

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL PERÚ
ESCUELA DE POSGRADO



**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS DE CINCO(II) CON
LIGANDOS DERIVADOS DE LA CUMARINA-3-ÁCIDO CARBOXÍLICO DE
ÍTERES COMO METALOFÁRMACOS ALTERNATIVOS EN EL
TRATAMIENTO DEL CÁNCER**

Tesis para optar el grado de Magíster en Química que presenta

JUAN EDUARDO DIONICIO DÍAZ

Dirigido por

CARLA GALLI RIGO-RIGHI

San Miguel, 2017

RESUMEN

Alumno: Juan Eduardo Dionicio Díaz

Grado a obtener: Magister en Química

Título de la tesis: Síntesis y caracterización de complejos de cinc(II) con ligandos derivados de la cumarina-3-ácido carboxílico de interés como metalofármacos alternativos en el tratamiento del cáncer

En el presente trabajo se han sintetizado y caracterizado cinco nuevos compuestos de coordinación de cinc de fórmula general $Zn(L)_2(H_2O)_2$ con los ligandos 7-hidroxi, 7,8-dihidroxi, 7-metoxi, 6-metoxi y 7-dietilamino-cumarina-3-ácido carboxílico, como un aporte al desarrollo de complejos metálicos alternativos en el tratamiento del cáncer.

El cinc constituye un centro metálico de interés dado su amplio e importante rol biológico en el organismo y su variada acción farmacológica, en la que cabe destacar la recientemente investigada actividad antitumoral. Por otro lado, la complejación a ligandos pertenecientes a una familia de reconocida actividad biológica y farmacológica, que incluye la actividad buscada, podría conducir a un eventual efecto sinérgico. En este contexto, resulta de interés el desarrollo de una serie de complejos de cinc y su completa caracterización con el fin de evaluar más adelante su actividad terapéutica y establecer ciertas relaciones estructura-actividad.

Los complejos de cinc(II) fueron sintetizados por métodos desarrollados en la presente investigación y basados en una reacción de metátesis entre el cloruro de cinc y el ligando cumarínico correspondiente previamente desprotonado. Esto requirió la síntesis previa de los ligandos, los cuales se sintetizaron por una adaptación del método reportado por Lam y colaboradores, basado en una condensación de Knoevenagel entre la 2,2-dimetil-1,3-dioxano-4,6-diona y el salicilaldehído sustituido apropiado. Asimismo, se obtuvieron las sales de sodio correspondientes.

Los ligandos cumarínicos, sales de sodio y complejos de cinc fueron caracterizados por técnicas espectroscópicas de infrarrojo y de resonancia magnética nuclear; además, para los complejos se determinó el contenido de cinc por espectroscopía de emisión atómica de plasma inductivamente acoplado. Con excepción del complejo $7-NEt_2$ sustituido, se les realizó un análisis termogravimétrico. Por último, en un trabajo de colaboración, fue posible determinar de manera concluyente la estructura molecular del complejo con el ligando 7-hidroxi sustituido mediante la técnica difracción de rayos-X de polvo.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a mis padres, Eusebio y Mercedes, por haberse esforzado en brindarme la oportunidad de seguir mis estudios de posgrado en la Pontificia Universidad Católica del Perú y haberme apoyado durante este periodo.

En segundo lugar, agradezco a mi asesora, Carla Galli, por el conocimiento y la experiencia en investigación transmitida durante todos estos años de trabajo conjunto en que me brindó generosamente su tiempo y amistad.

A Ciencia Activa del Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC), Programas de Maestría en Universidades Peruanas y al Convenio 035-2015 FONDECYT, por haber financiado mis estudios en el programa de Maestría en Química de la Pontificia Universidad Católica del Perú.

Agradezco a todos los profesores de la Maestría en Química de la PUCP, en especial a la Directora de la Maestría, Dra. Patricia Morales, por su exitosa gestión durante mi periodo como alumno y su apoyo para mi participación en un congreso internacional. De la misma manera, merece una mención especial el Dr. Luis Ortega por su interés y ayuda en hacer posible la determinación estructural de rayos-X de uno de mis compuestos. Asimismo, deseo agradecer al Dr. Roberto Fernandez del Centro Vasco de Materiales, Aplicaciones y Nanoestructuras, por la resolución y afinamiento de la estructura cristalina de dicho compuesto.

Quisiera agradecer también la valiosa colaboración del personal de la Sección Química que ha hecho posible la caracterización de los compuestos sintetizados. Por la medición y apoyo en la interpretación de los espectros RMN al Dr. Juan López, al Ing. José Ugaz y al Ing. Miguel Pinto. Por la medición de los espectros IR a la Lic. Milka Cajahuanca.

Asimismo, debo agradecer al Ing. Ronald Peralta y a la MSc. Maria del Carmen Mejía por las mediciones de los termogramas de mis compuestos, así como a la Lic. Ilse Acosta por los análisis ICP realizados.

Agradezco a Yanet por su gran amor, compañía y apoyo constante, que me impulsa a seguir adelante.

Por último pero no menos importante, agradezco a mis buenos amigos del Laboratorio Galli Manuel Tomita, José Curihuaman, Carlos Sernaqué, Said Neme y William Medroa por los gratos momentos compartidos y el ambiente de camaradería que caracterizó este periodo de nuestra vida.



ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	4
2.1. Objetivo general.....	4
2.2. Objetivos específicos	4
3. MARCO TEÓRICO	5
3.1. Cáncer.....	5
3.2. Tratamiento: Quimioterapia y metalofármacos de cisplatino.....	6
3.3. Cinc	8
3.3.1. Características químicas y biológicas del cinc	8
3.3.2. Actividad fisiológica y bioquímica del cinc	9
3.3.3. Cinc y sus posibles mecanismos de acción anticancerígena	10
3.3.4. Compuestos de cinc con actividad antitumoral	13
3.4. Cumarinas y complejos cumarínicos con actividad anticancerígena.....	17
3.4.1. Elección de un ligando orgánico con núcleo cumarínico	18
3.4.2. Complejos cumarínicos con actividad antitumoral	19
3.5. Aspectos estructurales de los complejos de la cumarina-3-ácido carboxílico ...	21
4. PROPUESTA DE INVESTIGACIÓN	25
5. METODOLOGÍA: SÍNTESIS DE COMPLEJOS DE ZN(II) CON LIGANDOS DERIVADOS DE LA CUMARINA-3-ÁCIDO CARBOXÍLICO	27
5.1. Síntesis de ligandos derivados de la cumarina-3-ácido carboxílico.....	27
5.2. Síntesis de complejos de cinc(II) con ligandos cumarínicos	30
6. PARTE EXPERIMENTAL	33
6.1. Equipos, reactivos y solventes	33
6.2. Síntesis de ligandos.....	35

6.2.1. Cumarina-3-ácido carboxílico	35
6.2.2. 7-hidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico	35
6.2.3. 7,8-dihidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico	36
6.2.4. 7-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico	37
6.2.5. 6-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico	37
6.2.6. 7-dietilaminio-cumarina-3-ácido carboxílico	38
6.2.7. Acetato de piperidonio.....	39
6.3. Síntesis de las sales de sodio de los ligandos cumarínicos.....	39
6.3.1. Cumarina-3-carboxilato de sodio	39
6.3.2. 7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato de sodio.....	40
6.3.3. 7,8-dihidroxi-cumarina-3-carboxilato de sodio.....	40
6.3.4. 7-metoxi-cumarina-3-carboxilato de sodio.....	41
6.3.5. 6-metoxi-cumarina-3-carboxilato de sodio.....	42
6.3.6. 7-dietilamino-cumarina-3-carboxilato de sodio.....	42
6.4. Síntesis de los complejos de Zn(II)	43
6.4.1. Diacuobis[cumarina-3-carboxilato]cinc(II).....	43
6.4.2. Diacuobis[7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II)	44
6.4.3. Diacuobis[7,8-dihidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II)	44
6.4.4. Diacuobis[7-metoxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II)	45
6.4.5. Diacuobis[6-metoxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II)	46
6.4.6. Diacuobis[7-dietilamino-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).....	47
6.5. Determinación del contenido de cinc en los complejos por espectroscopía de emisión atómica por plasma inductivamente acoplado	48
6.6. Ensayos de cristalización	49
7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	50
7.1. Procesos de síntesis.....	50
7.1.1. Síntesis de ligandos y sales de sodio cumarínicas	50

7.1.2. Síntesis de los complejos de cinc	51
7.2. Caracterización	57
7.2.1. Ligandos derivados de la cumarina-3-ácido carboxílico	57
7.2.1.1. Espectroscopia infrarroja	57
7.2.1.2. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear.....	59
7.2.2. Sales de sodio cumarínicas	66
7.2.2.1. Espectroscopia infrarroja	66
7.2.2.2. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protón	68
7.2.3. Complejos de cinc con ligandos cumarínicos.....	70
7.2.3.1. Espectroscopia infrarroja	70
7.2.3.2. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear.....	73
7.2.3.3. Análisis termogravimétricos	79
7.2.3.4. Análisis por espectrometría de emisión atómica de plasma inductivamente acoplado	81
7.2.3.5. Análisis por difracción de rayos X de polvo.....	82
8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	90
8.1. Conclusiones	90
8.2. Recomendaciones	93
9. BIBLIOGRAFÍA.....	94
10. ANEXOS.....	98

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Formación y efectos de los aductos de cisplatino	7
Figura 2	Complejos de platino aprobados para el uso clínico.....	8
Figura 3	Funciones fisiológicas y bioquímicas del cinc.....	10
Figura 4	Resumen de los potenciales efectos de la deficiencia de cinc.....	13
Figura 5	Algunos complejos de Zn(II) sintetizados con probada acción antitumoral.....	16
Figura 6	Estructura y numeración del núcleo cumarínico.....	17
Figura 7	Algunas cumarinas con actividad anticancerígena.....	18
Figura 8	Complejos cumarínicos con actividad citotóxica.....	20
Figura 9	Algunos modos de coordinación del anión RCO_2^-	21
Figura 10	Modo de coordinación propuesto para $\text{Ln}(\text{CCA})_2\text{NO}_3$, donde Ln = Ho(III) y Er(III).....	22
Figura 11	Modo de coordinación propuesto para complejos de metales de transición de la primera serie.....	22
Figura 12	Modo de coordinación propuesto para complejos cumarínicos de Cu(II) y Mn(II).....	23
Figura 13	Estructura molecular establecida por difracción de rayos-X de monocristal para los complejos diacuobis(2-oxo-2H-cromen-3-carboxilato)M(II) [M = Zn, Cu, Mn y Cd].....	24
Figura 14	Modo de coordinación propuesto para complejos de Ag(I).....	24
Figura 15	Mecanismo de reacción en la síntesis de los ligandos cumarina-3-ácido carboxílico y derivados.....	28
Figura 16	Síntesis propuesta de los complejos de cinc (II).....	30
Figura 17	Espectro IR (KBr) del ligando 7-hidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico	58

Figura 18	Espectro ^1H -RMN del ligando 7-OHccaH y multiplicidad de sus hidrógenos.....	60
Figura 19	Espectro ^1H - ^{13}C HSQC-RMN del ligando 7-hidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico.....	63
Figura 20	Espectro ^1H - ^{13}C HMBC-RMN del ligando 7-hidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico.....	63
Figura 21	Espectro ^1H - ^{13}C ADEQUATE-RMN del ligando 7-hidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico.....	64
Figura 22	Espectro IR (KBr) del ligando 7-OHccaH y de su sal Na(7-OHcca)...	67
Figura 23	Espectro ^1H -RMN del ligando 7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato de sodio.....	69
Figura 24	Espectro IR (KBr) del ligando 7-OHccaH, sal Na(7-OHcca) y complejo $\text{Zn}(7\text{-OHcca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$	72
Figura 25	Espectro ^1H -RMN del complejo diacuobis[7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).....	73
Figura 26	Espectro HSQC-RMN del complejo diacuobis[7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).....	76
Figura 27	Espectro HMBC-RMN del complejo diacuobis[7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).....	77
Figura 28	Curva TG/DSC del complejo diacuobis[7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).....	79
Figura 29	Difractograma del complejo diacuobis[7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).....	83
Figura 30	Estructura del complejo diacuobis[7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).....	84
Figura 31	Patrón de enlaces de hidrógeno entre complejos metal-cumarina para los complejos $\text{Zn}(7\text{-OHcca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ y $\text{Zn}(\text{cca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ respectivamente.....	86
Figura 32	Estructura tipo cremallera para los complejos de $\text{Zn}(7\text{-OHcca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ y $\text{Zn}(\text{cca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ respectivamente.....	87

Figura 33	Nuevo enlace de hidrógeno observado en el complejo $Zn(7-OHcca)_2(H_2O)_2$	88
------------------	----------------------------------------------------------------------------------	----



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Cumarinas a sintetizar y sus estructuras.....	29
Tabla 2	Aspecto físico, rendimientos y solubilidades de los ligandos sintetizados.....	50
Tabla 3	Aspecto físico, rendimientos y solubilidades de las sales sintetizadas...	51
Tabla 4	Aspecto físico, rendimientos y solubilidades de los complejos sintetizados.....	55 2
Tabla 5	Ensayos de síntesis del complejo $Zn(7-OHcca)_2(H_2O)_2$	53
Tabla 6	Ensayos de síntesis del complejo $Zn(7,8-OHcca)_2(H_2O)_2$	53
Tabla 7	Ensayos de síntesis del complejo $Zn(6-OMecca)_2(H_2O)_2$	54
Tabla 8	Ensayos de síntesis del complejo $Zn(7-OMecca)_2(H_2O)_2$	55
Tabla 9	Ensayos de síntesis del complejo $Zn(7-NEt_2cca)_2(H_2O)_2$	56
Tabla 10	Datos IR (cm^{-1}) seleccionados de la cumarina-3-ácido carboxílico y los derivados sustituidos.....	59
Tabla 11	Datos 1H -RMN de la cumarina-3-ácido carboxílico y derivados sustituidos tomado en d_6 -DMSO.....	61
Tabla 12	Asignación de todas las señales de los espectros ^{13}C -RMN en d_6 DMSO de la cumarina-3-ácido carboxílico y sus derivados sustituidos..	65
Tabla 13	Datos IR (cm^{-1}) seleccionados de la cumarina-3-carboxilato de sodio y los derivados sustituidos.....	68
Tabla 14	Datos 1H -RMN de la cumarina-3-carboxilato de sodio y derivados sustituidos tomado en d_6 DMSO.....	69
Tabla 15	Datos IR (cm^{-1}) seleccionados de los complejos cumarínicos.....	70
Tabla 16	Datos 1H -RMN de los complejos cumarínicos tomado en d_6 DMSO.....	75
Tabla 17	Asignación de todas las señales de los espectros ^{13}C -RMN en d_6 DMSO de los complejos cumarínicos.....	78

Tabla 18	Comparación entre los valores teóricos esperados para cada etapa de descomposición térmica y los resultados experimentales.....	81
Tabla 19	Contenido de cinc determinado por AES-ICP.....	81
Tabla 20	Parámetros de celda del complejo $Zn(7-OHcca)_2(H_2O)_2$	83
Tabla 21	Longitudes de enlace Zn-O para el compuesto $Zn(7-OHcca)_2(H_2O)_2$	84
Tabla 22	Comparación entre parámetros estructurales de los complejos $Zn(7-OHcca)_2(H_2O)_2$ y $Zn(cca)_2(H_2O)_2$	87



ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 10.1	Espectros infrarrojos de ligandos cumarínicos.....	99
Anexo 10.2	Espectros de resonancia magnética nuclear de los ligandos cumarínicos.....	104
Anexo 10.3	Espectros infrarrojos de sales de sodio de los ligandos cumarínicos.....	126
Anexo 10.4	Espectros de resonancia magnética nuclear de las sales de sodio de los ligandos cumarínicos.....	131
Anexo 10.5	Espectros infrarrojos de los complejos de cinc.....	136
Anexo 10.6	Espectros de resonancia magnética nuclear de los complejos de cinc.....	141
Anexo 10.7	Termogramas de los complejos de cinc.....	156
Anexo 10.8	Resolución y afinamiento de la estructura cristalina.....	159

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

OMS	Organización mundial de la salud
Cisplatino	Cis-diaminodicloroplatino(II)
ccaH	Cumarina-3-ácido carboxílico
FT-IR	Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier
¹H-RMN	Resonancia magnética nuclear de protón
¹³C-RMN	Resonancia magnética nuclear de carbono-13
¹H-¹³C HSQC-RMN	Resonancia magnética nuclear de correlación heteronuclear de cuanto sencillo
¹H-¹³C HMBC-RMN	Resonancia magnética nuclear de correlación de enlaces múltiples heteronucleares
¹H-¹³C ADEQUATE-RMN	Resonancia magnética nuclear adecuada de doble transferencia cuántica
TGA/DSC	Análisis gravimétrico térmico-calorimetría diferencia de barrido
ADN	Ácido desoxirribonucleico
CTR1	Proteína de absorción de alta calidad del cobre
Carboplatino	cis-diamino(ciclobutano-1,1-dicarboxilato-O,O')platino(II)
FDA	Administración de alimentos y medicamentos de los Estados Unidos de América
Oxaliplatino	((1R,2R)-(N,N'-1,2-diaminociclohexano)-(O-O')-etanodiato)platino(II)
Zn₂AsO₄OH	Adamita
ZnO	Zincita (mineral)
Ca₃PbZn₄(SiO₄)₄	Esperita
ZnS	Blenda de cinc / Wurzita
ZnCO₃	Smithsonita
Zn₄(OH)₂[Si₂O₇].H₂O	Hemimorfita

Célula T	Tipo de glóbulo blanco, responsable de la coordinación de la respuesta inmune celular
SOD	Enzima superóxido dismutasa
ROS	Especies reactivas de oxígeno
APE	Endonucleasa apirimídica
AP-1	Proteína activadora 1
NFκB	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas
L1210	Células de leucemia linfocítica
K562	Células afectadas por leucemia mielógena
HeLa	Línea celular proveniente de adenocarcinoma de cuello uterino
MDA-MB-361	Línea celular de cáncer de mama humano
MDA-MB-453	Línea celular de cáncer de mama humano
PC3	Línea celular de cáncer de próstata humano
CaKi-2	Línea celular de cáncer de riñón humano
NCI-H322M	Línea celular de cáncer de pulmón humano
Co-115	Línea celular de cáncer de colon humano
A431	Línea celular de cáncer de cuello uterino humano
EC9706	Línea celular de cáncer de esófago humano
SCC4	Líneas de cáncer oral humano
MDA 1986	Líneas de cáncer oral humano
HSC2	Líneas de cáncer oral humano
2H-cromen-2-ona	Cumarina
Himocromona	7-hidroxi-4-metil-cumarina
Escopoletina	6-metoxi-7-hidroxi-cumarina
Esculetina	6,7-dihidroxi-cumarina
HL-60	Líneas celulares humanas de leucemia promieloide
Mtln3	Carcinoma mamario de rata
B16	Línea celular tumoral de ratones (melanoma)

L929	Línea celular tumoral de ratones (fibrosarcoma)
NCIH460	Línea celular de cáncer de pulmón
NCIH460/R	Línea celular de cáncer de pulmón resistente
A549	Línea celular de cáncer de pulmón humano
HeLa	Línea celular de cáncer cervical humano
HepG2	Línea celular de cáncer de hígado humano
P3HR1	Línea celular de leucemia humana
THP-1	Línea celular de leucemia humana
HL60	Línea celular de leucemia humana
LAMA84	Línea celular de leucemia humana
Ácido de Meldrum	2,2-dimetil-1,3-dioxano-4,6-diona
7-OHccaH	7-hidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico
7,8-OHccaH	7,8-dihidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico
7-OCH₃ccaH	7-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico
6-OCH₃ccaH	6-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico
7-NEt₂ccaH	7-dietilamino-cumarina-3-ácido carboxílico
Na(cca)	Cumarina-3-carboxilato de sodio
Na(7-OHcca)	7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato de sodio
Na(7,8-OHcca)	7,8-dihidroxi-cumarina-3-carboxilato de sodio
Na(7-OCH₃cca)	7-metoxi-cumarina-3-carboxilato de sodio
Na(6-OCH₃cca)	6-metoxi-cumarina-3-carboxilato de sodio
Na(7-NEt₂cca)	7-dietilamino-cumarina-3-carboxilato de sodio
Zn(cca)₂(H₂O)₂	Diacuobis[cumarina-3-carboxilato]cinc(II)
Zn(7-OHcca)₂(H₂O)₂	Diacuobis[7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II)
Zn(7,8-OHcca)₂(H₂O)₂	Diacuobis[7,8-dihidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II)
Zn(7-OCH₃cca)₂(H₂O)₂	Diacuobis[7-metoxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II)
Zn(6-OCH₃cca)₂(H₂O)₂	Diacuobis[6-metoxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II)
Zn(7-NEt₂cca)₂(H₂O)₂	Diacuobis[7-metoxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II)

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente, el cáncer es una de las principales causas de mortalidad en todo el mundo y, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), se prevé que en los próximos 20 años habrá un aumento de hasta el 70% de personas afectadas por esta enfermedad.^{1,2}

Uno de los tratamientos más usados en el control del cáncer es la quimioterapia, la cual consiste en la administración de compuestos químicos, en su mayoría orgánicos, para inducir la muerte celular (apoptosis) de las células enfermas. No obstante, existe una familia de metalofármacos de platino, cisplatino y sus análogos, comúnmente utilizados dada su efectividad hacia diferentes tipos de cáncer. Un problema asociado a su uso es que presentan una serie de efectos adversos y la aparición de resistencia a estas drogas luego de un tiempo de administración en algunos tipos de cáncer.^{3,4}

Estas desventajas han propiciado numerosas investigaciones orientadas al desarrollo de nuevos complejos de coordinación con otros centros metálicos, en que se aminoren los efectos secundarios, así como la tendencia a generar resistencia. Uno de los metales esenciales actualmente utilizados en la síntesis de nuevos complejos con potencial efecto anticancerígeno es el cinc, dado su amplio e importante rol biológico en el organismo y su variada acción farmacológica, en la que cabe destacar su actividad antitumoral.⁵⁻⁷

En la última década, se han sintetizado una serie de complejos de cinc con diferentes ligandos orgánicos, los cuales fueron evaluados en pruebas *in vitro* demostrando buena actividad citotóxica hacia diferentes líneas celulares de cáncer humano y, en ciertos casos, incluso mayor que el cisplatino.⁸⁻¹⁰

En lo que respecta al ligando orgánico, la elección del mismo resulta clave para el diseño de un complejo de cinc de potencial acción farmacológica, puesto que este debe favorecer la biodisponibilidad del metal y potenciar su efecto terapéutico. La múltiple actividad biológica de las cumarinas y sus diversas aplicaciones farmacológicas (anticoagulante, espasmolítica, antitumoral, etc.) las han convertido en ligandos orgánicos de gran potencial para el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos por complejación a centros metálicos.¹¹

En este sentido, la cumarina 3-ácido carboxílico (ccaH) y sus derivados sustituidos en el anillo bencénico, presentan características estructurales y propiedades farmacológicas que las convierte en candidatos atractivos para la complejación de

diferentes metales. Así, durante la última década, se han sintetizado complejos de esta cumarina (no sustituida) con una amplia serie de lantánidos, los cuales han mostrado una prometedora actividad antiproliferativa en líneas celulares de leucemia, melanoma y fibrosarcoma.¹²⁻¹⁵

De lo anteriormente expuesto, surge el interés por sintetizar y caracterizar nuevos complejos cumarínicos de Zn(II), que, de ser evaluados y presentar actividad anticancerígena, eventualmente sinérgica, podrían convertirse en buenos candidatos para el desarrollo de nuevos metalofármacos antitumorales.

Por otro lado, el desarrollo de complejos metálicos para una eventual aplicación farmacológica requiere el conocimiento de su geometría y del modo de coordinación de los ligandos unidos al centro metálico; disponer de dicha información permitirá descubrir el efecto de variaciones estructurales sobre la actividad terapéutica. En lo que respecta a los complejos de la cumarina-3-ácido carboxílico y sus derivados, el problema consiste en que, a la fecha, solo se cuenta con escasa información conclusiva sobre el modo de coordinación de dichos ligandos.¹⁵⁻¹⁷

Este problema deriva, en primer lugar, de la presencia del grupo carboxilato en el ligando, el cual posee diferentes modos de coordinación difíciles de diferenciar por técnicas espectroscópicas y analíticas, particularmente en caso de ligandos, como los del presente trabajo, que cuentan con un grupo donador adyacente a este.

En segundo lugar, la baja solubilidad de estos compuestos en la mayoría de solventes orgánicos, no ha permitido, salvo en caso de algunos complejos de metales de transición divalentes, el aislamiento de monocristales para un estudio estructural concluyente por difracción de rayos-X. Cabe mencionar, que las estructuras resueltas no concuerdan con las que habían sido predichas por modelación teórica.¹²⁻¹⁷

El presente trabajo de investigación propone la síntesis de nuevos complejos de cinc (II) con derivados de la cumarina-3-ácido carboxílico que presenten diferentes sustituyentes y patrón de sustitución en el anillo bencénico. Esto se hace con miras a aumentar la estabilidad de los complejos y variar sus propiedades físicas, entre ellas la solubilidad, lo que podría favorecer la formación de monocristales para una determinación estructural por cristalografía de rayos-X o, en su defecto, por difracción de rayos-X de polvo.

Finalmente, el contar con una serie de complejos de Zn (II) con derivados de la cumarina base y disponer de los datos cristalográficos de por lo menos uno de ellos,

permitiría relacionarlos con aquellos obtenidos por las técnicas espectroscópicas/analíticas y, así, descubrir tendencias que ayuden a dilucidar las estructuras de estos y otros compuestos relacionados. De esta manera, de ser evaluada la actividad antitumoral de la serie de complejos sintetizados en el presente trabajo, y obtener resultados positivos de algunos de ellos, sería posible establecer ciertas relaciones estructura-actividad, que contribuyan al desarrollo de esta familia de compuestos como potenciales metalofármacos anticancerígenos alternativos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

- Diseño, síntesis y determinación estructural de cinco nuevos complejos de cinc (II) con ligandos derivados de la cumarina-3-ácido carboxílico de interés para una evaluación de su efecto antitumoral.

2.2. Objetivos específicos

- Sintetizar cinco derivados de la cumarina-3-ácido carboxílico con diferentes sustituyentes donadores, hidroxilo, metoxi y dietilamino.
- Caracterizar por espectroscopias FT-IR y RMN (^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC, ADEQUATE) los cinco ligandos obtenidos.
- Desarrollar rutas de síntesis de cada uno de los nuevos complejos de Zn(II), mediante la variación de parámetros establecidos.
 - Bis(7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato) cinc(II)
 - Bis(7,8-dihidroxi-cumarina-3-carboxilato) cinc(II)
 - Bis(7-metoxi-cumarina-3-carboxilato) cinc(II)
 - Bis(6-metoxi-cumarina-3-carboxilato) cinc(II)
 - Bis(7-dietilamino-cumarina-3-carboxilato) cinc(II)
- Caracterizar los cinco complejos obtenidos por las diferentes técnicas espectroscópicas y analíticas: FT-IR, RMN (^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC), contenido de cinc por ICP, termogravimetría/análisis térmico diferencial y análisis elemental.
- Desarrollar un método de cristalización para los complejos sintetizados que permitan confirmar una o más de las estructuras propuestas por difracción de rayos-X de monocristal o en su defecto de polvo.
- Establecer un posible patrón de comportamiento espectroscópico (IR y RMN) y termogravimétrico de los nuevos complejos de cinc (II) que se pueda relacionar con el resultado cristalográfico y facilite la elucidación estructural de complejos análogos.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. Cáncer

Según cifras de la OMS, el cáncer es una de las principales causas de mortalidad en todo el mundo. En el 2012 se reportó cerca de 14 millones de nuevos casos y 8,2 millones de muertes relacionadas con esta enfermedad; además, se prevé un aumento de casos hasta en un 70% en los siguientes 20 años.¹

El cáncer es el resultado del crecimiento anormal y descontrolado de las células, las cuales no disponen de un mecanismo para inducir la muerte celular o apoptosis. Existen más de 200 tipos de cáncer, los cuales se diferencian según el tipo de célula que es afectada. Estos se dividen en cinco clases:²

- Adenomas: Se desarrollan en tejidos glandulares como el de la tiroides, glándula pituitaria y suprarrenal, etc.
- Carcinomas: Caracterizados por células malignas que afectan el recubrimiento interno y externo de órganos como los pulmones, mamas, colon, etc.
- Leucemia: Grupo de enfermedades que se inician en la médula ósea y que en etapas posteriores invaden el torrente sanguíneo, alterando el normal desarrollo de células de este sistema.
- Linfomas: Son neoplasias hematológicas (enfermedades que afectan a la sangre, médula ósea y ganglios linfáticos) que se manifiestan en el tejido del sistema inmune y los distintos tejidos linfoides.
- Sarcomas: Son tumores malignos que se manifiestan en los tejidos de soporte como los huesos, cartílagos, músculos, etc.

El daño al organismo se da como consecuencia del crecimiento descontrolado de las células afectadas, lo que conduce a la formación de aglomeraciones de células malignas conocidas como tumores capaces de interferir con el funcionamiento normal de los distintos sistemas del cuerpo humano. Una excepción la constituye la leucemia, en cuyo caso es más bien el torrente sanguíneo el afectado por la división celular anormal.^{1,2}

Los tumores pueden ser benignos, si demuestran un crecimiento limitado e incapacidad de moverse a través del cuerpo, o malignos, si consiguen desplazarse por el torrente sanguíneo o por los sistemas linfáticos y crear nuevos vasos sanguíneos, lo que produce un aumento en su absorción de nutrientes y tamaño, a la vez que

destruye el tejido sano invadido. A este fenómeno se le conoce como metástasis, la cual es una condición grave y muy difícil de tratar.²

La causa del cáncer se puede atribuir a la mutación o daño en alguno de los genes involucrados en la división celular, lo que impide la reparación del ADN o apoptosis, favoreciendo así la aparición de células enfermas. Esta mutación puede ser ocasionada por agentes externos al organismo, tales como los componentes del humo de tabaco, radiación UV, rayos X, exposición al asbesto, etc., o defectos genéticos hereditarios. Cabe mencionar que el envejecimiento es otro factor fundamental en la aparición de esta enfermedad, probablemente por la acumulación de factores de riesgo de ciertos tipos de cáncer. Esta acumulación combinada con la disminución de la eficiencia de los mecanismos de reparación celular aumenta el riesgo de cáncer en personas de mayor edad.^{1,2}

3.2. Tratamiento: Quimioterapia y metalofármacos de cisplatino

La quimioterapia es uno de los métodos terapéuticos más empleados en el tratamiento del cáncer y consiste en la administración de fármacos antineoplásicos, los cuales inducen la apoptosis en las células enfermas e inhiben su proliferación. Este tratamiento no solo afecta a las células cancerosas, sino también a cualquier célula de reproducción rápida. Sin embargo, las células sanas pueden recuperarse rápidamente del daño ocasionado por los agentes químicos administrados.²

Uno de los fármacos antineoplásicos más utilizados es el cis-diaminodicloroplatino (cisplatino). Este fue sintetizado en 1844, pero no sería hasta 1960 que se descubrirían sus propiedades anticancerígenas. Ya sea aplicado solo o en combinación con otras sustancias, el cisplatino es uno de los metalofármacos más exitosos, y se viene usando por más de 30 años para el tratamiento efectivo de cáncer testicular, de ovarios, vejiga, cuello uterino, cabeza, cuello, esófago y pequeños brotes en el pulmón.¹⁸

En lo que respecta al mecanismo bioquímico, se ha identificado que el objetivo biológico de este fármaco es el ADN, pero hasta la fecha no se sabe con exactitud como atraviesa la membrana celular. Diferentes estudios señalan que los principales mecanismos serían por difusión pasiva y por medio del transportador de cobre CTR1. Una vez dentro de la célula se sustituyen los ligandos cloruro, formando los complejos

activos $[\text{Pt}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{NH}_3)_2]^{2+}$ y $[\text{Pt}(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}(\text{NH}_3)_2]^+$, conocidos como aductos de platino, los cuales actúan directamente sobre el ADN. El platino(II) se une covalentemente a la posición N⁷ de las guaninas del ADN, originando inhibición de la replicación y transcripción del ADN, detención del ciclo celular, reparación del ADN y apoptosis (**Figura 1**).^{3,4,19}

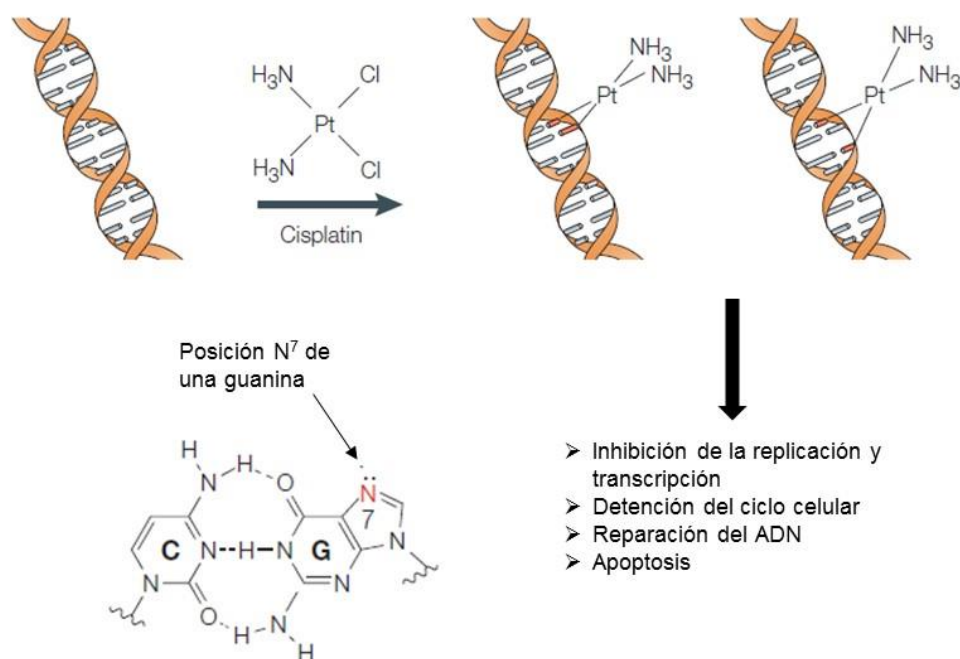


Figura 1: Formación y efectos de los aductos de cisplatino (Adaptado de Wang y colab. 2005).

Sin embargo, el uso de este fármaco conlleva una serie de efectos adversos como la inducción de náuseas y vómitos, alteración del funcionamiento del sistema nervioso (neurotoxicidad), daño a los riñones e hígado (nefrotoxicidad y hepatotoxicidad).¹⁹ Además, con el pasar del tiempo, las células cancerosas adquieren resistencia al cisplatino, lo que puede generar, finalmente, que los pacientes fallezcan a causa del tipo de cáncer que los afecta. La causa de esta resistencia se atribuye a una múltiple serie de cambios genéticos, lo que origina una disminución de sitios y/o transportadores donde el cisplatino se solía unir. Esto lleva a una disminución en la acumulación celular de dicha droga, aumento en la reparación de ADN por daño con platino o fallas en la apoptosis de las células enfermas.⁴

Es a raíz de estas desventajas que se han diseñado nuevos complejos mejorados de platino. En 1989 la FDA aprobó el uso del cis-diamino-ciclobutano-1,1-dicarboxilato-

platino(II) (Carboplatino), el cual demostró una menor nefrotoxicidad, a la vez que un mayor tiempo de retención en el cuerpo humano; actualmente ha reemplazado al cisplatino en el tratamiento de cáncer al pulmón. Más adelante, en el 2002, se aprobaría el uso clínico del ((1R,2R)-(N,N'-1,2-diaminociclohexano)-(O-O')-etanodiato)platino(II) (Oxaliplatino) el cual es usado, en combinación con otros fármacos, para tratar el cáncer intestinal (Figura 2).^{3,4}

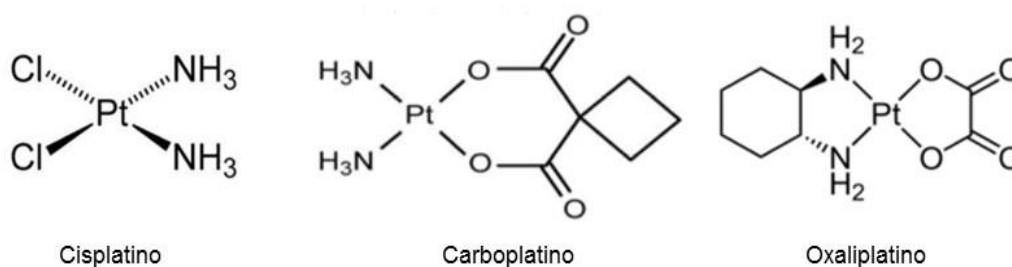


Figura 2: Complejos de platino aprobados para el uso clínico (Tomado de Shen y colab. 2012).⁴

A pesar de haberse introducido ciertas mejoras con estos nuevos compuestos de platino para el tratamiento de diferentes clases de cáncer, aún persisten en cierta medida los efectos secundarios adversos antes mencionados y, lo que es más preocupante, el problema de resistencia a estas drogas, lo que obliga a un aumento en la dosis y a un tratamiento más prolongado.^{4,19} Si bien la investigación de nuevos análogos del cisplatino continúa muy activa, también se han desarrollado complejos con otros metales como el cobre, oro, rutenio y cinc con la finalidad de evaluar su potencial actividad anticancerígena y estudiar su mecanismo de acción.⁵

3.3. Cinc

3.3.1. Características químicas y biológicas del cinc

El cinc (Zn) es el elemento 30, ubicado en el grupo 12 de la primera serie de metales de transición. Su química está dominada por el estado de oxidación +2, con la excepción de algunos compuestos de cinc(I) con ligandos muy voluminosos donde está presente como $[Zn_2]^{2+}$. Tiene una abundancia de 0,0075% en la corteza terrestre, lo que lo convierte en el 24º elemento más abundante.⁸ En la naturaleza se le puede encontrar en diferentes tipos de minerales como la adamita (Zn_2AsO_4OH), zincita (ZnO), esperita ($Ca_3PbZn_4(SiO_4)_4$), blenda de zinc/wurzita (ZnS), smithsonita ($ZnCO_3$),

hemimorfita ($Zn_4(OH)_2[Si_2O_7] \cdot H_2O$), entre otros. En estos compuestos el ion $Zn(II)$ presenta números de coordinación de 4, 5 o 6, por lo que el metal presenta arreglos tetraédricos, pirámide cuadrada o bipirámide trigonal, incluyendo sus formas distorsionadas, y octaédricos. Esta tendencia también se refleja en otros tipos de compuestos como los complejos de cinc con diferentes tipos de ligandos.^{20,21}

En el organismo, el cinc constituye el segundo oligoelemento más abundante superado solo por el hierro. El cuerpo humano contiene 2-3g de cinc, y cerca del 90% se encuentra en los músculos y huesos. El 10% restante se encuentra en diversos órganos: próstata, hígado, tracto gastrointestinal, riñones, piel, pulmones, cerebro, corazón y páncreas.^{19,20} A nivel celular, el 30-40% de cinc está localizado en el núcleo, 50% en el citosol y el restante se encuentra asociado a la membrana celular.¹⁰ Es un elemento esencial tanto en animales como en humanos y también un cofactor indispensable de más de 300 enzimas involucradas en diferentes funciones metabólicas como la biosíntesis de ácidos nucleicos y compuestos hemo, degradación de proteínas, transporte y regulación de CO_2 , etc.^{6,22}

A nivel biológico, el cinc presenta tres funciones principales: catalítica, estructural y regulatoria. El primer rol se basa en la eficiencia del cinc como ácido de Lewis y su facilidad de cambio conformacional, lo que lo convierte en un excelente agente catalítico en diferentes reacciones enzimáticas que controlan diversos procesos como el de crecimiento, síntesis de ADN, desarrollo cerebral, fetal y óseo; entre otros. Su función estructural resulta de vital importancia en proteínas involucradas en la replicación de ADN, transcripción inversa y en el funcionamiento de un gran número de metaloproteínas.^{6,23} Finalmente, la acción reguladora del cinc está relacionada con el control de la expresión genética, señalización celular, liberación hormonal y transmisión de impulsos nerviosos.^{6,22,23}

3.3.2. Actividad fisiológica y bioquímica del cinc

El cinc es un elemento tan importante para la salud humana, que una pequeña deficiencia de este tiene serias consecuencias. La falta de este metal esencial puede ocasionar anorexia, pérdida del apetito, disminución del sentido del gusto y olfato, y también puede afectar al sistema inmune, desencadenando enfermedades como la arteriosclerosis, anemia, males gastrointestinales y renales, alcoholismo y otras condiciones.²³ En consecuencia es importante mantener un apropiado nivel de Zn en sangre, por lo que se recomienda que la ingesta de este sea de 15 mg por día.²⁴

En la **Figura 3**, se muestran los diversos roles fisiológicos y bioquímicos del cinc en células y órganos. Además, se ha encontrado que posee importantes funciones farmacéuticas, entre ellas cabe destacar su ampliamente investigada actividad antidiabética y más recientemente su acción anticancerígena.²³⁻²⁵

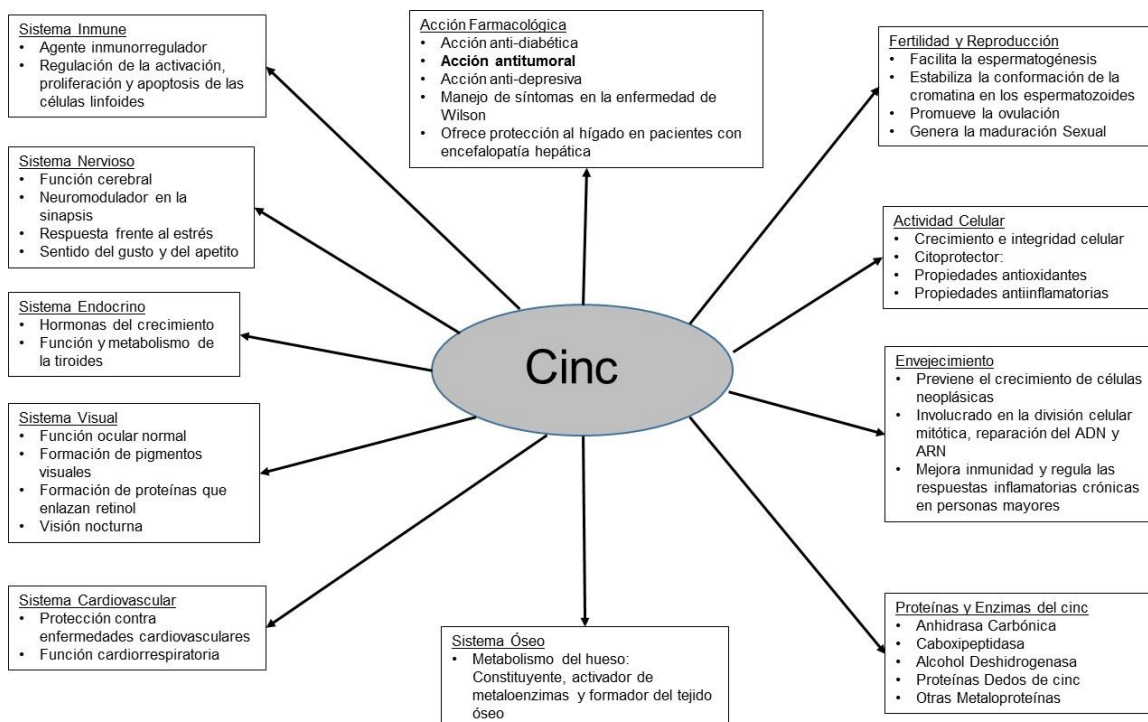


Figura 3: Funciones fisiológicas y bioquímicas del cinc (Adaptado de Chasapis y colab. 2012).²³

En la última década se ha hallado fuerte evidencia que sugiere la existencia de un estrecho vínculo entre el cinc y el cáncer. Numerosos estudios clínicos encontraron que el contenido de este metal es anormal en pacientes con cáncer en comparación de personas sanas, lo que motivó a diferentes investigadores a analizar el efecto del cinc en la prevención y/o tratamiento de esta enfermedad.^{7,26-28}

3.3.3. Cinc y sus posibles mecanismos de acción anticancerígena

Existe numerosa evidencia experimental que apoya el rol vital del cinc en prevenir la iniciación y combatir el progreso del cáncer, lo que estaría relacionado con su papel fundamental en diferentes enzimas y factores de transcripción que regulan funciones celulares claves, tales como la regulación del estrés oxidativo y del ciclo celular, la replicación y reparación del ADN, así como la apoptosis celular. En consecuencia, una limitada disponibilidad de cinc a nivel celular puede ocasionar alteración de dichas funciones, y por ende contribuir al desarrollo de esta enfermedad.⁷

La estrecha relación entre la deficiencia de cinc y el cáncer ha sido establecida tanto *in vitro* como *in vivo*. Reportes de estudios *in vitro* señalan que dicha deficiencia inhibe la reproducción de las células T, que son de vital importancia en la respuesta inmune del organismo; incrementa la producción de radicales libres, lo que ocasiona daño oxidativo en el ADN, proteínas y lípidos; y aumenta la peroxidación de lípidos de las membranas mitocondrial y microsomal, afectando el paso del agua al interior de los glóbulos rojos. Numerosos ensayos en ratas y/o ratones con dieta deficiente en cinc, demuestran que la falta de este mineral esencial ocasiona daño oxidativo en el ADN, ruptura de cromosomas, incremento en el desarrollo de tumores y mayor susceptibilidad hacia agentes carcinógenos. En lo que respecta a estudios en humanos, se han detectado niveles de cinc anormales tanto en plasma como en tejido maligno de diferentes clases de cáncer. Se observa una reducción de dicho nivel en pacientes con cáncer de próstata vesícula biliar, colon, cabeza y cuello.^{7,26,27}

Todos estos hallazgos han motivado un creciente interés por el estudio del cinc y su papel en la prevención y control de esta enfermedad. Uno de los posibles mecanismos de la acción anticancerígena del cinc se ha relacionado con su actividad antioxidante, la cual puede atribuirse a tres factores.^{26,27}

- Es componente esencial de la enzima superóxido dismutasa (SOD) y juega un papel clave en la expresión genética de la proteína metalotioneína, ambas importantes en la defensa contra especies reactivas de oxígeno (ROS).
- Es antagonista de metales de transición con actividad redox, como el hierro y cobre, por lo que previene la formación de radicales hidroxilos vía reacciones tipo Fenton.
- Protege a los grupos sulfhidrilo de diferentes proteínas (dihidrorotasa, tubulina, proteínas dedos de cinc, alanil-tRNA sintetasa, etc.) evitando su desactivación por oxígeno y consiguiente pérdida de función.

Si bien no se conoce la función antioxidante precisa del cinc y su relación con el cáncer, un bajo contenido de este en la dieta produce efectos adversos como una mayor sensibilidad al estrés oxidativo, lo que a su vez origina daños en el ADN y una mayor susceptibilidad a desarrollar enfermedades crónicas, mutagénesis y cáncer, aterosclerosis y desórdenes inmunológicos. Estudios *in vivo* en ratas con deficiencia de cinc han señalado un incremento en producción de agentes oxidantes y una mayor susceptibilidad al daño oxidativo.²⁶

Un segundo mecanismo probable de la función del cinc en la prevención del cáncer está relacionado al papel clave que cumple en la regulación de la transcripción, replicación y reparación del ADN por medio de las proteínas dedos de cinc u otras proteínas asociadas a este metal. Por ejemplo, la proteína supresora de tumores p53 juega un importante rol en coordinar una apropiada reparación del ADN en presencia de algún daño. Esta puede detener el ciclo celular en la etapa G₁, permitiendo una adecuada reparación del material genético de la célula antes de su división, pero si el daño al ADN es irreparable, induce la apoptosis. Mutación de esta proteína en tumores es muy frecuente (alrededor del 50%), lo que afecta su habilidad de unirse a dominios específicos del ADN y activar su mecanismo de reparación. En un medio con deficiencia de cinc la proteína p53 adopta una conformación mutante, lo que afecta la respuesta de la célula hacia el daño en el ADN.²⁷

Un contenido intracelular bajo de cinc también afecta la expresión de la endonucleasa apirimídica (APE), que es importante en la reparación por escisión de base del ADN. Esta ruta repara los daños (originados por alquilación, oxidación, hidrólisis o desaminación) de un único nucleótido del ADN. Un paso crítico en este mecanismo involucra el acoplamiento de los sitios dañados del ADN en la APE. Además, esta proteína también controla el anclaje al ADN de numerosos factores de transcripción que están involucrados en la promoción y progresión del cáncer como AP-1 y NFκB. Las actividades de estos factores se ven disminuidas en un medio pobre en cinc lo que altera su rol en el control del estrés oxidativo, proliferación celular y apoptosis.^{27,28}

El cinc también juega un papel importante en la regulación de la apoptosis. Varios grupos de investigación señalan un comportamiento anormal de este importante mecanismo celular en condiciones de bajo nivel de cinc, lo que puede llevar al desarrollo de varios males como desórdenes neurodegenerativos, deficiencia inmune adquirida, enfermedades autoinmunes y cáncer.^{6,23}

En resumen, el impacto del nivel fisiológico de cinc en la integridad del ADN y prevención del cáncer es un proceso multietapas que involucra aumento en el estrés oxidativo y perturbaciones en las rutas de señalización de reparación del ADN y otras sensibles a oxidación. En la **Figura 4** se presenta un esquema que ilustra como la deficiencia de cinc puede inducir estrés oxidativo, daño al ADN y alteración de señales celulares que contribuyen a reparar este daño, comprometiendo de esta manera la integridad del ADN y la salud de la célula. Por lo tanto, la conjunción de estos factores

originados por una deficiencia de cinc proveería un óptimo entorno para propiciar el desarrollo de cáncer.⁷

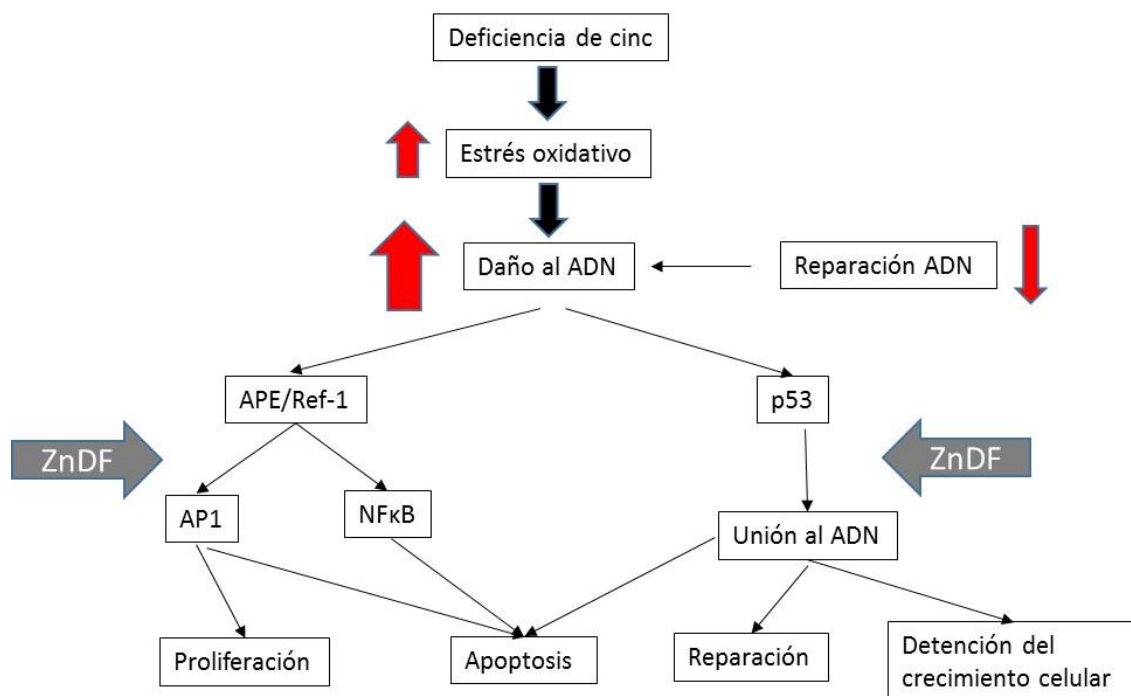


Figura 4: Resumen de los potenciales efectos de la deficiencia de cinc (Modificado de Ho y colab. 2004).⁷

Por otro lado, la suplementación con cinc ha resultado ser beneficiosa en la recuperación inmunológica de pacientes con cáncer, puesto que se observó una disminución del estrés oxidativo y de la generación de citoquinas inflamatorias (un exceso de estas proteínas hace que la enfermedad se agrave, por lo que su disminución en pacientes es favorable para su recuperación). Estudios recientes señalan que terapias que involucran corrección del nivel fisiológico de cinc podrían ser tratamientos efectivos para diferentes tipos de cáncer.²³

3.3.4. Compuestos de cinc con actividad antitumoral

El interés actual por el cinc como un potencial agente terapéutico para el tratamiento y prevención de diferentes tipos de cáncer surgió a raíz de la publicación de los resultados de diferentes estudios que señalaban una marcada disminución del nivel de cinc en pacientes con cáncer de próstata.²⁸

Los primeros compuestos de cinc evaluados en su actividad anticancerígena fueron las sales inorgánicas y orgánicas de dicho metal. En 1930, el Dr. Frederic Mohs desarrolló un preparado basado en cloruro de cinc que al ser aplicada en el tejido

canceroso producía la necrosis del mismo. Esta técnica, conocida como cirugía micrográfica de Mohs, todavía es considerada como la mejor terapia contra ciertos tipos comunes de cáncer a la piel.²⁹

Más adelante se ha demostrado que otras sales de cinc también presentan efectos antitumorales; así, el acetato de cinc ejerció una acción preventiva sobre el crecimiento de tumores en ratones inoculados con células de leucemia linfocítica (L1210). Por otro lado, un estudio comparativo del efecto del cinc sobre el daño oxidativo causado por H_2O_2 en células linfocíticas humanas normales y células afectadas por leucemia mielógena K562, demostró que esta sal protegía a las células sanas del daño causado por el H_2O_2 , y por el contrario evitaba la reparación del ADN de las células enfermas.²⁸

Más recientemente se realizó un tratamiento de cáncer humano en tres pacientes voluntarios, dos afectados por cáncer al pulmón y uno por melanoma metastático. El tratamiento con altas dosis de picolinato de cinc (200-900mg) durante 4 a 9 meses condujo a una disminución del tamaño del tumor o, en su defecto, a una supresión en el crecimiento del mismo, además de una marcada mejora en la condición de los pacientes.²⁹

En la actualidad, la investigación referente a compuestos de cinc anticancerígenos se ha orientado principalmente hacia los complejos de Zn(II) coordinados por ligandos orgánicos. Esto se hace con miras a mejorar el efecto terapéutico del centro metálico activo, puesto que la complejación favorece su bioabsorción y estabiliza al ion metálico frente a posibles interacciones con diversas proteínas y biomoléculas presentes en los fluidos corporales a condiciones fisiológicas normales. Esto conduce al uso de menores dosis, disminución de su posible toxicidad y periodos más cortos de tratamiento.³⁰

Además, la unión del cinc con ligandos orgánicos que a su vez muestren actividad anticancerígena, puede conducir a un efecto sinérgico y dar lugar a un compuesto con características mejoradas.

Recientemente se han sintetizado un gran número de complejos de cinc con diferentes entornos de coordinación alrededor del metal. Muchos de estos compuestos presentan prometedoras actividades antitumorales y antiproliferativas en ensayos *in vitro*, incluso comparables o mayores al cisplatino.^{8-10,31,32}

Stanojkovic y colaboradores sintetizaron dos nuevos complejos neutros de Zn(II) con ligandos tridentados del tipo tiosemicarbazona.⁸ Mediante cristalografía de rayos-X de monocristal se determinaron ambas estructuras, las cuales se muestran en la **Figura 5 (5a y 5b)**. Se evaluó la actividad citotóxica de estos complejos, así como las del cisplatino y del cloruro de cinc, hacía cuatro líneas celulares de cáncer humano: HeLa (adenocarcinoma de cuello uterino), K562 (leucemia mielógena crónica), MDA-MB-361 y MDA-MB-453 (cáncer de mama). Se obtuvieron los siguientes resultados expresados en valores IC₅₀ (M): 26-90 nM para los complejos de zinc, 2-17 μM para el cisplatino y 81-93 μM para el ZnCl₂. El aumento de dos a cuatro órdenes de magnitud en la actividad citotóxica de los complejos respecto al cisplatino y a la sal de cinc evidencia el considerable efecto de la complejación del Zn(II) sobre su actividad antitumoral. Otras investigaciones con ligandos similares han reportado buenos resultados, al presentar actividad citotóxica hacia diferentes líneas de cáncer humano como la PC3 (próstata), CaKi-2 (riñón), NCI-H322M (pulmón), Co-115 (colón), entre otras analizadas. Además, algunos de estos complejos pueden inhibir la función de la topoisomerasa I, evitando que el ADN de las células cancerígenas logre replicarse.^{8,31}

Asimismo, Nagy y colaboradores obtuvieron cinco complejos de Zn(II) con ligandos ditiocarbamato, en relación molar 1:2, cuatro mononucleares y uno dinuclear, este último caracterizado por cristalografía de rayos-X. Las estructuras de dos de ellos, Zn(DMDT)₂ y [Zn(MSDT)₂]₂, se muestran en la **Figura 5 (5c y 5d)**. Para la determinación de su potencial citotóxico, se evaluó el efecto de todos los complejos hacia las líneas de cáncer humano 2008 (ovario) y A431 (cuello de útero) y sus subclones resistentes al cisplatino C13 y A431Pt. Todos los complejos causaron reducción significativa de la viabilidad celular en las líneas analizadas; pero fue el Zn(DMDT)₂ el complejo más activo (IC₅₀<0.9μM), superando al cisplatino en las líneas resistente a este.⁹

Por otro lado, en un estudio comparativo de actividad citotóxica hacia la línea celular de cáncer de esófago humano EC9706, un complejo de cinc con el flavonoide kaempferol (Kaempferol-Zn, **Figura 5, 5e**) mostró a una dosis de 30 μg/mL el doble de actividad citotóxica que el ligando libre.³²

En un estudio reciente, por Ralhan y colaboradores, se examinaron un total de 5170 compuestos pertenecientes a seis diferentes librerías de compuestos químicos con la finalidad de identificar nuevos agentes anticancerígenos para el tratamiento del carcinoma oral de células escamosas. Mediante ensayos a diferentes

concentraciones, se analizó el efecto de todos estos compuestos en tres líneas de cáncer oral humano SCC4, MDA 1986 y HSC2. Se determinó así que el complejo pirtionato de cinc ($Zn(PT)_2$), mostrado como monómero en la **Figura 5 (5f)**, es el de mayor potencial citotóxico en todas las líneas analizadas. Además, este complejo logró inhibir la proliferación y promovió la apoptosis de las células cancerosas. Por otro lado, los resultados de pruebas *in vivo* en ratones inoculados con células SCC4, demuestran que el tratamiento con pirtionato de cinc condujo a la reducción en el crecimiento de tumores sin ocasionar efectos adversos en los animales.¹⁰

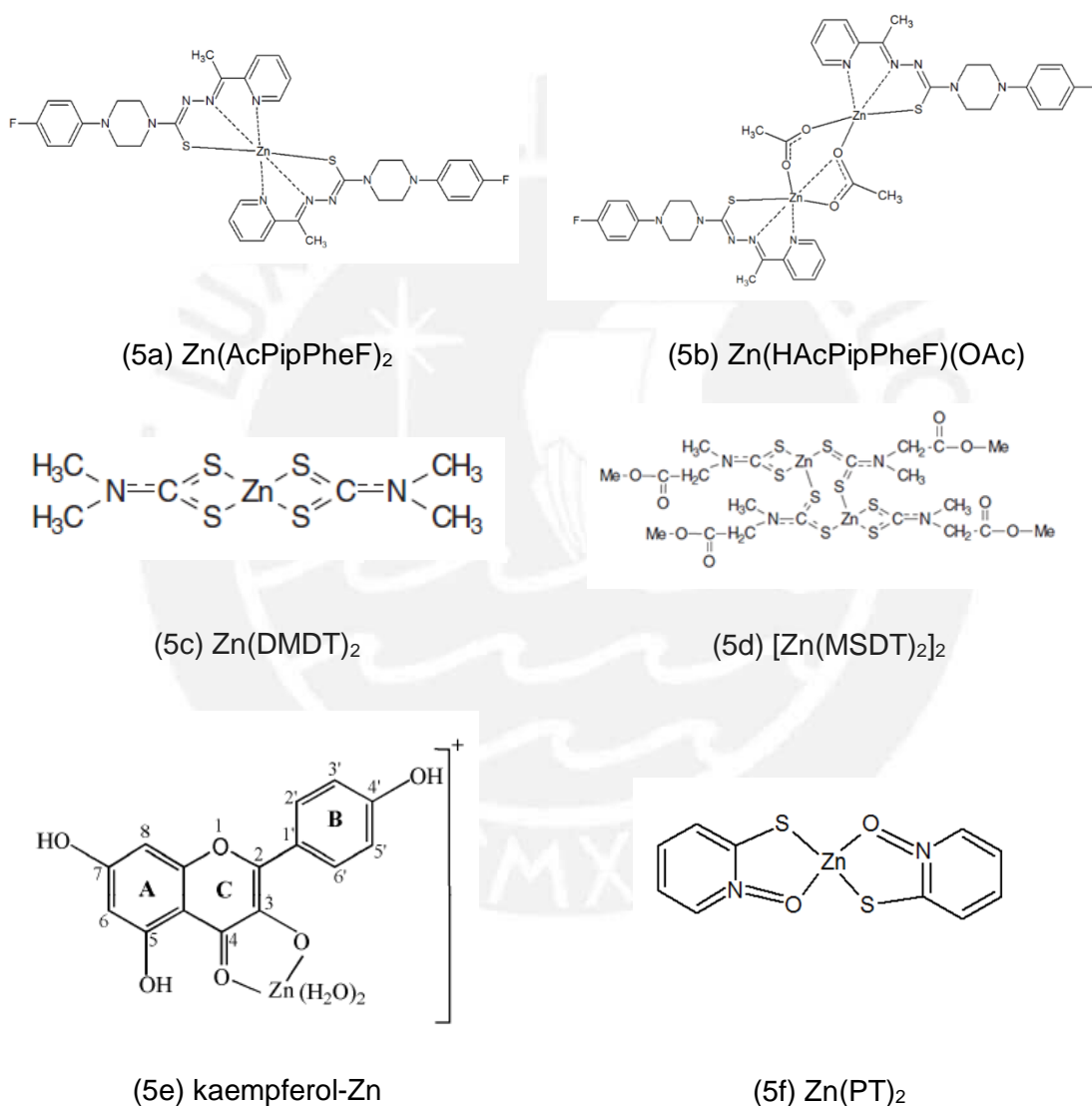


Figura 5: Algunos complejos de Zn(II) sintetizados con probada acción antitumoral (Tomado de Stanajkovic y colab. 2010; Nagy y colab. 2012; Srivastava y colab. 2015; Tu y colab. 2016).^{8,9,10,32}

3.4. Cumarinas y complejos cumarínicos con actividad anticancerígena

3.4.1. Elección de un ligando orgánico con núcleo cumarínico

Las cumarinas (2H-cromen-2-ona) son compuestos orgánicos pertenecientes a la familia de las benzopironas. Están presentes en diversas plantas (vainilla, el barbasco, fresas canela, etc.), donde juegan un papel imprescindible en su bioquímica y fisiología.²⁵ Actúan como antioxidantes, inhibidores enzimáticos, precursores de sustancias tóxicas y, además, están involucradas en la acción de hormonas de crecimiento, control de respiración, fotosíntesis y defensa de la planta.³³

La estructura básica de estos compuestos (**Figura 6**) consiste en un heterociclo bicíclico formado por un anillo bencénico y una α -pirona. Dicha estructura puede ser muy variable, ya que se pueden añadir diferentes sustituyentes en cualquiera de los anillos, obteniéndose diversos derivados; asimismo, se ha observado que estas modificaciones alteran su actividad biológica y sus potenciales propiedades citotóxicas.^{33,34}

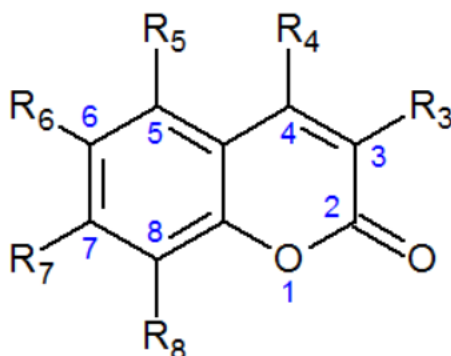


Figura 6: Estructura y numeración del núcleo cumarínico (Tomado de Kostova y colab. 2005).³⁴

En la actualidad, las cumarinas naturales o sintéticas se encuentran en diferentes productos farmacológicos y presentan diversas aplicaciones. Por ejemplo, la himocromona (7-hidroxy-4-metil-cumarina) es usada como un agente colerético (activa producción de bilis) y antiespasmódico; la escopoletina (6-metoxi-7-hidroxi-cumarina) es utilizada en la medicina natural ya que presenta propiedades antioxidantes, hepatoprotectiva, antiinflamatorias y antifúngicas; diferentes derivados de la 4-hidroxi-cumarina como el acenocumarol, femprocumona, brodifacouma y la warfarina, son utilizados como agentes anticoagulantes.^{11,34}

En lo que respecta a su actividad anticancerígena, se ha demostrado que diversas cumarinas podrían ser utilizadas para el diseño de nuevos fármacos para el tratamiento de diferentes tipos de cáncer. Así, por ejemplo, la cumarina y la 7-hidroxicumarina poseen actividad citotóxica en líneas celulares de cáncer renal, gástrico, colon, hígado y de leucemia; la escopoletina y esculetina (6,7-dihidroxicumarina) inhiben la proliferación de células con leucemia al inducir apoptosis en líneas celulares humanas de leucemia promieloide (HL-60); mientras que la warfarina impide la metástasis tumoral del carcinoma mamario de rata (Mtl3) sin afectar el crecimiento del tumor primario (**Figura 7**).^{11,34,35}

Adicionalmente, se ha encontrado que el ligando base seleccionado en la presente investigación para la complejación del cinc (II), la cumarina-3-ácido carboxílico, ha mostrado actividad citotóxica/citostática hacia dos líneas celulares tumorales de ratones, melanoma B16 y fibrosarcoma L929.³⁶ Por otro lado, esta cumarina y sus derivados poseen además la ventaja, respecto a otras cumarinas sintéticamente menos accesibles, de presentar convenientes características estructurales que les permitirían fungir como ligandos bidentados vía el grupo COO^- y el grupo $\text{C}=\text{O}$ hacia el centro metálico. Finalmente, los complejos resultantes podrían presentar un efecto sinérgico, con respecto a la acción antitumoral atribuida al cinc y a las cumarinas.³³⁻³⁵

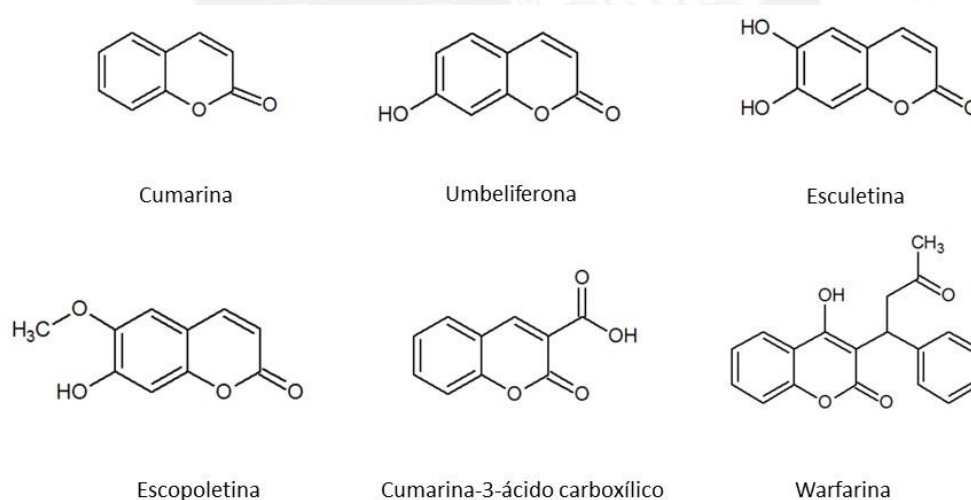


Figura 7: Algunas cumarinas con actividad anticancerígena (Tomado de Emami y colab. 2015).¹¹

3.4.2. Complejos cumarínicos con actividad antitumoral

A la fecha, existen pocos estudios sobre complejos cumarínicos con actividad anticancerígena; sin embargo, dichos compuestos han mostrado una prometedora actividad citotóxica en ensayos *in vitro* hacia diferentes líneas celulares de cáncer humano. Estos resultados evidencian que la unión de las cumarinas con distintos centros metálicos potencia su actividad. Por ejemplo, el complejo de paladio(II) con la cumarina 4-hidroxy-3-(1-(p-tolilimino)etil)-2H-cromen-2-ona (**Figura 8, 8a**) presentó un efecto antiproliferativo superior al cisplatino en las líneas celulares de cáncer de pulmón NCIH460 y NCIH460/R (resistente a múltiples fármacos); asimismo el complejo de paladio(II) con la 3-(1-aminoetilideno)-2H-cromen-2,4(3H)-diona (**Figura 8, 8b**) resultó ser más potente que el carboplatino en las líneas celulares de cáncer al pulmón (A549), cervical (HeLa) y leucemia (K562). En ambos casos, los ligandos no registraron actividad citotóxica por sí mismos. En otro estudio se sintetizaron dos complejos, de cobre y níquel, con la benzocumarina carbohidrazida-hidrazona y se concluyó que el compuesto de Cu(II) (**Figura 8, 8c**) fue el más efectivo al ser capaz de inducir la apoptosis en las líneas celulares HepG2 (cáncer de hígado), HL60 (leucemia) y PC3 (cáncer de próstata).^{11,34,36}

Por otro lado, también se han aislado complejos cumarínicos con metales pertenecientes al grupo de los lantánidos. La umbeliferona, sal de sodio de medaxon y algunos derivados de la warfarina fueron usados para la síntesis de complejos de cerio(III) y su acción antiproliferativa fue evaluada hacia las líneas celulares P3HR1, K-562 y THP-1 (todas variedades de leucemia humana), mostrando un efecto superior al reportado por una sal de este metal. También se han reportado complejos cumarínicos con zirconio (IV) (**Figura 8, 8d**) con buena actividad citotóxica hacia las líneas HL60 y LAMA84 (leucemia).³⁶

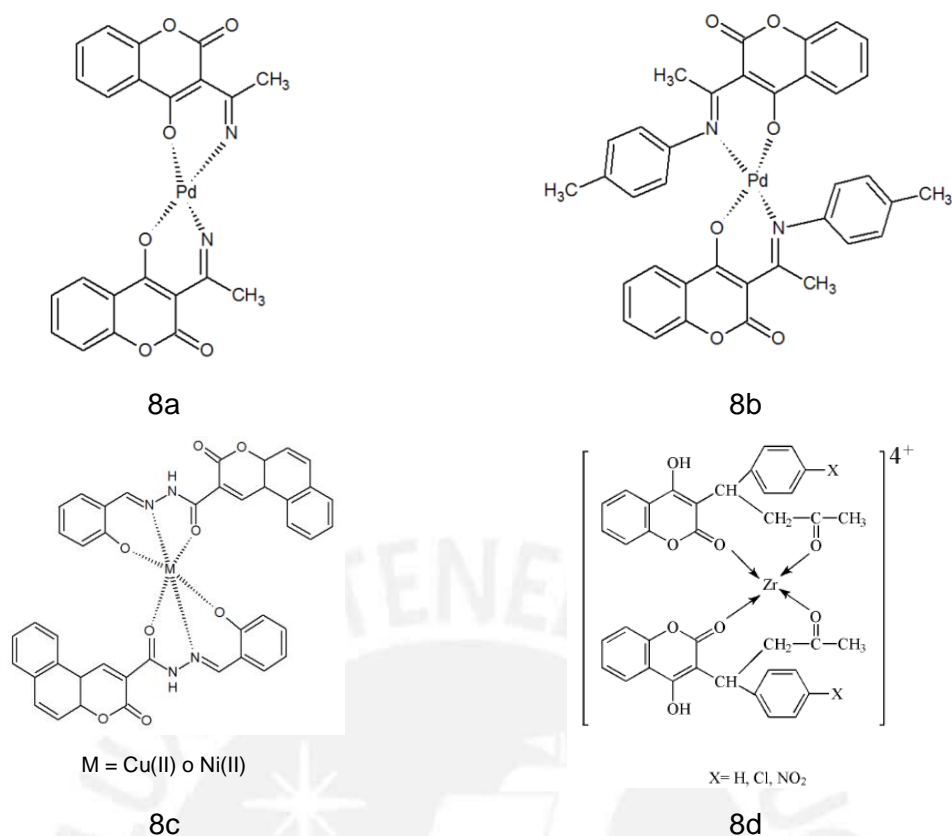


Figura 8: Complejos cumarínicos con actividad citotóxica (Tomado de Grazul y colab. 2009).³⁶

En lo que se refiere a la cumarina-3-ácido carboxílico (no sustituida), a la fecha solo se ha reportado la síntesis y caracterización de sus complejos con una serie de lantánidos y algunos metales divalentes de la primera serie de transición. En lo que respecta a complejos con derivados de esta cumarina, estos se limitan a una serie de complejos de plata (I). Un buen número de los complejos de lantánidos han sido evaluados en cuanto a su acción antiproliferativa y citotoxicidad en diversas líneas celulares. Complejos de holmio (III) y erbio (III) presentan buena actividad citotóxica/citostática hacia dos líneas celulares tumorales de ratones, melanoma B16 y fibrosarcoma L929, mientras que los complejos de samario (III) y lantano (III) son citotóxicos hacia la línea de leucemia K-562.¹²⁻¹⁶

3.5. Aspectos estructurales de los complejos de la cumarina-3-ácido carboxílico

La presencia del grupo carboxilato en los complejos del ligando cumarina-3-ácido carboxílico (ccaH) y sus posibles derivados genera la posibilidad de diferentes modos de coordinación, lo que hace difícil predecir cómo coordinará en un determinado complejo. El ion RCO_2^- presenta baja simetría, por lo que los diferentes tipos de coordinación (**Figura 9**) no se pueden distinguir por medio del número de vibraciones activas en el IR o Raman. En el caso de complejos simples acetato y trifluoroacetato se han relacionado las diferencias en los valores de las frecuencias de estiramiento simétrica y antisimétrica del anión RCO_2^- con alguno de sus modos de coordinación. Sin embargo, estos criterios según los mismos autores solo son rigurosamente aplicables para complejos carboxilato simples, y no son extensivos a carboxilatos más complejos, sobretodo, si estos presentan grupos funcionales donadores adyacentes al carboxílico.³⁷

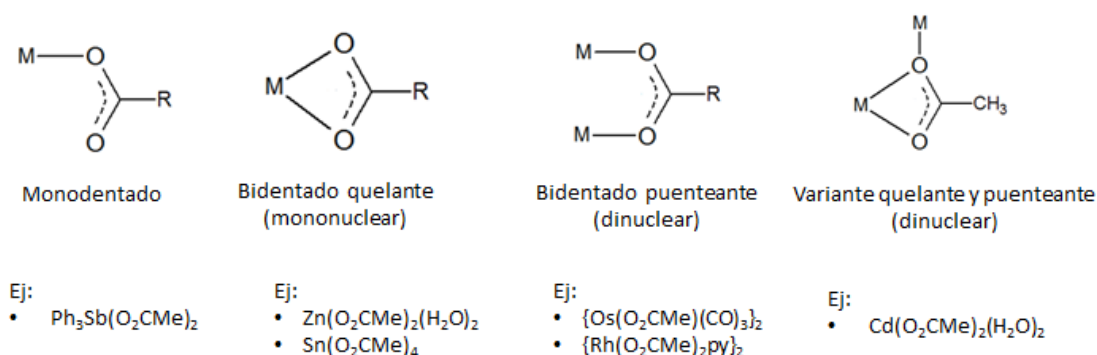


Figura 9: Algunos modos de coordinación del anión RCO_2^- (Adaptado de Deacon y colab. 1980).³⁷

En el ligando cumarina-3-ácido carboxílico, y posiblemente en sus derivados, el problema de establecer el modo de coordinación se complica, pues además de las diversas posibilidades mencionadas por parte del grupo carboxilato, se tiene el grupo carbonilo lactónico, el cual podría coordinar aunque no siempre lo haga.

Para la mayoría de los complejos sintetizados, la caracterización se ha basado exclusivamente en datos espectroscópicos y analíticos, complementados en algunos casos con cálculos computacionales en modelos teóricos. Esto ha conducido a propuestas estructurales racionales más no concluyentes. Solamente en muy pocos casos se ha establecido la estructura exacta por difracción de rayos-X de monocristal.

Así, para los complejos de los lantánidos de fórmula general $\text{Ln}(\text{CCA})_2(\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})_{n=0,2}$ [$\text{Ln} = \text{La}, \text{Ce}, \text{Nd}, \text{Sm}, \text{Gd}, \text{Dy}, \text{Ho}, \text{Er}$] se ha propuesto un modo de coordinación bidentado mediante el grupo carbonilo y uno de los oxígenos del grupo carboxilato. Esta propuesta (**Figura 10**) estuvo basada en una modelación teórica apoyada por datos espectroscópicos (FT-IR, Raman, H-RMN) y analíticos (análisis elemental, TGA).¹²⁻¹⁵

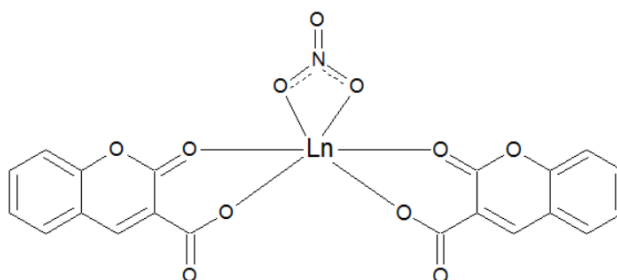


Figura 10: Modo de coordinación propuesto para $\text{Ln}(\text{CCA})_2\text{NO}_3$, donde $\text{Ln} = \text{Ho}(\text{III})$ y $\text{Er}(\text{III})$.¹²

Por otro lado, para los complejos de metales de transición de la primera serie $\text{M}(\text{CCA})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ [$\text{M} = \text{Ni}, \text{Co}, \text{Zn}$] se predijo un modo de coordinación vía los dos oxígenos del grupo carboxilato (**Figura 11**), donde el grupo carbonilo no participa. Nuevamente, la coordinación fue planteada por modelación molecular y comparación de datos espectroscópicos experimentales (UV-Vis, FT-IR, H-RMN) con los correspondientes espectros teóricos.³⁸

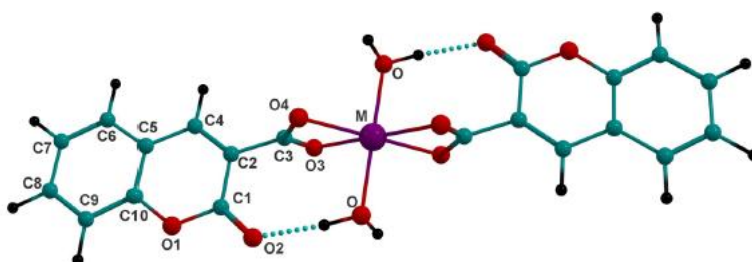


Figura 11: Modo de coordinación propuesto para complejos de metales de transición de la primera serie (Adaptado de Creaven y colab. 2011).³⁸

A diferencia de los casos anteriores en que se proponían estructuras mononucleares, para los complejos de $\text{Cu}(\text{II})$ y $\text{Mn}(\text{II})$ se planteó una estructura binuclear con cuatro grupos carboxilato puenteantes y dos moléculas de agua completando la esfera de coordinación pirámide cuadrada del metal divalente (**Figura 12**). El complejo de $\text{Cu}(\text{II})$ se caracterizó exclusivamente a partir de información espectroscópica (FT-IR, Raman,

UV-Vis, H-RMN), mientras que para el de Mn(II), además de estas técnicas, se empleó modelación molecular.^{38,39}

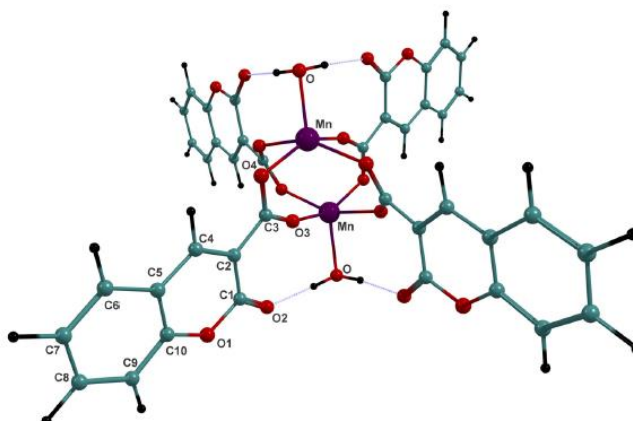


Figura 12: Modo de coordinación propuesto para complejos cumarínicos de Cu(II) y Mn(II) (Adaptado de Creaven y colab. 2011).³⁸

Sin embargo, Cui y colaboradores^{17,41,42} publicaron casi simultáneamente, los resultados de estudios de difracción de rayos-X de monocristal de los complejos de Zn, Cu y Mn antes citados, los cuales no concuerdan con el modo de coordinación propuesto por Creaven (**Figura 11**).³⁸ Se determinó que el grupo carboxilato del ligando cumarina-3-ácido carboxílico se enlaza a estos tres metales de modo monodentado y no bidentado, como sostenía Creaven, y que además el grupo carbonilo sí participa en la coordinación. Asimismo, se estableció que, a semejanza de lo propuesto por Creaven, dos moléculas de agua, ubicadas en posiciones axiales, están unidas al centro metálico, originando así un entorno octaédrico alrededor de este. Esta estructura también fue determinada para el correspondiente complejo de cadmio.⁴⁰ La estructura molecular establecida por difracción de rayos-X para los cuatro complejos mencionados se presenta en la **Figura 13**.

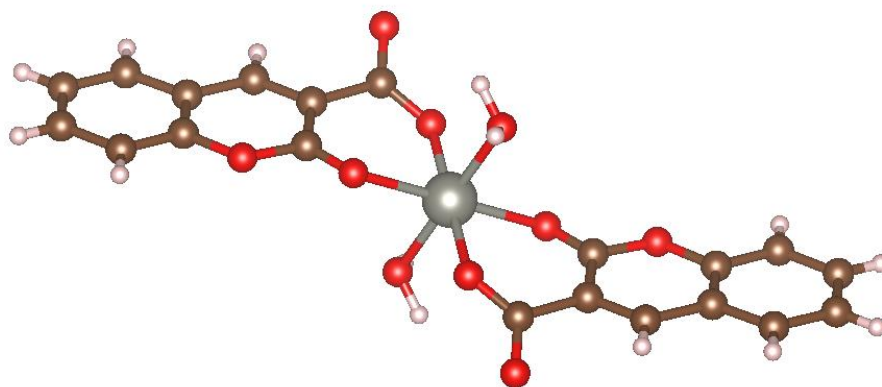


Figura 13: Estructura molecular establecida por difracción de rayos-X de monocristal para los complejos diacuobis(2-oxo-2H-cromen-3-carboxilato)M(II) [M = Zn, Cu, Mn y Cd].^{17,40-4}.

Finalmente, Creaven y colaboradores, basándose en información espectroscópica y analítica (¹H-RMN, IR y análisis elemental) asignaron la estructura polimérica mostrada en la **Figura 14** para una amplia serie de complejos de Ag(I) con derivados mono y disustituidos del ligando base.¹⁶

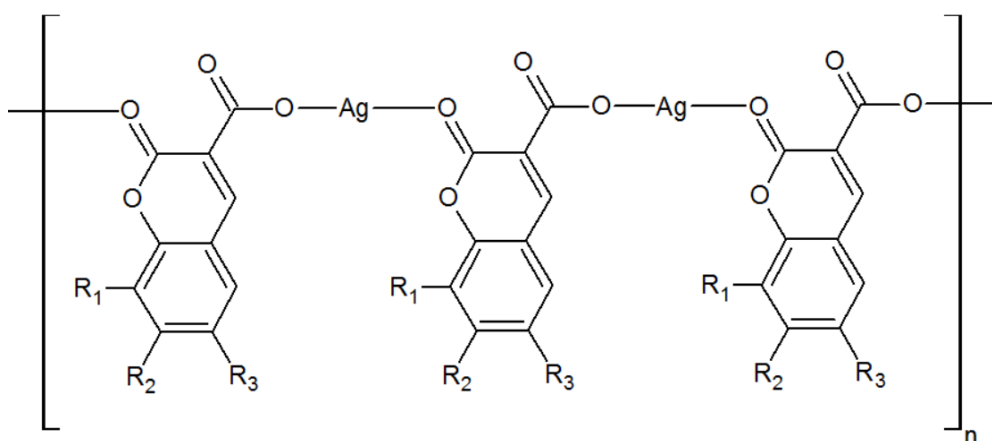


Figura 14: Modo de coordinación propuesto para complejos de Ag(I).¹⁶

4. PROPUESTA DE INVESTIGACIÓN

El desarrollo de un complejo metálico con potencial actividad farmacológica requiere el conocimiento de su geometría particular, así como del modo de coordinación de los ligandos involucrados. La información estructural de un buen número de complejos relacionados y la evaluación de sus actividades terapéuticas hace posible analizar la relación estructura-actividad y estudiar los factores que la influyen; de esta manera será posible introducir eventuales mejoras en el diseño de un complejo activo y aumentar su efectividad.

Sin embargo, a la fecha, como se ha discutido ampliamente en la anterior sección, con excepción de las estructuras cristalinas determinadas por difracción de rayos-X de los complejos de Zn, Cu, Mn y Cd antes mencionados, el modo de coordinación de la cumarina-3-ácido carboxílico ha sido planteado basándose mayormente en una combinación de técnicas espectroscópicas y analíticas, por las cuales resulta difícil diferenciar las diferentes posibilidades de coordinación del grupo carboxilato. Además, la presencia del grupo carbonilo donador adyacente, que puede coordinar o no, complica aún más la situación. Asimismo, los estudios de modelación teórica de los complejos en cuestión han presentado serias limitaciones.^{17,38,40-42}

Por otro lado, el aislamiento de monocristales de estos complejos se ve dificultado por la baja solubilidad de los mismos, lo que dificulta obtener monocristales adecuados para su estudio por cristalografía de rayos-X.

En lo que respecta a complejos de derivados de la cumarina-3-ácido carboxílico, como se mencionó anteriormente, estos se limitan, a la fecha, a una serie de complejos de Ag(I), ninguno de los cuales cuenta con un estudio cristalográfico.¹⁶

El presente trabajo propone la síntesis de cinco nuevos complejos de cinc (II), un metal de interés por su amplio rango de actividad biológica y farmacológica, con derivados de la cumarina-3-ácido carboxílico que presenten diferentes sustituyentes y patrón de sustitución en el anillo bencénico. Se han elegido diversos sustituyentes donadores con miras a aumentar la capacidad complejante de los ligandos y la consiguiente estabilidad de los complejos formados. Estos grupos enriquecen al anillo cumarínico en densidad electrónica y, por ende, aumentan la basicidad de los potenciales grupos coordinantes (carboxilato y carbonilo lactónico).

Por otra parte, la introducción de sustituyentes con diferencias en el grado de carácter hidrofílico/hidrofóbico conduciría a una variación en las propiedades físicas, entre ellas

diferencias en solubilidad de los complejos de cinc formados. Esto último podría favorecer la formación de monocristales para una determinación estructural concluyente por difracción de rayos-X. En su defecto, se podría obtener el compuesto sólido de textura adecuada que permita la determinación de su estructura por difracción de rayos-X de polvo.

Asimismo, el contar con una serie de complejos de Zn (II) con derivados de la cumarina-3-ácido carboxílico y disponer de un estudio estructural de rayos-X de uno o más de ellos, permitiría relacionar estos resultados con aquellos obtenidos a partir de las técnicas espectroscópicas y analíticas y descubrir tendencias útiles que faciliten la dilucidación estructural de compuestos relacionados.

Otro aspecto importante que concierne al diseño de estos complejos, y que los convierte en sujetos de interés para una evaluación de su potencial efecto anticancerígeno, es la posibilidad de introducir un efecto sinérgico al unir el cinc, metal esencial propuesto como agente antitumoral, a ligandos pertenecientes a una familia de reconocida actividad biológica y farmacológica, que incluye la actividad buscada. Además, se ha comprobado que la naturaleza de los sustituyentes y el patrón de sustitución influyen considerablemente las propiedades citotóxicas de las cumarinas^{11,34,35}; por consiguiente, en un posterior estudio de los efectos antitumorales de esta serie de complejos, sería posible evaluar diferencias de actividad y relacionarlas con la sustitución particular de cada uno de ellos.

5. METODOLOGÍA: SÍNTESIS DE COMPLEJOS DE ZN(II) CON LIGANDOS DERIVADOS DE LA CUMARINA-3-ÁCIDO CARBOXÍLICO

5.1. Síntesis de ligandos derivados de la cumarina-3-ácido carboxílico

La síntesis de los ligandos derivados de la cumarina-3-ácido carboxílico se llevó a cabo según el método de Lam y colaboradores, el cual se basa en la reacción de Knoevenagel.⁴³ Esta consiste en una reacción de condensación entre el correspondiente 2-hidroxibenzaldehído y la 2,2-dimetil-1,3-dioxano-4,6-diona (Ácido de Meldrum) en presencia de acetato de piperidonio (catalizador). En la **Figura 15** se presenta el mecanismo de reacción y en la **Tabla 1** se muestran los cinco ligandos sintetizados.

Otras alternativas reportadas para la síntesis de los ligandos cumarínicos estudiados consisten en la condensación de salicialdehídos con éster malonato a 150-155°C, condensación de salicialdehídos con etilcianoacetato en presencia de NaOEt o KOH; esta última a temperatura ambiente por 40-80 horas, seguida por hidrólisis con HCl. Asimismo, se puede obtener por tratamiento de dipotasio o-metoxibenzilidimalonato con ácido trifluoroacético-anhidrido trifluoroacético, entre otros.⁴⁴⁻⁴⁷

Sin embargo, la opción de síntesis propuesta se lleva a cabo bajo condiciones de reacción más suaves (reflujo en etanol) y requiere un tiempo de reacción de solo dos horas con rendimientos de 61-98% y con buena pureza. De ser necesario serán recristalizados de un solvente o mezcla de solventes apropiados.⁴³

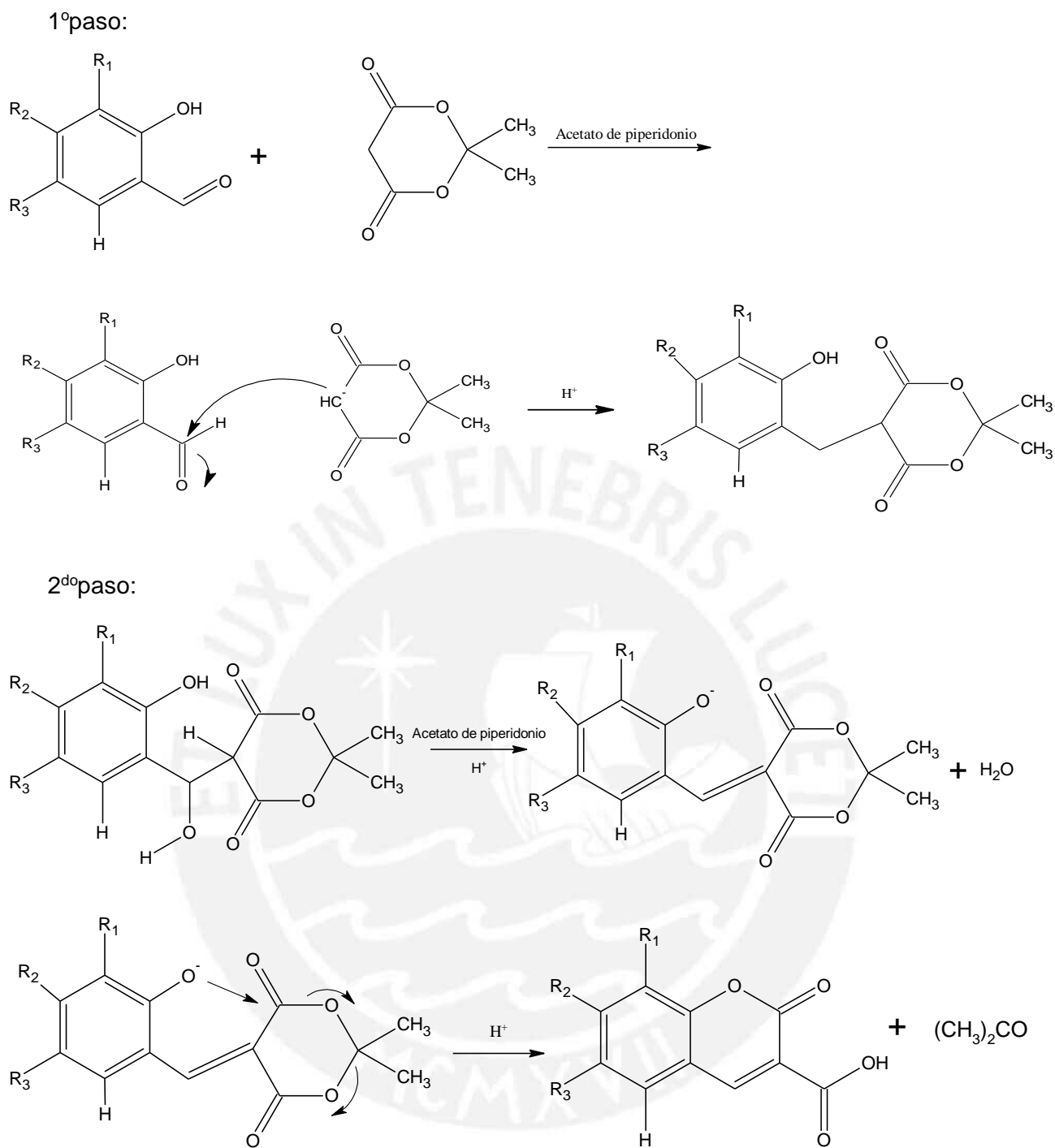
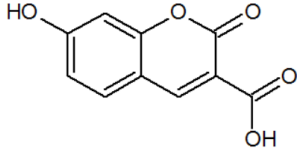
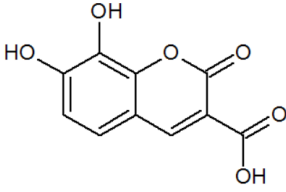
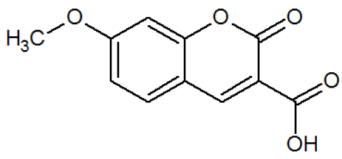
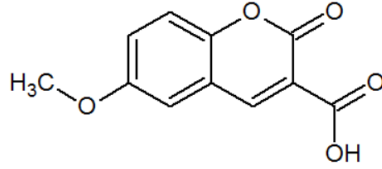
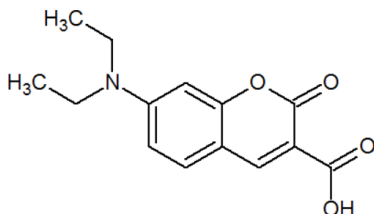


Figura 15: Mecanismo de reacción en la síntesis de los ligandos cumarina – 3 –ácido carboxílico y derivados. (Adaptado de Salas 2006).⁴⁴

Tabla 1: Cumarinas a sintetizar y sus estructuras

Cumarina	Estructura
7-hidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico (7-OHccaH)	
7,8-dihidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico (7,8-OHccaH)	
7-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico (7-OCH ₃ ccaH)	
6-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico (6-OCH ₃ ccaH)	
7-dietilamino-cumarina-3-ácido carboxílico (7-NEt ₂ ccaH)	

Los ligandos obtenidos se caracterizarán con las técnicas espectroscópicas FT-IR y RMN (^1H , ^{13}C , ^1H - ^{13}C HSQC) para obtener los patrones particulares de cada ligando. Además, se hará uso de dos técnicas bidimensionales (^1H - ^{13}C HMBC y ^1H - ^{13}C ADEQUATE), las cuales fueron útiles para la asignación total de las señales obtenidas en los espectros de ^{13}C -RMN.

5.2. Síntesis de complejos de cinc(II) con ligandos cumarínicos

Los complejos de cinc (II) se sintetizarán a partir de la reacción de la sal $ZnCl_2$ y el ligando cumarina-3-ácido carboxílico correspondiente (**Figura 16**), siguiendo un método basado en investigaciones previas de este grupo con otros complejos cumarínicos, así como los comúnmente utilizados por Creaven y colaboradores, Kostova y colaboradores y otros autores que han sintetizado compuestos similares.^{12-16,38,44}

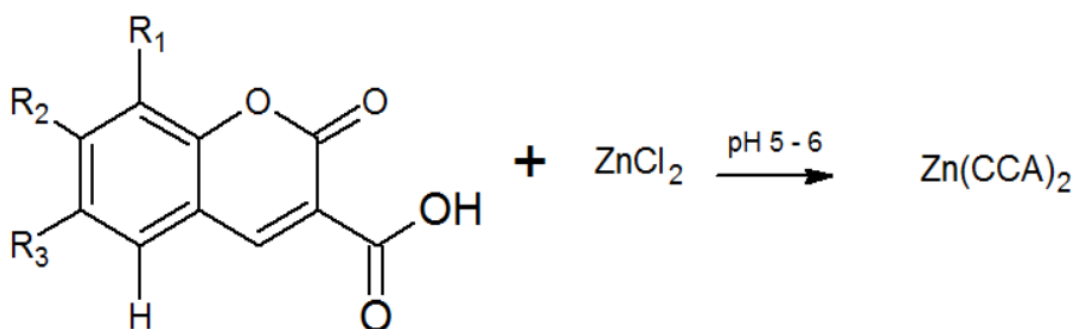


Figura 16: Síntesis propuesta de los complejos de cinc (II)

El método de síntesis propuesto se adaptará a cada caso particular, teniendo en cuenta los requerimientos del ligando a utilizar; de esta manera, se podrán introducir variantes en las condiciones de reacción de cada complejo. En primer lugar, se buscará un solvente o mezcla de solventes que permita la disolución del ligando, su respectiva sal y el cloruro de cinc, más no el complejo, de tal manera que solo precipite este en el medio de reacción. Asimismo, será necesario establecer la relación molar ligando/metal adecuada para favorecer la formación de un único producto. Además, se controlará que el pH se encuentre alrededor de 5-6, con el fin de que el ácido carboxílico del ligando esté desprotonado y logre coordinar efectivamente al centro metálico. Por otro lado, también se evaluará el efecto de la temperatura y tiempo de reacción sobre la pureza y rendimiento de los complejos obtenidos. Finalmente, se deberá definir el orden y velocidad de adición de los reactivos, lo que evitaría la formación de productos secundarios que podrían contaminar al complejo de cinc.

Se sintetizarán también las sales de los ligandos con el propósito de comparar sus espectros infrarrojos con los correspondientes del ligando y el complejo; así, los espectros de las sales serán útiles para la identificación de grupos funcionales y enlaces que puedan verse afectados al darse la coordinación al metal. Por otro lado,

estas sales podrían resultar de utilidad para el eventual desarrollo de una ruta sintética alternativa de los complejos de cinc (II).

La primera técnica a utilizar para la caracterización de los complejos será la espectroscopia FT-IR, la cual, por comparación de los espectros obtenidos con los correspondientes de los ligandos y de sus respectivas sales, nos dará información sobre el desplazamiento de las bandas de absorción de los grupos funcionales que intervienen en la coordinación al cinc. En segundo lugar, se medirán los espectros de resonancia magnética nuclear (^1H , ^{13}C , ^1H - ^{13}C HSQC), en los cuales se espera observar un desplazamiento de todas las señales, en particular de las más cercanas al metal coordinado. Además, una eventual desaparición del protón del ácido carboxílico en el espectro ^1H -RMN del complejo, indicaría la coordinación de este grupo al centro metálico. Por último, la técnica bidimensional ^1H - ^{13}C HMBC-RMN será de utilidad para la asignación de carbonos cuaternarios de los complejos aislados.

Por otro lado, con la ayuda de la termogravimetría/análisis térmico diferencial, se podrá comprobar si existen moléculas de agua o solvente coordinadas al cinc y además, se podrán relacionar las distintas etapas de pérdida de peso con el número de ligandos presentes.

La composición de los complejos se determinará mediante una combinación de las técnicas de análisis elemental (%C, %H, %N) y Espectroscopia de Emisión Atómica de Plasma Acoplado Inductivamente (ICP); esta última permitirá establecer el contenido de cinc.

Finalmente, para los ensayos de cristalización, se utilizarán distintas técnicas reportadas como, por ejemplo, evaporación lenta, capas de disolventes miscibles, difusión por vapor, entre otros. Los detalles de estas últimas se muestran a continuación:

- **Evaporación lenta:** Una pequeña área superficial y/o enfriamiento gradual de una disolución del complejo permite una reducción de la velocidad de evaporación y una eventual cristalización.
- **Capas de disolventes:** Se requieren dos solventes miscibles; en uno el complejo debe ser soluble y en el otro no. Se introduce este último muy cuidadosamente sobre la solución del complejo, de tal manera que resulte una interfase bien delimitada; la interdifusión muy lenta favorecerá el crecimiento de cristales.

- **Difusión por vapor:** Similar sistema que el anterior, pero con ambos solventes miscibles en viales separados. La solución del complejo en un vial pequeño se introduce al interior de uno más grande que contiene el solvente donde este es insoluble y se tapa herméticamente. El vapor de este último difunde lentamente en la solución del complejo y disminuye gradualmente su solubilidad, induciendo el crecimiento de cristales.

Cabe mencionar que de no obtener monocristales apropiados para su determinación estructural, se intentará resolver la estructura de por lo menos uno de los complejos de cinc con la ayuda de la técnica de difracción de rayos X de polvo.



6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1. Equipos, reactivos y solventes

Equipos

Los espectros infrarrojos (IR) fueron medidos en el espectrofotómetro Perkin Elmer FT-IR/NIR del Laboratorio de Instrumental de la Sección Química en el intervalo 4000-400 cm^{-1} . Las muestras se prepararon en pastillas de KBr.

Los espectros de resonancia magnética nuclear fueron medidos en el espectrómetro Bruker Avance III-HD Ascend 500 NMR del Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear de la Sección Química. Las muestras se disolvieron en DMSO- d_6 y se usó como estándar interno el TMS.

La determinación del contenido de cinc en los complejos se hizo en el espectrómetro de emisión de plasma acoplado inductivamente Perkin Elmer ÓPTIMA 3000 DV ubicado en el Instituto de Corrosión y Protección – PUCP.

Los termogramas TGA/DSC de los complejos de cinc(II) fueron medidos en el equipo de análisis térmico simultáneo Netzsch Jupiter STA 449 F3 DSC-TGA del Laboratorio de Materiales en la Sección de Ingeniería Mecánica – PUCP. Las mediciones se efectuaron a una velocidad de 5-10K/min en atmósfera de aire en el rango de 29-800°C en crisol de alúmina.

Los pequeños cristales obtenidos de los complejos Bis(7-metoxi-cumarina-3-carboxilato) cinc(II) y Bis(6-metoxi-cumarina-3-carboxilato) cinc(II) se observaron, a diferentes enfoques, con la ayuda de un estereoscopio Olympus SZX12.

La determinación estructural de uno de los complejos, el Bis(7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato) cinc(II), se realizó mediante cristalografía de rayos X de polvo. La medición se llevó a cabo en un difractómetro Bruker D8-Discover Da Vinci equipado con un tubo de rayos X de Cobre. Se usó radiación $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$) no monocromada, usando un filtro de Ni para eliminar la contribución $\text{K}\beta$. Se efectuó una medida entre 5 y 70° en 2θ con un paso de 0,02° y un tiempo de 2,2s por paso. La muestra se colocó en un portamuestras de silicio y se rotó a 30 rpm. La indexación del difractograma se hizo con el programa TREOR, incluido dentro del paquete de programas EXPO2014. Una vez obtenido el modelo estructural inicial, se procedió a realizar el afinamiento Rietveld con el programa JANA.

Reactivos

De SigmaAldrich:

- 2,2-dimetil-1,3-dioxano-4,6-diona (ácido de Meldrum) al 98%,
- 2,3,4-trihidroxibenzaldehido al 98%,
- 4-metoxi-2-hidroxibenzaldehido al 98%
- 5-metoxi-2-hidroxibenzaldehido al 98%,
- 4-dietilamino-2-hidroxibenzaldehido al 98% y
- Cloruro de cinc al 98% y
- Hidróxido de sodio p.a.

De Merck:

- 2-hidroxibenzaldehido al 99%,
- 2,4-dihidroxibenzaldehido al 98%,
- Ácido nítrico al 65%,
- Piperidina al 99%,
- Hidróxido de sodio p.a.

Solventes

De J.T. Baker:

- Etanol p.a.
- Metanol p.a.
- 2-propanol p.a.
- Tolueno p.a.
- Tetrahidrofurano p.a.
- Acetato de etilo p.a.
- N,N-dimetilformamida p.a.
- Acetonitrilo p.a.
- Eter etílico p.a.
- Hexano p.a
- Dimetilsulfóxido p.a
- Cloroformo p.a.

6.2. Síntesis de ligandos

6.2.1. Cumarina-3-ácido carboxílico, ccaH

A una mezcla de 610 mg del 2-hidroxibenzaldehído (5 mmol), 721 mg (5 mmol) de 2,2-dimetil-1,3-dioxano-4,6-diona (ácido de Meldrum) y 75 mg del catalizador acetato de piperidonio (previamente sintetizado) se le agrega 14 mL de etanol y se eleva la temperatura hasta reflujo de solvente, hasta obtenerse una disolución. Se deja reaccionar la mezcla a dicha temperatura y bajo agitación constante por dos horas, durante las cuales se observa la precipitación gradual del producto.

Al culminar el tiempo de reacción, se deja enfriar la mezcla a temperatura ambiente y se aísla el producto sólido de color beige mediante filtración al vacío. Finalmente se lava con 10 mL etanol y se seca al vacío en desecador.

Rendimiento: 73%

Solubilidad: Soluble en DMSO, DMF y ligeramente en etanol y agua (soluble en caliente).

¹H-RMN (DMSO-*d*₆, TMS, ppm): 13,26 (s, ancho, H carboxílico); 8,75 (s, 1H, H4); 7,91 (dd, 1H, H5); 7,74 (td, 1H, H7); 7,44 (d, 1H, H8); 7,41 (td, 1H, H6).

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆, TMS, ppm): 164,43 (COOH); 157,15 (C2); 154,91 (C9); 148,80 (C4); 134,72 (C7); 130,63 (C5); 125,26 (C8); 118,79 (C3); 118,43 (C6); 116,57 (C10).

IR (KBr) cm⁻¹: 3473 ($\nu_{\text{O-H}}$ COOH); 1745 ($\nu_{\text{C=O}}$ lactona); 1684 ($\nu_{\text{C=O}}$ COOH); 1610 - 1453 ($\nu_{\text{C-C}}$ del anillo aromático); 1422 ($\delta_{\text{O-H}}$ en el plano del COOH); 1227/1208 ($\nu_{\text{C-O}}$ COOH/lactona).

6.2.2. 7-hidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico, 7-OHccaH

Se sigue el método descrito para la síntesis de ccaH, pero se utilizó 690 mg de 2,4-dihidroxibenzaldehído (5 mmol), 721 mg de ácido de Meldrum (5 mmol) y 75 mg de acetato de piperidonio. Se agregan 12 mL de etanol absoluto y la mezcla de reacción se lleva a temperatura de reflujo por dos horas con agitación constante. Durante este tiempo se logra una disolución completa de los reactivos, seguido de la precipitación gradual del producto.

Al culminar el tiempo de reacción, se deja enfriar la mezcla y se aísla el producto de color amarillo intenso por filtración al vacío. Se lava con 10 mL de etanol helado y, posteriormente, se purifica por recristalización en etanol absoluto.

Rendimiento: 34%

Solubilidad: A temperatura ambiente es soluble en DMSO, DMF y ligeramente en etanol (soluble en caliente).

$^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6 , TMS, ppm): 11,99 (s, ancho, 2H, H fenólico/H carboxílico); 8,68 (s, 1H, H4); 7,74 (d, 1H, H5); 6,84 (dd, 1H, H6); 6,73 (d, 1H, H8).

$^{13}\text{C-RMN}$ (DMSO- d_6 , TMS, ppm): 164,73 (COOH); 164,42 (C7); 158,01 (C9); 157,44 (C2); 149,82 (C4); 132,5 (C5); 114,48 (C6); 112,99 (C3); 111,07 (C10); 102,25 (C8).

IR (KBr) cm^{-1} : 3147 ($\nu_{\text{O-H}}$ COOH/OH); 1713 ($\nu_{\text{C=O}}$ lactona); 1683 ($\nu_{\text{C=O}}$ COOH); 1618 - 1456 ($\nu_{\text{C-C}}$ del anillo aromático); 1402 ($\delta_{\text{O-H}}$ en el plano del COOH); 1372 ($\delta_{\text{C-OH}}$ en el plano del 7-OH); 1273/1221/1235 ($\nu_{\text{C-O}}$ COOH/fenol/lactona).

6.2.3. 7,8-dihidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico, 7,8-OHccaH

Se sigue el procedimiento descrito para la síntesis de la cumarina-3-ácido carboxílico. Se disuelve bajo condiciones de reflujo y agitación constante 770 mg (5 mmol) del 2,3,4-trihidroxibenzaldehído, 721 mg (5 mmol) de ácido de Meldrum y 75 mg del catalizador acetato de piperidonio en 10 mL de etanol absoluto. Al cabo de dos horas de reacción, se separa el producto de color amarillo verdoso mediante filtración al vacío y se lava con 10 mL de etanol caliente.

Rendimiento: 80%

Solubilidad: A temperatura ambiente es muy soluble en DMSO y DMF.

$^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6 , TMS, ppm): 10,89 (m, 3H, ancho, 2H fenólicos/H carboxílico); 8,63 (s, 1H, H4); 7,25 (d, 1H, H5); 6,86 (d, 1H, H6).

$^{13}\text{C-RMN}$ (DMSO- d_6 , TMS, ppm): 164,77 (COOH); 158,34 (C2); 152,92 (C7); 150,51 (C4); 145,18 (C9); 132,26 (C8); 122,04 (C5); 113,80 (C6); 112,55 (C3); 111,85 (C10).

IR (KBr) cm^{-1} : 3426 / 3270 ($\nu_{\text{O-H}}$ COOH/OH); 1738 ($\nu_{\text{C=O}}$ lactona); 1675 ($\nu_{\text{C=O}}$ COOH); 1614 - 1494 ($\nu_{\text{C-C}}$ del anillo aromático); 1398 ($\delta_{\text{O-H}}$ en el plano del COOH); 1334 ($\delta_{\text{C-OH}}$ en el plano del 7/8-OH); 1316/1298/1200 ($\nu_{\text{C-O}}$ COOH/fenol/lactona).

6.2.4. 7-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico, 7-OMeccaH

Se sigue el procedimiento descrito para la síntesis de la cumarina-3-ácido carboxílico. La mezcla de 761 mg (5 mmol) del 4-metoxi-2-hidroxibenzaldehído, 721 mg (5 mmol) de ácido de Meldrum y 76 mg del catalizador acetato de piperidonio en 15 mL de etanol absoluto se lleva a reflujo por dos horas. El sólido blanco precipitado se separa de la solución por filtración al vacío y se lava con 10 mL de etanol. Al recristalizarlo de etanol absoluto, adquiere el aspecto de escamas blancas brillantes.

Rendimiento: 70%

Solubilidad: A temperatura ambiente es soluble en DMSO, DMF y ligeramente soluble en etanol (soluble en caliente).

$^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6 , TMS, ppm): 12,99 (s, ancho, 1H, H carboxílico); 8,73 (s, 1H, H4); 7,84 (d, 1H, H5); 7,04 (d, 1H, H8); 7,01 (dd, 1H, H6); 3,89 (s, 3H, OCH₃).

$^{13}\text{C-RMN}$ (DMSO- d_6 , TMS, ppm): 165,08 (COOH); 164,61 (C7); 157,68 (C2); 157,32 (C9); 149,45 (C4); 131,98 (C5); 114,35 (C3); 113,73 (C8); 112,06 (C10); 100,71 (C6); 56,69 (OCH₃).

IR (KBr) cm^{-1} : 3465 ($\nu_{\text{O-H}}$ COOH); 1733 ($\nu_{\text{C=O}}$ lactona); 1692 ($\nu_{\text{C=O}}$ COOH); 1620 - 1448 ($\nu_{\text{C-C}}$ del anillo aromático); 1421 ($\delta_{\text{O-H}}$ en el plano del COOH); 1300/1278/1218 ($\nu_{\text{C-O}}$ COOH/lactona); 1258 ($\nu_{\text{as C-O-C}}$ en OCH₃).

6.2.5. 6-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico, 6-OMe-ccaH

Se sigue el procedimiento descrito para la síntesis de la cumarina-3-ácido carboxílico. Se disuelven bajo condiciones de reflujo y agitación constante 761 mg (5 mmol) del 4-metoxi-2-hidroxibenzaldehído, 721 mg (5 mmol) de ácido de Meldrum y 77 mg del catalizador acetato de piperidonio con 10 mL de etanol absoluto. La solución se mantiene a reflujo por dos horas, durante las cuales se logra observar la precipitación gradual del producto de color amarillo fosforescente.

Luego de culminar el tiempo de reacción, se deja enfriar y se aísla por filtración a vacío. El sólido obtenido se lava con 10 mL de etanol.

Rendimiento: 69%

Solubilidad: A temperatura ambiente es soluble en DMSO, DMF y ligeramente soluble en etanol (totalmente soluble en caliente).

¹H-RMN (DMSO-*d*₆, TMS, ppm): 13,22 (s, ancho, 1H, H ácido); 8,67 (s, 1H, H4); 7,44 (d, 1H, H5); 7,37 (d, 1H, H8); 7,31 (dd, 1H, H7); 3,81 (s, 3H, OCH₃).

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆, TMS, ppm): 164,44 (COOH); 157,42 (C2); 156,14 (C6); 149,36 (C9); 148,58 (C4); 122,47 (C7); 118,93 (C3); 118,82 (C10); 117,68 (C8); 112,27 (C5); 56,23 (-OCH₃).

IR (KBr) cm⁻¹: 3481 ($\nu_{\text{O-H}}$ COOH); 1760 ($\nu_{\text{C=O}}$ lactona); 1670 ($\nu_{\text{C=O}}$ COOH); 1622 - 1446 ($\nu_{\text{C-C}}$ del anillo aromático); 1409 ($\delta_{\text{O-H}}$ en el plano del COOH); 1238 ($\nu_{\text{as C-O-C}}$ en OCH₃); 1023 ($\nu_{\text{sim C-O-C}}$ en OCH₃).

6.2.6. 7-dietilamino-cumarina-3-ácido carboxílico, 7-NEt₂-ccaH

Se sigue el procedimiento descrito para la síntesis de la cumarina-3-ácido carboxílico. Una suspensión de 967 mg (5 mmol) del 4-dietilamino-2-hidroxibenzaldehído, 721 mg (5 mmol) de ácido de Meldrum y 76 mg del catalizador acetato de piperidonio en 13 mL de etanol absoluto se calienta hasta temperatura de reflujo. Se deja reaccionar la solución resultante por dos horas, durante las cuales se observa la precipitación gradual del producto de color naranja intenso.

Al culminar el tiempo de reacción, se deja enfriar, se aísla el producto sólido por filtración al vacío y se lava con 10 mL de etanol.

Rendimiento: 65%

Solubilidad: A temperatura ambiente es soluble en DMSO, DMF y CHCl₃.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆, TMS, ppm): 12,50 (s, ancho, 1H, H carboxílico); 8,57 (s, 1H, H4); 7,62 (d, 1H, H5); 6,78 (dd, 1H, H6); 6,55 (d, 1H, H8); 3,47 (dd, 4H, 2CH₂); 1,13 (t, 6H, 2CH₃).

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆, TMS, ppm): 164,93 (COOH); 160,06 (C2); 158,32 (C9) ; 153,35 (C7); 149,88 (C4); 132,28 (C5); 110,49 (C6); 107,84 (C3); 107,56 (C10); 96,36 (C8); 44,86 (2CH₂); 12,77 (2CH₃).

IR (KBr) cm⁻¹: 3458 (ν_{O-H} COOH); 1738 (ν_{C=O} lactona); 1666 (ν_{C=O} COOH); 1617 - 1478 (ν_{C-C} del anillo aromático); 1403 (δ_{O-H} en el plano del COOH); 1356 (ν_{C-N}).

6.2.7. Acetato de piperidonio

Se siguió el procedimiento reportado en una tesis anterior de nuestro grupo de investigación.⁴⁴ Una solución de 570 μl (10 mmol) de ácido acético glacial en 3 mL de éter etílico seco se agrega por goteo lento y bajo agitación constante a una solución de 990 μl (10 mmol) de piperidina recién destilada en 3 mL de éter etílico. La mezcla de reacción se mantiene a temperatura ambiente por treinta minutos, durante los cuales se observa la precipitación gradual de abundante producto.

Se enfría en baño de hielo y se separa el sólido por decantación del solvente. Por último, se lava el producto de naturaleza higroscópica con 15 mL de éter etílico y 15 mL de hexano.

6.3. Síntesis de las sales de sodio de los ligandos cumarínicos

6.3.1. Cumarina-3-carboxilato de sodio, Na(cca)

Se disuelve 1 mmol de ccaH (190 mg) con 11 mL de etanol a temperatura de reflujo de solvente y bajo agitación constante. A continuación, se eleva el pH de la solución hasta 7 con la adición lenta de 2 mL de NaOH_(ac) 0,5M, observándose la precipitación gradual del producto durante el tiempo de reacción (30 minutos). Luego de culminada la reacción, se enfría hasta temperatura ambiente y se aísla el producto por filtración al vacío. Por último, se lava con 10 mL de agua destilada fría, 10 mL de etanol caliente y se seca al vacío en desecador

Rendimiento: 80%

Solubilidad: A temperatura ambiente es poco soluble en agua (totalmente soluble en caliente).

$^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6 , TMS, ppm): 7,84 (s, 1H, H4); 7,67 (dd, 1H, H5); 7,51 (td, 1H, H7); 7,31 (d, 1H, H8); 7,28 (td, 1H, H6).

IR (KBr) cm^{-1} : 3444 ($\nu_{\text{O-H}}$ H_2O); 1741 ($\nu_{\text{C=O}}$ lactona); 1592 (ν_{as} COO^-); 1568 - 1455 ($\nu_{\text{C-C}}$ del anillo aromático); 1390 (ν_{sim} COO^-); 1286/1256 ($\nu_{\text{C-O}}$ lactona).

6.3.2. 7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato de sodio, Na(7-OHcca)

Se sigue el método descrito para la síntesis de la cumarina-3-carboxilato de sodio, pero se utilizó 207 mg de 7-OHccaH (1 mmol) y se agrega 39 mL de etanol absoluto. La suspensión se lleva a reflujo con agitación constante hasta lograr la disolución completa de la cumarina.

A la solución resultante se le añade, a goteo constante, 2,4 mL de una solución de NaOH 0,5M hasta llegar a pH 7. Desde el inicio de la adición ya se ve la precipitación del producto de color amarillo claro.

Luego de treinta minutos de reacción, se deja enfriar la reacción a temperatura ambiente y se filtra al vacío. Se lava con 10 mL de agua fría y 10 mL de etanol caliente.

Rendimiento: 78%

Solubilidad: A temperatura ambiente es poco soluble en agua (totalmente soluble en caliente).

$^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6 , TMS, ppm): 8,15 (s, 1H, H4); 7,44 (d, 1H, H5); 6,51 (d, 1H, H6); 6,34 (s, 1H, H8)

IR (KBr) cm^{-1} : 3283 ($\nu_{\text{O-H}}$ $\text{H}_2\text{O}/\text{OH}$); 1707 ($\nu_{\text{C=O}}$ lactona); 1626 (ν_{as} COO^-); 1592 – 1459 ($\nu_{\text{C-C}}$ del anillo aromático); 1388 (ν_{sim} COO^-).

6.3.3. 7,8-dihidroxi-cumarina-3-carboxilato de sodio, Na(7,8-OHcca)

A una solución de 223 mg de 7,8-OHccaH (1 mmol) en 10 mL de N,N-dimetilformamida se le agrega, por goteo lento, 2,4 mL de $\text{NaOH}_{(\text{ac})}$ 0,5M a 80°C y bajo agitación constante, hasta llegar a pH 7. Desde el inicio de la adición de la solución básica, se observa la aparición gradual del producto de color marrón.

Después de 30 minutos de reacción, se deja enfriar a temperatura ambiente y se filtra el producto al vacío. Debido a su extremadamente alta solubilidad en agua, solo se lava el producto con 20 mL de metanol.

Rendimiento: 68%

Solubilidad: A temperatura ambiente es muy soluble en agua.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆, TMS, ppm): 8,14 (s, 1H, H4); 7,01 (d, 1H, H5); 6,37 (d, 1H, H6).

IR (KBr) cm⁻¹: 3517 / 3263 ($\nu_{\text{O-H}}$ H₂O/OH); 1718 ($\nu_{\text{C=O}}$ lactona); 1619 (ν_{as} COO-); 1586 – 1455 ($\nu_{\text{C-C}}$ del anillo aromático); 1376 (ν_{sim} COO-); 1192 ($\nu_{\text{C-O}}$ lactona).

6.3.4. 7-metoxi-cumarina-3-carboxilato de sodio, Na(7-OMecca)

Se sigue el procedimiento descrito para la cumarina-3-carboxilato de sodio. A 220 mg (1 mmol) de 7-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico se añaden 25 mL de etanol y se lleva a reflujo del solvente bajo agitación constante. Se añade, a goteo constante, 2,2 mL de una solución de NaOH 0,5M hasta llegar a pH 7. Desde el inicio de la adición ya se ve la precipitación del producto de color beige.

Luego de treinta minutos de reacción, se deja enfriar la reacción a temperatura ambiente y se filtra al vacío. Se lava con 10 mL de agua fría y 10 mL de etanol caliente.

Rendimiento: 70%

Solubilidad: Soluble en una mezcla caliente de DMF/H₂O: 1/2.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆, TMS, ppm): 7,88 (s, 1H, H4); 7,59 (d, 1H, H5); 6,90 (d, 1H, H8); 6,88 (dd, 1H, H6); 3,87 (s, 3H, -OCH₃).

IR (KBr) cm⁻¹: 3447 ($\nu_{\text{O-H}}$ H₂O); 1743 / 1725 ($\nu_{\text{C=O}}$ lactona); 1622 (ν_{as} COO-); 1595 – 1424 ($\nu_{\text{C-C}}$ del anillo aromático); 1383 (ν_{sim} COO-); 1284/1261 ($\nu_{\text{C-O}}$ lactona) ; 1241 (ν_{as} c-o-c OCH₃).

6.3.5. 6-metoxi-cumarina-3-carboxilato de sodio, Na(6-OMecca)

Se sigue el procedimiento descrito para la 7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato de sodio. Se disuelve bajo condiciones de reflujo y agitación constante 220 mg (1 mmol) de 6-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico con 20 mL de etanol. Se trabaja a reflujo y cuando ya se logra una solución, se añade a goteo constante 2,2 mL de una solución de NaOH 0,5M hasta llegar a pH 7. Desde el inicio de la adición ya se ve la precipitación del producto de color beige pálido

Luego de treinta minutos de reacción, se deja enfriar la reacción a temperatura ambiente y se filtra al vacío. Se lava con 10 mL de agua fría y 10 mL de etanol caliente.

Rendimiento: 92%

Solubilidad: A temperatura ambiente es poco soluble en agua, pero cerca del punto de ebullición de este solvente se disuelve totalmente.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆, TMS, ppm): 7,86 (s, 1H, H4); 7,25 (m, 2H, H5 y H8); 7,10 (dd, 1H, H7); 3,79 (s, 3H, OCH₃).

IR (KBr) cm⁻¹: 3419 ($\nu_{\text{O-H}}$ H₂O); 1716 ($\nu_{\text{C=O}}$ lactona); 1588 (ν_{as} COO⁻); 1572 – 1435 ($\nu_{\text{C-C}}$ del anillo aromático); 1391 (ν_{sim} COO⁻).

6.3.6. 7-dietilamino-cumarina-3-carboxilato de sodio, Na(7-NEt₂cca)

Se sigue el procedimiento descrito para la 7,8-dihidroxi-cumarina-3-carboxilato de sodio. Se pesan 262 mg (1 mmol) de 7-dietilamino-cumarina-3-ácido carboxílico y se disuelve con 10 mL de N,N-dimetilformamida. Se trabaja a 90°C y se añade a goteo constante 2,2 mL de una solución de NaOH 0.5M hasta llegar a pH 7. Desde el inicio de la adición ya se ve la precipitación del producto de color amarillo crema.

Luego de treinta minutos de reacción, se deja enfriar la reacción a temperatura ambiente y se filtra al vacío. Se lava con 10 mL de agua fría y 10 mL de etanol caliente.

Rendimiento: 70%

Solubilidad: Soluble en una mezcla caliente de DMF/H₂O: 1/1.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆, TMS, ppm): 7,98 (s, 1H, H4); 7,43 (d, 1H, H5); 6,64 (d, 1H, H6); 6,45 (s, 1H, H8); 3,41 (d, 4H, 2CH₂); 1,13 (t, 6H, 2CH₃).

IR (KBr) cm⁻¹: 3426 ($\nu_{\text{O-H}}$ H₂O); 1730 / 1712 / 1704 ($\nu_{\text{C=O}}$ lactona); 1627 (ν_{as} COO⁻); 1610 – 1440 ($\nu_{\text{C-C}}$ del anillo aromático); 1388 (ν_{sim} COO⁻); 1353 ($\nu_{\text{C-N}}$); 1191/1139 ($\nu_{\text{C-O}}$ lactona).

6.4. Síntesis de complejos de Zn(II)

6.4.1. Diacuobis[cumarina-3-carboxilato]cinc(II), Zn(cca)₂(H₂O)₂

Se siguió el procedimiento reportado por Creaven y colaboradores.³⁸ Se agrega lentamente 5 mL de NaOH_(ac) 0,02M a una solución de 191 mg de cumarina-3-ácido carboxílico (1 mmol) en 12,5 mL de DMF. A continuación, se añade por goteo lento, 5 mL de una solución ZnCl_{2(ac)} (68 mg; 0,5 mmol) y se calienta la mezcla hasta reflujo de solvente. Una vez terminada la adición del cloruro de cinc, se inicia la precipitación del complejo de color blanco.

Luego de 1 hora de reacción, se enfría a temperatura ambiente, se aísla el producto por filtración al vacío y se lava con agua destilada y etanol caliente. Por último, el sólido se seca al vacío en desecador.

Rendimiento: 73%

Solubilidad: A temperatura ambiente es soluble en DMSO.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆, TMS, ppm): 8,51 (s, 1H, H4); 7,85 (dd, 1H, H5); 7,65 (td, 1H, H7); 7,40 (d, 1H, H8) ; 7,36 (td, 1H, H6).

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆, TMS, ppm): 167,89 (COO⁻); 158,42 (C2); 154,39 (C9); 145,58 (C4); 133,36 (C7); 129,91 (C5); 125,00 (C6); 123,61 (C10); 118,99 (C8); 116,34 (C3).

IR (KBr) cm⁻¹: 3218 ($\nu_{\text{O-H}}$ H₂O de coordinación/hidratación); 1668 ($\nu_{\text{C=O}}$ lactona); 1586 (ν_{as} COO⁻); 1615 - 1458 ($\nu_{\text{C-C}}$ del anillo aromático); 1396 (ν_{sim} COO⁻); 1289/1260 ($\nu_{\text{C-O}}$ lactona).

6.4.2. Diacuobis[7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II), Zn(7-OHcca)₂(H₂O)₂

Se prepara una suspensión de 335 mg de 7-OHccaH (1,6 mmol) en 27 mL de agua destilada y se eleva la temperatura hasta reflujo de solvente y bajo agitación constante. Se agrega, por adición lenta, 2,4 mL de NaOH 0,5M hasta llegar a pH 5, donde se logra disolución completa.

A continuación, se agrega, a goteo lento, una solución de 119 mg de cloruro de cinc (0,9 mmol) en 6 mL de agua destilada y se ajusta nuevamente el pH a 5 mediante adición de 0,8 ml de la solución de NaOH_(ac) 0,5M. Inmediatamente se inicia la precipitación del producto de color amarillo claro que va en aumento a medida que transcurre las tres horas de reacción.

Al término de la reacción, se aísla el sólido por filtración al vacío en caliente. Se lava con 20 mL agua destilada caliente, 20 mL etanol caliente y se seca al vacío en desecador.

Rendimiento: 85%

Solubilidad: A temperatura ambiente es ligeramente soluble en DMSO (soluble en caliente).

¹H-RMN (DMSO-*d*₆, TMS, ppm): 11,03 (s, ancho, 1H fenólico); 8,53 (s, 1H, H4); 7,67 (d, 1H, H5); 6,80 (dd, 1H, H6); 6,69 (d, 1H, H8).

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆, TMS, ppm): 168,04 (COO(-)); 164,09 (C7); 159,52 (C2); 156,94 (C9); 147,77 (C4); 131,60 (C5); 116,93 (C3); 114,6 (C6); 111,15 (C10); 102,27 (C8).

IR (KBr) cm⁻¹: 3430/3144 (ν_{O-H} H₂O de coordinación/7-OH); 1679 ($\nu_{C=O}$ lactona); 1614 (ν_{as} COO-); 1558 - 1458 (ν_{C-C} del anillo aromático); 1383 (ν_{sim} COO); 1261 (ν_{C-O} lactona).

6.4.3. Diacuobis[7,8-dihidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II), Zn(7,8-OHcca)₂(H₂O)₂

Se sigue el procedimiento básico descrito para el complejo diacuobis[7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II). A 268 mg de 7,8-dihidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico (1,2 mmol) se le agrega 20 mL de agua destilada y se lleva a reflujo bajo agitación. La adición lenta de 2,6 mL NaOH 0,5M hasta pH 5, conduce a disolución total.

Luego, se añade, a goteo constante, una solución de ZnCl_2 (105 mg; 0,8 mmol) en 5 mL de agua destilada. Inmediatamente se puede observar la aparición del producto de color marrón claro que va aumentando a medida que pasa el tiempo de reacción.

Al cabo de tres horas de reacción, se deja enfriar el balón a temperatura ambiente y se aísla el sólido por filtración al vacío. Se lava con 20 ml de agua destilada, 10 mL de DMF, 50 mL de agua destilada, 20 mL de etanol absoluto y 10 mL de éter etílico.

Rendimiento: 79%

Solubilidad: Poco soluble en DMSO incluso a altas temperaturas.

$^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6 , TMS, ppm): 11,20 (m, 2H, 2OH) ; 8,52 (s, 1H, H4) 7,14 (d, 1H, H5) ; 6,77 (d, 1H, H6).

IR (KBr) cm^{-1} : 3401 / 3303 ($\nu_{\text{O-H}}$ H_2O de coordinación/7,8-OH); 1663 ($\nu_{\text{C=O}}$ lactona); 1606 (ν_{as} COO^-); 1617 - 1403 ($\nu_{\text{C-C}}$ del anillo aromático); 1376 (ν_{sim} COO^-); 1208 ($\nu_{\text{C-O}}$ lactona).

6.4.4. Diacuobis[7-Metoxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II), $\text{Zn}(7\text{-OMecca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$

Se disuelven, a temperatura de reflujo, 552 mg de 7-OMeccaH (2,5 mmol) en una mezcla de 17 mL DMF y 13 mL H_2O . A continuación, se basifica hasta pH 5 con 4 mL de una solución de $\text{NaOH}_{(\text{ac})}$ 0,25M.

Se añade lentamente una solución de 205 mg de cloruro de cinc (1,5 mmol) en 5 mL de agua destilada y se ajusta nuevamente el pH a 5 mediante adición de 6 mL de la solución de $\text{NaOH}_{(\text{ac})}$ 0,25M. Inmediatamente se inicia la precipitación del producto de color verde pálido que va en aumento a medida que transcurren las tres horas de reacción.

Al término de la reacción, se enfría hasta temperatura ambiente y se aísla el sólido por filtración al vacío. Se lavó el producto sucesivamente con una mezcla caliente de DMF/ H_2O (1:1), 20 mL agua destilada y 20 mL etanol.

Rendimiento: 91%

Solubilidad: A temperatura ambiente es soluble en DMSO.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆, TMS, ppm): 8,53 (s, 1H, H4); 7,77 (d, 1H, H5) ; 6,99 (dd, 1H, H6); 6,96 (d, 1H, H8); 3,87 (s, 3H, OCH₃).

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆, TMS, ppm): 168,16 (COO(-)) ; 163,96 (C7) ; 158,92 (C2) ; 156,62 (C9) ; 146,83 (C4) ; 131,17 (C5) ; 119,20 (C3) ; 113,29 (C8) ; 112,51 (C10) ; 100,57 (C6) ; 56,51 (-OCH₃).

IR (KBr) cm⁻¹: ≈3000 (ν_{O-H} H₂O de coordinación/hidratación); 1679 (ν_{C=O} lactona); 1608 (ν_{as} COO(-)); 1585 - 1438 (ν_{C-C} del anillo aromático); 1378 (ν_{sim} COO(-)); 1234 (ν_{as} C-O-C en OCH₃); 1291/1258 (ν_{C-O} lactona).

6.4.5. Diacuobis[6-Metoxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II), Zn(6-OMecca)₂(H₂O)₂

Se sigue el procedimiento básico descrito para el complejo diacuobis[7-hidroxicumarina-3-carboxilato]cinc(II). A 334 mg de 6-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico (1,52 mmol) se le añade 42 mL de agua destilada y se lleva a reflujo con agitación. Se agrega, a goteo constante 2,9 mL de solución de hidróxido de sodio 0,5M hasta llegar a pH 5 dando paso a una solución transparente.

A continuación, se agrega, a goteo lento, una solución de ZnCl₂ (120 mg; 0,9 mmol) en 6 mL de agua destilada. Se puede observar casi de inmediato la aparición del producto de color amarillo claro, cuya cantidad va en aumento conforme progresa la reacción. El pH se mantiene en 5 mediante la adición de 0,2 mL de la solución de NaOH 0,5M.

Luego de tres horas de reacción, se deja enfriar el balón a temperatura ambiente y se aísla el sólido por filtración al vacío. Se lava con 20 mL de agua destilada caliente, 10 mL de acetonitrilo y 20 mL de etanol caliente.

Rendimiento: 54%

Solubilidad: A temperatura ambiente es soluble en DMSO

¹H-RMN (DMSO-*d*₆, TMS, ppm): 8,46 (s, 1H, H4); 7,40 (d, 1H, H5); 7,33 (d, 1H, H8); 7,22 (dd, 1H, H7); 3,79 (s, 3H, OCH₃)

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆, TMS, ppm): 167,88 (COO(-)); 158,80 (C2); 156,04 (C6); 148,77 (C10); 145,44 (C4); 123,88 (C3); 120,98 (C7); 119,44 (C9); 117,42 (C8); 111,79 (C5); 56,19 (-OCH₃)

IR (KBr) cm^{-1} : 3403 / 3213 ($\nu_{\text{O-H}}$ H_2O de coordinación/hidratación); 1659 ($\nu_{\text{C=O}}$ lactona); 1584 (ν_{as} $\text{COO}(-)$); 1567 - 1432 ($\nu_{\text{C-C}}$ del anillo aromático); 1388 (ν_{sim} $\text{COO}(-)$).

6.4.6. Diacuobis[7-dietilamino-cumarina-3-carboxilato]cinc(II), Zn(7- NEt_2cca) $_2(\text{H}_2\text{O})_2$

Se prepara una suspensión de 292,2 mg de 7-dietilamino-cumarina-3-ácido carboxílico (1,12 mmol) en 18 mL de etanol. Se lleva a reflujo bajo agitación y se añade 1,35 mL LiOH 0,5M hasta pH 5, obteniendo una solución transparente.

A la mezcla anterior se le agrega, lentamente, una solución de 156 mg cloruro de cinc (1,15 mmol) en 4 mL de etanol. Luego de unos minutos, se adiciona 1,35 mL de la solución de la base hasta llegar nuevamente a pH 5 donde se inicia la precipitación del producto de color naranja claro que va en aumento a durante la reacción.

Al cabo de tres horas de reacción, se deja enfriar hasta temperatura ambiente y se aísla el sólido por filtración a gravedad y se lava con 40 mL etanol.

Rendimiento: 54%

Solubilidad: A temperatura ambiente es ligeramente soluble en DMSO (soluble en caliente).

$^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6 , TMS, ppm): 8,47 (s, 1H, H4); 7,57 (s, 1H, H5); 6,72 (dd, 1H, H6); 6,50 (d, 1H, H8); 3,44 (dd, 4H, 2 CH_2); 1,12 (t, 6H, 2 CH_3).

$^{13}\text{C-RMN}$ (DMSO- d_6 , TMS, ppm): 168,5 ($\text{COO}(-)$); 160,51 (C2); 157,67 (C9) ; 152,18 (C7); 148,28 (C4); 131,32 (C5); 113,62 (C3); 109,94 (C6); 107,97 (C10); 96,23 (C8); 44,67 (2 CH_2); 12,79 (2 CH_3).

IR (KBr) cm^{-1} : 3434 ($\nu_{\text{O-H}}$ H_2O de coordinación/hidratación); 1671 ($\nu_{\text{C=O}}$ lactona); 1611 (ν_{as} $\text{COO}(-)$); 1509 - 1450 ($\nu_{\text{C-C}}$ del anillo aromático); 1400 (ν_{sim} $\text{COO}(-)$).

6.5. Determinación del contenido de cinc en los complejos por espectroscopía de emisión atómica por plasma inductivamente acoplado

- A tres muestras de 15 mg de un complejo de cinc(II) y una muestra en blanco se añade 1 mL de ácido nítrico concentrado. A continuación, se lleva a calentamiento en una plancha eléctrica hasta evaporación a sequedad del ácido.
- Los residuos carbonizados del paso anterior se llevan a una mufla por 3 horas a 700°C hasta obtener óxido de cinc como único residuo.
- A cada muestra del paso anterior se le añaden 10 mL de una solución de ácido nítrico al 6%, obteniendo una solución transparente.
- Se toma una alícuota de 1 mL de dicha disolución y se coloca en una fiola de 25 mL. Por último, se enrasa con agua destilada y se llevan las muestras al espectrómetro para ser analizadas.
- Las determinaciones del contenido de cinc en las fiolas de 25 mL se realizaron de acuerdo al Método de Determinación de metales disueltos en aguas, basado en un procedimiento reportado por la Agencia de Protección Ambiental de EE.UU.⁴⁸

6.6. Ensayos de cristalización de los complejos de cinc

Método 1

Se agrega lentamente 10 ml de una solución de 13,6 mg de $ZnCl_2$ (0,1 mmol) en etanol a 10 ml de una solución acuosa del ligando (0,1 mmol) basificada con 8,4 mg de LiOH (0,2 mmol), de tal manera que se forme una interfase entre ambas.

Este método se basó en el reportado por Cui y colaboradores¹⁷ para obtener monocristales del complejo $Zn(cca_2)(H_2O)_2$, sin embargo, dada la completa insolubilidad del $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ en etanol, este fue reemplazado por cloruro de cinc.

Método 2

Se disuelven 4 mg de un complejo determinado en la mínima cantidad de DMSO y se deja evaporar la solución a temperatura ambiente.

Método 3

A una solución de 15 mg de un complejo determinado en 3 ml de DMSO se le agrega, lentamente, 15 ml de metanol, 2-propanol, tolueno, tetrahidrofurano o acetato de etilo, de tal manera que se forme una interfase entre ambas soluciones.

Método 4

Para estas pruebas, se utiliza un sistema formado por dos viales, uno pequeño dentro de otro más grande. En el primero se colocan 4 mg de un complejo determinado disuelto en la mínima cantidad de DMSO, mientras que en el segundo se añade un solvente en el cual el compuesto a recristalizar sea insoluble y mucho más volátil que el DMSO.

Dado que el único resultado positivo observado fue para el complejo $Zn(7-OCH_3cca)(H_2O)_2$, este método fue aplicado solo a este y usando metanol como segundo solvente.

Método 5

En realidad, se trata de un descubrimiento casual. En un tubo de RMN con 40 mg del complejo $Zn(6-OCH_3cca)(H_2O)_2$ disuelto en 800 μ l de DMSO (destinado a un análisis HMBC) que permaneció por dos o tres días en el laboratorio de RMN de la Sección Química a 20°C, se observó, bajo el estereoscopio, la presencia de varios cristales en forma de bloques rectangulares no tan uniformes.

7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

7.1. Procesos de síntesis

7.1.1. Síntesis de ligandos y sales cumarínicas

Las síntesis de los ligandos se realizaron de acuerdo al método desarrollado por Lam y colaboradores⁴³, el que permitió la obtención de productos puros y con rendimientos relativamente altos (**Tabla 2**), por lo que, con excepción del 7-OHccaH, no fue necesaria una posterior purificación. En caso de los ligandos 7,8-OHccaH y 6-OMeccaH, cabe mencionar que, si bien ya han sido reportados en la literatura, no han sido obtenidos anteriormente aplicando este método.

Tabla 2: Aspecto físico, rendimientos y solubilidades de los ligandos sintetizados.

Cumarina	Fórmula molecular	Color	Rendimiento (%)	Solubilidad (25°C)
Cumarina-3-ácido carboxílico (ccaH)	C ₁₀ H ₆ O ₄	Blanco	73	Soluble en DMSO, DMF y ligeramente en etanol y agua.
7-hidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico (7-OHccaH)	C ₁₀ H ₆ O ₅	Amarillo intenso	34 (Rec.)	Soluble en DMSO, DMF y ligeramente en etanol.
7,8-dihidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico (7,8-OHccaH)	C ₁₀ H ₆ O ₆	Amarillo verdoso	80	Soluble en DMSO y DMF
7-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico (7-OMeccaH)	C ₁₁ H ₈ O ₅	Blanco brillante	70	Soluble en DMSO, DMF y ligeramente en etanol.
6-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico (6-OMeccaH)	C ₁₁ H ₈ O ₅	Amarillo fosforescente	69	
7-dietilamino-cumarina-3-ácido carboxílico (7-NEt ₂ ccaH)	C ₁₄ H ₁₅ NO ₄	Naranja intenso	65	Soluble en DMSO, DMF y CHCl ₃

Por otro lado, las sales de sodio fueron sintetizadas mediante una reacción de neutralización entre la cumarina correspondiente e hidróxido de sodio, en un medio donde se logre la completa solubilidad del ligando, de tal manera que solo precipite la sal cumarínica de sodio. En todos los casos se obtuvo el producto deseado con un alto rendimiento (**Tabla 3**). Con respecto a la Na(7-NEt₂cca), se realizaron síntesis a diferentes pH con la finalidad de estar seguro de que el sustituyente dietilamino se

encuentre desprotonado. Los resultados señalan que no hay cambios en el producto a pesar de utilizar condiciones de síntesis muy básicas (pH 12).

Tabla 3: Aspecto físico, rendimientos y solubilidades de las sales sintetizadas.

Sales	Fórmula molecular	Color	Rendimiento (%)	Solubilidad (25°C)
[Na(cca)]	C ₁₀ H ₅ O ₄ Na	Blanco	80	Soluble ligeramente en agua.
[Na(7-OHcca)]	C ₁₀ H ₅ O ₅ Na	Amarillo claro	78	
[Na(7,8-OHcca)]	C ₁₀ H ₅ O ₆ Na	Beige oscuro	68	Muy soluble en agua
[Na(7-OMecca)]	C ₁₁ H ₇ O ₅ Na	Beige	70	Soluble en mezcla caliente DMF/H ₂ O: 1/1
[Na(6-OMecca)]	C ₁₁ H ₇ O ₅ Na	Beige pálido	92	Soluble ligeramente en agua.
[Na(7-NEt ₂ cca)]	C ₁₄ H ₁₄ NO ₄ Na	Amarillo crema	70	Soluble ligeramente en agua.

7.1.2. Síntesis de los complejos cinc

En el desarrollo de la síntesis de los complejos de cinc(II) se partió del método reportado para el complejo del ligando base no sustituido.³⁸ Sin embargo, de acuerdo a los requerimientos de solubilidad del ligando particular, su correspondiente sal y el complejo obtenido, fue necesario introducir diversas variaciones con el fin de lograr un producto puro y optimizar el rendimiento del mismo. En general, resulta importante una adecuada selección del solvente o mezcla de solventes a utilizar, así como el pH del medio, para lograr una completa disolución de la sal del ligando antes de iniciar la precipitación del complejo por adición de la sal del metal. Se observan rendimientos altos en la síntesis de estos compuestos (**Tabla 4**) y, salvo una excepción, se logró aislarlos con una alta pureza.

Tabla 4: Aspecto físico, rendimientos y solubilidades de los complejos sintetizados.

Complejo	Fórmula y masa molecular (g/mol)	Color	Rendimiento (%)	Solubilidad (25°C)
Zn(cca) ₂ (H ₂ O) ₂	C ₂₀ H ₁₄ O ₁₀ Zn; M = 470,70	Blanco	73	Soluble en DMSO y ligeramente en DMF.
Zn(7-OHcca) ₂ (H ₂ O) ₂	C ₂₀ H ₁₄ O ₁₂ Zn; M = 511,70	Amarillo intenso	85	
Zn(7,8-OHcca) ₂ (H ₂ O) ₂	C ₂₀ H ₁₄ O ₁₄ Zn; M = 543,69	Marrón claro	79	Insoluble
Zn(7-OMecca) ₂ (H ₂ O) ₂	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₂ Zn; M = 539,75	Verde claro	90	Soluble en DMSO
Zn(6-OMecca) ₂ (H ₂ O) ₂	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₂ Zn; M = 539,75	Amarillo claro	54	
Zn(7-NEt ₂ cca) ₂ (H ₂ O) ₂	C ₂₈ H ₃₂ N ₂ O ₁₀ Zn; M = 621,94	Naranja verdoso	54	

Para la síntesis del complejo Zn(7-OHcca)₂(H₂O)₂, se utilizó, en el primer ensayo, el procedimiento reportado para Zn(cca)₂(H₂O)₂. Si bien se obtuvo el producto esperado, el rendimiento fue relativamente bajo. Dado que a dichas condiciones el medio presenta un pH 4 y cabe esperar que la complejación se vea favorecida por un mayor grado de desprotonación del grupo carboxílico ligante, se optó por repetir la síntesis a pH 5 con un incremento notable del rendimiento (**Tabla 5**). No se elevó más el pH para evitar la desprotonación del sustituyente hidroxilo y una posible contaminación del producto con hidróxido de cinc.

Por otro lado, al realizar pruebas de solubilidad del complejo en DMF y en H₂O, se observó que el complejo es significativamente soluble en DMF en contraste con el H₂O, lo que podría haber conducido a una incompleta precipitación del mismo en la mezcla DMF/H₂O utilizada en el primer y segundo ensayo, con la consiguiente pérdida de rendimiento. Posteriores ensayos en medio acuoso condujeron a un producto de igual pureza, según ¹H-RMN e IR, y a un considerable incremento en el rendimiento. Cabe mencionar que, en estos últimos ensayos, resultó conveniente aumentar el tiempo de reacción para completar la precipitación del producto (**Tabla 5**).

Tabla 5: Ensayos de síntesis del complejo $Zn(7-OHcca)_2(H_2O)_2$.

Ensayo	Reactivos	Solvente	Condiciones	Rendimiento (%)
1	1 mmol 7-OHccaH 5 ml $ZnCl_{2(ac)}$ (0,6 mmol) 5 ml $NaOH_{(ac)}$ 0,02M	12,5 ml DMF	T = Reflujo $t_{rx} = 1h$ pH final 4	37
2	1 mmol 7-OHccaH 5 ml $ZnCl_{2(ac)}$ (0,6 mmol) 5 ml $NaOH_{(ac)}$ 0,2M	12,5 ml DMF	T = Reflujo $t_{rx} = 1h$ pH final 5	52
3	0,5 mmol 7-OHccaH 2 ml $ZnCl_{2(ac)}$ (0,3 mmol) 1,1 ml $NaOH_{(ac)}$ 0,5M	8 ml H_2O	T = Reflujo $t_{rx} = 3h$ pH final 5	90
4	1,63 mmol 7-OHccaH 6 ml $ZnCl_{2(ac)}$ (0,9 mmol) 3,2 ml $NaOH_{(ac)}$ 0,5M	27 ml H_2O	T = Reflujo $t_{rx} = 3h$ pH final 5	85

El procedimiento de síntesis desarrollado en medio exclusivamente acuoso para el complejo $Zn(7-OHcca)_2(H_2O)_2$ resultó igualmente exitosa para las síntesis del complejo $Zn(7,8-OHcca)_2(H_2O)_2$ y también se utilizó, aunque con menor rendimiento, para el complejo $Zn(6-OMecca)_2(H_2O)_2$. En este último, se necesitó agregar un lavado con acetonitrilo para eliminar algunas impurezas orgánicas presentes en el producto. En la **Tabla 6 y 7** se reportan los resultados obtenidos para dichos complejos.

Tabla 6: Ensayos de síntesis del complejo $Zn(7,8-OHcca)_2(H_2O)_2$.

Ensayo	Reactivos	Solvente	Condiciones	Rendimiento (%)
1	0,5 mmol 7,8-dihidroxi-3-ccaH 2 ml $ZnCl_{2(ac)}$ (0,3 mmol) 1,3 ml $NaOH$ 0,5M	8 ml H_2O	T = Reflujo $t_{rx} = 3h$ pH final 5	94
2	1,2 mmol 7,8-dihidroxi-3-ccaH 5 ml $ZnCl_{2(ac)}$ (0,79 mmol) 2,6 ml $NaOH$ 0,5M	20 ml H_2O	T = Reflujo $t_{rx} = 3h$ pH final 5	95

Tabla 7: Ensayos de síntesis del complejo $Zn(6-OMecca)_2(H_2O)_2$.

Ensayo	Reactivos	Solvente	Condiciones	Rendimiento (%)
1	0,25 mmol 6-OMeccaH 1 ml $ZnCl_{2(ac)}$ (0,15 mmol) 0,5 ml NaOH 0,5M	7 ml H_2O	T = Reflujo $t_{rx} = 3h$ pH final 5	51
2	1,5 mmol 6-OMeccaH 6 ml $ZnCl_{2(ac)}$ (0,9 mmol) 3,1 ml NaOH 0,5M	42 ml H_2O	T = Reflujo $t_{rx} = 3h$ pH final 5	54

En el caso de la síntesis del complejo $Zn(7-OMecca)_2(H_2O)_2$ (**Tabla 8**), la insolubilidad de la correspondiente sal de sodio en agua no permitió realizar la síntesis en medio acuoso. Por esta razón, se seleccionó una mezcla DMF/ H_2O , en la cual la sal es soluble en caliente, como medio de reacción. Si bien en un primer ensayo se obtuvo un buen rendimiento, al escalar la síntesis y trabajar con una mayor concentración de los reactivos en los ensayos dos y tres, se logró incrementar el rendimiento hasta 91%.

Además, dado que en el primer ensayo se observó que a pH 5 precipitaba algo de la sal, fue necesario agregar más solvente para lograr su disolución antes de la adición del cloruro de cinc, en los siguientes ensayos se optó por disminuir la cantidad de base añadida en esta etapa. De esta manera, en el rango de pH 4-5 se logra disponer de suficiente cantidad de ligando desprotonado en solución que reaccione con el cinc(II) y al mismo tiempo se evita una concentración demasiado alta que propicie su precipitación como sal de sodio. Sin embargo, una vez añadido el metal, se requiere ir agregando lentamente más base hasta llegar a un pH final de 5, con el fin de completar la formación del complejo.

Finalmente, se asegura la pureza del producto aislado por un cuidadoso lavado con una mezcla caliente de DMF/ H_2O (1:1) que elimina algún eventual resto de la sal seguido por un lavado con abundante agua para arrastrar el DMF y por último etanol.

Tabla 8: Ensayos de síntesis del complejo $Zn(7-OMecca)_2(H_2O)_2$.

Ensayo	Reactivos	Solvente	Condiciones	Rendimiento (%)
1	0,25 mmol 7-OMe-3-ccaH 1 ml $ZnCl_{2(ac)}$ (0,16 mmol) 1 ml NaOH 0,25M _(ac)	3 ml DMF 2 ml H ₂ O	T = Reflujo $t_{rx} = 3h$ pH final 5	77
2	0,5 mmol 7-OMe-3-ccaH 2 ml $ZnCl_{2(ac)}$ (0,32 mmol) 2 ml NaOH 0,25M _(ac)	4 ml DMF 3 ml H ₂ O	T = Reflujo $t_{rx} = 3h$ pH final 5	85
3	2,5 mmol 7-OMe-3-ccaH 5 ml $ZnCl_{2(ac)}$ (1,5 mmol) 10 ml NaOH 0,25M _(ac)	17 ml DMF 13 ml H ₂ O	T = Reflujo $t_{rx} = 3h$ pH final 5	91

Finalmente, para la síntesis del complejo $Zn(7-NEt_2cca)_2(H_2O)_2$ (**Tabla 9**), se optó por basificar con una solución de $LiOH_{(ac)}$, en lugar de la usual de $NaOH_{(ac)}$, con la finalidad de disponer de una sal cumarínica más soluble, dado su muy baja solubilidad en agua y en otros solventes ensayados. El compuesto de litio resultó tener una buena solubilidad en etanol caliente, motivo por el cual dicho solvente fue seleccionado como medio de reacción.

El espectro 1H -RMN del producto aislado de la primera reacción, indica que se obtuvo el complejo esperado con buena pureza; sin embargo, se observan señales del ligando y de la sal en el espectro IR, lo que indica que la reacción no fue completa. Debido a la anterior observación se decidió duplicar el tiempo de reacción en el siguiente ensayo, resultando en un ligero aumento en el rendimiento de la reacción (**Tabla 9**), pero sin mejorar la pureza del producto aislado. Posteriores lavados con diferentes solventes no fueron de utilidad para eliminar los residuos de ligando y sal de litio.

En un tercer ensayo se probó aumentar la cantidad de cloruro de cinc con la finalidad de favorecer la interacción entre ligando desprotonado y el metal. Se determinó que al trabajar en relación ligando/cloruro de cinc (1:1) se obtiene un producto puro, según 1H -RMN e IR, sin afectar el rendimiento (**Tabla 9**).

Tabla 9: Ensayos de síntesis del complejo $Zn(7-NEt_2cca)_2(H_2O)_2$.

Ensayo	Reactivos	Solvente	Condiciones	Rendimiento (%)
1	0,25mmol 7-NEt ₂ -3-ccaH 1 ml ZnCl ₂ (0,16 mmol) en EtOH 0,6 ml LiOH 0,5M _(ac)	4 ml EtOH	T = Reflujo t _{rx} = 3h pH final 5	48
2	0,25mmol 7-NEt ₂ -3-ccaH 1 ml ZnCl ₂ (0,16 mmol) en EtOH 0,6 ml LiOH 0,5M _(ac)	4 ml EtOH	T = Reflujo t _{rx} = 6h pH final 5	52
3	0,25mmol 7-NEt ₂ -3-ccaH 1 ml ZnCl ₂ (0,25 mmol) en EtOH 0,6 ml LiOH 0,5M _(ac)	4 ml EtOH	T = Reflujo t _{rx} = 3h pH final 5	55
4	1,12mmol 7-NEt ₂ -3-ccaH 5 ml ZnCl ₂ (1,15 mmol) en EtOH 2,7 ml LiOH 0,5M _(ac)	18 ml EtOH	T = Reflujo t _{rx} = 3h pH final 5	56

Cabe mencionar que que los compuestos cumarina-3-ácido carboxílico (ccaH), cumarina-3-carboxilato de sodio ([Na(cca)]) y diacuobis(cumarina-3-carboxilato)zinc(II) ($Zn(cca)_2(H_2O)_2$) fueron sintetizados con la finalidad de emplear sus datos espectroscópicos como patrón de comparación con los ligandos, sales y complejos respectivamente.

7.2. Caracterización

7.2.1. Ligandos derivados de la cumarina-3-ácido carboxílico

Los ligandos sintetizados fueron caracterizados por espectroscopia infrarroja y resonancia magnética nuclear. La asignación de las señales en los espectros ^1H -RMN fue directa, mientras que en el caso de los de ^{13}C -RMN se requirió recurrir a la combinación de las técnicas ^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HMBC y ^1H - ^{13}C ADEQUATE para una asignación completa de las señales de todos los carbonos presentes en cada ligando.

7.2.1.1. Espectroscopia infrarroja

En los espectros infrarrojo de los dos ligandos que presentan sustituyentes -OH, 7-hidroxi y 7,8-dihidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico (7-OHccaH y 7,8-OHccaH), se observan bandas de absorción intensas en el rango $3500\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$ correspondientes principalmente a las vibraciones por estiramiento del enlace OH de los sustituyentes hidroxilo de dichos compuestos. Esta es una diferencia marcada con los ligandos 7-metoxi, 6-metoxi y 7-dietilamino sustituidos (7-OMeccaH, 6-OMeccaH y 7-NEt₂ccaH), los cuales, a semejanza del ligando base cumarina-3-ácido carboxílico (ccaH), solo presentan una absorción ancha y débil asignada al estiramiento OH del grupo carboxílico alrededor de $3480\text{-}3460\text{ cm}^{-1}$. La debilidad de estas últimas se atribuye a la presencia de un enlace de hidrógeno intramolecular entre el OH del grupo COOH y el C=O lactónico. En caso de los ligandos 7-OHccaH y 7,8-OHccaH, estas bandas débiles se encuentran encubiertas o superpuestas por aquellas muy intensas de los grupos -OH.

Una banda de absorción característica y muy intensa en los derivados sustituidos es la asignada al estiramiento del enlace C=O lactónico, que aparece en el rango $1760\text{-}1710\text{ cm}^{-1}$. Esta vibración aparece dentro del rango característico para una δ -lactona α,β -insaturada y en una posición comparable a la correspondiente banda de la cumarina base (1746 cm^{-1}). Otra absorción característica, aunque algo menos intensa, corresponde al estiramiento del enlace C=O carboxílico presente entre 1690 y 1660 cm^{-1} , rango típico para ácidos carboxílicos aromáticos. En este sentido, nuestra asignación del C=O lactónico, coincide con la reportada por Creaven y colaboradores¹⁶, para los ligandos 7-OHccaH y 7-OMeccaH y discrepa con aquella

hecha posteriormente a partir de cálculos computacionales para la ccaH por los mismos autores.³⁸

En el rango de 1620 – 1450 cm^{-1} se pueden observar múltiples bandas de intensidad variable asignables a los modos vibracionales de estiramiento C-C del esqueleto cumarínico. Por otro lado, en todos los ligandos, las bandas correspondientes a las vibraciones por flexión en el plano COH del grupo carboxílico, de intensidad media y algo anchas, se ubican entre 1420-1380 cm^{-1} . En caso de la 7-OHccaH, se observa una segunda banda, más fuerte e intensa, a 1372 cm^{-1} que sería asignable a la flexión en el plano COH fenólico, mientras que para la 7,8-OHccaH, esta se ubica a 1398 cm^{-1} superpuesta con la correspondiente al grupo carboxílico que aparece como un hombro a menor frecuencia.

Finalmente, para los ligandos metoxi sustituidos y el dietilamino aparecen bandas características de estos sustituyentes. Así, el ligando 7-OMeccaH muestra dos bandas a 1258 y 1013 cm^{-1} propias del estiramiento asimétrico y simétrico del C-O-C del grupo alquilo enlazado al anillo aromático. Finalmente, para el ligando 7-NEt₂ccaH, la banda intensa en 1356 cm^{-1} se asigna a la absorción del estiramiento C-N de la amina terciaria, propia del sustituyente -NEt₂ en la posición 7.

En la **Figura 17** se muestra, como ejemplo ilustrativo, el espectro infrarrojo del ligando 7-OHccaH. Por otro lado, en la **Tabla 10**, se presentan algunos datos seleccionados de los espectros infrarrojos de los ligandos. Los espectros infrarrojos del resto de los ligandos se encuentran en el **Anexo 10.1**.

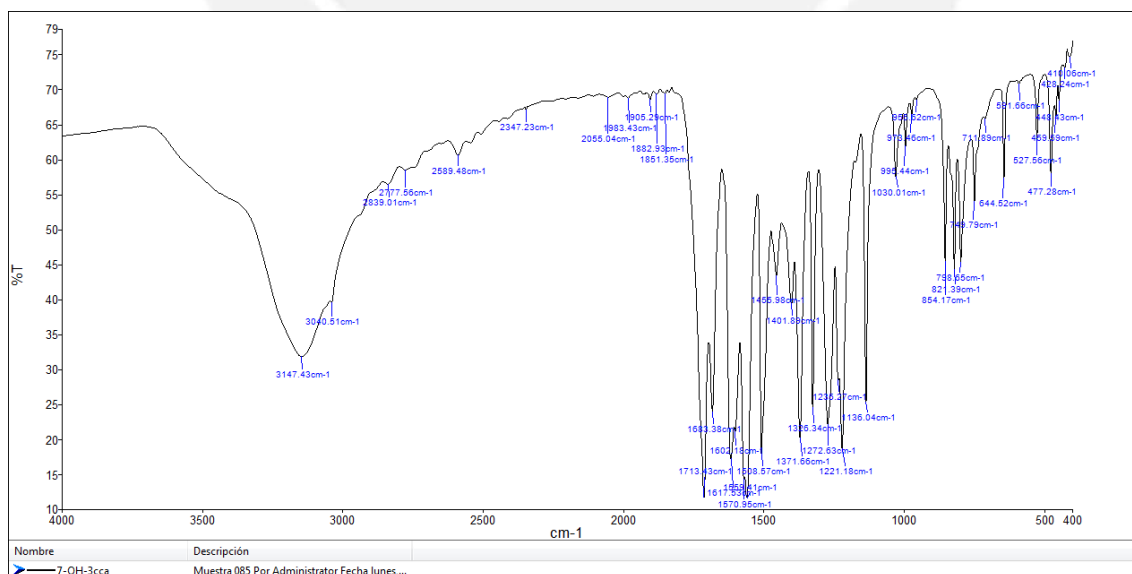


Figura 17: Espectro IR (KBr) del ligando 7-hidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico.

Tabla 10: Datos IR (cm^{-1}) seleccionados de la cumarina-3-ácido carboxílico y los derivados sustituidos.

Cumarina	$\nu\text{O-H}$ carboxílico/hidroxi	$\nu\text{C=O}$ lactona	$\nu\text{C=O}$ del COOH	$\nu_{\text{C-C}}$ del anillo aromático	$\delta\text{C-OH}$ en el plano del COOH
ccaH	3473	1745	1684	1610 – 1453	1422
7-OHccaH	3147*	1713	1683	1618 – 1456	1402
7,8-OHccaH	3426/3270*	1738	1675	1614 – 1494	1398
7-OMeccaH	3465	1733	1692	1620 - 1448	1421
6-OMeccaH	3481	1760	1670	1622 – 1446	1409
7-NEt ₂ ccaH	3458	1738	1666	1617 – 1478	1403

*Banda(s) intensa(s) del $\nu\text{O-H}$ por presencia del sustituyente hidroxi en el anillo cumarínico

7.2.1.2. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear

Los análisis por resonancia magnética nuclear $^1\text{H-RMN}$ de los ligandos sustituidos demuestran la presencia de señales de hidrógenos aromáticos en el rango de 8,72 – 6,55 ppm. Entre ellas, cabe destacar la típica señal singlete del hidrógeno en la posición 4 del anillo cumarínico que, como consecuencia de su cercanía al grupo aceptor COOH, aparece, como ocurre en ccaH, siempre a campo más bajo, en el rango de 8,72 – 8,57 ppm, que las señales del resto de los hidrógenos aromáticos. En general, se observa que estos últimos resuenan a campo consistentemente más alto que en el compuesto no sustituido por el efecto de apantallamiento producido por los sustituyentes donadores en el anillo bencénico.

Otra señal característica, ancha y de baja intensidad (por intercambio con el agua en el solvente deuterado $d_6\text{-DMSO}$), es la que corresponde al H del ácido carboxílico en el rango de 12,99 – 10,89 ppm (13,26 ppm en la ccaH).

Cabe mencionar que, además de las señales mencionadas, cada ligando presenta otras propias de los sustituyentes que se encuentran en el anillo bencénico. Las señales de los hidrógenos de los grupos hidroxi de la 7-OHccaH y 7,8-ccaH se traslapan con la del H ácido carboxílico; es por ello que en estos compuestos dicha señal es más ancha y posee una integral mayor cercana a 2 y 3 respectivamente. Por otro lado, en los espectros $^1\text{H-RMN}$ de la 7-OMeccaH y 6-OMeccaH se observan

singletes en 3,89 y 3,81 ppm respectivamente, correspondientes a los tres hidrógenos del sustituyente metoxi. Finalmente, en el espectro de la 7-NEt₂cCaH, se observan dos señales características, un doblete de dobletes en 3,47 ppm y un triplete en 1,3 ppm, asignadas a los hidrógenos equivalentes de los grupos CH₂ y CH₃ respectivamente del sustituyente dietilamino.

La asignación completa de las señales de los ligandos se logra mediante la observación de la multiplicidad de cada señal y el cálculo de las constantes de acoplamiento (*J* en Hz). Dada las posiciones relativas de los hidrógenos presentes en el anillo bencénico de los ligandos cumarínicos, es posible observar acoplamientos característicos del tipo orto y meta entre ellos (6-10 y 1-3 Hz, respectivamente), lo que facilita la asignación de las señales en los espectros.

En la **Figura 18** se muestra el espectro ¹H-RMN del ligando 7-OHcCaH y la multiplicidad de los hidrógenos aromáticos de dicho compuesto, como ejemplo representativo. Por otro lado, en la **Tabla 11**, se presentan la asignación completa de las señales de los espectros de resonancia magnética de protón de los todos los ligandos. Los espectros ¹H-RMN del resto de los ligandos se encuentran en el **Anexo 10.2**.

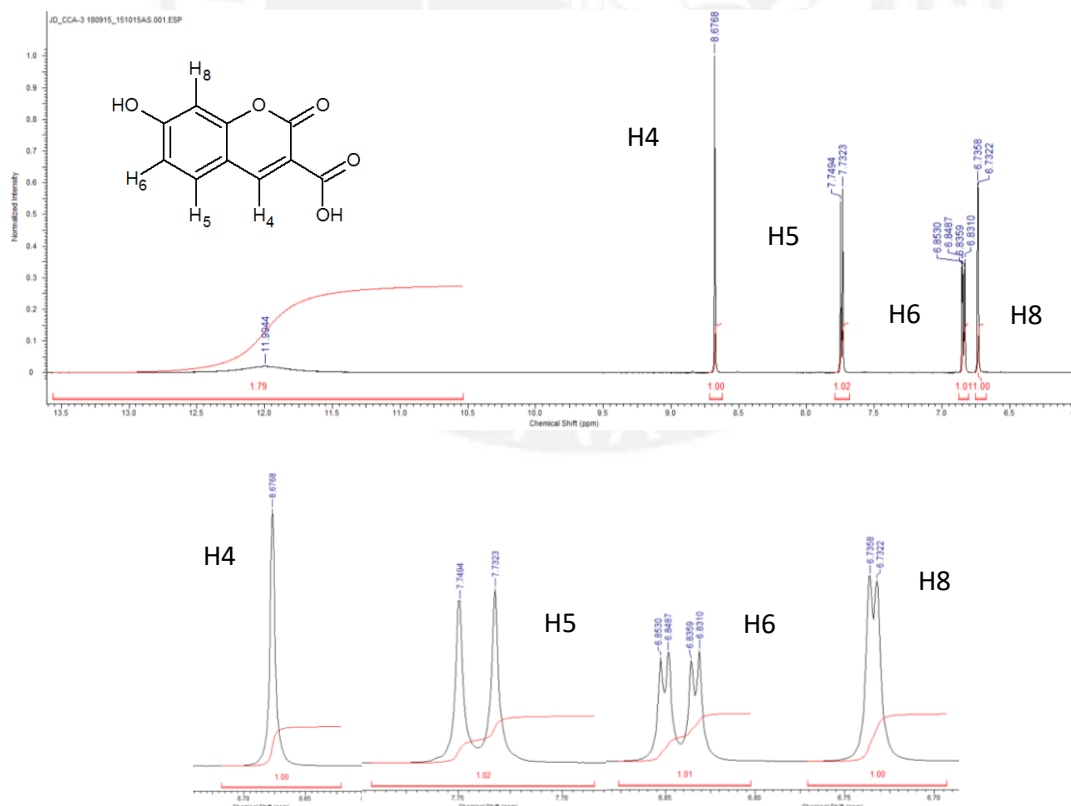


Figura 18: Espectro ¹H-RMN del ligando 7-OHcCaH y multiplicidad de sus hidrógenos.

Tabla 11: Datos $^1\text{H-RMN}$ de la cumarina-3-ácido carboxílico y derivados sustituidos tomado en $d_6\text{-DMSO}$.

Cumarina	Señal $^1\text{H-RMN}$: δ (ppm), multiplicidad, J (Hz)							
	H4	H5	H6	H7	H8	COOH	CH ₂	CH ₃
ccaH	8,75; s	7,91; dd $J = 7,6/1,5$	7,41; td $J = 7,6/1,0$	7,74; td $J = 7,3/1,5$	7,44; d $J = 8,6$	13,26; s	-	-
7-OHccaH	8,68; s	7,74; d $J = 8,6$	6,84; dd $J = 8,7/2,3$	(11,99; bs)	6,73; d $J = 1,8$	(11,99; bs)	-	-
7,8-OHccaH	8,63; s	7,25; d $J = 8,55$	6,86; d $J = 8,25$	(10,89; bs)	(10,89; bs)	(10,89; bs)	-	-
7-OMeccaH	8,73; s	7,84; d $J = 8,85$	7,01; dd $J = 8,85/2,5$	-	7,04; d $J = 2,5$	12,99; s	-	3,89; s (OMe)
6-OMeccaH	8,67; s	7,44; d $J = 3,1$	-	7,30; dd $J = 9,2, 3,1$	7,37; d $J = 9,2$	13,22; s	-	3,81; s (OMe)
7-NEt ₂ ccaH	8,57; s	7,62; d $J = 8,8$	6,78; dd $J = 9,1/2,5$	-	6,55; d $J = 2,2$	12,51; s	3,47; q $J = 7,1$	1,13; t $J = 7,0$

Legenda: s, singlete; bs, singlete ancho; d, doblete; q, cuarteto; t, triplete; dd, doblete de dobletes; td, triplete de dobletes. Los valores entre paréntesis corresponden a las señales de los OH.

En lo que respecta a los espectros ^{13}C -RMN, en estos se observa la presencia de diez señales propias del esqueleto cumarínico de los ligandos, en un rango similar a las observadas para la ccaH. No obstante, cabe mencionar, que las señales de los carbonos unidos a los sustituyentes electronegativos (OH, OCH_3 y NEt_2) se encuentran considerablemente desplazadas hacia campo bajo con respecto a las correspondientes a la de la cumarina-3-ácido carboxílico, al extremo que en caso de la 7-OHccaH y 7-OMeccaH su desplazamiento químico resulta muy similar al del grupo COOH . Por último, en los espectros de los ligandos 7-OMeccaH, 6-OMeccaH y 7- NEt_2 ccaH se observan señales adicionales ubicadas a campo alto; estas son propias de los carbonos de los sustituyentes metoxi y dietilamino. La completa asignación se logra mediante la combinación de las técnicas HSQC, HMBC y ADEQUATE-RMN. A continuación, se muestra cómo se asignaron las señales de los carbonos aplicando dichas técnicas para el caso del ligando 7-hidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico. Los espectros bidimensionales del resto de los ligandos se encuentran en el **Anexo 10.2**.

En primer lugar, se inicia con la interpretación del espectro ^1H - ^{13}C HSQC del ligando 7-OHccaH (**Figura 19**), del cual se logra determinar los desplazamientos químicos de los carbonos unidos a los protones de la cumarina. De acuerdo a dicho espectro, los carbonos a 149,8, 132,47, 114,47 y 102,26 ppm se encuentran unidos a los hidrógenos H4, H5, H6 y H8 respectivamente.

El siguiente paso consiste en analizar el espectro ^1H - ^{13}C HMBC del ligando 7-OHccaH (**Figura 20**), donde se observa múltiples correlaciones entre carbonos e hidrógenos separados hasta por tres enlaces; sin embargo, en la cumarina, al ser un sistema conjugado, se puede llegar a observar acoplamiento hasta de cuatro enlaces.

Por otro lado, la cercanía en el desplazamiento químico de alguna de las señales de los carbonos, en especial de aquellos que se encuentran a campo bajos, dificulta la su asignación. Es por ello que, mediante esta técnica, no es posible diferenciar los carbonos de los grupos carbonilo lactónico y ácido carboxílico y del sustituyente 7-hidroxi, es decir, C2, C_{COOH} y C7 respectivamente. En lo que respecta a las señales de los carbonos cuaternarios (C9 y C10), estos tampoco se logran asignar dado que todos los hidrógenos acoplan con ambos carbonos.

Finalmente, se logró identificar que solo el hidrógeno H4 acopla con el carbono a 112,99 ppm. Dado que dicha señal se encuentra a campo alto, se descarta que esta sea de los carbonos C2, C_{COOH} o C7. Asimismo, tampoco podría ser de los carbonos cuaternarios, ya que se espera que estos acoplen con todos los hidrógenos,

originando múltiples señales en el espectro. Dada las observaciones anteriores, se podría afirmar que la señal a 112,99 ppm corresponde al C3 del ligando cumarínico.

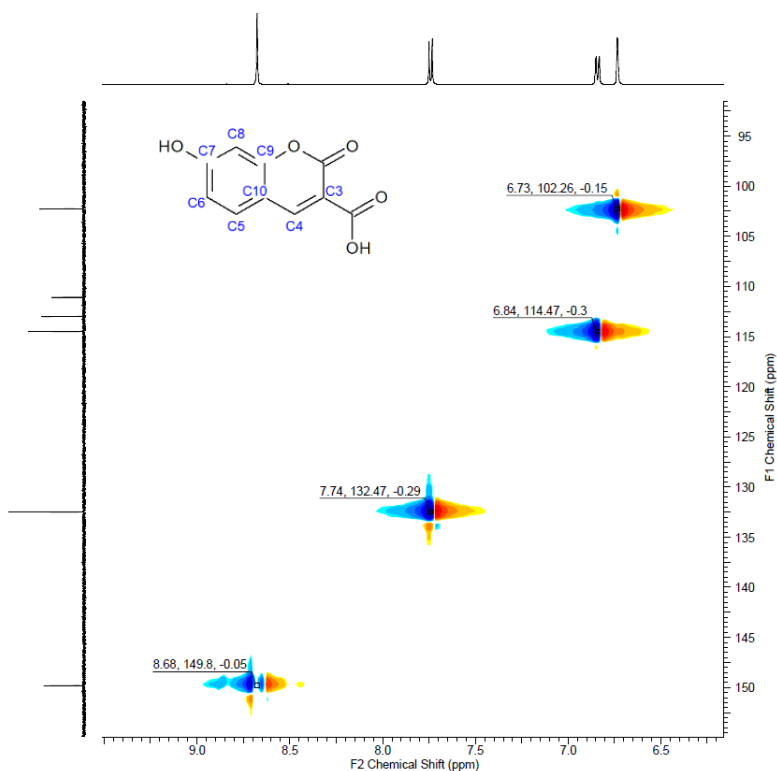


Figura 19: Espectro ^1H - ^{13}C HSQC-RMN del ligando 7-hidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico.

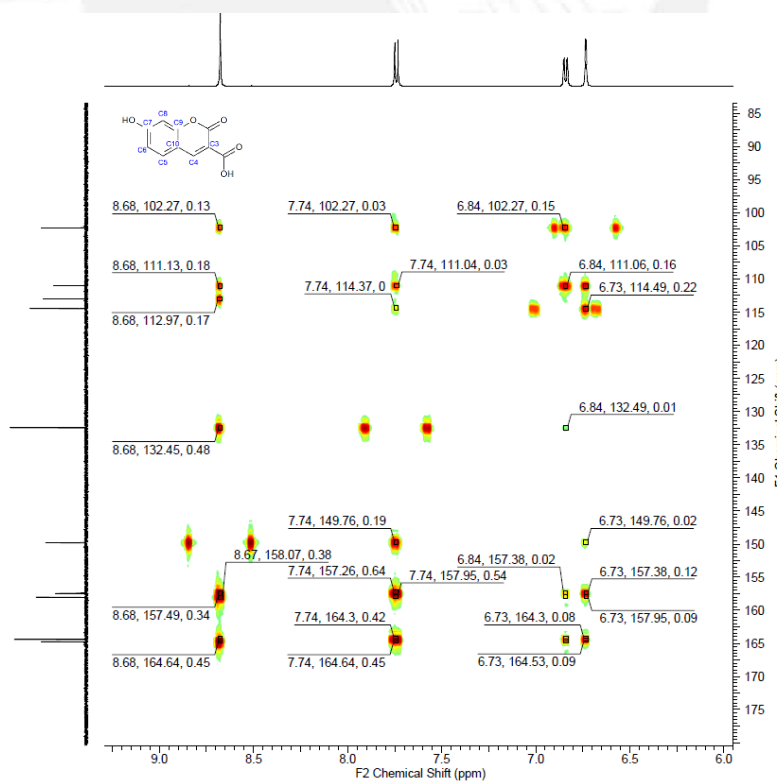


Figura 20: Espectro ^1H - ^{13}C HMBC-RMN del ligando 7-hidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico.

Con el fin de restringir las múltiples señales del espectro anterior, se decide utilizar la técnica ^1H - ^{13}C ADEQUATE-RMN, la cual ayuda a determinar los acoplamientos carbono-hidrógeno separado, como máximo, por dos enlaces. Por ejemplo, en dicho espectro (**Figura 21**), se observa que los carbonos a 110,92, 112,99 y 149,78 ppm acoplan con el H4 de la cumarina. Asimismo, el carbono a 110,92 o 111.02 ppm también acopla con el H5, lo que permite concluir que dicha señal corresponde a la del C10 y que aquella a 112,99 ppm es la del C3.

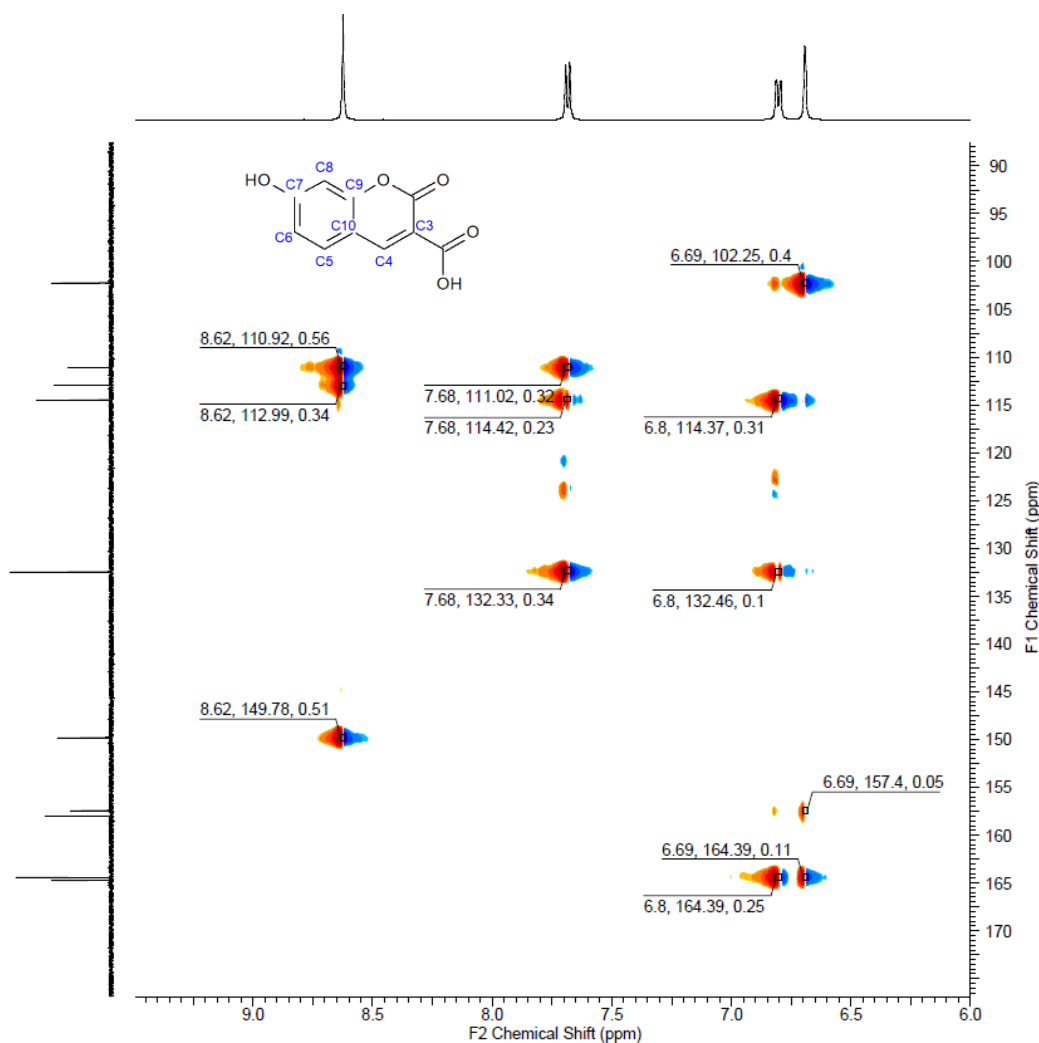


Figura 21: Espectro ^1H - ^{13}C ADEQUATE-RMN del ligando 7-hidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico.

Finalmente, en la **Tabla 12**, se presentan la asignación completa de las señales de los espectros de resonancia magnética de carbono de los todos los ligandos.

Tabla 12: Asignación de todas las señales de los espectros ^{13}C -RMN en d_6 -DMSO de la cumarina-3-ácido carboxílico y sus derivados sustituidos.

Cumarina	Señal ^{13}C -RMN en ppm											
	Nro. de carbono											
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	COOH	CH2	CH3
ccaH	157,1	118,8	148,8	130,6	118,4	134,7	125,3	154,9	116,5	164,4	-	-
7-OHccaH	157,4	112,9	149,8	132,5	114,5	164,4	102,3	158	111,1	164,7	-	-
7,8-OHccaH	158,3	112,6	150,5	122	113,8	152,9	132,3	145,2	111,9	164,8	-	-
7-OMeccaH	157,7	114,4	149,5	131,9	100,7	164,6	113,7	157,3	112,1	165,1	-	56,7 (OMe)
6-OMeccaH	157,7	118,9	148,6	112,3	156,1	122,5	117,7	149,4	118,8	164,4	-	56,2 (OMe)
7-NEt ₂ ccaH	160,1	107,8	149,9	132,3	110,5	153,4	96,4	158,3	107,6	164,9	44,9	12,8

7.2.2. Sales de sodio cumarínicas

Las sales aisladas fueron caracterizadas por espectroscopia FT-IR y ¹H-RMN.

7.2.2.1. Espectroscopia infrarroja

En los espectros IR de las sales, la diferencia más importante con aquellos de los correspondientes ligandos es la desaparición de la banda característica del estiramiento C=O del ácido carboxílico y la aparición de dos nuevas bandas características del grupo carboxilato. En los rangos entre 1630 – 1620 y 1390 – 1370 cm⁻¹ se observan las fuertes absorciones correspondientes a los estiramientos asimétrico y simétrico del grupo carboxilato respectivamente, siendo la primera particularmente intensa. Cabe mencionar que, en todas las sales, la banda del estiramiento asimétrico se ubica muy próxima a aquella de frecuencia más alta de los ν_{C-C} del anillo aromático e incluso se superpone parcialmente con esta; sin embargo, es posible reconocer un patrón característico para la ν_{as} y ν_s en todas ellas.

Por otro lado, se observan cambios en la zona entre 3520 - 3270 cm⁻¹; estas bandas corresponderían a la presencia de agua de cristalización o hidratación, ya que, dada la marcada diferencia de tamaño entre el anión y catión, es de esperar que la sal cristalice con moléculas de agua. Otra característica importante en estos espectros es la desaparición de la banda correspondiente a la flexión del COH en el plano del ácido carboxílico. Por último, se observa cierto desplazamiento a menor frecuencia de la señal del carbonilo lactónico. En la **Figura 22**, se muestran los espectros IR del ligando 7-OHccaH y su respectiva sal, en los cuales se pueden apreciar las diferencias mencionadas. Por otra parte, en la **Tabla 13**, se presentan algunos datos seleccionados de los espectros infrarrojos de las sales. Los espectros IR del resto de las sales de sodio de los ligandos se encuentran en el **Anexo 10.3**.

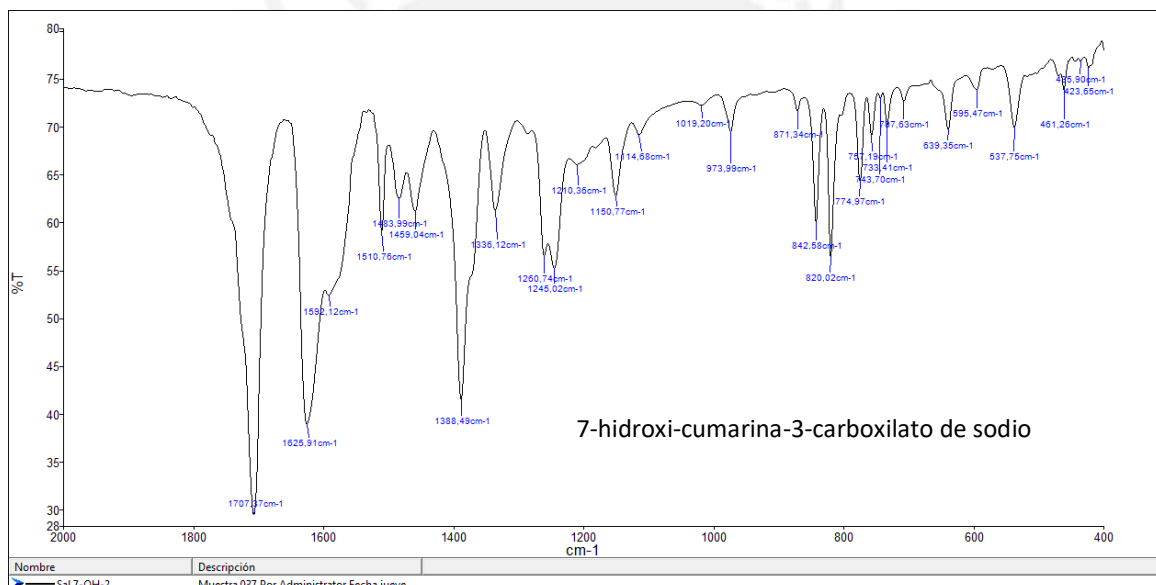
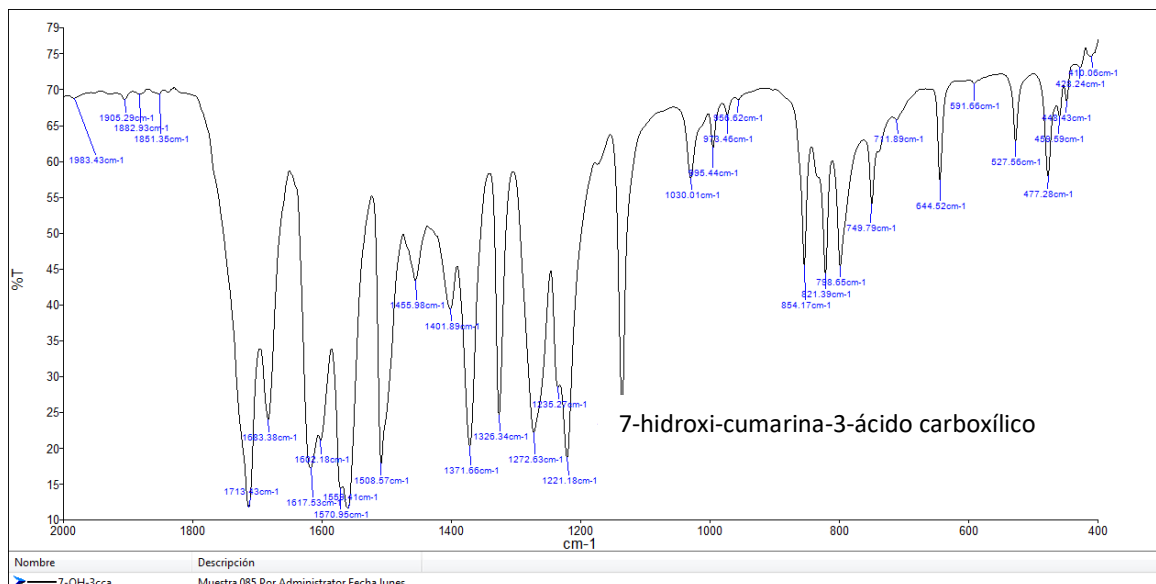


Figura 22: Espectro IR (KBr) del ligando 7-OHccaH y de su sal Na(7-OHcca).

Tabla 13: Datos IR (cm^{-1}) seleccionados de la cumarina-3-carboxilato de sodio y los derivados. sustituidos.

Sal	$\nu_{\text{O-H}}$ $\text{H}_2\text{O}/\text{OH}$	$\nu_{\text{C=O}}$ lactona	$\nu_{\text{asCOO-}}$	$\nu_{\text{C-C}}$ del anillo aromático	$\nu_{\text{simCOO-}}$
Na(cca)	3445	1741	1592	1568-1455	1389
Na(7-OHcca)	3284	1707	1626	1592-1459	1388
Na(7,8-OHcca)	3517/3263	1718	1619	1586-1455	1376
Na(7-OMecca)	3447	1743/1725	1622	1595-1424	1383
Na(6-OMecca)	3421	1716	1589	1572-1435	1391
Na(7-NEt ₂ cca)	3426	1730/1712/1704	1627	1610-1440	1388

7.2.2.2. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protón

En lo que respecta a los análisis por resonancia magnética nuclear, solo fue posible medir los espectros ^1H -RMN de estos compuestos, aunque con cierta pérdida de la resolución, debido a su baja solubilidad en el solvente deuterado utilizado. Las diferencias que se logran observar son la desaparición de la señal del H del ácido carboxílico y el desplazamiento a campo alto de las restantes, en especial la correspondiente al H₄ (alrededor de 0,5ppm). Esto se debe a que la desprotonación del grupo carboxílico disminuye su poder aceptor de electrones y por consiguiente el desapantallamiento que este ejerce sobre los hidrógenos del esqueleto cumarínico; dicho efecto resulta más marcado sobre el H más próximo. En la **Figura 23** se presenta el espectro ^1H -RMN de la sal del ligando 7-OHccaH como ejemplo representativo de estos compuestos y en la **Tabla 14** se presentan la asignación completa de las señales en los espectros ^1H -RMN. Los espectros H-RMN del resto de las sales de sodio de los ligandos se encuentran en el **Anexo 10.4**.

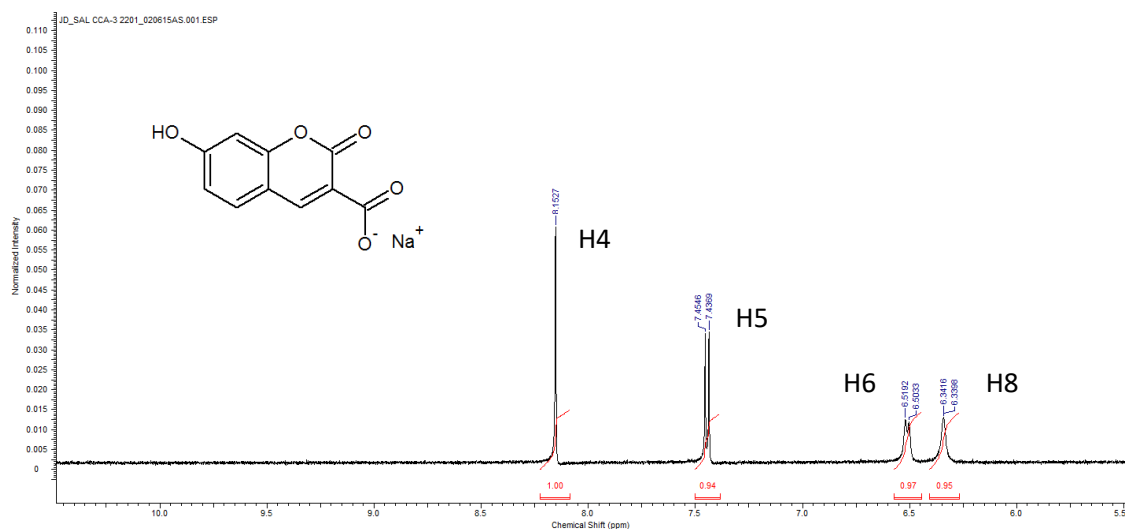


Figura 23: Espectro ^1H -RMN de la sal 7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato de sodio.

Tabla 14: Datos ^1H -RMN de la cumarina-3-carboxilato de sodio y derivados sustituidos tomado en d_6 -DMSO.

Sal	Señal ^1H -RMN: δ (ppm), multiplicidad, J (Hz)						
	H4	H5	H6	H7	H8	CH2	CH3
Na(cca)	7,84; s	7,67; dd $J = 7,6/1,5$	7,28; td $J = 7,5/1,1$	7,51; td $J = 7,7/2,1$	7,31; d $J = 8,5$	-	-
Na(7-OHcca)	8,15; s	7,44; d $J = 8,9$	6,51; d $J = 7,9$	-	6,34; s	-	-
Na(7,8-OHcca)	8,14; s	7,0; d $J = 8,9$	6,37; d $J = 8,6$	-	-	-	-
Na(7-OMecca)	7,88; s	7,59; d $J = 8,6$	6,88; dd $J = 8,4/2,3$	-	6,90; d $J = 2,45$	-	3,84; s (OMe)
Na(6-OMecca)	7,87; s	7,27; s	-	7,10; dd $J = 9,0/2,9$	7,25; d $J = 4,9$	-	3,81; s (OMe)
Na(7-NEt₂cca)	7,98; s	7,43; d $J = 7,4$	6,64; d $J = 8,6$	-	6,45; s	3,41; s	1,13; t $J = 6,4$

Leyenda: s, singlete; bs, singlete ancho; d, doblete; q, cuarteto; t, triplete; dd, doblete de dobletes; td, triplete de dobletes

7.2.3. Complejos de cinc con ligandos cumarínicos

Los complejos sintetizados fueron caracterizados por espectroscopia infrarroja y resonancia magnética nuclear; además, se determinó el contenido de cinc por la técnica de espectroscopia de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (AES-ICP). Por otro lado, con ayuda de la técnica de termogravimetría/análisis térmico diferencial (TGA/DSC), se calculó el número de aguas de coordinación y se relacionaron las distintas etapas de pérdida de peso con el número de ligandos presentes en estos compuestos.

Finalmente, se determinó la estructura del complejo diacuobis[7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II) ($Zn(7-OHcca)_2(H_2O)_2$) con la técnica de difracción de rayos X de polvo (XRD).

7.2.3.1. Espectroscopia infrarroja

En la **Tabla 15**, se presentan datos seleccionados de los espectros infrarrojos de los complejos. Por otro lado, en la **Figura 24**, se muestran los espectros IR del ligando 7-OHccaH, su sal de sodio y su respectivo complejo de cinc. Los espectros IR del resto de complejos de cinc se encuentran en el **Anexo 10.5**.

Tabla 15: Datos IR (cm^{-1}) seleccionados de los complejos cumarínicos.

Complejo	ν_{O-H} H ₂ O/OH	$\nu_{C=O}$ lactona	ν_{asCOO-}	ν_{c-c} del anillo aromático	$\nu_{simCOO-}$
$Zn(cca)_2(H_2O)_2$	3218	1668	1586	1563-1458	1396
$Zn(7-OHcca)_2(H_2O)_2$	3430/3144	1679	1614	1558-1458	1383
$Zn(7,8-OHcca)_2(H_2O)_2$	3401/3303	1663	1606	1617-1403	1376
$Zn(7-OMecca)_2(H_2O)_2$	≈ 3000	1679	1608	1585-1438	1378
$Zn(6-OMecca)_2(H_2O)_2$	3403/3213	1659	1584	1567-1432	1388
$Zn(7-NEt_2cca)_2(H_2O)_2$	3434	1671	1611	1509-1450	1400

En los espectros infrarrojo de los complejos de cinc, se aprecian bandas anchas centradas en el rango entre $3420 - 3000 \text{ cm}^{-1}$ correspondientes a las absorciones por estiramiento O-H de las moléculas de agua coordinadas al centro metálico, además de aquellas propias de los sustituyentes OH en caso de los complejos 7-hidroxi y 7,8-dihidroxi sustituidos.

Por otro lado, se observa la desaparición en los complejos de la intensa banda de absorción $\nu_{\text{C=O}}$ del grupo carboxílico presente en los ligandos y la aparición en su lugar de las bandas de estiramiento asimétrico y simétrico del grupo carboxilato en los rangos de $1615 - 1580$ y $1400 - 1370 \text{ cm}^{-1}$ respectivamente. Al igual que en las sales, la ν_{asCOO^-} aparece muy cercana a la $\nu_{\text{C=C}}$ de mayor frecuencia y en algunos casos se superpone parcialmente con esta. Asimismo, la banda correspondiente a la flexión del COH en el plano del ácido carboxílico, también está ausente. Este comportamiento confirma la presencia del grupo carboxilato en los complejos, el cual se encontraría coordinado al cinc.

Otra observación importante concierne al desplazamiento observado en la posición de la banda del $\nu_{\text{C=O}}$ lactónico en los complejos. Esta se presenta en el rango $1700-1650 \text{ cm}^{-1}$, fuertemente desplazada hacia menor frecuencia respecto a aquella en los correspondientes ligandos y sales de sodio; este corrimiento llega hasta los 57 y 100 cm^{-1} respectivamente. Esto se atribuye al debilitamiento del enlace C=O en los complejos como consecuencia de la donación de densidad electrónica del átomo de oxígeno al Zn(II) y constituye evidencia de la coordinación de este grupo al centro metálico. Finalmente, cabe destacar, que los nuevos complejos presentan un patrón de comportamiento en el infrarrojo similar al reportado para el complejo de cinc con la cumarina-3-ácido carboxílico.

Sin embargo, cabe mencionar que esta interpretación discrepa de la propuesta por Creaven y colaboradores³⁸, quienes al haber asignado erradamente las bandas $\nu_{\text{C=O}}$ carboxílico y $\nu_{\text{C=O}}$ lactónico en el espectro IR del ligando no sustituido (ccaH), concluyen que esta última no sufre desplazamiento significativo y no se encuentra involucrada en la coordinación al cinc.

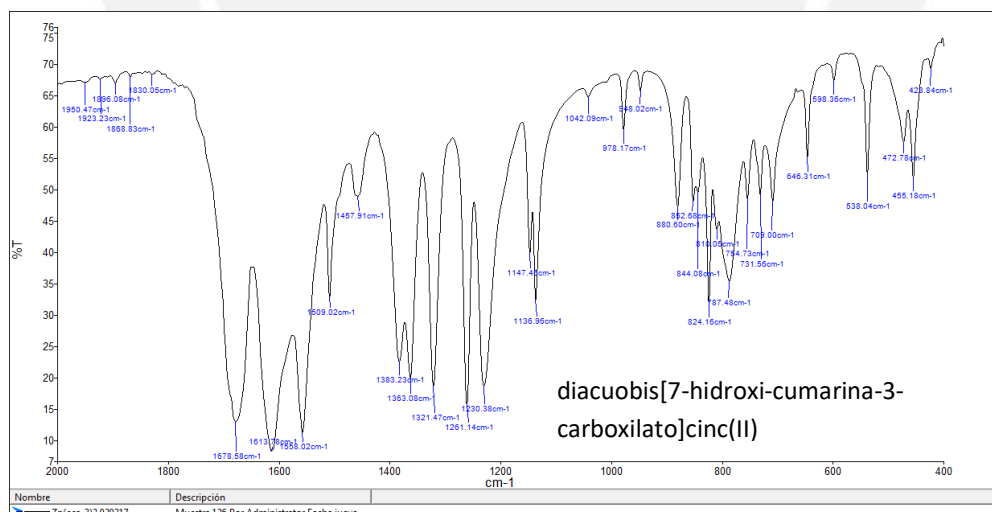
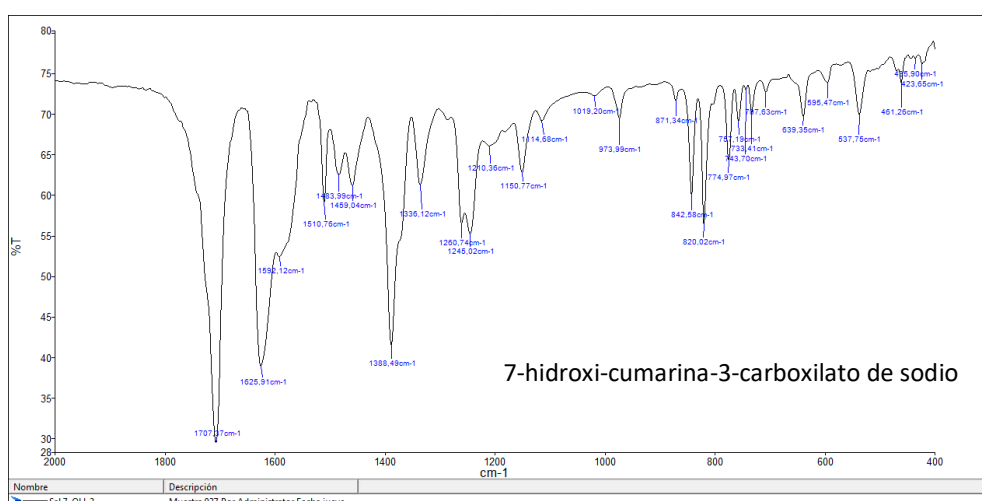
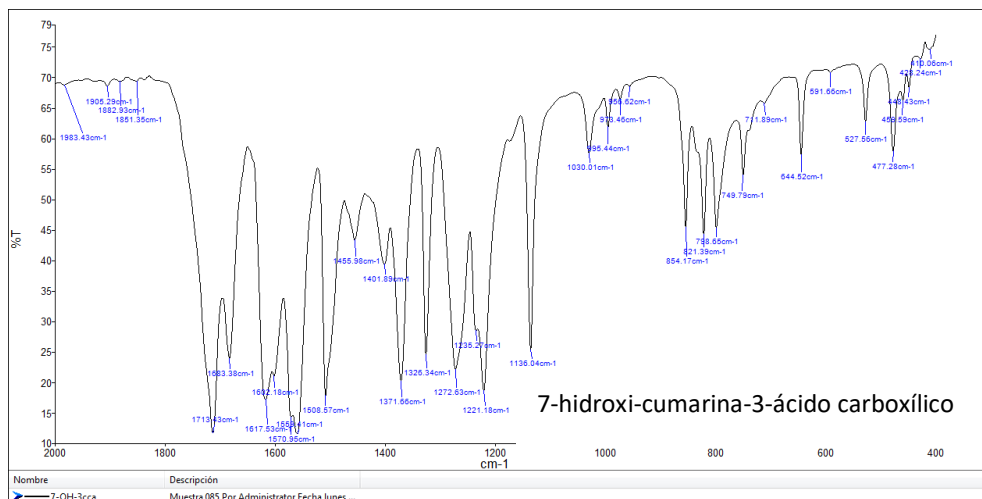


Figura 24: Espectro IR (KBr) del ligando 7-OHccaH, sal Na(7-OHcca) y complejo Zn(7-OHcca)₂(H₂O)₂.

7.2.3.2. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear

La asignación de las señales en los espectros ^1H -RMN fue directa, facilitada por la de los correspondientes ligandos y sales de sodio; en cambio, en el caso de los de ^{13}C -RMN fue necesario utilizar una combinación de las técnicas ^1H - ^{13}C HSQC y ^1H - ^{13}C HMBC-RMN para una asignación completa de los carbonos presentes en cada complejo. Dado el alto requerimiento de solubilidad de la muestra para el análisis ^1H - ^{13}C ADEQUATE (100mg en 700 μl d_6 -DMSO), no fue posible utilizar dicha técnica en estos compuestos.

En la **Tabla 16**, se presenta la asignación completa de las señales de los espectros de resonancia magnética de protón de todos los complejos. En la **Figura 25** se muestra el espectro ^1H -RMN del complejo $\text{Zn}(\text{7-OHcca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$, como ejemplo ilustrativo de estos compuestos. Los espectros ^1H -RMN del resto de complejos de cinc se encuentran en el **Anexo 10.6**.

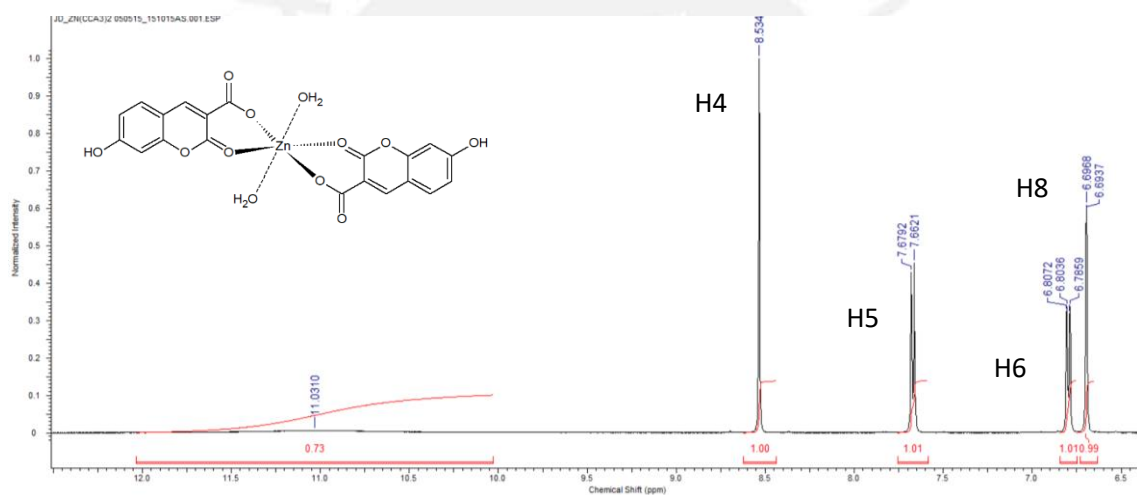


Figura 25: Espectro ^1H -RMN del complejo diacuobis[7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).

En los espectros ^1H -RMN de los complejos con los ligandos sustituidos se observan las señales de los hidrógenos aromáticos en el rango de 8,53 a 6,50 ppm. A semejanza de lo observado en los espectros ^1H -RMN de las cumarinas, el H4 resuena a campo considerablemente más bajo (8,53-8,46 ppm) que el resto de los hidrógenos aromáticos, comparable al complejo de referencia $\text{Zn}(\text{cca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$. Asimismo, las señales de los hidrógenos H5-H8 se encuentran desplazadas hacia campo alto por efecto de los sustituyentes donadores. La magnitud de este efecto depende del tipo de sustituyente donador y de la posición relativa del hidrógeno en cuestión a este grupo.

La ausencia de la señal correspondiente al H del ácido carboxílico en los complejos confirma, al igual que en las sales, que dicho grupo se encuentra desprotonado y participa en la coordinación al metal. Esto es consistente con la ausencia de la señal característica del estiramiento del grupo C=O carboxílico en los espectros infrarrojo de los complejos.

Una observación importante en los complejos, relacionada con la coordinación de los ligandos cumarínicos al cinc, es que las señales de los hidrógenos aromáticos en el anillo se encuentran desplazadas hacia campo alto con respecto a las correspondientes cumarinas; sin embargo, dichos desplazamientos son menores a los observados en las señales de las sales de sodio. Esto se debe a que el Zn(II) introduce una apreciable contribución covalente al enlace; esto disminuye el poder aceptor del grupo COO⁻ en menor medida que en la sal de sodio, donde el enlace es iónico. De esta manera, las señales de los hidrógenos aromáticos en los complejos se ubican en una posición intermedia entre las de los respectivos ligandos y sus sales.

Nuevamente, como ocurre en las sales, el efecto es más pronunciado sobre el hidrógeno en posición 4 del anillo cumarínico al encontrarse en la posición adyacente a la del grupo carboxilato coordinado. Se observan desplazamientos del orden de 0,1-0,21 ppm, comparables con aquél que se observa en el complejo Zn(cca)₂(H₂O)₂. En cambio, los desplazamientos observados para el resto de los hidrógenos aromáticos son considerablemente menores.

Tabla 16: Datos $^1\text{H-RMN}$ de los complejos cumarínicos tomado en d_6 DMSO.

Complejo	Señal $^1\text{H-RMN}$: δ (ppm), multiplicidad, J (Hz)						
	H4	H5	H6	H7	H8	CH2	CH3
$\text{Zn}(\text{cca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$	8,51; s	7,85; dd $J = 7,6/1,5$	7,37; td $J = 7,7/1,1$	7,65; td $J = 7,2/1,7$	7,40; d $J = 8,5$	-	-
$\text{Zn}(7\text{-OHcca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$	8,52; s	7,67; d $J = 8,6$	6,8; dd $J = 8,7/1,9$	(11,03; s)	6,69; d $J = 1,6$	-	-
$\text{Zn}(7,8\text{-cca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$	8,53; s	7,14; d $J = 4,9$	6,77; d $J = 7,7$	(11,20; bs)	(11,20; bs)	-	-
$\text{Zn}(7\text{-OMecca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$	8,53; s	7,77; d $J = 8,6$	6,95; dd $J = 8,7/2,3$	-	6,98; d $J = 2,5$	-	3,86; s (OMe)
$\text{Zn}(6\text{-OMecca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$	8,46; s	7,40; d $J = 2,8$	-	7,23; dd $J = 9,2/3,1$	7,33; d $J = 9,2$	-	3,81; s (OMe)
$\text{Zn}(7\text{-NEt}_2\text{cca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$	8,47, s	7,57; d $J = 9,1$	6,72; dd $J = 8,8/2,2$	-	6,50; d $J = 2,2$	3,44; q $J = 7,1$	1,12; t $J = 7,0$

Leyenda: s, singlete; bs, singlete ancho; d, doblete; q, cuarteto; t, triplete; dd, doblete de dobletes; td, triplete de dobletes. Los valores entre paréntesis corresponden a las señales de los OH.

Respecto a los espectros ^{13}C -RMN se observan tendencias similares a las anteriormente discutidas para los correspondientes ligandos. La completa asignación se logra mediante la combinación de las técnicas ^1H - ^{13}C HSQC y ^1H - ^{13}C HMBC-RMN. En la **Tabla 17**, se presenta la asignación completa de las señales de los espectros de resonancia magnética de carbono de los todos los complejos. Cabe mencionar que dada la baja solubilidad del complejo $\text{Zn}(7,8\text{-OHccaH})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ en el solvente deuterado, no fue posible obtener ningún espectro adicional al ^1H -RMN.

A continuación, se presenta cómo se asignaron las señales de los carbonos aplicando dichas técnicas para el caso del complejo Diacuobis[7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II). Los espectros 2D-RMN del resto de complejos de cinc se encuentran en el **Anexo 10.6**.

Al igual que para su ligando, se inicia con la interpretación del espectro ^1H - ^{13}C HSQC del complejo $\text{Zn}(7\text{-OHcca})_2(\text{H}_2\text{O})$, (**Figura 26**), con lo que se determina que los carbonos a 147,79, 131,53, 114,38 y 102,11 ppm están unidos directamente a los hidrógenos H4, H5, H6 y H8 del complejo respectivamente.

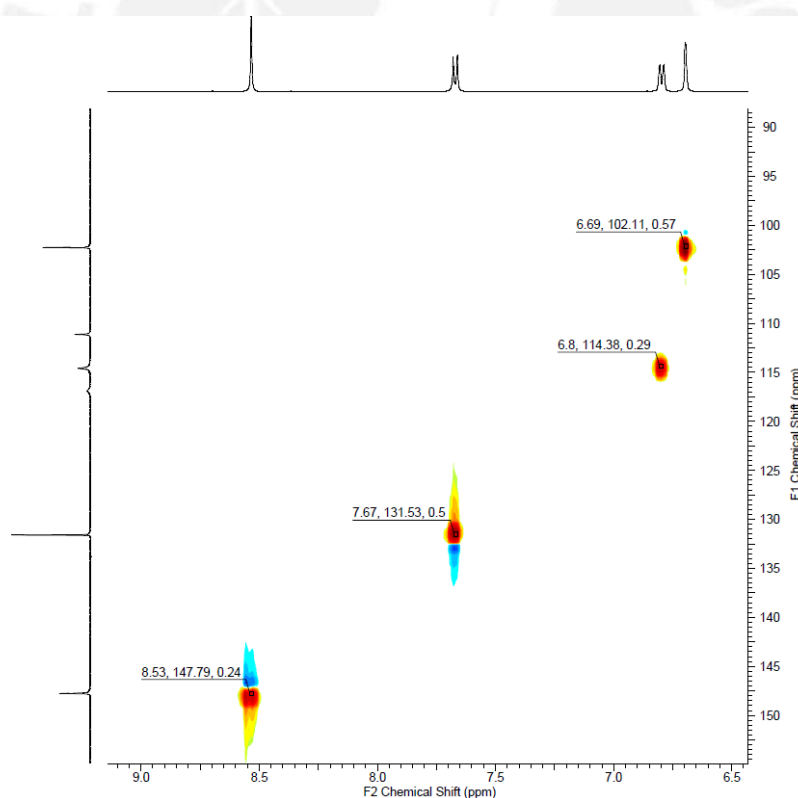


Figura 26: Espectro ^1H - ^{13}C HSQC-RMN del complejo diacuobis[7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).

Por otro lado, la interpretación del espectro ^1H - ^{13}C HMBC del complejo $\text{Zn}(\text{7-OHccaH})_2(\text{H}_2\text{O})_2$, (**Figura 27**) brinda más información que la de su correspondiente ligando. Esto se debe a que las señales de los carbonos de dicho compuesto están más distanciadas, lo que facilita su asignación. Por ejemplo, en dicho espectro se puede diferenciar fácilmente que los carbonos a 163,99 y 167,78 corresponden al del grupo carboxilato y al hidroxilo respectivamente; asimismo, las señales a 116,72 y 159,4, al solo acoplar con el hidrógeno H4 del complejo, corresponderían al carbono del carbonilo y al unido al grupo carboxilato. Las señales restantes, se asignan de acuerdo a sus análogas en el ligando 7-hidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico.

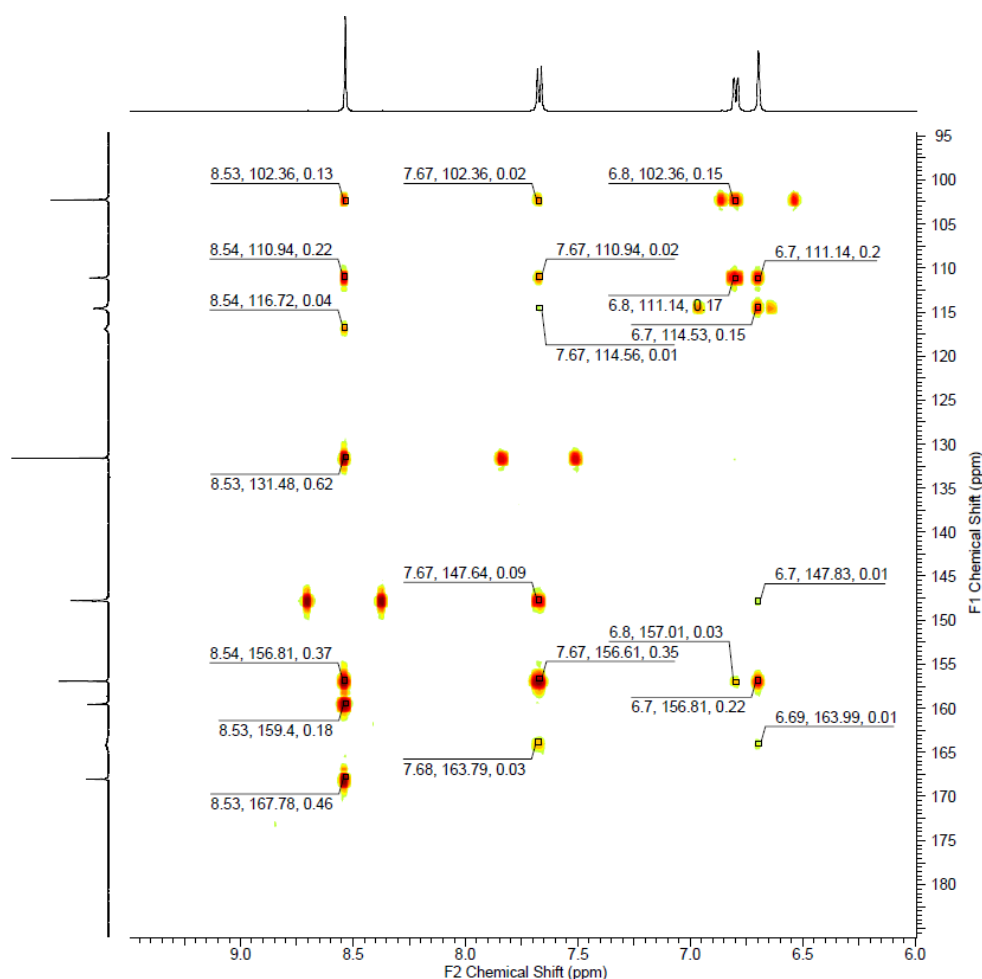


Figura 27: Espectro ^1H - ^{13}C HMBC-RMN del complejo diacuobis[7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).

Tabla 17: Asignación de todas las señales de los espectros ^{13}C -RMN en d_6 -DMSO de los complejos cumarínicos.

Complejo	Señal ^{13}C -RMN en ppm											
	Nro. de carbón											
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	COO-	CH ₂	CH ₃
Zn(cca) ₂ (H ₂ O) ₂	158,4	116,3	145,6	129,9	125,0	133,3	118,9	154,4	123,6	167,9	-	-
Zn(7-OHcca) ₂ (H ₂ O) ₂	159,5	116,9	147,8	131,6	114,6	164,1	102,3	154,9	111,2	168,0	-	-
Zn(7-OMecca) ₂ (H ₂ O) ₂	158,9	119,2	146,8	131,2	100,6	163,9	113,3	156,6	112,5	168,2	-	56,5 (OMe)
Zn(6-OMecca) ₂ (H ₂ O) ₂	158,8	123,9	145,4	111,8	156,0	120,9	117,4	148,7	119,4	167,8	-	56,2 (OMe)
Zn(7-NEt ₂ cca) ₂ (H ₂ O) ₂	160,5	113,6	148,2	131,3	109,9	152,1	96,2	157,6	107,9	168,5	44,6	12,7

7.2.3.3. Análisis termogravimétricos

En lo que respecta al análisis por termogravimetría, este fue realizado para los complejos con ligandos cumarínicos hidroxí y metoxi sustituidos. No fue posible la medición del TG/DSC del último compuesto sintetizado, $Zn(7-NEt_2cca)_2(H_2O)_2$, debido a que el equipo utilizado del Laboratorio de Materiales de la Sección de Ingeniería Mecánica presentó fallas técnicas no resueltas hasta la fecha de presentación de esta tesis.

Las mediciones se realizaron en el rango de 29 a 800°C en atmósfera de aire a una velocidad de 5-10 K/min. En todos los casos se observó que el proceso de descomposición térmica se divide en tres etapas; esto se aprecia claramente en el termograma del complejo $Zn(7-OHcca)_2(H_2O)_2$ presentado en la **Figura 28**. Los termogramas del resto de complejos de cinc se encuentran en el **Anexo 10.7**.

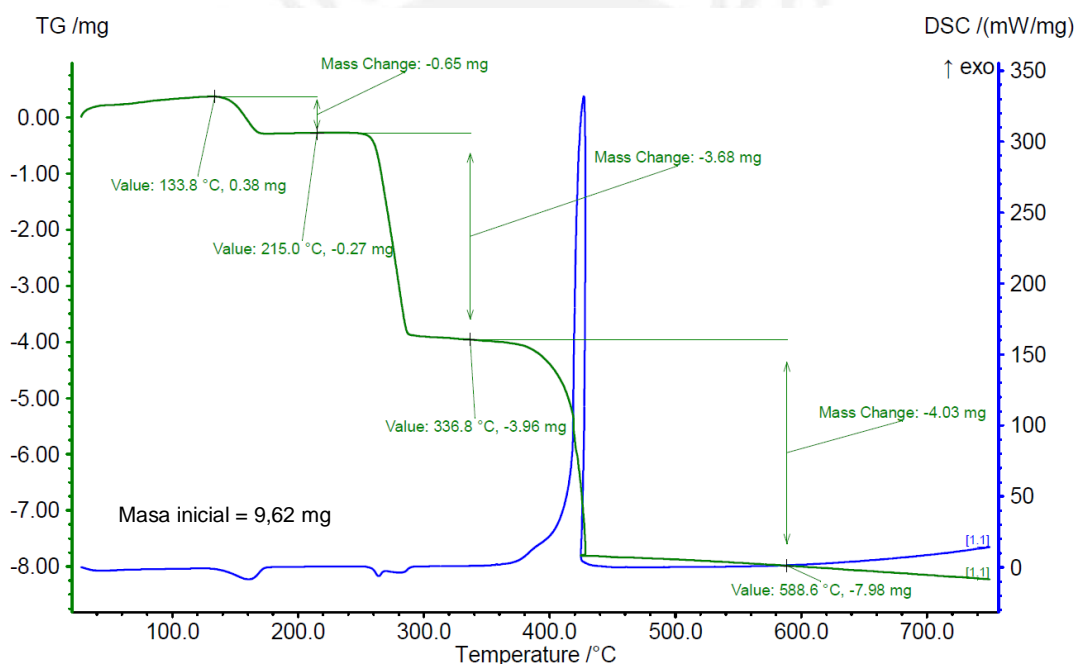


Figura 28: Curva TG/DSC del complejo diacuobis[7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).

Para este complejo, así como para el 7,8-dihidroxi y el 6-metoxi sustituido, en el rango de 130-150°C se inicia la primera pérdida de peso, la cual, como se observa en la **Tabla 18**, resulta muy cercana al valor teórico calculado en cada caso para la eliminación de dos moléculas de agua de coordinación. No obstante, en caso del complejo $Zn(7-OCH_3cca)_2(H_2O)_2$ esta comienza alrededor de los 175°C, por lo que no llega a completarse antes del inicio de la siguiente etapa y, por consiguiente, el porcentaje experimental resulta considerablemente menor que el esperado. De acuerdo a la curva de calorimetría diferencial

de barrido (DSC), esta primera pérdida es, como sería de esperar, de naturaleza endotérmica. Por otra parte, el hecho que en todos los casos ocurra a temperaturas superiores a 130°C, indica claramente que se trata de agua de coordinación y no de cristalización.

En el rango de 240-270°C comienza la segunda etapa de la descomposición térmica asociada a una disminución de peso de 31 a 38%, la cual corresponde aproximadamente a la eliminación de un ligando (**Tabla 18**). Las curvas DSC de los complejos de las cumarinas 7-OHccaH y 7,8-OHccaH indican que esta pérdida es de tipo endotérmica; en caso del complejos $Zn(7-OCH_3cca)_2(H_2O)_2$, no se logra identificar su naturaleza. Cabe mencionar que el complejo análogo 6-metoxi se aprecia un pequeño pico exotérmico a 281°C que cae dentro del rango de temperatura donde es eliminado el primer ligando.

Por último, una probable eliminación del segundo ligando se inicia cerca de 330-340°C y esta etapa está vinculada a una pérdida de peso de alrededor de 40% (**Tabla 18**). En todos los casos este ligando sería liberado por un proceso de combustión, caracterizado por una intensa señal exotérmica en los DSC, que se ubica entre 360 y 420°C. No obstante, sería necesario comprobar si estas dos pérdidas de peso consecutivas corresponden efectivamente a la eliminación secuencial de los dos ligandos cumarínicos como se ha planteado. Esto se podría llevar a cabo por termodifracción de rayos-X, al identificar el compuesto que se forma al término de la segunda etapa de pérdida de masa. Asimismo, sería útil usar la técnica de termogravimetría acoplada a espectroscopia infrarroja, con el fin de identificar la especie liberada en dicha etapa. Lo que si es posible afirmar es que la suma de las pérdidas de masa de la segunda y tercera etapa, concuerda con lo esperado para dos ligandos.

Finalmente, se concluye, de acuerdo al comportamiento termogravimétrico discutido, que estos cuatro complejos están constituidos, a semejanza del complejo de referencia $Zn(cca)_2(H_2O)_2$, por dos ligandos cumarínicos y dos moléculas de aguas coordinadas al cinc.

Tabla 18: Comparación entre los valores teóricos esperados para cada etapa de descomposición térmica y los resultados experimentales.

Complejo	%H ₂ O (teórico)	%H ₂ O (exp.)	%Ligando (teórico)*	%Ligando 1	%Ligando 2
Zn(7-OHcca) ₂ (H ₂ O) ₂	7,04	6,76	40,09	38,26	41,90
Zn(7,8-OHcca) ₂ (H ₂ O) ₂	6,62	6,62	40,68	31,22	39,85
Zn(7-OMecca) ₂ (H ₂ O) ₂	6,67	5,38	40,61	38,07	40,03
Zn(6-OMecca) ₂ (H ₂ O) ₂	6,67	6,36	40,61	31,67	42,73

* Para un ligando

7.2.3.4. Análisis por espectroscopía de emisión atómica de plasma inductivamente acoplado

Para la determinación del contenido de cinc de los nuevos complejos se aplicó la técnica ICP. Los resultados del análisis se muestran en la **Tabla 19**.

Tabla 19: Contenido de cinc determinado por ICP.

Complejo	Fórmula molecular	%Zn teórico	%Zn experimental
Zn(7-OHcca) ₂ (H ₂ O) ₂	C ₂₀ H ₁₄ O ₁₂ Zn; M = 511,70	12,78	12,41
Zn(7,8-OHcca) ₂ (H ₂ O) ₂	C ₂₀ H ₁₄ O ₁₄ Zn; M = 543,69	12,03	11,86
Zn(7-OMecca) ₂ (H ₂ O) ₂	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₂ Zn; M = 539,75	12,11	12,17
Zn(6-OMecca) ₂ (H ₂ O) ₂	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₂ Zn; M = 539,75	12,11	12,22
Zn(7-NEt ₂ cca) ₂ (H ₂ O) ₂	C ₂₈ H ₃₂ N ₂ O ₁₀ Zn; M = 621,94	10,51	16,93

Como se puede observar, cuatro de los complejos sintetizados muestran un contenido de cinc muy cercano al valor teórico esperado para complejos de la misma composición que el complejo de cinc de referencia, Zn(cca)₂(H₂O)₂. Esto es consistente con los datos espectroscópicos y termogravimétricos obtenidos para dichos complejos. Como se discutió anteriormente, sus espectros IR indicaron la coordinación tanto del grupo carbonilo lactónico como del carboxilato al Zn(II), mientras que las tendencias de variación en los desplazamientos químicos de las señales del anillo cumarínico en estos complejos en

relación a aquellas obtenidas para sus respectivos ligandos y sales concuerdan con las observadas y reportadas para el compuesto de referencia. Asimismo, como ya se discutió, los termogramas de estos complejos de cinc demuestran la presencia de dos ligandos y dos aguas de coordinación. Todos estos datos en conjunto permiten proponer que los cuatro complejos no solo poseen la misma formulación, sino también la misma estructura que aquel de referencia, el complejo de cinc con la cumarina-3-ácido carboxílico.

En lo que respecta al complejo diacuobis[7-dietilamino-cumarina-3-carboxilato]cinc(II), el análisis indica un exceso considerable de cinc, el cual se podría atribuir a una contaminación con hidróxido de cinc que coprecipitaría con este compuesto. Si bien la formación de este contaminante pudo presentarse también en cualquiera de las otras síntesis, en este caso particular, se vería favorecida por el gran exceso de cloruro de cinc utilizado. Sin embargo, este hidróxido no es detectable por ^1H -RMN y su única absorción intensa en el IR, originada por la vibración de estiramiento O-H, tampoco sería detectable dado que estaría encubierta por la correspondiente del agua de coordinación. Por otro lado, no es posible eliminarlo por lavado con agua dada su alta insolubilidad en este solvente. Asimismo, no es posible la purificación del complejo por recristalización, dado que este solo resulta soluble en DMSO.

El hecho que el patrón de comportamiento espectroscópico en el IR y RMN del complejo de cinc con el ligando 7-dietilamino-cumarina-3-ácido carboxílico sea comparable al observado en los otros complejos cumarínicos sintetizados, sugiere que presenta una estructura similar.

7.2.3.5. Análisis por difracción de rayos X de polvo

Por último, como se comentó en el **acápito 6.6** de la parte experimental, las distintas técnicas de cristalización ensayadas solo permitieron obtener, en caso de los **Método 2 y 3**, cristales pequeños en forma de aguja finas para el complejo $\text{Zn}(7\text{-OCH}_3\text{cca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ y, en caso del **Método 5**, cristales en forma de bloques rectangulares no uniformes para su análogo 6-metoxi sustituido. En ambos casos el hecho que estos además de estar superpuestos, fueran muy pequeños los hacía inapropiados para su uso en una determinación estructural por cristalografía de rayos-X de monocristal.

Por tanto, se estudió la posibilidad de determinar la estructura de uno de ellos con la técnica de difracción de rayos-X de polvo (DRX). La naturaleza cristalina del complejo diacuobis[7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II) permitió medir su difractograma y, a partir de este, gracias a una colaboración establecida por el Dr. Luis Ortega con el Dr. Roberto Fernández del Centro Vasco de Materiales, Aplicaciones y Nanoestructuras se logró resolver su

estructura por el método mencionado en la sección experimental. En el **Anexo 10.8** se presenta el proceso de resolución estructural realizado por el Dr. Fernández.

En la **Figura 29** y en la **Tabla 20** se presentan el difractograma afinado por el método de Rietveld y los parámetros de celda del complejo $\text{Zn}(\text{7-OHcca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$, respectivamente.

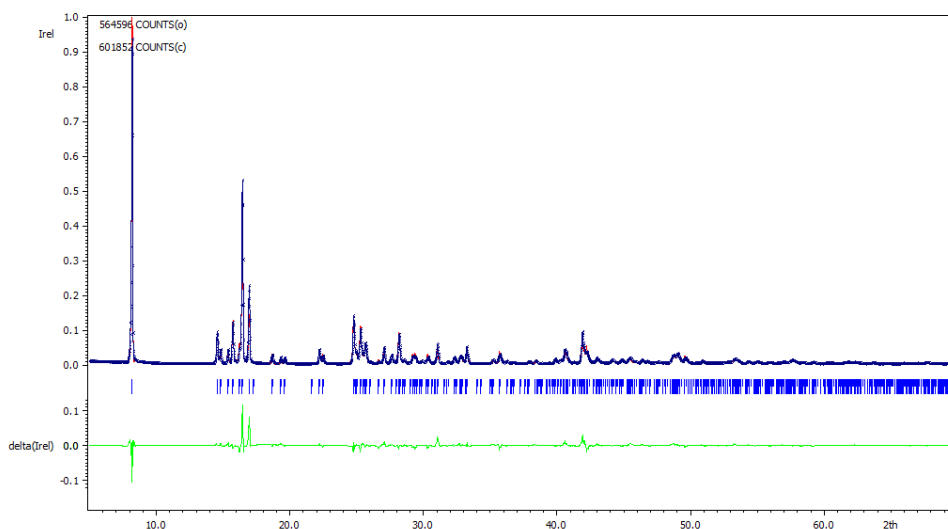


Figura 29: Difractograma del complejo diacuobis[7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).

Tabla 20: Parámetros de celda del complejo $\text{Zn}(\text{7-OHcca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$.

Parámetro	Complejo $\text{Zn}(\text{7-OHcca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ ($\text{C}_{20} \text{H}_{10} \text{O}_{12} \text{Zn}$)
Peso Molecular	507,7
Temperatura (K)	293
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	$P 2_1 / a$
a (Å)	7.0664 (3)
b (Å)	21.5326 (10)
c (Å)	6.6686 (4)
β (°)	116.407 (5)
V (Å ³)	908.81 (9)
Z	2

En la **Figura 30**, se presenta la estructura del complejo de cinc con el ligando 7-hidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico. En primer lugar, se observa que la coordinación del ligando cumarínico al centro metálico ocurre mediante dos átomos de oxígeno, uno del grupo carbonilo y el otro del grupo carboxilato, que actúa de modo monodentado. Asimismo, se determina la presencia de dos moléculas de agua unidas al cinc, completando así un octaedro irregular, dado que las longitudes de los enlaces Zn-O son ligeramente distintas (**Tabla 21**). La estructura molecular del complejo concuerda con la reportada para el complejo análogo de cinc con el ligando cumarínico no sustituido¹⁷, lo cual indica que es independiente de la funcionalización con el grupo hidroxilo.

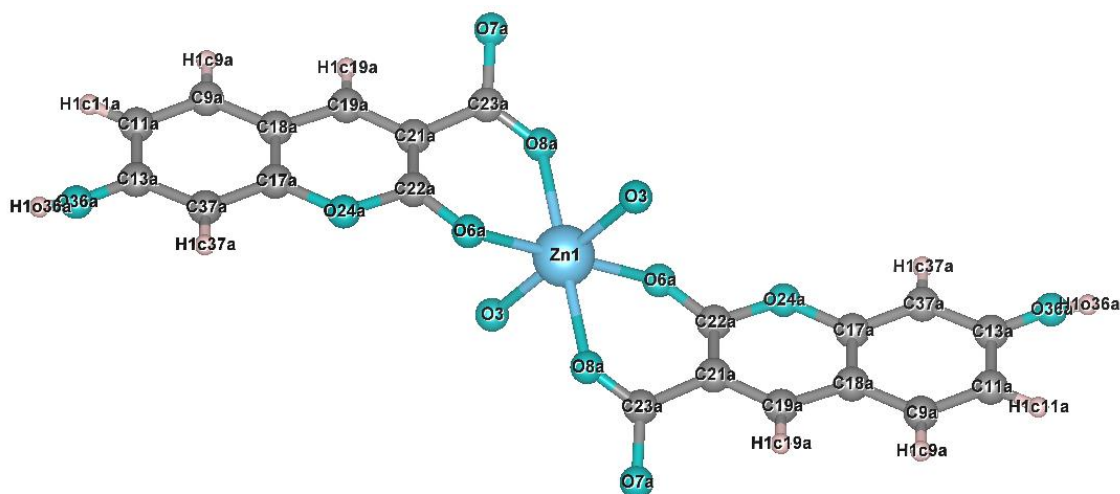


Figura 30: Estructura del complejo diacuobis[7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).

Tabla 21: Longitudes de enlace Zn-O para el compuesto $Zn(7-OHcca)_2(H_2O)_2$.

Longitudes de enlace Zn-O (Å)	
Zn1-O6a	2,094 (10)
Zn1-O8a	2,182 (12)
Zn1-O3	2,17 (2)

Con respecto a la estructura cristalina, se observa que los monómeros cinc-cumarina, $Zn(7-OHcca)_2(H_2O)_2$, se empaquetan en tres dimensiones a través de un sistema de enlaces de hidrógeno. En un primer nivel se establecen dichos enlaces entre las moléculas de agua coordinadas al cinc y los átomos de oxígeno libres de grupos carboxilatos de complejos metal-cumarina adyacentes como se puede observar en la **Figura 31**. De esta manera, cada

unidad monomérica se une a ocho unidades análogas metal-cumarina a su alrededor. Este patrón de enlaces de hidrógeno resulta idéntico al reportado para el complejo de referencia.

Asimismo, a pesar de que ambos compuestos $\text{Zn}(7\text{-OHcca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ y $\text{Zn}(\text{cca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ cristalizan en sistemas diferentes, monoclinico y triclinico, respectivamente, los parámetros de ambas celdas son muy similares como se observa en la **Tabla 22**.

Tabla 22: Comparación entre parámetros estructurales de los complejos $\text{Zn}(7\text{-OHcca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ y $\text{Zn}(\text{cca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$.

$\text{Zn}(7\text{-OHcca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ Monoclinico		$\text{Zn}(\text{cca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ Triclinico	
c	6,6686(4)	a	6,6113(13)
a	7,0664(3)	b	6,8404(14)
b/2	10,7663(5)	c	10,392(2)

Otra consecuencia del patrón de enlaces de hidrógeno antes descrito es que los centros metálicos de los complejos metal-cumarina quedan ordenados en un mismo plano, mientras que las cumarinas quedan orientadas hacia fuera del plano, originando una estructura supramolecular bidimensional. Esta disposición de los centros metálicos y las moléculas de cumarinas, observada tanto en el complejo 7-hidroxi sustituido como en el de referencia, hace que el ordenamiento entre cada par de capas supramoleculares adyacentes se asemeje en su estructura a una cremallera (**Figura 32**).

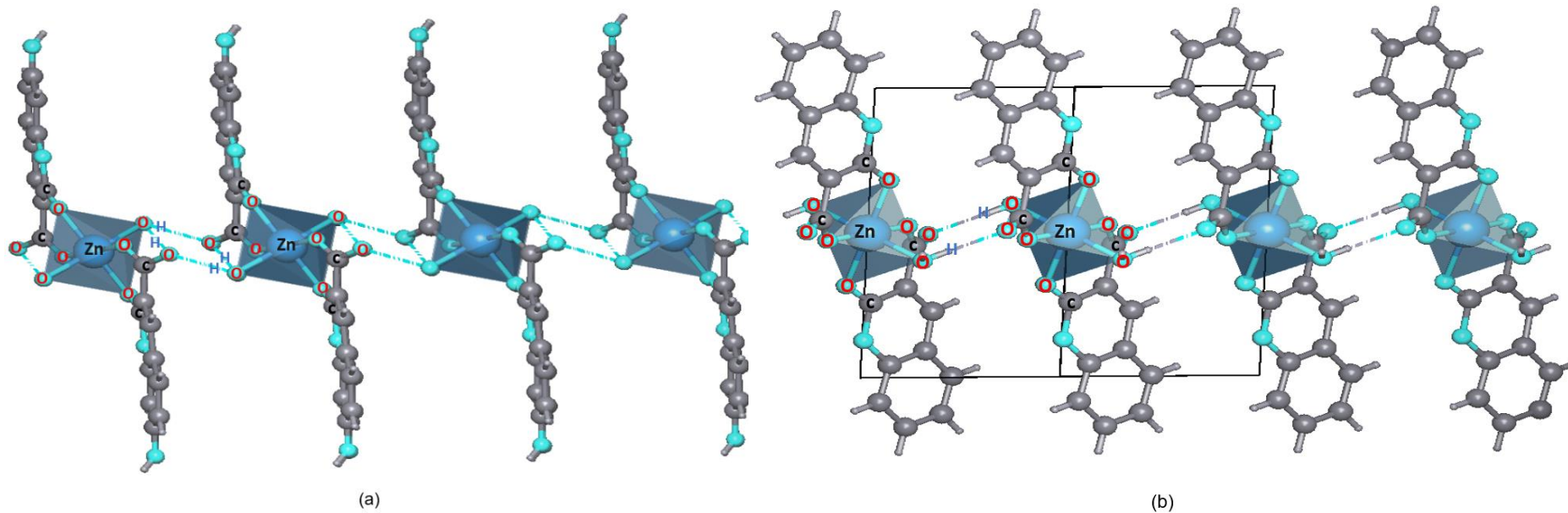


Figura 31: Patrón de enlaces de hidrógeno entre complejos metal-cumarina para los complejos $\text{Zn}(7\text{-OHcca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ (a) y $\text{Zn}(\text{cca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ (b) respectivamente.

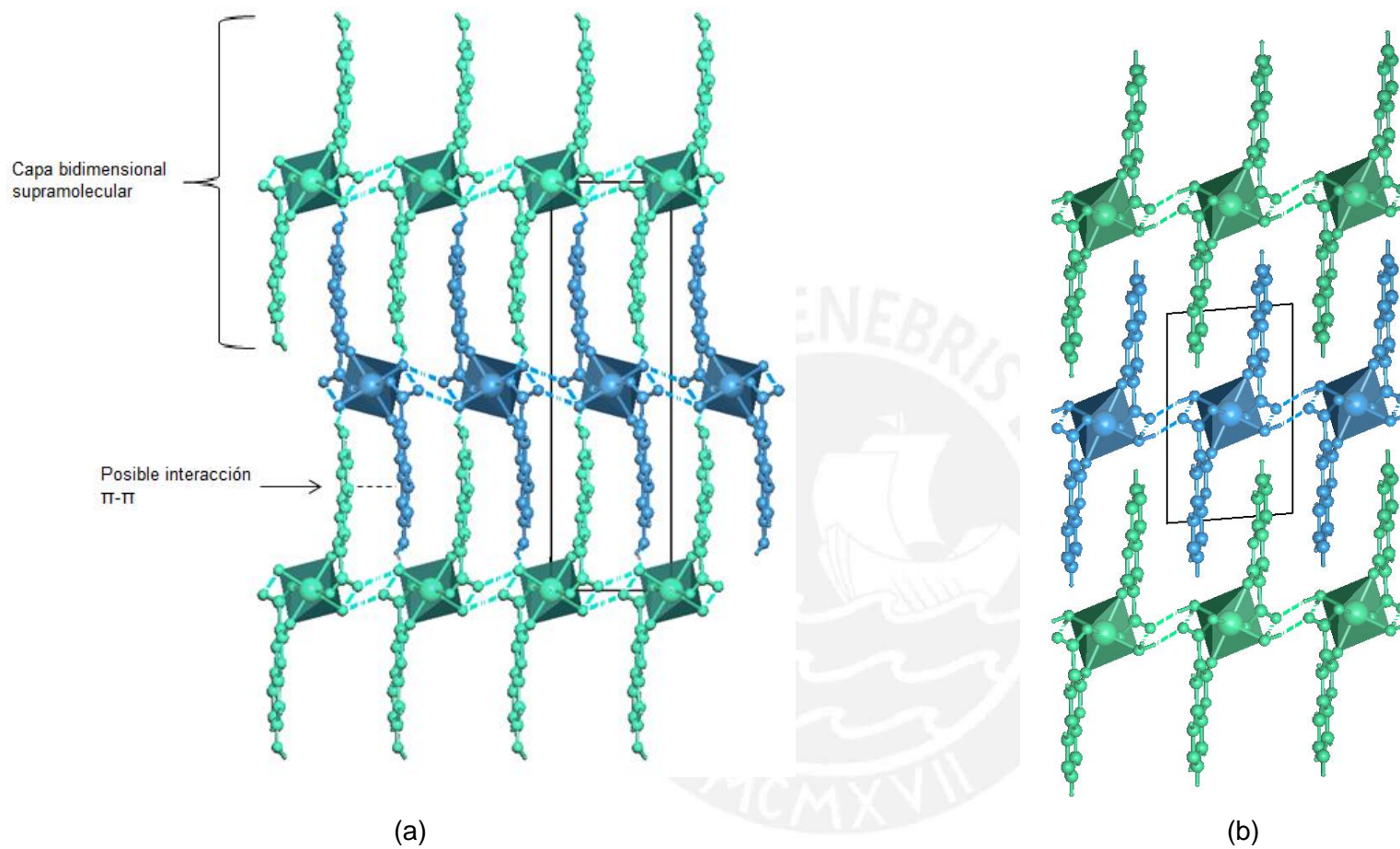


Figura 32: Estructura tipo cremallera para los complejos de $Zn(7-OHcca)_2(H_2O)_2$ (a) y $Zn(cca)_2(H_2O)_2$ (b) respectivamente.

La principal diferencia entre el compuesto $\text{Zn}(7\text{-OHcca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ y aquel de referencia, $\text{Zn}(\text{cca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$, radica en el apilamiento de las capas supramoleculares. Para este último, se observa que estas se entrelazan a lo largo de la dirección cristalográfica *c*, estableciendo un apilamiento ABABABA representado por capas verdes y azules en la **Figura 32**. No existen puentes de hidrógeno entre capas adyacentes; sin embargo, el apilamiento de las capas supramoleculares podría estar favorecido por interacciones π - π entre anillos cumarínicos enfrentados de capas adyacentes. Esta presunción se vería apoyada por la distancia observada entre ellas de aproximadamente 3,64 Å, teniendo en cuenta que aquella en el grafito es de 3,35 Å.⁴⁹

En el caso del complejo $\text{Zn}(7\text{-OHcca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ sintetizado en este trabajo, la introducción del grupo hidroxilo en la molécula de cumarina da lugar a un nuevo enlace de hidrógeno, representado como una línea punteada en la **Figura 33**, ausente en el análogo no sustituido. Este surge entre el sustituyente OH de una cumarina perteneciente a una de las capas supramoleculares y el átomo de oxígeno no coordinado del carboxilato de una cumarina de la capa adyacente.

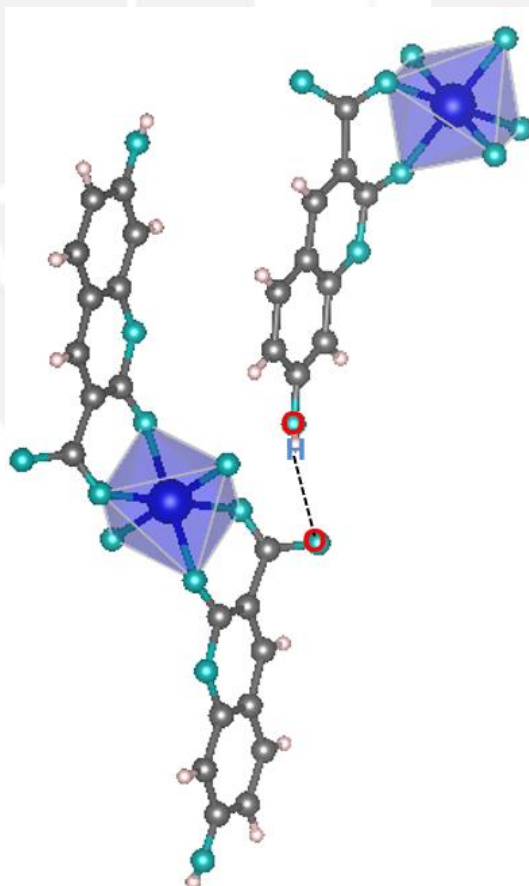


Figura 33: Nuevo enlace de hidrógeno observado en el complejo $\text{Zn}(7\text{-OHcca})_2(\text{H}_2\text{O})_2$.

Esta interacción altera ligeramente el empaquetamiento de dichas capas entre sí, de tal manera que aumenta la simetría del apilamiento, del sistema triclinico observado en el complejo de referencia al monoclinico observado en el nuevo complejo 7-hidroxi sustituido. Cabe mencionar, que en este último complejo también podrían presentarse interacciones π - π entre los anillos cumarínicos que se encuentran frente a frente, puesto que la distancia entre ellos es ligeramente menor (3,50 Å) a la observada en el complejo de referencia. Este acercamiento entre los anillos cumarínicos de los monómeros cumarina-cinc se ve probablemente favorecido por el nuevo puente de hidrógeno asociado a la presencia del grupo hidroxilo.



8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

8.1. Conclusiones

- a. Se han sintetizado cinco nuevos compuestos de coordinación de cinc de fórmula general $Zn(L)_2(H_2O)_2$ con los ligandos 7-hidroxi, 7,8-dihidroxi, 7-metoxi, 6-metoxi y 7-dietilamino-cumarina-3-ácido carboxílico, por métodos desarrollados durante la presente investigación y basados en una reacción de metátesis entre el cloruro de cinc y el ligando cumarínico correspondiente previamente desprotonado.
- b. Los complejos 7-hidroxi, 7,8-dihidroxi y 6-metoxi sustituidos fueron sintetizados en un medio acuoso, mientras que, para el 7-metoxi sustituido, se trabajó en un medio DMF:H₂O (1,5:1). En todos los casos resultó necesaria una elevación lenta del pH hasta un máximo de 5 usando NaOH_(ac). Para el complejo con el ligando 7-dietilamino-cumarina-3-ácido carboxílico, se empleó etanol como solvente y LiOH_(ac) como base.
- c. Los cinco complejos de cinc fueron obtenidos con rendimientos entre 54 a 90% y alta pureza, con excepción del complejo diacuobis[7-dietilamino-cumarina-3-carboxilato]cinc(II), aparentemente contaminado con hidróxido de cinc.
- d. La espectroscopía infrarroja permitió comprobar la desaparición de la intensa banda de absorción $\nu_{C=O}$ del grupo carboxílico presente en los ligandos y la aparición en su lugar de las bandas de estiramiento asimétrico y simétrico del grupo carboxilato en posiciones muy similares a las de sus respectivas sales de sodio. Asimismo, la banda correspondiente a la flexión del COH en el plano del ácido carboxílico, también está ausente. Por otro lado, se observa un fuerte desplazamiento del $\nu_{C=O}$ lactónico hacia menores frecuencia respecto a los correspondientes ligandos y sales de sodio. Este comportamiento indica la coordinación de ambos grupos, COO⁻ y C=O, al cinc.
- e. Se logró la asignación completa de todas las señales en los espectros ¹H-RMN, facilitada por comparación con los correspondientes ligandos y sales de sodio; en cambio, en caso de los ¹³C-RMN fue necesario utilizar una combinación de técnicas HSQC y HMBC-RMN para una asignación completa de los carbonos presentes en cada complejo.
- f. En los espectros ¹H-RMN de los complejos se observa una tendencia general muy clara relacionada con la coordinación de los ligandos cumarínicos al cinc. Se observa que las señales de los hidrógenos aromáticos en todos los complejos y sales están desplazadas

hacia campo alto con respecto a las correspondientes cumarinas, de tal manera que aquellas de los complejos se ubican en una posición intermedia entre la de los respectivos ligandos y sales. Este efecto es más pronunciado en caso del hidrógeno 4 del anillo cumarínico.

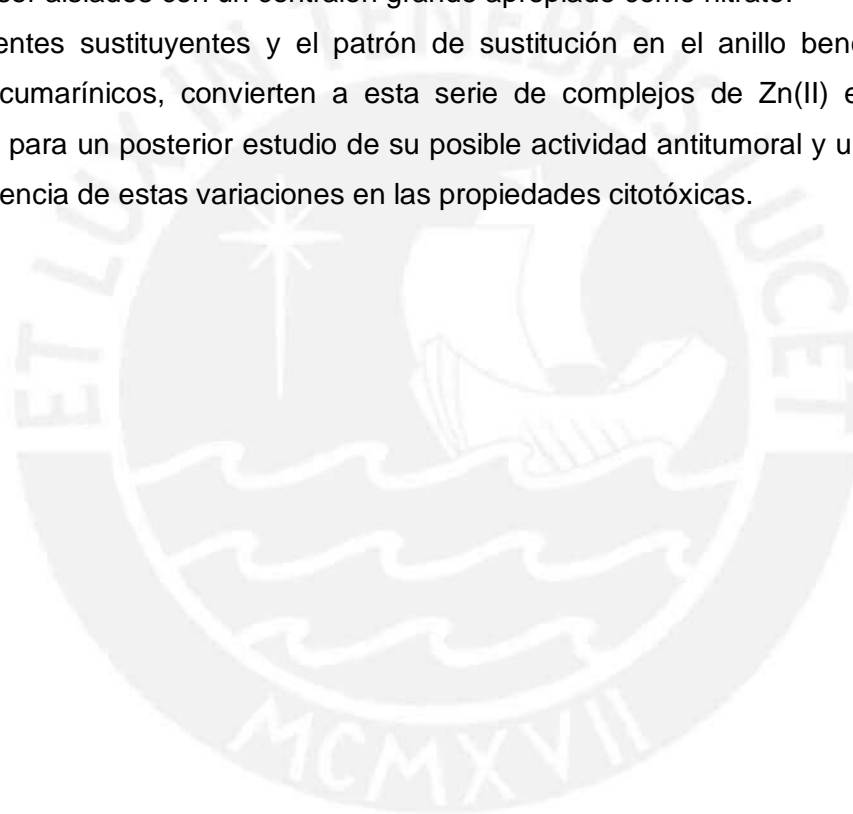
- g. En el análisis por termogravimetría, realizado para todos los complejos con la única excepción del diacuobis[7-dietilamino-cumarina-3-carboxilato]cinc(II), se aprecian tres pérdidas de peso características: la primera corresponde a dos moléculas de agua de coordinación, mientras que las otras dos se podrían relacionar con la pérdida secuencial de dos ligandos.
- h. Para la determinación del contenido de cinc de los nuevos complejos se aplicó la técnica de espectrometría de emisión óptica de plasma inductivamente acoplado (ICP). Esto permitió comprobar la alta pureza de los complejos sintetizados, con la única excepción del complejo 7-dietilamino sustituido cuyo contenido de cinc resultó demasiado elevado, lo cual se ha atribuido a una contaminación con hidróxido de cinc coprecipitado.
- i. Los ensayos de cristalización por distintas técnicas realizados solo permitieron obtener cristales demasiado pequeños y/o irregulares en el caso de los complejos con ligandos metoxi sustituidos. No se pudieron obtener monocristales apropiados para estudios de difracción de rayos-X de monocristal; no obstante, se logró determinar la estructura molecular y cristalina del complejo diacuobis[7-hidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II) por la técnica de difracción de rayos-X de polvo. Los resultados son consistentes con la información estructural obtenida a partir de las técnicas espectroscópicas y analíticas. Se comprobó así, de modo concluyente, que los ligandos cumarina-3-ácido carboxílico sustituidos coordinan al cinc vía el grupo carbonilo y uno de los oxígenos del grupo carboxilato, completando la esfera de coordinación con dos moléculas de agua. Esta estructura molecular es análoga a la que se había reportado para el complejo de referencia y discrepa de la propuesta por Creaven y colaboradores basada en una modelación teórica de los espectros IR, ^1H -RMN y UV-Vis, quienes proponen una coordinación bidentada por el grupo carboxilato exclusivamente.
- j. La estructura cristalina resuelta del complejo $\text{Zn}(7\text{-OHcCa})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ evidencia una unión extendida entre las unidades monoméricas individuales, análoga a la establecida para el complejo de referencia, la que tiene lugar mediante un sistema de enlaces de hidrógeno que involucra a los átomos de oxígeno no coordinados del grupo carboxilato y las moléculas de agua axiales de cada unidad. Esto conduce a la formación de capas

supramoleculares con un ordenamiento tipo cremallera, que en caso del complejo 7-hidroxi sustituido, se ve reforzado por interacciones adicionales de enlaces de hidrógeno entre dichas capas.

- k. La inesperada baja solubilidad de los complejos hidroxi sustituidos, extrema en el caso del 7,8-dihidroxi, se debería a la mayor estabilidad de su red cristalina introducida por los nuevos enlaces de hidrógeno entre las capas supramoleculares. En contraste, los complejos metoxi sustituidos presentan una mayor solubilidad en DMSO.
- l. Se logró establecer un patrón característico de comportamiento espectroscópico en el IR y RMN, común a todos los complejos de cinc aislados, en relación a sus correspondientes ligandos y sales. Esto nos permite proponer que todos ellos comparten la misma estructura molecular observada para el complejo de referencia y el 7-hidroxi sustituido.
- m. Los ligandos 7-hidroxi, 7,8-dihidroxi, 7-metoxi, 6-metoxi y 7-dietilamino-cumarina-3-ácido carboxílico se sintetizaron con buenos rendimientos y alta pureza por una adaptación del método reportado por Lam y colaboradores, basado en una condensación de Knoevenagel entre la 2,2-dimetil-1,3-dioxano-4,6-diona y el salicilaldehído sustituido correspondiente, para cada ligando en particular.
- n. Los cinco ligandos fueron caracterizados mediante espectroscopía infrarroja y resonancia magnética nuclear. Por esta última, mediante una combinación de técnicas bidimensionales (^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HMBC, ^1H - ^{13}C ADEQUATE), se logró una asignación completa de todas las señales de los espectros ^{13}C -RMN, lo que constituye un aporte a una caracterización más completa de estos compuestos.
- o. Las sales de sodio de los ligandos fueron sintetizadas mediante una reacción de neutralización con hidróxido de sodio en medio etanólico para los ligandos 7-hidroxi, 7-metoxi y 6-metoxi sustituidos, mientras que para los restantes, se trabajó en DMF. En todos los casos se llegó hasta pH 7. Estas se caracterizaron por FT-IR y ^1H -RMN.

8.2. Recomendaciones

- a. Los problemas de solubilidad observados en los complejos sintetizados no permitieron la obtención de monocristales para difracción de rayos-X; no obstante, se encontró una alternativa exitosa en el análisis cristalográfico por la técnica de difracción de rayos-X de polvo. En una continuación de esta investigación se recomendaría aplicar esta última técnica al resto de los complejos.
- b. Otra recomendación interesante que permitiría superar el problema de insolubilidad de esta familia de complejos, sería la síntesis de complejos mixtos de cinc con cumarina-3-ácido carboxílico y 1,10-fenantrolina, de manera que resulten complejos cargados que pudieran ser aislados con un contraion grande apropiado como nitrato.
- c. Los diferentes sustituyentes y el patrón de sustitución en el anillo bencénico de los ligandos cumarínicos, convierten a esta serie de complejos de Zn(II) en candidatos atractivos para un posterior estudio de su posible actividad antitumoral y una evaluación de la influencia de estas variaciones en las propiedades citotóxicas.



9. BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization. Cancer, Fact Sheet No. 297, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/> (Consulta: 16 de septiembre de 2016).
2. Medicals News Today. Cancer: Facts, Causes, Symptoms and Research, <http://www.medicalnewstoday.com/info/cancer-oncology> (Consulta: 16 de septiembre de 2016).
3. Wang, D.; Lippard, S. Cellular Processing of Platinum Anticancer Drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2005, 4, 307-316.
4. Shen, D.; Pouliot, L.; Hall, M.; Gottesman, M. Cisplatin Resistance: A Cellular Self-Defense Mechanism Resulting from Multiple Epigenetic and Genetic Changes. *Pharmacology Reviews*, 2012, 64, 706-721.
5. Frezza, M.; Hindo, S.; Chen, Di.; Davenport, A.; Schmitt, S.; Tomco, D.; Dou, Q. Novel Metals and Metal Complexes as Platforms for Cancer Therapy. *Current Pharmaceutical Design*, 2010, 16, 1813-1825.
6. Plum, L.; Rink, L.; Haase, H. The Essential Toxin: Impact of Zinc on Human Health. *International Journal of Environment Research and Public Health*, 2010, 7, 1342-1365
7. Ho, E. Zinc deficiency, DNA damage and cancer risk. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2004, 15, 572-578.
8. Stanajkovic, T.; Kovala-Demertzi, D.; Primikyri, A.; Garcia-Santos, I.; Castineiras, A.; Juranic, Z.; Demertzis, M. Zinc(II) complexes of 2-acetyl pyridine 1-(4-fluorophenyl)-piperazinyl thiosemicarbazone: Synthesis, spectroscopic study and crystal structures- Potential anticancer drugs. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2010, 104, 467-476.
9. Nagy, E.; Sitran, S.; Montopoli, M.; Favaro, M.; Marchio, L.; Caparrotta, L.; Fregona, D. Zinc(II) complexes with dithiocarbamate derivatives: Structural characterization and biological assays on cancerous cell lines. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2012, 117, 131-139.
10. Srivastava, G.; Matta, A.; Fu, G.; Somasundaran, R.; Datti, A.; Walfish, P.; Ralhan, R. Anticancer activity of pyrithione zinc in oral cancer cells identified in small molecule screens and xenograft model: Implications of oral cancer therapy. *Molecular Oncology*, 2015, 9, 1720-1735.
11. Emami, S.; Dadashpour, S. Current developments of coumarin-based anti-cancer agents in medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, 102, 611-630.

12. Kostova, I.; Grigorov, P.; Balkansky, S.; Stefanova, T. Synthesis, characterization and cytotoxicity of new Ho(III) and Er(III) complexes. *Indian Journal of Biotechnology*, 2011, 10, 387-394.
13. Kostova, I.; Momekov, G.; Stancheva, P.; New Samarium(III), Gadolinium(III) and Dysprosium(III) Complexes of Coumarin-3-carboxylic Acid as Antiproliferative Agents. *Metal-Based drugs*, 2007, Article ID 15925.
14. Kostova, I.; Trendafilova, N.; Cîntă Pînzaru, S.; Kiefer, W.; Momekov, G. Spectroscopic evidence of La(III) complex of coumarin-3-carboxylic acid with cytotoxic activity. *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, 2007, 9, 532-538.
15. Georgieva, I.; Trendafilova, N.; Kiefer, W.; Rastogi, V.; Kostova, I. Vibrational and theoretical study of coumarin-3-carboxylic acid binding mode in Ce(III) and Nd(III) complexes. *Vibrational Spectroscopy*, 2007, 44, 78-88.
16. Creaven, B.; Egan, D.; Kavanagh, K.; McCann, M.; Noble, A.; Thati, B.; Walsh M. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of a series of substituted coumarin-3-carboxylatosilver(I) complexes. *Inorganica Chimica Acta*, 2006, 3976-3984.
17. Cui, Y.; Gao, Q.; Wang, H.; Xie, Y. Diaquabis(2-oxo-2H-chromene-3-carboxylato)zinc(II). *Acta Crystallographica Section E*, 67, 2011, m69.
18. Corrie, P. Cytotoxic Chemotherapy: Clinical Aspects. *Medicine*, 2008, 36, 24-28.
19. Dasari, S.; Tchounwou, P. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *European Journal of Pharmacology*, 2014, 740, 364-378.
20. Robso, A.D. Zinc in Soils and Plants, Kluwer Academic Publishers, 1st edition, 1993, Australia, pp. 1-4
21. Holleman, A.F.; Wiberg, E. Inorganic Chemistry. Academic Press, 34th edition, 2001, USA, pp. 1290.
22. Jansen, J.; Karges, W.; Rink, L. Zinc and diabetes-clinical links and molecular mechanisms. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2009, 20, 399-417.
23. Chasapis, C.; Loutsidou, A.; Spiliopoulou, C.; Stefanidou, M. Zinc and human health: an update. *Archives of Toxicology*, 2012, 86, 521-534.
24. Dhawan, D.K.; Chadha, V. Zinc: A promising agent in dietary chemoprevention of cancer. *Indian Journal of Medical Research*, 2010, 132, 676-682.
25. Gelbard, A. Zinc in Cancer Therapy. *American Journal of Food and Nutrition*, 2016, 4, 112-114.
26. Prasad, A.; Beck, F.; Snell, D. Zinc in Cancer Prevention. *Nutrition and Cancer*, 2009, 61, 879-887.

27. Krizkova, S.; Ryvolova, M.; Hrabeta, J.; Adam, V.; Stiborova, M.; Eckschlager, T.; Kizek, R. Metallothioneins and zinc in cancer diagnosis and therapy. *Drug Metabolism Reviews*, 2012, 44, 287-301.
28. Singh, M.; Kumar, D.; Singh, G.; Sharma, D.; Swami, G. Natural minerals and Cancer. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2012, 04, 158-165.
29. Ugolkov, A. Therapeutic treatment of human cancer using simple salts of zinc. U.S. Patent 20110117210, Mayo 19, 2011.
30. Mjos, K.; Orvig, C. Metallodrugs in Medicinal Inorganic Chemistry. *Chemical Reviews*, 2014, 114, 4540-4563.
31. Kong Wai, T.; Hoi Ling, S.; Fei Shen, L.; Shiau-Chuen, C.; Chew Hee, Ng; Kong Soo, K.; Mohd Rais, M.; Seik Weng Ng; Mohd Jamil, M. Towards a selective cytotoxic agent for prostate cancer: Interaction of zinc complexes of polyhydroxybenzaldehyde thiosemicarbazones with topoisomerase I. *Polyhedron*, 2012, 38, 275-284.
32. Tu, L.; Pi, J.; Jin, H.; Cai, J.; Deng, S. Synthesis, characterization and anticancer activity of kaempferol-zinc (II) complex. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2016.
33. K. Aslam, M.K. Khosa, N. Jahan, S. Nosheen. Short communication: synthesis and applications of coumarin. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2010, 23 449-454.
34. Kostova. Synthetic and Natural Coumarins as Cytotoxic Agents. *Current Medical Chemistry – Anti cancer Agents*, 2005, 5, 29-46.
35. Thakur, A.; Singla, R.; Jaitak, V. Coumarins as anticancer agents: A review on synthetic strategies, mechanism of action and SAR studies. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, 101, 476-495.
36. Grazul, M.; Budzisz. E. Biological activity of metal ions complexes of chromones, coumarins and flavones. *Coordination Chemistry Reviews*, 2009, 253, 2588-2598.
37. Deacon G.; Phillips, R. Relationships between the carbon-oxygen stretching frequencies of carboxylate complexes and the type of carboxylate coordination. *Coordination Chemistry Reviews*, 1980, 33, 227-250.
38. Creaven, B.S.; Dvereux, M.; Georgieva, I.; Karcz, D.; McCann, M.; Trendafilova, N.; Walsh, M. Molecular structure and spectroscopic studies on novel complexes of coumarin-3-carboxylic acid with Ni(II), Co(II), Zn(II) and Mn(II) ions based of density functional theory. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2011, 84, 275-285.

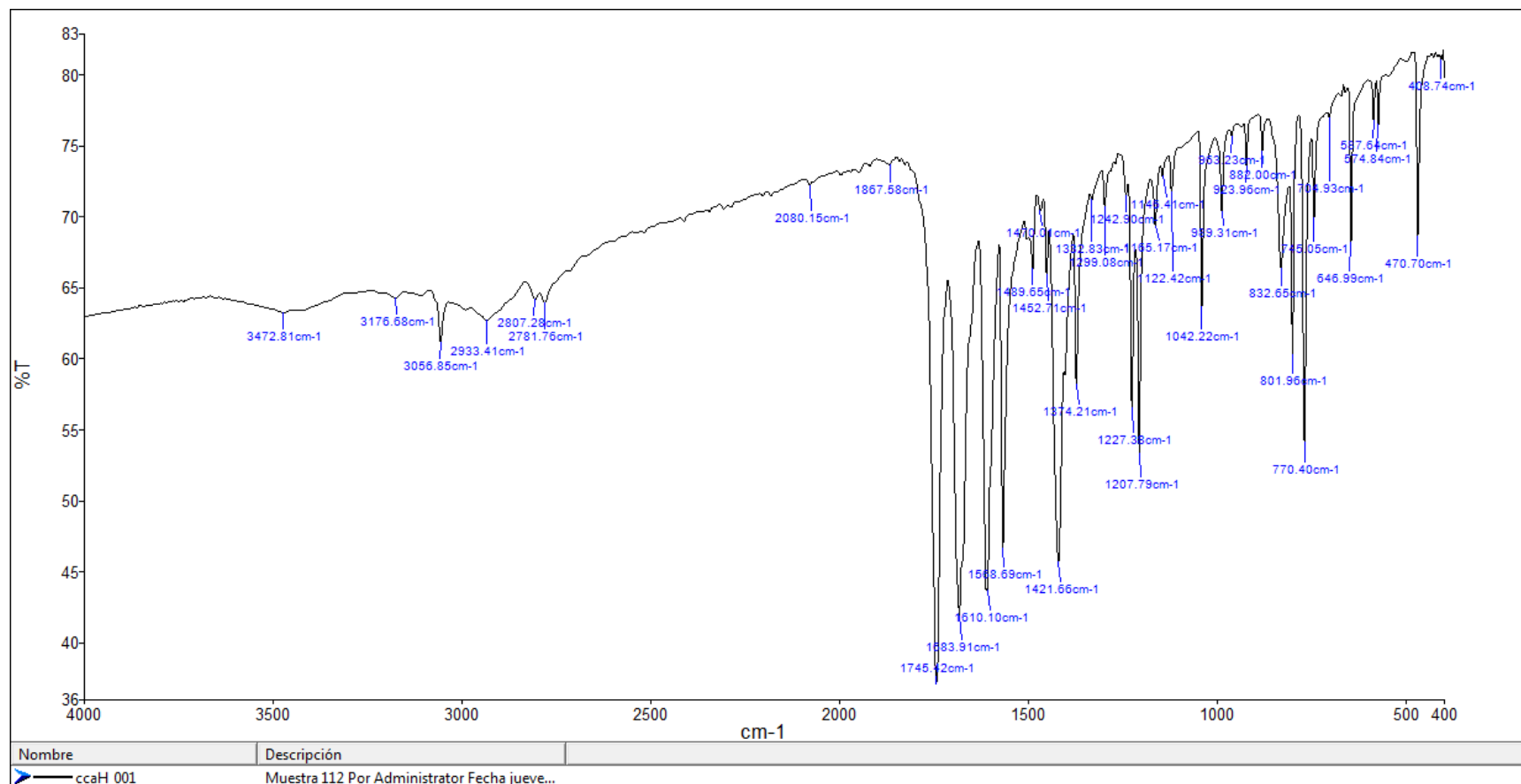
39. Karaliota, A.; Kretsi, O.; Tzougraki, C. Synthesis and characterization of a binuclear coumarin-3-carboxylate copper(II) complex. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2001, 84, 33-37.
40. Cui, Y.; Gao, Q.; Wang, H.; Xie, Y. Diaquabis(2-oxo-2H-chromene-3-carboxylato- κ^2O^2, O^3)cadmiun(II). *Acta Crystallographica Section E*, 67, 2011, m126.
41. Cui, Y.; Gao, Q.; Wang, H.; Xie, Y. Diaquabis(2-oxo-2H-chromene-3-carboxylato- κ^2O^2, O^3)manganese(II). *Acta Crystallographica Section E*, 67, 2011, m727.
42. Cui, Y.; Gao, Q.; Wang, H.; Xie, Y. Diaquabis(2-oxo-2H-chromene-3-carboxylato)copper(II). *Acta Crystallographica Section E*, 67, 2011, m782.
43. Song, A.; Wang, X.; Lam, K.S. A convenient synthesis of coumarin-3-carboxylic acids via Knoevenagel condensation of Meldrum's acid with ortho-hydroxyaryl aldehydes or ketones. *Tetrahedron Letters*, 2003, 44, 1755-1758.
44. Salas, P. "Síntesis de tres complejos oxovanadio (IV) de posible actividad insulino – mimética con ligandos orgánicos de la familia de la cumaria-3-ácido carboxílico". Tesis para optar el grado de Licenciado en Química. Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima (Perú) 2006.
45. Deshmuk, M. N.; Burtud, R.; Baldino, C.; Chan, P.C.M.; Lui, J. A practical and environmentally friendly preparation of 3-carboxycoumarins. *Synthetic Communications*, 2003, 33, 3299-3303.
46. Kawata, H.; Ichikawa, S.; Kumagai, T.; Niizuma, S. A new type of photodimerization reaction for coumarin derivatives. *Tetrahedron Letters*, 2002, 43, 5161-5163.
47. Kumar, D.; Kumar, S.; Makrandi, J.K. Aqueous-mediated green synthesis of 3-carboxycoumarins using grinding technique. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 2015, 8, 21-25.
48. U.S. EPA. Method 200.7: Determination of Metals and Trace Elements in Water and Wastes by Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry, Revision 4.4. U.S. Environmental Protection Agency, 1994.
49. Holleman, A.F.; Wiberg, E. *Inorganic Chemistry*. Academic Press, 34th edition, 2001, USA, pp. 780.

10. ANEXOS

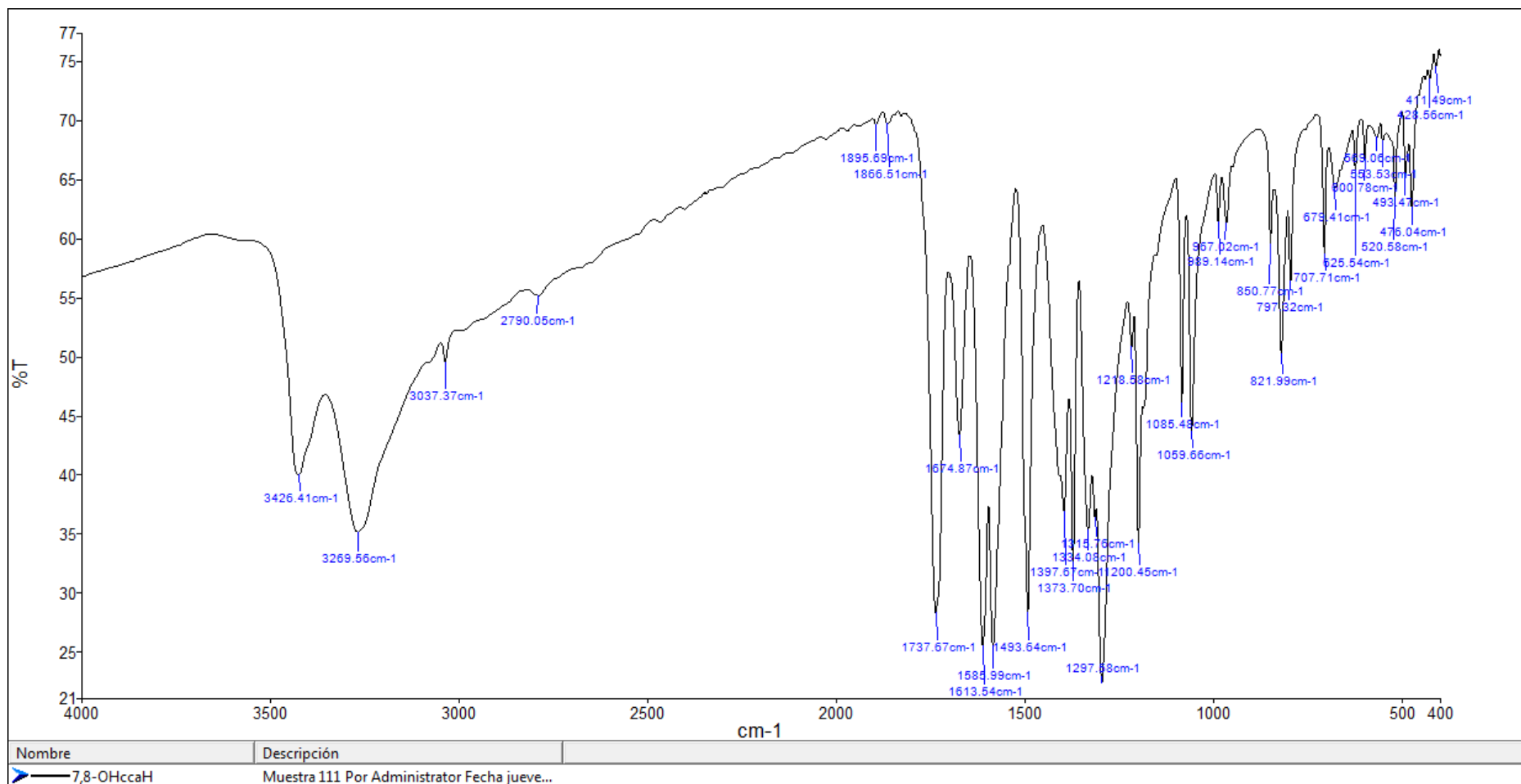


ANEXO 10.1

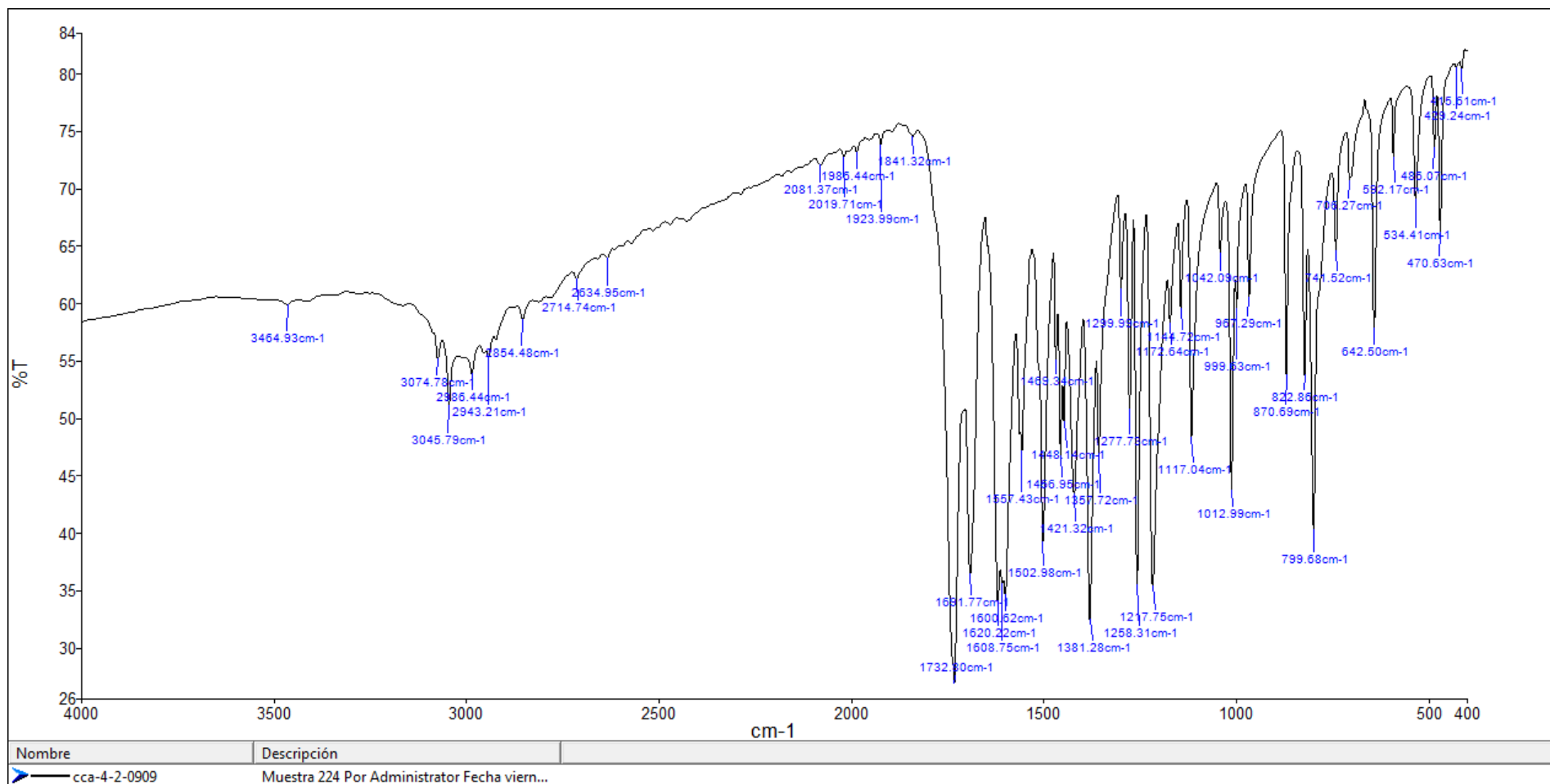
ESPECTROS INFRARROJOS DE LIGANDOS CUMARÍNICOS



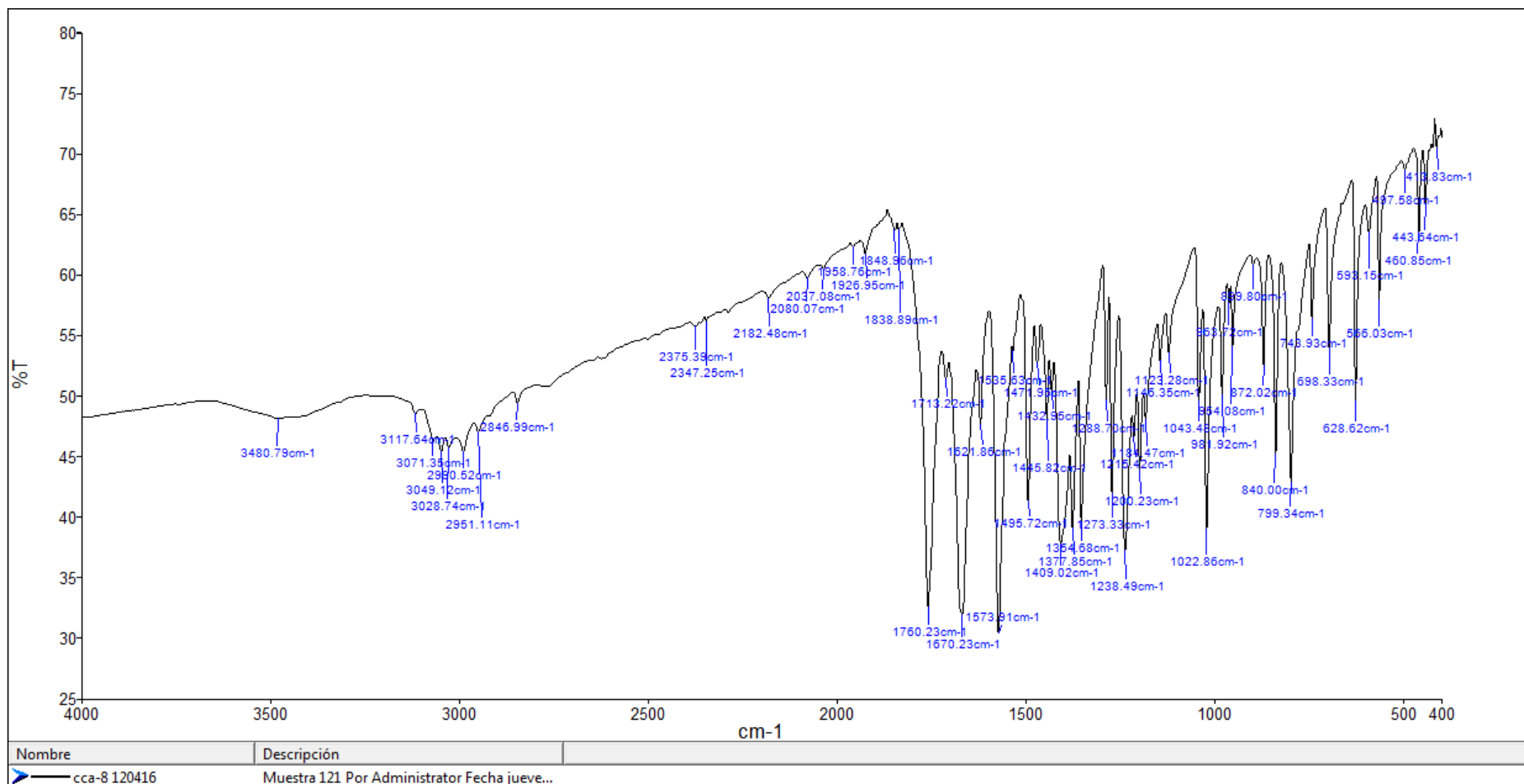
10.1.1. Espectro IR de coumarina-3-ácido carboxílico.



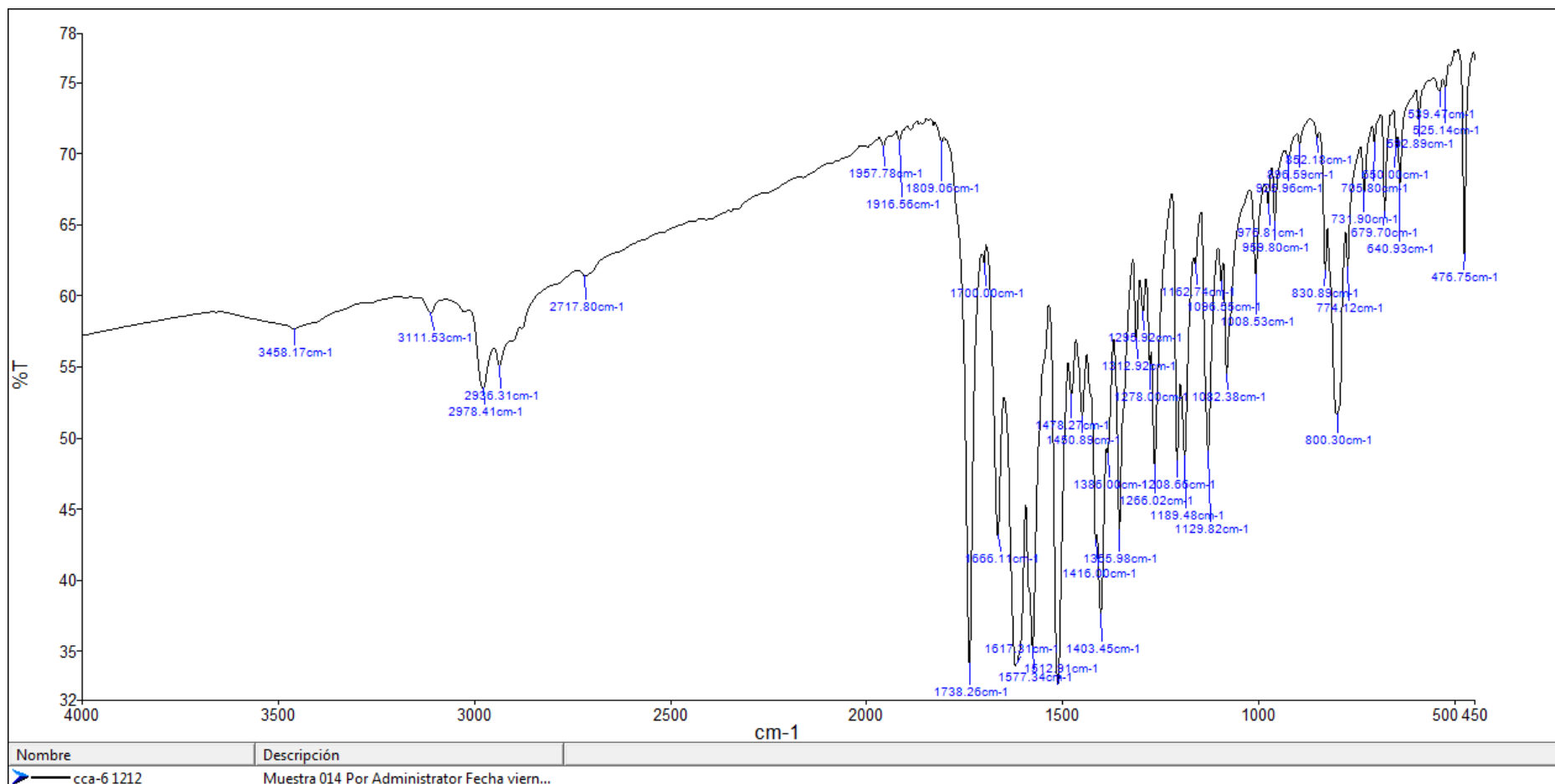
10.1.2. Espectro IR de 7,8-dihidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico.



10.1.3. Espectro IR de 7-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico.



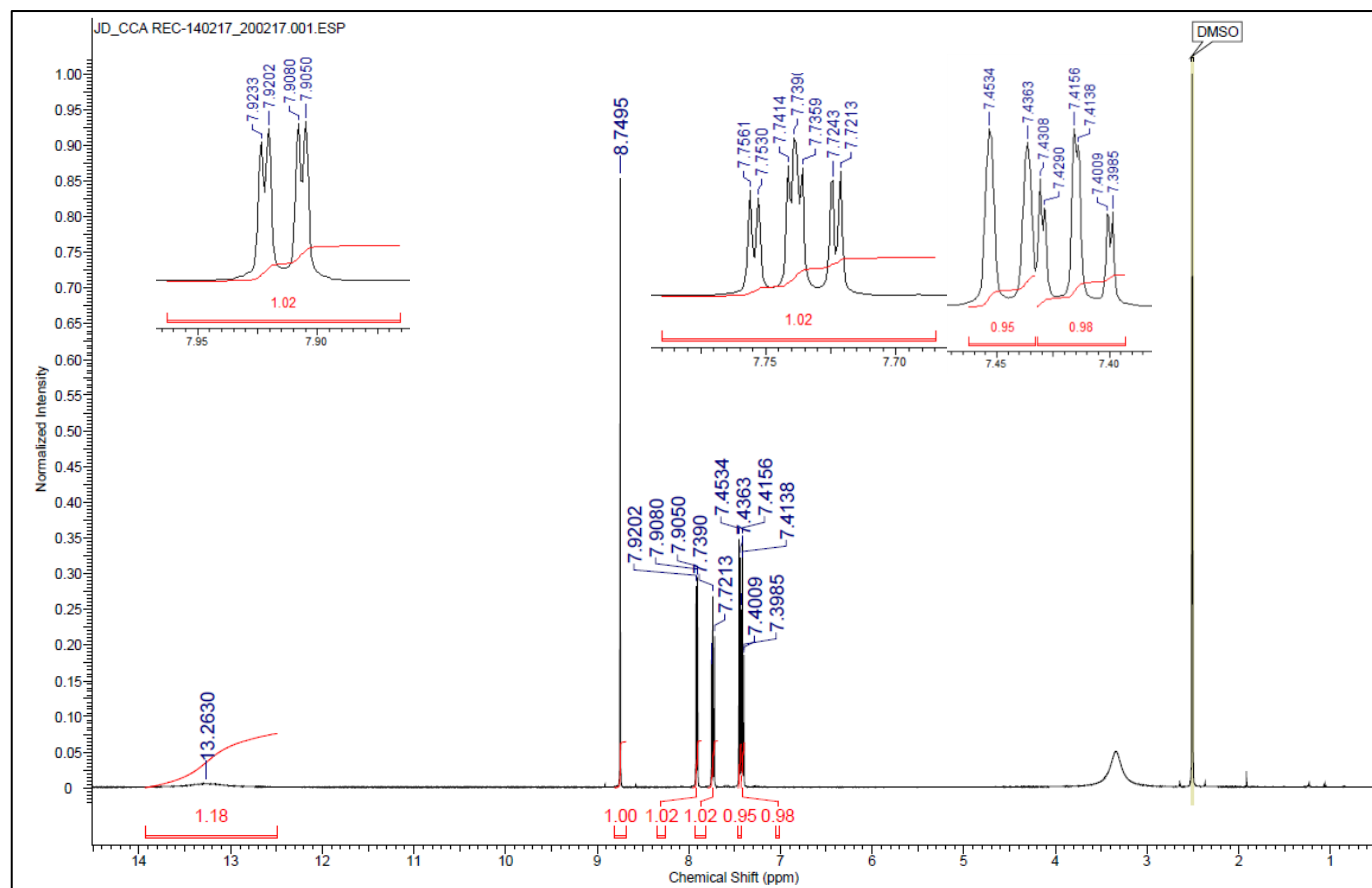
10.1.4. Espectro IR de 6-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico.



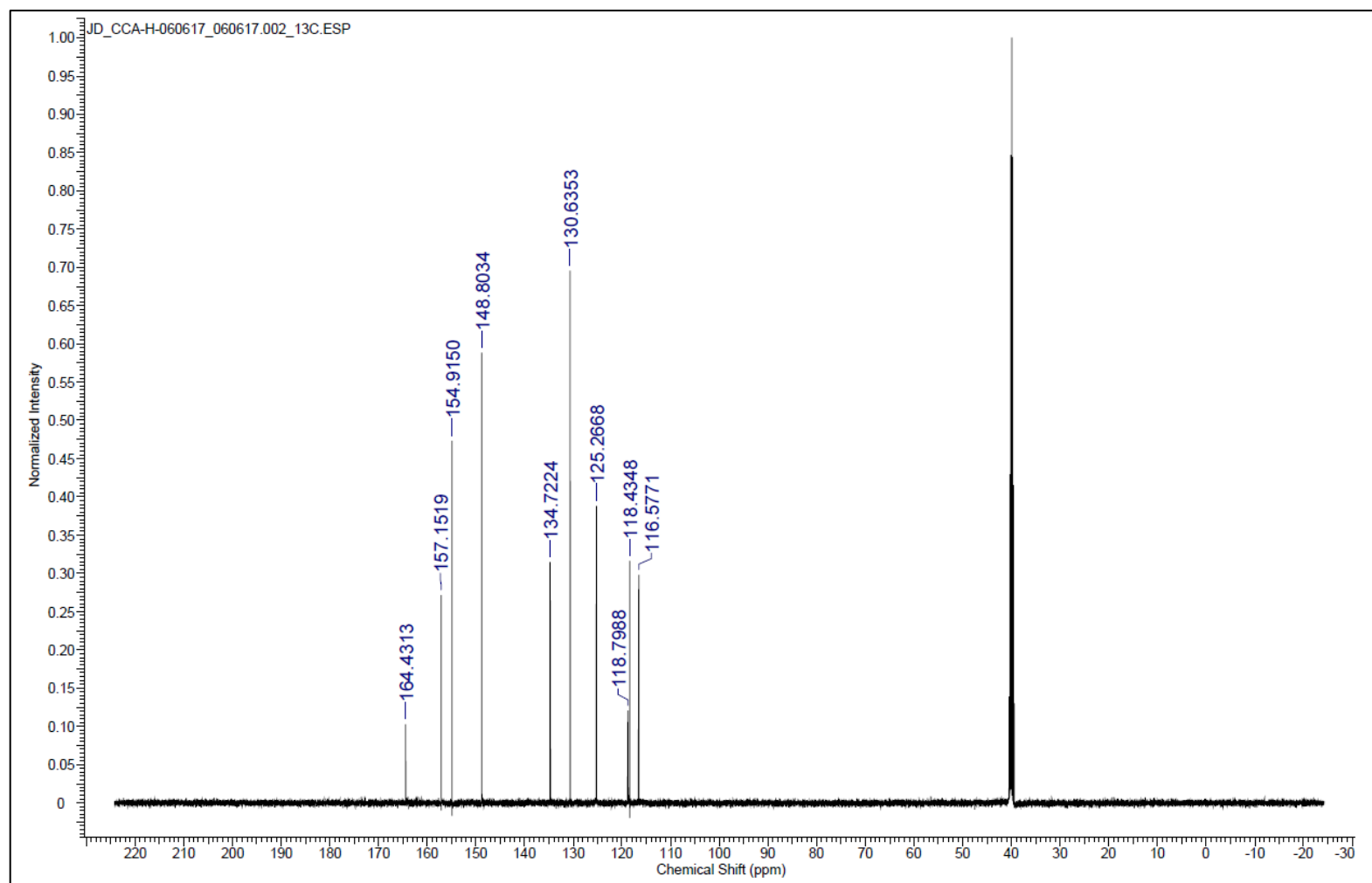
10.1.5. Espectro IR de 7-diethylamino-coumarin-3-ácido carboxílico.

ANEXO 10.2

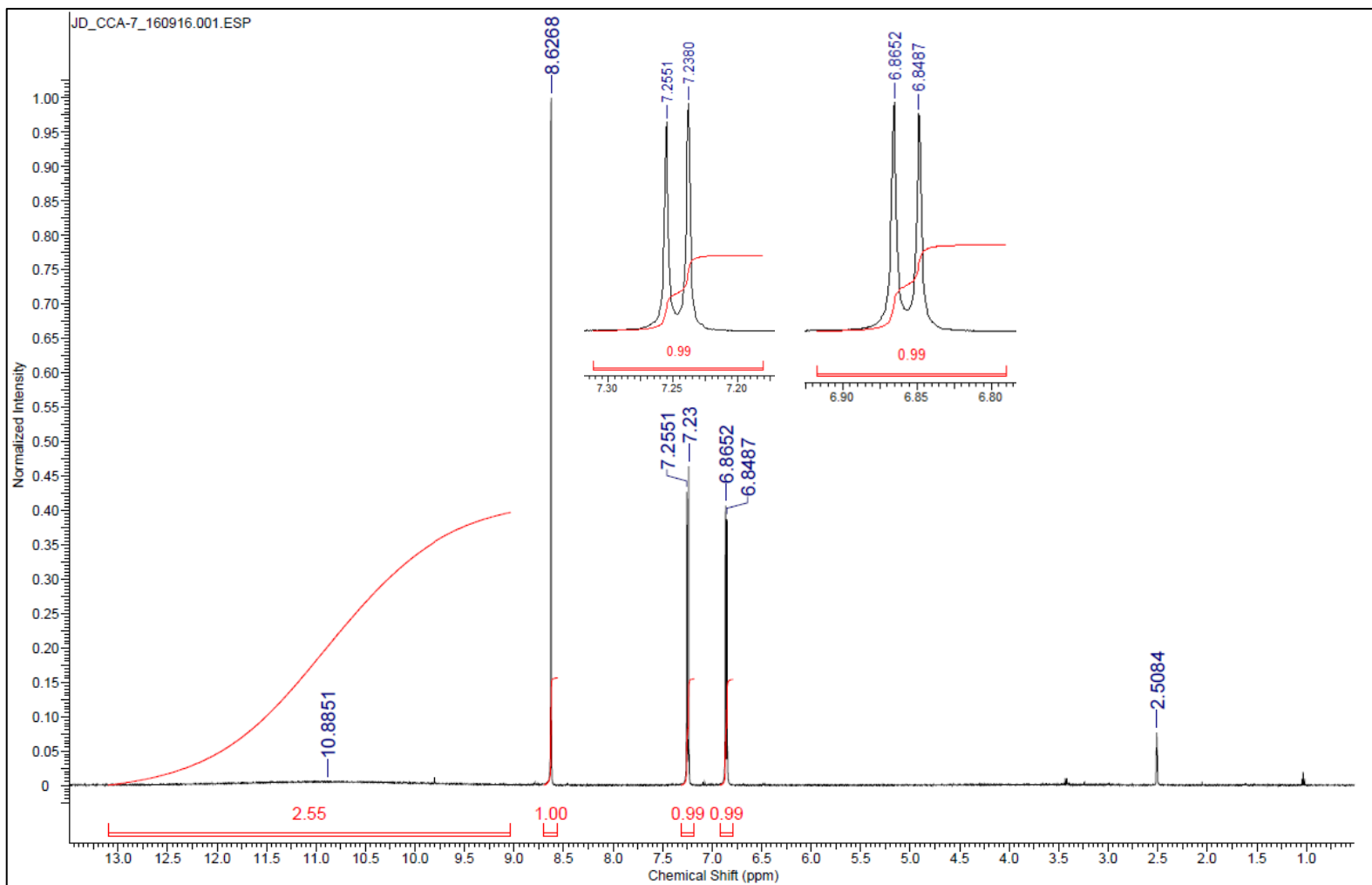
ESPECTROS DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE LOS LIGANDOS CUMARÍNICOS



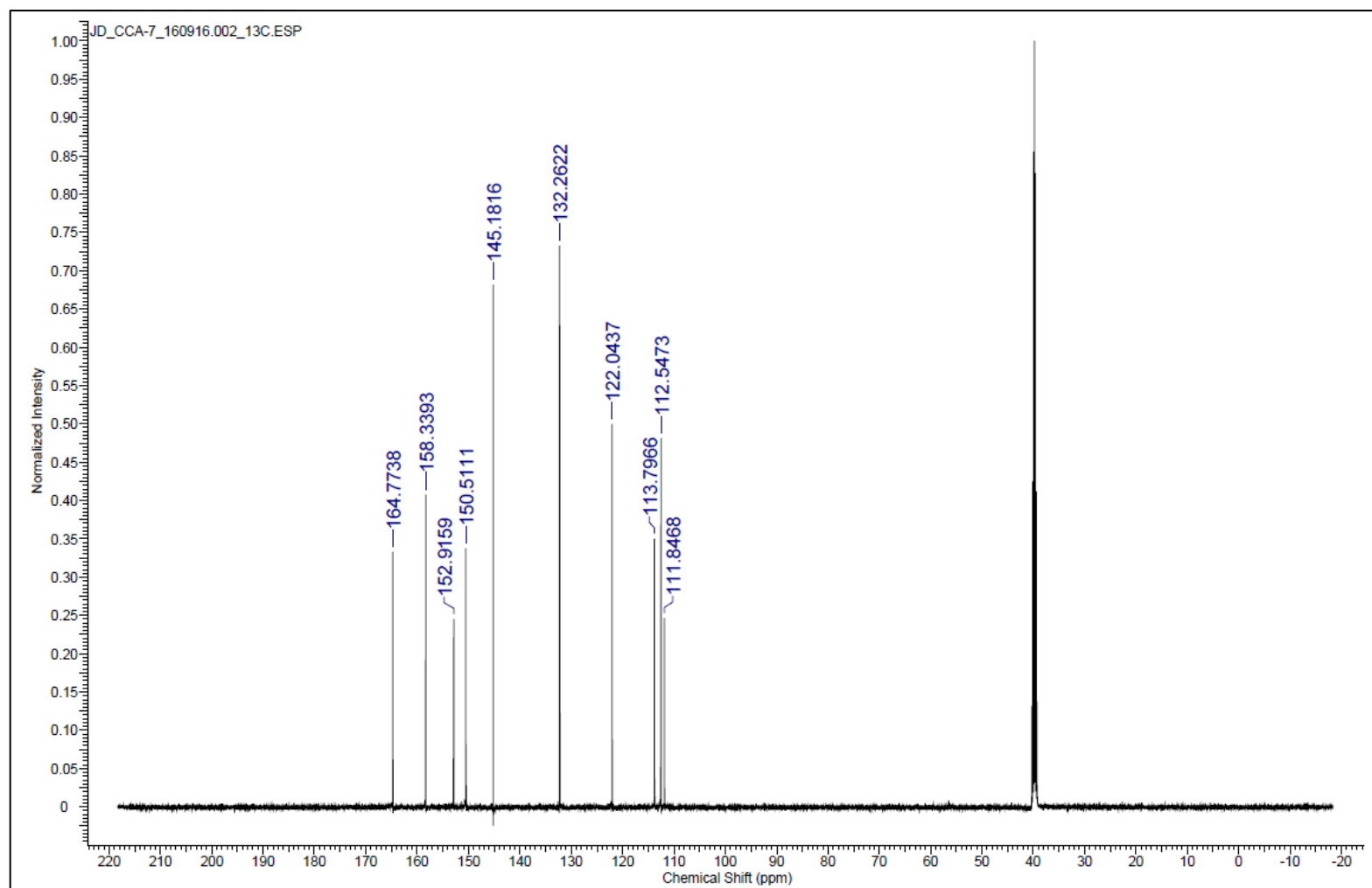
10.2.1. Espectro ^1H -RMN de coumarina-3-ácido carboxílico.



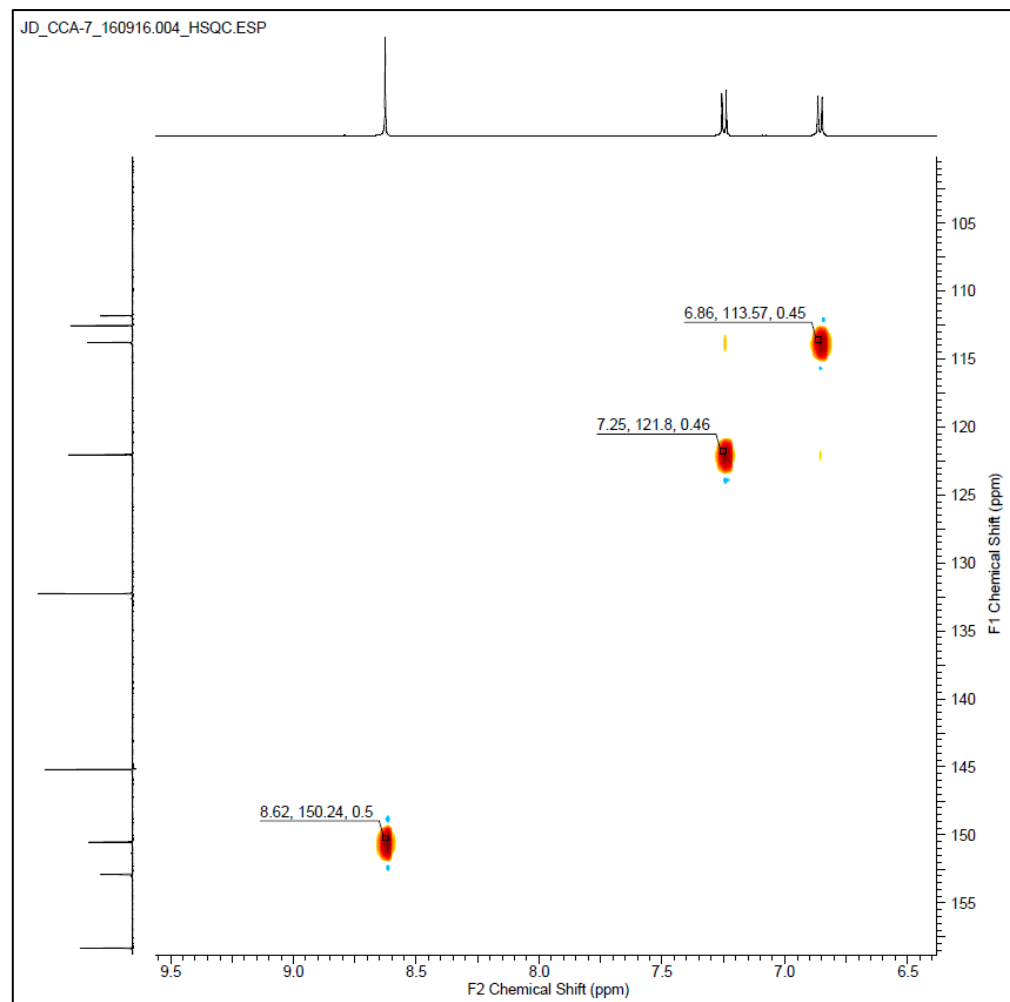
10.2.2. Espectro ^{13}C -RMN de cumarina-3-ácido carboxílico.



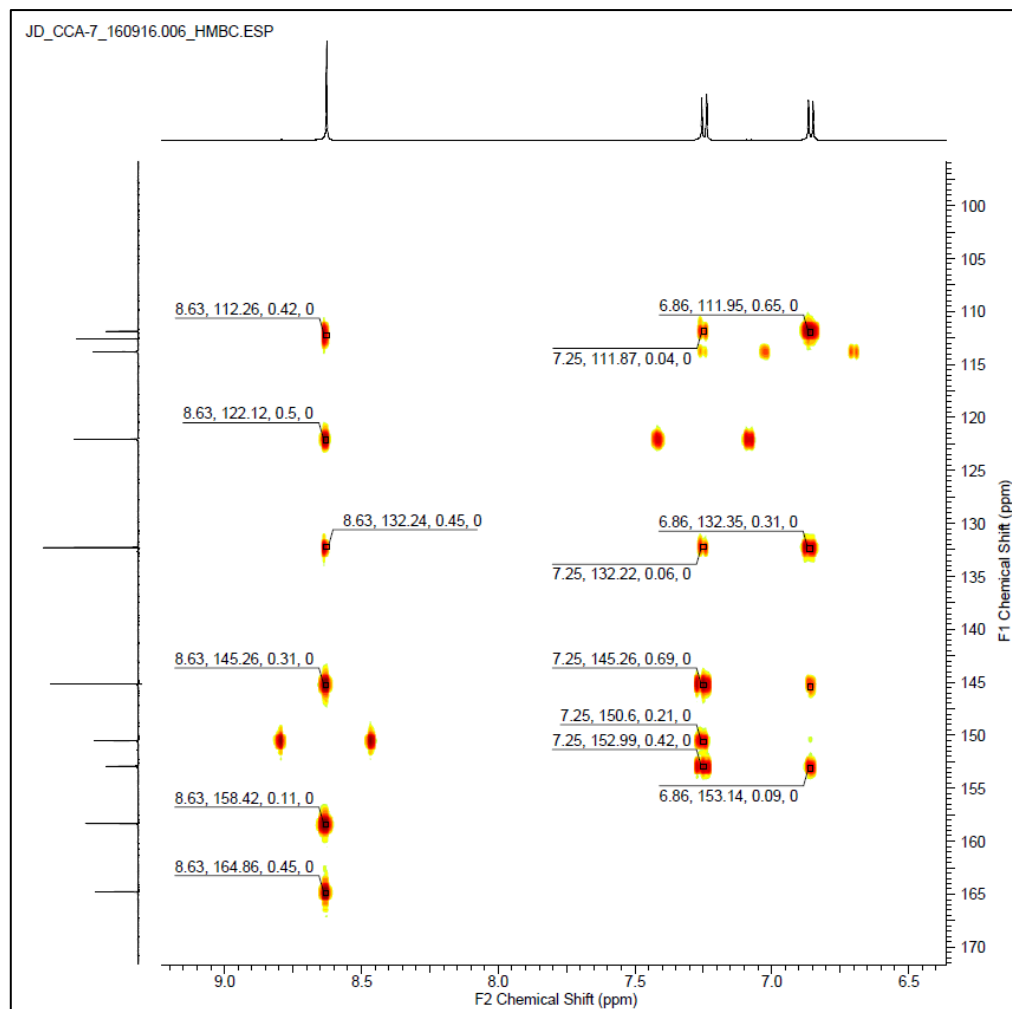
10.2.3. Espectro ^1H -RMN de 7,8-dihidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico.



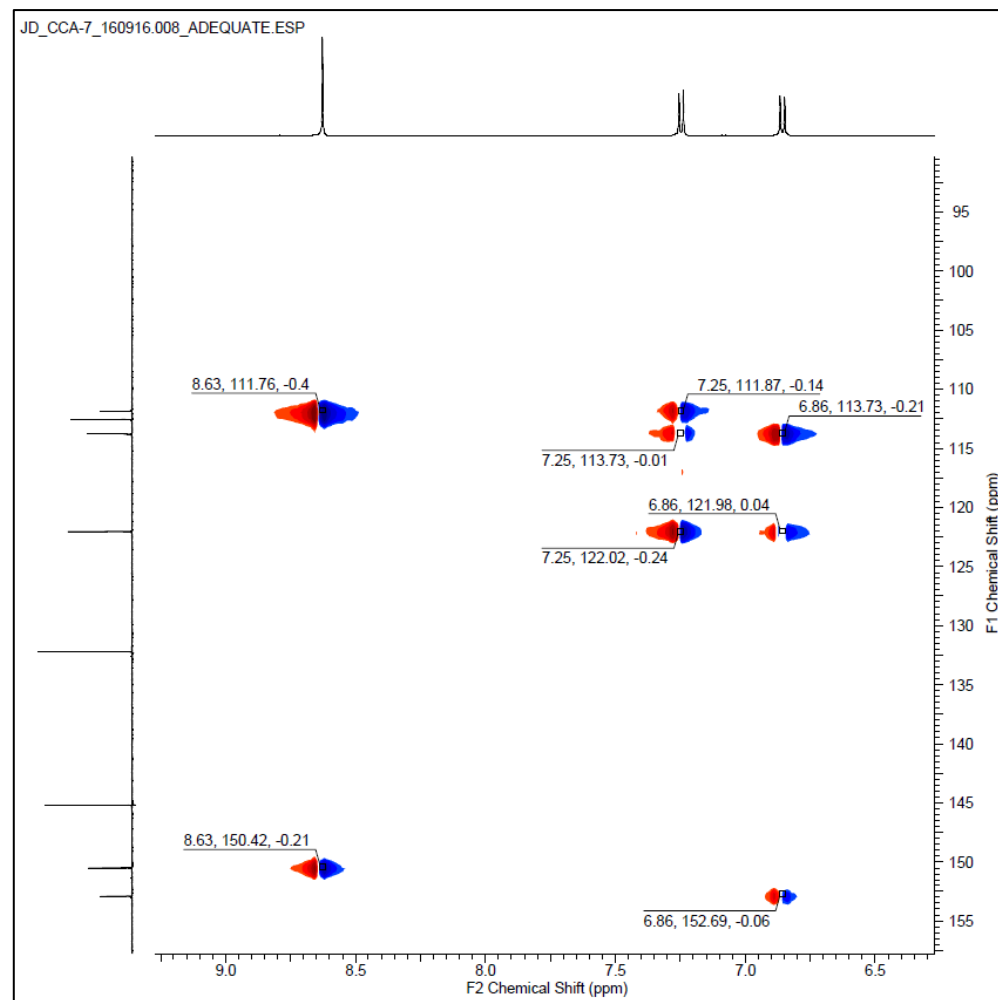
10.2.4. Espectro ^{13}C -RMN de 7,8-dihidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico.



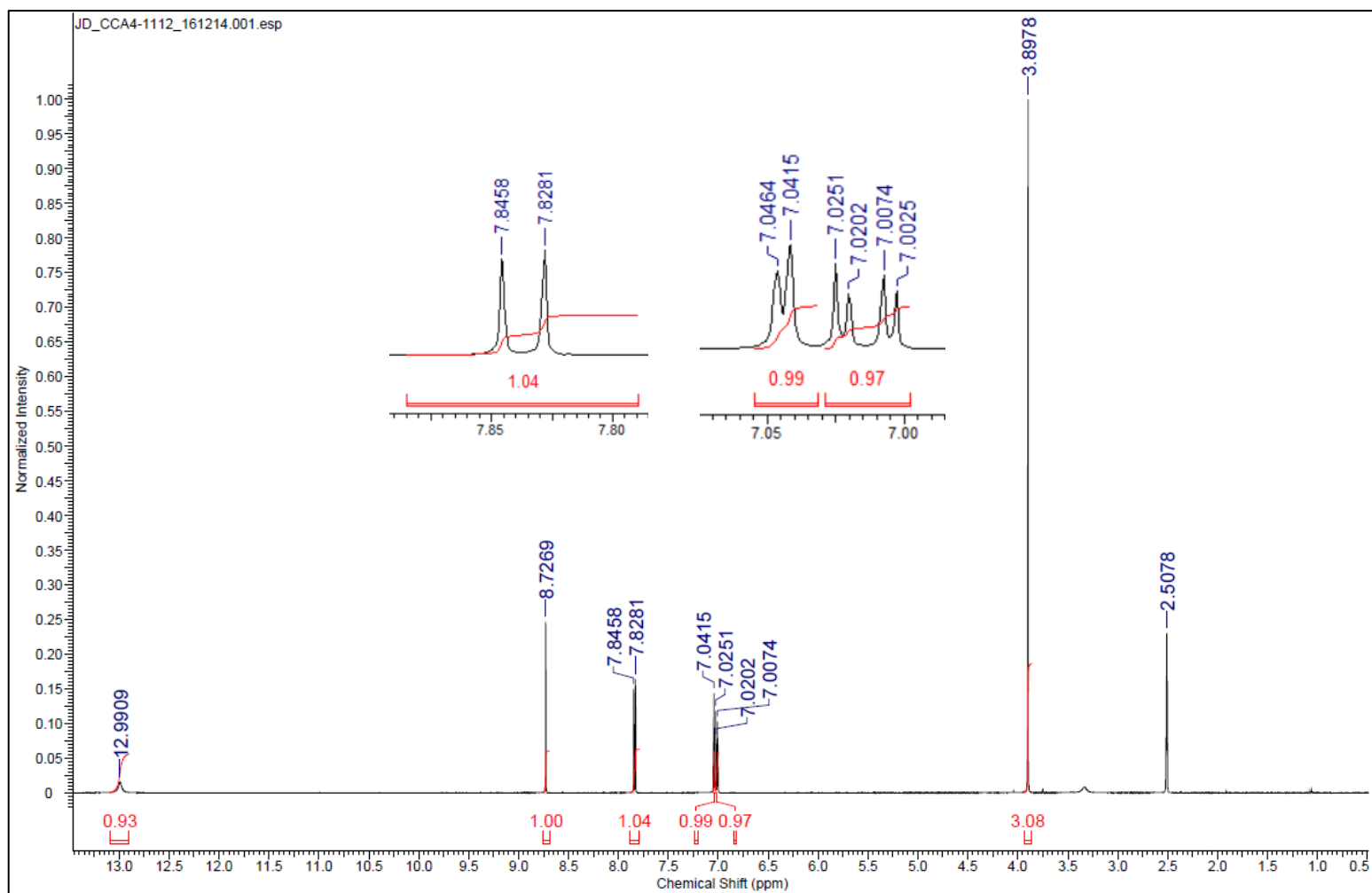
10.2.5. Espectro ^1H - ^{13}C HSQC-RMN de 7,8-dihidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico.



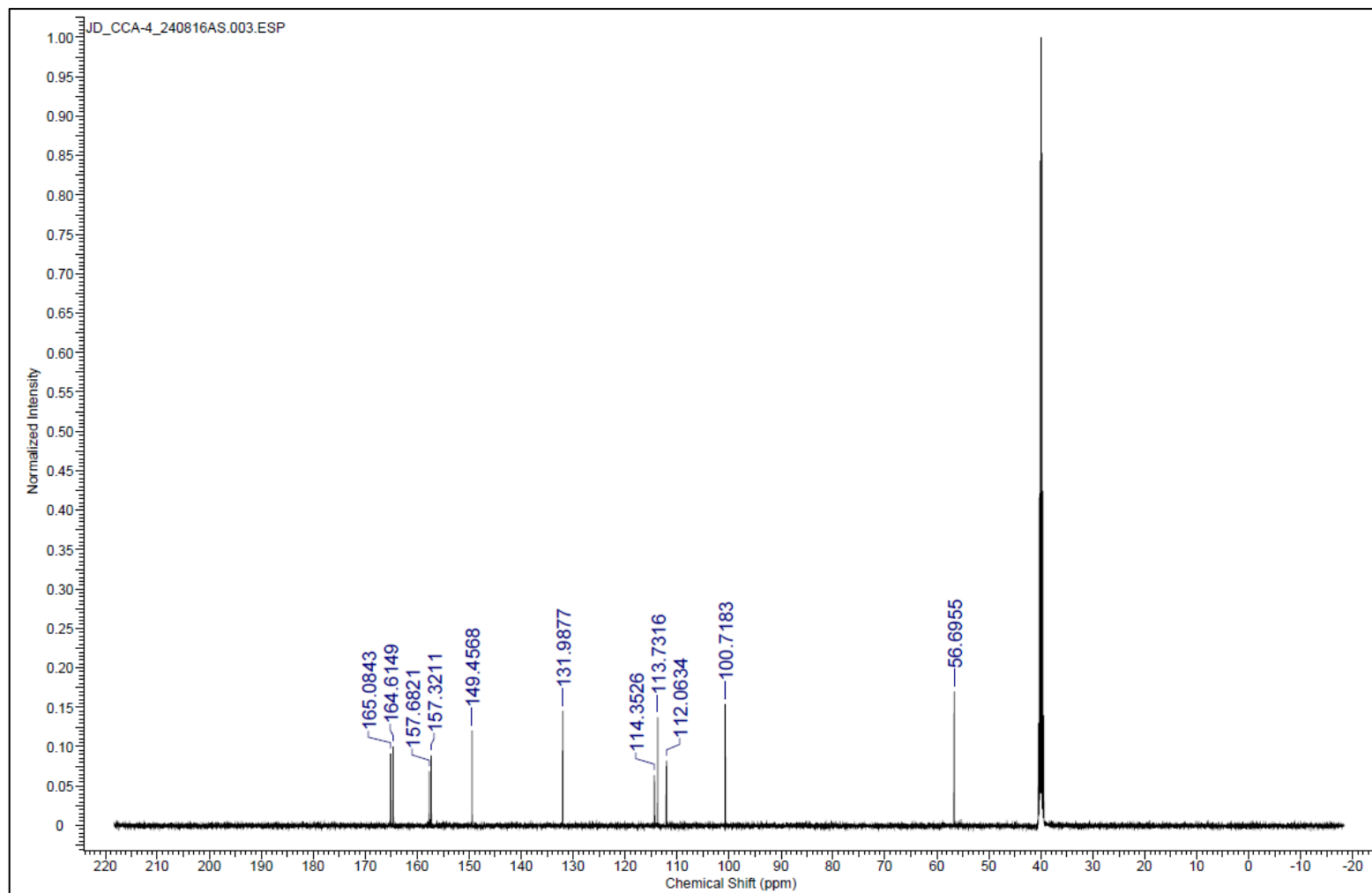
10.2.6. Espectro ^1H - ^{13}C HMBC-RMN de 7,8-dihidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico.



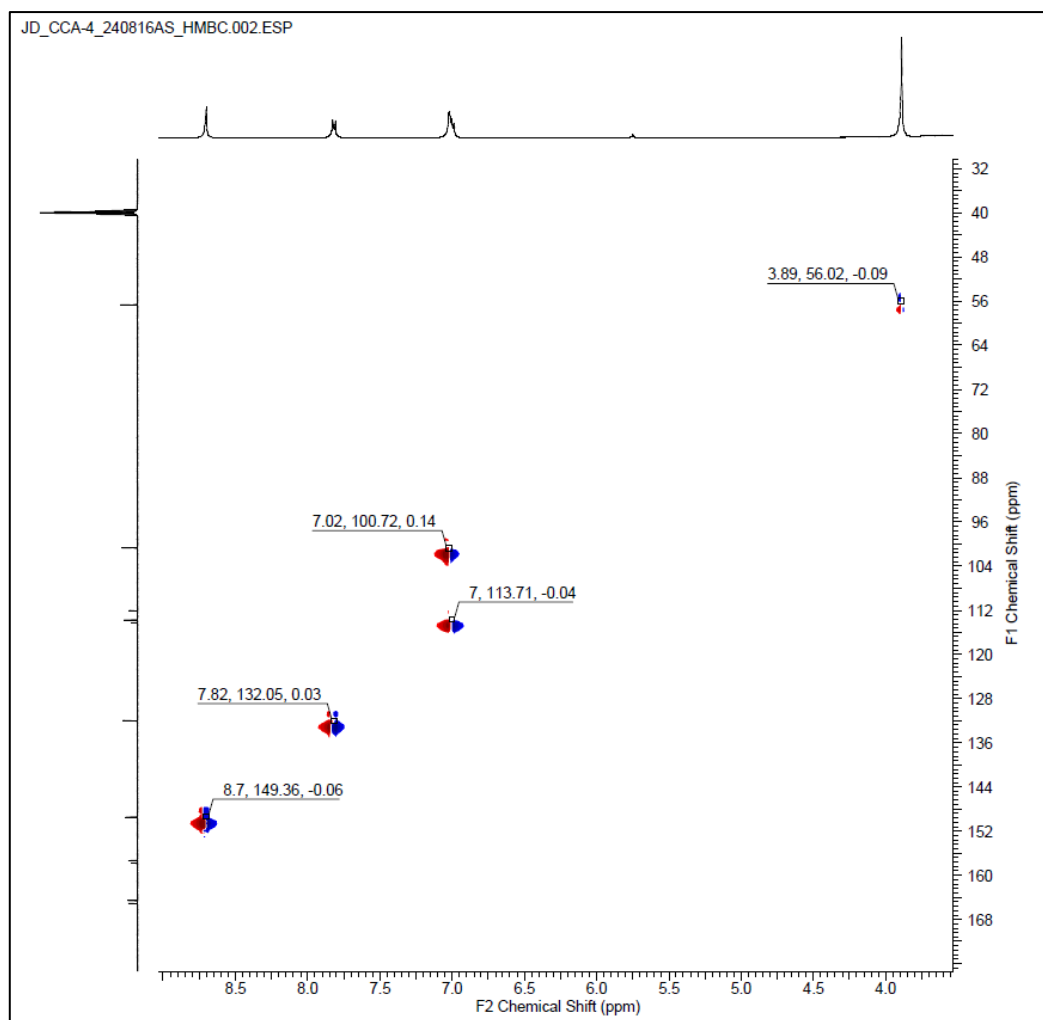
10.2.7. Espectro ^1H - ^{13}C ADEQUATE-RMN de 7,8-dihidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico.



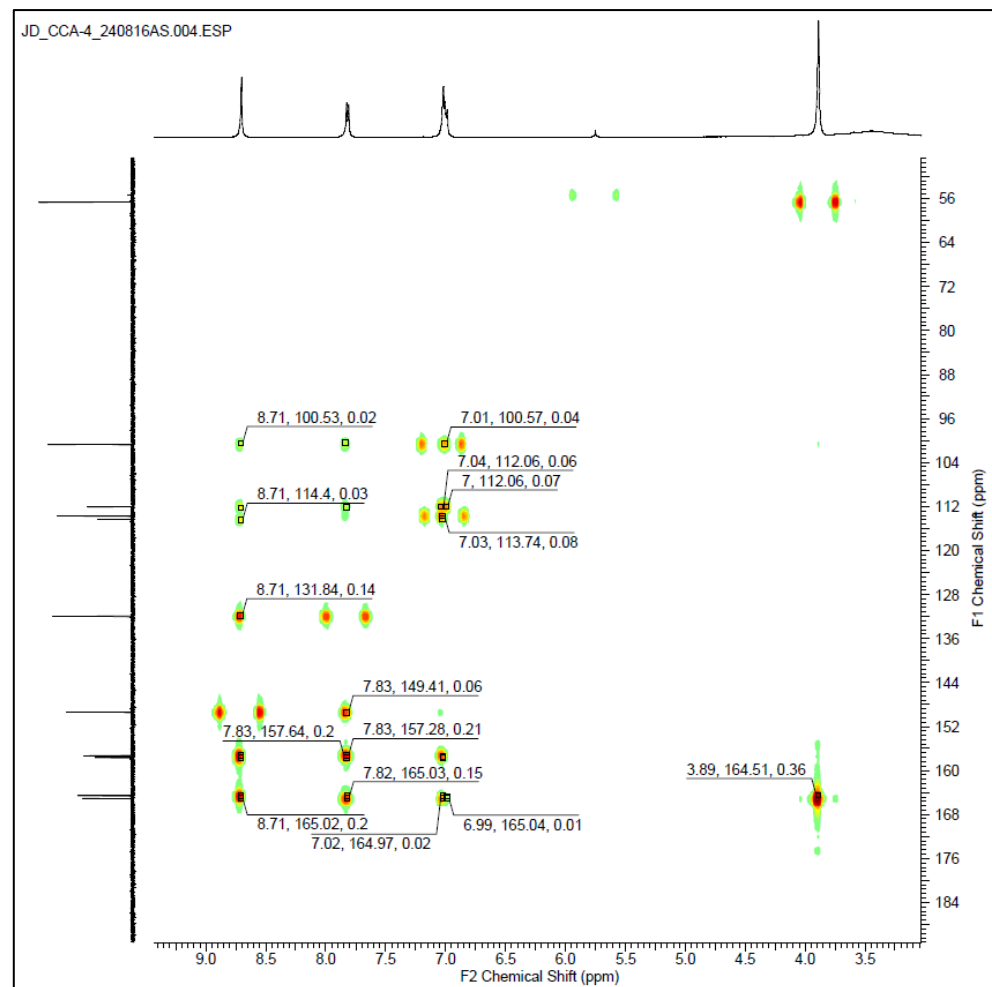
10.2.8. Espectro ^1H -RMN de 7-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico.



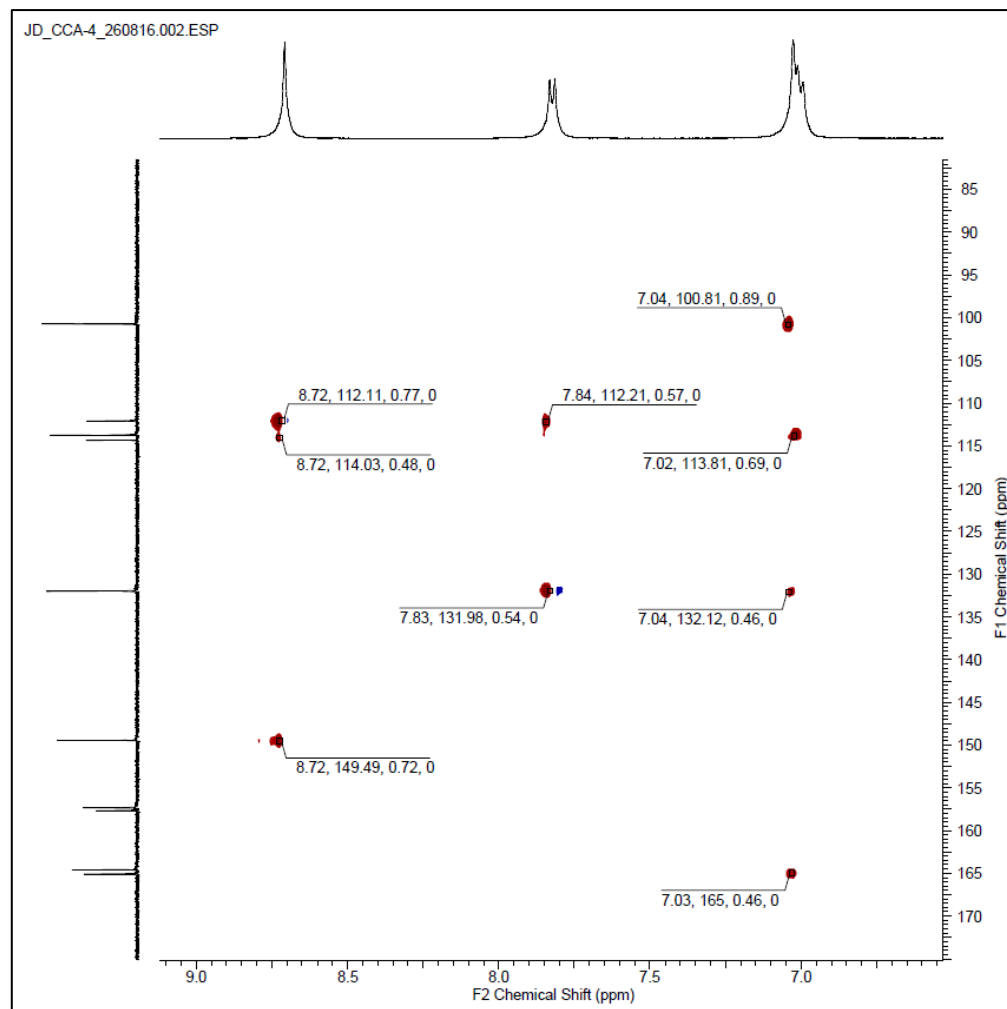
10.2.9. Espectro ^{13}C -RMN de 7-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico.



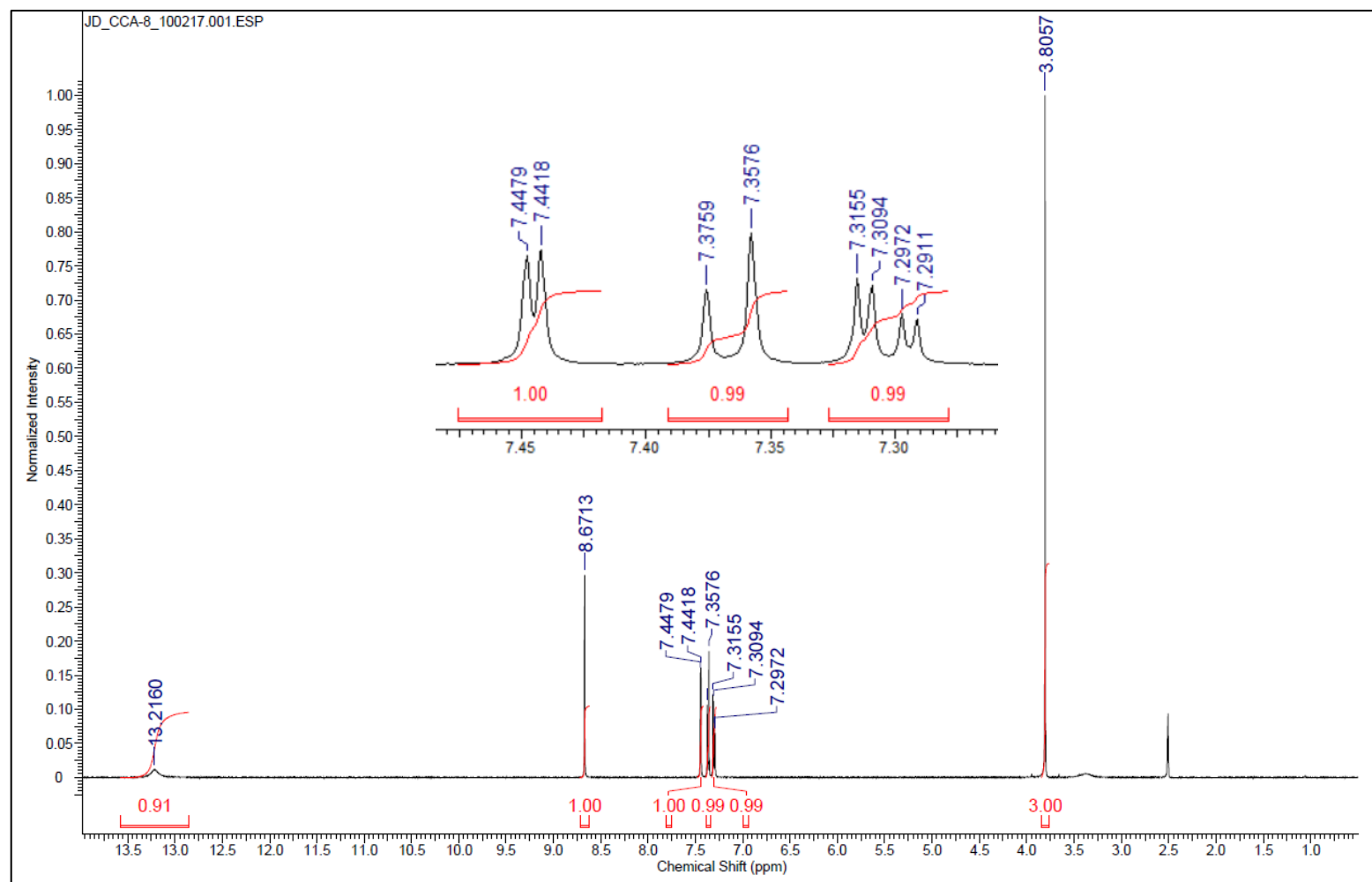
10.2.10. Espectro ^1H - ^{13}C HSQC-RMN de 7-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico.



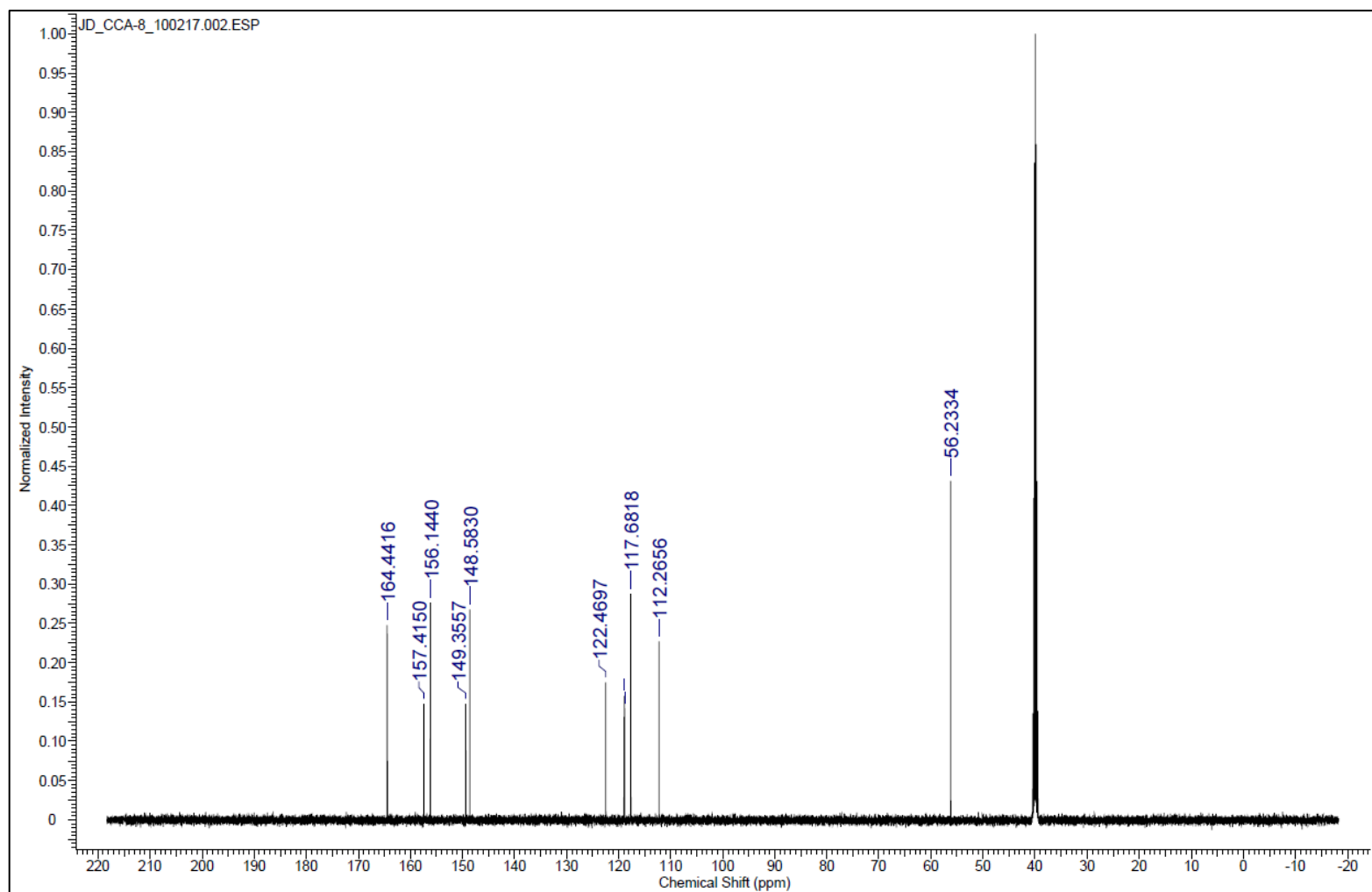
10.2.11. Espectro ^1H - ^{13}C HMBC-RMN de 7-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico.



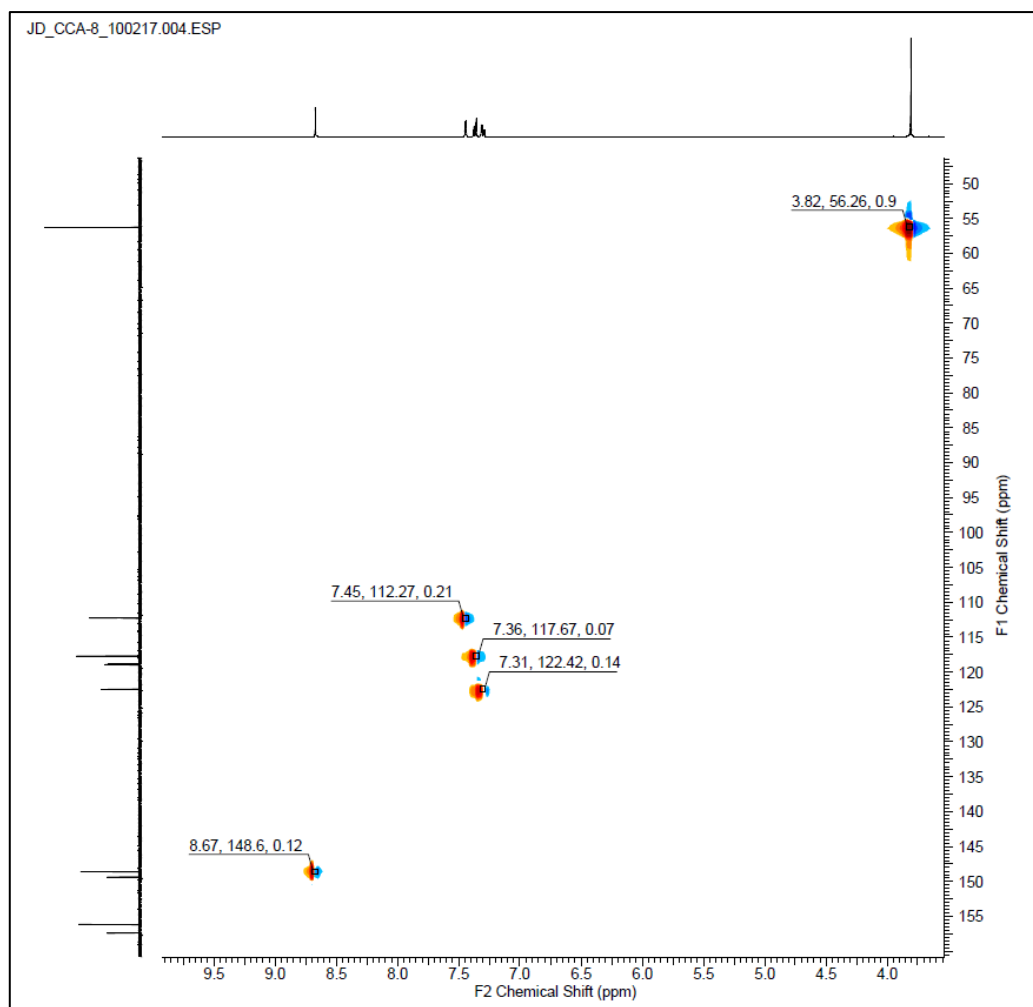
10.2.12. Espectro ^1H - ^{13}C ADEQUATE-RMN de 7-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico.



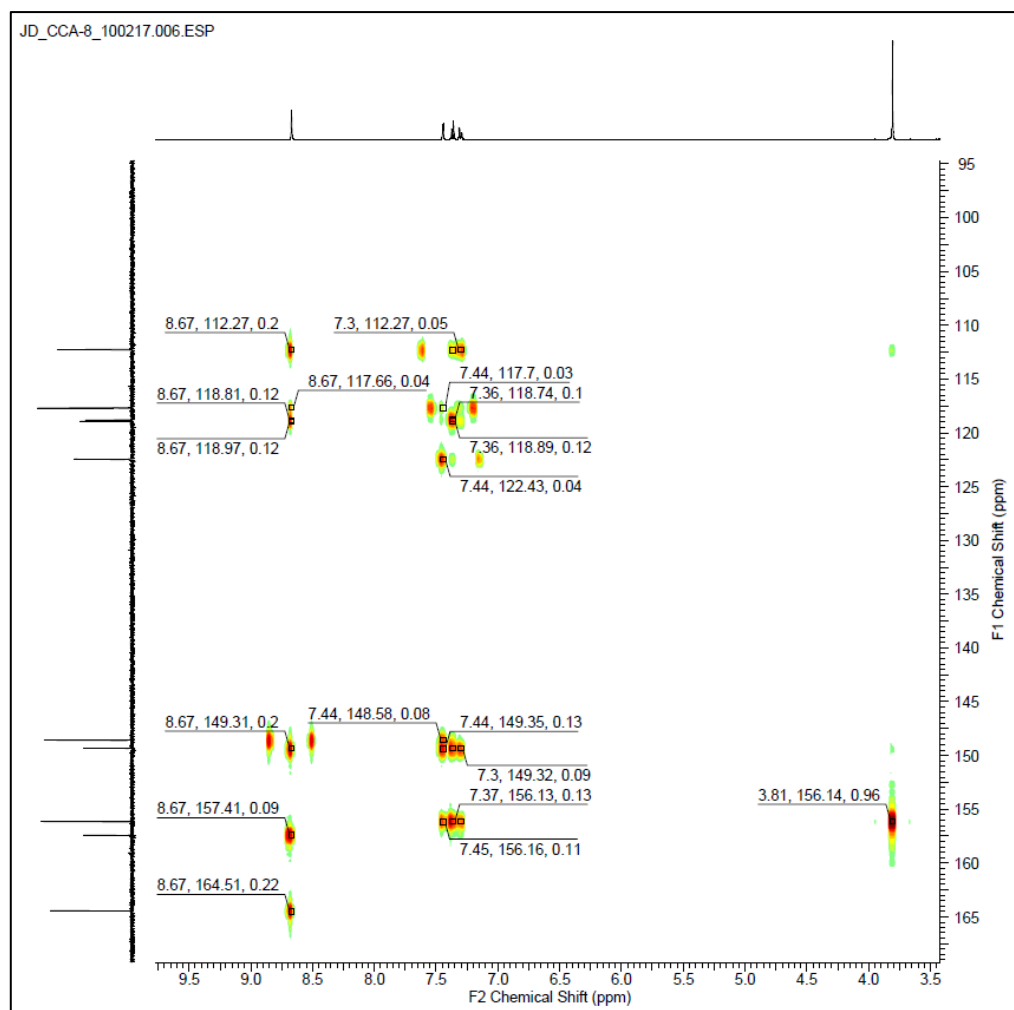
10.2.13. Espectro ^1H -RMN de 6-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico.



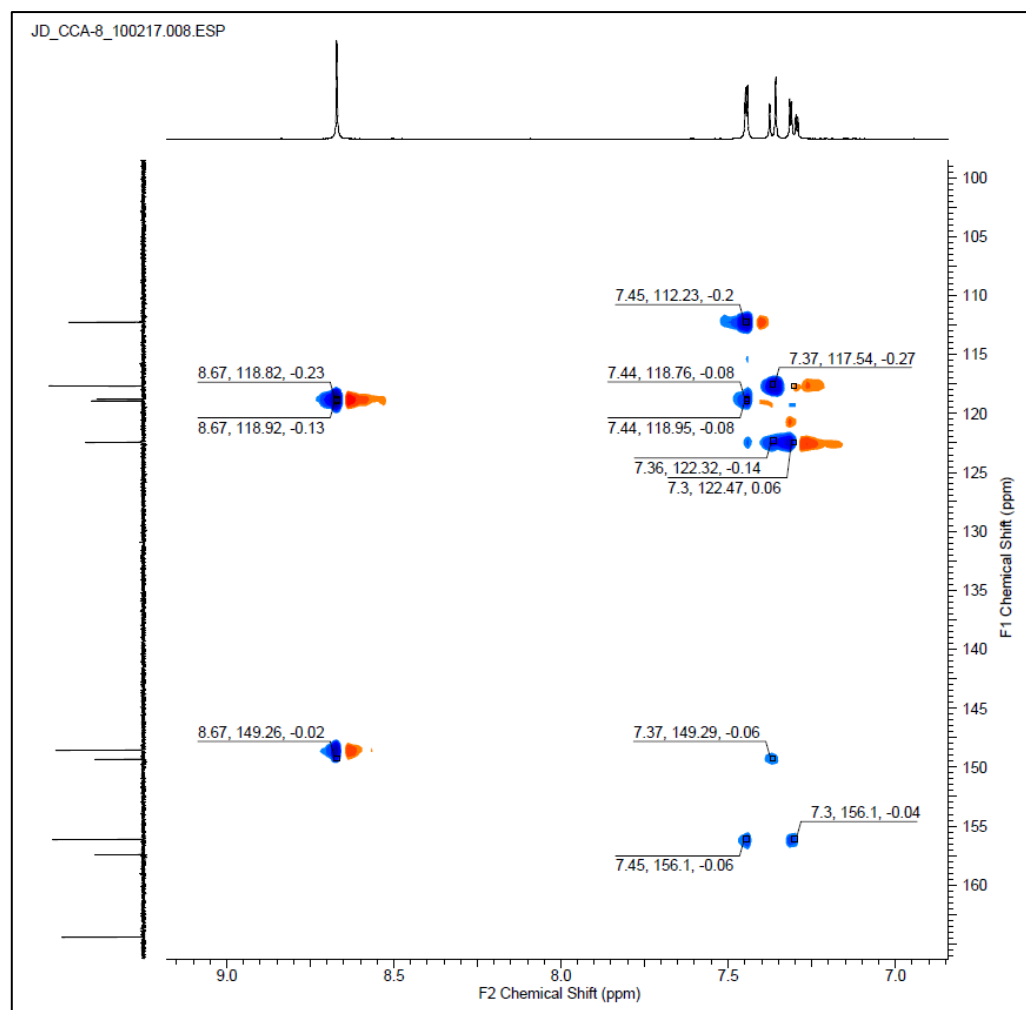
10.2.14. Espectro ^{13}C -RMN de 6-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico.



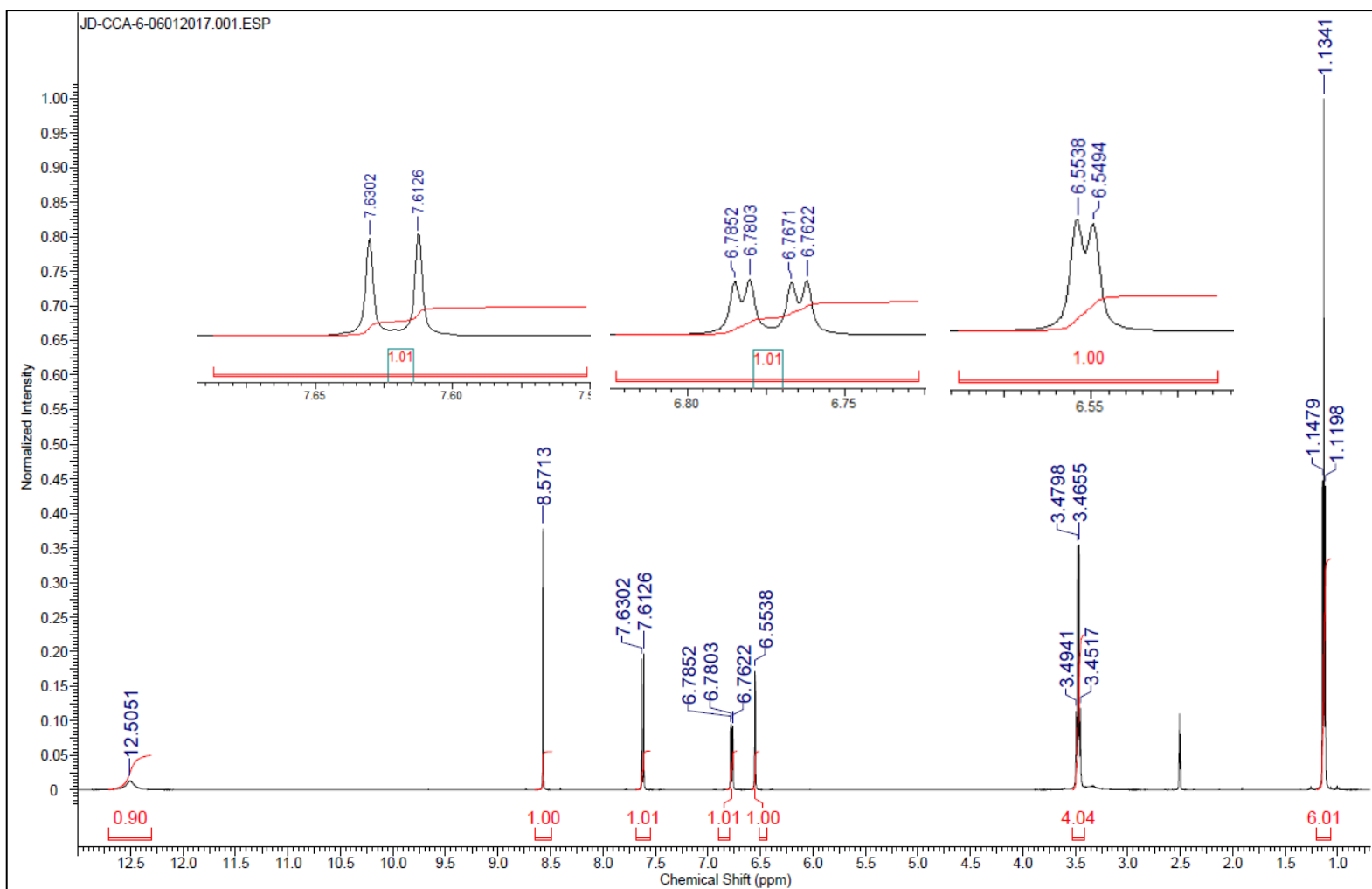
10.2.15. Espectro ^1H - ^{13}C HSQC-RMN de 6-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico.



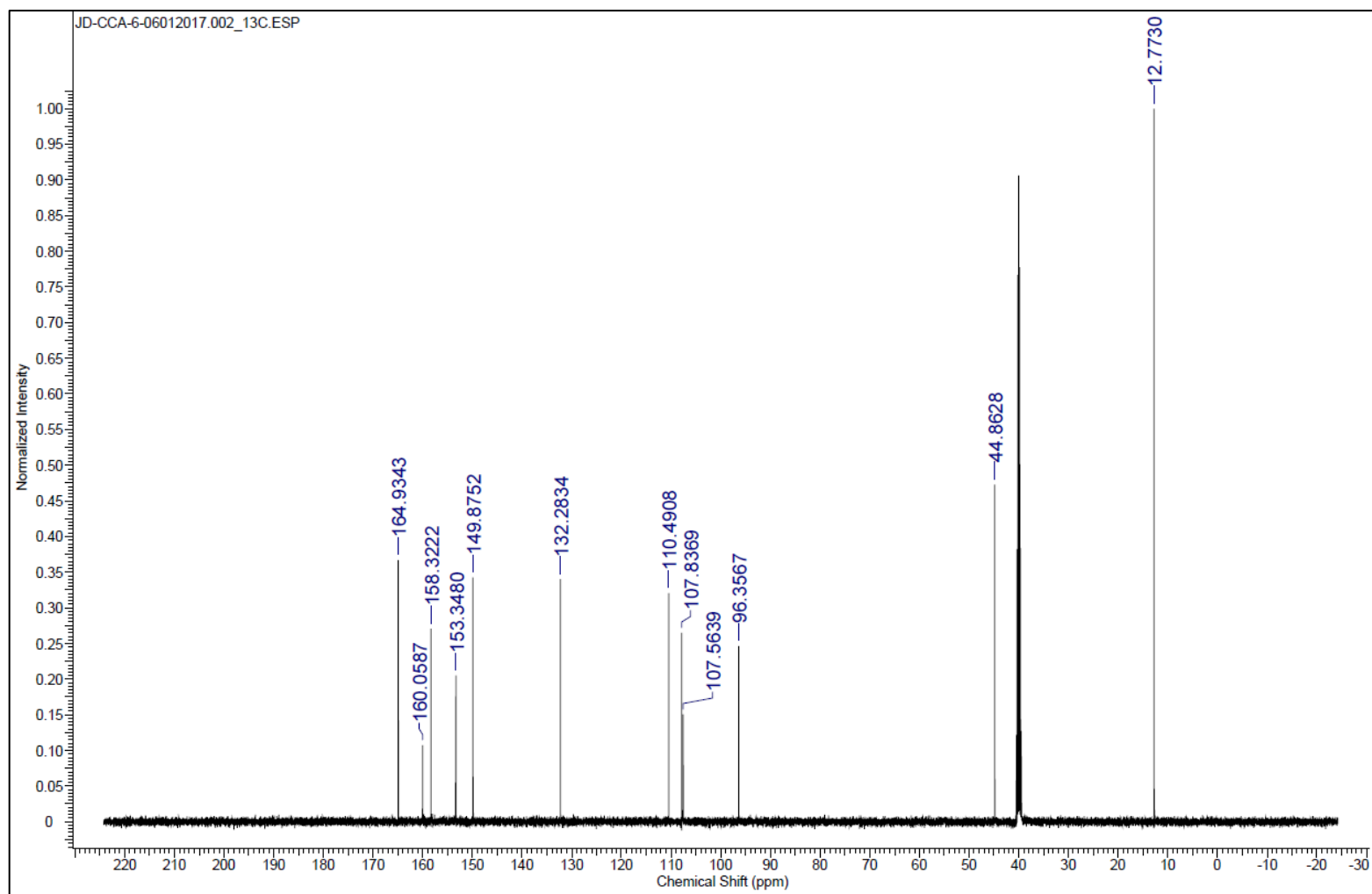
10.2.16. Espectro ^1H - ^{13}C HMBC-RMN de 6-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico.



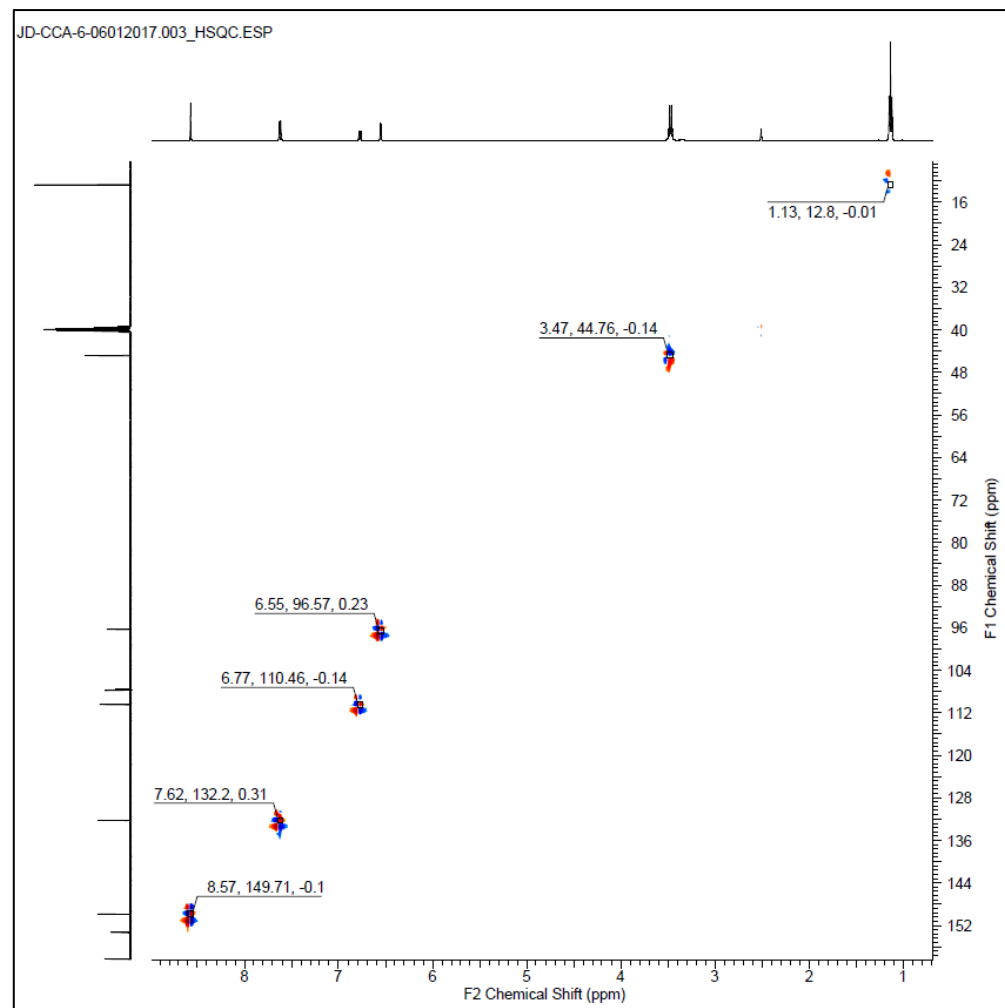
10.2.17. Espectro ^1H - ^{13}C ADEQUATE-RMN de 6-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico.



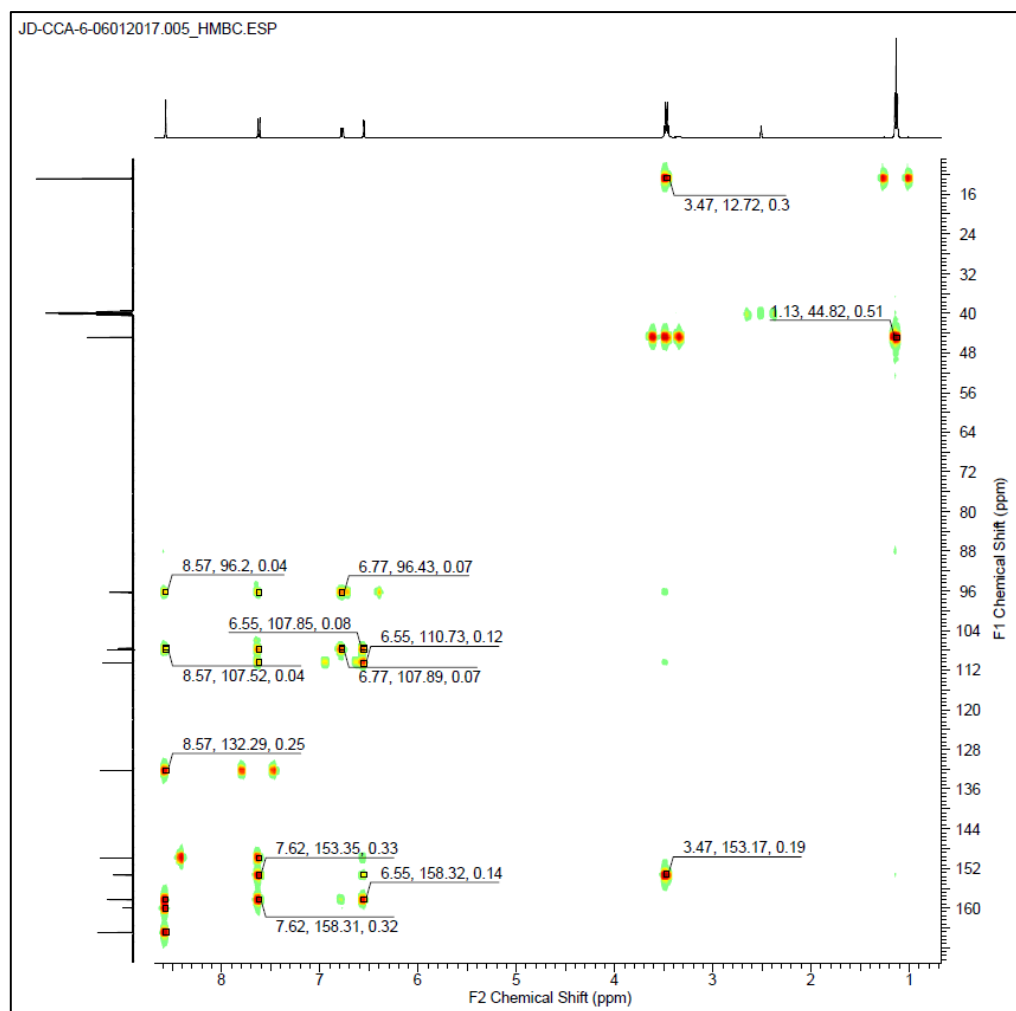
10.2.18. Espectro ^1H -RMN de 7-dietilamino-cumarina-3-ácido carboxílico.



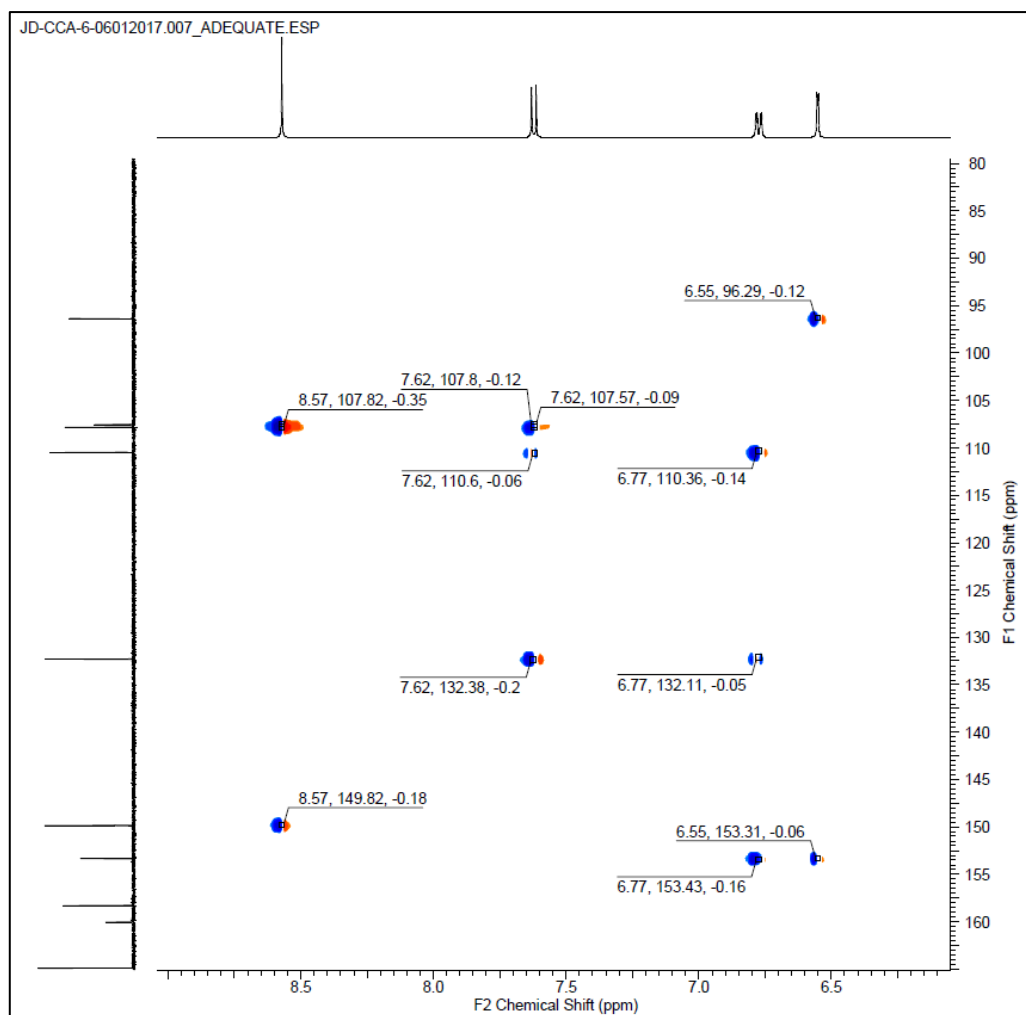
10.2.19. Espectro ^{13}C -RMN de 7-dietilamino-cumarina-3-ácido carboxílico.



10.2.20. Espectro ^1H - ^{13}C HSQC-RMN de 7-dietilamino-cumarina-3-ácido carboxílico.



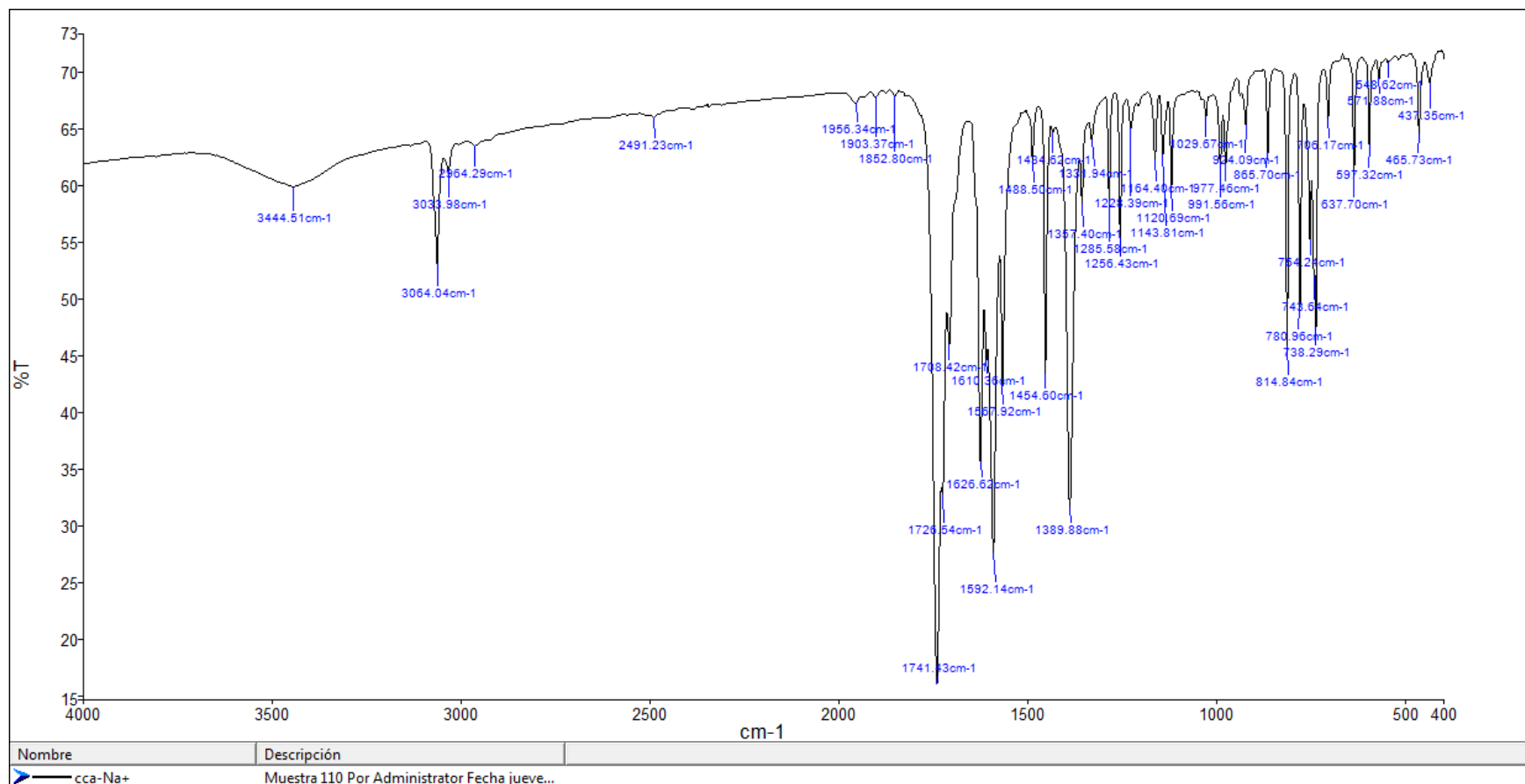
10.2.21. Espectro ^1H - ^{13}C HMBC-RMN de 7-dietilamino-cumarina-3-ácido carboxílico.



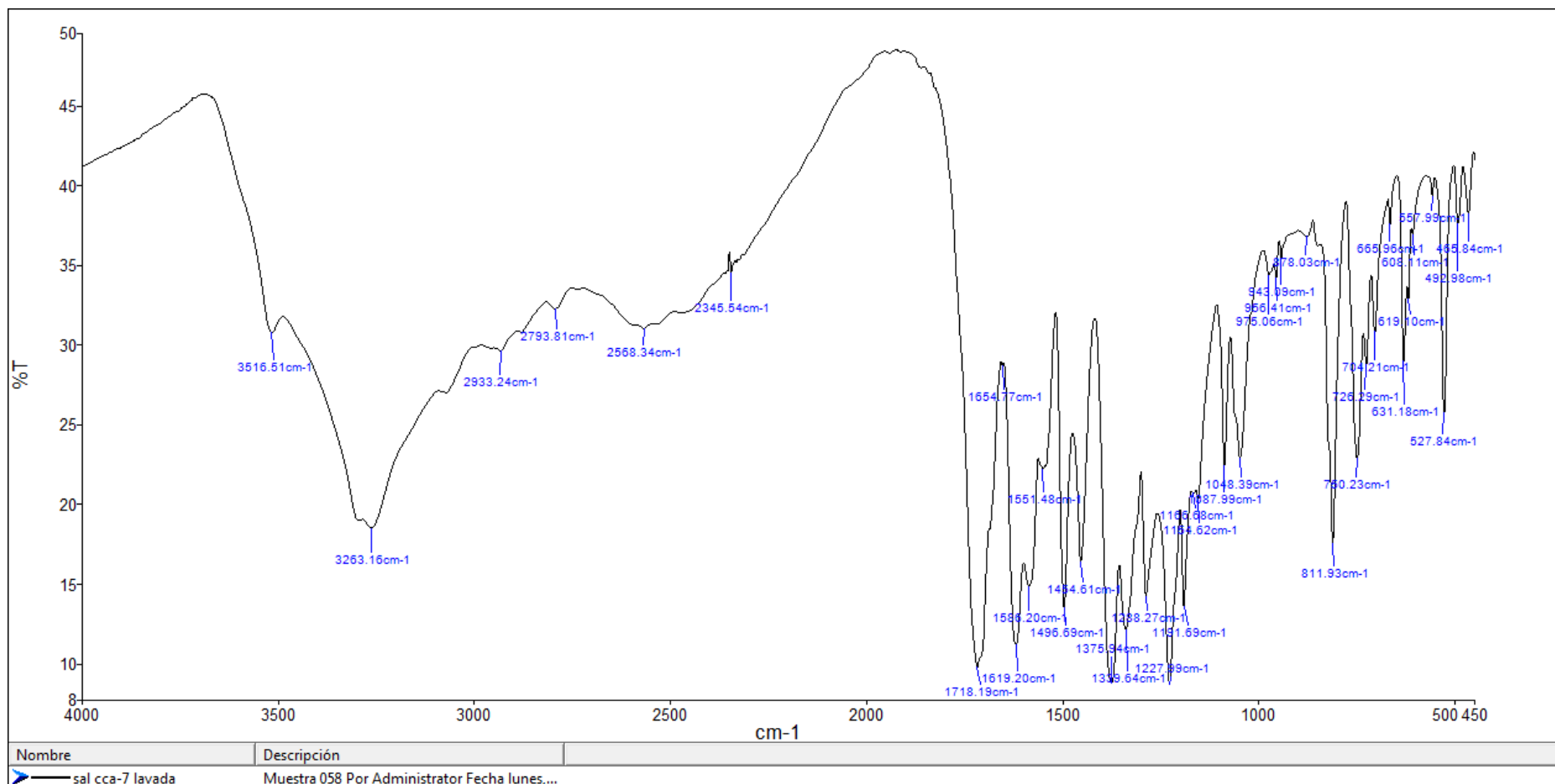
10.2.22. Espectro ^1H - ^{13}C ADEQUATE-RMN de 7-dietilamino-cumarina-3-ácido carboxílico.

ANEXO 10.3

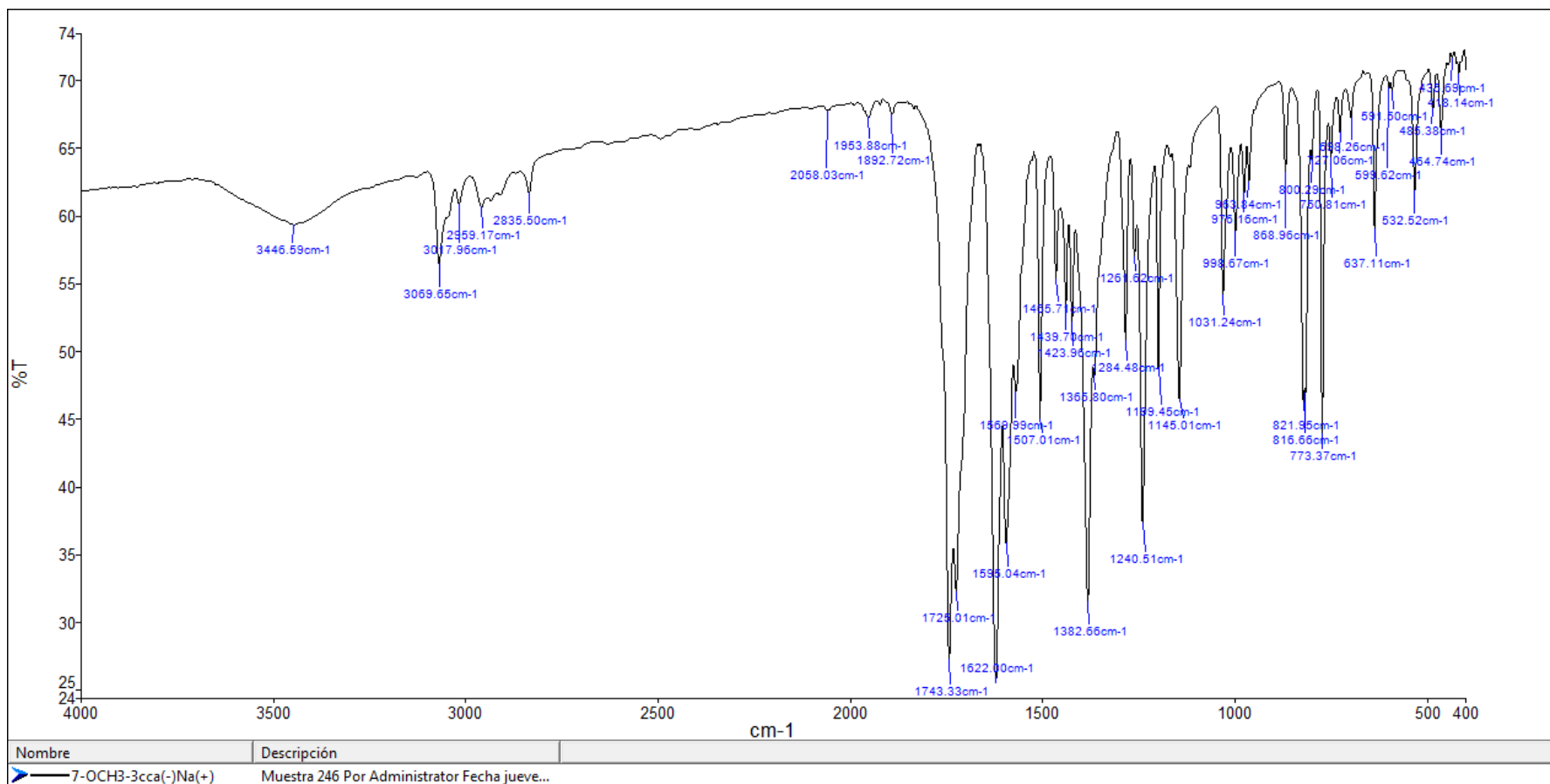
ESPECTROS INFRARROJOS DE LAS SALES DE SODIO DE LOS LIGANDOS CUMARÍNICOS



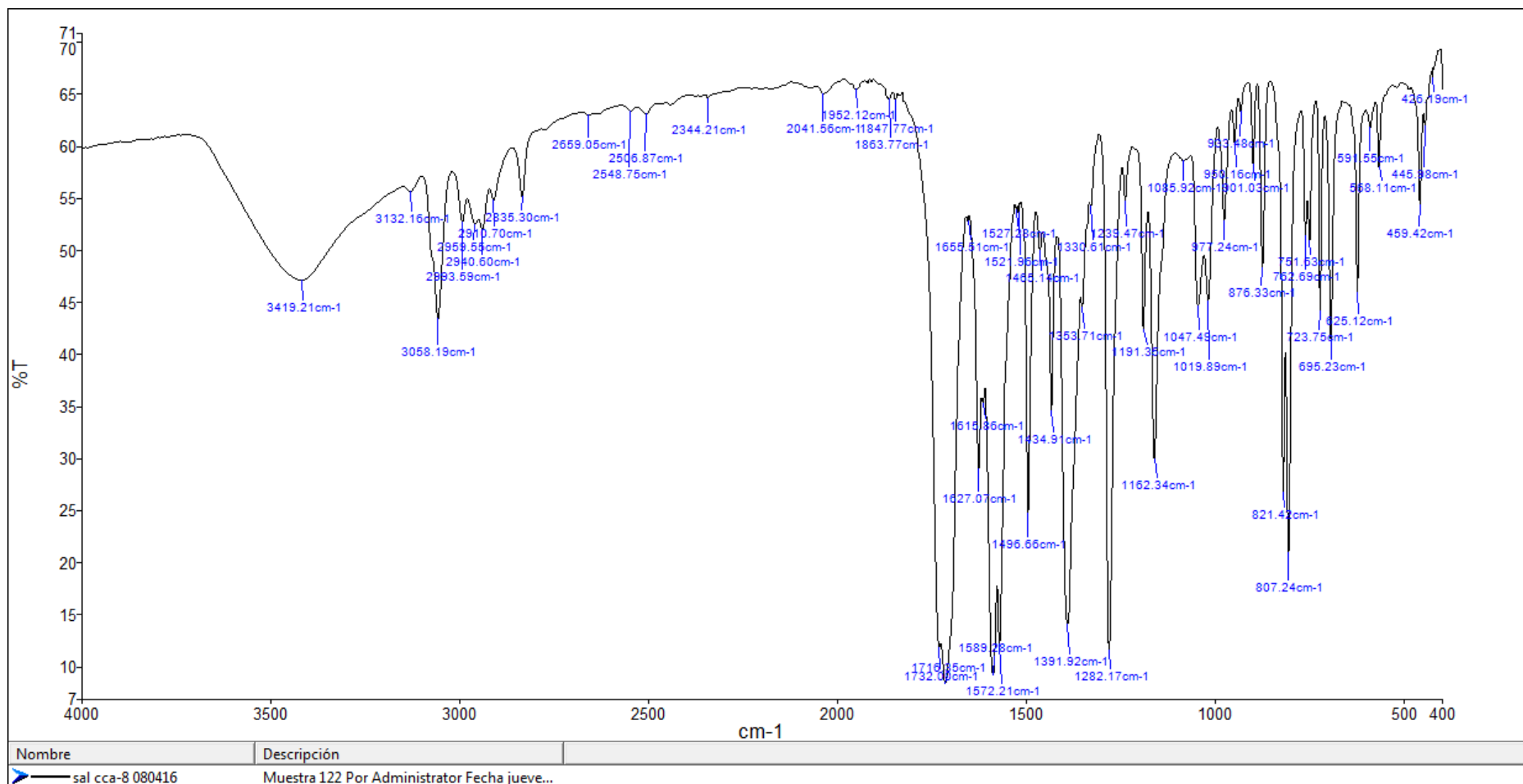
10.3.1. Espectro IR de coumarina-3-carboxilato de sodio.



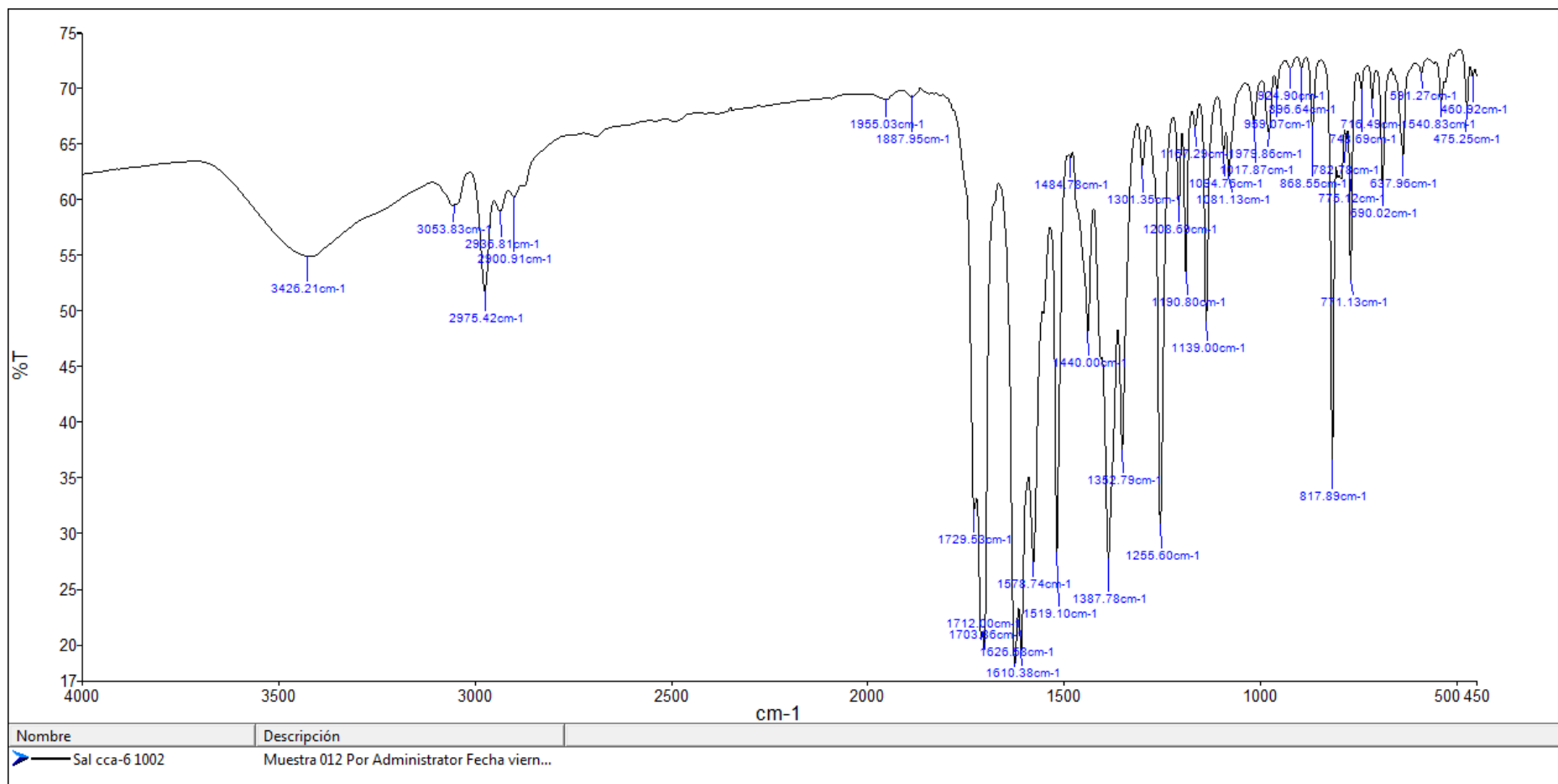
10.3.2. Espectro IR de 7,8-dihidroxi-cumarina-3-carboxilato de sodio.



10.3.3. Espectro IR de 7-metoxi-cumarina-3-carboxilato de sodio.



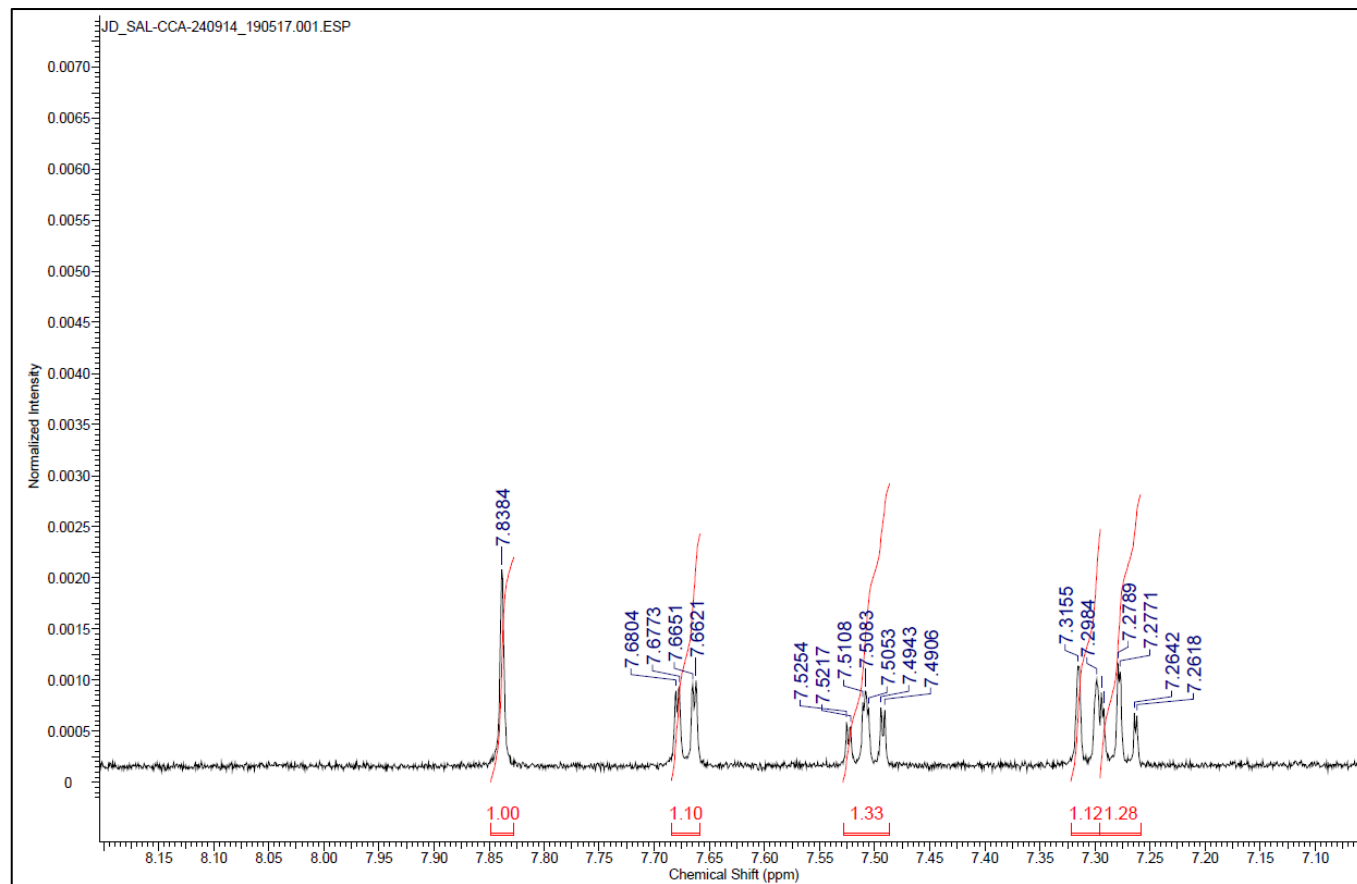
10.3.4. Espectro IR de 6-metoxi-cumarina-3-carboxilato de sodio.



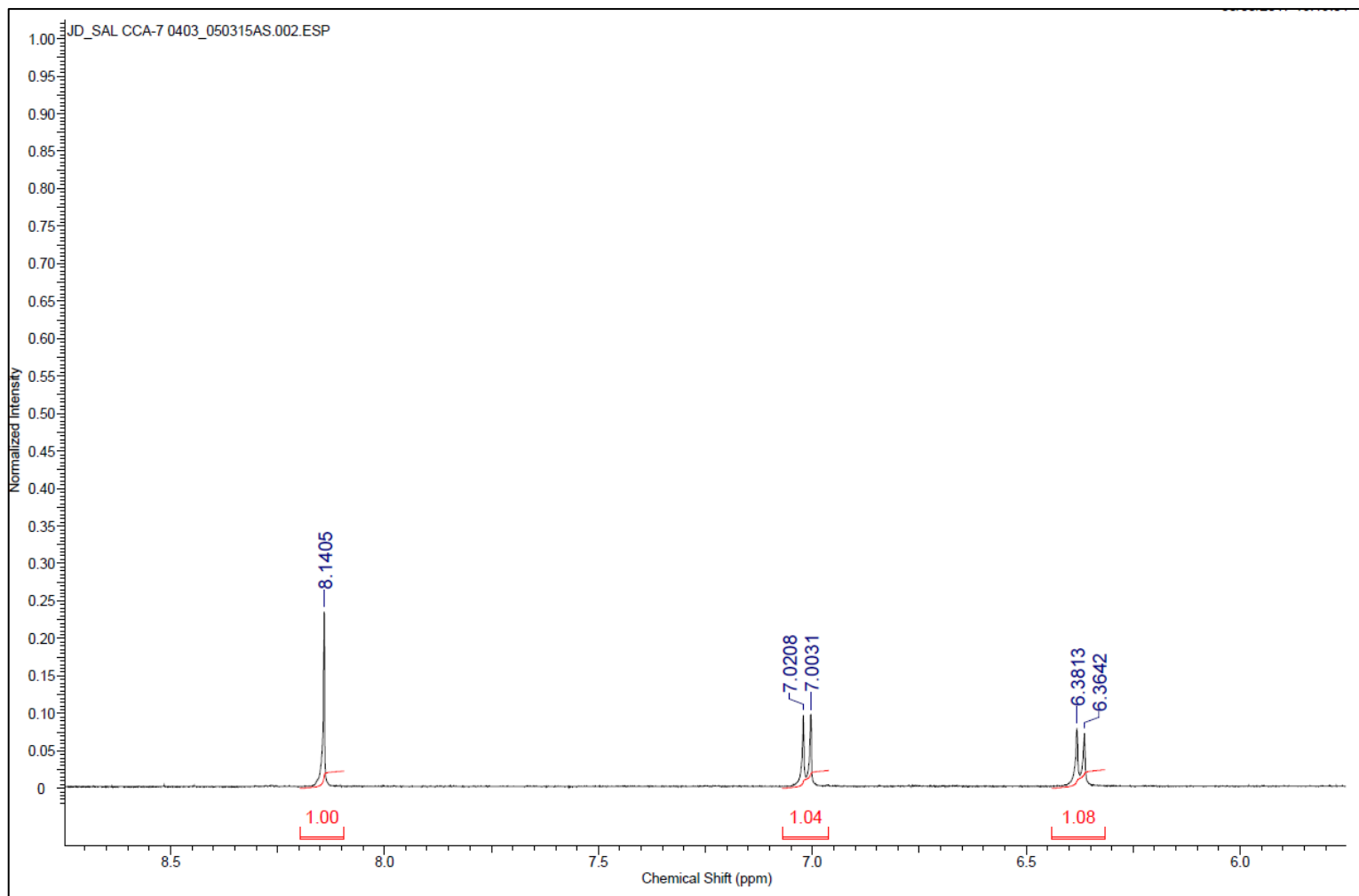
10.3.5. Espectro IR de 7-dietilamino-cumarina-3-carboxilato de sodio.

ANEXO 10.4

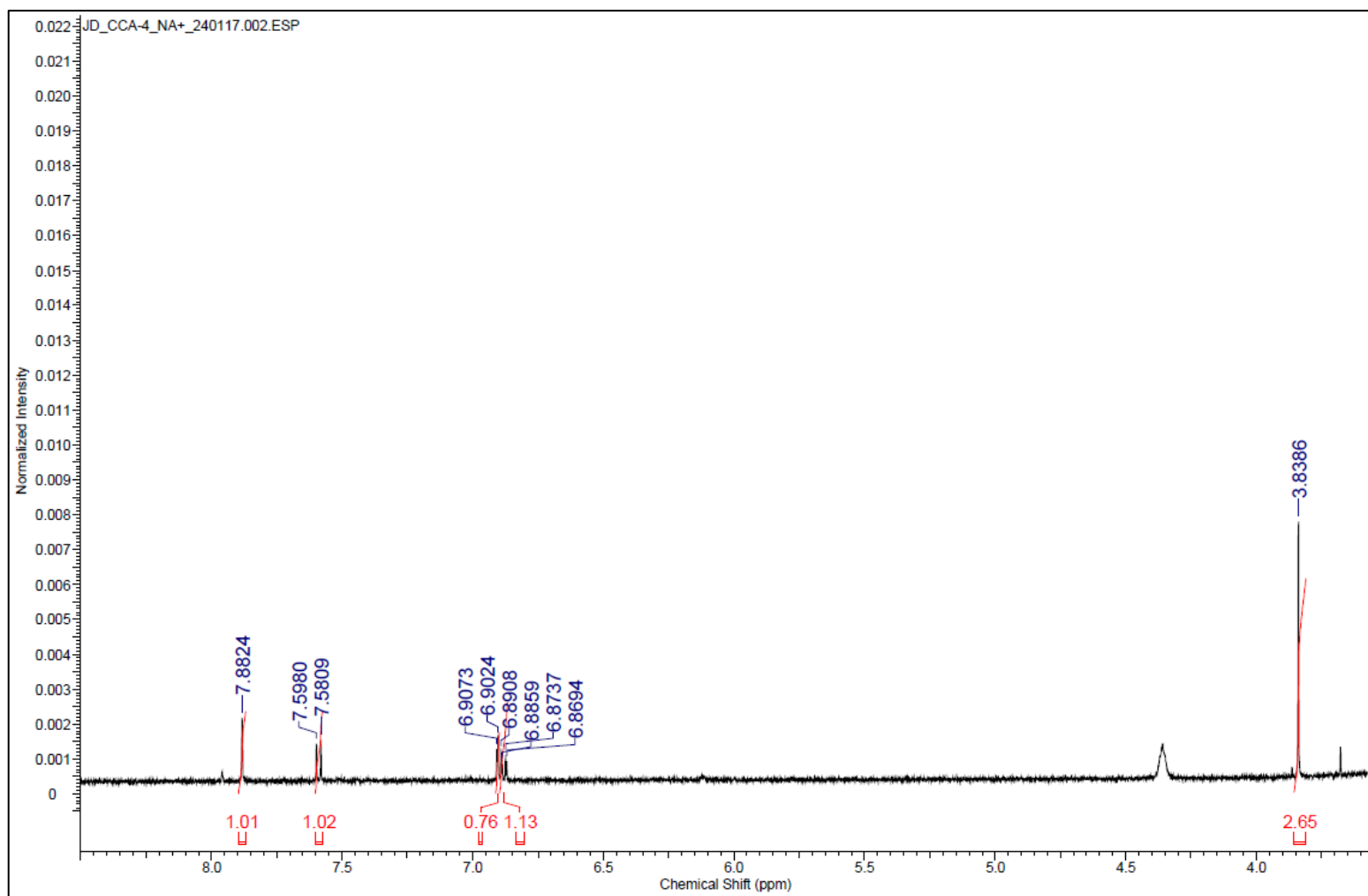
ESPECTROS DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE LAS SALES DE SODIO DE LOS LIGANDOS CUMARÍNICOS



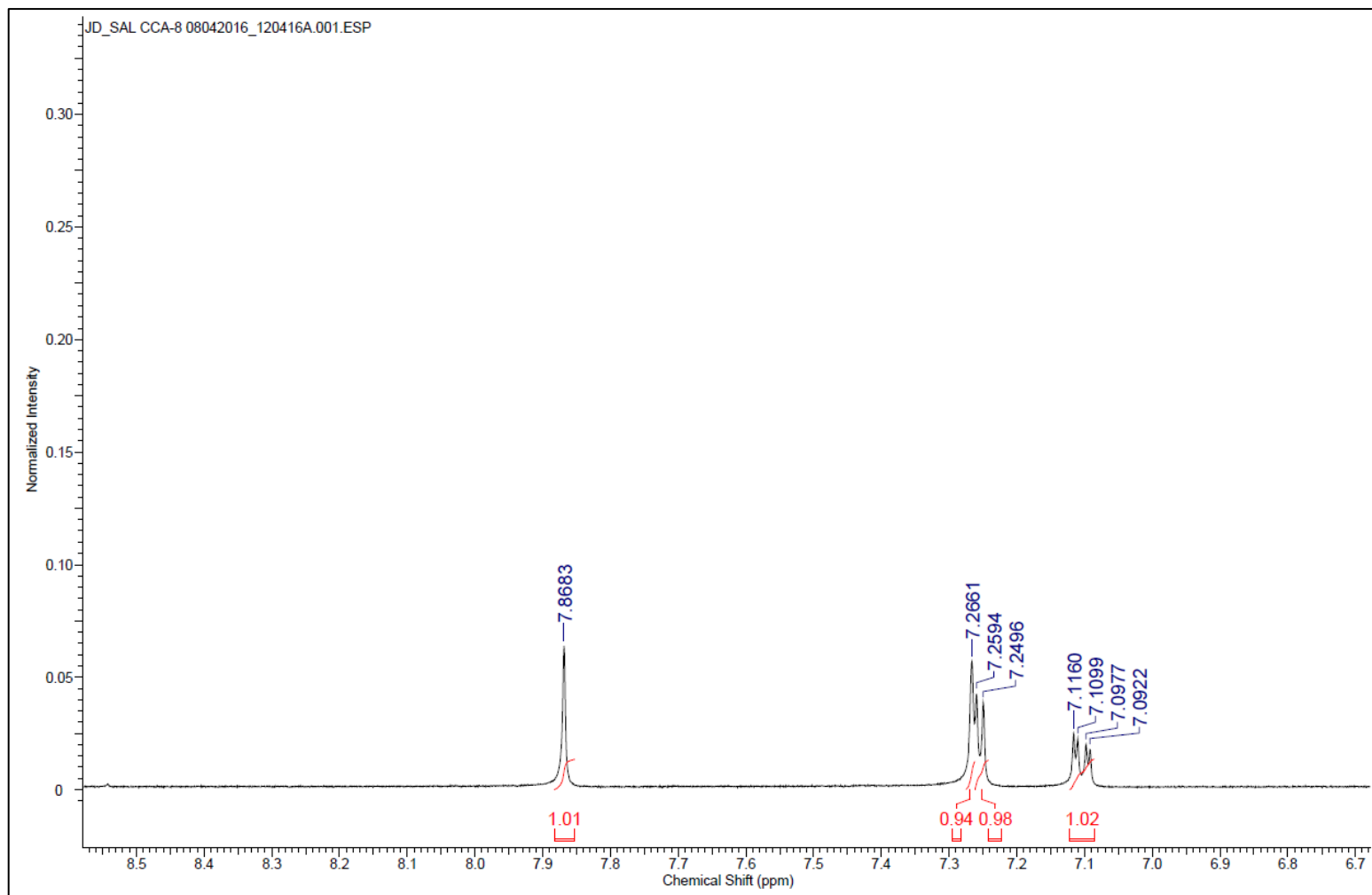
10.4.1. Espectro ^1H -RMN de cumarina-3-carboxilato de sodio.



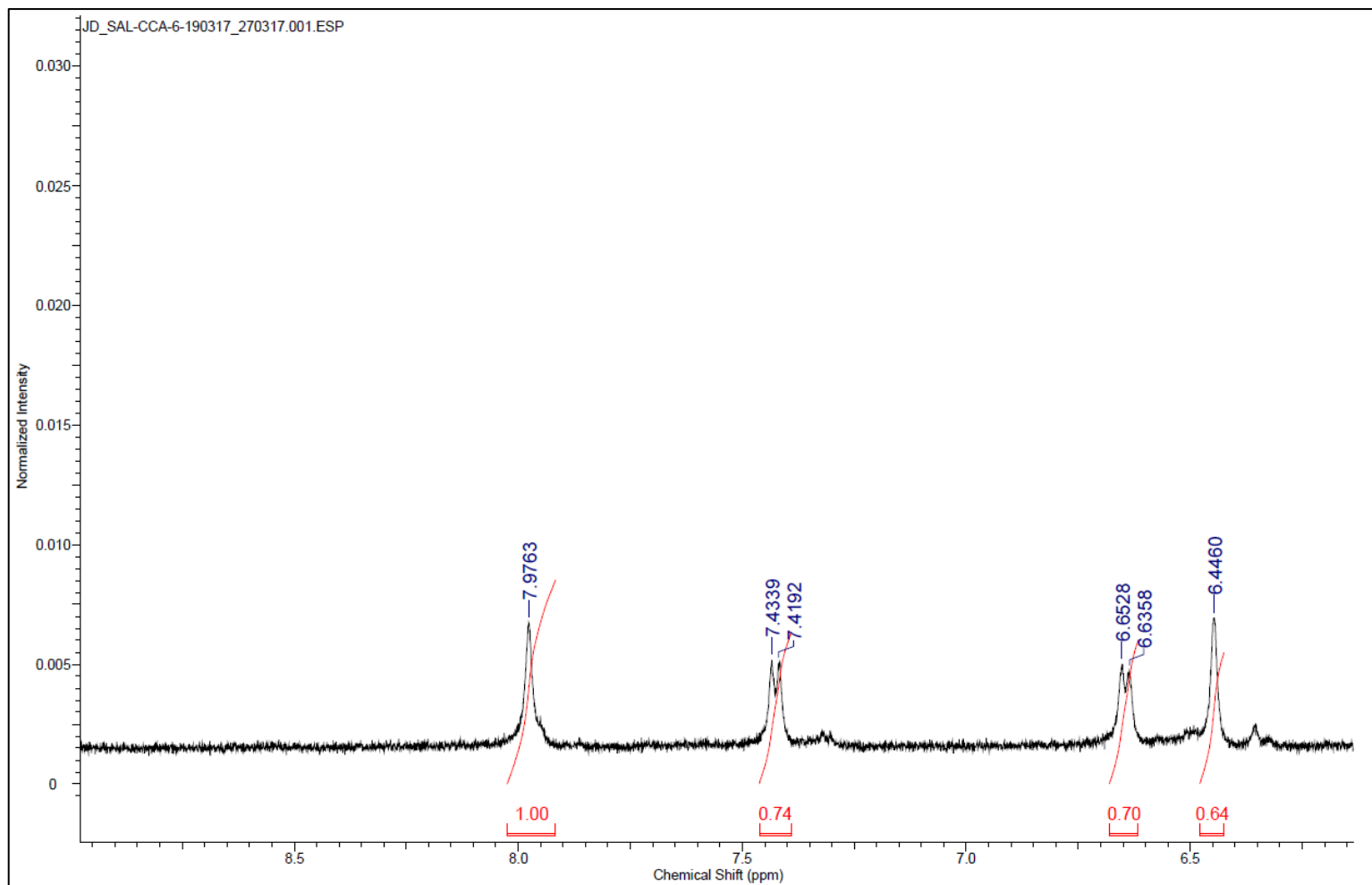
10.4.2. Espectro ^1H -RMN de 7,8-dihidroxi-cumarina-3-carboxilato de sodio.



10.4.3. Espectro ^1H -RMN de 7-metoxi-cumarina-3-carboxilato de sodio.



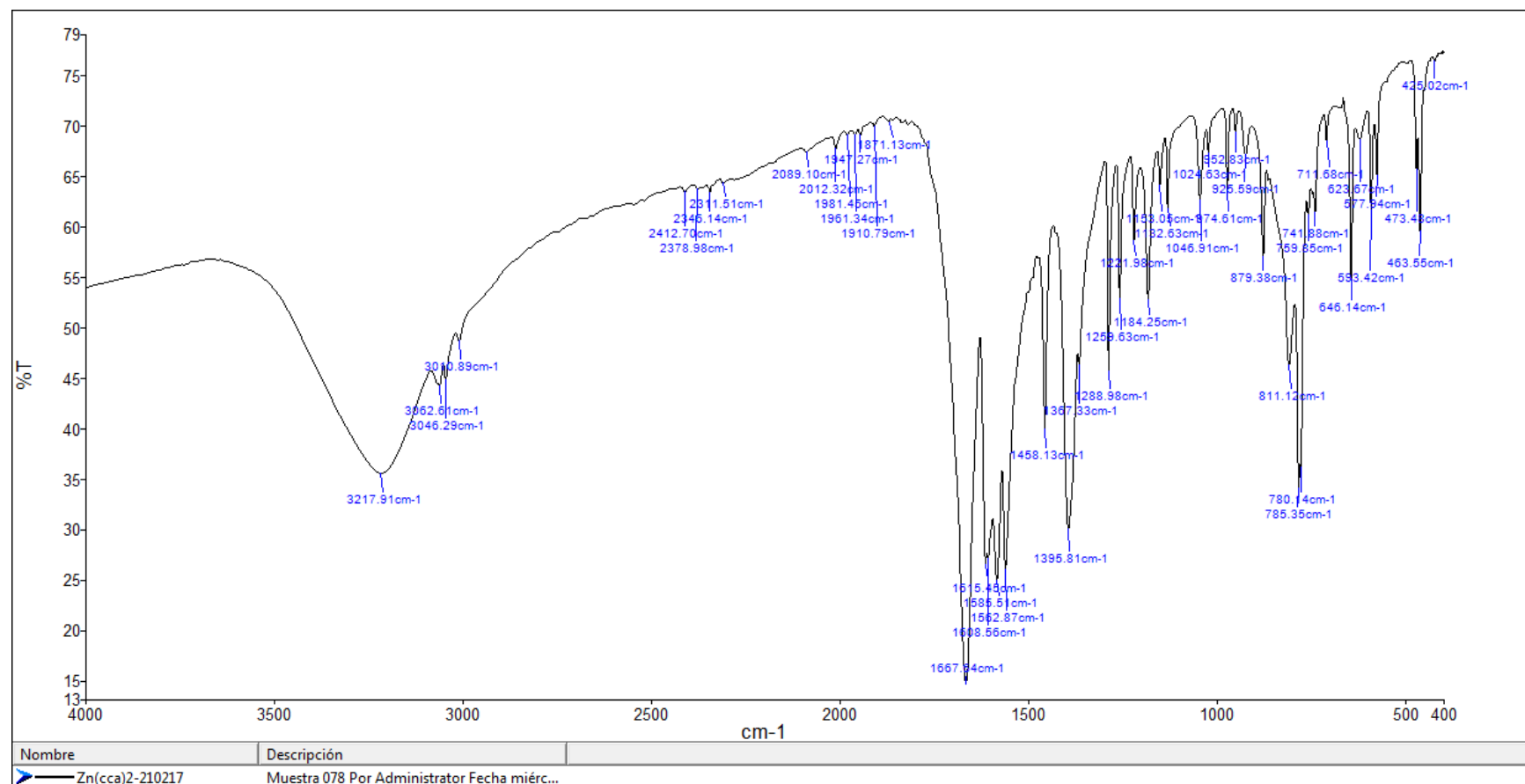
10.4.4. Espectro ^1H -RMN de 6-metoxi-cumarina-3-carboxilato de sodio.



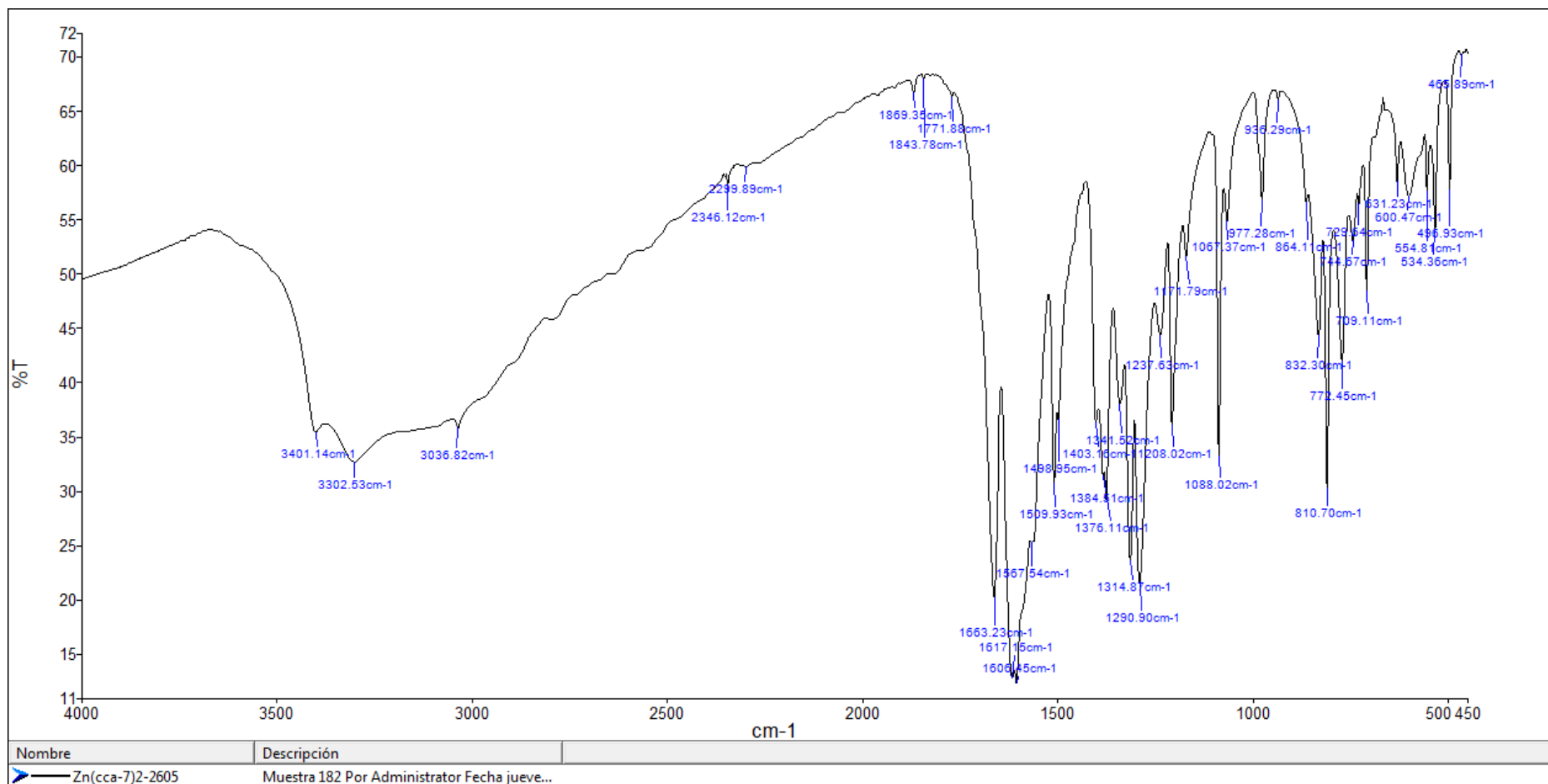
10.4.5. Espectro ^1H -RMN de 7-dietilamino-cumarina-3-carboxilato de sodio.

ANEXO 10.5

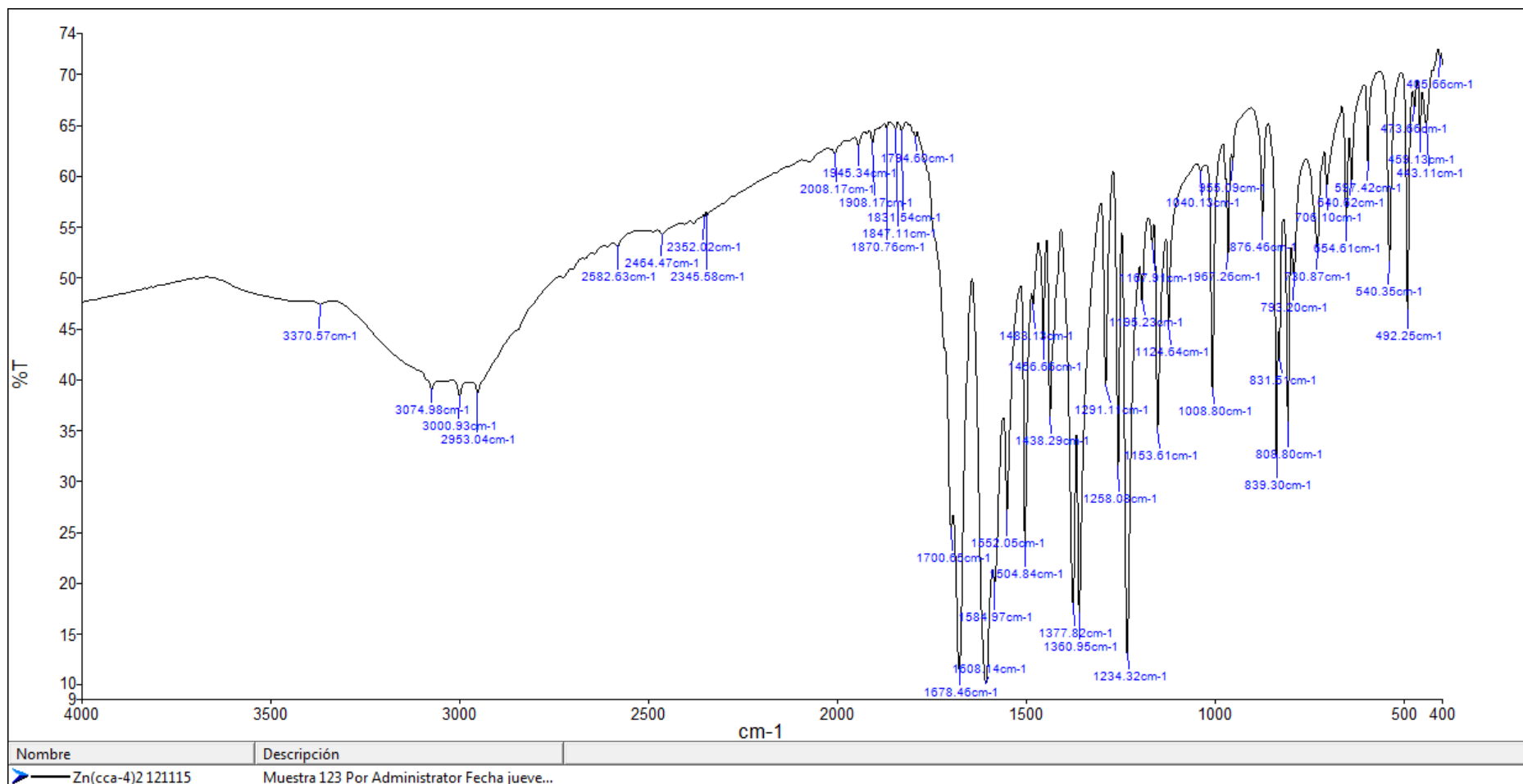
ESPECTROS INFRARROJOS DE LOS COMPLEJOS DE CINCO



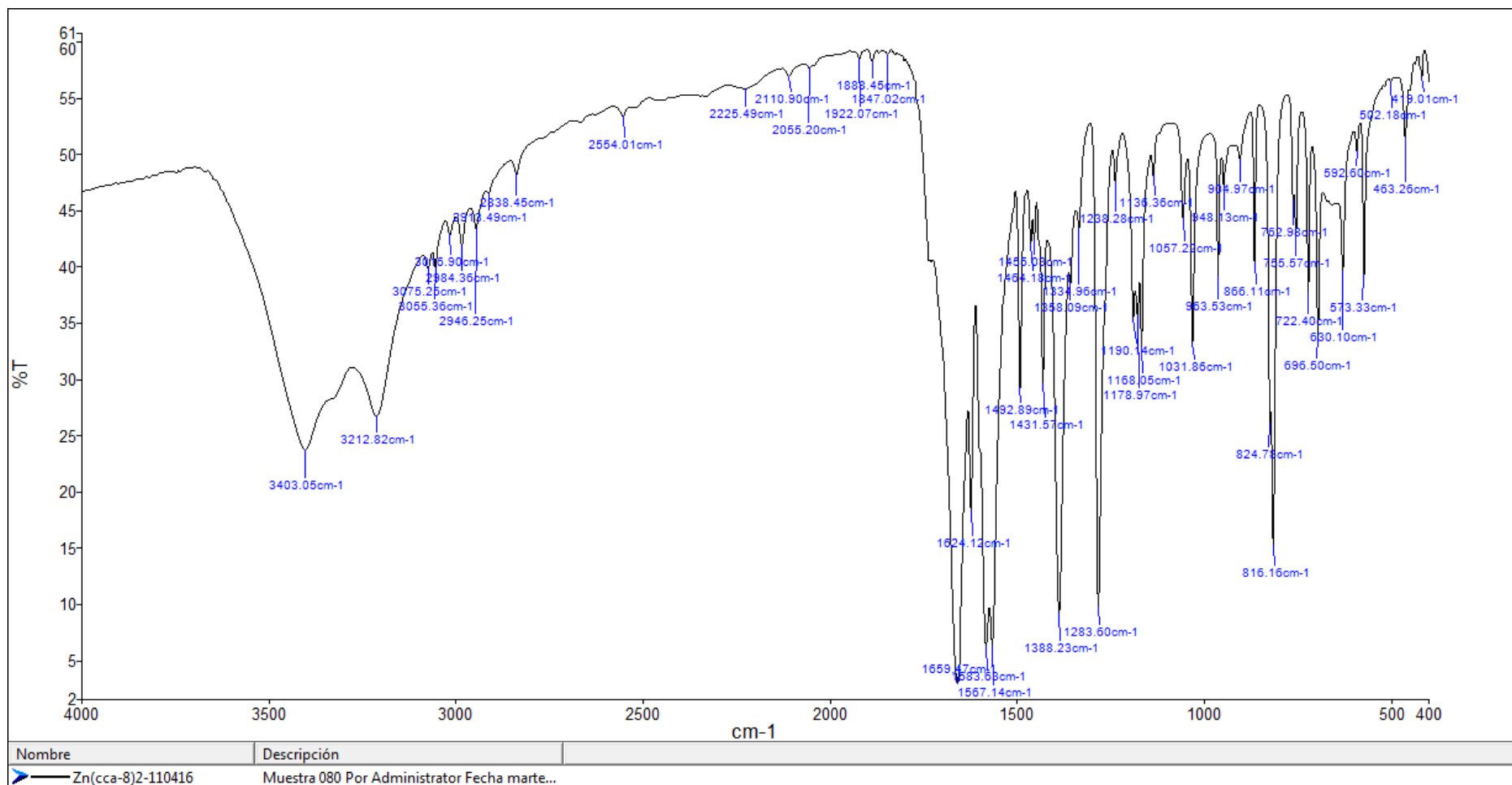
10.5.1. Espectro IR de diacuobis[cumarina-3-carboxilato]cinc(II).



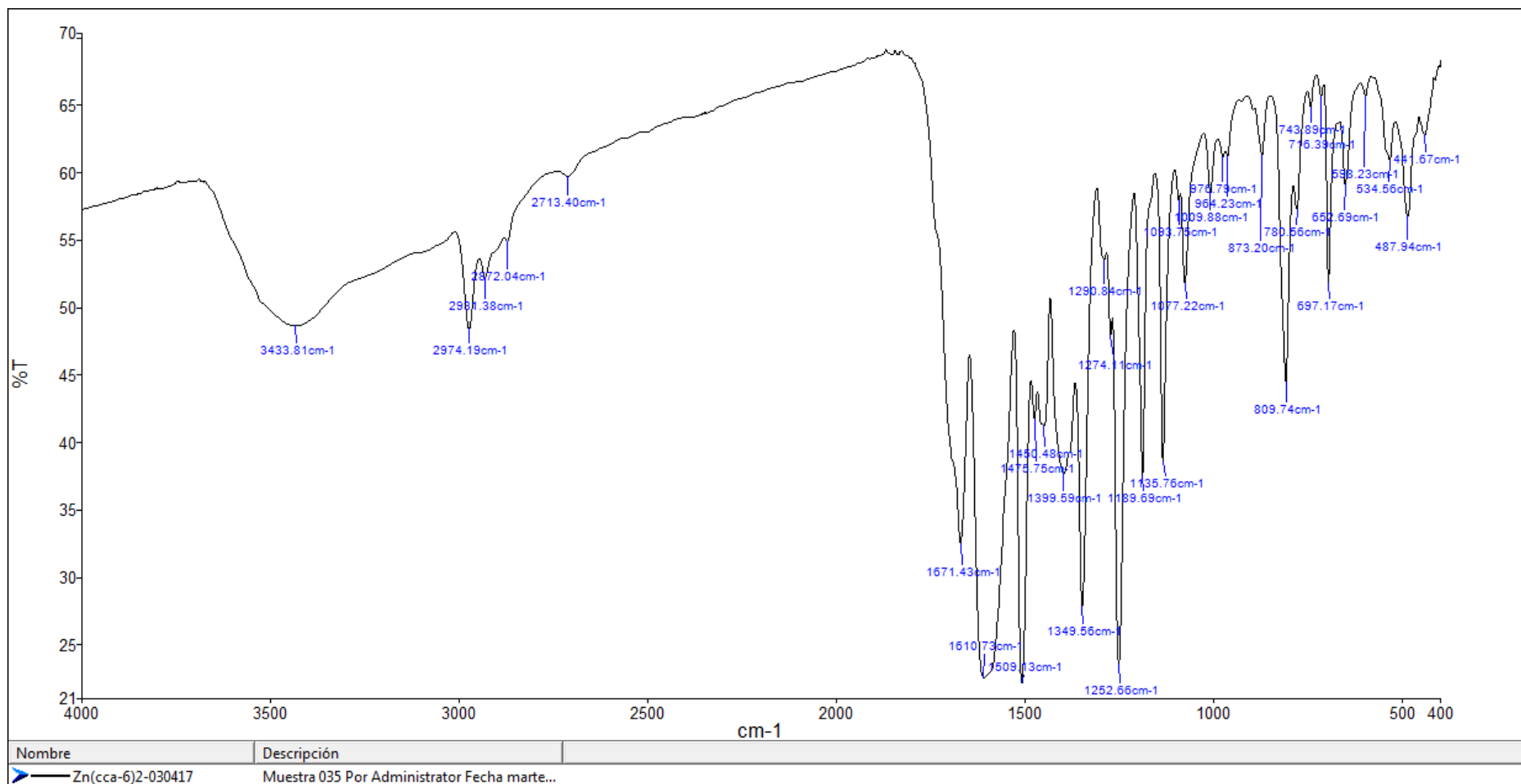
10.5.3. Espectro IR de diacuobis[7,8-dihidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).



10.5.4. Espectro IR de diacuobis[7-metoxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).



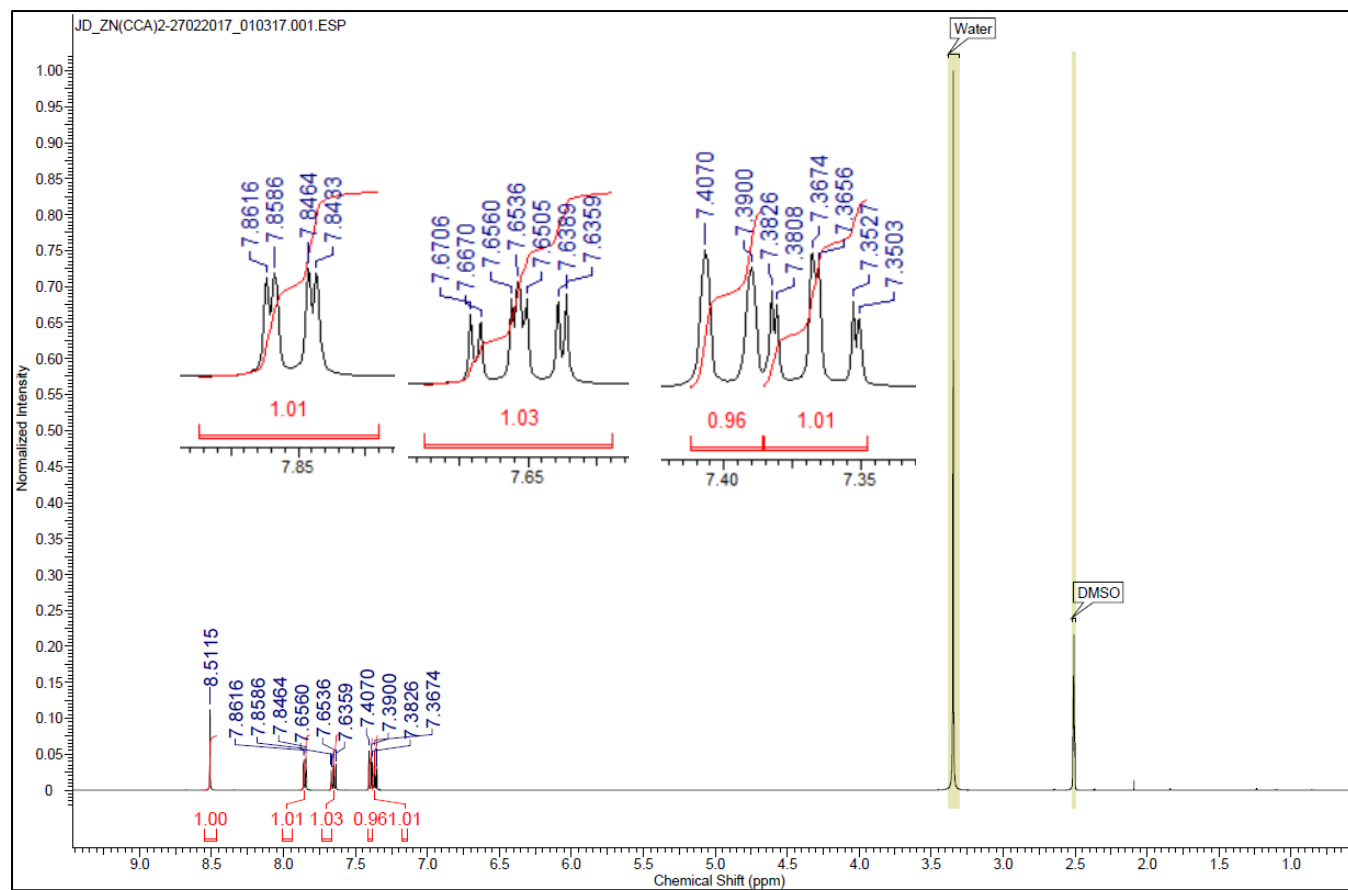
10.5.5. Espectro IR de diacuobis[6-metoxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).



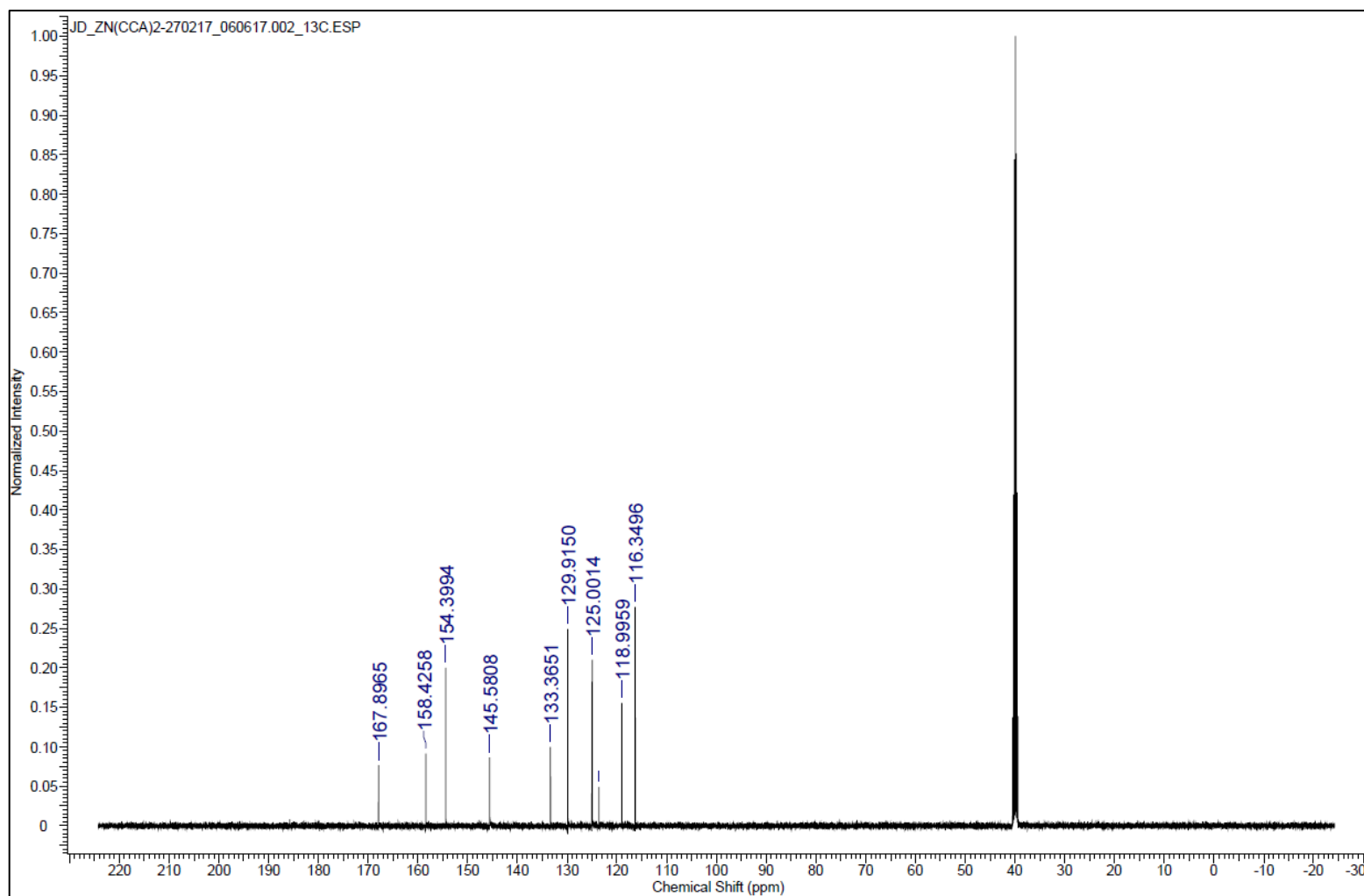
10.5.6. Espectro IR de diacuobis[7-dietilamino-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).

ANEXO 10.6

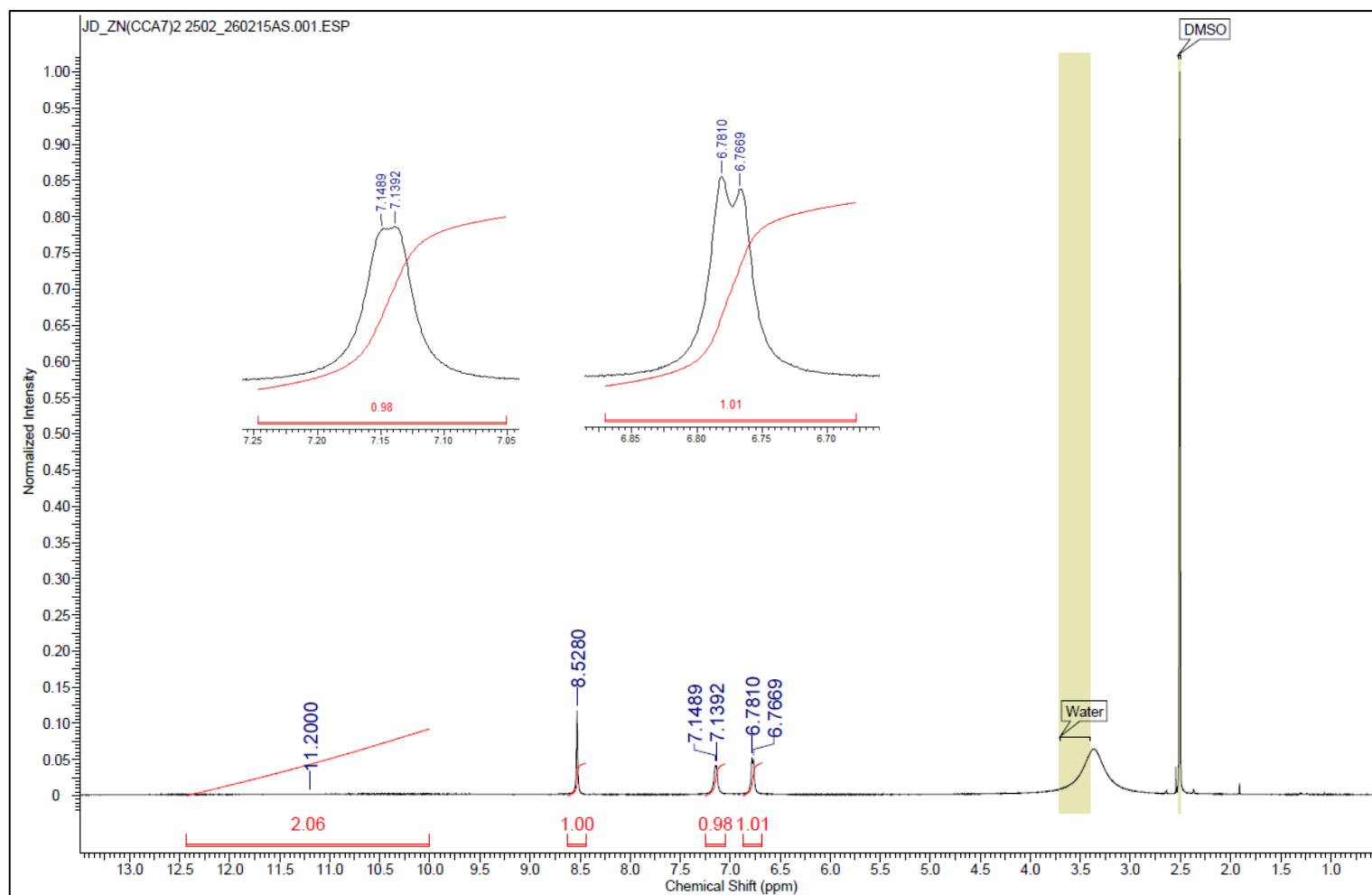
ESPECTROS DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE LOS COMPLEJOS DE CINC



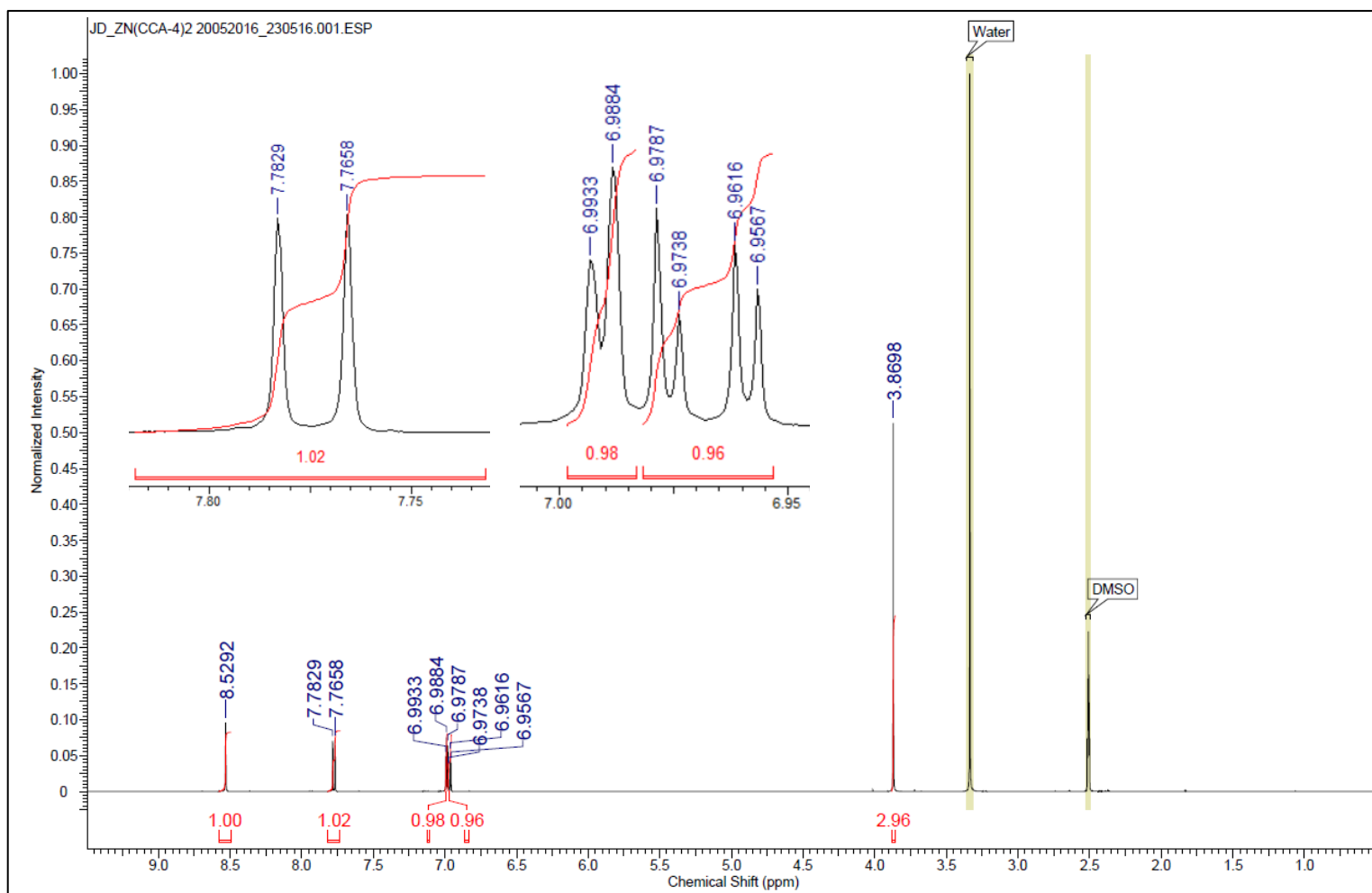
10.6.1. Espectro ^1H -RMN de diacuo[is]cumarin-3-carboxilato]cinc(II).



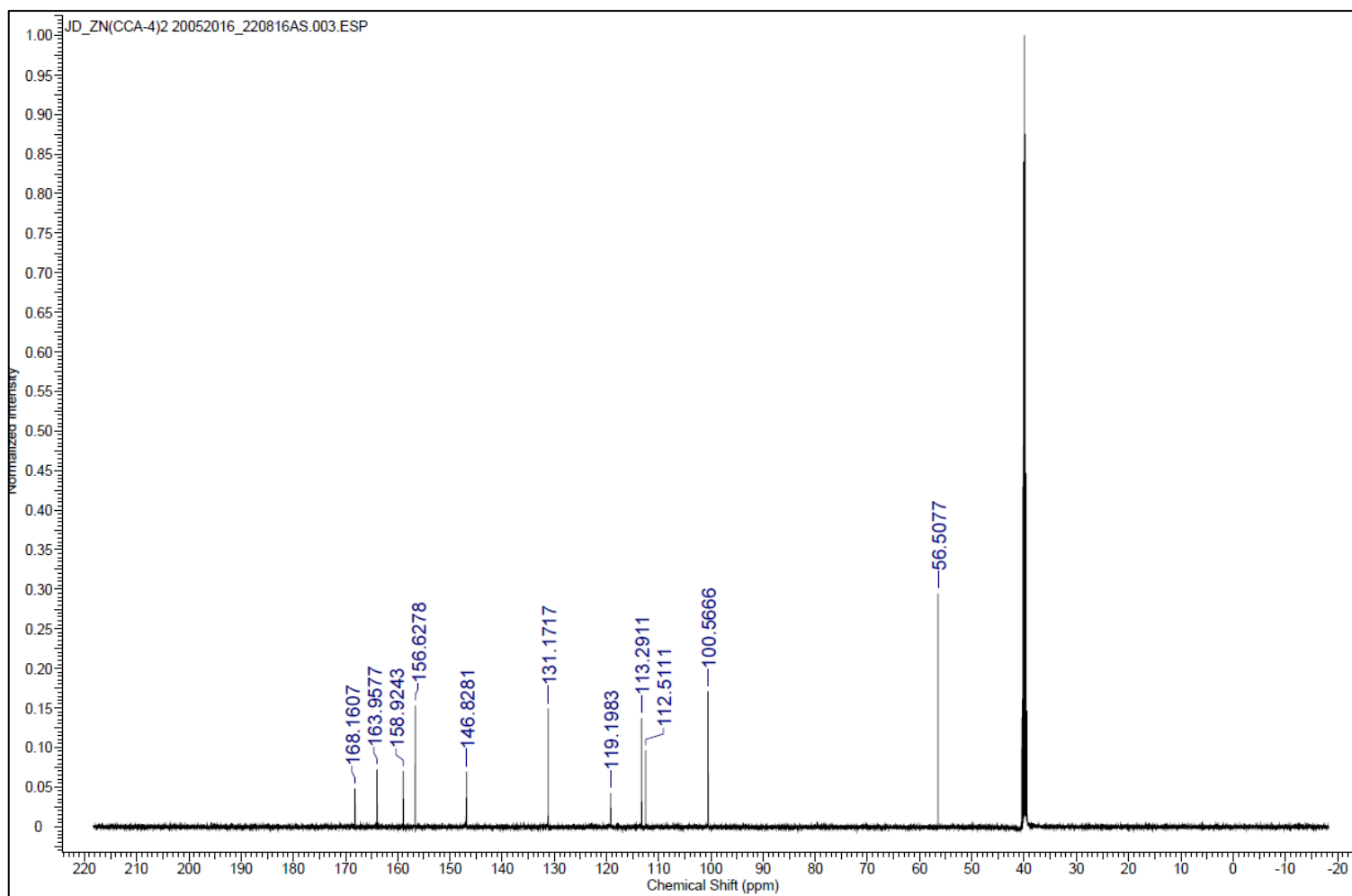
10.6.2. Espectro ^{13}C -RMN de diacuobis[cumarina-3-carboxilato]cinc(II).



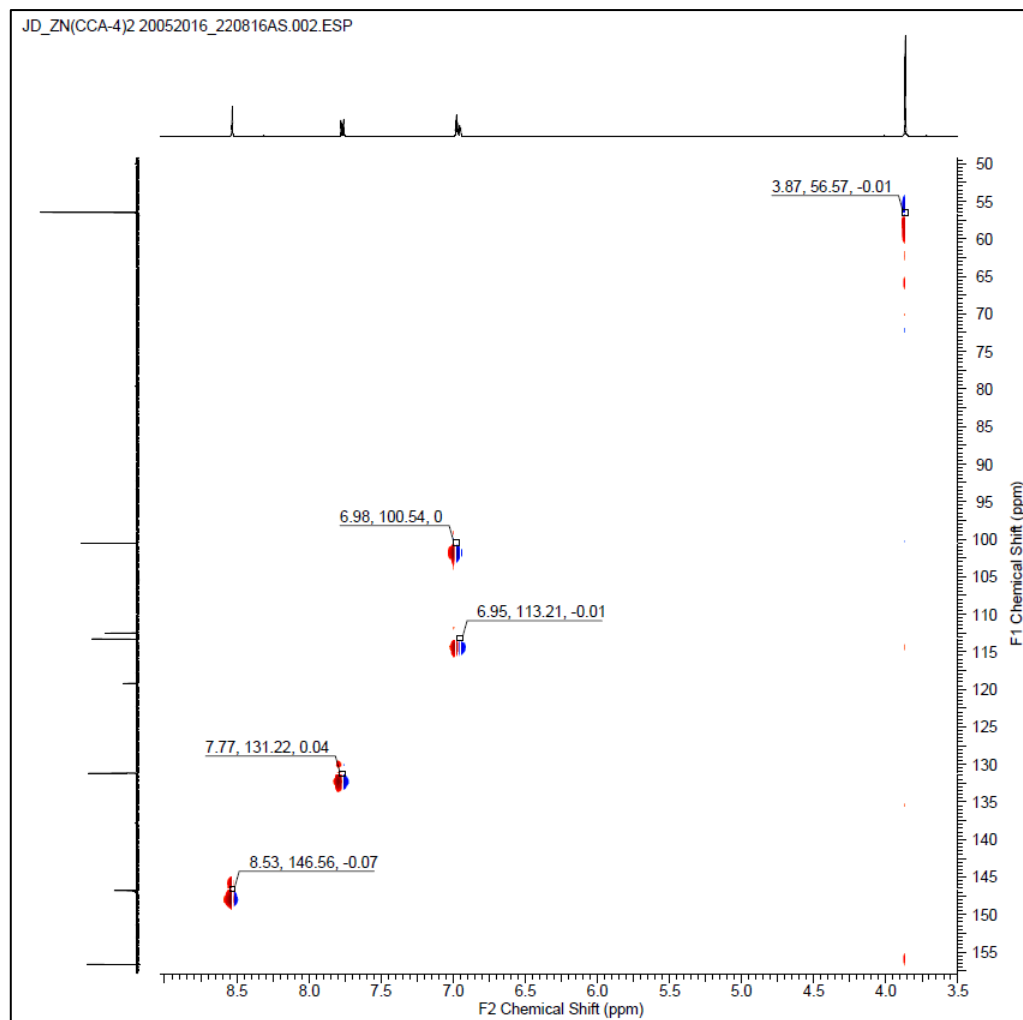
10.6.3. Espectro ^1H -RMN de diacuobis[7,8-dihidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).



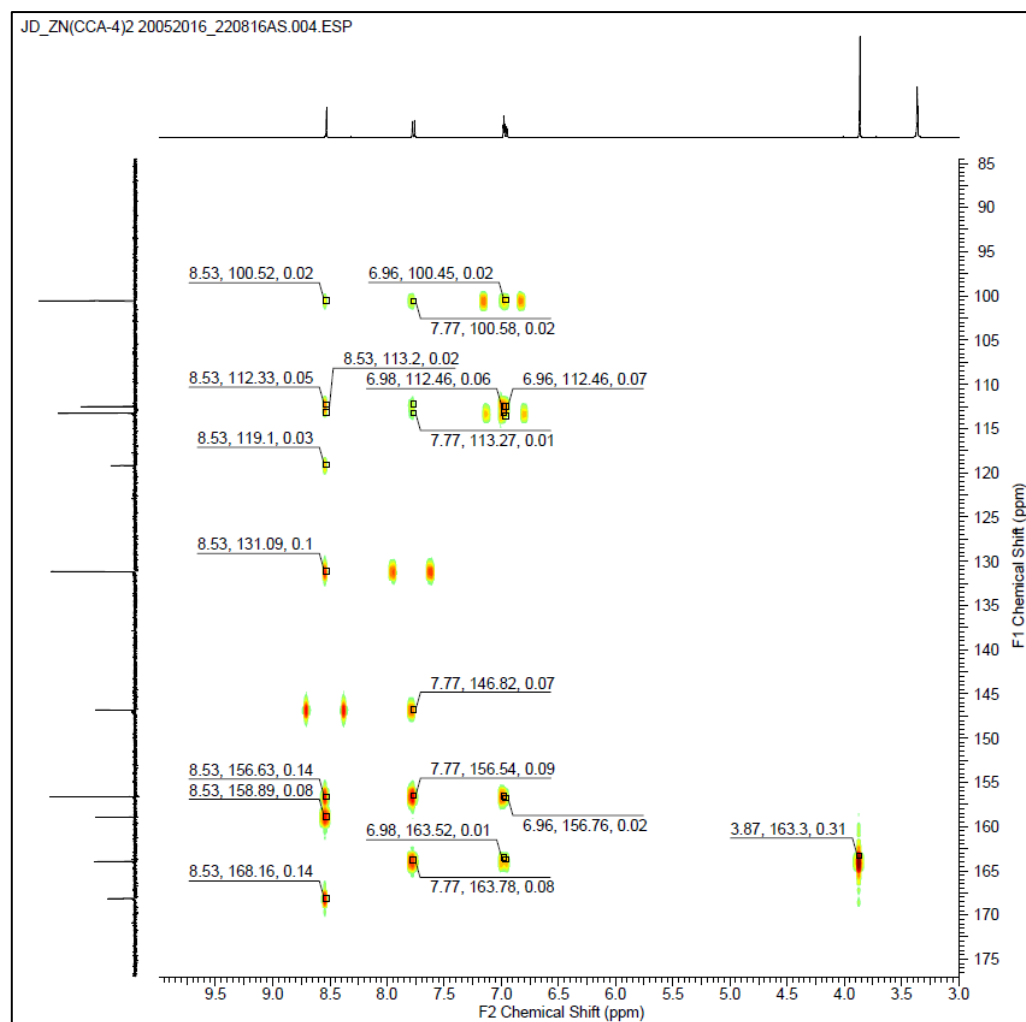
10.6.4. Espectro ^1H -RMN de diacuobis[7-metoxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).



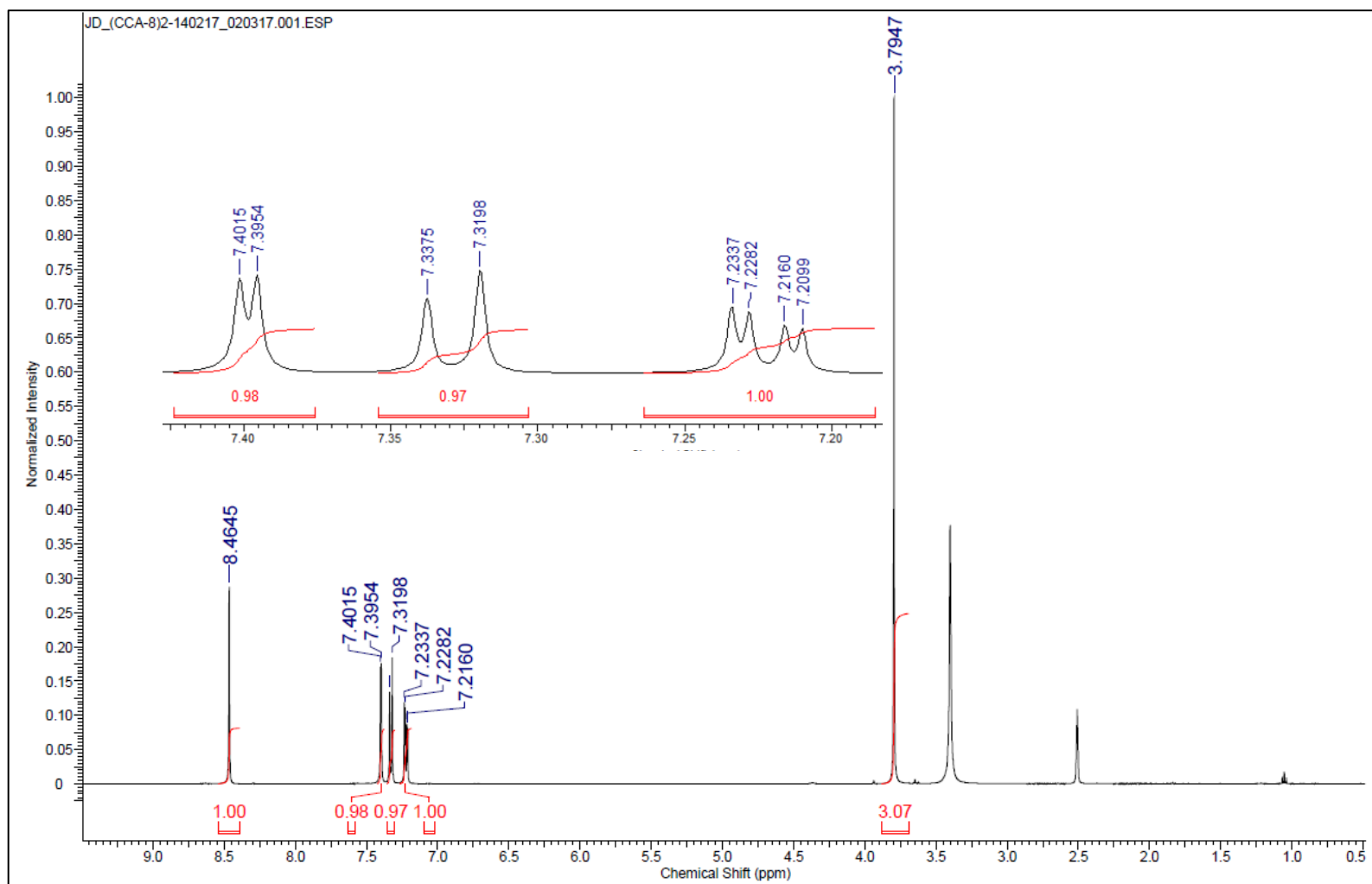
10.6.5. Espectro ^{13}C -RMN de diacuobis[7-metoxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).



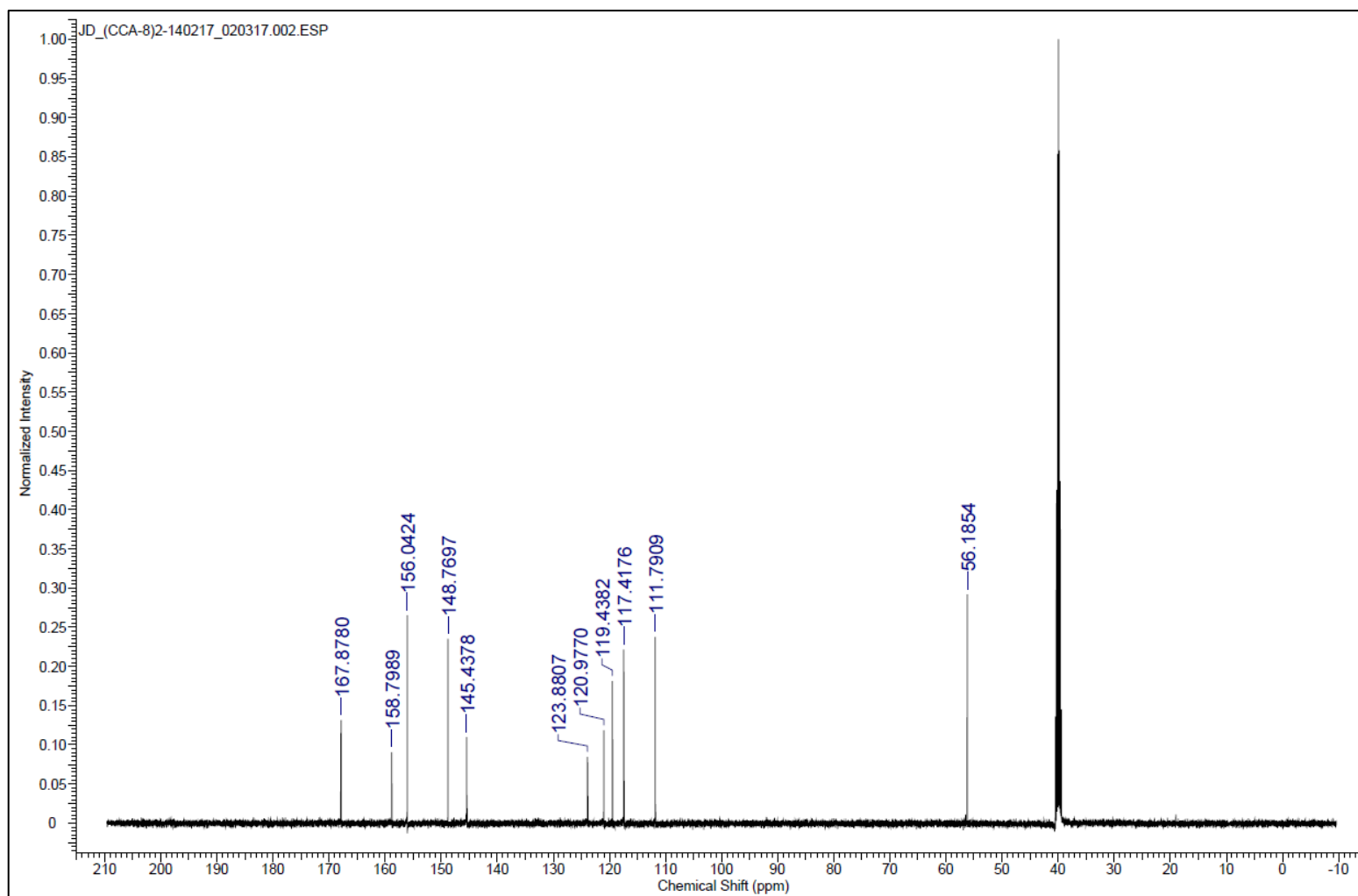
10.6.6. Espectro ^1H - ^{13}C HSQC-RMN de diacuobis[7-metoxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).



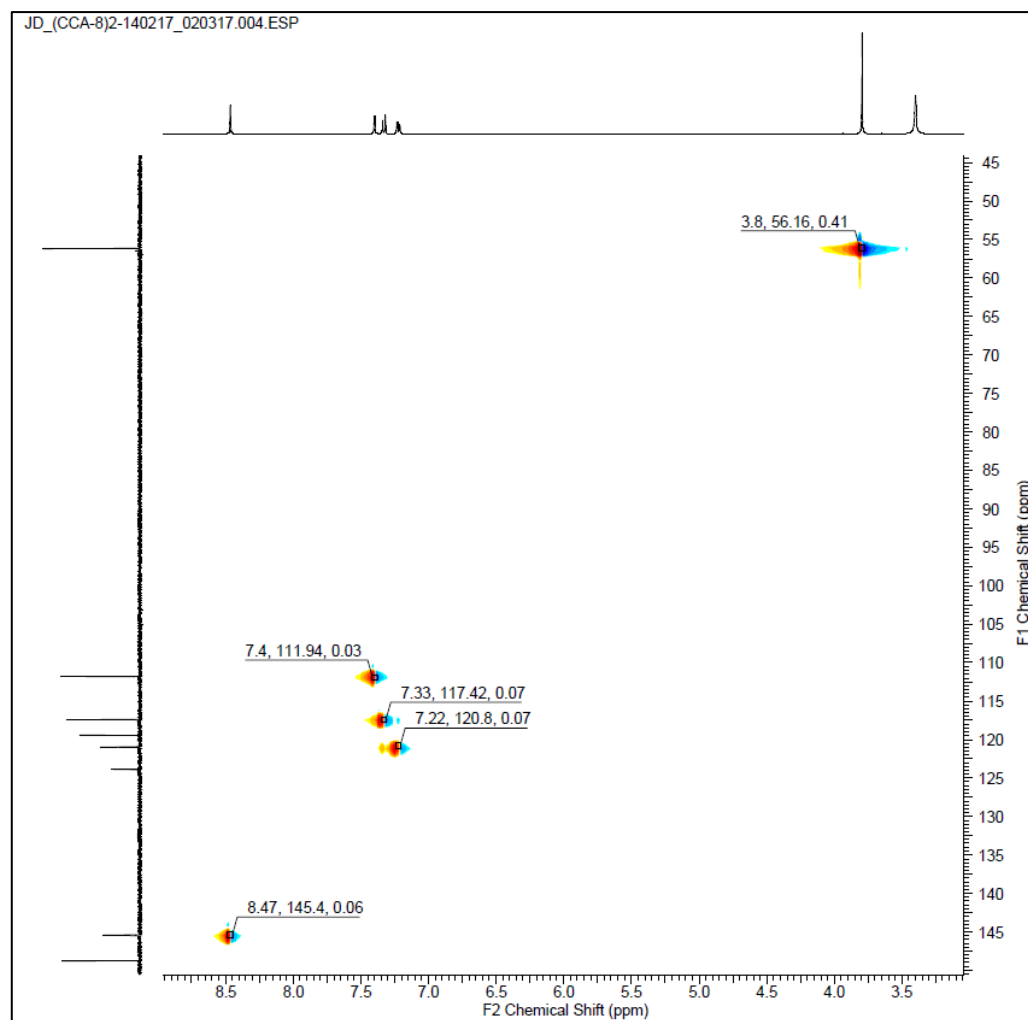
10.6.7. Espectro ^1H - ^{13}C HMBC-RMN de diacuobis[7-metoxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).



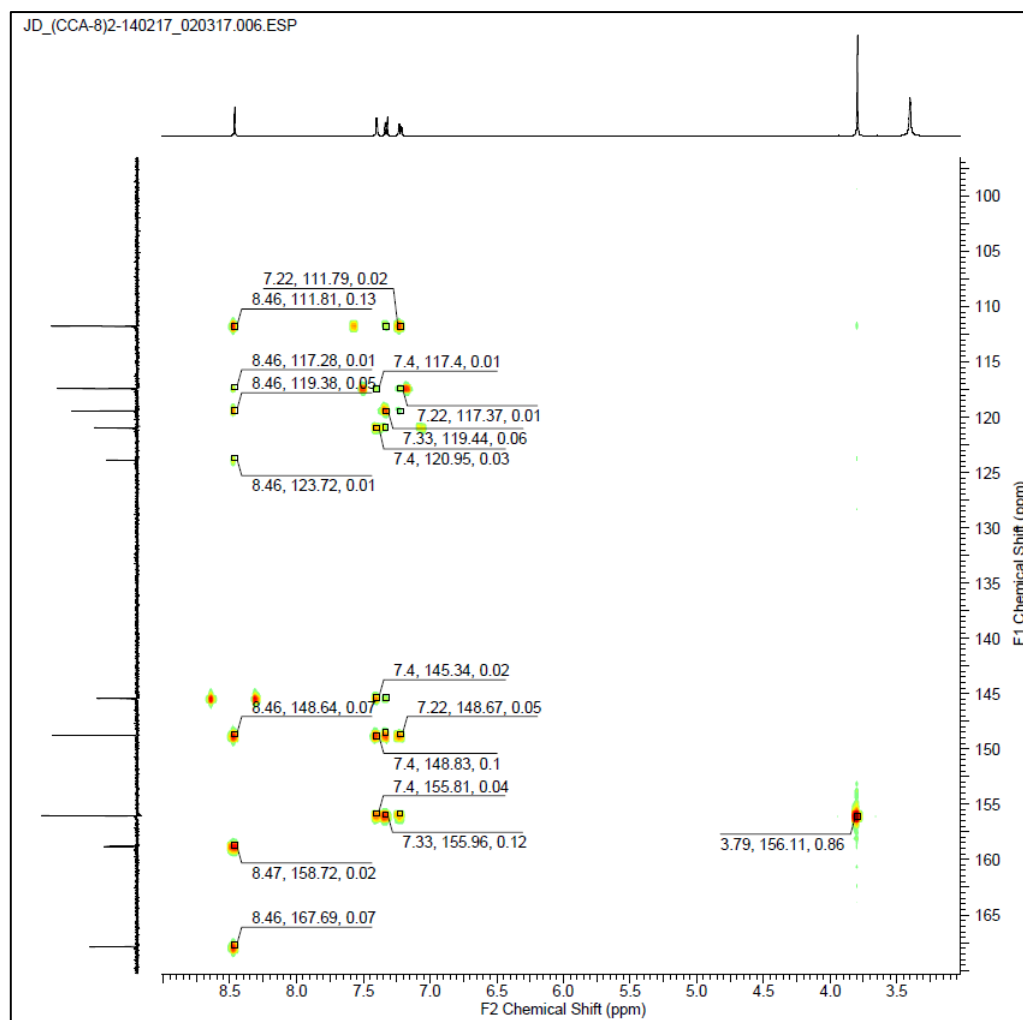
10.6.8. Espectro ^1H -RMN de diacuobis[6-metoxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).



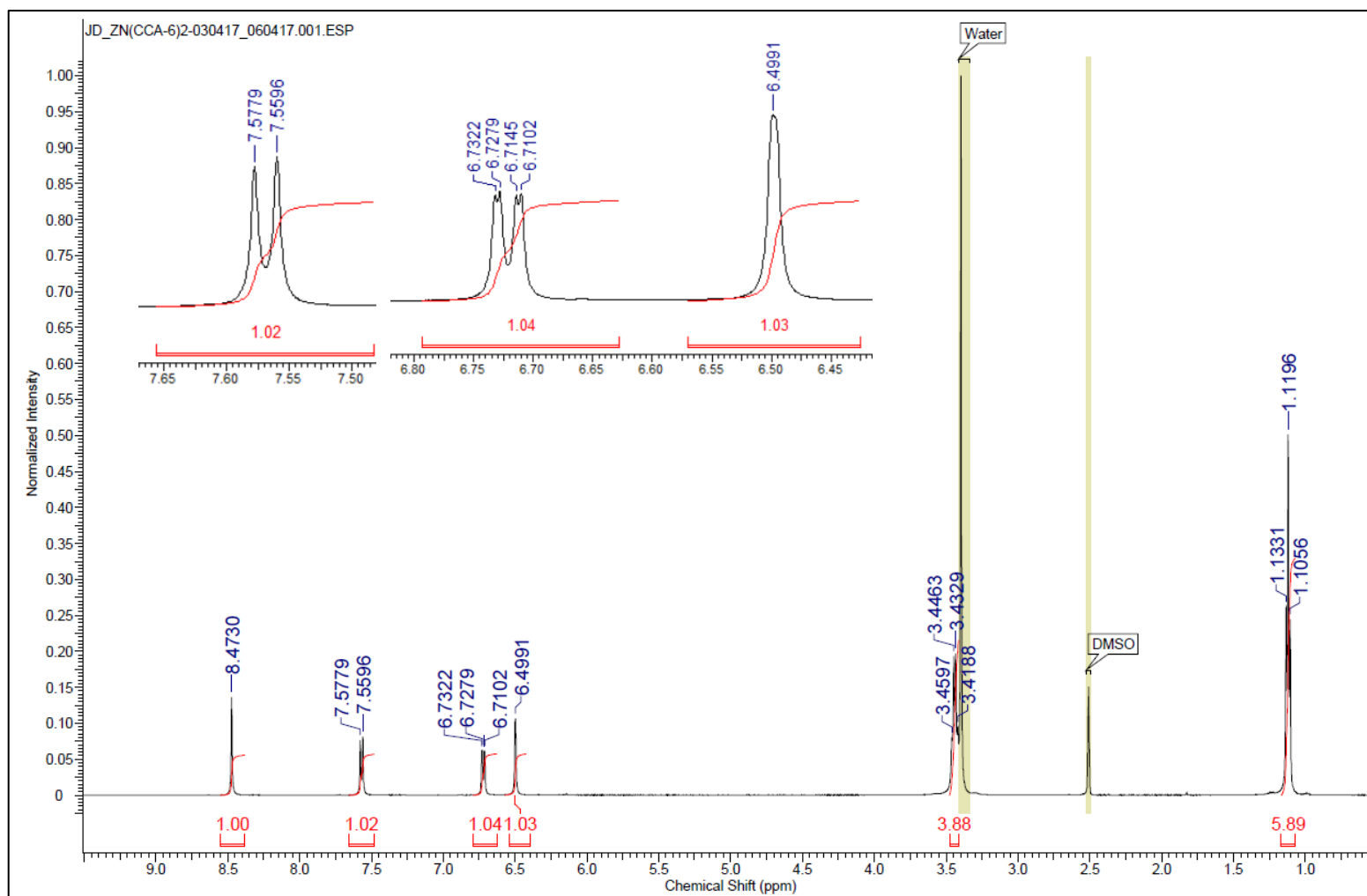
10.6.9. Espectro ^{13}C -RMN de diacuobis[6-metoxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).



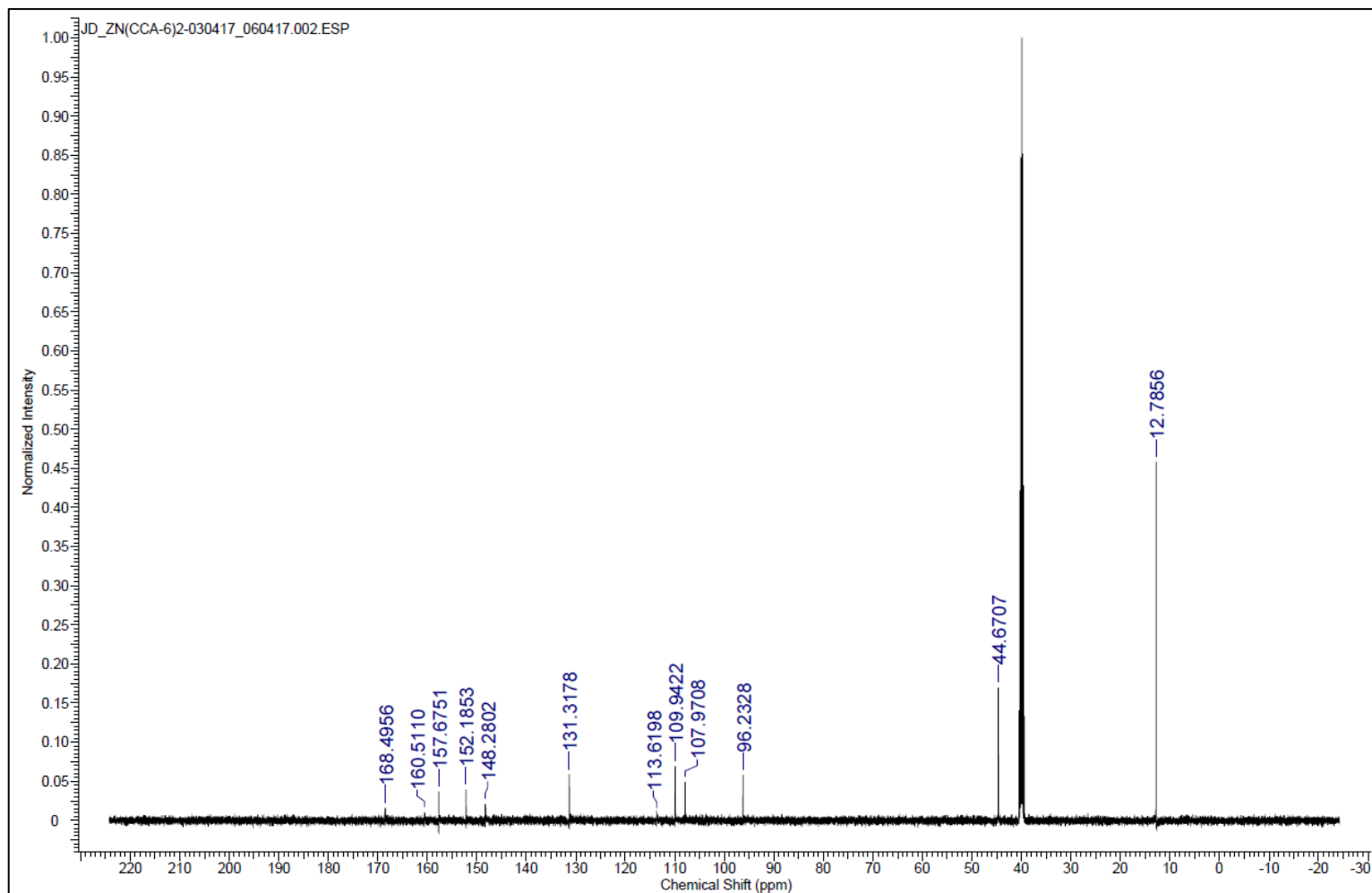
10.6.10. Espectro ^1H - ^{13}C HSQC-RMN de diacuobis[6-metoxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).



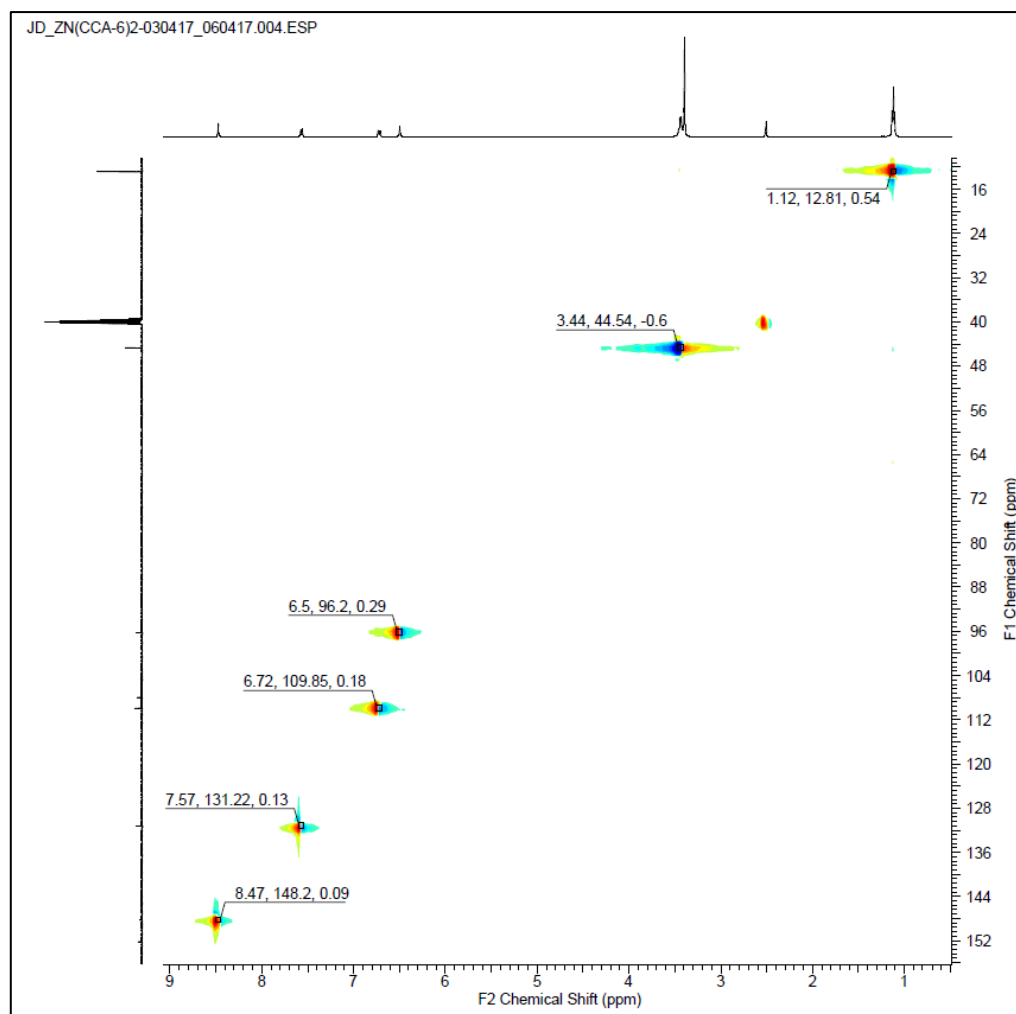
10.6.11. Espectro ^1H - ^{13}C HMBC-RMN de diacuo-bis[6-metoxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).



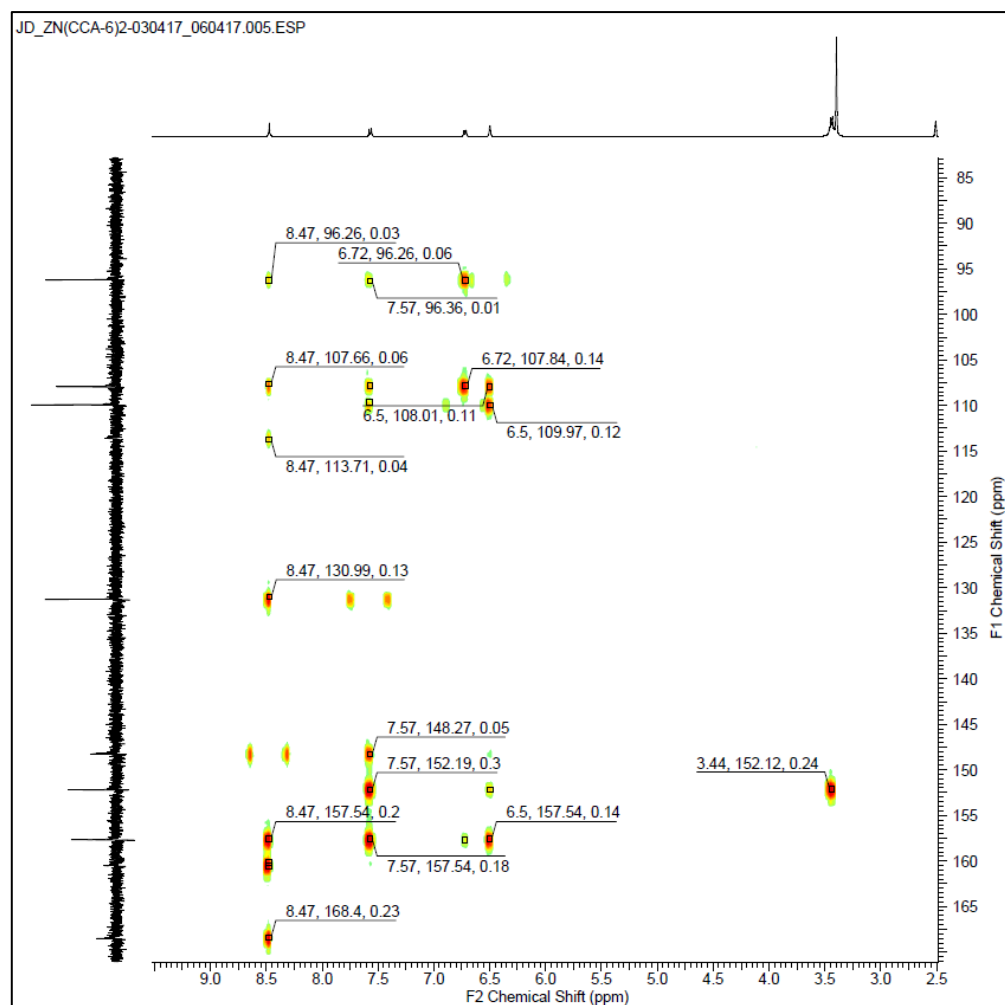
10.6.12. Espectro ^1H -RMN de diacuobis[7-dietilamino-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).



10.6.13. Espectro ^{13}C -RMN de diacuobis[7-dietilamino-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).



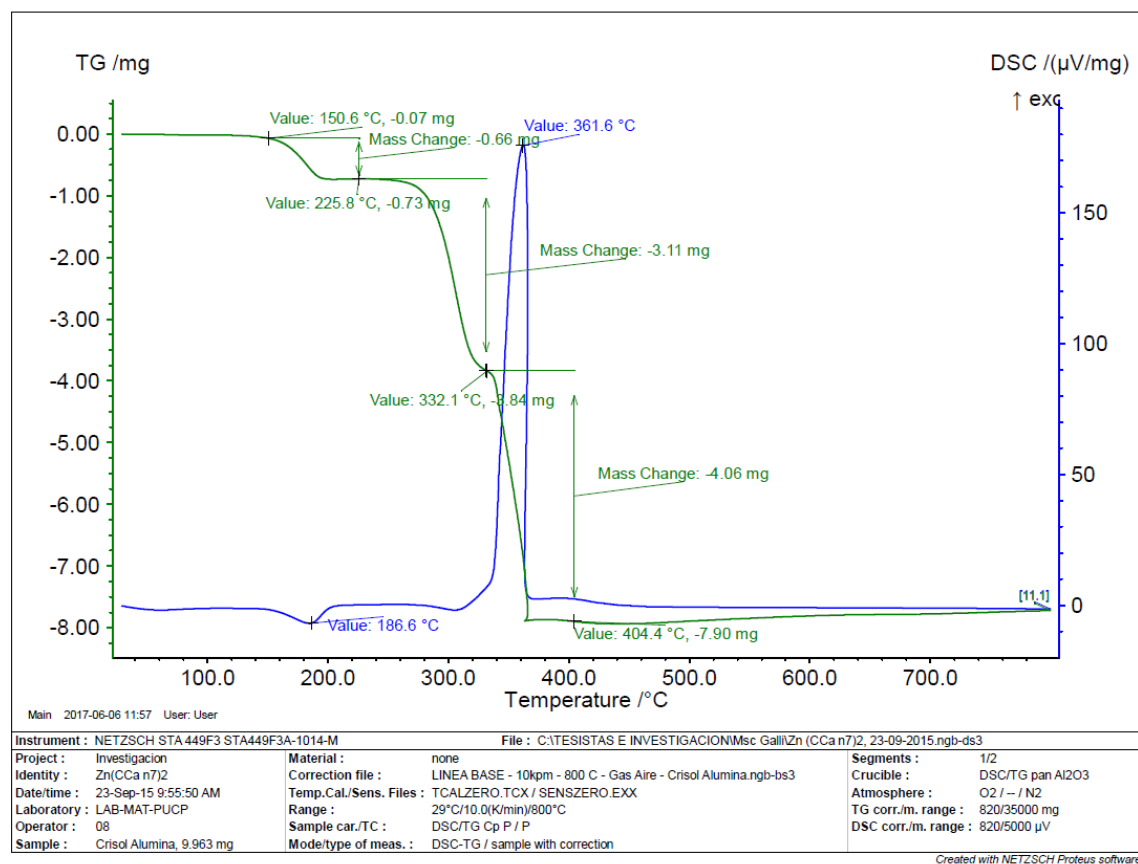
10.6.14. Espectro ^1H - ^{13}C HSQC-RMN de diacuobis[7-dietilamino-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).



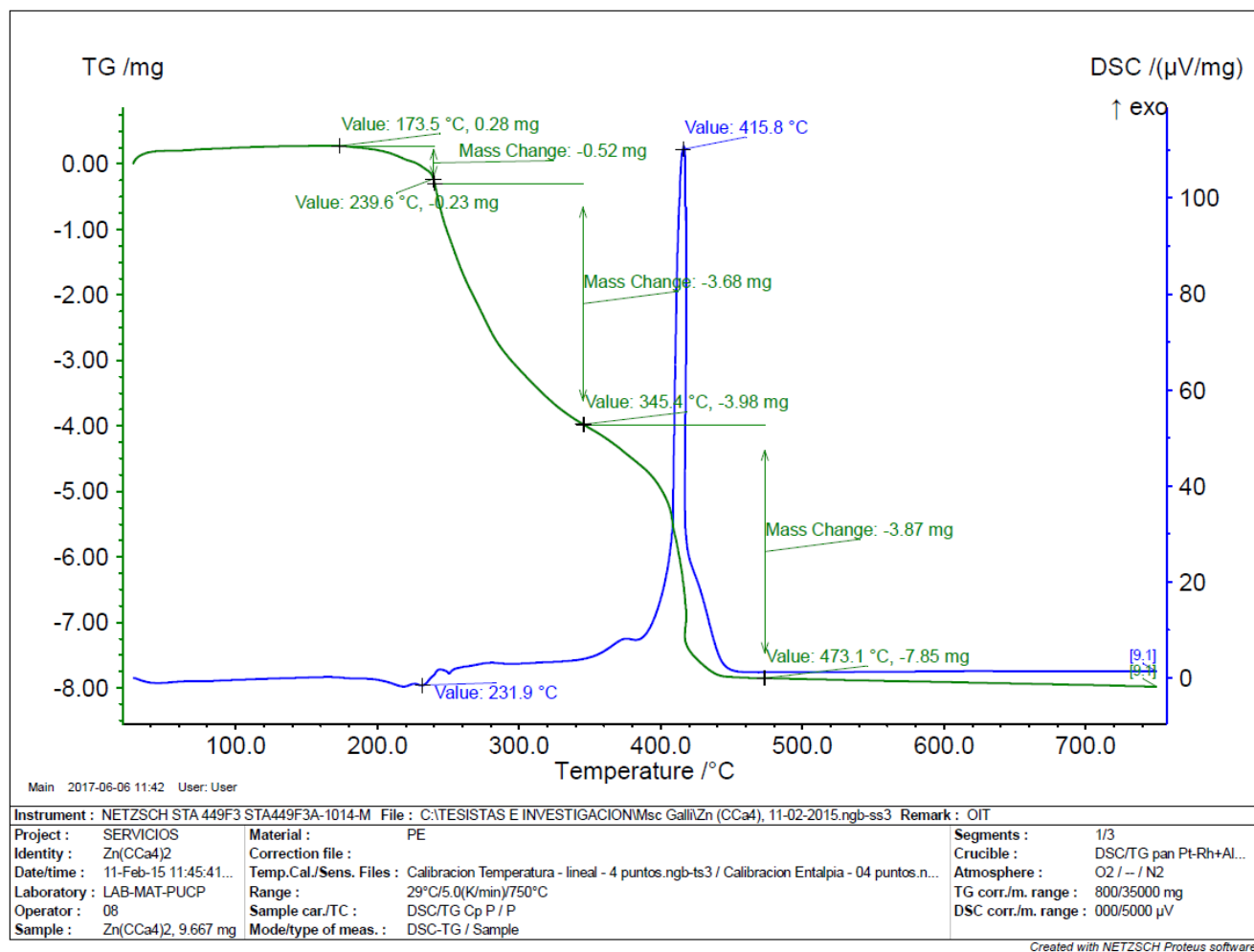
10.6.15. Espectro ^1H - ^{13}C HMBC-RMN de diacubis[7-dietilamino-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).

ANEXO 10.7

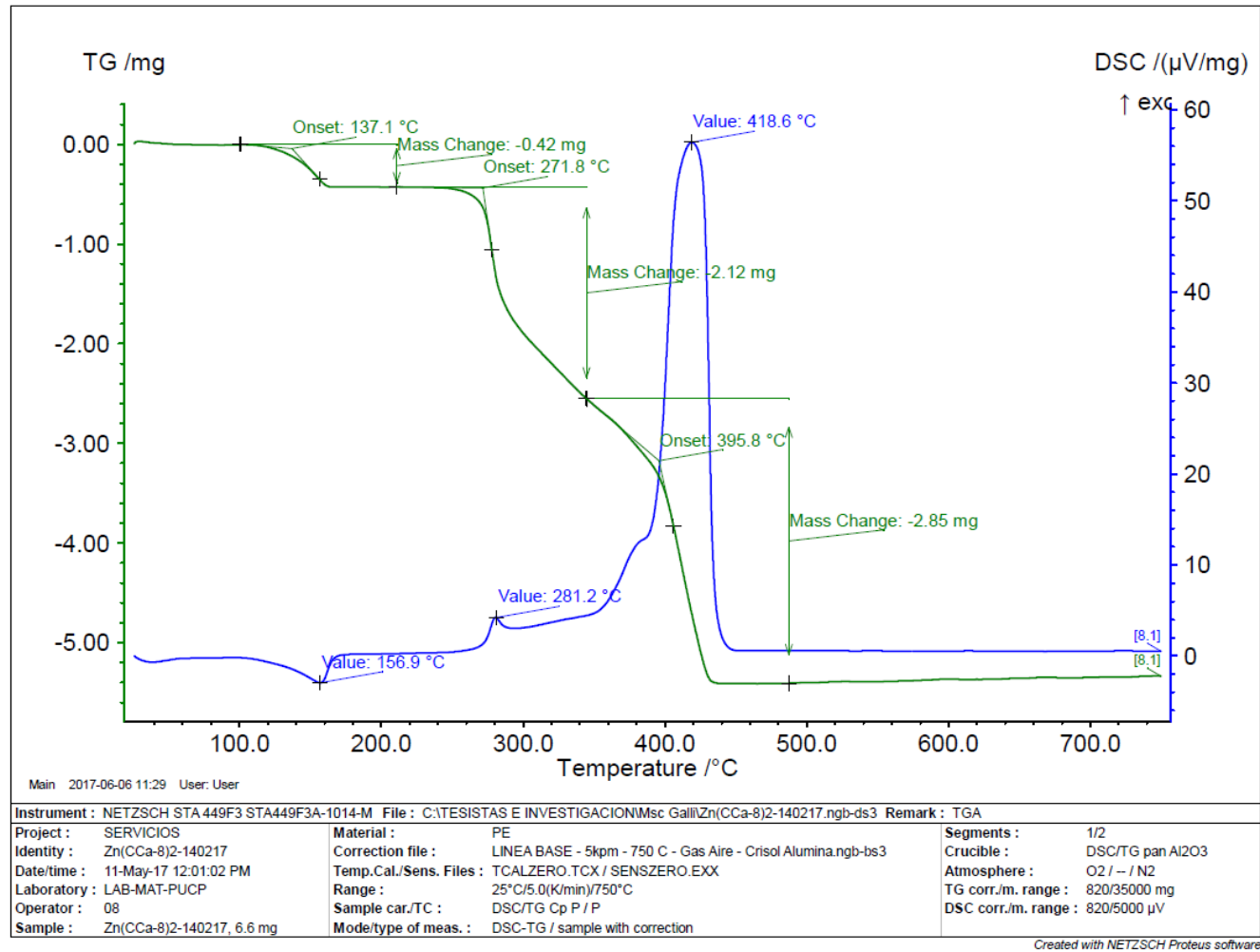
TERMOGRAMAS DE LOS COMPLEJOS DE CINCO



10.7.1. TG/DSC del complejo diacuobis[7,8-dihidroxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).



10.7.2. TG/DSC del complejo diacuobis[7-metoxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).



10.7.3. TG/DSC del complejo diacuobis[6-metoxi-cumarina-3-carboxilato]cinc(II).

ANEXO 10.8

RESOLUCIÓN Y AFINAMIENTO DE LA ESTRUCTURA CRISTALINA

El primer paso en un proceso de resolución estructural a partir de datos de muestra policristalina es la indexación del patrón de difracción. Este se realizó con el programa TREOR, incluido dentro del paquete de programas EXPO2014. Se obtuvo una celda monoclinica con los parámetros: $a=7.06$, $b= 21.52$, $c= 6.67 \text{ \AA}$, con un ángulo $\beta=116.4^\circ$, y un volumen de celda unidad de 907.4 \AA^3 . Las figuras de méritos obtenidas son de muy buena calidad, con un $M(19)$ y $F(19)$ de 63.5 y 115.7. Se considera que valores cercanos a 10 o superiores son indicativos de una gran fiabilidad en la celda para datos obtenidos en difractómetros de laboratorio. El programa EXPO2014 realiza una deconvolución automática de todos los máximos de difracción en base a la celda obtenida y suponiendo la máxima simetría posible (u holohedría). En el caso del sistema monoclinico esta sería el grupo espacial $P2/m$. EXPO2014 analiza los clusters de reflexiones que coinciden o se solapan en el mismo máximo de difracción, para determinar si estas están extintas o no. El análisis sistemático de las extinciones, una vez terminada la deconvolución del patrón de difracción, sugiere como posible grupo espacial el $P21/a$.

Se ha realizado la extracción de intensidades en base a este grupo espacial. En un primer intento se intentó resolver la estructura cristalina ab-initio, sin resultados químicamente razonables. Por ello, en un segundo paso se decidió introducir un modelo estructural aproximado, y realizar un primer intento de localizar las moléculas de metal-cumarina en el espacio real ("Simulated annealing"). Los modelos que se obtuvieron no fueron satisfactorios, solapándose las moléculas metal-cumarina, debido a su repetición por simetría.

Llegados a este punto, se realizó un estudio citaloquímico de complejos metal-cumarina en la base de datos CSD (Cambridge Structural Database). Los diversos complejos metal-cumarina son centrosimétricos, con el centro de simetría localizado en el metal de transición, de tal forma que las dos moléculas de cumarina enlazadas al plano ecuatorial del entorno de coordinación del metal de transición están relacionadas por el centro de simetría localizado en el metal de transición. Teniendo en cuenta esta información se llevó a cabo una resolución estructural en el grupo espacial $P21/a$ en el espacio directo. Para ello se localizó un complejo metal cumarina en la celda cristalográfica previamente obtenida, restringiendo la posición del metal de transición a la posición especial de un centro de simetría. En la localización de la posición del complejo metal-cumarina se afinaron tres grados de libertad para determinar su posición, que son los tres ángulos de rotación de la cumarina, pivotando

el giro sobre el metal de transición. Todo el proceso se realizó con el programa EXPO2014. Una vez obtenido el modelo estructural inicial, se procedió a realizar el afinamiento Rietveld con el programa JANA.

En un primer paso se realizó en análisis de perfil completo del patrón de difracción sin incluir el modelo estructural. De este modo se determinaron con precisión el fondo del patrón de difracción, los parámetros de la celda cristalina, así como la evolución de la anchura media altura de los máximos de difracción en todo el intervalo de $2\theta(^{\circ})$. Se utilizó el modelo de perfil pseudo-Voigt, mezcla entre Gaussiano y Lorenciano. En último estadio se definió la asimetría de los máximos de difracción completando de esta forma el análisis de perfil completo del patrón de difracción.

Una vez finalizado el análisis de perfil completo del patrón de difracción, se comenzó con el análisis Rietveld del mismo. Para ello se fijaron todos los parámetros obtenidos en el análisis de perfil completo previamente realizado, y se introdujo el modelo estructural obtenido en el espacio directo mediante el programa EXPO2014. Antes de comenzar el afinamiento se definieron dos bloques rígidos diferentes (**figura 1**).

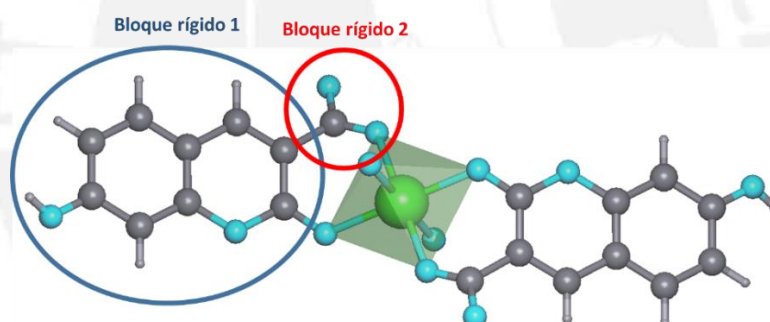


Figura 1.- Modelo estructura inicial del complejo Zn-cumarina mostrando los bloques rígidos definidos al comenzar el afinamiento.

El bloque rígido 1 incluye los dos anillos de la molécula de cumarina, incluido el grupo hidroxilo. Debido a la libertad de rotación de grupo carboxilato de la molécula de cumarina, este se incluyó como segundo bloque rígido en el afinamiento. Antes de comenzar el afinamiento, las distancias y ángulos de enlace entre los átomos de carbón del grupo carboxilato y el anillo de la molécula de cumarina se restringieron a los valores encontrados en otros complejos metal-cumarina encontrados en la base de datos CSD ($d_{C-C} = 1.50 \text{ \AA}$ y ángulos C-C-C, O-C-C y O-C-O a 120°). Del mismo modo, las distancias de enlace entre el átomo de Zn(II) y los átomos de oxígeno de la molécula de cumarina se restringieron a valores químicamente razonables ($Zn-O_{\text{carboxilato}} = 2.20 \text{ \AA}$ y $Zn-O_{\text{hidroxilo}} = 2.40 \text{ \AA}$).

El afinamiento de bloques rígidos permite variar la posición de los mismos tanto en traslación como en rotación. Al definir bloques rígidos se reducen considerablemente las variables a afinar, ya que por cada bloque rígido, solo son necesarias ciclar seis variables para ajustar su posición en la celda unidad, tres variables para la traslación del grupo rígido ($x_{\text{trans.}}$, $y_{\text{trans.}}$, $z_{\text{trans.}}$) y otras tres variables que son los ángulos de rotación de la molécula en tres dimensiones (ϕ , χ y ψ).

El afinamiento se llevó a cabo en diferentes pasos cíclicos, en los cuales se ajustaron inicialmente la rotación y la traslación de los bloques rígidos individualmente. Una vez alcanzada la convergencia, se afinaron conjuntamente la traslación y rotación para cada uno de los bloques rígidos, y finalmente se ajustó tanto la rotación como la traslación de los dos bloques rígidos en conjunto. En este punto del afinamiento se detectó una orientación preferente importante de la familia de planos (0n0) (siendo n par debido a las extinciones sistemáticas del grupo espacial $P2_1/a$). Se modeló dicha orientación preferente con un modelo March-Dollase.

Una vez obtenida la posición aproximada de los bloques rígidos, se restringió las distancias de enlace y ángulos de la molécula de cumarina, afinando las posiciones individuales de sus átomos. En los primeros ciclos las restricciones aplicadas eran bastante rígidas, limitándose el ajuste de la posición de los átomos a las distancias impuestas en la restricción, con un grado de desviación muy pequeño. Una vez obtenida la convergencia, se relajaron las restricciones progresivamente. En un último intento se intentó ciclar el modelo estructural sin restricciones, pero las distancias y distorsión de los anillos de la cumarina se desviaban demasiado de las esperadas teniendo en cuenta los modelos estructurales extraídos de la base de datos CSD. Por ello se optó por un modelo con restricciones en las distancias y ángulos de enlace, pero con cierto grado de libertad para ajustar las posiciones atómicas.

En el último paso del afinamiento los átomos de hidrógeno de los anillos de la cumarina, así como del grupo hidroxilo fueron localizados en base a criterios geométricos. Se intentaron localizar también los átomos de hidrógeno de las moléculas de agua de coordinación enlazadas al átomo de Zn(II) sin éxito. Ya que a pesar de obtener diferentes posiciones para los átomos de hidrógeno, la distancia entre los mismos y los átomos de hidrógeno de los grupos hidroxilo de moléculas Zn(II)-cumarina adyacentes son demasiado cortos como para tener sentido químico. En este sentido, un modelo en el que los átomos de hidrógeno de la molécula de agua estuviesen desordenados en dos posiciones podría solventar el problema mencionado. Sin embargo, teniendo en cuenta que los datos de difracción en polvo limitan el afinamiento estructural, se ha optado por un modelo sin átomos de hidrógeno en las

moléculas de agua enlazadas al metal de transición. A pesar de esta falta de información en el modelo estructural, en el estudio cristalográfico, el cálculo de los posibles enlaces de hidrógeno se realizará teniendo en cuenta la distancia de enlace entre posibles átomos donores y aceptores.

El afinamiento final, así como cierta información del modelo estructural y factores de acuerdo finales del afinamiento se muestran en la **Figura 1 y Tabla 1**.

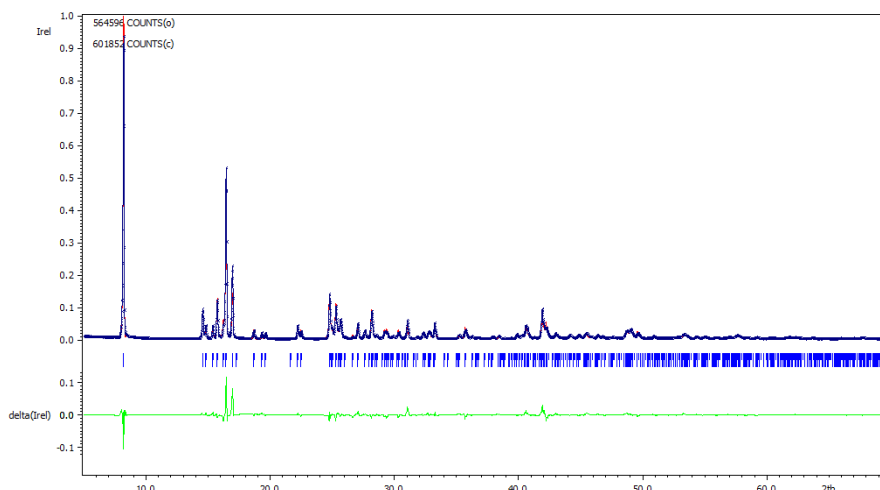


Figura 2.- Afinamiento Rietveld de la fase $(M(II)(H_2O)_2Cum-OH)$. Puntos rojos: Observado. Línea azul: Calculado. Línea verde: diferencia entre los datos experimentales y el modelo teórico. Barras verticales: posición de las reflexiones.

Tabla 1: Parámetros de celda de la fase $M(II)(H_2O)_2Cum-OH$.

Crystal data	Data collection
$C_{20}H_{10}O_{12}Zn_1$	$2\theta_{min} = 5.00$, $2\theta_{max} = 70.01$
$M_r = 507.7$	Increment in $2\theta = 0.02^\circ$
Monoclinic, $P2_1/a$	Refinement
$Z = 2$	$R_p = 0.108$
$T = 293$ K	$R_{wp} = 0.146$
$\lambda = 1.5418$ Å	$R_{exp} = 0.011$
$a = 7.0664$ (3) Å	$S = 13.38$
$b = 21.5326$ (10) Å	Profile function: Pseudo-Voigt
$c = 6.6686$ (4) Å	65 parameters
$\beta = 116.407$ (5) $^\circ$	47 restraints
$V = 908.81$ (9) Å ³	Preferred orientation correction: March & Dollase

Tabla 2.- Distancias y ángulos de enlace en la estructura cristalina $(\text{Zn(II)})(\text{H}_2\text{O})_2(\text{Cum-OH})_2$.

Zn1—O3	2.17 (2)	C17a—C18a	1.390 (19)
Zn1—O3 ⁱ	2.17 (2)	C17a—O24a	1.390 (16)
Zn1—O6a	2.094 (10)	C17a—C37a	1.401 (10)
Zn1—O6a ⁱ	2.094 (10)	C18a—C19a	1.421 (11)
Zn1—O8a	2.182 (12)	C19a—C21a	1.363 (19)
Zn1—O8a ⁱ	2.182 (12)	C19a—H1c19a	0.9627
O6a—C22a	1.248 (19)	C21a—C22a	1.42 (2)
C9a—C11a	1.395 (13)	C21a—C23a	1.503 (9)
C9a—C18a	1.399 (16)	C22a—O24a	1.399 (10)
C9a—H1c9a	0.9588	O36a—H1o36a	0.835 (14)
C11a—C13a	1.40 (2)	C37a—H1c37a	0.9635
C11a—H1c11a	0.9625	O7a—C23a	1.361 (15)
C13a—O36a	1.200 (10)	O8a—C23a	1.170 (11)
C13a—C37a	1.390 (16)		
O3—Zn1—O3 ⁱ	180.0 (5)	C18a—C17a—O24a	120.1 (7)
O3—Zn1—O6a	88.6 (6)	C18a—C17a—C37a	120.0 (10)
O3—Zn1—O6a ⁱ	91.4 (6)	O24a—C17a—C37a	119.8 (12)
O3—Zn1—O8a	88.1 (6)	C9a—C18a—C17a	120.0 (8)
O3—Zn1—O8a ⁱ	91.9 (6)	C9a—C18a—C19a	120.1 (14)
O3 ⁱ —Zn1—O6a	91.4 (6)	C17a—C18a—C19a	119.8 (12)
O3 ⁱ —Zn1—O6a ⁱ	88.6 (6)	C18a—C19a—C21a	120.3 (16)
O3 ⁱ —Zn1—O8a	91.9 (6)	C18a—C19a—H1c19a	119.83
O3 ⁱ —Zn1—O8a ⁱ	88.1 (6)	C21a—C19a—H1c19a	119.88
O6a—Zn1—O6a ⁱ	180.0 (5)	C19a—C21a—C22a	119.9 (9)
O6a—Zn1—O8a	84.9 (5)	C19a—C21a—C23a	117.4 (12)
O6a—Zn1—O8a ⁱ	95.1 (5)	C22a—C21a—C23a	122.2 (10)
O6a ⁱ —Zn1—O8a	95.1 (5)	O6a—C22a—C21a	125.1 (11)
O6a ⁱ —Zn1—O8a ⁱ	84.9 (5)	O6a—C22a—O24a	113.4 (12)

O8a—Zn1—O8a ⁱ	180.0 (5)	C21a—C22a—O24a	119.9 (11)
Zn1—O6a—C22a	125.4 (15)	C17a—O24a—C22a	120.0 (12)
C11a—C9a—C18a	119.8 (12)	C13a—O36a—H1o36a	117.8 (17)
C11a—C9a—H1c9a	120.15	C13a—C37a—C17a	120.2 (12)
C18a—C9a—H1c9a	120.03	C13a—C37a—H1c37a	119.87
C9a—C11a—C13a	120.2 (11)	C17a—C37a—H1c37a	119.93
C9a—C11a—H1c11a	119.8	Zn1—O8a—C23a	128.7 (9)
C13a—C11a—H1c11a	119.97	C21a—C23a—O7a	119.9 (8)
C11a—C13a—O36a	120.1 (12)	C21a—C23a—O8a	120.3 (10)
C11a—C13a—C37a	119.7 (8)	O7a—C23a—O8a	119.8 (8)
O36a—C13a—C37a	120.2 (13)		

Symmetry codes: **(i) $-x+2, -y, -z+2$.**

