen varios métodos para evaluar la actividad antioxidante de moléculas, extractos o fracciones. Uno de ellos es un modelo químico en donde se emplea el radical libre estable DPPH (2,2-difenil picril hidracilo) que tiene un color violeta y un máximo de absorbancia a 517 nm cuando se encuentra en esta forma. Cuando este radical es reducido por una molécula donadora de un átomo de hidrógeno el DPPH pasa a su forma reducida DPPH-H perdiendo la coloración violeta y por consiguiente ya no absorbe a 517 nm.^[100] Otro modelo para evaluar la actividad antioxidante y que involucra un sistema biológico, es la medición de la inhibición de la peroxidación lipídica en cerebro de rata. La peroxidación de lípidos es

iniciada por el ataque de un radical libre que es generado en el medio mediante un inductor (FeSO_4 , H_2O_2 , etc). Después la propagación de la peroxidación termina con la formación de múltiples productos finales como el pentanal, hexanal, 4-hidroxinonenal y malonaldehído (MDA). Este último se utiliza justamente como un índice de estrés oxidativo. El MDA en pH ácido reacciona con el ácido tiobarbitúrico (TBA) para formar un cromóforo cuya absorbancia es medida a 532 nm. A mayor peroxidación de lípidos mayor MDA formado y por consiguiente mayor absorbancia a 532 nm. Este método es conocido como SRATB (sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico) ya que el TBA no es específico para el MDA y puede reaccionar con otros aldehídos, algunos azúcares y aminoácidos.^[101]

V.2.1 Descripción de los resultados.

V.2.1.1 Método del DPPH (2,2-difenil picril hidracilo).

Los compuestos **2.5-2.8** se evaluaron a tres concentraciones diferentes una sola vez usando DMSO como vehículo. El DMSO muestra un efecto mínimo sobre el radical DPPH ya que solamente lo reduce en un 2% con respecto al valor máximo de la concentración. El porcentaje de reducción de los complejos **2.5-2.7** es mayor al 50% por lo que se considera que estos compuestos reducen al radical DPPH no así el complejo **2.8** el cual tiene un valor menor al 50% de reducción. El cernimiento primario demuestra que los complejos **2.5-2.8** son dependientes de la concentración. Los resultados obtenidos del ensayo con el DPPH se muestran en la Tabla 26.

Para los complejos **2.5-2.7** se realizó un cálculo aproximado de la Cl_{50} ya que estos tienen la habilidad para reducir al radical DPPH y se encontró que el complejo **2.6** exhibe la mejor actividad antioxidante seguido del complejo **2.5**, el cual presenta una actividad similar a **2.6**, por último el compuesto **2.7** presenta la menor actividad antioxidante.

Aun cuando los complejos **2.5-2.7** muestran actividad antioxidante esta es mucho menor a la del α -tocoferol el cual se utilizó como referencia, los valores de CI_{50} calculados confirman lo mencionado anteriormente. El compuesto **2.8** no presenta actividad sobre este radical.

Tabla 26. Porcentaje de Reducción del radical DPPH.

Compuesto	Concentración (μ M)	D.O 515 nm	% reducción del DPPH	CI_{50} (μ M)
DPPH	-	0.801	-	-
2.5	1	0.726	7.41	58.6
	10	0.682	15.15	
	100	0.293	63.21	
2.6	1	0.742	9.32	58.53
	10	0.68	14.86	
	100	0.295	63.46	
2.7	1	0.723	9.74	96.87
	10	0.982	14.86	
	100	0.349	56.39	
2.8	1	0.643	0.10	-
	10	0.628	2.44	
	100	0.553	13.99	
α -tocoferol	1	0.724	9.65	18.93
	10	0.646	19.39	
	100	0.094	88.26	

El experimento se realizó una sola vez (cernimiento primario).

V.2.1.2 Ensayo SRTBA (sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico).

Mediante este ensayo se determinó la inhibición de la peroxidación de lípidos en homogeneizado de rata de los complejos **2.5-2.8** a diferentes concentraciones, utilizando un filtro de 540 nm para determinar el cromóforo entre el ácido

tiobarbitúrico y el malonaldehído ya que no se contaba con el filtro a 532 nm. Los resultados se expresan en % de inhibición y se encuentran resumidos en la Tabla 27.

Tabla 27. Concentración de inhibición al 50% de los complejos **2.5-2.8**.

Compuesto	Concentración (μM)	TBARS (nmol/mg prot.)	Inhibición (%)	CI ₅₀
2.5	0	8.93±0.26	-	15.08±2.09 μM
	0.32	8.96±0.17	0.41±1.48	
	1	8.30±0.26	7.09±1.40	
	3.16	6.90±0.25*	22.82±1.45	
	10	4.50±0.54**	50.06±4.68	
	31.62	2.74±0.77**	69.85±8.08	
	100	1.18±1.18**	87.06±5.00	
2.6	0	8.60±0.09	-	1.77±0.06 μM
	1	6.67±0.15**	22.49±1.80	
	1.78	5.09±0.39**	40.94±4.20	
	3.16	1.10±0.26**	87.2±3.06	
	5.62	0.53±0.10**	93.86±1.12	
	10	0.42±0.06**	95.17±0.69	
2.7	0	8.63±0.12	-	2.11±0.09 μM
	1	6.74±0.22**	21.77±3.57	
	1.78	5.70±0.50**	33.81±6.50	
	3.16	5.57±0.31**	70.33±3.31	
	5.62	0.59±0.12**	93.53±1.14	
	10	0.42±0.05**	95.16±0.53	
2.8	0	12.70	-	-
	0.32	12.32	2.99	
	1	11.81	7.02	
	3.16	10.43	17.88	
	10	9.88	22.25	
	31.62	9.29	26.88	
	100	8.19	35.55	
Quercetina	0	9.52±0.19	-	4.11±0.26 μM
	1	8.33±0.33	11.70±2.14	
	1.78	7.64±0.47*	19.29±3.32	
	3.16	6.21±0.24*	34.16±3.05	
	5.62	3.20±0.55*	66.05±5.62	
	10	1.27±0.29*	86.61±2.92	

Los valores representan el promedio (n= 3-4)± error estándar de la media. Los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) seguida de una prueba Dunett para aislar grupos con diferencia significativa. Los valores $p \leq 0.05$ (*) y $p \leq 0.01$ (**) se consideraron como diferencia significativa con respecto al control (concentración 0). La Quercetina se usa como estándar de referencia.

En la tabla 27 se observa que los complejos **2.5-2.8** presentan actividad dependiente de la concentración y se calculó la concentración inhibitoria al 50% (CI₅₀). Los resultados a través de este ensayo muestran que los complejos **2.5-2.7** exhiben una actividad antioxidante importante, en donde el complejo **2.6** presenta la mayor actividad antioxidante de todos los complejos, seguido del complejo **2.7** con una actividad ligeramente menor. Al comparar estos valores encontramos que los compuestos **2.6** y **2.7** muestran el doble de la actividad observada para la Quercetina, la cual se utilizó como estándar. El complejo **2.5** resultó ser el menos activo de estos compuesto, de hecho tiene una actividad antioxidante 4 veces menor que la Quercetina. El compuesto **2.8** no muestra actividad antioxidante importante ya que el porcentaje de inhibición es menor al 50%, por lo tanto, no se calculó su CI₅₀.

Aunque existen varios mecanismos mediante los cuales pueden actuar los compuestos para neutralizar a los radicales libres; en este caso, es necesario llevar a cabo otras pruebas que permitan conocer el mecanismo por el cual los complejos **2.5-2.7** neutralizan a los radicales libres.

V.3 Actividad anti-inflamatoria.

La inflamación es una respuesta fisiológica de defensa del organismo que se desencadena durante la invasión de microorganismos, traumatismo mecánico, isquemia y neoplasias, dicha respuesta está localizada en tejido conectivo y vascular producida por diversas sustancias irritantes que se generan durante el proceso con el fin de destruir al agente patógeno o reconstruir tejido dañado. La inflamación es uno de los procesos más comunes en la enfermedad, es una respuesta fisiológica de defensa del organismo frente a una agresión ó a cualquier estímulo perjudicial al tejido.^[102]

La dermatitis es una inflamación de la piel, la cual se hace evidente por edema y eritema, infiltración de neutrófilos, aumento en la actividad de la enzima Mieloperoxidasa (MOP) involucrada en la síntesis del HClO y HIO a partir de H₂O₂; e hiperplasia de la epidermis asociada con el incremento de poliaminas, prostaglandinas y leucotrienos. Desde hace 2 décadas existen varios modelos de inflamación de diferente naturaleza en el tejido cutáneo empleando animales de experimentación. Cada uno se basa en el uso de un agente irritante aplicado directamente sobre la piel (*in situ*) o bien inyectando aquel en una parte específica del organismo. El 13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol (TPA) es un agente irritante el cual produce una inflamación aguda y se utiliza para evaluar anti-inflamatorios de tipo esteroidal y no esteroidales, mientras que el etil-fenil-propiolato (EPP) al igual que el TPA produce inflamación aguda pero con la diferencia de que el EPP sólo se utiliza para evaluar anti-inflamatorios de tipo esteroidal.^[103]

V.3.1 Descripción de los Resultados.

V.3.1.1 En el edema inducido con TPA en la oreja de ratón.

Para este ensayo se utilizaron los complejos **2.5-2.8** (Figura 13) y los resultados se encuentran resumidos en la Tabla 28.

Tabla 28. Valores de CI_{50} de los complejos 2.5-2.8 inducidos por TPA.

COMPUESTOS	DOSIS	EDEMA	INHIBICION	CI_{50}
	$\mu\text{mol/ oreja}$	(mg)	(%)	
2.1	0	12.96±0.78	-	0.29 $\mu\text{mol/ oreja}$
	0.031	12.30±1.78	5.2	
	0.1	10.45±0.79	19.46	
	0.31	5.85±1.20*	54.91	
	1	2.43±0.75*	81.31	
2.2	0	14.74±0.33	-	0.24 $\mu\text{mol/ oreja}$
	0.031	11.55±0.25*	21.64	
	0.1	10.75±0.85**	27.07	
	0.31	5.73±1.43**	61.16	
	1	2.70±0.20**	81.86	
2.3	0	15.62±0.42	-	0.11 $\mu\text{mol/ oreja}$
	0.031	12.20±0.82*	21.91	
	0.1	10.24±1.19**	34.47	
	0.31	2.55±0.64**	83.68	
	1	12.96±0.92**	86.39	
2.4	0	14.56±0.32	-	0.56 $\mu\text{mol/ oreja}$
	0.031	14.36±0.68	1.37	
	0.1	13.48±0.37	7.42	
	0.31	11.00±0.40**	24.45	
	0.56	7.54±1.01**	48.21	
	1	3.48±0.55**	76.1	
Indometacina	0	16.24±0.86	-	0.27 $\mu\text{mol/ oreja}$
	0.046	10.53±1.04*	35.14	
	0.085	8.18±0.34*	48.18	
	0.15	7.10±1.34*	56.28	
	0.268	4.97±1.70*	69.42	
	0.465	1.57±0.33*	89.19	

Los datos representan el promedio (n= 3-8 animales)± error estándar de la media (ESM). Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) seguida de una prueba Dunett, los valores $p \leq 0.05$ (*) y $p \leq 0.01$ (**) se consideraron como diferencia significativa con respecto al control (concentración 0).

Los resultados muestran que los complejos **2.5-2.8** poseen actividad anti-inflamatoria dependiente de la concentración. El compuesto **2.7** posee la mayor actividad con respecto a los complejos **2.5**, **2.6** y **2.8**. Además, su actividad anti-inflamatoria es aproximadamente 2 veces mayor con respecto a la Indometacina. La actividad del complejo **2.6** también es ligeramente mayor que el estándar. Para los compuestos **2.5** y **2.8** la actividad es menor que la del estándar utilizado.

Resulta interesante observar que la mayor inhibición del edema la presenta el compuesto **2.7** el cual tiene un sustituyente electrodonador en posición *para* al oxígeno del anillo aromático, sin embargo, cuando este sustituyente es modificado por un grupo metilo **2.6** ó hidrógeno **2.5** la actividad disminuye entre un 50% y 60% con respecto al compuesto **2.7**.

El mecanismo del proceso inflamatorio del TPA aún no está elucidado, pero se ha encontrado que este compuesto genera radicales libres del tipo ROS (especies reactivas de oxígeno) en modelos de carcinogénesis en piel. En la Figura 14 se muestra un esquema del posible mecanismo inflamatorio del TPA. Existe evidencia de que el TPA tiene una estrecha relación con la inhibición de la agregación plaquetaria. Con esta evidencia Merlos y Cols^[104] realizaron un estudio y concluyeron que la relación entre el TPA y la inhibición de la agregación plaquetaria se debe a que el TPA puede activar la Fosfolipasa C (PLC), y esta a su vez la vía del trifosfatidil Inocitol (IP₃) en donde se activa la Fosfolipasa A₂ (PLA₂), y de esta manera promueve la formación del Factor Activador de Plaquetas (PAF).

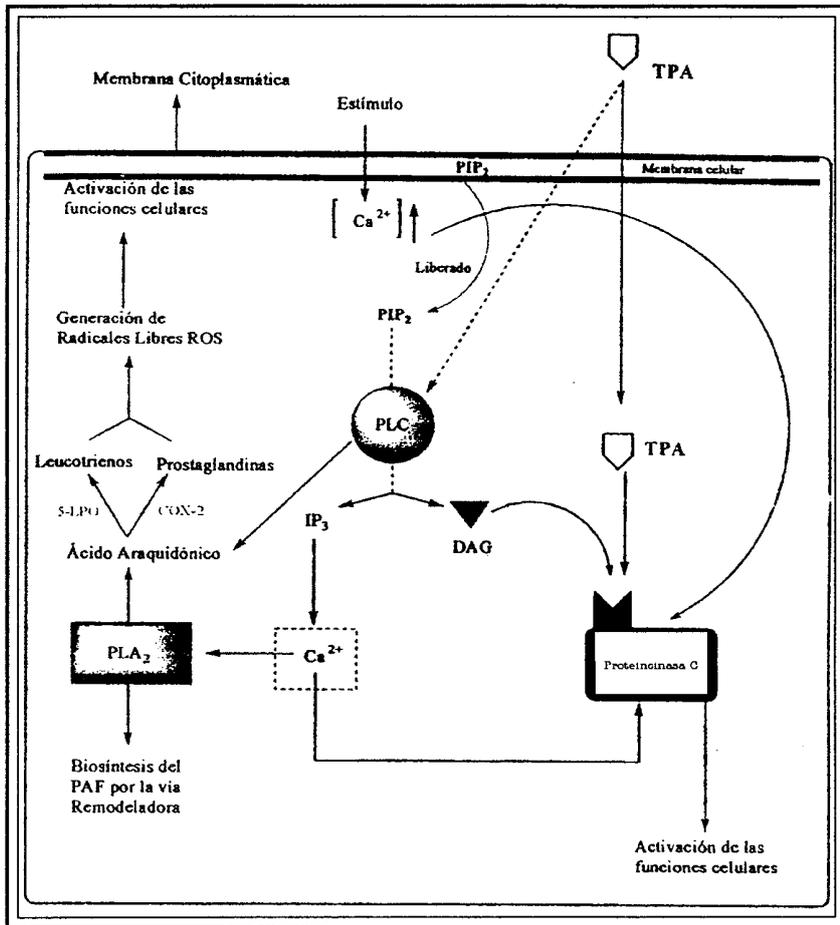


Figura 14. Mecanismo de acción inflamatorio para el TPA.

VI. CONCLUSIONES

- ♣ En el presente trabajo de investigación se sintetizaron 20 compuestos nuevos, de los cuales 3 son bases de Schiff pentadentadas derivadas de piridinas y 17 son complejos heptacoordinados de estaño(IV) los cuales se caracterizaron por RMN de ^1H , ^{13}C y ^{119}Sn ; para los complejos **2.5**, **2.6**, **2.9**, **3.1** y **3.5** se realizó su estudio por difracción de rayos-X.
- ♣ La espectrometría de masas de los compuestos **2.1-2.9** y **3.1-3.8** mostró en todos los casos la formación de especies monoméricas, en donde se observa el ion molecular y la pérdida de los iones fragmento unidos al átomo de estaño(IV).
- ♣ La RMN de ^1H y ^{13}C , así como las constantes de acoplamiento $J(^{119}\text{Sn}-^1\text{H})$ y $J(^{119}\text{Sn}-^{13}\text{C})$ de algunos de los compuestos permitieron establecer que el número de coordinación alrededor del átomo de estaño es de siete.
- ♣ Los valores de desplazamiento químico en RMN de ^{119}Sn , para todos los complejos sugieren la presencia de enlaces de coordinación $\text{N}\rightarrow\text{Sn}$ y una geometría heptacoordinada en solución.
- ♣ El análisis de difracción de rayos-X de los complejos **2.5**, **2.6**, **2.9**, **3.1** y **3.5** muestra una geometría de bipirámide pentagonal distorsionada en donde dos átomos de oxígeno y tres de nitrógeno ocupan las posiciones ecuatoriales y los grupos butilo, metilo o fenilo unidos al átomo de estaño las posiciones axiales.

- ♣ Los complejos **2.5-2.8** presentaron actividad citotóxica contra las líneas celulares: cáncer de colon (HTC-15), cáncer de mama (MCF-7), leucemia mieloblástica crónica (K-562), cáncer de glía del sistema nervioso central (U-251), cáncer de próstata (PC-3) y cáncer de pulmón (SKLU-1), siendo el compuesto **2.8** con la mayor actividad citotóxica, seguido de **2.5**, **2.6** y por último **2.7**. Los complejos **2.5-2.8** muestran una actividad citotóxica mayor que la presentada por el *cis*-platino.
- ♣ En cuanto a la actividad antioxidante, los complejos **2.5-2.8** presentaron actividad antioxidante dependiente de la concentración para cada ensayo (DPPH y SRATB), en ambos ensayos los complejos **2.5-2.7** son los que muestran actividad antioxidante no así el complejo **2.8**. En ambos casos el complejo **2.6** es el que presenta la mayor actividad antioxidante pero en el ensayo con DPPH su actividad es menor a la del α -tocoferol que se utilizó como estándar. En el segundo ensayo el complejo **2.6** presentan una actividad antioxidante aproximadamente 2 veces mayor que el estándar utilizado (Quercetina).
- ♣ Al evaluar la actividad anti-inflamatoria en el edema inducido con TPA los complejos **2.5-2.8** presentan actividad dependiente de la concentración. El complejo **2.7** muestra la mayor actividad anti-inflamatoria de todos los complejos, dicha actividad es aproximadamente 2 veces mayor a la de la Indometacina la cual se usó como referencia.

VII. PARTE EXPERIMENTAL

VII.1 Instrumentación.

El *o*-aminofenol, 2-amino-4-metilfenol, 2-amino-4-clorofenol, 2-amino-4-nitrofenol, dióxido de selenio, el óxido de dibutil, dimetil y difenil estaño, 2,6-piridindimetanol, y 2,6-diacetilpiridina, son productos comerciales de Aldrich Chemical Company. Todas las reacciones con los óxidos de estaño se llevaron a cabo en atmósfera de nitrógeno. Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

Los espectros de IR se determinaron en un aparato Nicolet FT-1 Magna 750 empleando la técnica de pastilla (KBr), las absorciones están dadas en cm^{-1} .

Los espectros de masas (EM) se determinaron en un aparato JEOL JMS-X102 doble sector de geometría inversa, utilizando la técnica de FAB^+ , y en un espectrómetro JEOL JMS-AX505HA utilizando las técnicas de FAB^+ e IE^+ . Los valores en paréntesis indican la intensidad relativa al 100% del pico base y los datos están expresados en unidades de masa /carga (m/z).

Los espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , ^{119}Sn se obtuvieron en un espectrómetro JEOL ECLIPSE+300 de 300 MHz utilizando disolventes deuterados como son: cloroformo y dimetil sulfóxido. Los desplazamientos químicos (δ) están expresados en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento (J) en Hertz (Hz). Para el caso de la RMN ^1H , las señales obtenidas se encuentran indicadas utilizando abreviaturas de singulete (s), doblete (d), doble de dobles (dd), triple de dobles (td), triplete(t) y multiplete (m). Los estudios de cristalografía de rayos-X se realizaron en un difractorómetro Bruker Smart Apex CCD.

Las estructuras se resolvieron por métodos directos utilizando SHELXS-90 y los átomos diferentes de hidrógeno se refinaron anisotópicamente utilizando el programa SHELXL-97.

Las distancias interatómicas están expresadas en Angstroms (Å) y los ángulos en grados (°), los números entre paréntesis corresponden a la desviación estándar de la última cifra significativa.

VII.2 Preparación de 2,6 piridincarboxialdehído (1).

En un matraz bola de 250 mL se colocaron 5 g (36 mmol) de 2,6-piridindimetanol y 3.99 g (36 mmol) de dióxido de selenio, se disolvieron en 70 mL de dioxano, la mezcla se mantuvo en reflujo durante 4 h. La solución resultante se filtró y el disolvente se eliminó a presión reducida, obteniéndose 4.11 g (85%) de un sólido color crema; pf 124-126°C.

VII.3. Método general para la preparación de las bases de Schiff (1.1-1.4).

En un matraz balón de 100 mL se colocaron en una relación estequiométrica 1:2, 2,6-piridindicarboxialdehído y el *o*-aminofenol correspondiente, se agregaron 70 mL de etanol o tolueno, la mezcla de reacción se mantuvo a reflujo de acuerdo al tiempo indicado para cada compuesto, el agua formada se eliminó con una trampa de Dean-Stark. Posteriormente, se evaporó el disolvente a presión reducida

bis(N-2-hidroxifenil)-2,6-bis(aldimina) piridina (1.1)

La base 1.1 se obtuvo a partir de 0.25 g (1.85 mmol) de 2,6-piridindicarboxialdehído y 0.402 g (3.70 mmol) de *o*-aminofenol, después de 6 h bajo reflujo en etanol, se obtuvieron 0.56 g (95%) de un sólido color amarillo: pf 183-189°C; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 6.94 (2H, td, *J* = 7.98, 1.3 Hz, H-13),

7.04 (2H, dd, $J = 8.2, 1.3$ Hz, H-14), 7.26 (2H, td, $J = 8.2, 1.5$ Hz, H-12), 7.43 (2H, dd, $J = 8.1, 1.3$ Hz, H-11), 7.96 (1H, t, $J = 7.7$ Hz, H-4), 8.28 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H-3, H-5), 8.88 (2H, s, H-7); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 116.9 (C-11), 120.1 (C-14), 120.3 (C-13), 123.5 (C-3, C-5), 129.0 (C-12), 137.1 (C-4), 138.1 (C-9), 152.1 (C-10), 155.0 (C-2, C-6), 159.1 (C-7); IR ν_{max} (KBr): 3446 (O-H), 1623 (C=N) cm^{-1} ; EM (IE^+), m/z (%): [M^+ , 317] (100), 210 (92), 197 (10), 120(42), 109(68).

bis(N-2-hidroxi-5-metilfenil)-2,6-bis(aldimina) piridina (1.2)

La base **1.2** se preparó con las siguientes cantidades: 0.25 g (1.85 mmol) de 2,6-piridindicarboxialdehído y 0.455 g (3.70 mmol) de 2-amino-4-metilfenol, después de 6 h bajo reflujo en etanol, se obtuvieron 0.61 g (98%) de un sólido color amarillo mostaza; pf 170-174°C ; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1.65 (6H, s, H-15), 6.21 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-12), 6.33 (2H, dd, $J = 8.2, 1.5$ Hz, H-11), 6.47 (2H, s, H-14), 7.33 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-4), 7.81 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H-3, H-5), 8.16 (2H, s, H-7); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 20.1 (C-15), 115.7 (C-11), 118.3 (C-14), 123.0 (C-3, C-5), 128.3 (C-13), 129.1 (C-12), 135.3 (C-9), 136.8 (C-4), 149.5 (C-10), 154.2 (C-2, C-6), 157.1 (C-7); IR ν_{max} (KBr): 3400 (O-H), 1624 (C=N) cm^{-1} ; EM (IE^+), m/z (%): [M^+ , 345] (42), 224 (65), 210 (22), 134 (49), 123(100).

bis(N-2-hidroxi-5-clorofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina (1.3)

La base **1.3** se preparó con las siguientes cantidades: 0.25 g (1.85 mmol) de 2,6-piridindicarboxialdehído y 0.530 g (3.70 mmol) de 2-amino-4-clorofenol, después de 6 h bajo reflujo en etanol, se obtuvieron 0.59 g (84%) de un sólido color café; pf 180-185°C ; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 6.87 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-12), 7.03 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-11), 7.18 (2H, s, H-14), 7.91 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-4), 8.42 (2H, d, $J = 7.3$ Hz, H-3, H-5), 8.70 (2H, s, H-7); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 117.6 (C-11), 118.8 (C-14), 123.8 (C-3, C-5), 124.2 (C-13), 128.2 (C-12), 137.3 (C-9), 137.5 (C-4), 150.8 (C-10), 154.5 (C-2, C-6), 159.7 (C-7); IR ν_{max} (KBr): 3381 (O-H), 1624 (C=N) cm^{-1} ; EM (IE^+), m/z (%): [M^+ , 385] (59), 244(100), 230(10), 154(23), 143(13).

bis(N-2-hidroxi-5-nitrofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina) (1.4)

La base **1.4** se preparó con las siguientes cantidades: 0.25 g (1.85 mmol) de 2,6-piridindicarboxialdehído y 0.571 g (3.70 mmol) de 2-amino-4-nitrofenol, después de 8 h bajo reflujo en tolueno, se obtuvieron 0.68 g (91%) de un sólido color verde; pf 142-144°C ; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.02 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-11), 7.69 (2H, s, H-12), 7.96 (1H, t, *J* = 7.4 Hz, H-4), 8.06 (2H, s, H-14), 8.47 (2H, d, *J* = 7.5 Hz, H-3, H-5), 8.81 (2H, s, H-7); RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 115.6 (C-11), 116.6 (C-14), 124.1 (C-12), 124.4(C-3, C-5), 137.3 (C-9), 137.6 (C-4), 140.6 (C-13), 154.3 (C-10), 158.0 (C-2, C-6), 161.8 (C-7); IR ν_{max} (KBr): 3438 (O-H), 1627 (C=N) cm⁻¹; EM (IE⁺), *m/z* (%): [M⁺, 407] (25), 241 (64), 164 (34), 154 (100).

VII.4 Método general para la preparación de los compuestos 2.1-2.9 y 3.1-3.8.

En un matraz balón de 100 mL equipado con un refrigerante y una trampa de Dean-Stark se colocaron en una relación estequiométrica 1:2:1, 2,6-piridindicarboxialdehído ó 2,6 diacetilpiridina, el amino alcohol y el óxido de estaño correspondientes, se agregaron 60 mL de una mezcla de disolventes (4:1) tolueno/metanol, la mezcla de reacción se mantuvo a reflujo de acuerdo al tiempo indicado para cada compuesto en atmósfera de nitrógeno. Posteriormente, se evaporó el disolvente a presión reducida obteniéndose los compuestos correspondientes.

bis(N,N'-Di(2-hidroxi-5-nitrofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dimetil estaño (2.1)

El complejo **2.1** se preparó a partir de las siguientes cantidades: 0.25 g (1.85 mmol) de 2,6-piridindicarboxialdehído, 0.402 g (3.70 mmol) de *o*-aminofenol y 0.305 g de (1.85 mmol) óxido de dimetil estaño, la mezcla de reacción se mantuvo bajo reflujo durante 30 h, obteniéndose 0.78 g (90%) de un sólido color rojo; pf 200°C_{descompone}; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.20 (6H, s, ²*J*(¹¹⁹Sn-¹H) = 114.3 Hz,

$^2J(^{117}\text{Sn}-^1\text{H}) = 109.4$ Hz, H-15), 6.60 (2H, td, $J = 8.2, 1.2$ Hz, H-13), 7.12 (2H, dd, $J = 8.5, 1.2$ Hz, H-14), 7.28 (2H, td, $J = 8.6, 1.5$ Hz, H-12), 7.52 (2H, dd, $J = 8.2, 1.5$ Hz, H-11), 7.76 (2H, dd, $J = 7.8$ Hz, H-3, H-5), 8.14 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-4), 8.68 (2H, s, $J(^{119}\text{Sn}-^1\text{H}) = 14.2$ Hz H-7); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 11.9 (C-15), 115.2 (C-11), 116.6 (C-14), 123.6 (C-13), 125.2 (C-3, C-5), 129.5 (C-12), 134.1 (C-4), 136.6 (C-9), 140.5 (C-10), 148.2 (C-2, C-6), 166.0 (C-7); RMN ^{119}Sn (112.05 MHz, CDCl_3) δ : -398.2; IR $\sqrt{\text{max}}$ (KBr): 1565 (C=N), 1376 (CH_3), 630 (Sn-C), 569 (Sn-O), 437 (N \rightarrow Sn) cm^{-1} ; EM (FAB $^+$), m/z (%): [M^++1 , 466] (11), [M^+-Me , 450] (13), [M^+-2Me , 435] (2), 154 (100); EM alta resolución (FAB $^+$) m/z : 466.0578 calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2\text{Sn}$. Observado: 466.0574.

bis(N,N'-Di(2-hidroxilato-5-metilfenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dimetil estaño (2.2)

El complejo **2.2** se preparó con las siguientes cantidades: 0.25 g (1.85 mmol) de 2,6-piridindicarboxialdehído, 0.445 g (3.70 mmol) de 2-amino-4-metilfenol y 0.305 g (1.85 mmol) de óxido de dimetil estaño, la mezcla de reacción se mantuvo bajo reflujo durante 30 h, obteniéndose 0.80 g (88%) de un sólido color negro; pf 250°C; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.03 (6H, s, $^2J(^{119}\text{Sn}-^1\text{H}) = 114$ Hz, $^2J(^{117}\text{Sn}-^1\text{H}) = 119.05$ Hz, H-15), 2.50 (6H, s, H-16), 6.83 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-12), 7.00 (2H, dd, $J = 8.6, 2.0$ Hz, H-11), 7.53 (2H, s, H-14), 7.83 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H-3, H-5), 8.13 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-4), 8.76 (2H, s, $J(^{119}\text{Sn}-^1\text{H}) = 13.1$ Hz, H-7); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12.1 (C-15, $^1J(^{119}\text{Sn}-^{13}\text{C}) = 1224.1$ Hz, $^1J(^{117}\text{Sn}-^{13}\text{C}) = 1171.1$ Hz, 20.6 (C-16), 116.9 (C-11), 122.4 (C-14), 124.1 (C-3, C-5), 126.0 (C-13), 129.1 (C-12), 135.1 (C-4), 137.9 (C-9), 141.0 (C-10), 148.1 (C-2, C-6), 163.5 (C-7); RMN ^{119}Sn (112.05 MHz, CDCl_3) δ : -392.8; IR $\sqrt{\text{max}}$ (KBr): 1575 (C=N), 1392 (CH_3), 635 (Sn-C), 438 (N \rightarrow Sn) cm^{-1} ; EM (FAB $^+$), m/z (%): [M^++1 , 494] (16), [M^+-Me , 478] (22), [M^+-2Me , 463] (5), 448 (1), 330 (2).

bis(N,N'-Di(2-hidroxiato-5-clorofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dimetil estaño (2.3)

El complejo **2.3** se preparó con las siguientes cantidades: 0.25 g (1.85 mmol) de 2,6-piridindicarboxialdehído, 0.530 g (3.70 mmol) de 2-amino-4-clorofenol y 0.305 g (1.85 mmol) de óxido de dimetil estaño, la mezcla de reacción se mantuvo bajo reflujo durante 30 h, obteniéndose 0.94 g (95%) de un sólido color café rojizo; pf 220°C_{descompone}; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.05 (6H, s, ²J(¹¹⁹Sn-¹H) = 111.5 Hz, H-15), 6.85 (2H, d, J = 8.9 Hz, H-12), 7.08 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-11), 7.58 (2H, s, H-14), 7.95 (2H, d, J = 7.4 Hz, H-3, H-5), 8.20 (1H, t, J = 7.1 Hz, H-4), 8.94 (2H, s, H-7); RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 12.0 (C-15), 117.2 (C-11), 119.4 (C-14), 123.7 (C-3, C-5), 127.1 (C-13), 130.0 (C-12), 133.3 (C-4), 140.6 (C-9), 141.5 (C-10), 147.8 (C-2, C-6), 163.7 (C-7); ¹¹⁹RMN Sn (112.04 MHz, CDCl₃) δ: -388.9; IR √max (KBr): 1569 (C=N), 1387 (CH₃), 635 (Sn-C), 437 (N→Sn) cm⁻¹; EM (FAB⁺), m/z (%): [M⁺+1, 534] (10), [M⁺-Me, 518] (13), [M⁺-2Me, 503] (2), 377 (1).

bis(N,N'-Di(2-hidroxiato-5-nitrofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dimetil estaño (2.4)

El complejo **2.4** se preparó con las siguientes cantidades: 0.25 g (1.85 mmol) de 2,6-piridindicarboxialdehído, 0.57 g (3.70 mmol) de 2-amino-4-nitrofenol y 0.305 g (1.85 mmol) de óxido de dimetil estaño, la mezcla de reacción se mantuvo bajo reflujo durante 30 h, obteniéndose 0.92 g (90%) de un sólido color anaranjado; pf > 300°C; RMN ¹³C CPMAS (75.4 MHz) δ: 11.8 (C-15), 13.6 (C-15'), 118.1 (C-11), 121.6 (C-14), 123.6, 127.1, 127.7, 130.5 (aromáticos), 134.6 (C-4), 137.0, 137.9 (aromáticos), 143.4 (C-9), 146.3 (C-10), 147.4 (C10'), 150.5 (C-2, C-6), 170.4 (C-7), 172.5 (C-7'); IR √max (KBr): 1594 (C=N), 646 (Sn-C), 568 (Sn-O) cm⁻¹; EM (FAB⁺), m/z (%): [M⁺+1, 556] (3), [M⁺-Me, 540] (2), [M⁺-2Me, 525] (1).

bis(N,N'-Di(2-hidroxiatofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dibutil estaño (2.5)

El compuesto **2.5** se obtuvo a partir de las siguientes cantidades: 0.25 g (1.85 mmol) de 2,6-piridindicarboxialdehído, 0.402 g (3.70 mmol) de *o*-aminofenol y 0.46 g (1.85 mmol) de óxido de dibutil estaño, la mezcla de reacción se mantuvo bajo reflujo por 8 h, obteniéndose 0.56 g (95%) de un sólido color rojo intenso: pf 275°C; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.50 (6H, t, *J* = 6.6 Hz, H-18), 0.71-0.92 (12H, m, H-15, H-17, H-16), 6.57 (2H, t, *J* = 7.3 Hz, H-13), 7.11 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-14), 7.23 (2H, t, *J* = 8.2 Hz H-12), 7.52 (2H, t, *J* = 7.9 Hz, H-11), 7.78 (2H, d, *J* = 7.6 Hz, H-3, H-5), 8.15 (1H, t, *J* = 7.7 Hz, H-4), 8.71 (2H, s, H-7); RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 13.5 (C-18), 26.6 (C-15), 27.7 (C-17), 31.1 (C-16), 115.0 (C-11), 116.7 (C-14), 123.3 (C-13), 125.2 (C-3, C-5), 130.1 (C-12), 134.0 (C-4), 137.0 (C-9), 140.6 (C-10), 149.0 (C-2, C-6), 166.6 (C-7); RMN ¹¹⁹Sn (112.04 MHz, CDCl₃) δ: -404.5; IR ν_{max} (KBr): 1568 (C=N), 633 (Sn-C), 564 (Sn-O), 436 (N→Sn) cm⁻¹; EM (IE⁺), *m/z* (%): [M⁺, 549] (3), [M⁺-Bu, 492] (100), [M⁺-2Bu, 435] (9), 315 (13), 239 (8).

bis(N,N'-Di(2-hidroxiato-5-metilfenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dibutil estaño (2.6)

El complejo **2.6** se preparó con las siguientes cantidades: 0.25 g (1.85 mmol) de 2,6-piridindicarboxialdehído, 0.445 g (3.70 mmol) de 2-amino-4-metilfenol y 0.46 g (1.85 mmol) de óxido de dibutil estaño, la mezcla de reacción se mantuvo bajo reflujo durante 8 h, obteniéndose 0.94 g (93%) de un sólido color negro: pf 160°C; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.50 (6H, t, *J* = 6.2 Hz, H-18), 0.71-0.92 (12H, m, H-15, H-17, H-16), 2.27 (6H, s, H-19), 7.01 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-11), 7.10 (2H, dd, *J* = 8.6, 1.9 Hz, H-12), 7.31 (2H, s, H-14), 7.71 (2H, d, *J* = 7.7 Hz, H-3, H-5), 8.11 (1H, t, *J* = 7.7 Hz, H-4), 8.67 (2H, s, H-7); RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 13.5 (C-18), 20.7 (C-19), 26.5 (C-15), 27.7 (C-17), 31.0 (C-16), 116.2 (C-11), 123.0 (C-14), 124.0 (C-3, C-5), 124.7 (C-13), 129.5 (C-12), 135.5 (C-4), 136.0 (C-9), 140.3 (C-

10), 149.1 (C-2, C-6), 164.8 (C-7); RMN ^{119}Sn (112.04 MHz, CDCl_3) δ : -401.6; IR $\sqrt{\text{max}}$ (KBr): 1573 (C=N), 635 (Sn-C), 430 (N \rightarrow Sn) cm^{-1} ; EM (IE $^+$), m/z (%): [M^+ , 577] (3), [M^+ -Bu, 520] (100), [M^+ -2Bu, 463] (10), 328 (9), 313 (4), 252 (2).

bis(N,N'-Di(2-hidroxilato-5-clorofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dibutil estaño (2.7)

El complejo **2.7** se preparó con las siguientes cantidades: 0.25 g (1.85 mmol) de 2,6-piridindicarboxialdehído, 0.530 g (3.70 mmol) de 2-amino-4-clorofenol y 0.46 g (1.85 mmol) de óxido de dibutil estaño, la mezcla de reacción se mantuvo bajo reflujo durante 8 h, obteniéndose 1.05 g (93%) de un sólido color morado: pf $245^\circ\text{C}_{\text{descompone}}$; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.50 (6H, t, $J = 5.7$ Hz, H-18), 0.71-0.92 (12H, m, H-15, H-17, H-16), 7.01 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-12), 7.18 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-11), 7.49 (2H, s, H-14), 7.83 (2H, d, $J = 7.1$ Hz, H-3, H-5), 8.19 (1H, t, $J = 6.9$ Hz, H-4), 8.69 (2H, s, H-7); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 13.5 (C-18), 26.4 (C-15), 27.6 (C-17), 31.1 (C-16), 116.4 (C-11), 119.8 (C-14), 124.2 (C-3, C-5), 125.8 (C-13), 130.1 (C-12), 133.9 (C-4), 138.0 (C-9), 140.9 (C-10), 148.6 (C-2, C-6), 165.0 (C-7); RMN ^{119}Sn (112.04 MHz, CDCl_3) δ : -397.5; IR $\sqrt{\text{max}}$ (KBr): 1568 (C=N), 637 (Sn-C), 579 (Sn-O), 432 (N \rightarrow Sn) cm^{-1} ; EM (EI $^+$), m/z (%): [M^+ , 617] (4), [M^+ -Bu, 560] (100), [M^+ -2Bu, 503] (19), 383 (3), 348 (8), 272 (7). Análisis elemental calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_2\text{Cl}_2\text{Sn}$: C, 52.51; H, 4.70; N, 6.80. Encontrado C, 53.52; H, 4.59; N 6.44.

bis(N,N'-Di(2-hidroxilato-5-nitrofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-dibutil estaño (2.8)

El complejo **2.8** se preparó con las siguientes cantidades: 0.25 g (1.85 mmol) de 2,6-piridindicarboxialdehído, 0.57.1 g (3.70 mmol) de 2-amino-4-nitrofenol y 0.46 g (1.85 mmol) de óxido de dibutil estaño, la mezcla de reacción se mantuvo bajo reflujo durante 8 h, obteniéndose 1.17 g (99%) de un sólido color rojo intenso; pf $> 300^\circ\text{C}$; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.23 (6H, t, $J = 3.9$ Hz, H-18), 0.68-0.85

(12H, m, H-15, H-17, H-16), 7.01 (2H, d, $J = 9.1$ Hz, H-12), 7.18 (2H, d, $J = 7.1$ Hz, H-11), 7.49 (2H, s, H-14), 8.17 (2H, d, $J = 7.7$ Hz, H-3, H-5), 8.34 (1H, t, $J = 7.9$ Hz, H-4), 8.66 (2H, s, H-7); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 13.5 (C-18), 26.2 (C-15), 27.3 (C-17), 30.8 (C-16), 114.9 (C-11), 121.8 (C-14), 128.5 (C-3, C-5), 128.6 (C-13), 129.3 (C-12), 135.6 (C-4), 142.3 (C-9), 144.4 (C-10), 148.0 (C-2, C-6), 171.0 (C-7); RMN ^{119}Sn (112.04 MHz, CDCl_3) δ : -400.9; IR $\sqrt{\text{max}}$ (KBr): 1570 (C=N), 631 (Sn-C), 578 (Sn-O), 423 (N \rightarrow Sn) cm^{-1} ; EM (FAB $^+$), m/z (%): [$\text{M}^+ + 1$, 640] (41), [$\text{M}^+ - \text{Bu}$, 582] (50), [$\text{M}^+ - 2\text{Bu}$, 525] (28), 479 (5), 307 (24). Análisis elemental calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_6\text{Sn}$: C, 50.70; H, 4.53; N, 10.95. Encontrado C, 49.78; H, 4.28; N, 10.13.

bis(N,N'-Di(2-hidroxiatofenil)-2,6-bis(aldimina) piridina)-difenil estaño (2.9)

El complejo **2.9** se preparó con las siguientes cantidades 0.25 g (1.85 mmol) de 2,6-piridindicarboxialdehído, 0.402 g (3.70 mmol) de *o*-aminofenol y 0.534 g (1.85 mmol) de óxido de difenil estaño, la mezcla de reacción se mantuvo bajo reflujo durante 24 h, obteniéndose 0.98 g (90%) de un sólido color rojo intenso el cual no funde; RMN ^{13}C CPMAS (75.4 MHz) δ : 117.4 (C-11), 118.8 (C-14), 120.5 (C-13), 124.6 (C-3, C-5), 127.0, 131.1, 133.2 aromáticos, 134.9 (C-4), 137.6 aromático, 139.7 (C-115), 145.8 (C-10), 147.9 (C-10') 154.4 (C-2), 156.4 (C-6) 165.7 (C-7); IR $\sqrt{\text{max}}$ (KBr): 1561 (C=N), 633 (Sn-C), 565 (Sn-O), 412 (N \rightarrow Sn) cm^{-1} ; EM (FAB $^+$) m/z (%): [($\text{M}^+ + 1$), 590] (8), [($\text{M}^+ - \text{Ph}$) 512] (20), [($\text{M}^+ - 2\text{Ph}$) 434] (4), 391 (20).

bis(N,N'-Di(2-hidroxiatofenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dimetil estaño (3.1)

El complejo **3.1** se preparó con las siguientes cantidades 0.25 g (1.53 mmol) de 2,6-diacetilpiridina, 0.334 g (3.06 mmol) de *o*-aminofenol y 0.252 g (1.53 mmol) de óxido de dimetil estaño, la mezcla de reacción se mantuvo bajo reflujo durante 45 h, obteniéndose 0.73 g (96%) de un sólido color rojo el cual no funde; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : -0.31 (6H, s, $^2J(^{119}\text{Sn}-^1\text{H}) = 114$ Hz, $^2J(^{117}\text{Sn}-^1\text{H}) = 107.2$ Hz, H-15), 2.73 (6H, s, H-16), 6.18 (2H, td, $J = 8.5, 1.5$ Hz, H-13), 6.61 (2H, dd, $J =$

8.3, 1.3 Hz, H-14), 6.79 (2H, td, $J = 8.5, 1.6$ Hz, H-12), 7.03 (2H, dd, $J = 8.2, 1.3$ Hz, H-11), 7.78 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H-3, H-5), 7.97 (1H, t, $J = 7.4$ Hz, H-4); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12.3 (C-15), 18.8 (C-16), 113.7 (C-11), 121.5 (C-14), 123.0 (C-13), 124.1 (C-3, C-5), 130.8 (C-12), 131.5 (C-4), 141.3 (C-9), 149.8 (C-10), 151.5 (C-2, C-6), 164.7 (C-7); RMN ^{119}Sn (112.05 MHz, CDCl_3) δ : -388.6; IR $\sqrt{\text{max}}$ (KBr): 1583 (C=N), 1367 (CH_3), 576, (Sn-O), 435 (N \rightarrow Sn) cm^{-1} ; EM (FAB $^+$) m/z (%): [(M^+ +1), 494] (28), [(M^+ -Me), 478] (40), [(M^+ -2Me), 463] (5), 448 (8).

bis(N,N'-Di(2-hidroxilato-5-metilfenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dimetil estaño (3.2)

El complejo **3.2** se preparó con las siguientes cantidades: 0.25 g (1.53 mmol) de 2,6-diacetilpiridina, 0.377 g (3.06 mmol) de 2-amino-4-metilfenol y 0.252 g (1.53 mmol) de óxido de dimetil estaño, la mezcla de reacción se mantuvo bajo reflujo durante 45 h, obteniéndose 0.73 g (91%) de un sólido color rojo intenso el cual no funde; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.10 (6H, s, $^2J(^{119}\text{Sn}-^1\text{H}) = 111.9$ Hz, $^2J(^{117}\text{Sn}-^1\text{H}) = 107.1$ Hz, H-15), 2.27 (6-H, s, H-17), 2.86 (6-H, s, H-16), 7.04 (2H, s, H-12), 7.17 (2H, s, H-14), 7.25 (2H, s, H-11), 7.97 (2H, d, $J = 7.9$ Hz, H-3, H-5), 8.22 (1H, t, $J = 7.7$ Hz, H-4); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12.5 (C-15), 19.0 (C-16), 20.9 (C-17), 122.1 (C-11), 122.9 (C-14), 123.3 (C-3, C-5), 128.2 (C-13), 130.6 (C-12), 133.3 (C-4), 140.8 (C-9), 149.8 (C-10), 150.6 (C-2, C-6), 163.2 (C-7); RMN ^{119}Sn (112.05 MHz, CDCl_3) δ : -381.8; IR $\sqrt{\text{max}}$ (KBr): 1585 (C=N), 1368 (CH_3), 617 (Sn-C), 587 (Sn-O), 424 (N \rightarrow Sn) cm^{-1} ; EM (FAB $^+$) m/z (%): [(M^+ +1), 522] (28), [(M^+ -Me), 506] (50), [(M^+ -2Me), 491] (8), 476 (12), 307 (21); EM alta resolución (FAB $^+$) m/z : 522.1204 calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_2\text{Sn}$. Observado: 522.1198.

bis(N,N'-Di(2-hidroxilato-5-clorofenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dimetil estaño (3.3)

El complejo **3.3** se preparó con las siguientes cantidades: 0.25 g (1.53 mmol) de 2,6-diacetilpiridina, 0.439 g (3.06 mmol) de 2-amino-4-clorofenol y 0.252 g (1.53

mmol) de óxido de dimetil estaño, la mezcla de reacción se mantuvo bajo reflujo durante 45 h, obteniéndose 0.60 g (70%) de un sólido color morado el cual no funde; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.11 (6H, s, $^2J(^{119}\text{Sn}-^1\text{H}) = 111.3$ Hz, $^2J(^{117}\text{Sn}-^1\text{H}) = 106.8$ Hz, H-15), 2.88 (6-H, s, H-16), 7.03 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-12), 7.16 (2H, dd, $J = 8.9, 2.4$ Hz, H-11), 7.35 (2H, s, H-14), 8.05 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H-3, H-5), 8.28 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-4); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12.5 (C-15, $J^{119}_{\text{Sn-C}^{13}} = 1200$ Hz, $J^{117}_{\text{Sn-C}^{13}} = 1155.3$ Hz), 19.0 (C-16), 118.6 (C-11, $J^{119}_{\text{Sn-C}^{13}} = 557.7$ Hz), 122.4 (C-14), 123.2 (C-3, C-5), 124.2 (C-13), 131.0 (C-12), 132.1 (C-4), 141.3 (C-9), 150.3 (C-10), 151.8 (C-2, C-6), 163.6 (C-7); RMN ^{119}Sn (112.04 MHz, CDCl_3) δ : -376.2; IR $\sqrt{\text{max}}$ (KBr): 1584 (C=N), 1369 (CH_3), 583 (Sn-O), 437 (N \rightarrow Sn) cm^{-1} ; EM (FAB $^+$) m/z (%): [(M $^+$ +1), 562] (20), [(M $^+$ -Me), 546] (36), [(M $^+$ -2Me), 531] (4), 516 (5), 307 (18); EM alta resolución (FAB $^+$) m/z: 562.0111 calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2\text{Cl}_2\text{Sn}$. Observado: 562.0118.

bis(N,N'-Di(2-hidroxilato-5-nitrofenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dimetil estaño
(3.4)

El complejo **3.4** se preparó con las siguientes cantidades: 0.25 g (1.53 mmol) de 2,6-diacetilpiridina, 0.472 g (3.06 mmol) de 2-amino-4-nitrofenol y 0.252 g (1.53 mmol) de óxido de dimetil estaño, la mezcla de reacción se mantuvo bajo reflujo durante 45 h, obteniéndose 0.85 g (95%) de un sólido color anaranjado el cual no funde; RMN ^{13}C CPMAS (75.4 MHz) δ : 14.3(C-15), 19.4(C-16), 122.4, 127.0, 130.3 (aromáticos), 135.0 (C-4), 146.1 (C-10), 150.2 (C-10'), 157.9 (C-2), 159.7 (C-6) 171.0 (C-7) IR $\sqrt{\text{max}}$ (KBr): 1581 (C=N), 649 (Sn-C), 574 (Sn-O), 432 (N \rightarrow Sn) cm^{-1} ; EM (FAB $^+$) m/z (%): [(M $^+$ +1), 584] (0.6), [(M $^+$ -Me), 568] (0.5), [(M $^+$ -2Me), 553] (0.1), 307 (22). Análisis elemental calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_6\text{Sn}$: C, 47.34; H, 3.60; N, 12.00. Encontrado C, 47.02; H, 3.44; N, 11.79.

bis(N,N'-Di(2-hidroxiatofenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dibutil estaño (3.5)

El complejo **3.5** se preparó con las siguientes cantidades 0.25 g (1.53 mmol) de 2,6-diacetilpiridina, 0.334 g (3.06 mmol) de *o*-aminofenol y 0.381 g (1.53 mmol) de óxido de dibutil estaño, la mezcla de reacción se mantuvo bajo reflujo durante 8 h, obteniéndose 0.82 g (93%) de un sólido color anaranjado el cual no funde; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.48 (6H, t, $J = 6.8$ Hz, H-18), 0.71-0.94 (12H, m, H-15, H-17, H-16), 2.88 (6H, s, H-19), 6.56 (2H, td, $J = 8.3, 1.6$ Hz, H-13), 7.13 (2H, dd, $J = 8.5, 1.6$ Hz, H-14), 7.22 (2H, td, $J = 8.5, 1.6$ Hz, H-12), 7.35 (2H, dd, $J = 8.2, 1.3$ Hz, H-11), 7.99 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H-3, H-5), 8.24 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-4); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 13.6 (C-18), 19.0 (C-19) 26.5 (C-15), 28.0 (C-17), 31.6 (C-16), 113.5 (C-11), 122.3 (C-14), 122.9 (C-13), 123.3 (C-3, C-5), 131.6 (C-12), 132.0 (C-4), 140.8 (C-9), 150.5 (C-10), 151.2 (C-2, C-6), 166.1 (C-7); RMN ^{119}Sn (112.05 MHz, CDCl_3) δ : -398.2; IR $\sqrt{\text{max}}$ (KBr): 1582 (C=N), 1365 (CH_3), 574 (Sn-O), 434 (N \rightarrow Sn) cm^{-1} ; EM (FAB $^+$) m/z (%): [(M $^+$ +1), 578] (29), [(M $^+$ -Bu), 520] (56), [(M $^+$ -2Bu), 463] (13), 448 (15), 307(61).

bis(N,N'-Di(2-hidroxiato-5-metilfenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dibutil estaño (3.6)

El complejo **3.6** se preparó con las siguientes cantidades: 0.25 g (1.53 mmol) de 2,6-diacetilpiridina, 0.377 g (3.06 mmol) de 2-amino-4-metilfenol y 0.381 g (1.53 mmol) de óxido de dibutil estaño, la mezcla de reacción se mantuvo bajo reflujo durante 8 h, obteniéndose 0.86 g (93%) de un sólido color rojo oscuro el cual no funde; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.48 (6H, t, $J = 6.8$ Hz, H-18), 0.68-0.94 (12H, m, H-15, H-17, H-16), 2.27 (6H, s, H-20), 2.88 (6H, s, H-19), 7.04 (2H, s, H-12), 7.16 (2H, s, H-14), 7.25 (2H, s, H-11), 7.96 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H-3, H-5), 8.22 (1H, t, $J = 7.7$ Hz, H-4); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 13.5 (C-18), 19.0 (C-19), 20.7 (C-20), 26.5 (C-15), 28.0 (C-17), 31.5 (C-16), 121.9 (C-11), 122.4 (C-14), 122.8 (C-3, C-5), 123.0 (C-13), 130.8 (C-12), 133.2 (C-4), 140.6 (C-9), 149.7 (C-10), 151.3 (C-

2, C-6), 164.0 (C-7); RMN ^{119}Sn (112.05 MHz, CDCl_3) δ : -396.3; IR $\sqrt{\text{max}}$ (KBr): 1584 (C=N), 1366 (CH_3), 617 (Sn-C), 587 (Sn-O), 432 (N \rightarrow Sn) cm^{-1} ; EM (FAB $^+$) m/z (%): [(M $^+$ +1), 606] (65), [(M $^+$ -Bu), 548] (100), [(M $^+$ -2Bu), 491] (40), 476 (12), 307 (36).

bis(N,N'-Di(2-hidroxilato-5-clorofenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dibutil estaño
(3.7)

El complejo **3.7** se preparó con las siguientes cantidades: 0.25 g (1.53 mmol) de 2,6-diacetilpiridina, 0.439 g (3.06 mmol) de 2-amino-4-clorofenol y 0.381 g (1.53 mmol) de óxido de dibutil estaño, la mezcla de reacción se mantuvo bajo reflujo durante 8 h, obteniéndose 0.87 g (88%) de un sólido color morado el cual no funde; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.49 (6H, t, $J = 6.3$ Hz, H-18), 0.67-0.94 (12H, m, H-15, H-17, H-16), 2.88 (6-H, s, H-19), 7.04 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-12), 7.15 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-14), 7.33 (2H, dd, $J = 8.9, 2.0$ Hz, H-11), 8.04 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H-3, H-5), 8.28 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-4); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 13.6 (C-18), 19.0 (C-19), 26.4 (C-15), 28.0 (C-17), 31.7 (C-16), 118.0 (C-11), 122.2 (C-14), 123.1 (C-3, C-5), 123.9 (C-13), 131.5 (C-12), 131.9 (C-4), 141.2 (C-9), 151.0 (C-10), 151.9 (C-2, C-6), 164.5 (C-7); RMN ^{119}Sn (112.04 MHz, CDCl_3) δ : -392.1; IR $\sqrt{\text{max}}$ (KBr): 1582 (C=N), 1366 (CH_3), 583 (Sn-O), 431 (N \rightarrow Sn) cm^{-1} ; EM (FAB $^+$) m/z (%): [(M $^+$ +1), 646] (4), [(M $^+$ -Bu), 588] (8), [(M $^+$ -2Bu), 531] (2) 516 (2), 307 (25).

bis(N,N'-Di(2-hidroxilato-5-nitrofenil)-2,6-bis(acetil-piridina)-dibutil estaño
(3.8)

El complejo **3.8** se preparó con las siguientes cantidades: 0.25 g (1.53 mmol) de 2,6-diacetilpiridina, 0.472 g (3.06 mmol) de 2-amino-4-nitrofenol y 0.381 g (1.85 mmol) de óxido de dibutil estaño, la mezcla de reacción se mantuvo bajo reflujo durante 8 h, obteniéndose 0.96 g (94%) de un sólido color anaranjado el cual no funde; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.52 (6H, t, $J = 6.7$ Hz, H-18), 0.68-0.94 (12H, m, H-15, H-17, H-16), 3.04 (6-H, s, H-19), 7.10 (2H, d, $J = 9.3$ Hz, H-12), 7.16 (2H,

d, $J = 7.5$ Hz, H-11), 8.18 (2H, dd, $J = 9.4, 2.7$ Hz, H-14), 8.23 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H-3, H-5), 8.45 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, H-4); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 13.5 (C-18), 19.3 (C-19), 26.2 (C-15), 28.0 (C-17), 31.9 (C-16), 120.0 (C-11), 121.5 (C-14), 125.3 (C-3, C-5), 127.9 (C-13), 130.0 (C-12), 135.1 (C-4), 142.2 (C-9), 150.6 (C-10), 155.5 (C-2, C-6), 171.4 (C-7); RMN ^{119}Sn (112.04 MHz, CDCl_3) δ : -392.4; IR $\sqrt{\text{max}}$ (KBr): 1585 (C=N), 1366 (CH_3), 618 (Sn-C), 573 (Sn-O), 435 (N \rightarrow Sn) cm^{-1} ; EM (FAB $^+$) m/z (%): [(M^+ +1), 668] (4), [(M^+ -Bu), 610] (2), 307 (19). Análisis elemental calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_6\text{Sn}$: C, 52.17; H, 4.94; N, 10.49. Encontrado C, 52.23; H, 4.55; N, 10.34.

VII.5 Procedimiento del ensayo de citotoxicidad.

Las líneas celulares utilizadas en las pruebas biológicas son las siguientes:

- K562 : Células de leucemia mieloblástica crónica.
- HCT-15 : Células de adenocarcinoma de colon.
- MCF-7 : Células de adenocarcinoma de glándulas mamarias.
- PC-3 : Células de adenocarcinoma de próstata.
- U251 : Células cancerígenas del Sistema Nervioso Central.
- SKLU-1 : Células de adenocarcinoma de pulmón.

Las líneas celulares que se utilizan en el laboratorio de pruebas biológicas del Instituto de Química, pertenecen al panel del NCI (National Cancer Institute), las cuales fueron adaptadas al medio de cultivo RPMI-1640 (medio 1640 del Roswell Park Memorial Institute), adicionado con suero fetal bovino (5%), una mezcla de antibióticos-antimicóticos al 10% y 2 mM de glutamina. Con la excepción de la línea K-562, las líneas restantes se adhieren a las botellas de cultivo y para cosecharlas se adicionó 1 mL de tripsina-EDTA al 0.05%. La tripsina actúa produciendo la digestión de las proteínas de adherencia y el EDTA se encarga de quelatar los cationes divalentes Ca^{2+} y Mg^{2+} , necesarios para que actúen las proteínas de adherencia.^[105]

Una vez que las células se desprendieron del sustrato plástico de la botella de cultivo, se les adicionó de 5-10 mL de medio de cultivo para inactivar la tripsina. Las células en suspensión se depositaron en tubos cónicos y se centrifugaron por 3 minutos; ya formado el paquete celular se le adicionó medio de cultivo para resuspender las células. De la suspensión se tomaron 0.05 mL del inóculo y se resuspendieron en 0.45 mL de azul de tripano, colorante que permite contar a las células vivas; ya que este no penetra en el citoplasma de las células viables, mientras que las células que no presentan una membrana íntegra aparecen de color azul.^[105]

El recuento de las células se llevó a cabo utilizando una cámara de Neubauer, para lo cual la cámara se limpió con etanol al 70%, se secó y se colocó en una superficie horizontal. Posteriormente, se tomó una alícuota de 10µL de la suspensión celular y se colocó en la cámara de Neubauer. Con la ayuda de un microscopio se contaron las células viables, localizadas en los cuatro cuadrantes correspondientes a la cuenta de linfocitos. El número de células por mililitro de suspensión se obtuvo con la siguiente ecuación:^[106]

$$C = (RC)(10^{-4})$$

Donde:

C = número de células en un mililitro de suspensión.

RC = promedio de células obtenidas de la cuenta de los cuatro cuadrantes de la cámara.

Determinando el número de células por mL, se realizaron los ajustes necesarios para depositar el inóculo en un volumen de 100µL/pozo a la densidad indicada. (Tabla 29) Para realizar los ensayos se utilizaron micro placas de plástico con 96 pozos. Cada placa se inoculó con dos líneas celulares por triplicado y se preinoculó por 24 h a 37°C con una atmósfera de 5% de CO₂ y 100% de humedad relativa, para permitir que las células alcanzaran la fase exponencial de

crecimiento antes de adicionar los complejos a probar **2.5-2.8**. Para realizar un crecimiento primario de los compuestos se utilizó la concentración más alta permitida 100 μ M; todas las muestras se disolvieron en metanol. Después de la preparación de las muestras en solución, se agregaron 100 μ L, siendo el volumen final del pozo de 200 μ L. Nuevamente la microplaca se incubó por 48 h bajo las condiciones antes mencionadas.

TABLA 29. Tiempos de duplicación de células cancerosas utilizadas.

Línea celular	Órgano de origen	Tiempo de duplicación (h)	Células / pozo
K-562	CML	19	5 000
HCT-15	colon	18.1	10 000
MCF-7	mama	25.6	5 000
PC-3	próstata	28.7	7 500
U251	SNC	25.4	7 500
SKLU-1	pulmón	24.5	10 000

Al finalizar el periodo de incubación de los compuestos con las células, estas se fijaron *in situ* añadiendo 50 μ L de una solución de ácido tricloroacético (TCA) frío al 50% para células adheridas o al 80% para células en suspensión y se incubaron a 4°C por 60 minutos. La ventaja que presenta el TCA es la de fijar rápidamente las células y no crea artefactos mitológicos que puedan interferir con la lectura.^[107]

Posteriormente, el sobrenadante se desechó y las placas se lavaron 5 veces con agua desionizada y se secaron al ambiente. El teñido de las células fijadas al sustrato del pozo, se realizó con 100 μ L de una solución al 0.4% de sulforodamina B (SRB) y se incubaron por 30 minutos a temperatura ambiente. La SRB no unida se removió con 3 lavados de ácido acético al 1% y la placa se dejó secar al ambiente. La sulforodamina B (Figura 15) es un colorante aniónico, el cual reacciona con los grupos sulfónicos y sulfhídricos de las proteínas formando un complejo que se solubiliza en soluciones básicas débiles. Este colorante ofrece importantes ventajas, tales como linealidad de 1.5-2.0 unidades de densidad

óptica, estable al ambiente, independiente del metabolismo intermediario y presenta mayor sensibilidad que otros bioensayos.^[107-109]

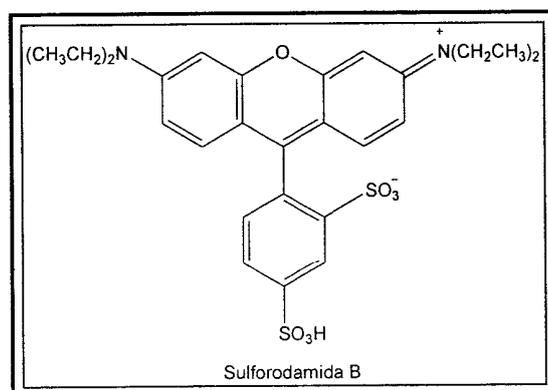


Figura 15. Estructura de la B sulforodamina.

Una vez realizada la tinción, a las placas se les agregaron 100µL de un buffer de tris y se agitaron por 10 minutos para favorecer la solubilización del complejo; a continuación se midió la densidad óptica (DO) en un lector de microplacas a una longitud de onda de 515 nm.

Los datos se procesaron obteniendo el promedio de la DO de los 3 pozos por línea tratados con el compuesto (DOt). Adicionalmente, se manejaron 3 pozos tratados con MeOH (DOc) y dos pozos testigos, que corresponden aquellos que no contienen células pero si compuesto (DOb). El porcentaje de inhibición de crecimiento (%CI) se calculó con la siguiente ecuación:

$$\%CI = 100 - (DOt - DOb / DOc - DOb) * 100$$

VII.6 Procedimiento del ensayo de actividad antioxidante.

➤ VII.6.1 Reacción de anti-radicales (DPPH).

El 2,2-difenil picril hidracilo (DPPH) (Figura 16) es un radical estable conocido que en presencia de atrapadores de radicales libres se reduce, provocando la

desaparición de su color violeta después de un intervalo de tiempo a un color amarillo.

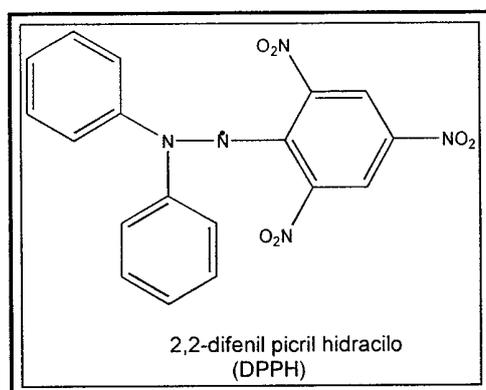


Figura 16. Estructura del DPPH.

Para determinar si los compuestos tenían actividad atrapadora de radicales libres (antioxidante) se midió de manera indirecta la reducción del radical libre 2,2-difenil picril hidracilo (DPPH) mediante una técnica espectrofotométrica. En un tubo Eppendorf se pesó alrededor de 1mg de complejo y se adicionaron los μL necesarios de DMSO para obtener una solución 20 μM (Solución Stock). Para obtener la concentración 1 μM se tomaron 10 μL de la solución Stock y se le adicionaron 50 μL de EtOH, mientras que para lograr la concentración 10 μM se tomaron 50 μL de la solución 1 μM y se adicionaron 90 μL de EtOH, por último para conseguir la concentración 100 μM se tomaron 50 μL de la solución 10 μM y se adicionaron 90 μL de EtOH.

En una placa de 96 pozos se agregaron en los primeros pozos 200 μL de EtOH para el blanco, 150 μL de EtOH y 50 μL de estas diluciones para restar la interferencia debida a la coloración de los compuestos y en los siguientes pozos se agregaron por triplicado 50 μL de estas diluciones además de un blanco.

Posteriormente, se agregan 150 μL de una solución etanólica de DPPH 100 μM . Se cubrió la placa para protegerla de la luz y se incubó a 37°C con agitación por 30 minutos. Terminado el tiempo se leyó la placa a 515 nm en un lector de

microplacas EI340 de BIO-TEK™. La actividad sobre el DPPH se expresa como porcentaje de reducción y se calculó con la fórmula:

$$\% \text{ de reducción} = (C - E / C)100$$

en donde

C= DO del control (DPPH 100 μ M)

E= DO del experimental (mezcla DPPH 100 μ M + compuesto problema)

VII.6.2 Inhibición de la Peroxidación de lípidos en cerebro de ratón (SRATB).

Homogenado de cerebro y cuantificación de proteínas.

Se anestesió a la rata con éter y se sacrificó por dislocación cervical. Se extrajo el cerebro completo y se colocó en solución PBS fría, manteniéndolo en un recipiente con hielo. Después se lavó el cerebro con agua destilada para quitar los restos de sangre. Se pesó el cerebro y se agregaron 10 mL de solución PBS por cada gramo de cerebro (10 mL/g). Se homogenizó durante 60 segundos y se centrifugó a 3000 rpm por 10 min y se recuperó el sobrenadante.

Se tomaron 30 μ L del homogenado y se agregó agua desionizada hasta obtener un volumen de 3 mL. Se midió la absorbancia a 280 y 205 nm para realizar el conteo de proteínas. Para ello se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Proteína (mg/ml)} = A_{205} / [27 + 120 (A_{280} / A_{205})]$$

El resultado de obtenido al utilizar la formula se multiplicó por 100 para obtener la concentración de proteínas en el homogenado crudo (mg prot/ml). Se ajustó la concentración de proteína del sobrenadante a la concentración deseada (2.3529 mg/mL) con solución PBS aplicando la formula:

$$V_2 = C_1 V_1 / C_2$$

en donde:

C_1 = concentración de proteína del homogenado crudo.

V_1 = volumen del homogenado crudo.

C_2 = concentración que se desea obtener

V_2 = volumen al que se debe llevar el homogenado para obtener la concentración deseada (C_2).

VII.6.2.1 Determinación de la concentración de MDA inducido con FeSO₄.

Se colocaron 425 μ L del homogenado (2.3529 mg/mL) en tubos Eppendorf de 2 mL y se le adicionaron 25 μ L del compuesto a probar (20 veces más concentrado disuelto en vehículo). Los tubos se incubaron por 30 min a 37 °C con agitación. Una vez terminado el tiempo se le adicionaron 50 μ L de FeSO₄, cuya concentración era de 100 μ M hasta obtener una concentración final de 10 μ M. Se incubaron durante 60 minutos a 37 °C con agitación constante.

Se les adicionaron 500 μ L de reactivo TBA (mezcla de Ácido tiobarbitúrico 1% en NaOH 0.05 N y Ácido tricloroacético 30% en relación (1:1) y se incubaron en baño de hielo durante 10 minutos. Se centrifugaron 5 min a 10,000 rpm a temperatura ambiente y posteriormente se incubaron por 30 minutos en baño de agua a 90 °C cuidando que estén bien tapados los tubos.

Se enfriaron los tubos en un baño de hielo y se destaparon para liberar la presión. Se depositaron 100 μ L de cada tubo en una microplaca de 96 pozos.

Se midió la absorbancia a 540 nm en un lector para microplacas EI340 de BIO-TEK™ y los resultados obtenidos se interpolan en la curva estándar para obtener la concentración de MDA (μ M/mL). (Figura 17)

Curva estándar de malondialdehído (MDA)

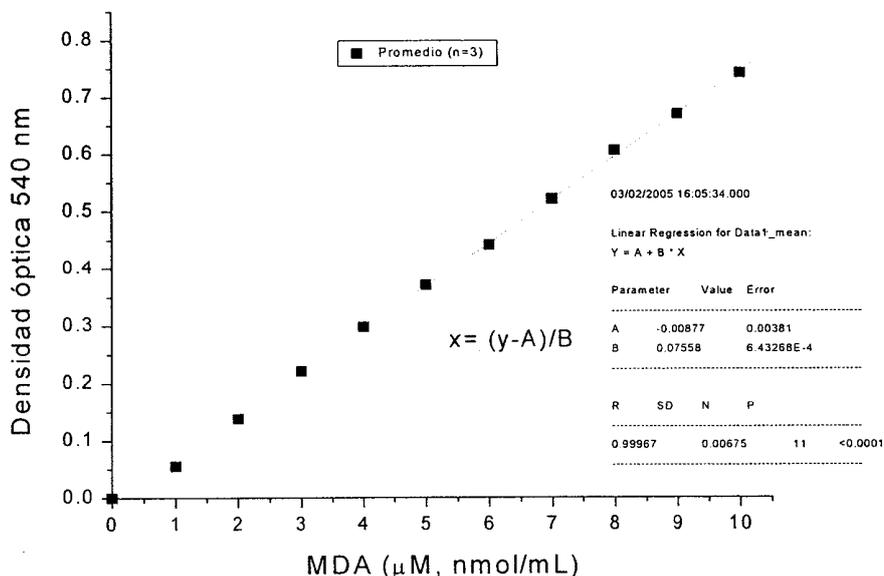


Figura 17. Curva estándar de malonaldehído.

Debido a que todos los complejos analizados presentaron actividad inhibitoria en el cernimiento primario, se procedió a determinar su CI_{50} , para lo cual se realizaron curvas de concentración de MDA vs respuesta llevando a cabo el procedimiento anteriormente citado para cada uno de los puntos de la curva. Una vez obtenidos los resultados se obtuvieron las gráficas de log de la concentración vs porcentaje de inhibición obteniendo por lo menos tres gráficas con resultados estadísticamente significativos. Los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) seguida de una prueba de Dunnett para aislar grupos con diferencia significativa con respecto al control (concentración 0) con un nivel de significancia de $p \leq 0.05$ ó $p \leq 0.01$.

A cada gráfica se le aplicó una regresión lineal, obteniendo su ecuación y de ésta se despejó el valor de concentración a la cual se obtenía el 50% de inhibición de la siguiente forma:

$$CI_{50} = (50 - b) / m$$

Se calculó el promedio y la desviación estándar (σ) de los valores obtenidos de las distintas gráficas y posteriormente se calculó el error estándar (ES) con la siguiente fórmula:

$$ES = \sigma / \sqrt{n}$$

Donde:

σ : desviación estándar de los valores obtenidos de CI_{50} .

n: número total de datos.

VII.7 Procedimiento del ensayo de actividad anti-inflamatoria.

VII.7.1 Edema inducido con TPA.

Se emplearon grupos de 5 ratones macho cuyo peso osciló entre 18-25 g los cuales fueron anestesiados por vía intraperitoneal con pentobarbital sódico a una dosis de 3.5 mg/kg. En la oreja derecha (tratada) del ratón se aplicó con una jeringa Hamilton 10 μ L de una solución etanólica de TPA (agente promotor de la inflamación) (Figura 18) cuya concentración final fue de 0.25 mg/ml. Después de 10 minutos, en la misma oreja se aplicaron 20 mL de la solución del complejo a distintas concentraciones. La oreja izquierda (control) recibió solamente los vehículos 10 μ L de etanol y 20 μ L del vehículo que en este caso fue una mezcla de acetona-diclorometano 1:1.

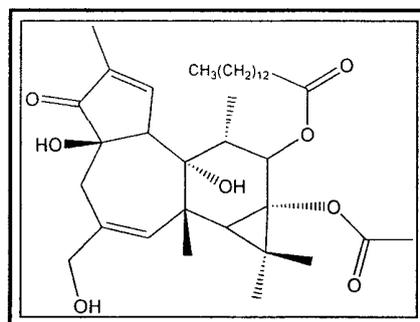


Figura 18. Estructura del 13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol (TPA).

La inflamación se desarrolla durante 4 h y al finalizar dicho periodo, los animales se anestesiaron con éter y se sacrificaron por dislocación cervical y se tomó de la porción central de cada oreja un pedazo de tejido de 7 mm de diámetro con la ayuda de un sacabocado. Cada una de las orejas control y tratadas fueron depositadas en tubos Eppendorff previamente pesados. La diferencia en peso representa el edema para cada ratón.

La medida de la respuesta anti-inflamatoria se obtuvo por diferencia de peso entre la oreja tratada con el agente de prueba y el peso de la oreja control. El porcentaje de inhibición del edema se obtuvo de la siguiente manera:

$$\% \text{ Inhibición} = [(C/E) / C] 100$$

Donde;

C: edema del grupo tratado con TPA

E: edema del grupo tratado con TPA y el complejo.

La Indometacina se utilizó como estándar a las dosis de 0.13, 0.24, 0.42, 0.75 y 1.3 $\mu\text{mol/oreja}$. Con los datos obtenidos se calculó el promedio de 5 animales \pm error estándar de la media (ESM). Los resultados se analizaron mediante una prueba de Dunnett y los valores de $p \leq 0.05$ y $p \leq 0.01$ se consideraron como diferencia significativa con respecto al control.

Para determinar la CI_{50} se graficó el log de la concentración vs % de inhibición del edema y se aplicó una regresión lineal para obtener la concentración a la cual se obtenía el 50% de respuesta, el resultado se reporta en $\mu\text{mol/oreja}$.

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Haiduc, I.; Silvestru, C. *Organometallics in Cancer Chemotherapy. Main Group Metal Compounds*. **1989**, *1*, 129.
2. Cotton, F. A.; Wilkinson, G.; Gaus, P. L. *Basic Inorganic Chemistry*. John Wiley and Sons, Inc. **1994**, 383. (Chapter 15)
3. McCleverty, J. A.; Meyer J. T. *Comprehensive Coordination Chemistry II*. CFR Perkin. **2004**, *3*, 545.
4. Evans, C. J.; Karpel, S. *Organotin Compounds in Modern Technology*. J. Organomet. Chem. Library, **1985**, *16*, 41.
5. Chandrasekar, V.; Nagendran, S.; Baskar, V. *Coord. Chem. Rev.* **2002**, *235*, 1.
6. Evans, C. J.; Karpel, S. *J. Organomet. Chem. Libr.* **1985**, *16*, 1.
7. Angiolini, L.; Caretti, D.; Mazzocchetti, L.; Salatelli, E.; Willem, R.; Biesemans, M. *J. Organomet. Chem.* **2006**, *691*, 1965.
8. Gross, C. D. *Inorg. Chem.* **1989**, *28*, 2355.
9. Omae, I. *Appl. Organometal. Chem.* **2003**, *17*, 81.
10. Chaudhary, A.; Agarwal, M.; Singh, R. V. *Appl. Organomet. Chem.* **2006**, *20*, 295.
11. Raper, E. S. *Coord. Chem. Rev.* **1994**, *129*, 91.
12. Raper, E. S. *Coord. Chem. Rev.* **1996**, *153*, 199.
13. Khan, M. I.; Baloch, M. K.; Ashfaq, M. *J. Organomet. Chem.* **2004**, *689*, 3370.
14. Demertzi, D. K.; Dokorou, V.; Ciunik, Z.; Kourkoumelis, N.; Demertzis, M. A. *Appl. Organomet. Chem.* **2002**, *16*, 360.
15. Gaur, S.; Maanju, S.; Fhami, N.; Singh, R. V. *Main Group Metal Chemistry*. **2005**, *28*, 293.
16. Shahzadi, S.; Ali, S.; Bhati, M. H.; Fettouhi, M.; Athar, M. *J. Organomet. Chem.* **2006**, *691*, 1797.

17. Girasolo, M. A.; Schillaci, D.; Di Salvo, C.; Barone, G.; Silvestri, A.; Ruisi, G. *J. Organomet. Chem.* **2006**, 691, 693.
18. Girasolo, M. A.; Di Salvo, C.; Schillaci, D.; Barone, G.; Silvestri, A.; Ruisi, G. *J. Organomet. Chem.* **2005**, 690, 4773.
19. Nath, M.; Pokharia, S.; Eng, G.; Song, X.; Kumar, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, 40, 289.
20. Nath, M.; Ruchi, J.; Eng, G.; Song, X.; Kumar, A. *Inorg. Chem. Comm.* **2004**, 7, 1161.
21. Nath, M.; Ruchi, J.; Eng, G.; Song, X.; Kumar, A. *Spectrochimica. Acta. Part A.* **2005**, 62, 1179.
22. Nath, M.; Pokharia, S.; Eng, G.; Song, X.; Kumar, A. *Spectrochimica. Acta. Part A.* **2006**, 63, 66.
23. Nath, M.; Pokharia, S.; Eng, G.; Song, X.; Kumar, A. *J. Organomet. Chem.* **2003**, 669, 109.
24. Nath, M.; Pokharia, S.; Eng, G.; Song, X.; Kumar, A. *J. Organomet. Chem.* **1999**, 557, 1.
25. Gómez, E.; Contreras-Ordóñez, G.; Ramírez-Apan, T. *Chem. Pharm. Bull.* **2006**, 54, 54.
26. Nath, M.; Pokharia, S.; Yadav, R. *Coord. Chem. Rev.* **2001**, 215, 99.
27. Nath, M.; Pokharia, S.; Eng, G.; Gielen, M.; Kemmer, M.; Biesemans, M.; Willem, R.; De Vos D. *Appl. Organomet. Chem.* **2003**, 17, 305.
28. Gielen, M.; Biesemans, M.; Willem R. *Appl. Organomet. Chem.* **2005**, 19, 440.
29. Zhou, Y.; Jiang, T.; Ren, S.; Yu, J.; Xia, Z. *J. Organomet. Chem.* **2005**, 690, 2186.
30. Davies, A. G.; Smith, P. J. "*Tin, Comprehensive Organometallic Chemistry*", Ed. G. Wilkinson. Pergamon. Press, Nueva York; **1982**, (Chapter 11).
31. Lockhart, T.; Manders, W. F. *Inorg. Chem.* **1986**, 25, 892.
32. Otera, J. J. *Organomet. Chem.* **1981**, 221, 57.
33. Holeček, J.; Nádvorník, M.; Handlíř, K.; Lyčka, A. *J. Organomet. Chem.* **1983**, 241, 177.

34. Holeček, J.; Nádvorník, M.; Handlíř, K.; Lyčka, A. *J. Organomet. Chem.* **1986**, *315*, 299.
35. Tuna, F.; Pascual, G. I.; Sutter, J. P.; Andruh, M.; Golhen, S.; Guillevic, J.; Pritzkow, H. *Inorg. Chem. Acta.* **2003**, *342*, 131.
36. Collison, S. R.; Fenton, D. E. *Coord. Chem. Rev.* **1996**, *148*, 19.
37. Corden, J. P.; Errington, W.; Moore, P.; Wallbridge, M. G. H. *Chem. Comm.* **1999**, 323.
38. Gielen, M. *Appl. Organomet. Chem.* **2004**, *16*, 481.
39. Weng, Ng. S.; Kumar Das, V. G.; Holeček, J.; Lyčka, A.; Gielen, M.; Drew M. G. B. *Appl. Organomet. Chem.* **1997**, *11*, 39.
40. Fuber, F.; Preut, H.; Hoffmann, E. *Acta Cryst.* **1989**, *C45*, 51.
41. Gielen, M.; Dalil, H.; Ghys, L.; Boduszek, B.; Tiekink, E. R. T.; Martins, J. C.; Biesemans, M.; Willem, R. *Organometallics.* **1998**, *17*, 4259.
42. Weng Ng, S.; Sundara Raj S. S.; Abdul Razak, I.; Fun, H.; Weng Ng, S. **2000**, *23*, 193.
43. Picard, C.; Tisnes, P.; Cazaux, L. *J. Organomet. Chem.* **1986**, *315*, 277.
44. Gómez, E.; Flores, R.; Huerta, G.; Alvarez-Toledano, C.; Toscano, R. A.; Santes, V.; Nava, N.; Sharma, P. *J. Organomet. Chem.* **2003**, *672*, 115.
45. Ma, C.; Han, Y.; Zhang, R.; Wang, D. *Dalton Trans.* **2004**, 1832.
46. Don Yin, H.; Li, G.; Jun Gao, Z.; Long Xu, H. *J. Organomet. Chem.* **2006**, *691*, 1235.
47. Varga, R. A.; Shuermann, M.; Silvestru, C. *J. Organomet. Chem.* **2001**, *623*, 40.
48. Schürmann, M.; Huber, F.; Barbieri, R. *Acta Cryst.* **2001**, *C57*, 40.
49. Deák, A.; Radics, L.; Kálman, A.; Párkányi, L.; Haiduc, I. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2001**, 2849.
50. González, A. S.; Castiñeiras, A.; Casas, J. S.; Sordo, J.; Russo, U. *Inorg. Chimica Acta.* **1994**, *216*, 257.
51. Di Nicola, C.; Galindo, A.; Hanna, J. V.; Marchetti, F.; Pettinari, C.; Pettinari, R.; Rivarola, E.; Skelton, B. W.; White, A. H. *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 3094.
52. Belsky, I.; Gerther, A.; Zilkla, J. *Med. Chem.* **1968**, *1*, 92.

53. Holm, R. H. in: *Inorg. Biochem.* Ed. G. L. Eichorn. Elsevier. Press
Amsterdam, **1974**, 1137.
54. Albanus, L.; Bjorklund, N. E.; Gustafsson, B.; Johnson, M. *Acta Pharmacol. Toxicol. Suppl.* **1975**, 36, 93.
55. Joshi, K. C.; Pathak, V. N.; Panwar, P. *Agric. Biol. Chem.* **1977**, 41, 543.
56. De Vos, D.; Willem, R.; Gielen, M.; Wingerden, K. E.; Nooter, K. *Metal Based Antitumor Drugs.* **1998**, 5, 179.
57. Mancilla, T.; Carrillo, L.; Zamudio-Rivera, L. S.; Camacho, C. C.; De Vos, D.; Kiss, R.; Darro, F.; Mahieu, B.; Tiekink, E. R. T.; Rahier, H.; Gielen, M.; Kemmer, M.; Biesemans, R.; Willem, R. *Appl. Organomet. Chem.* **2001**, 15, 593.
58. Saxena, A. K.; Huber, F. *Coord. Chem. Rev.* **1989**, 95, 109.
59. Gielen, M. *Coord. Chem. Rev.* **1996**, 151, 41.
60. Farfán, N.; Beltrán, H. I.; Zamudio-Rivera, L. S.; Mancilla, T.; Santillan, R. *Chem. Eur. J.* **2003**, 9, 2291.
61. Pettinari, C.; Marchetti, F.; Pettinari, R.; Martini, D.; Drozov A.; Tyoyanov S. *Inorg. Chimica Acta.* **2001**, 325, 103.
62. Soon-Beng, T.; Hui-Shan, T.; Seng-Teong, C.; Liang-Ming, Y.; Thiekink, E. R. T. *J. Coord. Chem.* **2000**, 49, 269.
63. Wrackmeyer, B. *Ann. Rep. NMR Spectrosc.* **1985**, 16, 73.
64. Gómez, E.; Contreras-Ordoñez, G.; Ramírez-Apan, T. *Chem. Pharm. Bull.* **2006**, 54, 54.
65. Farfán, N.; Mancilla, T.; Santillan R.; Gutiérrez, A.; Zamudio-Rivera, L. S.; Beltrán, H. I. *J. Organomet. Chem.* **2004**, 689, 3481.
66. Zamudio-Rivera, L. S.; George-Tellez, R.; Lopez-Mendoza, G.; Morales-Pacheco, A.; Flores, E.; Höpf, H.; Barba, V.; Fernández, F. J.; Cabirol, N.; Beltrán, H. I. *Inorg. Chem.* **2005**, 44, 5370.
67. Yin, H. D.; Hong, M.; Li, G.; Wang, D. Q. *J. Organomet. Chem.* **2005**, 690, 3714.
68. Pettinari, C.; Marchetti, F.; Cingolani, A.; Leonesi, D.; Mundorff, E.; Rossi, M.; Caruso, F. *J. Organomet. Chem.* **1998**, 557, 187.

69. Kumar, D. D.; Kanti, D. M.; Nöth, H. Z. *Naturforsch.* **1999**, *54b*, 145.
70. De Souza, G. F.; Lang, L. S.; Manso, L. C. C.; Deflon, V. M.; Filgueiras, C. A. L.; Niquet, E. J. *Molecular. Structure.* **2005**, *753*, 22.
71. Basu Baul, T. S.; Masharing, C.; Willem, R.; Biesemans, M.; Holčapek, M.; Jurásko, R.; Linden, A. *J. Organomet. Chem.* **2005**, *690*, 3080.
72. Pelizzi, C.; Pelizzi, G.; Predieri, G. *J. Organomet. Chem.* **1984**, *263*, 9.
73. Carini, C.; Pelizzi, G.; Pelizzi, G.; Tarasconi, C. P.; Pelizzi, C.; Mohillo, K. C.; Waterfield, P. C. *J. Chem. Soc. Dalton. Trans.* **1989**, 289.
74. De Souza, G. F.; Filgueiras, A. L.; Abras, A.; Al-Juaid, S. S.; Hitchcock, P. B.; Nixon, J. F. *Inorg. Chimica. Acta.* **1994**, *218*, 139.
75. De Souza, G. F.; Deflon, V. M.; Gambardella, M. T. do P.; Francisco, R. H. P.; Ardisson, J. D.; Niquet, E. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 4518.
76. Careri, M.; Mangia, A.; Predieri, G.; Vignali, C. *J. Organomet. Chem.* **1989**, *375*, 39.
77. Alcock, N. W.; Kingston, R. G.; Moore, P.; Pierpoint, C. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1984**, 1937.
78. Mancuso, A.; Swern, D. *Synthesis.* **1981**, 165.
79. Papandopoulos, E.; Jarrer, A.; Issidorides, C. H. *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 615.
80. Kernag, C. A.; Bobbitt, J. M.; McGrant, D. V. *Tetrahedron Letters.* **1999**, *40*, 1635.
81. Forni, L.; Marzorati, F. *Ind. Eng. Chem. Process Des.* **1985**, *24*, 726.
82. Pouchert, C. J.; Behnke, J. *The Aldrich Library of ¹³C and ¹H FT NMR Spectra*, 2nd edition. **1983**, Vol A. 3316.
83. Thabet, S. K.; Adrouni, S. M.; Tayim, H. A. *Analytical Chem.* **1975**, *47*, 1870.
84. Tayim, H. A.; Absi, M.; Darwish, A.; Thabet, S. K. *Inorg. Nucl. Chem. Letters.* **1975**, *11*, 395.
85. Gómez, E.; Santes, V.; De la Luz, V.; Farfan, N. *J. Organomet. Chem.* **2001**, *622*, 54.
86. Lockhart, T.; Manders, W. F. *Inorg. Chem.* **1986**, *25*, 892.

87. Deák, A.; Venter, M.; Kálman, A.; Párkányi, L.; Radics, L.; Haiduc, I. *Eur. J. Inorg. Chem.*, (2000) 127.
88. Bondy, A. *J. Phys. Chem.* **1964**, 68, 144.
89. Huheey, J. E. *J. Phys. Chem.* **1965**, 69, 3284.
90. Pelizzi, C.; Pelizzi, G. *J. Chem. Soc. Trans.* **1980**, 1970.
91. Huheey, J. E. *J. Phys. Chem.* **1966**, 70, 2086.
92. Gielen, M. *Appl. Organomet. Chem.* **2002**, 16, 481.
93. Gielen M., E. R. T. Tiekink ⁵⁰Sn tin compounds and their therapeutic potential, in: Gielen, M., E. R. T. Tiekink (Eds.), *Metallotherapeutic Drugs and Metal-based Diagnostic Agents: The use of Metal in Medicine*, Wiley, Chichester., (2005) 421. (Chapter 22).
94. Doyle, A.; Griffirhs, B. J. *Cell and tissue Culture for medical Research*. Edit. John Wiley & sons, **2000**.
95. Albert, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Watson, J. *Molecular Biology of the cell*. Third ed., Edit. Garland Publishing, **1994**.
96. Jancso, A.; Nagy, L.; Moldrheim, E.; Sletten, E. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1999**, 1587.
97. Casini, A.; Messori, L.; Orioli, P.; Gielen, M.; Kemmer, M.; Willem, R. *J. Inorg. Chem.* **2001**, 85, 297.
98. Yang, Z.; Bakas, T.; Sanches-Diaz, A.; Charalampopoulos, C.; Tsangaris, J.; Hadjiliadis, N. *J. Inorg. Biochem.* **1998**, 72, 133.
99. Fuchs, D.; Baier-Bitterlich, G.; Wede, I.; Wachtr, H. *Reactive oxygen and apoptosis*. In: *Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. North Carolina. **1997**, 40.
100. Prakash, A. *Antioxidant activity. Analytical Progress.* **2001**, 19, 1.
101. Fernández, J.; Pérez-Alvarez, J.A.; Fernández-López, JA. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry.* **1997**, **59**, 345.
102. Litter, M. *Farmacología Experimental y Clínica*. 7ª Edición. Edit. Libreria "El Ateneo", Argentina, **1988**, 1260.

103. Roitt, I. M.; Brostoff, J.; Male, D. K. *Inmunologia*: 3ª Edición. Trad. Fontan, F. F. Edit. Ediciones Científicas y Técnicas S. A. **1989**, 15.
104. Merlos, M.; Gómez, L. A.; Giral, M. "Effects of PAF-antagonist in mouse earoedema induced by several inflammatory agents"; *Br. J. Pharmacol.* **1991**, 104, 990.
105. Morgan, S. J; Darling, D. C. *Cultivo de celulas animales*. Editorial Acribia S.A.; España. **1993**, 36, 41.
106. Freshney, I.; Freshney M. *Culture of Inmortalized cells*. Willem-Liss; USA, **1996**.
107. Keepers, Y. P.; Pizao, P. E.; Peters, G. J.; Van Ark-Otte, J.; Winograd, B.; Pinedo, H. M. *Eur. J. Cancer.* **1991**, 27, 897.
108. Pauwels, B.; Korst, A. E.; De Poter, C. M.; Pattyn, G. G.; Lambrechts, H. A.; Baay, M. F.; Lardon, F.; Vermorken, J. B. *Cancer Chemotherapy Pharmacology.* **2003**, 51, 221.
109. Freshney, I. *Culture of animal cells*. Willem-Liss; USA, **1994**.