



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

Posgrado en Ciencias Químicas

TESIS:

“Síntesis y caracterización de compuestos de coordinación derivados de cobre, bis-tris metano y antimicrobianos imidazólicos”

Para obtener el grado de Maestría en Ciencias Químicas.

PRESENTA:

QFB. Monserrat Fortis Valera

Director de tesis:

Dr. Samuel Hernández Anzaldo

Codirectora:

Dra. Rosa Elena Arroyo Carmona

Asesor metodológico:

M.C. Aarón Pérez Benítez

Diciembre, 2023

1 CAPÍTULO

INTRODUCCIÓN

1.1 Introducción.....	13
1.2 Justificación.....	14
1.3 Antecedentes	15
1.4 Hipótesis	22
1.5 Objetivo general.....	22
1.5.1 Objetivos específicos	22

2 CAPÍTULO

MARCO TEÓRICO

2.1 Generalidades	24
2.2 Espectroscopías vibracionales: IR y Raman.....	25
Espectroscopía infrarroja (IR).....	25
Vibración de una molécula diatómica.....	26
La constante de fuerza k	27
Modos vibracionales y reglas de selección.....	28
Accesorio ATR.....	29
Espectroscopía Raman.....	31
Fundamento.....	31
Reglas de selección.....	32
2.3 Espectroscopia de absorción electrónica: UV-Vis.....	33
Ley de Bouguer, Lambert y Beer.....	37

Reglas de selección e intensidad de las bandas de absorción	38
2.4 Resonancia Magnética Nuclear	40
Fundamento.....	40
Mecanismo de absorción del campo magnético (Resonancia).....	42
Contribuciones al desplazamiento químico.....	43
Mecanismos de relajación	44
2.5 Difracción de Rayos-X en monocristal.....	46
Estructura cristalina	50
Refinamiento cristalino	52
Análisis <i>graph-set</i> en estructuras cristalinas	53
2.6 Pruebas de sensibilidad antimicrobiana.....	54
Método de difusión en disco	56
Método de dilución	57
Control de calidad	57

3 CAPÍTULO

METODOLOGÍA

3.1 Disolventes y Reactivos	60
3.2 Equipos	60
3.3 Aislamiento de materia prima (metronidazol y fluconazol).....	62
a) Metronidazol.....	62
b) Fluconazol.....	62
3.4 Síntesis de los precursores FIPRAY y FIPBROMO.....	63
a) Fipray.....	64
b) Fipbromo.....	64

3.5 Síntesis de los compuestos propuestos.....	65
1) Síntesis de XUBNIR.....	65
2) Reacción de Fipbromo con metronidazol.....	66
3) Síntesis de FIPRAY-H.....	67
4) FIPRAY con 4-nitroimidazol.....	68

4 CAPÍTULO

RESULTADOS Y SU DISCUSIÓN

4.1 Resultados y su discusión.....	70
Temperatura de fusión.....	70
Espectroscopia de infrarrojo y RAMAN.....	71
Espectroscopia UV-Visible.....	78
Resonancia Magnética Nuclear de protón (RMN- ¹ H).....	84
Difracción de Rayos-X.....	94
Análisis microbiológicos.....	103

5 CAPÍTULO

CONCLUSIONES

5.1 Conclusiones.....	110
-----------------------	-----

Bibliografía.....	111
Anexos.....	120

AGRADECIMIENTOS

DEDICATORIA

Abreviaturas

ATCC	Siglas en inglés: (American Type Culture Collection)
ATR	Siglas en inglés de Reflectancia Total Atenuada: (Attenuated Total Reflectance)
bis-tris Metano	2-[bis(2-hidroxietil)amino]-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol
CCDC	Siglas en inglés del Centro cristalográfico de Cambridge (<i>Cambridge Crystallographic Data Centre</i>)
CDI	Carbonildiimidazol
DRX	Difracción de Rayos X
FT-IR	Siglas en inglés para infrarrojo con transformada de Fourier: (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)
LMCT	Siglas en inglés de Transferencia de Carga Ligante a Metal (<i>Ligand to Metal Charge Transfer</i>)
MBC	Siglas en inglés para Concentración Mínima Bactericida (<i>Minimum Bactericidal Concentration</i>)
MIC	Siglas en inglés para Concentración Mínima Inhibitoria (<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>)
MLCT	Siglas en inglés de Transferencia de Carga Metal a Ligante (<i>Metal to Ligand Charge Transfer</i>)
NBA	Nitrobencil Alcohol
OMS	Organización Mundial de la Salud
ppm	partes por millón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMN- ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de protón
ROS	Siglas en inglés de: Especies Reactivas de Oxígeno (<i>Reactive Oxygen Species</i>)
SOD	Superóxido dismutasa
UFC	Unidad Formadora de Colonias
UV-Vis	Ultravioleta Visible

Índice de figuras

Figura 1. Estructura general de una base de Schiff.....	15
Figura 2. Estructura de XUBNIR.....	17
Figura 3. Estructura de la 4-aminopiridina.....	18
Figura 4. Antimicrobianos propuestos en este trabajo como ligantes;Error! Marcador no definido.	
Figura 5. Estructura de rayos X del FIPRAY.....	19
Figura 6. Estructuras de los compuestos FIPIMIDA(a),TOXSEE(b),FIPAMINO(c) y XECHIW(d).....	20
Figura 7. Componentes de la radiación electromagnética.....	24
Figura 8. Espectro de infrarrojo de 1,1-carbonildiimidazol.....	26
Figura 9. Modos vibracionales activos en espectroscopia infrarroja.....	29
Figura 10. Producción de la onda evanescente.....	30
Figura 11. Representación de un sistema de FTIR-ATR.....	30
Figura 12. Transiciones del espectro de Raman.....	32
Figura 13. Cambios en el elipsoide de polarizabilidad del CO ₂	33
Figura 14. Transiciones electrónicas posibles entre orbitales π , σ y n	34
Figura 15. Desdoblamiento de los orbitales d en un compuesto de geometría octaédrica.....	36
Figura 16. Serie espectroquímica.....	36
Figura 17. Diagrama de orbitales moleculares de un complejo octaédrico.....	37
Figura 18. Orientaciones del átomo de hidrógeno frente un campo magnético.....	41
Figura 19. Desdoblamiento de los estados $m_l = \pm 1/2$ frente a un campo magnético.....	42
Figura 20. Precesión del espín nuclear en presencia de un campo magnético.....	43
Figura 21. Mecanismo de relajación T_1	45
Figura 22. Mecanismo de relajación T_2	46
Figura 23. Efecto fotoeléctrico.....	48
Figura 24. Estructura de un sólido cristalino.....	50
Figura 25. Celda unitaria.....	51
Figura 26. Parámetros de las redes cristalinas de Bravais.....	51
Figura 27. Arreglos por puente de hidrógeno para las estructuras FIPAMINO y FIPIMIDA...54	
Figura 28. Bacterias de interés en este trabajo.....	55
Figura.29. Cepas ATTC utilizadas en el control de calidad.....	58

Figura. 30. Cristales de materia prima	62
Figura. 31. Cristales de FIPRAY y FIPBROMO	64
Figura. 32. Cristales de XUBNIR.....	66
Figura. 33. Cristales de FIPRAY-H.....	67
Figura. 34. Sólido obtenido de la reacción 4	68
Figura. 35. Espectros de IR de FIPBROMO y bis-tris	71
Figura. 36. Espectros de Raman de FIPBROMO.....	72
Figura. 37. Espectros de IR de FIPRAY-H y FIPRAY.....	73
Figura. 38. Espectro Raman de FIPRAY-H	73
Figura. 39. Espectros de IR de XUBNIR y 1,1-carbonildiimidazol	74
Figura. 40. Espectro de Raman de XUBNIR.....	75
Figura. 41. Espectro de Raman de FIPAMINO	76
Figura. 42. Espectros de Raman de FIPIMIDA	76
Figura. 43. Espectro de UV-Vis de FIPRAY.....	78
Figura. 44. Espectro de UV-Vis de FIPBROMO	79
Figura. 45. Espectro de UV-Vis de FIPRAY-H.....	79
Figura. 46. Espectro de UV-Vis de XUBNIR.....	81
Figura. 47. Espectro de UV-Vis de FIPAMINO	81
Figura. 48. Espectro de UV-Vis de FIPIMIDA	82
Figura. 49. Diagramas de desdoblamiento de los orbitales.....	¡Error! Marcador no definido.
Figura. 50. Espectro de RMN- ¹ H de FIPRAY	85
Figura. 51. Espectro de RMN- ¹ H de FIPBROMO.....	85
Figura. 52. Espectro de RMN- ¹ H de FIPRAY-H	86
Figura. 53. Espectro de RMN- ¹ H de XUBNIR	87
Figura. 54. Espectro de RMN- ¹ H de FIPIMIDA.....	87
Figura. 55. Espectro de RMN- ¹ H de FIPAMINO	88
Figura. 56. Estructuras de rayos-X de FIPBROMO y FIPRAY-H	98
Figura. 57. Celda unitaria sobre el eje a de FIPBROMO.....	99
Figura. 58. Celda de FIPRAY-H vista desde el eje a.	100
Figura. 59. Arreglos por puente de hidrógeno de FIPBROMO.....	101
Figura. 60. Arreglos por puente de hidrógeno de FIPRAY-H	102

Figura. 61. Arreglos formados por puente de hidrógeno de FIPRAY-H..... ¡Error! Marcador no definido.

Figura. 62. MIC de los compuestos frente a Escherichia coli..... 105

Figura. 63. MBC de los compuestos obtenidos frente a Escherichia coli 106

Figura. 64. MIC de los compuestos obtenidos frente a Staphylococcus aureus 107

Figura. 65. MBC de los compuestos frente a Staphylococcus aureus 108

Índice de tablas

Tabla. 1. Intervalo esperado de ϵ para distintos tipos de transición.39

Tabla. 2. Puntos de fusión de los compuestos obtenidos y materias primas.70

Tabla. 3. Valores obtenidos de la constante de fuerza (k).78

Tabla. 4. Transiciones electrónicas de los compuestos FIPRAY, FIPBROMO y FIPRAY-H80

Tabla. 5. Transiciones electrónicas de los compuestos XUBNIR, FIPAMINO y FIPIMIDA82

Tabla. 6. Energía de desdoblamiento.83

Tabla. 7. Serie espectroquímica..... ¡Error! Marcador no definido.

Tabla. 8. Tiempos de relajación de materias primas y compuestos.90

Tabla. 9. Datos cristalográficos de los compuestos obtenidos98

Tabla. 10. Distancia de los enlaces de interés para FIPRAY, FIPBROMO y FIPRAY-H.....99

Tabla. 11. MIC y MBC de los compuestos..... 104

Abreviaturas de los compuestos mencionados en este trabajo

FIPRAY	Cloruro de cloro-(N,N-bis(2-hidroxietil)tris(hidroximetil)metilamino)-cobre(II)
FIPBROMO	Bromuro de bromo-(N,N-bis(2-hidroxietil)tris(hidroximetil)metilamino)-cobre(II)
FIPRAY-H	Cloro-(N,N-bis(2-hidroxietil)tris(hidroximetil)metilamino)-cobre(II)
XUBNIR	Cloruro de cloro-tetrakis(imidazol)-cobre(II)
FIPAMINO	Dicloruro de (N,N-bis(2-hidroxietil)tris(hidroximetil)(metilamino)-(imidazol)-cobre(II)
FIPIMIDA	Dicloruro de (N,N-bis(2-hidroxietil)tris(hidroximetil)(metilamino)-(4-aminopiridina)-cobre(II)
TOXSEE	Diperclorato de (tris(2-aminoetil)amino)-imidazol-cobre(II)
XECHIW	Diperclorato de (tris(2-aminoetil)amino)-(4-aminopiridina)-cobre(II)

Resumen

En este trabajo se realizó la síntesis de complejos de cobre FIPRAY-H y FIPBROMO. analizados por técnicas espectroscópicas FT-IR ATR, UV-Vis, RMN-¹H, RPE, Raman, espectrometría de masas y estructural por difracción de rayos-X en monocristal. Además de los compuestos FIPAMINO y FIPIMIDA obtenidos previamente

CAPÍTULO I

- Introducción
- Antecedentes
- Justificación
- Hipótesis y Objetivos



1.1 Introducción

Según la organización mundial de la salud (OMS), se define como antimicrobiano a aquel medicamento capaz de tratar y prevenir las infecciones causadas por microorganismos como bacterias, virus, hongos y parásitos en humanos, animales y plantas. Cuando surgieron los primeros antimicrobianos se consideraron como “curas milagrosas”; sin embargo, con el paso de los años y su uso, los microbios se fueron adaptando y generaron resistencia a ellos. Así, la resistencia antimicrobiana es uno de los mayores problemas de salud pública y se ve favorecida por la evolución de los microorganismos, la mala práctica clínica y los factores ambientales (*Brunton, et al 2012*).

No solamente los compuestos orgánicos presentan propiedades antibacterianas, también los metales y los compuestos derivados de ellos. Por ejemplo, el cobre en estado metálico, así como sus sales inorgánicas y algunos complejos de coordinación, poseen actividad antimicrobiana. Desde el año 2600 a. C., los egipcios describieron el uso de vasijas de cobre para potabilizar el agua y para curar heridas en el pecho (*Arendsen et al., 2019*). Sin embargo, al no existir una concentración específica de cobre metálico para su uso en la terapia antibacteriana, el metal se administra preferentemente en forma de compuestos de coordinación (*Szymański et al., 2012*).

Por otro lado, la química de coordinación del cobre en estado de oxidación +2 en sistemas biológicos forma complejos muy estables con números de coordinación 4, 5 o 6. Los compuestos de coordinación de cobre han mostrado varias aplicaciones biológicas como antiinflamatorios, anticancerígenos y antimicrobianos, entre otras (*Szymański et al., 2012*). Por ejemplo, los benzimidazoles y sus complejos de metales de transición han recibido considerable atención debido a su actividad antimicrobiana frente a bacterias Grampositivas y Gramnegativas.

En otro aspecto, el uso de aminopolialcoholes del tipo bis-tris metano como ligante de metales de transición bivalentes no es muy común, ya que fue hasta 2004 cuando Inomata y colaboradores reportaron los primeros compuestos de coordinación de este tipo. En contraste, su reactividad frente al cobre en condiciones suaves (temperatura ambiente y pH 5 a 7) es muy buena y puede ser usada como estrategia para agregar otros ligantes al cobre.

En este trabajo se presenta la síntesis, caracterización y actividad microbiológica de compuestos de coordinación derivados de cobre divalente, bis-tris y ligantes nitrogenados derivados de imidazol y 4-aminopiridina.

1.2 Justificación

Actualmente se estima que la resistencia antimicrobiana ocasionará 10 millones de muertes por año para el 2050 y se señala como prioridad crítica a los microorganismos: *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella*, *Campylobacter* y *Neisseria gonorrhoeae* que causan infecciones con elevada mortalidad y morbilidad.

Debido a esto en 2017 la OMS propuso un plan de acción basado en medidas preventivas como prácticas de buena higiene y el uso correcto de los antimicrobianos. En este plan se incluye: mejorar el conocimiento y la comprensión de la resistencia antimicrobiana, vigilar su incidencia y la optimización de antimicrobianos que consiste en mejorar su actividad farmacológica, promover el uso óptimo mediante la selección del medicamento, la posología, la vía de administración y la duración del tratamiento. (Giono-Cerezo *et al.*, 2020).

Se ha demostrado que el cobre tiene un amplio y fuerte espectro como antimicrobiano debido a que los iones de cobre producen daño a la membrana y pared celular ya que absorbe electrones de la bacteria generando ROS, lo que provoca daño y muerte en bacterias y hongos (Wang *et al.*, 2021). Además, el dopaje con cobre es comúnmente utilizado en implantes ortopédicos para reducir el riesgo de infecciones. (Szymański *et al.*, 2012).

En este proyecto se propuso como trabajo de investigación sintetizar compuestos de coordinación usando cobre y como ligantes aminopolialcoholes (Bis-tris metano) y antimicrobianos derivados de imidazol y piridina con la finalidad de obtener compuestos de coordinación que puedan tener actividad farmacológica.

1.3 Antecedentes

Debido a lo mencionado anteriormente, el desarrollo y la optimización de antimicrobianos es primordial para lo que se han utilizado compuestos heterocíclicos.

Los heterociclos son compuestos orgánicos formados por anillos que poseen heteroátomos (O, S, N, entre otros átomos de compuestos orgánicos) cuyas propiedades fisicoquímicas y farmacológicas son determinadas por el tamaño del anillo y sustituyentes presentes en la estructura. Los heterociclos constituyen cerca del 90% de agentes farmacéuticamente activos debido a que pueden ser optimizados por su coordinación a metales o modificación mediante síntesis orgánica para mejorar propiedades como: solubilidad, polaridad, capacidad de formar puentes de hidrógeno, etc. A partir de estas optimizaciones un número significativo de derivados heterocíclicos ha mostrado mayor eficacia que los fármacos convencionales; por ejemplo, los derivados de imidazoles y pirazoles se han usado para combatir bacterias con resistencia a meticilina (*Borah, P, et al., 2023*). La importancia del uso de heterociclos en la terapia antimicrobiana se debe a que están ampliamente distribuidos en la naturaleza y juegan roles vitales en los organismos vivos (*Katritzky et al., 2008*).

Los derivados de imidazol y piridina también pueden considerarse como “bases de Schiff” los cuales son grupos funcionales formados por carbono y nitrógeno unidos por un doble enlace, éstos se muestran en la figura 1, (*Madani, S. et al., 2019*). Fueron llamados así en honor al químico Hugo Schiff quien las describió en 1864, tienen la habilidad de formar complejos con metales de transición y son ampliamente utilizadas en medicina debido a su actividad antibacteriana, antifúngica, antitumoral, antiinflamatoria, antipirética, antimalárica, anticancerígena y anestésica. (*Raczuk et al., 2022*).

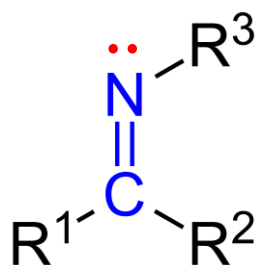


Figura. 1. Estructura general de una base de Schiff

El interés de formar compuestos de coordinación con bases de Schiff y metales de transición surgió a mitad del siglo XIX ya que los complejos con Co(II), Ni(II), Cu(II) y Zn(II) mostraron actividad biológica sobre todo como antimicrobianos ya que estos complejos crean condiciones favorables para la penetración de los metales de transición a las membranas celulares microbianas (Raczuk et al., 2022).

En la última década los compuestos con metales de transición han surgido como alternativas prometedoras como agentes terapéuticos, un ejemplo de ellos son las Casiopeinas® que son un grupo de compuestos de coordinación a base de cobre de formula general: $[\text{Cu}(\text{N}-\text{N})(\text{N}-\text{O})]\text{NO}_3$ y $[\text{Cu}(\text{N}-\text{N})(\text{O}-\text{O})]\text{NO}_3$ en la que N—N es una 2,2'-bipiridina o 1,10-fenantrolina sustituida o no sustituida y N—O un α -aminoacidato o péptidos y O—O un acetilacetato o un salicilaldehído con actividad antitumoral, antiparasitaria y antimicrobiana (Barbosa et al., 2016).

En la terapia antimicrobiana se ha establecido en estudios preliminares que las Casiopeinas® poseen actividad antibacterial en cepas de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis* y *A. actinomycetemcomitans*, antifúngica en levaduras como *Candida albicans* y antiparasitaria contra *Trypanosoma cruzi*, ya que interactúan directamente con el DNA y participan en la producción de especies reactivas de oxígeno, por sus siglas en inglés ROS. (Larios-Cervantes et al., 2022)

Por su parte, los compuestos derivados de imidazol y benzimidazol (1,1-carbonodiimidazol, fluconazol, albendazol, metronidazol y 4-nitroimidazol) tienen una gran relevancia en la química medicinal debido a su aplicación como antiparasitarios, analgésicos, antihistamínicos, antivirales, anticancerígenos o antifúngicos (Navarro et al., 2019).

Los complejos cobre-imidazol están ampliamente presentes en proteínas como azurinas, oxidasas, hemocianinas, etc., ya que el cobre tiende a unirse a la histidina mediante el imidazol. Se han reportado compuestos nitrogenados como el 4-metilimidazol, 2-etilimidazol, 2-isopropilimidazol y 2-etil-4-metilimidazol que poseen la misma característica de formar compuestos de coordinación enlazándose por sus átomos de nitrógeno al metal; además, este tipo de complejos ha mostrado

tener actividad antitumoral (Godlewska *et al.*, 2013).

Un ejemplo de compuesto de coordinación con imidazol es el denominado XUBNIR (nombrado así por el CCDC) sintetizado en 2001 por Otieno y cols. (figura 2), el cual consta de un átomo de cobre y cuatro moléculas de imidazol unidas al centro metálico. Para su síntesis utilizaron $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, KPF_6 e imidazol en CCl_4/EtOH como medio de reacción. Sin embargo, pese a los múltiples análisis reportados, el compuesto no ha sido probado biológicamente.

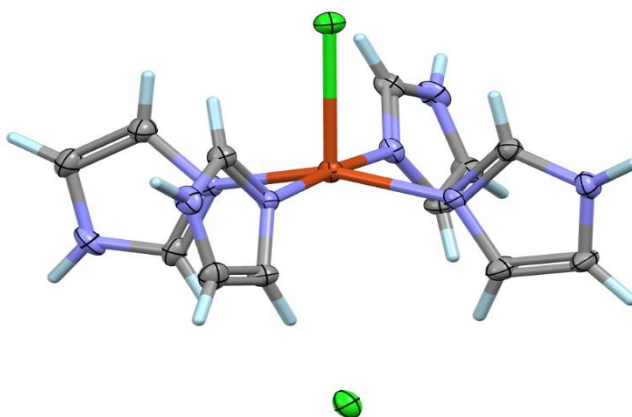


Figura. 2. Estructura de XUBNIR reportado por Otieno y cols. en 2001

Otras moléculas que han sido estudiadas y sintetizadas como propuestas para terapia antimicrobiana y antifúngica son los derivados de piridinas, los cuales han demostrado tener moderada actividad contra algunas cepas del género *Mycobacterium*. (Klimes̆ova *et al.*, 1999).

En 2009 Suksrichavalit y colaboradores reportaron la síntesis de compuestos de coordinación con derivados de piridinas (hidroxipiridinas y aminopiridinas) que tienen un amplio rango de aplicaciones biológicas. En su trabajo probaron como antimicrobianos a los ligantes por sí solos y los compararon con los compuestos de coordinación obtenidos concluyendo que su actividad antimicrobiana se ve favorecida con la coordinación al cobre.

Un ejemplo de un compuesto a partir de un derivado de piridina y cobre es el que fue sintetizado por Ivanova y Mayer-Figge en 2005, el cual consiste en un átomo de cobre rodeado por cuatro anillos de 4-aminopiridina, en el que estos se coordinan mediante el átomo de nitrógeno de

la piridina, el cual permite que se comporte como ligante monodentado. Este compuesto posee un interés biológico debido a la actividad de la 4-aminopiridina como inhibidor de canales de Ca(II) y K(I).

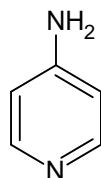


Figura. 3. Estructura de la 4-aminopiridina.

Por otra parte el compuesto $[\text{CuCl}(\text{Bis-tris})]\text{Cl}$, FIPRAY, (figura 4) fue reportado por primera vez por Inomata y colaboradores en 2004, quienes para su obtención utilizaron cloruro de cobre dihidratado como fuente de cobre y Bis-tris como ligante en solución acuosa a una temperatura de 50-70°C, una vez que obtuvieron los cristales del compuesto fueron re-disueltos en agua deuterada y secados a vacío (Inomata et al., 2004).

La formación de complejos de Cu(II) con Bis-tris en solución acuosa ya había sido estudiada potenciométricamente y espectroquímicamente por Hong en 1995 en la que concluyó que el Bis-tris actúa como un ligante tridentado al coordinarse a los iones de Cu(II) (Hong et al., 1995)

En 2019 se mejoró su refinamiento y se analizó por: IR, UV-vis en fase sólida y líquida, punto de fusión y rayos-X, en el trabajo de tesis “Síntesis verde y caracterización espectroscópica y estructural de compuestos de coordinación a partir de cobre, aminopolialcoholes y metformina”, en el que se obtuvo a FIPRAY variando las condiciones de reacción (Fortis Valera, 2020).

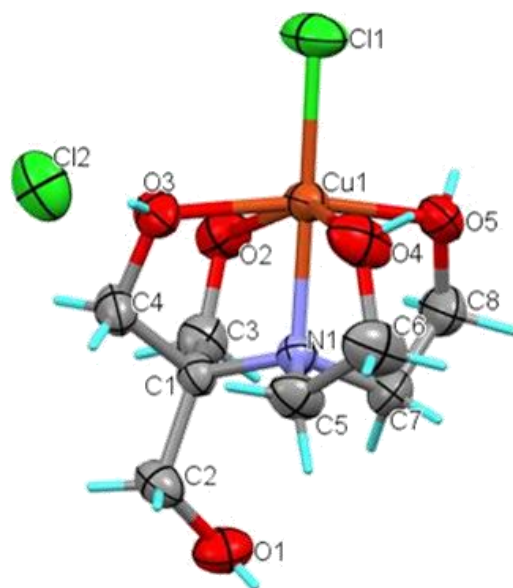


Figura. 4. Estructura de rayos X del FIPRAY

Otros compuestos obtenidos durante el trabajo de tesis de licenciatura fueron los denominados FIPAMINO y FIPIMIDA, los cuales se sintetizaron mediante la sustitución del átomo de cloro en la posición axial presente en el FIPRAY por un anillo de imidazol y 4-aminopiridina respectivamente, lo cual nos permitió proponer que se pueden integrar nuevos ligantes a este compuesto llevando a cabo la sustitución del halógeno presente en esta posición.

Se han sintetizado compuestos análogos a FIPIMIDA y FIPAMINO (figura 5) por Fun y cols. y Lu y cols. usando como aminopolialcohol tris-(2-aminoetil)-amino, reportados en 1996 y en 1997 respectivamente usando como ligantes imidazol y 4-aminopiridina y como átomo central al cobre, estos compuestos han sido utilizados como modelos de la enzima superóxido dismutasa (SOD) en bovinos.

Los compuestos TOXSEE y XECHIEW fueron caracterizados por: IR, reflectancia difusa, UV-Vis, EPR, estudios de susceptibilidad magnética por métodos de Gouy y Faraday, difracción de rayos-X en monocristal y en polvos, análisis elemental y en algunos casos análisis térmicos (TGA) y XPS.

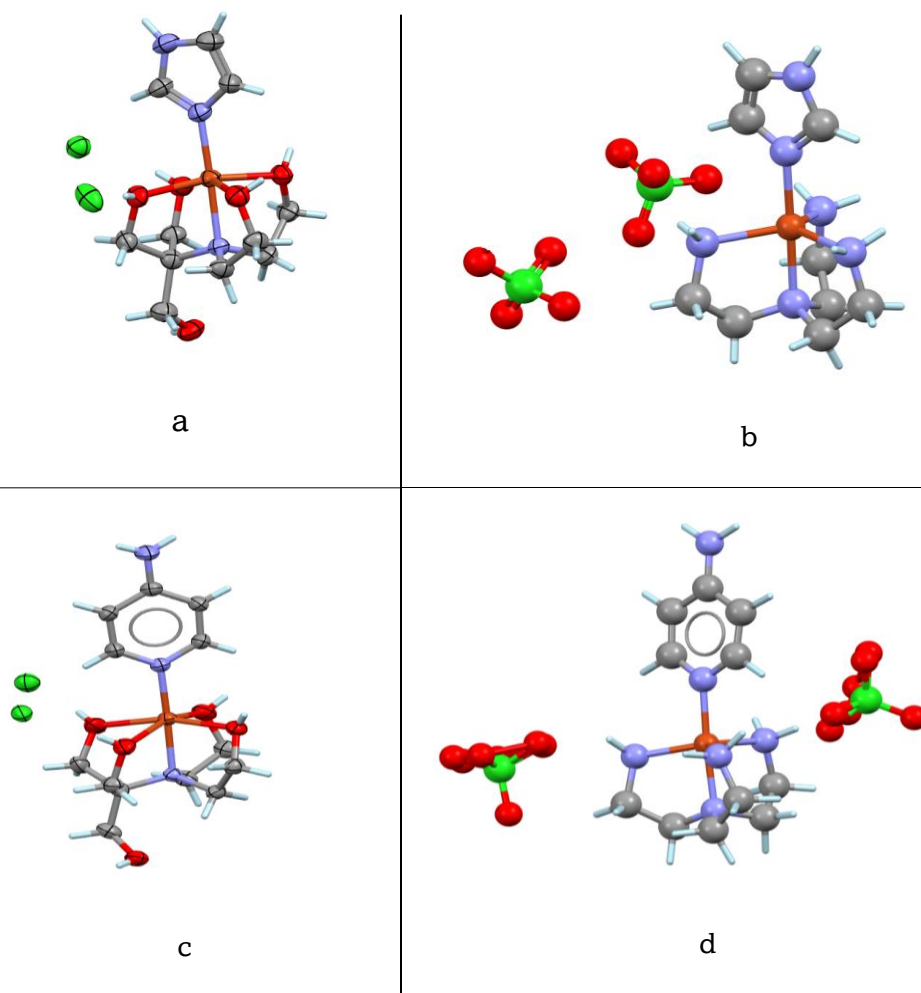


Figura. 5. Estructuras de los compuestos FIPIMIDA (a), TOXSEE (b), FIPAMINO (c) y XECHIW (d)

En 2018 Selimovic y cols, sintetizaron y probaron compuestos de coordinación a base de cobre como agentes antimicrobianos obteniendo valores de MIC y MBC de $>20 \mu\text{g/mL}$ en *Escherichia coli*, y *Staphylococcus aureus*, $>10 \mu\text{g/mL}$ para *Bacillus subtilis* y de $1.5 \mu\text{g/mL}$ contra *Sarcina lutea*. Mas tarde en 2020 Rostas y cols. sintetizaron compuestos de coordinación con cobre y bipyridina, los cuales probaron como antibacterianos obteniendo una MIC de $1.39 \times 10^{-3} \mu\text{g/mL}$, para *Pseudomonas aureuginosa*, $6.87 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$ contra *Escherichia coli* y de $3.44 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$ en *Staphylococcus aureus*; con estos resultados propusieron que los compuestos actúan mediante la intercalación con el ADN. (Rostas, et al., 2020).

Para mitigar el impacto ambiental que las metodologías para sintetizar compuestos de coordinación pueden generar, se ha propuesto hacer las reacciones usando los principios de la química verde, los cuales fueron postulados en 1990 por Anastas y Warner con el propósito de reducir o eliminar el uso de sustancias peligrosas y los residuos derivados de los procesos químicos (*De Marco et al., 2019*).

Esto se puede lograr al desarrollar métodos innovadores que involucren procesos naturales, condiciones de reacción alternas y el uso de disolventes poco tóxicos (*Pájaro Castro & Olivero Verbel, 2011*). En México el estudio de la química verde está basado en los apoyos que se otorgan a las universidades y centros de investigación por lo que el primer taller sobre química verde se impartió en 2003 por el Centro Mexicano de Química en Microescala y de acuerdo con lo consultado en bases de datos de investigadores del CONAHCYT los científicos dedicados a desarrollar esta clase de química suman 113 en todo el país, mientras que el 1.8% está presente en la BUAP (*Yarto, Gavilán & Martínez, 2004*). Debido a las cifras tan bajas es indispensable continuar con líneas de investigación que promuevan metodologías basadas en química verde.

1.4 Hipótesis

Es posible formar compuestos de coordinación mixtos con derivados del imidazol, mediante el desplazamiento de la esfera interna de coordinación del átomo de cloro del compuesto: FIPRAY ($[\text{CuCl}(\text{BisTris})]\text{Cl}$).

1.5 Objetivo general

Sintetizar y caracterizar espectroscópicamente compuestos de coordinación mixtos a partir de cobre(II), Bis-tris y antimicrobianos derivados de imidazol (1,1-carbonildiimidazol, 4-nitroimidazol, metronidazol y fluconazol)

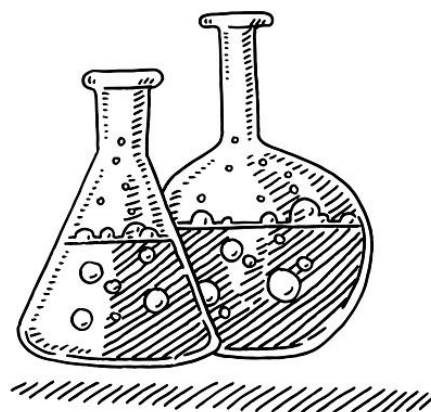
1.5.1 Objetivos específicos

- ✓ Establecer y realizar rutas de síntesis reproducibles para la obtención de compuestos de coordinación de Cu(II), Bis-tris y antimicrobianos.
- ✓ Caracterizar los compuestos obtenidos mediante temperatura de fusión, FT-IR, UV-Vis, Raman, Espectrometría de Masas, RPE y difracción de rayos-X en monocristal.
- ✓ Completar las caracterizaciones de los compuestos FIPAMINO Y FIPIMIDA usando RMN- ^1H , Espectrometría de Masas, RPE y Raman.

CAPÍTULO II

Marco teórico

- Generalidades
- Espectroscopías vibracionales
- Espectroscopía UV-Vis
- Resonancia Magnética Nuclear y Resonancia Paramagnética Electrónica
- Difracción de Rayos-X
- Pruebas de sensibilidad antimicrobiana



2.1 Generalidades

Existen diferentes formas de radiación electromagnética; luz visible, ondas de radio, rayos X y rayos gamma, etc., que pueden ser descritas por campos magnéticos y eléctricos, los cuales viajan sobre un eje z a la velocidad de la luz (c) (Figura 6). Por lo tanto, la intensidad de la radiación será proporcional al cuadrado de la amplitud de la onda sobre los ejes x y y en un tiempo determinado y la fuerza del campo eléctrico y magnético será variable a lo largo del eje z . (Drago, S., 1992)

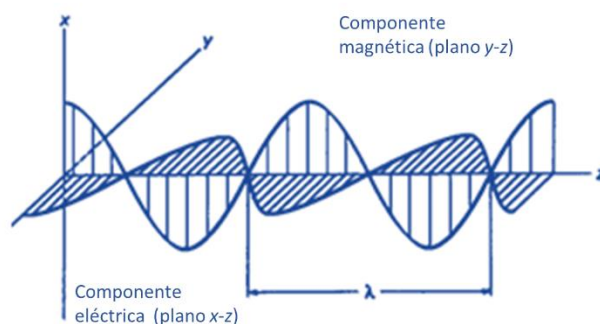


Figura. 6. Componentes de la radiación electromagnética (Drago, S., 1992)

Considerando que a los diferentes tipos de radiación le corresponde una energía específica y que ésta puede ocasionar cambios en el estado de las moléculas podemos obtener diferentes tipos de métodos espectroscópicos (Drago, S., 1992).

Las técnicas espectroscópicas son el conjunto de herramientas analíticas que utilizan la luz para determinar estructuras moleculares. Si una molécula es expuesta al campo electromagnético habrá una transferencia de energía del campo a la molécula satisfaciendo la frecuencia de Bohr (Ecuación 1).

$$\Delta E = h\nu \quad Ec. \quad (1)$$

Donde ΔE es la diferencia de energía entre los estados excitado y basal, h es la constante de Planck (6.625×10^{-27} erg·s) y ν es la frecuencia; es decir el número de ondas que hay en una distancia determinada en un segundo.

$$\nu = c/\lambda \quad Ec. \quad (2)$$

En la que c es la velocidad de la luz ($3 \times 10^{10} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$) y λ es la longitud de onda. El número de onda está definido por el inverso de la longitud de onda (ecuación 3). Este parámetro es el más utilizado en la espectroscopia vibracional en unidades de cm^{-1} .

$$\tilde{\nu} = 1/\lambda \quad \text{Ec. (3)}$$

A partir de esto podemos separar la energía de una molécula en tres componentes: la primera asociada al movimiento de los electrones o transiciones electrónicas que se observan en el rango de 10^4 - 10^6 cm^{-1} en la región del UV-visible, la segunda a las vibraciones de los átomos presentes que corresponde a las transiciones vibracionales que se observan en los espectros de Infrarrojo y Raman que aparecen en el rango de 10^2 - 10^4 cm^{-1} y la última relacionada a los movimientos rotacionales de la molécula en el rango de 1 - 10^2 cm^{-1} en la región de microondas debido a que los niveles rotacionales se encuentran cercanos unos de otros (*Nakamoto, K., 2009*).

2.2 Espectroscopías vibracionales: IR y Raman

Espectroscopia infrarroja (IR)

La espectroscopia infrarroja estudia la interacción entre el objeto de estudio y la radiación infrarroja que se ubica dentro del espectro electromagnético entre 10 a $14,300 \text{ cm}^{-1}$, región que a su vez se subdivide en infrarrojo cercano (4000 - $14,300 \text{ cm}^{-1}$) medio (400 - 4000 cm^{-1}) y lejano (10 - 400 cm^{-1}). Esta espectroscopia permite identificar y caracterizar especies químicas mediante la frecuencia a la que los diferentes grupos funcionales absorben energía (*Faraldos & Goberna, 2011*). La absorción correspondiente a la radiación infrarroja abarca energía de 8 a 40 kJ/mol que corresponde al rango en el que se producen los modos vibracionales de estiramiento y balanceo (*Pavia, et al., 2001*)

El espectro de infrarrojo gráficamente representa la intensidad con la que absorbe la muestra la radiación infrarroja en medida con el número de onda que se grafica en el eje de las abscisas y en el eje de las ordenadas se representa la absorbancia o transmitancia, (relación entre la intensidad emitida por la muestra I y la que ésta recibe I_0 ; *Pavia, et al., 2001*); usualmente se representa en el espectro de infrarrojo como el porcentaje de la transmitancia ($\%T$) (*Faraldos & Goberna, 2011*). Un ejemplo de éste se muestra en la figura 7.

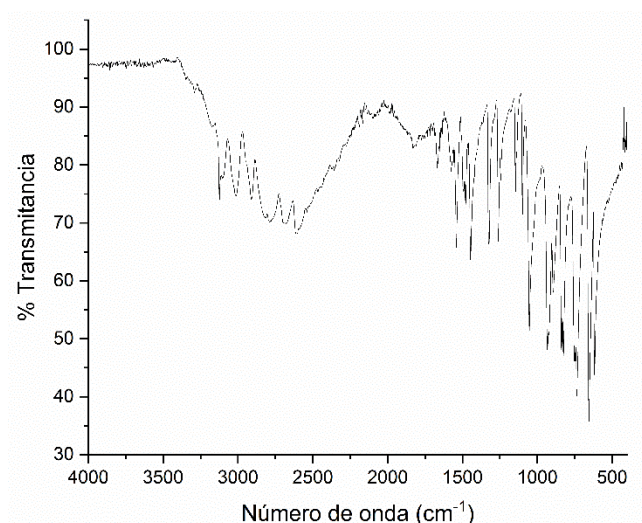


Figura. 7. Espectro de infrarrojo de 1,1-carbonildiimidazol

Vibración de una molécula diatómica

La vibración de dos núcleos puede ser representada como dos masas A y B conectadas por un resorte en las que al desplazarse habrá una fuerza actuando para regresarlas al punto de equilibrio, el movimiento resultante es descrito por un movimiento armónico simple en el que la energía potencial ($V(J)$) estará dada por:

$$V = \frac{1}{2}kX^2 \quad \text{Ec. (4)}$$

Donde X es el desplazamiento en cm de las dos masas de su punto de equilibrio y k la constante de fuerza en dyn/cm del oscilador. Sin embargo, para una molécula este sistema no puede ser totalmente aplicado debido a que en un sistema molecular se ocupan niveles de energía cuantizados, por lo que la ecuación que describe los estados de energía permitidos en una molécula será:

$$E_v = h\omega\left(\nu + \frac{1}{2}\right) \quad \text{Ec. (5)}$$

En la que ν es un número entero que representa a un número cuántico vibracional de los diferentes estados indicados por el oscilador armónico, E_v es la energía del estado ν ésimo en Joules, h es la constante de Planck (J·s) y ω el número de ondas (s^{-1}) de la vibración, que se relaciona con la constante de fuerza y la masa reducida (μ) mediante la expresión:

$$\omega_e = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad \text{Ec. (6)}$$

En la ecuación 6 derivada de la ley de Hooke, ω_e es el número de ondas corregido por la anarmonicidad presente en la molécula, esta anarmonicidad es responsable de la aparición de sobretonos (Drago, S., 1992; Faraldos & Goberna, 2011), μ es la masa reducida del sistema y está dada por:

$$\mu = \frac{M_A M_B}{M_A + M_B} \quad \text{Ec. (7)}$$

En la que M_A y M_B corresponden a las masas de los átomos considerados en el enlace, para una molécula diatómica.

La constante de fuerza k

k es una constante que varía entre enlaces por lo que enlaces más fuertes tendrán una constante de fuerza mayor por lo que vibrarán a mayores frecuencias, por otro lado, los enlaces entre átomos más pesados vibrarán a menores frecuencias que los enlaces con átomos más ligeros.

No solo la masa de los átomos y el tipo de enlace pueden afectar a la constante de fuerza, también se ve afectada por el tipo de hibridación de la molécula y la resonancia. En el caso de la hibridación los enlaces serán más fuertes de acuerdo con la serie: $sp > sp^2 > sp^3$. Mientras que la resonancia al afectar la fuerza y longitud del enlace tiene el efecto de reducir la constante de fuerza produciendo que las bandas de absorción se desplacen a menores frecuencias.

La constante de fuerza puede ser usada para calcular la posición aproximada de una banda en el espectro de infrarrojo a partir de la ecuación de la ley de Hooke (Pavia, et al., 2001):

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad \text{Ec. (8)}$$

En la que $\tilde{\nu}$ corresponde al número de onda expresado en cm^{-1} , c es la velocidad de la luz igual a 3×10^{10} cm/s , k es la constante de fuerza en dinas/cm y μ esta dada por la ecuación 9, en la que, si se remueve el número de Avogadro del denominador mediante la raíz cuadrada, se obtiene la expresión 10:

$$\mu = \frac{M_A M_B}{(M_A + M_B)(6.02 \times 10^{23})} \quad \text{Ec. (9)}$$

$$\tilde{\nu} = \frac{7.76 \times 10^{11}}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad \text{Ec. (10)}$$

En la que, si se sustituyen los valores de π y c , se obtiene la ecuación 11.

$$\tilde{\nu} (\text{cm}^{-1}) = 4.12 \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad \text{Ec. (11)}$$

Modos vibracionales y reglas de selección

En una molécula poliatómica se representa a los movimientos oscilatorios como una serie de vibraciones armónicas, conocidas como modos normales de vibración de los que una molécula que sea lineal tendrá $3N-5$ modos vibracionales y una molécula no lineal $3N-6$, donde N es el número de átomos en la molécula (*Faraldos & Goberna, 2011*).

La interacción entre la radiación infrarroja y una molécula involucra una interacción entre el campo eléctrico de la radiación electromagnética con el momento dipolar de la molécula por lo que para que una vibración sea activa en infrarrojo debe haber un cambio en el momento dipolar de la molécula al vibrar, condición que está representada por la expresión:

$$\frac{\partial \mu}{\partial x} \neq 0 \quad \text{Ec. (12)}$$

Donde μ es el momento dipolar molecular y x la coordenada normal del modo de vibración. Los modos vibracionales que satisfacen la ecuación 12 se denominan como activos en el infrarrojo y se pueden determinar a partir de la simetría de la molécula. La intensidad de cada uno de estos modos vibracionales es directamente proporcional a la magnitud con la que varía el momento dipolar, por lo que si la variación del momento dipolar es grande dará lugar a bandas intensas (*Faraldos & Goberna, 2011*).

Los modos vibracionales más simples en una molécula activa en infrarrojo son los modos de estiramiento (*stretching*) que se pueden dar de forma simétrica o asimétrica la cual ocurre a mayores frecuencias. En el caso de los modos de flexión (*bending*) que se dan a menores frecuencias. Hay modos vibracionales más complejos como tijereteo (*scissoring*), tensión (*rocking*), aleteo (*wagging*) y

torsión (*twisting*). Los modos vibracionales antes mencionados se muestran en la figura 8 (Pavia., et al. 2001)

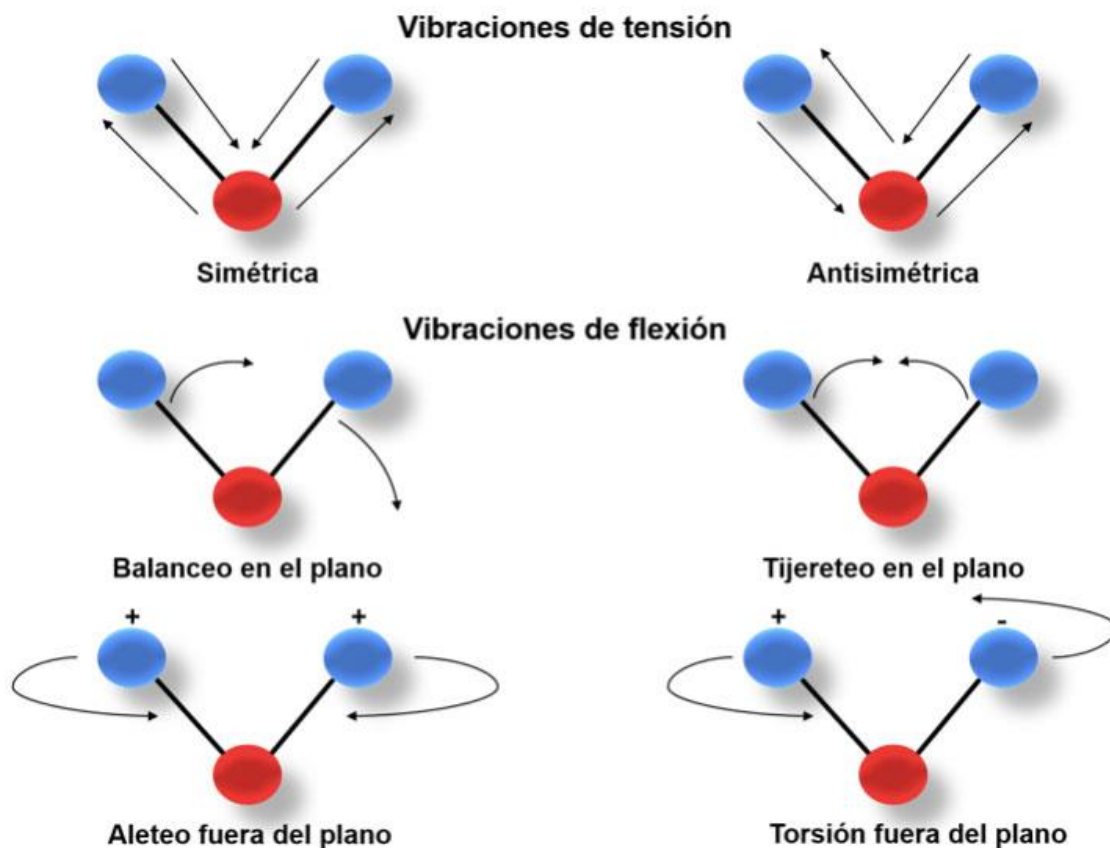


Figura. 8. Modos vibracionales activos en espectroscopia infrarroja (Domínguez Capitaine et al., 2020)

Accesorio ATR

La espectroscopia de reflectancia total atenuada (ATR) se basa en el fenómeno de la reflexión total interna, la cual consiste en que el índice de refracción del medio incidente sea mayor al medio que transmite. Durante este fenómeno se produce una onda electromagnética llamada *onda evanescente* formada por un haz de luz incidente de diámetro D que ilumina a la interfaz de manera elíptica, de manera que la onda evanescente solo se produce en esta área, la onda se propaga de manera paralela a la interfaz por lo que no hay un flujo neto de energía a través de ella como se observa en el esquema de la figura 9 (Milosevic, M., 2012).

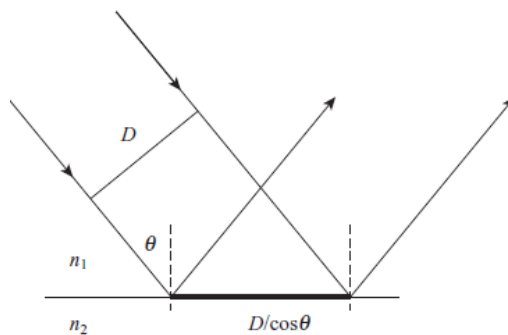


Figura. 9. Esquema que representa la producción de la onda evanescente, donde D es el diámetro del haz de luz refractado y θ es el ángulo resultante. (Milosevic, M., 2012)

Se le denomina atenuada debido a que, en el caso de un material absorbente, éste absorbe un porcentaje de la onda evanescente y de la intensidad de la luz reflejada por lo que, ésta se ve disminuida con respecto a la intensidad del haz incidente.

Para llevar a cabo el experimento de ATR es necesario que los cristales usados para esta técnica tengan un índice de refracción alto para producir que la luz saliente del accesorio de ATR produzca reflexiones diferentes, el ángulo de la reflexión debe ser de 45° y el cristal por lo general tiene una forma trapezoidal (Figura 10), por lo que la luz atraviesa en forma de zigzag de la superficie al fondo del cristal de ATR, lo que provoca que el número de reflexiones en la superficie sea mayor que el del fondo del cristal (Milosevic, M., 2012).

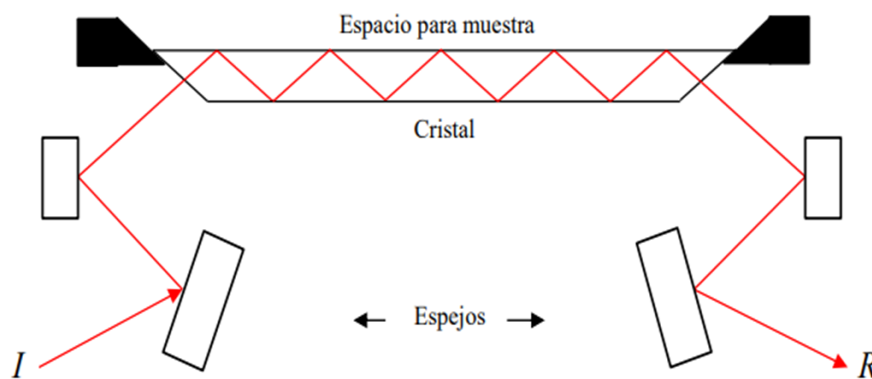


Figura. 10. Representación de un sistema de ATR (CIATEJ, 2016)

La espectroscopia de IR con ATR se considera como una técnica espectroscópica universal debido al amplio rango de muestras que pueden analizarse; tanto sólidas como líquidas. Para la obtención el espectro de infrarrojo la intensidad dependerá solamente del ángulo del haz incidente y no de la cantidad de la muestra. (*Faraldos & Goberna., 2011*)

Espectroscopía Raman

La espectroscopia Raman está relacionada con transiciones vibracionales y rotacionales. El experimento Raman consiste en irradiar la muestra con un haz láser cuya longitud de onda puede estar entre el ultravioleta, visible y el infrarrojo cercano y medio. Para esto se pueden utilizar diferentes tipos de láser dependiendo de la muestra, los láseres producen luz monocromática en amplios rangos de longitudes de onda. Entre ellos se encuentran: He—Ne (6328 Å), Ar (4579-5145 Å) y Kr (5682 y 6471 Å),

En el espectro de Raman se miden las frecuencias vibracionales como el desplazamiento entre la energía del haz incidente y del dispersado (*Drago, R., 1992*).

Fundamento

El origen del espectro Raman puede explicarse a partir de la interacción de la luz con una molécula diatómica en la que al haber dicha interacción se le induce un cambio en el momento dipolar dado por la ecuación:

$$P = \alpha E_0 \cos 2\pi \nu t \quad \text{Ec. (13)}$$

En la que P corresponde al momento dipolar, E_0 es la amplitud vibracional y α la polarizabilidad de la molécula, ν es la frecuencia y t el tiempo. Si la molécula está vibrando con una frecuencia inicial ν_i el desplazamiento nuclear q se describirá con la ecuación 14, donde q_0 corresponde a la amplitud vibracional.

$$q = q_0 \cos 2\pi \nu_i t \quad \text{Ec. (14)}$$

Cuando los electrones son forzados a oscilar en frecuencias similares a la de la radiación ese dipolo inducido generará energía en todas las direcciones, la molécula al relajarse puede hacerlo de dos formas: volviendo al estado energético inicial o quedando en un estado de energía diferente (*Nakamoto, K., 2009*).

Si regresa al estado inicial habrá una energía igual a la absorbida produciendo dispersiones elásticas o de Rayleigh. Por otro lado, si la energía incidente es diferente a la energía liberada se producirán dispersiones inelásticas. En este caso la molécula queda en un nivel energético más alto por lo que la energía liberada es menor a la absorbida, aumentando la longitud de onda y disminuyendo la frecuencia de radiación. A este tipo de dispersión se le conoce como dispersión Raman Stokes. Por el contrario, si la energía liberada es mayor a la absorbida esto implica que la molécula queda en un nivel energético más bajo por lo que se aumenta la frecuencia de radiación y disminuye la longitud de onda y se genera la dispersión Raman anti-Stokes (Faraldos & Goberna, 2011).

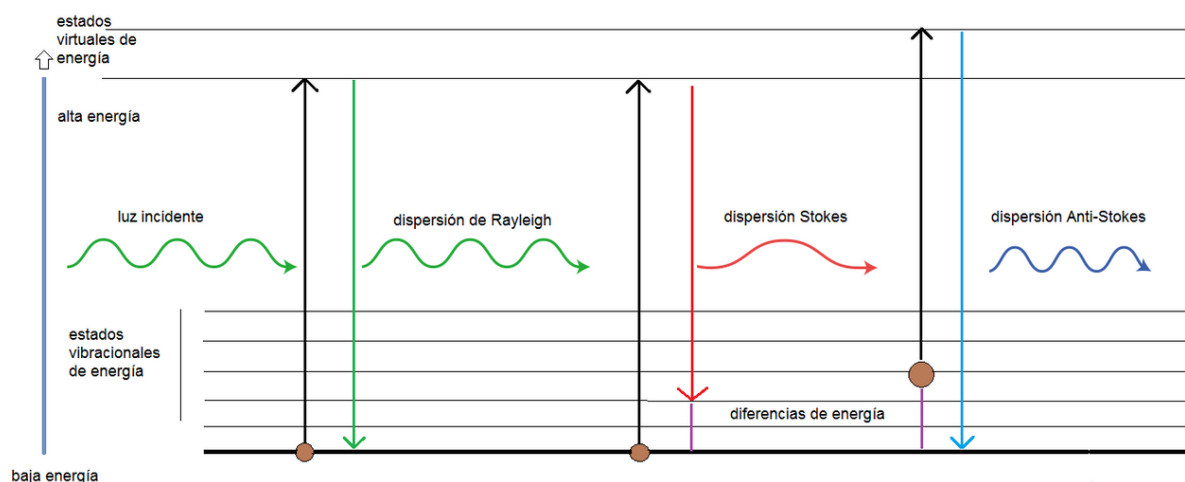


Figura. 11. Transiciones del espectro de Raman (Fedulova, L. 2022)

Reglas de selección.

En espectroscopia Raman cuando una molécula interactúa con un campo eléctrico generado por el haz láser se distorsiona su nube electrónica por lo que las zonas cargadas positivamente son atraídas hacia el polo negativo y las negativas al polo positivo; esta separación de cargas produce un momento dipolar inducido dado por:

$$P = \alpha E \quad Ec. (15)$$

Resolviendo la ecuación 14 en las direcciones x, y, z , se puede deducir:

$$P_x = \alpha_x E_x, \quad P_y = \alpha_y E_y, \quad P_z = \alpha_z E_z \quad (16)$$

Debido a que la polarizabilidad depende de la orientación de los enlaces en la molécula con respecto al campo eléctrico, el momento dipolar inducido también lo hará.

De acuerdo con lo anterior si una de las componentes de la polarizabilidad cambia durante la vibración será activa en Raman.

Si se ilustra a la polarizabilidad como una elipsoide el cambio en su tamaño, forma u orientación durante la vibración producirá que una vibración sea activa en Raman (Nakamoto, K., 2009; Figura12).

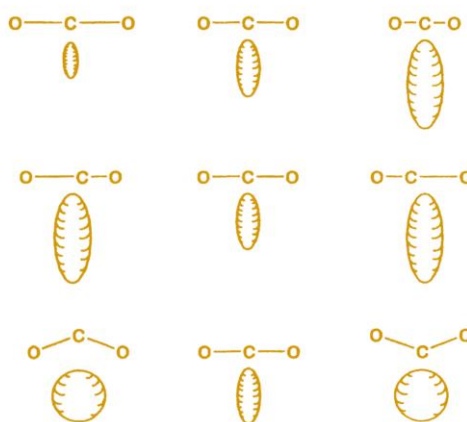


Figura. 12. Cambios en el elipsoide de polarizabilidad del CO_2 . (Nakamoto, K., 2009)

En una molécula poliatómica centrosimétrica las vibraciones que sean simétricas con respecto a su centro de inversión (vibraciones g) son activas en Raman, pero inactivas en IR; pero las vibraciones antisimétricas (vibraciones u) son activas en IR e inactivas en Raman. Regla que se denomina de exclusión mutua. (Nakamoto, K., 2009)

2.3 Espectroscopía de absorción electrónica: UV-Vis.

La radiación UV-Vis es tan alta energéticamente que produce transiciones electrónicas, además de cambios vibracionales y rotacionales en la molécula. Esto se debe a que al absorber energía un electrón pasa de un orbital ocupado, denominado HOMO (por sus siglas en inglés *Highest Occupied Molecular Orbital*) a uno desocupado llamado LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*). Esta absorción se da en un intervalo muy amplio de longitudes onda ya que las moléculas tienen modos vibracionales incluso a temperatura ambiente.

Producto de estos modos vibracionales y rotacionales surgen diferentes niveles energéticos que están muy cercanos entre ellos, por lo que el espectrofotómetro no es capaz de resolverlos produciendo bandas muy anchas que se caracterizan por su longitud de onda máxima, que corresponde a la máxima absorción y por la intensidad, que es la diferencia energética entre el estado basal y excitado (Pavia, D. et al., 2001).

Las transiciones electrónicas perceptibles en el intervalo UV-Vis son:

✚ Transiciones electrónicas por orbitales π , σ y n .

Los orbitales moleculares σ están asociados a los enlaces sencillos, mientras que los π a los dobles y triples enlaces. Los orbitales moleculares n (no enlazantes) corresponden a electrones libres, es decir que no participan en la formación de un enlace.

Producto de los orbitales moleculares antes descritos se producen las transiciones $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \sigma^*$, (en ésta nomenclatura se utilizan los asteriscos para designar a los orbitales antienlazantes). Las transiciones $\sigma \rightarrow \sigma^*$ requieren de mayor energía por lo que se observan en la región del ultravioleta de vacío, en cambio, las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ sí se observan en la zona del ultravioleta, debido a que requieren menor energía. Por último, las transiciones $n \rightarrow \pi^*$ al requerir de menor energía que las transiciones $n \rightarrow \sigma^*$ aparecen a mayores longitudes de onda. Algunas de las transiciones posibles se muestran en la figura 13 (Faraldos & Goberna, 2011).

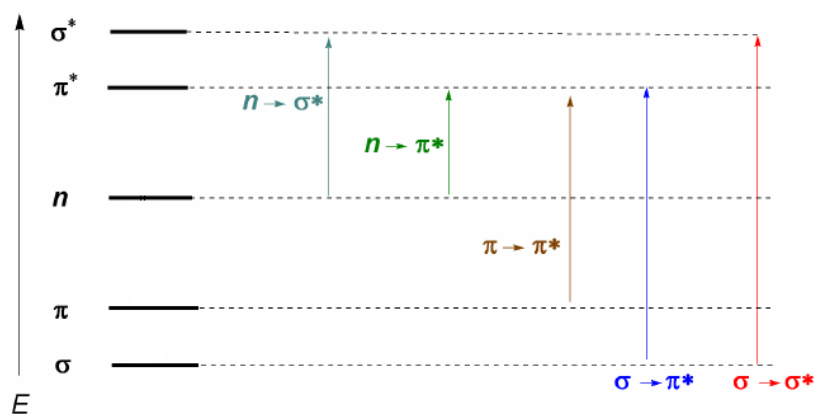


Figura. 13. Transiciones electrónicas posibles entre orbitales π , σ y n . (Fernández, G., 2015)

🌈 Transiciones producidas por transferencia de carga.

Las transiciones por transferencia de carga se presentan en la región del ultravioleta y se presentan generalmente en compuestos con metales de transición, aunque existen compuestos orgánicos que también pueden presentarlas. Estas transiciones permitidas tienen coeficientes de extinción molar (ϵ) grandes, de aproximadamente 10^4 - 10^5 $M^{-1}cm^{-1}$, por lo que resultan muy útiles en la identificación de metales ya que la intensidad del color en el compuesto es debido a una transferencia de carga.

Estas pueden ser de dos tipos: Ligante-Metal o reductivas y se producen por el paso de un electrón presente en el ligante al centro metálico, y usualmente se forman en ligantes con pares de electrones libres. Se les llama reductivas porque el metal se reduce al recibir al electrón. Son de menor energía y aparecen generalmente en la región del ultravioleta-visible. Por el contrario, las transiciones de Metal-Ligante u oxidativas se dan cuando el paso del electrón es del metal al ligante y comúnmente se dan en complejos con ligantes que tienen orbitales moleculares π^* . Se denominan oxidativas debido a que al ceder el electrón el metal se oxida.

Generalmente el ion metálico se reduce y el ligante se oxida, por lo que son más probables las transiciones de Ligante-metal; sin embargo, cuando el metal tiene un estado de oxidación bajo y los ligantes tienen facilidad de reducirse se pueden producir las transiciones metal-ligante.

🌈 Transiciones por electrones d

Este tipo de transiciones ocurren en metales de transición en los que la capa externa d se encuentra parcialmente vacía. Los compuestos formados con estos metales deben sus colores a este tipo de transiciones $d \rightarrow d$; sin embargo, estas transiciones tienen un coeficiente de extinción molar muy bajo (ϵ aproximados en el orden de 20 - 100 $M^{-1}cm^{-1}$), por lo que no son muy intensas.

Para explicar la interacción entre ligantes y el átomo central se utilizan dos teorías:

La teoría de campo cristalino: en la que se considera a los ligantes como cargas negativas puntuales y por lo tanto éstas van a repeler a los electrones en los orbitales d del átomo central, produciendo el desdoblamiento de los orbitales d en grupos con diferentes energías. Este desdoblamiento se usa para explicar propiedades magnéticas, termodinámicas y ópticas de este tipo de compuestos; por ejemplo, en un compuesto de coordinación de geometría octaédrica

habrá seis ligantes alrededor del ion metálico, por lo que los orbitales d del metal se desdoblarán en dos series (Figura 14) e_g de mayor energía, formada por los orbitales dz^2 y dx^2-y^2 y t_{2g} que es de menor energía y contiene a los orbitales d_{zx} , d_{yz} y d_{xy} (Shriver & Atkins, 2010).

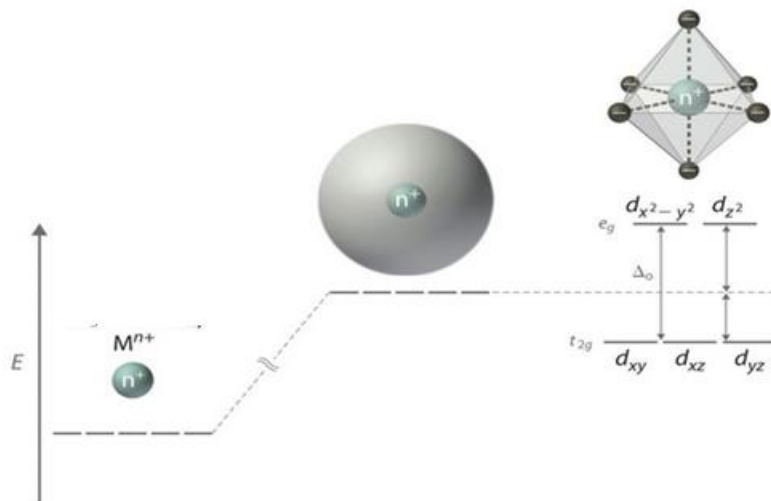


Figura. 14. Desdoblamiento de los orbitales d en un compuesto de geometría octaédrica (Newton, K., 2023).

La separación de estos dos grupos produce un parámetro llamado *energía de campo cristalino* (Δ_0) este parámetro varía en particular con el tipo de ligantes y pueden ser ordenados en una serie espectroquímica (Figura 15), dependiendo del tipo de transiciones que produzca; por ejemplo, si un ligante produce una transición de alta energía, éste se denomina de campo alto, por el contrario, si el ligante produce transiciones de baja energía se le conoce como ligante de campo débil (Shriver & Atkins, 2010).

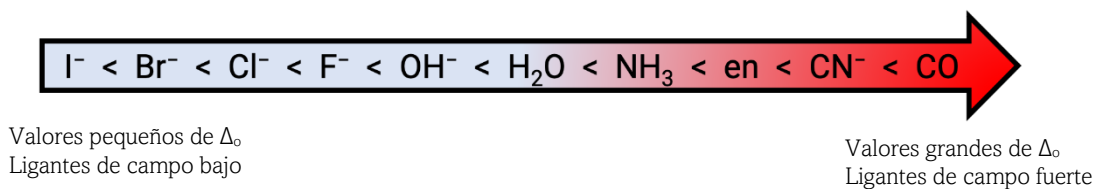


Figura. 15. Serie espectroquímica (Jove Corporation, 2023)

Teoría de campo ligante: surge de la combinación de la teoría de campo cristalino y de la teoría de orbitales moleculares. Se centra en los orbitales d del átomo metálico y consiste en considerar que tanto el ligante como el ion metálico central tienen orbitales de valencia que se

usan para formar enlaces denominados Combinaciones Lineales de Simetría Adaptada, por sus siglas en inglés (*SALCs*).

Considerando un complejo octaédrico rodeado por seis ligantes, (cada uno con un orbital de valencia dirigido al átomo metálico central), en el que sus orbitales están divididos simétricamente en cuatro grupos: (a_{1g} , t_{1u} , e_g y t_{2g}), por lo que habrá seis *SALCs*, que se forman cuando los orbitales de valencia tienen una simetría distinta a la de los orbitales de valencia del metal, dando origen a orbitales moleculares de enlace y de antienlace (*Figura 16*). (*Shriver & Atkins, 2010*)

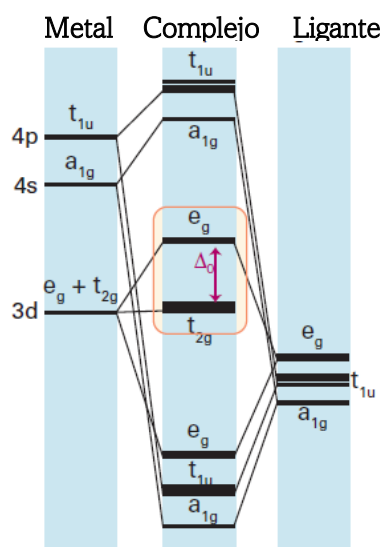


Figura. 16. *Diagrama de orbitales moleculares de un complejo octaédrico.* (*Shriver & Atkins, 2010*)

Ley de Bouguer, Lambert y Beer

La ley de Bouguer y Lambert establecida en 1760 está basada en que la energía transmitida en un medio homogéneo es proporcional a la intensidad de la radiación incidente. Esta relación es una constante denominada transmitancia. En un medio transparente cada capa d absorberá una misma fracción de luz incidente. Esto se expresa matemáticamente como:

$$A = -\log_{10}T \quad \text{Ec. (18)}$$

En la que A corresponde a la absorbancia y T a la transmitancia.

Por otro lado, la ley de Beer, enunciada en 1852, relaciona la radiación incidente con la concentración del espécimen absorbente, por lo que se dice que un fotón es absorbido cuando colisiona con una molécula y la probabilidad de que esto suceda es directamente proporcional al número de moléculas, por lo tanto, a su concentración (Ec. 19)

$$-\log_{10} T = a \cdot c \quad \text{Ec. (19)}$$

La ley fundamental de la espectrofotometría consiste en la combinación de ambas y es conocida como *ley de Lambert-Beer*. Expresada mediante la formula:

$$A = a \cdot l \cdot c = -\log_{10} T \quad \text{Ec. (20)}$$

Si expresamos la concentración en molaridad y el camino óptico en centímetros, la absortividad molar (ϵ) se expresará con la ecuación:

$$\epsilon = \frac{A}{l(\text{cm}) \times c (\text{moles/litro})} \quad \text{Ec. (21)}$$

Por lo tanto, la ley se expresa como:

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c \quad \text{Ec. (22)}$$

Sin embargo, la ley de Lambert-Beer presenta algunas limitaciones ya que solo describe bien la absorción en disoluciones diluidas ya que cuando la concentración es elevada, las partículas están muy juntas y la capacidad de absorber radiación se ve alterada, Otra de sus limitaciones ocurre cuando, la especie absorbente se encuentra asociada, disociada o interactuando con el disolvente y cuando por efecto del pH, se da lugar a otras especies, lo que provocará que la absorbancia no sea constante. Otros factores que producen desviaciones son la temperatura y la presión debido al efecto que tienen en el equilibrio químico y en el volumen de las disoluciones (*Faraldos & Goberna, 2011*).

Reglas de selección e intensidad de las bandas de absorción

En espectroscopía UV-Vis, las diferentes bandas se caracterizan por su frecuencia, intensidad y forma, la frecuencia depende del tipo de transición electrónica y la intensidad varía con la probabilidad de que se dé dicha transición. La probabilidad con la que se dé una transición puede

ser evaluada mediante el coeficiente de absorptividad molar (ϵ) ya que de acuerdo con su valor se considera a las transiciones como prohibidas o permitidas (Tabla 1).

Tabla. 1. Intervalo esperado de ϵ para distintos tipos de transición.

Transición	Intervalo esperado de ϵ ($M^{-1}cm^{-1}$)
Prohibida	≤ 10
Prohibida por regla de espín	< 1
Prohibido por regla de Laporte	20-100
Débilmente prohibida	< 1000
Permitida	$< 100,000$
Fuertemente permitida	$> 100,000$

Las reglas de selección permiten conocer si una transición será permitida o no. Uno de los criterios para que una transición sea permitida, es el momento dipolar, ya que, si su valor es diferente de cero, la transición será permitida. Lo mismo ocurre con la intensidad (*Shriver & Atkins, 2010*)

En espectroscopía UV-Vis se utilizan dos reglas de selección para explicar la probabilidad de que ocurra una transición:

a) Regla de selección de espín

Esta regla enuncia que el campo magnético de la radiación incidente no puede cambiar el valor del espín electrónico ($s = \pm \frac{1}{2}$) en un compuesto; sin embargo, esta regla puede romperse debido al momento angular del acoplamiento espín-orbital, aunque la transición tendrá una menor intensidad comparada con la intensidad de una transición permitida. La intensidad de una transición prohibida por regla de espín aumenta con el incremento del número atómico. A esto se le conoce como *efecto del átomo pesado*.

b) Regla de selección de Laporte

La regla de selección de Laporte consiste en que en una molécula centrosimétrica las únicas transiciones permitidas son las que conllevan un cambio de paridad, por lo que las transiciones entre los términos *g* (*gerade*) y *u* (*ungerade*) son permitidas. Lo que indica que en un compuesto centrosimétrico si no hay un cambio en el número cuántico *l* entonces no habrá cambio en la paridad.

En los compuestos de coordinación octaédrico las transiciones $d \rightarrow d$ del metal son $g \rightarrow g$, por lo tanto, son transiciones prohibidas, lo que nos permite entender que hay casos en los que esta regla puede romperse. Uno de ellos es cuando el compuesto sale ligeramente de su centrosimetría debido a la asimetría intrínseca que presenten los ligantes, o una distorsión impuesta por el ambiente e incluso por el empaquetamiento, en el caso de cristales. Otro de los casos en los que la simetría en el centro de inversión se rompe es cuando el compuesto se somete a vibraciones asimétricas producidas por estímulos externos. (*Shriver & Atkins, 2010*)

2.4 Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y Resonancia Paramagnética Electrónica (EPR)

La Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear se basa en la interacción magnética de los núcleos frente a un campo magnético, produciendo una diferencia energética (Efecto Zeeman nuclear; *Pavia, D., et al., 2001*)

Fundamento

Los núcleos atómicos tienen una propiedad llamada espín que indica que el núcleo se mantiene girando. En el caso de las partículas subatómicas como protones y neutrones ambos tienen un número cuántico de espín de $\frac{1}{2}$. Dependiendo de su acomodo en el núcleo el valor del espín nuclear (*I*) puede ser igual a cero o diferente de cero. En el caso de espines desapareados *I* puede tomar valores de $\frac{1}{2}, \frac{3}{2}, \frac{5}{2}$, etc. Por lo que la multiplicidad de espín está dada por: $2I + 1$. Los momentos magnéticos electrónicos y nucleares son propiedades de las partículas por lo que poseen momentos angulares totales dados por la ecuación:

$$J_I = \hbar I \quad \text{Ec. (23)}$$

En donde I es el operador del momento angular de espín y $\hbar = h/2\pi$ (h es la constante de Planck). Para un núcleo de hidrógeno $I = 1/2$ por lo que tendrá dos estados permitidos para su núcleo $\pm 1/2$.

m_I es el número cuántico de momento angular de espín nuclear y es una constante física con valores de $-I$ a $+I$.

En ausencia de un campo magnético aplicado todos los estados de espín nuclear tienen la misma energía. Lo contrario ocurre al aplicar un campo magnético ya que el núcleo al ser una partícula cargada en movimiento tiene la capacidad de generar su propio campo magnético (μ). Por otro lado, al aplicar un campo magnético, los protones se orientan opuestos mientras que los momentos magnéticos de los núcleos se alinean en dirección al campo. En el caso del átomo de hidrógeno, éste solo puede adoptar dos orientaciones $+ 1/2$ de menor energía y $-1/2$ de mayor energía (Figura 18; Pavia, D., et al., 2001; Drago, R., 1992).

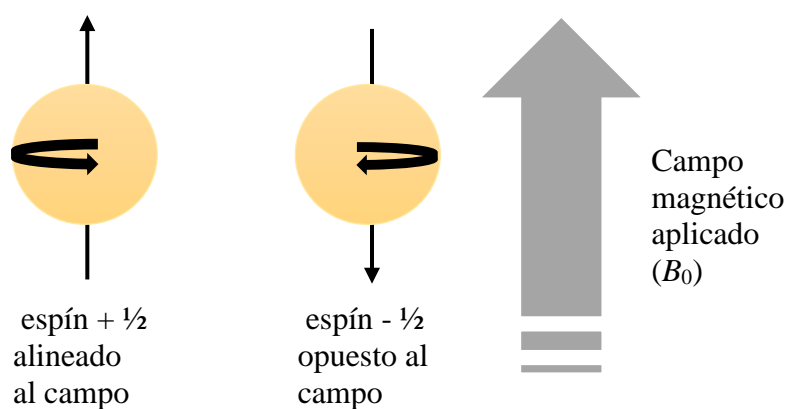


Figura. 17. Orientación del espín del hidrógeno frente a un campo magnético.

El fenómeno de resonancia ocurre cuando el núcleo se alinea con el campo magnético provocando que se absorba energía y haya un cambio en la orientación del espín, la absorción de energía es un proceso cuantizado por lo que debe ser igual a la diferencia de energía entre ambos

estados de acuerdo con la ecuación 24, la cual está en función del campo magnético aplicado (B_0).

$$\Delta E = \left(E_{-\frac{1}{2}} - E_{+\frac{1}{2}} \right) = h\nu \quad \text{Ec. (24)}$$

La diferencia energética entre ambos estados al aplicarse el campo magnético corresponde a la radiación en radiofrecuencia. A mayor radiofrecuencia el campo magnético será mayor; por lo tanto, el desdoblamiento entre los estados de espín será más grande (Figura19; Pavia, D., et al., 2001; Drago, R.,1992)

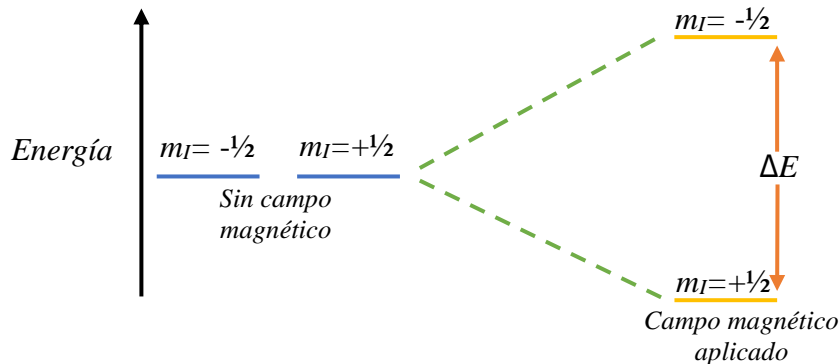


Figura. 18. Desdoblamiento de los estados $m_I = \pm 1/2$ frente a un campo magnético (efecto Zeeman nuclear).

Otro factor para considerar en el desdoblamiento de los niveles energéticos es la naturaleza, ya que cada núcleo tiene diferente radio de momento magnético debido a sus diferencias en la carga y masa: a este radio se le llama *constante giromagnética* (γ) y representa la relación entre el momento magnético nuclear y el momento angular nuclear.

$$\Delta E = \gamma \left(\frac{h}{2\pi} \right) B_0 = h\nu \quad \text{Ec. (25)}$$

Mecanismo de absorción del campo magnético (Resonancia)

Los protones absorben energía debido a que en un campo magnético aplicado tienen un movimiento llamado *precesión* (Figura 19). Este movimiento se lleva con una frecuencia angular, denominada *frecuencia de Larmor* (ω). La frecuencia a la que un protón precesa es directamente proporcional a la fuerza del campo magnético aplicado. Debido a que el núcleo tiene carga, el

movimiento de precesión genera un campo eléctrico oscilante de la misma frecuencia. Cuando la frecuencia de la componente de campo eléctrico de la radiación incidente choca con la generada durante la precesión ambos campos se acoplan y la energía de la radiación incidente es transferida al núcleo provocando un cambio de espín. A este fenómeno físico se le conoce como resonancia (Pavia, D., et al., 2001).

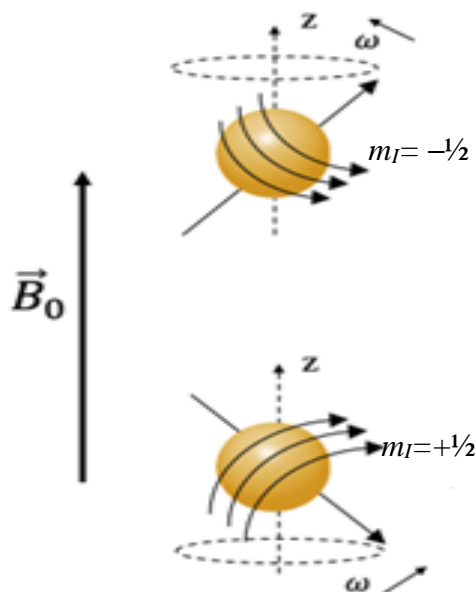


Figura. 19. Precesión del espín nuclear en presencia de un campo magnético. (Brusaferrri, L., 2020)

Contribuciones al desplazamiento químico

La resonancia magnética nuclear (RMN) es de gran utilidad debido a que los protones presentes en la molécula presentan resonancia a diferentes frecuencias (desplazamiento químico). Ya que cada protón tiene un ambiente químico diferente, su señal en el espectro de resonancia será a diferentes frecuencias lo que facilita su identificación.

Diversos factores pueden afectar al desplazamiento químico entre ellos los grupos vecinos, disolvente y factores propios como el apantallamiento en que el núcleo al estar rodeado por electrones los cuales en presencia del campo magnético producen una corriente electrónica diamagnética local que genera un campo magnético opuesto al campo aplicado que apantalla al núcleo. El apantallamiento depende de la densidad electrónica cercana al núcleo, por lo que es

inversamente proporcional al radio de Bohr. Por lo tanto, si el núcleo esta cercano a un átomo electronegativo, este efecto disminuirá afectando al desplazamiento (*Atkins, P. 1998*).

Mecanismos de relajación

Se le denomina relajación de espín al proceso en el que los espines regresan a una distribución en la que los estados $+1/2$ y $-1/2$ se encuentran igualmente poblados. Existen dos mecanismos de relajación denominados T_1 y T_2 . Los mecanismos de relajación influyen en la forma de las señales por el principio de incertidumbre y se relacionan con la ecuación:

$$\Delta E \Delta t \approx \hbar \quad \text{Ec. (26)}$$

En la que $\Delta E = h \Delta \nu$ y $\Delta t = T_2$. El tiempo de vida del estado excitado y el rango de frecuencias está dado por: $\Delta \nu \approx 1/T_2$ (*Atkins, P. 1998*).

Mecanismo de relajación T_1 , espín-red o longitudinal

Está asociado con la interacción de los espines nucleares con su entorno molecular, incluyendo el disolvente. Es producido por el campo magnético generado por el movimiento de las moléculas, el cual estimula a los espines nucleares a hacer el cambio de $-1/2$ a $+1/2$ o viceversa provocando un equilibrio térmico y por lo tanto la relajación. El equilibrio térmico se logra por intercambios de energía provocados por las transiciones entre ambos estados. (*Atkins, P. 1998; Mengana-Torres, Y., 2016*)

Los tiempos de relajación oscilan entre 10^{-2} y 10^2 s, pero los tiempos pueden ser del orden de 10^{-4} s si hay iones paramagnéticos en el compuesto analizado, esto sucede porque los iones paramagnéticos tienen campos magnéticos más intensos que se distribuyen de manera eficiente a la red causando relajación.

El proceso de este mecanismo puede ser descrito como la disminución del campo magnético en la componente z de la magnetización, por lo que se conoce como relajación longitudinal.

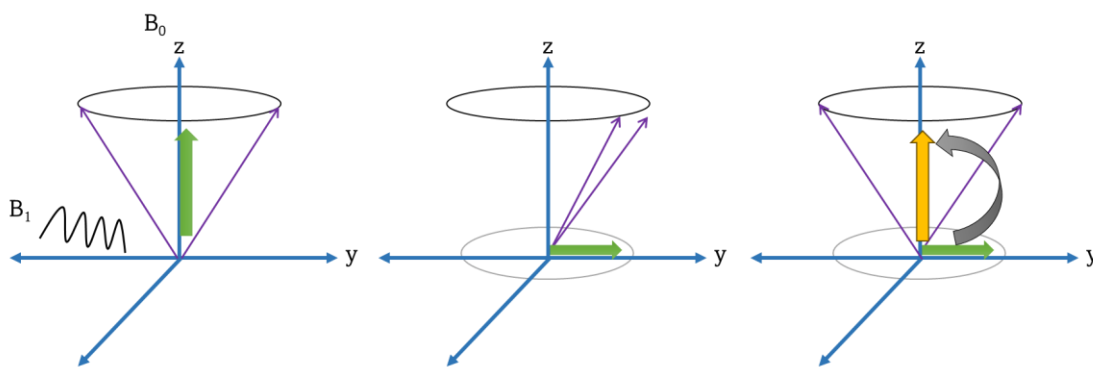


Figura. 20. Mecanismo de relajación T_1

Mecanismo de relajación T_2 , espín-espín o transversal

El mecanismo de relajación T_2 está asociado con la interacción entre los espines nucleares. La relajación es producida porque los espines nucleares dejan de precesar, por lo que pierden el campo magnético. Este proceso afecta a las componentes x y y de la magnetización, por lo que se le conoce como relajación transversal y puede ser producida por tres factores:

El campo magnético: cuando no es homogéneo los protones con un ambiente químico igual experimentarán diferentes campos dando origen a una distribución de frecuencias lo que provocará una banda ancha.

Desplazamiento químico: los espines nucleares que precesan a diferente frecuencia producen los diferentes desplazamientos, por lo tanto, habrá un campo magnético no homogéneo lo que provoca un ensanchamiento en la señal.

Interacción espín-espín: en este proceso un núcleo en estado excitado le transfiere energía a otro en estado basal regresando a su estado inicial. Este factor se ve afectado con la presencia de iones paramagnéticos, en que al tener electrones desapareados sus espines electrónicos producen campos magnéticos fluctuantes causando relajación nuclear. La interacción depende del núcleo resonante ya que, si la rotación del núcleo es más rápida que la relajación electrónica el núcleo verá al electrón con la misma magnitud, pero en diferente posición, por lo que la relajación nuclear será producto de un acoplamiento dipolar. Si el momento magnético electrónico se alinea con el campo magnético inducido causará un campo magnético que el núcleo sentirá a través del espacio.

La relajación nuclear en sistemas con átomos paramagnéticos será más eficiente por lo que los tiempos de relajación serán menores produciendo ensanchamiento de las señales en el espectro. (Atkins, P. 1998; Mengana-Torres, Y., 2016)

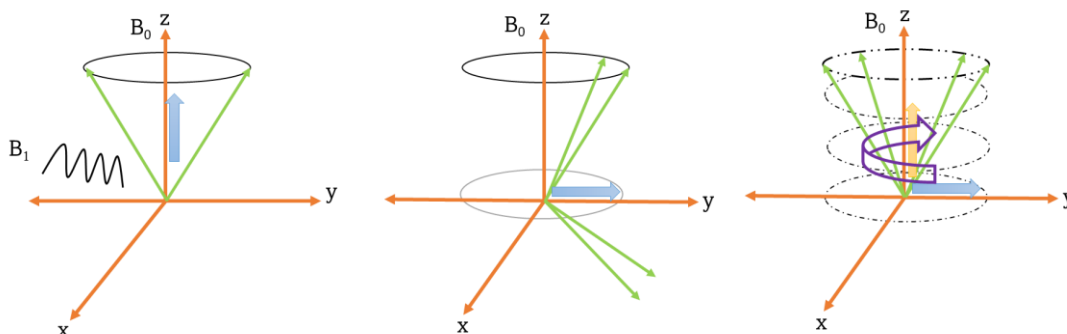


Figura. 21. Mecanismo de relajación T_2

Resonancia Paramagnética Electrónica (RPE)

2.5 Difracción de Rayos-X en monocristal.

Los rayos X son un tipo de radiación electromagnética transversal de onda corta, cuya longitud de onda oscila entre 10^{-8} y 10^{-12} m con frecuencias de entre 10^{16} a 10^{20} Hz. El rango utilizado en cristalografía de rayos X es 5×10^{-11} a 2.5×10^{-10} m y la intensidad con la que atraviesan la superficie es proporcional al cuadrado de la amplitud de la vibración (Guinier, A., 1963; Faraldos & Goberna, 2011).

La difracción de rayos X es producto de la dispersión de cada átomo y de la interferencia entre las ondas dispersadas por ellos. Considerando un haz monocromático de rayos X que difracta en un centro dispersante con una amplitud de la vibración $A_0 \cos 2\pi \nu t$ en un punto O , la amplitud (A) de la onda dispersada a una distancia r está dada por la ecuación:

$$A = f A_0 \cos \left[2\pi \nu \left(t - \frac{r}{c} \right) - \psi \right] \quad \text{Ec. (27)}$$

Donde f es el factor de dispersión en función del ángulo 2θ entre los rayos incidente y

dispersado y ψ es el desplazamiento de la fase dispersora cuando el centro dispersante es un electrón libre ψ es igual a π (Guinier, A., 1963).

En un sólido cristalino los haces de rayos X dispersados están definidos por la ley de Bragg. Considerando a la red cristalina como un conjunto de planos reflectantes separados por una distancia d , para calcular el ángulo entre el cristal y el haz de rayos X se emplea la ley de Bragg dada por la ecuación:

$$n\lambda = 2d\text{sen}\theta \quad \text{Ec. (28)}$$

Reescribiendo la ley de Bragg: $\text{sen}\theta = n\lambda/2(1/d)$ Ec. (29)

En la que se $\text{sen}\theta$ es inversamente proporcional al espaciado d en la red cristalina, por lo que las estructuras con mayor espacio en la red tendrán un patrón de difracción compacto; mientras que en estructuras con espacios reducidos sus patrones serán extensos (Atkins, P., 1998; Faraldos & Goberna, 2011).

Cuando un haz de rayos X colisiona con un átomo, éste absorbe su energía, desplaza a los electrones de las capas internas y genera un espacio en la estructura atómica volviéndola inestable. El efecto fotoeléctrico es la emisión de un fotón de rayos X producida por un electrón externo del átomo que ocupa el espacio generado para volver a su estado de mínima energía (Figura 23); Solo los electrones que cumplen con el momento angular orbital $\Delta l = \pm 1$ y el momento angular total $\Delta j = \pm 1$ o 0 pueden ocupar el espacio generado (Guinier, A., 1963; Faraldos & Goberna, 2011).

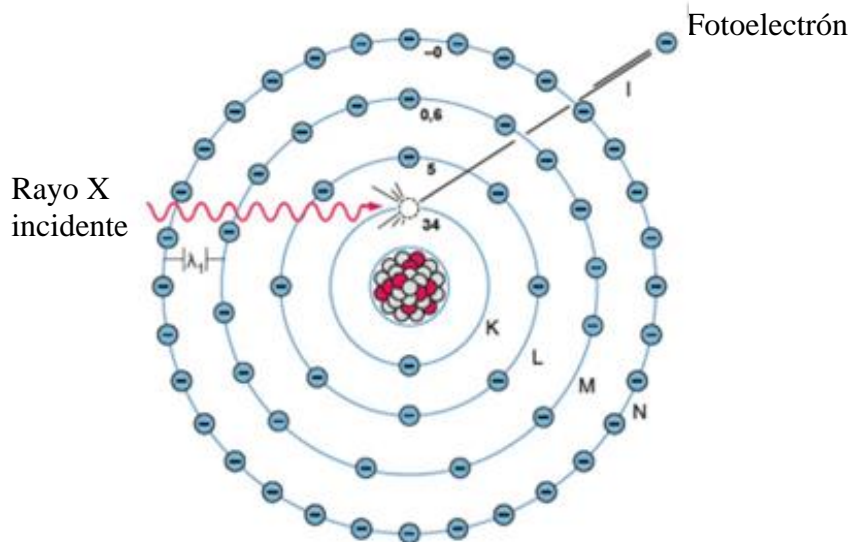


Figura. 22. Efecto fotoeléctrico (Faraldos & Goberna, 2011)

Debido a que los estados de energía de los electrones están cuantizados y son característicos de cada elemento, los fotones de rayos X emitidos son característicos de cada átomo. La relación existente entre la energía de una transición de rayos X emitida y los átomos que la generan se descubrió en 1913 por H.G.J. Moseley proponiendo que la energía de los fotones es dependiente del número atómico (ecuación 29), en la que k_j y σ_j son constantes para cada transición (j), (Faraldos & Goberna, 2011)

$$E = k_j(Z - \sigma_j)^2 \quad \text{Ec. (30)}$$

A partir de esta ecuación se deduce que la posición de las líneas de emisión es inversamente proporcional al cuadrado del número atómico y las frecuencias aumentan con el número atómico. Si se identifica la frecuencia o la longitud de onda de la línea característica se puede identificar al elemento por su número atómico. Si se midiera la intensidad de esta línea se puede estimar la concentración atómica del elemento. (Faraldos & Goberna, 2011)

A la dispersión de rayos X en posiciones ordenadas se le llama difracción y es producida por que los elementos absorben y reemiten la radiación en todas las direcciones. Al hacer incidir un haz de rayos X sobre un cristal, choca con los átomos produciendo ondas que pueden interferir entre

ellas de manera constructiva o destructiva.

Los haces difractados por un cristal no son haces reflejados. A diferencia de la luz, los rayos X solo serán reflejados tanto por la superficie como por su interior cuando inciden sobre el cristal en direcciones específicas. Por lo tanto, el difractograma será producido cuando el haz de rayos X con una longitud de onda λ incide sobre dos planos de átomos paralelos y es difractado con un ángulo θ . Las ondas difractadas producirán una intensidad máxima que será captada por un detector. La posición de cada pico de difracción dependerá del espaciado en la red cristalina y es característico de cada especie cristalina. (*Faraldos & Goberna, 2011; Guinier, A., 1963*)

Un difractograma de rayos X consta de los datos de intensidad en función del ángulo de difracción y a partir de este se obtiene la posición, intensidad y perfil de los picos. En el caso de la posición esta será expresada en valores de θ , 2θ , d o $\theta=1/d^2$ y es producto de la ley de Bragg y la ecuación del espaciado cristalino, por lo que la dirección en la que el haz es difractado depende del sistema cristalino y de sus parámetros de red.

La segunda característica en un difractograma es la intensidad de los picos la cual dependerá del ángulo de dispersión. Otros factores que influyen en la intensidad son: el factor de estructura (F), que depende de la posición y es igual a la suma de los factores de dispersión de los átomos individuales (ecuación 31)

$$F(0) = \sum_1^r f_i \quad \text{Ec. (31)}$$

En la que el $F(0)$ es igual al número de electrones en el grupo de átomos considerados; sin embargo, la intensidad se verá afectada por otros parámetros como: la distancia interatómica, el factor de Lorentz que considera variables geométricas, la absorción que depende de la opacidad de la muestra y de cómo la radiación atraviesa la muestra y de la temperatura, debido a que las vibraciones térmicas son menores a bajas temperaturas.

Por último, el perfil de los picos en un difractograma se ve afectado por factores instrumentales y de la microestructura de la muestra. El ensanchamiento de los picos se debe al tamaño de los dominios coherentes. (*Faraldos & Goberna, 2011; Guinier, A., 1963*)

Estructura cristalina

Los sólidos cristalinos (*Figura 24*) se caracterizan por tener grandes fuerzas de cohesión entre las partículas que los componen, tienen una distribución ordenada y periódica en el espacio. Debido a esta periodicidad presentan formas regulares con aristas, caras y vértices definidos. (*Faraldos & Goberna, 2011*)

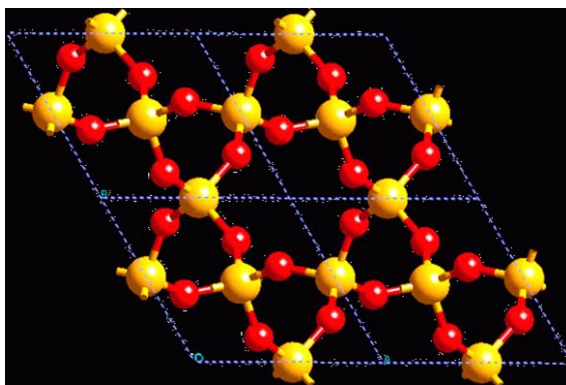


Figura. 23. Estructura de un sólido cristalino (cuarzo) (Osorio, H., 2010)

En 1850 Auguste Bravais definió la estructura cristalina como una red producto del agrupamiento de paralelepípedos formados por algunos átomos denominada *celda unitaria*, que está definida por los parámetros: a , b y c y tres ángulos α , β y γ (*Figura 25*). (*Atkins, P., 1998; Faraldos & Goberna, 2011*)

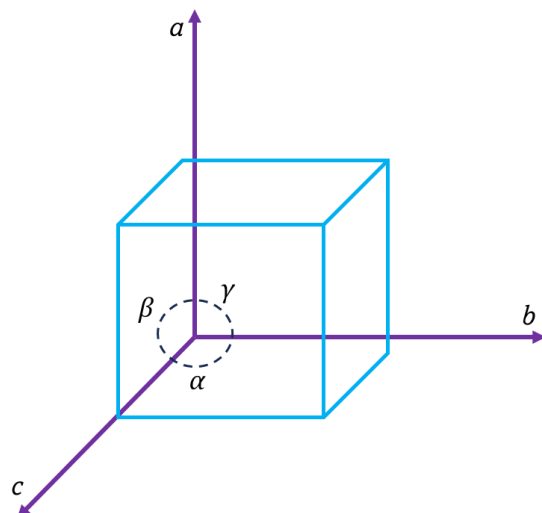


Figura. 24. Parámetros de una celda unitaria

Hay cinco posibles formaciones para redes planas: paralelogramo, rectángulo, cuadrado, hexágono y rombo; por lo que si apilamos estas redes se generan catorce redes conocidas como *redes de Bravais* (Figura 26; Atkins, P., 1998; Faraldos & Goberna, 2011)

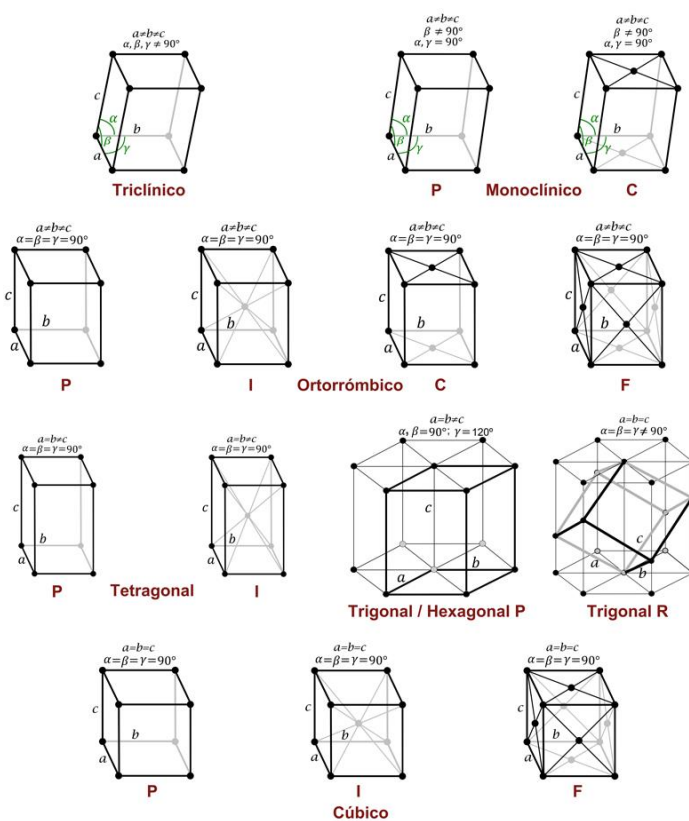


Figura. 25. Parámetros de las redes cristalinas de Bravais

Desde un punto de vista geométrico se puede considerar a las redes como líneas y planos reticulares que pasan a través de la red, por lo que se usa la distancia mínima de intersección para designar una serie de planos paralelos. Los índices de Miller son un triplete de números enteros que representa y describe al conjunto de familias de planos mediante las letras *hkl*. (Atkins, P., 1998; Faraldos & Goberna, 2011)

Las propiedades fundamentales de los cristales son: homogeneidad (todos los nudos de una red cristalina son idénticos), anisotropía (según la cual determinadas propiedades de un cristal como conductividad eléctrica, calorífica, propagación de la luz, etc., dependen de la orientación que se considere), y simetría (definida por los operadores: centro, eje y plano de simetría). De las 32 clases cristalinas, solo 11 tienen centro de simetría, y se conocen como *grupos de Laue*. (Faraldos & Goberna, 2011)

Al combinar las 32 clases cristalinas con las 14 redes de Bravais se obtienen 230 modos posibles de repetir un objeto, se les denomina *grupos espaciales* y representan las diferentes formas de adecuar las redes de Bravais a la simetría de las estructuras. (Faraldos & Goberna, 2011)

Refinamiento cristalino

El objetivo del refinamiento cristalino es obtener las posiciones atómicas a partir de los datos de difracción; sin embargo, esto no es posible con los datos experimentales debido a que de estos solo se obtienen magnitudes y no fases para los factores de estructura, por lo que para resolver este problema se utilizan otros métodos, por ejemplo en la ecuación 32 se propone que las intensidades medidas sean proporcionales al cuadrado de los factores de estructura; sin embargo, las intensidades solo dependerán de los vectores interatómicos.

$$|F_h|^2 = \sum_{j=1}^N f_j^2 + 2 \sum_{j>k=1}^N f_j f_k \cos 2\pi h \cdot (r_j - r_k) \quad \text{Ec. (32)}$$

En la que F es el factor de estructura, f los factores de dispersión y r los vectores atómicos de posición; sin embargo, las intensidades solo dependerán de los vectores interatómicos. La posibilidad de resolver este tipo de sistemas de ecuaciones implica una solución aproximada o

modelo estructural inicial que puede ser refinado hasta obtener el mejor arreglo a partir de los datos experimentales.

El parámetro comúnmente usado para expresar el ajuste entre las intensidades de difracción calculadas y las observadas, es el *índice o factor R* (Ecuación 33)

$$R = \frac{\sum_h ||F_h^o| - K|F_h^c||}{\sum_h |F_h^o|} = \frac{\sum_h \Delta F_h}{\sum_h |F_h^o|} \quad \text{Ec. (33)}$$

En la que K es un factor obtenido de $K = \sum_h |F_h^o| / \sum_h |F_h^c|$.

En general un modelo con valor de $R \leq 0.04$ si es centro simétrico o 0.05 si no lo es se considera un buen ajuste. En el caso de cristales que contienen una o más moléculas de disolvente el modelo inicial no estará completo y el factor R no disminuirá de 0.15-0.25 hasta que las posiciones de las moléculas de disolvente sean tomadas en cuenta (Giacovazzo, C., et al, 2020).

Análisis graph-set en estructuras cristalinas

El análisis *graph-set* consiste en visualizar los patrones de puente de hidrógeno topológicamente como si fueran redes entrelazadas (líneas) con moléculas (nodos).

El origen de este análisis surge en 1968 con Hamilton & Ibers quienes asignaron a las redes de puentes de hidrógeno los N (el número de puentes de hidrógeno por punto) y M (el número de moléculas a las cuales un punto está unido por hidrógeno).

El *graph-set* es una descripción que indica cuántos donadores y aceptores son usados en un patrón de puente de hidrógeno y cuál es la naturaleza del patrón

El análisis *graph-set* utiliza nomenclatura en la que G es un descriptor referente al patrón, su grado (r) y el número de donadores (d) y aceptores (a). Hay tres asignaciones para los enlaces de hidrógeno son intermoleculares: C (*cadena infinita de enlaces de hidrógeno*), R (*anillos*) D (*dímeros no*

cíclicos). S indica un enlace de hidrógeno intramolecular. Son utilizados de la forma: $G_d^a(r)$.

La principal aplicación del análisis *graph-set* en la estructura cristalina es comparar y analizar conjuntos de moléculas (Etter, M., et al, 1990).

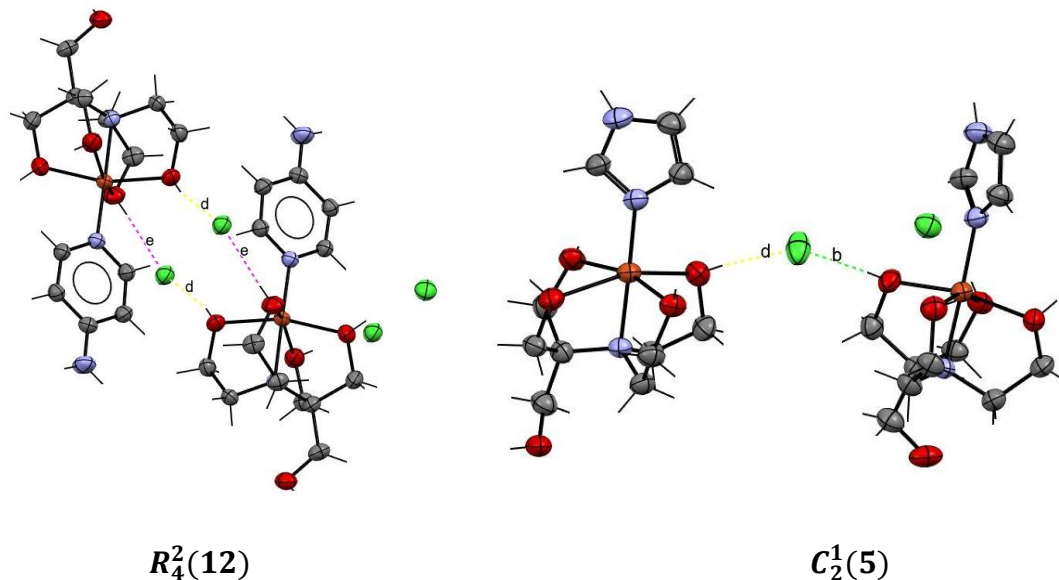


Figura. 26. Arreglos por puente de hidrógeno para las estructuras FIPAMINO (izquierda) y FIPIMIDA (derecha)

2.6 Pruebas de sensibilidad antimicrobiana

La resistencia antimicrobiana es un proceso natural de los microorganismos, el cual es considerado como emergencia de salud pública debido a su descontrolada diseminación; su principal causa es por el uso inadecuado de antibióticos. (De la fuente, N. et al., 2015)

En febrero de 2017 la OMS publicó una lista de patógenos para los que desarrollar nuevas terapias antimicrobianas son urgentes; este grupo de patógenos es denominado como *ESKAPE*, este acrónimo incluye a seis bacterias que tienen multiresistencia a antibacterianos y alta virulencia: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Enterobacter spp.* Estas bacterias ocasionan enfermedades severas con elevada mortalidad como lo son las infecciones en torrente sanguíneo y la neumonía.

(De Oliveira, D., et al, 2020; Mulani, M., et al, 2019)

Staphylococcus aureus

Es un patógeno que coloniza mayormente en humanos, es una bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa, catalasa y coagulasa positiva. Produce infecciones potencialmente mortales como infecciones en piel y tejidos blandos (vasos sanguíneos, músculos, etc.) endocarditis bacteriana, infecciones pulmonares e infecciones relacionadas a dispositivos médicos. Es altamente contagiosa y capaz de inducir infecciones crónicas debido a su alta capacidad de desarrollar resistencia antimicrobiana.

De acuerdo con la OMS la patogenicidad de *Staphylococcus aureus* es una amenaza mayor a la salud humana en todo el mundo (Mancuso, G., et al, 2021).

Escherichia coli

Es una bacilo Gramnegativo, anaerobio facultativo de la familia Enterobacteriaceae. Es considerada parte de la microbiota intestinal; sin embargo, hay cepas capaces de ocasionar diversas infecciones principalmente gastrointestinales. Los principales grupos causantes de infecciones se clasifican en: enterotoxigénica, enterohemorrágica, enteroinvasiva, enteropatógena y enteroagregativa. Las enfermedades producidas por E. coli ocasionan en promedio 2 millones de muertes al año (Rodríguez-Angeles, G., 2002).

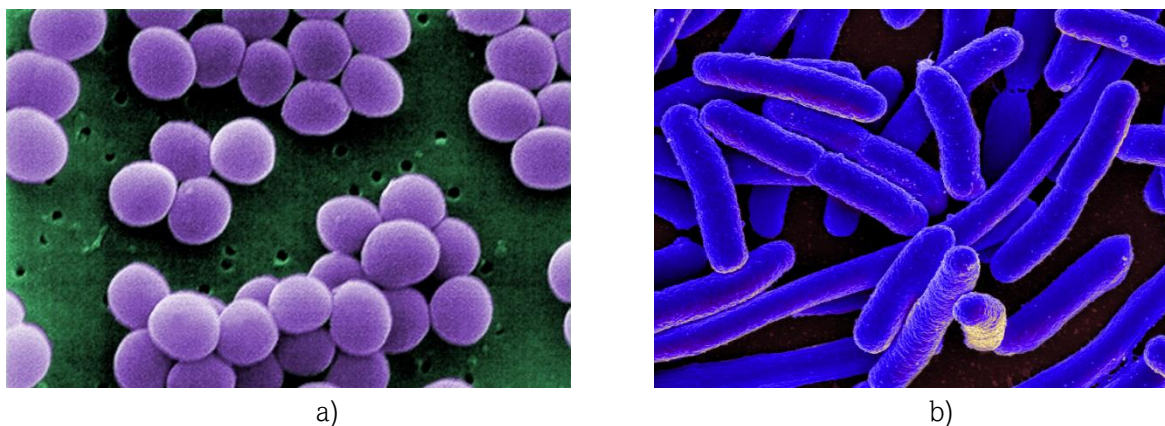


Figura. 27. Bacterias de interés en este trabajo. a) *Staphylococcus aureus* y b) *Escherichia coli*. (Janice Haney Carr, 2001) (National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID), 2002)

Las pruebas de sensibilidad a antimicrobianos son utilizadas en áreas como el descubrimiento de fármacos, epidemiología y predicción de nuevas terapias antimicrobianas, estas pruebas se desarrollan por diferentes métodos *in vitro* y definen la actividad de un antibiótico frente a un microorganismo.

Los métodos más utilizados son los de difusión en disco o los métodos de dilución en agar o caldo. (Balouiri M., et al, 2016)

Método de difusión en disco

Se desarrolló en 1940 y está basado en los trabajos de Kirby y Bauer; es uno de los métodos que el *Comité Nacional para Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS*, por sus siglas en inglés) recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos. Consiste en inocular una superficie de agar en cajas Petri con una concentración estándar de la bacteria problema para después colocar discos de papel filtro de 6mm de diámetro impregnados con una determinada concentración de los antibacterianos, una vez depositado el disco el antibiótico comienza a difundir provocando la inhibición de la bacteria. Las placas se incuban de 18 a 24 horas. El antimicrobiano difunde en el agar e inhibe germinación y crecimiento del organismo de prueba. Aparecen zonas de inhibición alrededor del disco, las cuales son medidas y en base a los diámetros de inhibición se interpreta como susceptible, intermedia o resistente. (Balouiri, M., et al, 2016; Picazo, 2000)

A pesar de ser una técnica sencilla y accesible, no es la metodología apropiada para determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC).

MIC es la concentración más baja de antibiótico expresada en mg/L para inhibir el crecimiento visible de un microorganismo; mientras que la MBC o concentración mínima bactericida es la cantidad más baja en mg/L en la que un antimicrobiano es capaz de reducir el 99.9% de microbios después de incubar por 24h. (Balouiri, M., et al, 2016; Picazo, 2000)

Método de dilución

Los métodos de dilución ya sea en caldo o en agar son los más apropiados para la determinación de la MIC y MBC, ya que pueden ser medidas cuantitativamente mediante micro o macrodilución.

El procedimiento consiste en preparar diluciones al doble (por ejemplo 1, 2, 4, 8, 16, 32 $\mu\text{g/mL}$) al doble del agente antimicrobiano en un medio de crecimiento líquido, en el caso de doxiciclina el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio, (CLSI, por sus siglas en inglés) recomienda buffer fosfato salino o PBS. Las diluciones se colocan en tubos (2mL) o pocillos (100 μL) dependiendo del volumen, en el caso de macrodilución serán 2 mL como mínimo; mientras para microdilución será de 100 μL . Cada tubo o pocillo se inocula con el agente microbiano preparado en el medio de crecimiento ajustado a 0.5 en la escala de McFarland y se mezclan los pocillos o tubos para después incubarlos bajo condiciones determinadas por el microorganismo.

Por último, se hace la determinación de la MIC y MBC mediante métodos colorimétricos basados en el uso de sales de tetrazolio, principalmente cuando la determinación se hace en microdilución.

Algo que se debe considerar es que tanto los medios de crecimiento, la concentración, la preparación del inóculo y el tiempo de incubación pueden influir en los valores de la MIC; sin embargo, estos parámetros están estandarizados por el CLSI. (*Balouiri, M., et al, 2016; Picazo, 2000*)

Control de calidad

El control de calidad de estos métodos se realiza usando cepas control provenientes de centros que se dedican a la producción y mantenimiento de cepas bacterianas como la *American Type Culture Collection (ATCC)* recomendadas por el CLSI y el NCCLS. El uso de estas tiene como finalidad asegurar que la prueba de sensibilidad es realizada de manera correcta ya que cada cepa control tiene límites de referencia establecidos por la regulación internacional. (*Luis, M., 1999; CLSI/NCCLS, 2009*)



Figura. 28. Cepas ATTC utilizadas en el control de calidad en pruebas de sensibilidad antimicrobiana (Scharlab, 2023)

CAPÍTULO III

Metodología

- Disolventes y Reactivos
- Equipos
- Aislamiento de materia prima
- Síntesis de los precursores
- Síntesis de los compuestos propuestos



3.1 Disolventes y Reactivos

Para la síntesis de los compuestos de coordinación se usaron como ligantes: imidazol, 4-nitroimidazol, 1,1-carbonildiimidazol, 4-aminopiridina, fluconazol, metronidazol (extraídos de tabletas comerciales) y bis-tris metano. Como sales de cobre se utilizaron: cloruro de cobre dihidratado y bromuro de cobre. Las sales de cobre y el bis-tris metano fueron adquiridos del proveedor Sigma-Aldrich y usados sin purificación previa.

Como disolventes se buscó que los disolventes fueran de fácil acceso y poca toxicidad por lo que se utilizó: agua destilada, etanol al 70% y metanol.

Los disolventes usados para RMN-¹H fueron D₂O, CD₃OD y DMSO-*d*₆; para los análisis de UV-Vis se usó agua destilada.

Todas las reacciones se repitieron cuatro veces.

3.2 Instrumentación y equipos analíticos

Para la determinación de temperatura de fusión se usó un Fusiómetro marca Mel-Temp y tubos capilares de vidrio de 75 mm.

Los espectros de infrarrojo se hicieron en un espectro de infrarrojo Cary 630 FT-IR con detector de ATR en la zona del infrarrojo medio de 4000-400 cm⁻¹ de la UDLAP.

Para los espectros de UV-Vis se utilizó el equipo HACH DR-5000 del laboratorio de adsorción y catálisis del ICUAP, en un rango de 400-1100 nm, con celdas de cuarzo para la medición.

Los datos de difracción de rayos-X se obtuvieron de los equipos: Xcalibur Gemini de Agilent technologies de la Facultad de Química de la UNAM con un detector CCD-Atlas y fuente Enhance de 3kW con una radiación de Mo y longitud de onda (λ) de 0.71073 Å. El software usado para la medición de los datos fue CrysAlis Pro para XUBNIR, FIPBROMO y FIPRAY-H y para los

compuestos FIPRAY, FIPAMINO Y FIPIMIDA se usó el difractómetro del Instituto de Física “Luis Rivera Terrazas” con el equipo STOE Stadivari, con micro fuente de radiación de Ag de la marca AXO ($\lambda=0.56083\text{\AA}$) y un detector DECTRIS Pilatus-100K a temperatura ambiente. Para el cálculo del refinamiento se usó SHELXL mediante la interfaz Olex2.

El equipo usado para los espectros de RMN- ^1H fue un espectrofotómetro Bruker de 500 MHz del ICUAP. Para los compuestos se hicieron 1058 barridos en un rango de -100 a 100 ppm en tubos de borosilicato de 5 mm.

Los análisis por espectrometría de masas se realizaron en el Instituto de Química de la UNAM en un equipo JEOL- JMS-SX 102 A, por la técnica de Fast Atom Bombardment (FAB) en una matriz de NBA (Nitrobencil Alcohol).

El equipo usado para RAMAN fue un espectro de RAMAN acoplado a un microscopio confocal marca Horiba modelo XploRA PLUS del departamento de Ciencias Químico-Biológicas de la UDLAP con un láser He—Ne de 532 nm, en un rango de 10 y 50% de su potencia (100 mW) dependiendo de la sensibilidad térmica de las muestras. Las muestras fueron depositadas sobre un portaobjetos de vidrio y analizadas con una rejilla de difracción de 1200 g/mm, con un área de análisis de un diámetro de aprox. 0.72 mm usando un objetivo de 100x.

Los espectros de IR, UV-Vis, Raman, RPE y los resultados de los análisis microbiológicos se graficaron usando el programa Origin 2023, mientras que para RMN se usó el programa MestReNova.

Las fotografías de los cristales de materia prima y productos se obtuvieron en un microscopio estereoscópico marca Carl Zeiss modelo Stemi 508.

3.3 Aislamiento de metronidazol y fluconazol

a) *Metronidazol*

Para su extracción se utilizaron tabletas comerciales de 500 mg de marca Messeldazol, se trituraron las 30 tabletas hasta obtener un polvo fino y se mezcló en 50 mL de etanol al 70%. Se filtró para retirar el excipiente y la solución obtenida se dejó evaporar a temperatura ambiente hasta obtener cristales. Para verificar la obtención del metronidazol se midió la temperatura de fusión del compuesto obtenido y se comparó con el reportado en la bibliografía.

b) *Fluconazol*

Se usaron cápsulas de 100 mg de marca Ameztram, se separaron las 10 capsulas para obtener el polvo del interior y se disolvió en etanol al 70%. Se filtró retirando el excipiente, una vez obtenida la solución se dejó evaporar a temperatura ambiente hasta la obtención de cristales y se midió su temperatura de fusión y se comparó con el reportado en la bibliografía para verificar la presencia del compuesto.



a)



b)

Figura. 29. Cristales de materia prima a) metronidazol y b) fluconazol

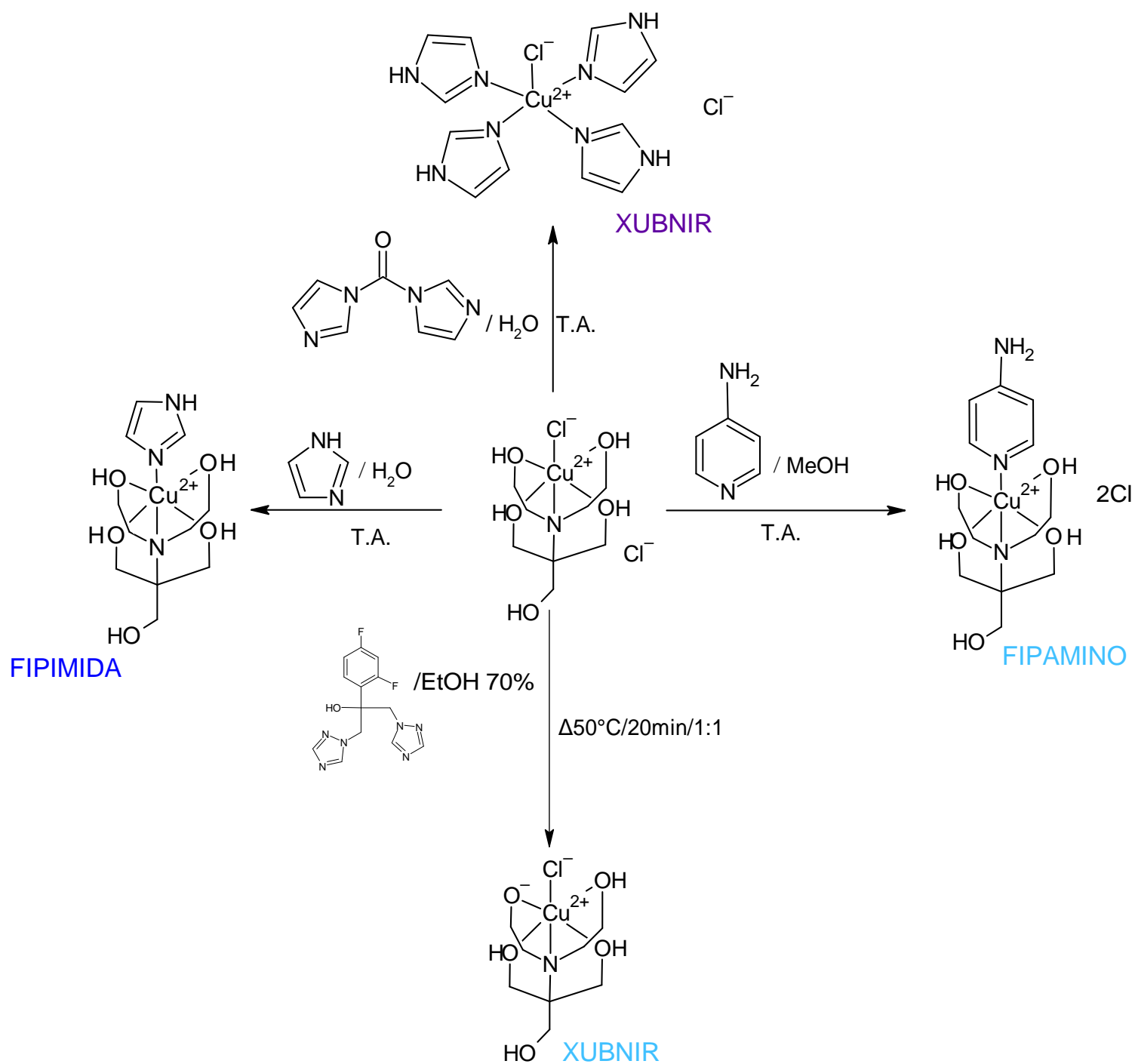
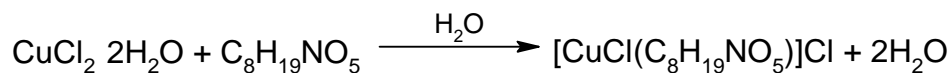


Figura. 30. Esquema de reacciones de los compuestos obtenidos

3.4 Síntesis de los precursores [CuCl(bis-tris)]Cl (FIPRAY) y [CuBr(bis-tris)]Br (FIPBROMO).

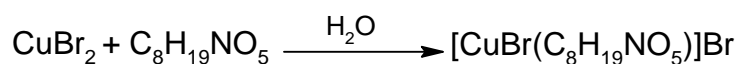
a) Fipray



Reacción para la obtención de FIPRAY

Se pesó la cantidad equivalente a 1 mmol de bis-tris y 1 mmol de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y se disolvieron en 30 mL de agua destilada en un vaso desechable. Obteniéndose una solución color azul cielo, se dejó evaporar a temperatura ambiente de 7 a 10 días obteniéndose cristales azul turquesa de forma rómbica.

b) Fipbromo



Reacción para la obtención de FIPBROMO

Se pesaron 210 mg de bis-tris y 223 mg de CuBr_2 , ambas materias primas se disolvieron en 30 mL de agua destilada en un vaso desechable, obteniéndose una solución azul que al tercer día se vuelve verde, se dejó evaporar a temperatura ambiente entre 7 y 10 días obteniéndose cristales color verde esmeralda.

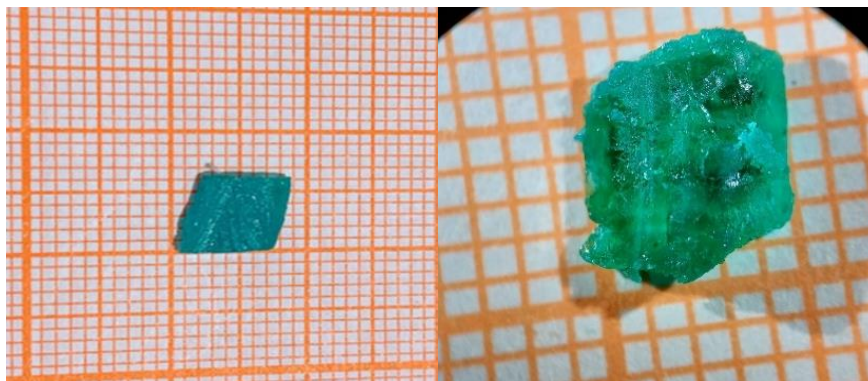
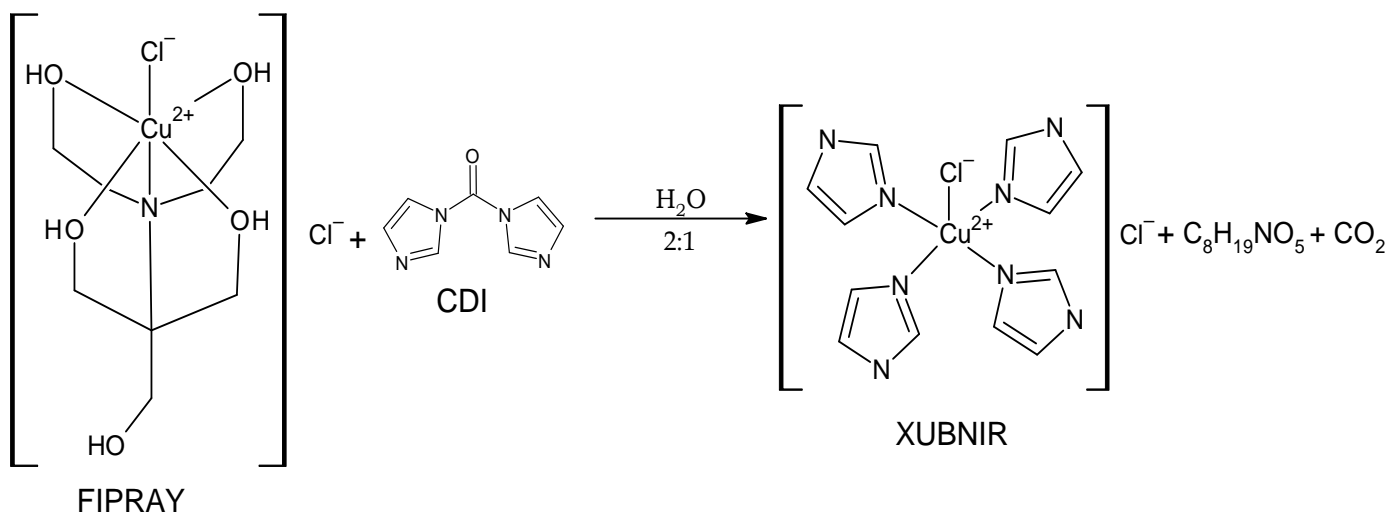


Figura. 31. Cristales de FIPRAY (izquierda) y FIPBROMO (derecha)

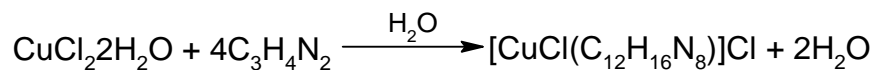
3.5 Síntesis de XUBNIR y FIPRAY-H

1) Síntesis de XUBNIR



Esquema de reacción para obtener el compuesto XUBNIR

Se pesaron 0.343 g de FIPRAY y 0.163 g de carbonildiimidazol (CDI) y se disolvieron en 30 de mL de agua destilada a temperatura ambiente. Se formó una solución color azul marino, que se dejó evaporar a temperatura ambiente por 10 días, obteniéndose cristales azul marino de forma rómbica (Figura 31); Sin embargo, el análisis por difracción de rayos X en monocristal indicó que el compuesto se encontraba reportado en la base de datos del CCDC como XUBNIR, (Otieno y cols. 2001), el cual está formado por un átomo de cobre y cuatro moléculas de imidazol, por lo que se sintetizó por otra ruta con la finalidad de evitar reactivos innecesarios. Para esto se utilizó 0.170 g de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y 0.280 g de imidazol disueltos en agua destilada. La solución se dejó evaporar por 7 días, obteniéndose cristales azul marino, que por temperatura de fusión (211°C) se determinó que era el compuesto XUBNIR.



Reacción alterna para la obtención de XUBNIR

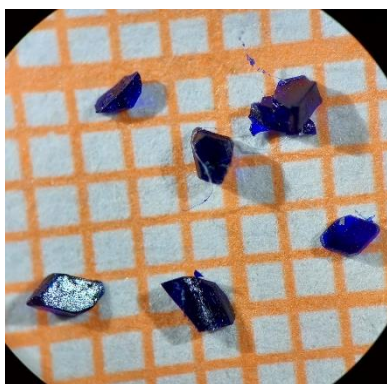
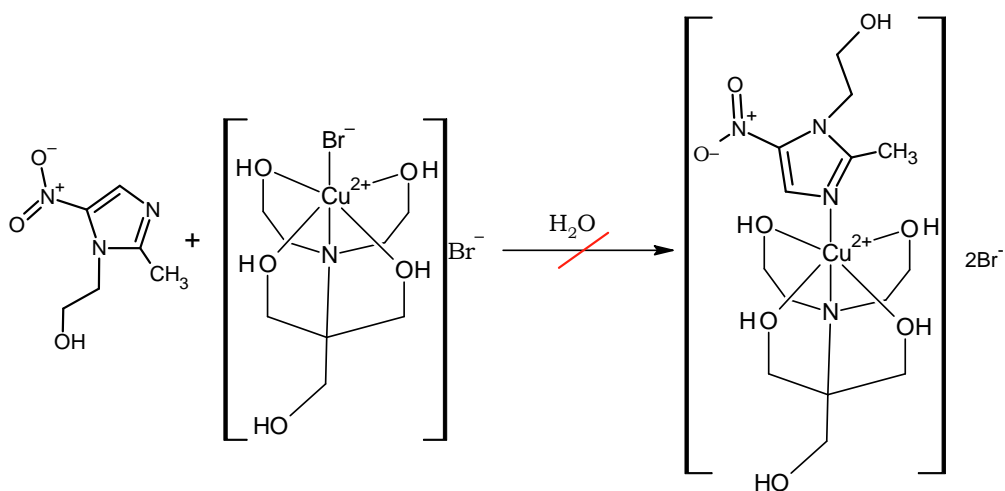


Figura. 32. Cristales de XUBNIR

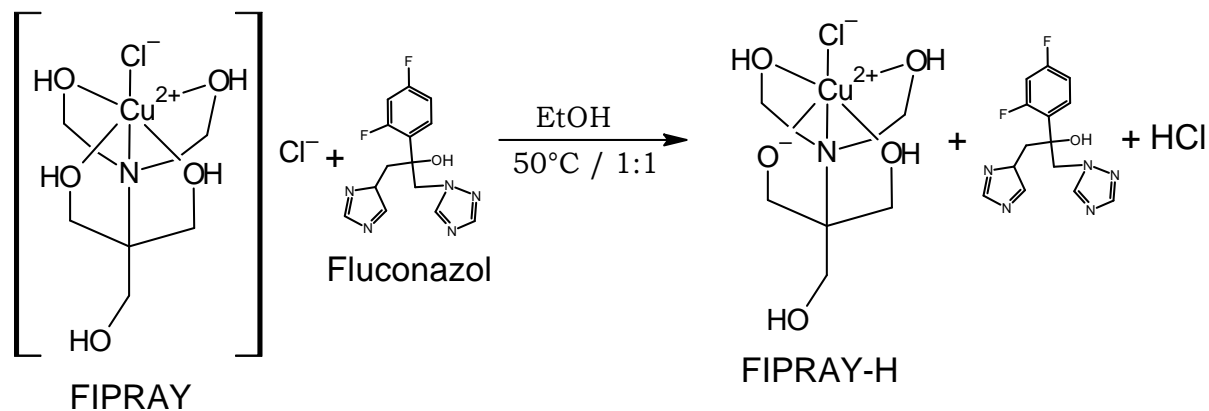
2) Reacción de Fipbromo con metronidazol



Esquema de reacción para la obtención de FIPMETRO

Se hicieron reaccionar 1mmol de metronidazol con 0.412 g de fipbromo en 30 mL de agua destilada, obteniéndose una solución color azul cielo que al paso de 3 días se volvió verde. Se dejó evaporar a temperatura ambiente obteniéndose cristales color verde y un residuo negro por lo que se les hicieron lavados usando metanol; sin embargo; al hacer los análisis, el producto correspondió al precursor, por lo que se hicieron otras reacciones para la obtención del producto esperado, pero no se tuvo éxito.

3) Síntesis de FIPRAY-H



Esquema de reacción para la obtención de FIPRAY-H

Se pusieron a reaccionar 1 mmol (0.343 g) de FIPRAY con 1 mmol (0.307 g) de fluconazol en 15 mL de etanol al 70%. Debido a que el FIPRAY no se disuelve con facilidad se puso la solución a calentamiento (50°C) y agitación por 20 minutos, pasado este tiempo, se obtuvo un polvo color azul que se filtró y la solución restante se dejó evaporar por 3 días, formándose un polímero azul, el cual se disolvió en metanol. Una vez evaporado el disolvente se obtuvo un polvo cristalino color azul cielo.

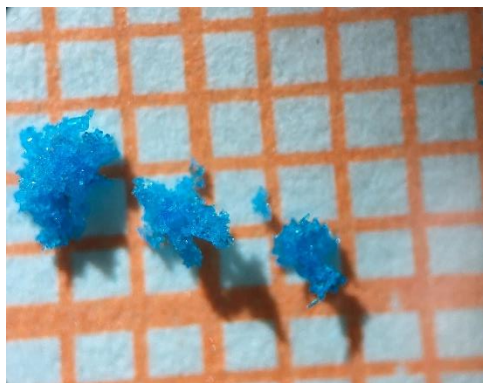
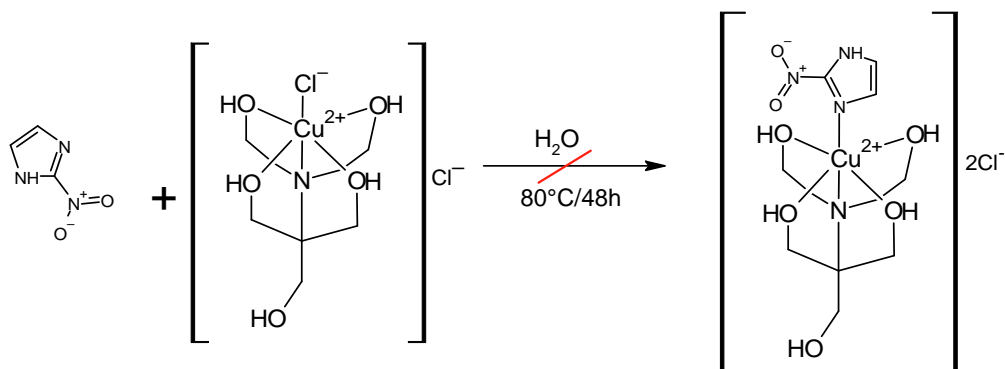


Figura. 33. Cristales de FIPRAY-H

4) FIPRAY con 4-nitroimidazol



Se hizo una solución con 1 mmol (0.343 g) de FIPRAY y 1 mmol (0.113 g) de 4-nitroimidazol en agua destilada, se puso a calentamiento (80°C) y agitación por 48 h obteniendo un polvo morado y una solución azul cielo que al evaporarse produce cristales color azul turquesa correspondientes a FIPRAY.

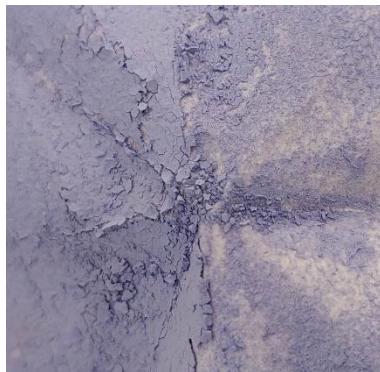


Figura. 34. Sólido obtenido de la reacción 4

Los compuestos FIPAMINO y FIPIMIDA se sintetizaron usando la metodología reportada en la tesis de licenciatura (Fortis Valera, M., 2020).

CAPÍTULO IV

Resultados y su discusión



4.1 Resultados y discusión

Se obtuvieron tres compuestos de coordinación FIPBROMO, FIPRAY-H y XUBNIR (solubles en agua, metanol y etanol) de los cuales XUBNIR, corresponde al compuesto reportado por Otieno y cols. en 2001.

Los compuestos se obtuvieron con rendimientos del 85.7% para XUBNIR, 99.5% para FIPBROMO y 44.8% para FIPRAY-H.

Los compuestos FIPAMINO y FIPIMIDA derivados del FIPRAY con ligantes heterocíclicos obtenidos en la tesis de licenciatura, se caracterizaron por espectroscopía Raman, RMN-¹H, espectrometría de masas (anexo 3) y RPE.

Temperaturas de fusión

Se determinó la temperatura de fusión (tabla 2) para la caracterización de los compuestos. La temperatura de fusión de FIPRAY se incluye como referencia.

Tabla 2. *Temperaturas de fusión de los compuestos obtenidos y de las materias primas.*

<i>Compuesto</i>	<i>Características físicas</i>	<i>Temperatura de fusión obtenida</i> (°C)	<i>Temperatura de fusión de referencia</i> (°C)
FIPRAY	Cristales azul turquesa, rectangulares.	150	bis-tris: 104 CuCl ₂ ·2H ₂ O: 70
FIPBROMO	Cristales verdes esmeralda, amorfos y maclados.	140	bis-Tris: 104 CuBr ₂ : 498
XUBNIR	Cristales azul marino, rómbicos.	211	FIPRAY: 150 CDI: 120
FIPRAY-H	Cristales azul cielo en forma de agujas en macla.	162	FIPRAY: 150 Fluconazol: 142

Espectroscopia de infrarrojo y RAMAN

Se compararon las distintas bandas del espectro de IR del compuesto con el de la materia prima (bis-tris) y se observaron los desplazamientos en número de onda (cm^{-1}) debido a la coordinación con el cobre. Los espectros de infrarrojo de los compuestos FIPRAY, FIPAMINO y FIPIMIDA se presentan en el anexo 1, debido a que ya tienen reporte previo (Fortis, M., 2020).

Todos los espectros de IR se caracterizaron mediante tablas (Pretsch, et al., 2020).

Los espectros de Raman se presentan como complementarios a los de IR para verificar la presencia de los enlaces con el cobre y la caracterización se hizo en base a reportes previos (Torreggiani et al., 2003; Zajac et al., 2018).

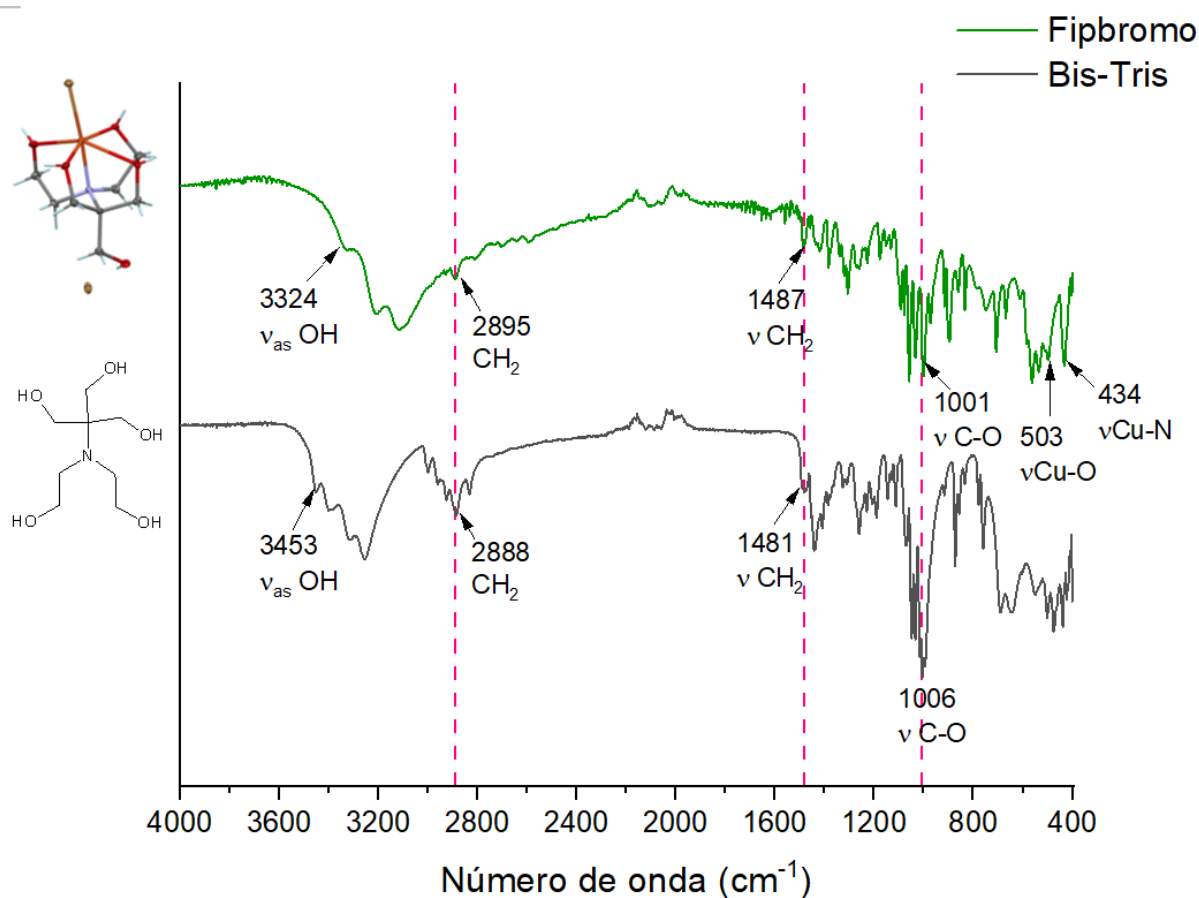


Figura. 35. Espectros de IR de FIPBROMO y bis-tris

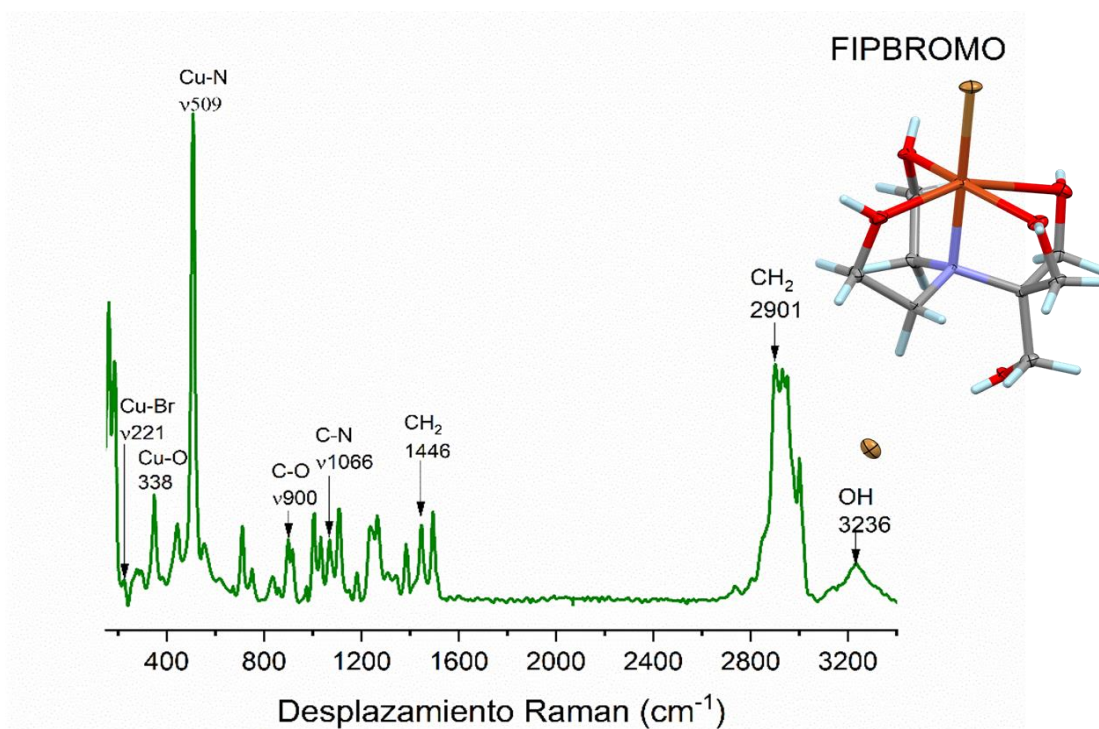


Figura. 36. Espectro Raman de FIPBROMO

En la figura 35 se muestra el espectro de FIPBROMO, se observan las bandas correspondientes al enlace O—H en 3324 y 1001 cm^{-1} correspondientes al bis-tris que en comparación con el espectro obtenido de la materia prima se encuentran desplazadas a menor número de onda producto de la coordinación con el cobre (Nakamoto, K., 2009), también están presentes las bandas de tensión $\nu\text{Cu—O}$ en 503 cm^{-1} y $\nu\text{Cu—N}$ en 434 cm^{-1} que indican la coordinación del ligante al centro metálico, a diferencia del IR, en el espectro de Raman (Figura 37) se observa la banda del enlace Cu—Br en 221 cm^{-1} , debido a que el análisis por espectroscopía Raman abarca un mayor intervalo de frecuencia.

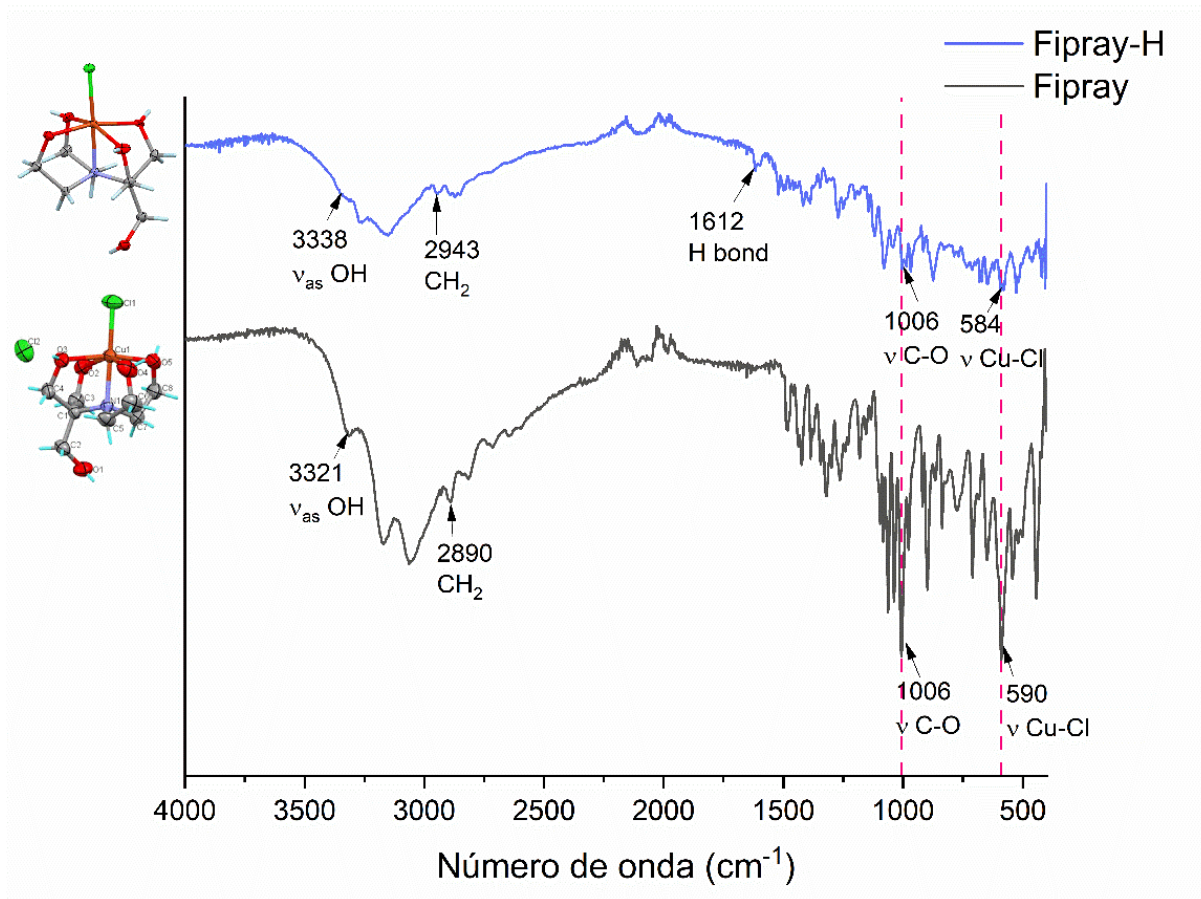


Figura. 37. Espectros de IR de FIPRAY-H y FIPRAY

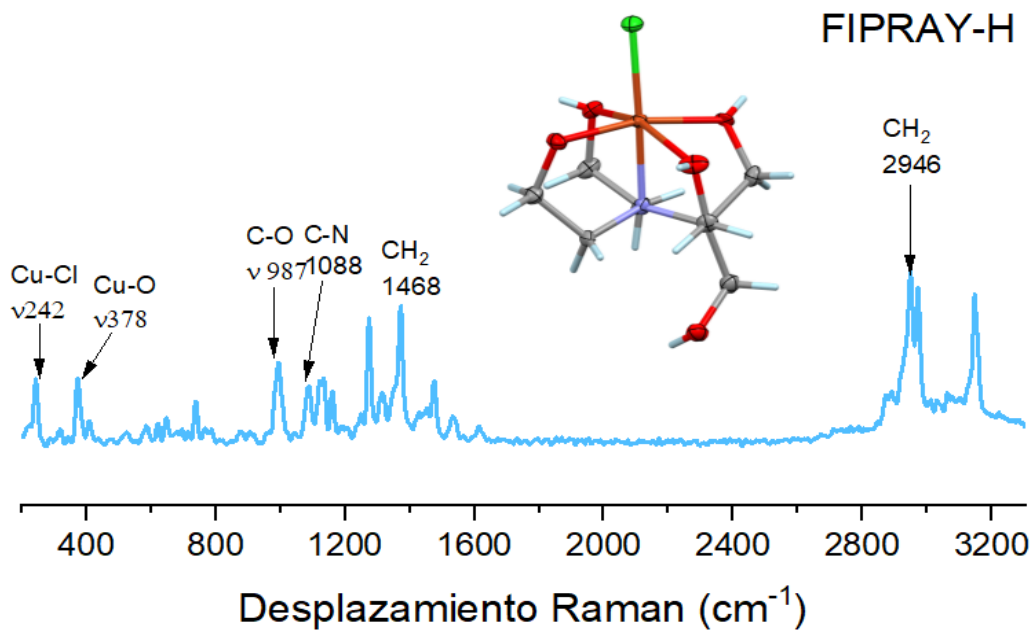


Figura. 38. Espectro Raman de FIPRAY-H

Para el FIPRAY-H se obtuvo el espectro de la figura 37 en el que se compara con el FIPRAY debido a la semejanza estructural, por lo que se observan bandas semejantes, como las de estiramiento simétrico del enlace O—H en 3338 y 3321 cm^{-1} para FIPRAY-H y FIPRAY respectivamente, al igual que la banda de tensión característica del enlace Cu—Cl presente en 590 cm^{-1} para FIPRAY y en 584 cm^{-1} para FIPRAY-H. En el espectro de FIPRAY-H se ve una banda en 1612 cm^{-1} que corresponde a los puentes de hidrógeno intramoleculares (Hansen & Spanget-Larsen, J. 2017) que está ausente en FIPRAY, lo que nos indica que a pesar del parecido estructural este compuesto tiene un comportamiento químico diferente. En el espectro de Raman se confirma la presencia de los enlaces: Cu—Cl y Cu—O presentes en ambos compuestos en 242 y 378 cm^{-1} (Torreggiani et al., 2003).

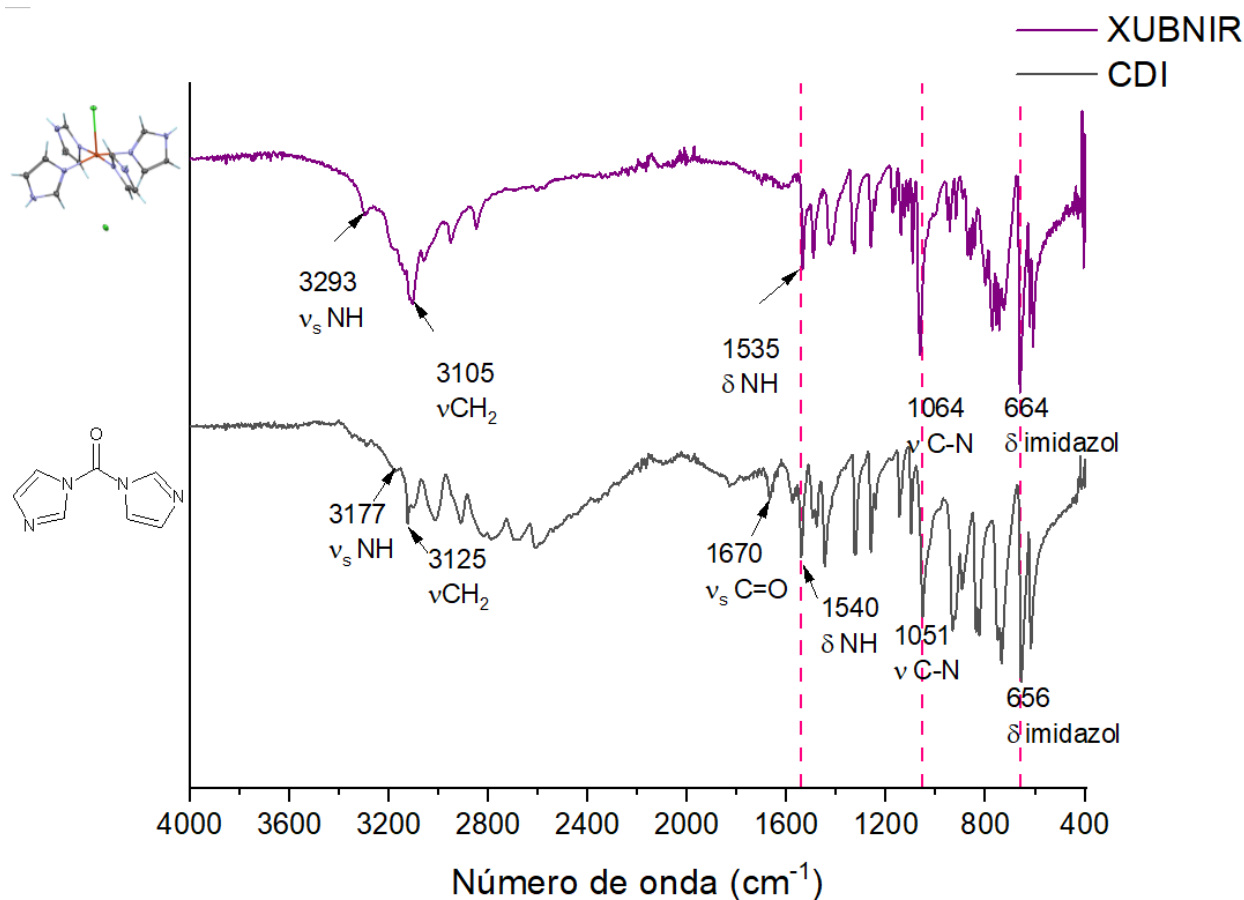


Figura. 39. Espectros de IR de XUBNIR y 1,1-carbonildiimidazol

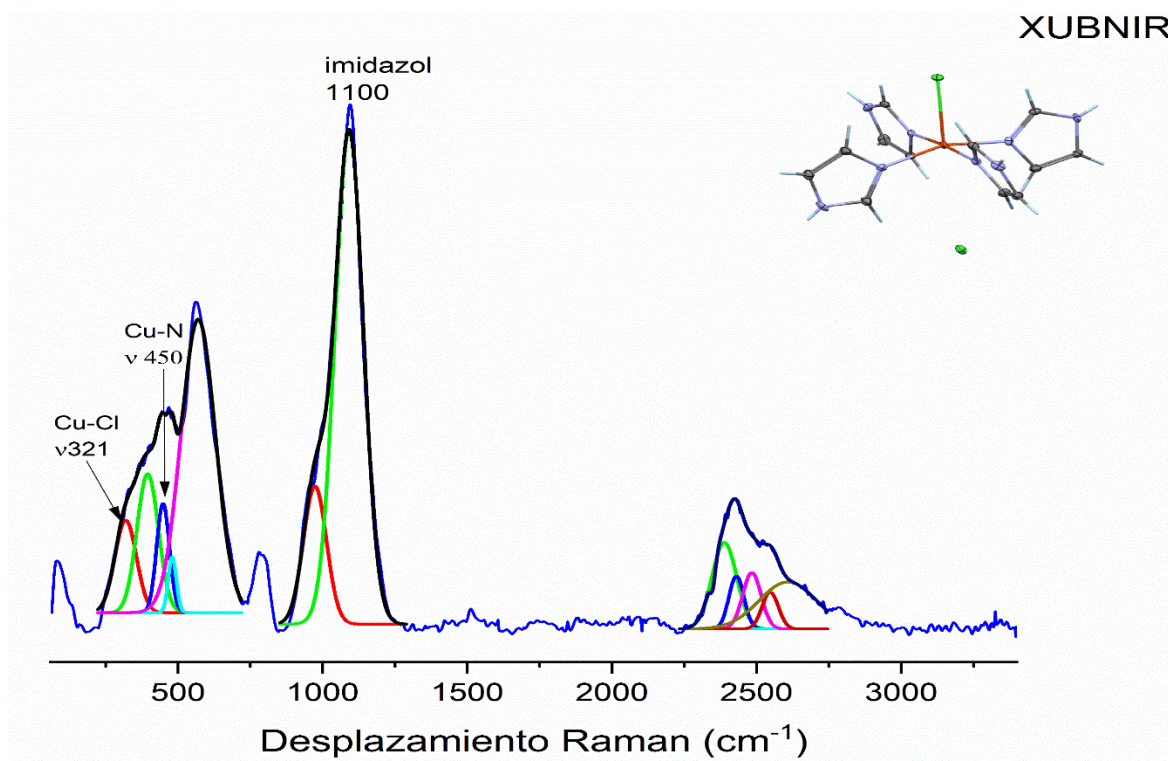


Figura. 40. Espectro de Raman de XUBNIR

En la figura 39 se muestra el IR-ATR del producto de la reacción entre 1,1-carbonidimidazol y FIPRAY (XUBNIR) se pueden observar bandas características del anillo imidazólico en 3105 (ν CH), y flexión en 1535 (δ NH), 1064 (ν C—N), 664 y 622 cm⁻¹; las dos últimas se deben a la deformación del anillo de imidazol (Morzyk-Ociepa et al., 2012). Se ve un desplazamiento de las bandas debido a la coordinación con el cobre, además de la ausencia de la banda en 1670 cm⁻¹ correspondiente al grupo carbonilo de la materia prima, que indica su descarboxilación, debido a la reacción para formar al compuesto.

Para la asignación del espectro de Raman se hizo una deconvolución en gaussianas para identificar mejor las bandas y se confirmó la presencia de los enlaces correspondientes al anillo de imidazol y a la coordinación con el cobre.

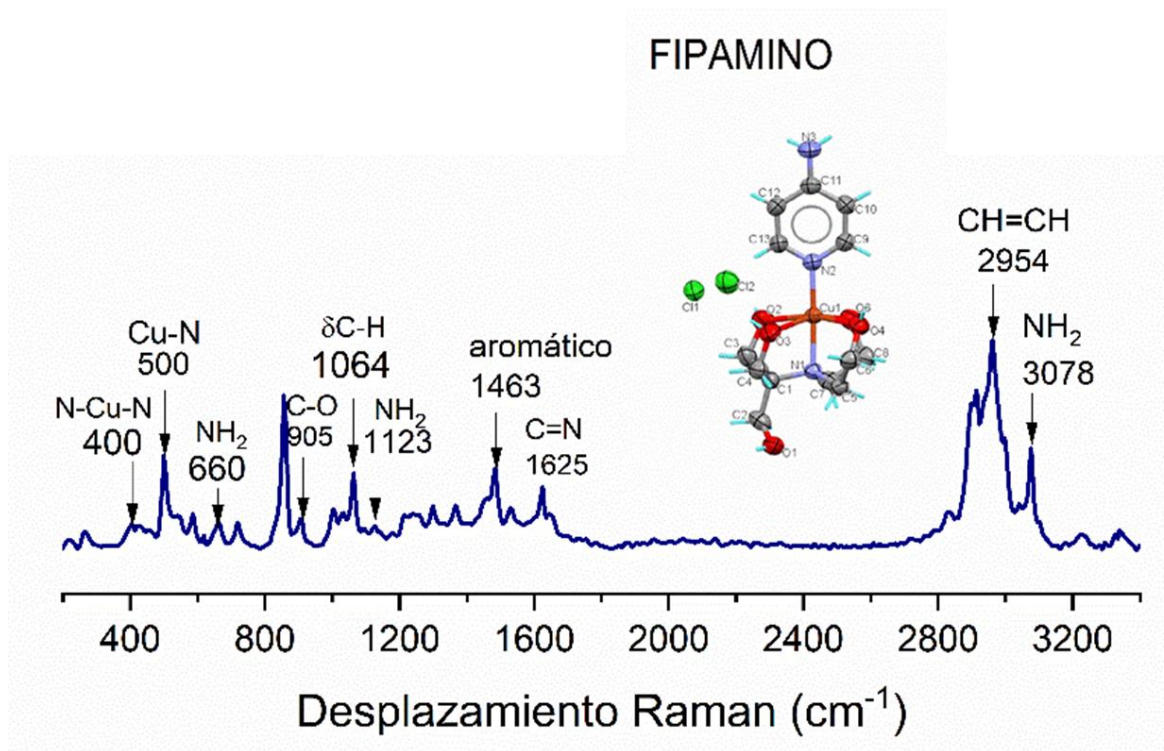


Figura. 41. Espectro de Raman de FIPAMINO

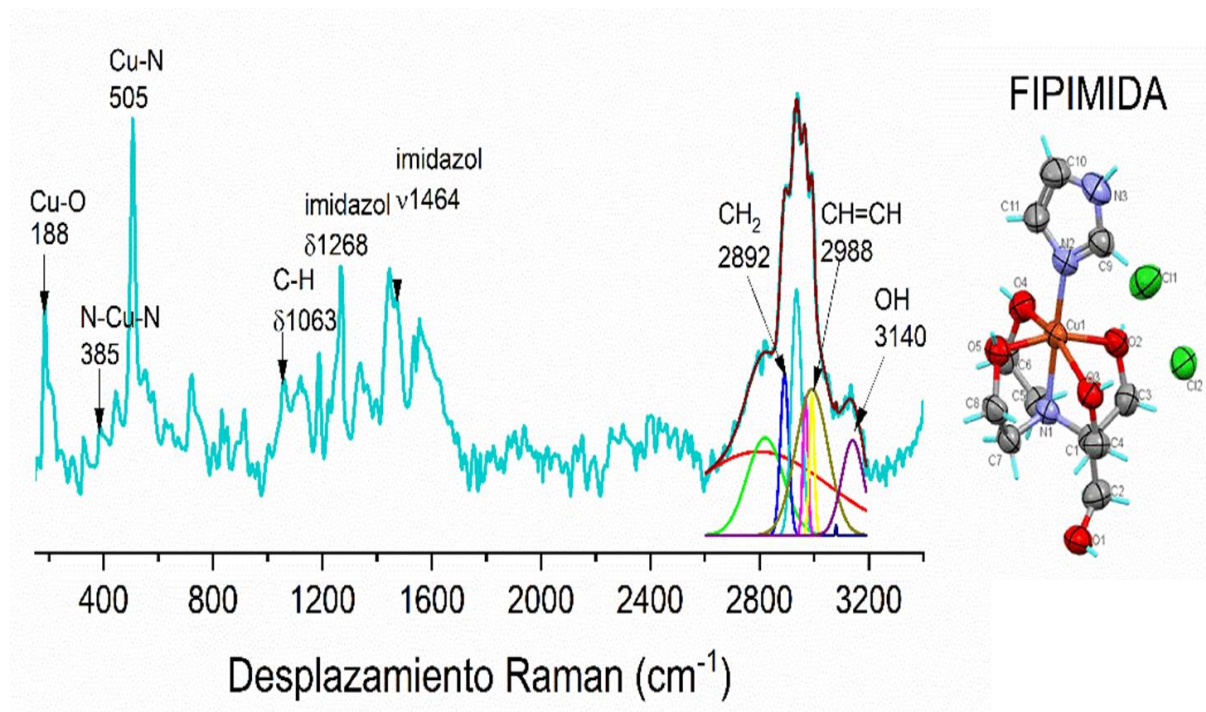


Figura. 42. Espectros de Raman de FIPIMIDA

Para los compuestos FIPAMINO y FIPIMIDA los espectros de Raman permitieron observar de forma más clara las bandas de los enlaces N—Cu—N y la confirmación de los enlaces descritos con anterioridad mediante IR.

En todos los espectros hubo un desplazamiento de las bandas a menores y mayores frecuencias esto ocurre por la coordinación al cobre, que al ser un átomo de mayor tamaño debilita al enlace, por lo que necesita menor energía para producir el modo vibracional correspondiente. La formación de puentes de hidrógeno puede contribuir al desplazamiento de las bandas ya que dependiendo de la longitud del puente las bandas, de estiramiento se verán desplazadas a menores energías (*Hansen & Spanget-Larsen, 2017*). Por lo que la cantidad de energía que el enlace requiere para vibrar a menor o mayor frecuencia se verá afectada por la masa y el tamaño de los átomos formadores del enlace. Para comprobar lo anterior se calculó la constante de fuerza.

El resultado del cálculo de la constante de fuerza (k) para los compuestos y materias primas se encuentra en la tabla 3, en la que se observa que para los enlaces formados con cobre la constante de fuerza (k) disminuye ya que al tener mayor masa aumenta la longitud del enlace debilitándolo por lo que su modo de vibración aparecerá a menores frecuencias. En el caso de los enlaces O—H, C—O y C—N que se encuentran cercanos al metal se ven afectados ya que tanto el O como el N donan densidad electrónica al cobre al formar el enlace y debilitando a los enlaces covalentes coordinados, por lo que requerirán de menor energía para producir los modos vibracionales correspondientes.

En el FIPRAY-H se cumplió con lo reportado por Hansen & Spanget-Larsen (2017) ya que al formar puentes de hidrógeno intramoleculares su constante de fuerza es menor a la del FIPRAY y a la del ligante libre. De acuerdo con los valores obtenidos se concluye que los átomos cercanos al metal son oxígeno y nitrógeno ya que son los que tienen menores valores de k .

La constante de fuerza (k) se calculó utilizando las ecuaciones 7 y 11 del apartado de marco teórico.

Tabla. 3. Valores obtenidos para la constante de fuerza (k).

Compuesto	$\nu\text{O—H}/k$	$\nu\text{C—O}/k$	$\nu\text{C—N}/k$	$\nu\text{Cu—N}/k$	$\nu\text{Cu—O}/k$
Bis-Tris	3453/6.610	1261/6.424	1230/5.759	—	—
FIPRAY	3321/6.115	1263/6.444	1180/5.300	443/1.326	502/1.69
FIPRAY-H	3338/6.18	1004/4.074	1271/6.150	420/1.192	502/1.69
FIPBROMO	3324/6.12	1244/6.252	1250/5.948	434/1.326	500/1.70
CDI	—	1258/6.393	1330/6.734	—	—
XUBNIR	—	—	1326/6.694	406/1.114	—

*Los valores de ν (cm^{-1}) y para k ($\times 10^5$ dinas/cm)

Espectroscopia UV-Visible

Los espectros de UV-Vis se obtuvieron en un intervalo de 200 a 1100 nm para tener un mejor análisis de la región visible.

En todos los espectros se hizo un análisis por deconvolución en gaussianas usando Origin 2023 y así poder hacer una mejor asignación, ya que había bandas muy anchas indicando la presencia de más de una señal.

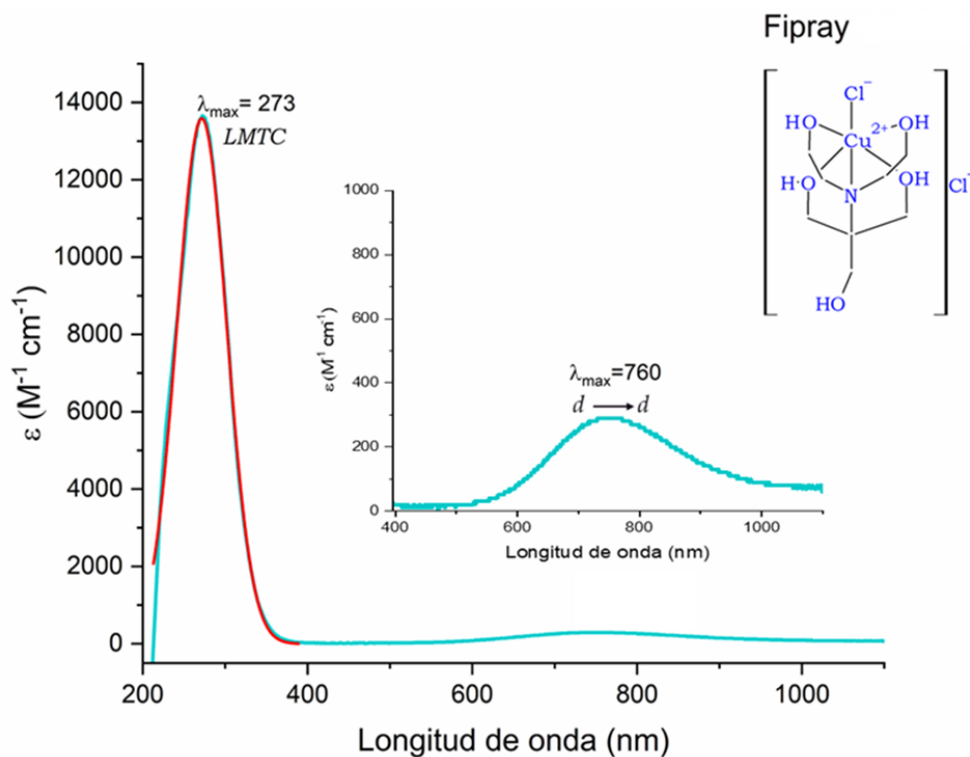


Figura. 43. Espectro de UV-Vis de FIPRAY 0.01mM en agua destilada

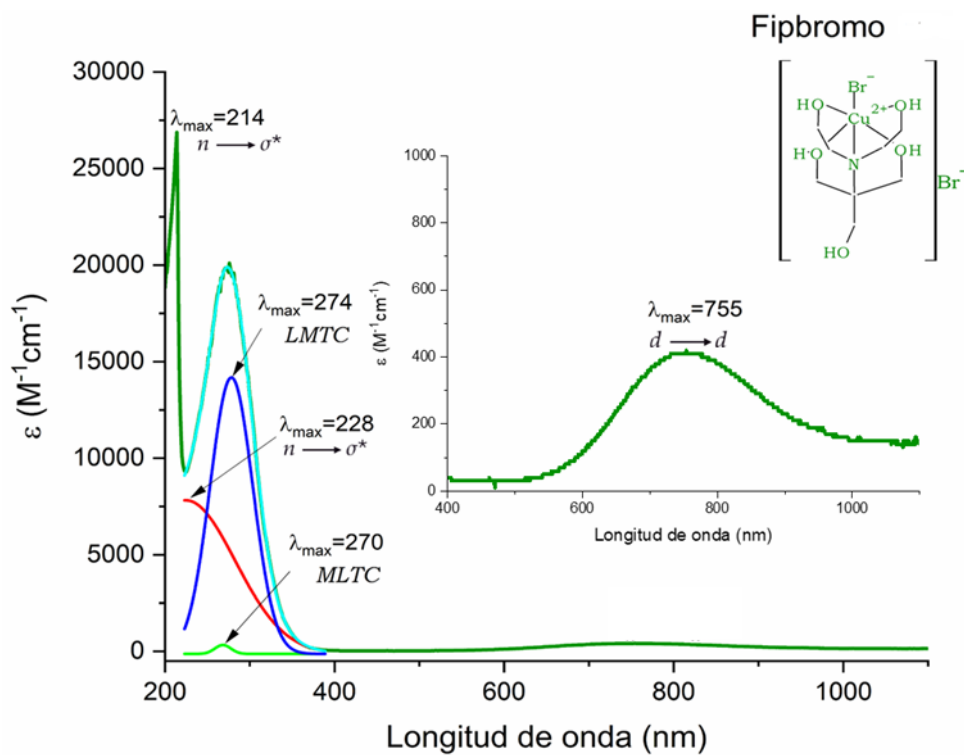


Figura. 44. Espectro de UV-Vis de FIPBROMO 0.01mM en agua destilada

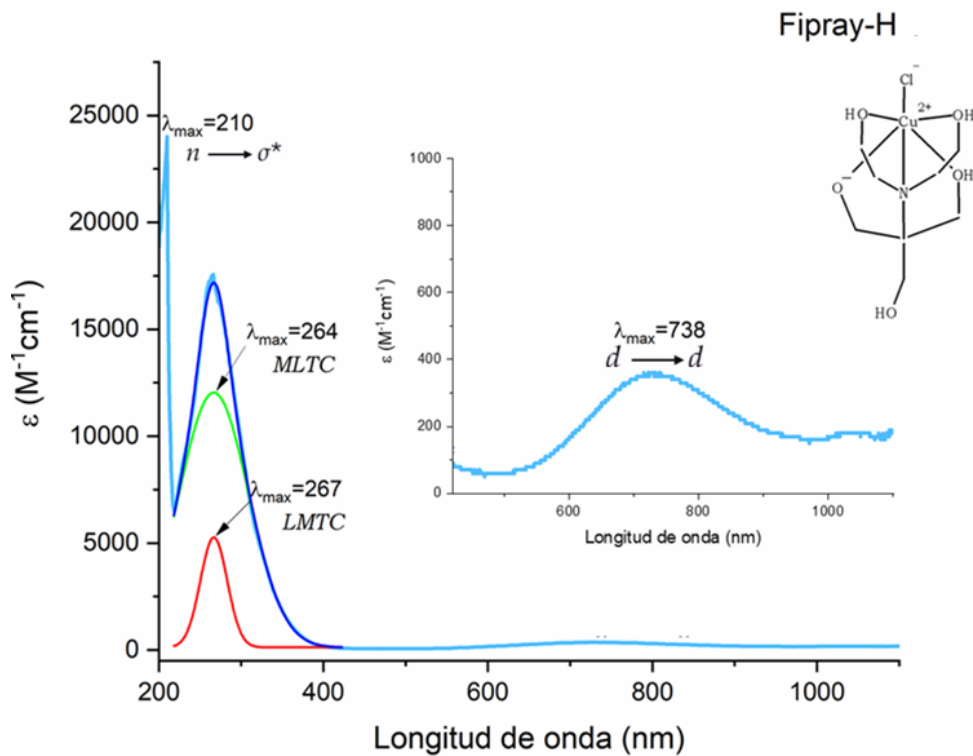


Figura. 45. Espectro de UV-Vis de FIPRAY-H 0.01 mM en agua destilada

En las figuras 43, 44 y 45 se muestran los espectros de UV-Vis del FIPRAY, FIPBROMO y FIPRAY-H en el que se observaron bandas que corresponden a transiciones enlistadas en la tabla 4.

Tabla. 4. Transiciones electrónicas de los compuestos FIPRAY, FIPBROMO y FIPRAY-H

Compuesto	Transición	Longitud de onda (nm)
FIPRAY	LMCT	273
	$d \rightarrow d$	760
FIPBROMO	$n \rightarrow \sigma^*$	214/228
	LMCT	274
	MLCT	270
	$d \rightarrow d$	755
FIPRAY-H	$n \rightarrow \sigma^*$	210
	LMCT	267
	MLCT	264
	$d \rightarrow d$	738

*LMCT: Ligand to Metal Charge Transfer

*MLCT: Metal to Ligand Charge Transfer

Las transiciones de $n \rightarrow \sigma^*$ se deben a la presencia de grupos OH en el ligante; específicamente, a los pares de electrones libres en el átomo de oxígeno. Las transiciones de transferencia de carga ligante-metal y metal-ligante se deben al intercambio de densidad electrónica entre el cobre y los ligantes y se producen dependiendo del ligante que se coordine al metal, ya que si el ligante tiene orbitales moleculares llenos dará lugar a bandas de transferencia ligante-metal, lo contrario ocurrirá si el ligante tiene orbitales vacíos o semilenos como es el caso de los halógenos.

Las transiciones $d \rightarrow d$ características del metal y se producen por el desdoblamiento de los orbitales d en las series t_{2g} y e_g ; tienen un ϵ muy bajo ($\approx 200 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) por lo que se observan con menor intensidad en el espectro. Esta banda justifica el color de los compuestos ya que en el rango de 600 a 750 nm se absorbe en rojo que tiene un color complementario azul-verdoso.

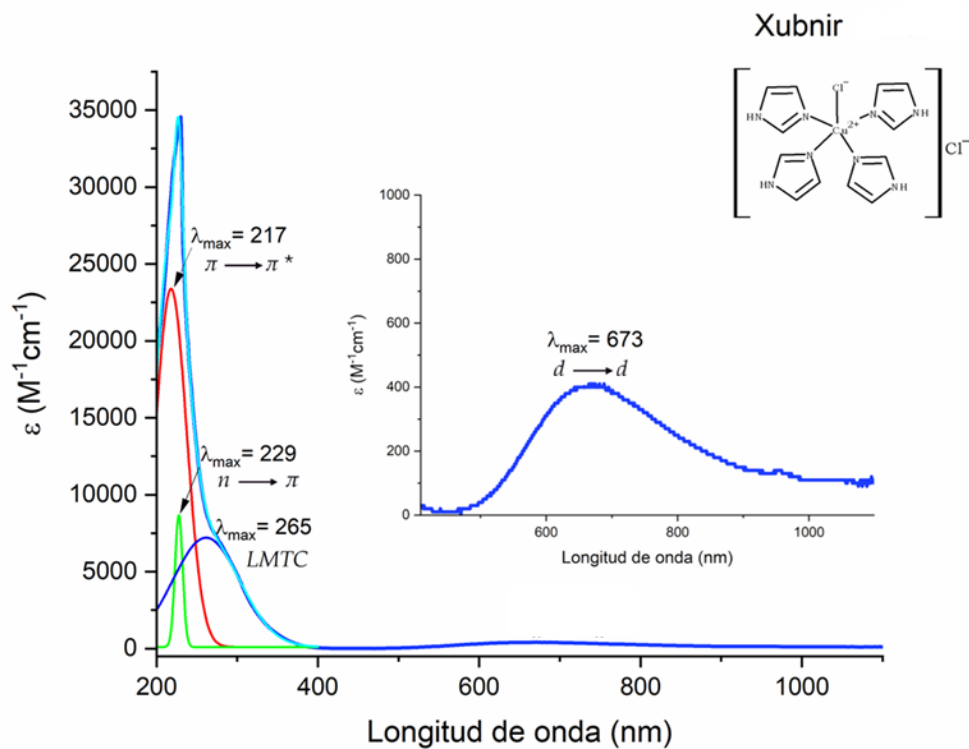


Figura. 46. Espectro de UV-Vis de XUBNIR 0.01 mM en agua destilada

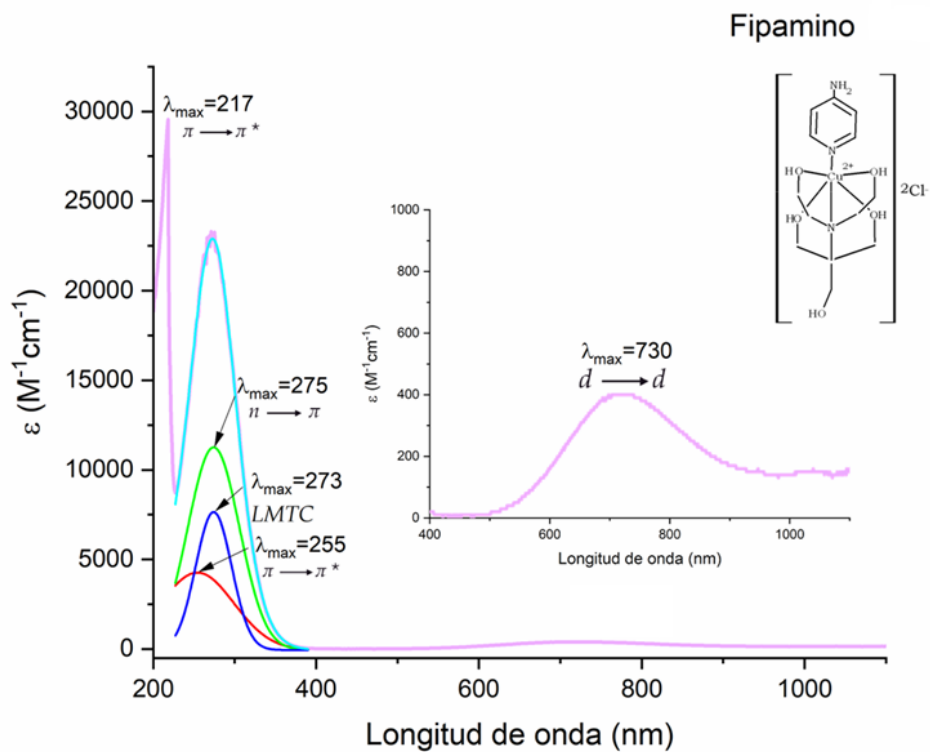


Figura. 47. Espectro de UV-Vis de FIPAMINO 0.01 mM en agua destilada

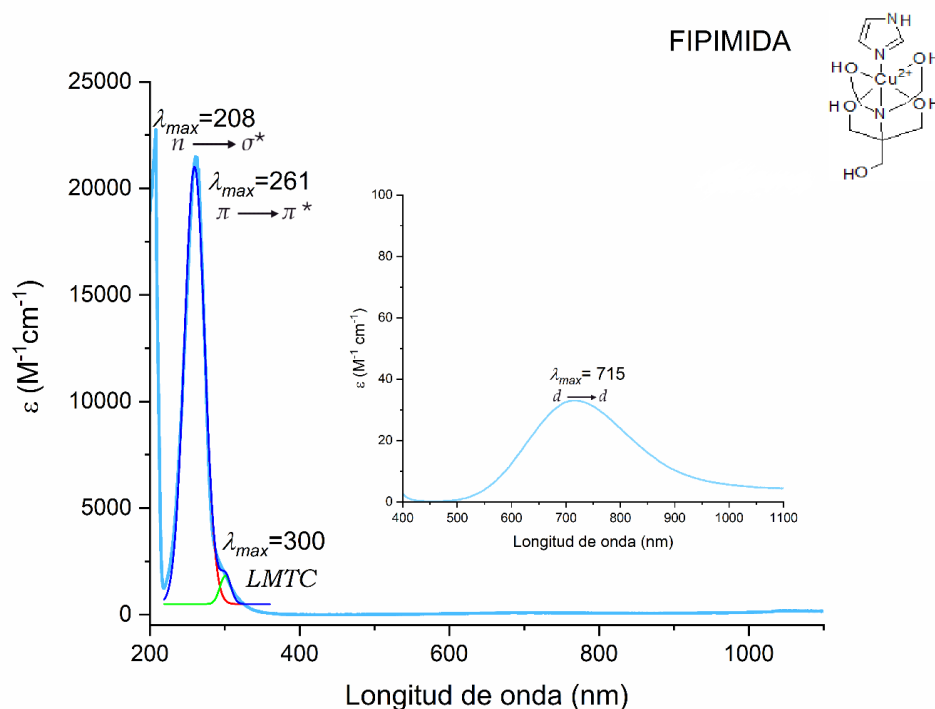


Figura. 48. Espectro de UV-Vis de FIPIMIDA 0.01 mM en agua destilada y 0.01M para la región visible

En los espectros de los compuestos XUBNIR, FIPAMINO y FIPIMIDA, debido a que estos tienen ligantes con enlaces π se observaron transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ (Tabla 5). Los espectros mostraron transiciones de transferencia de carga ligante-metal y $d \rightarrow d$.

Tabla. 5. Transiciones electrónicas de los compuestos XUBNIR, FIPAMINO y FIPIMIDA

Compuesto	Transición	Longitud de onda (nm)
XUBNIR	$\pi \rightarrow \pi^*$	217
	$n \rightarrow \sigma^*$	229
	LMCT	265
	$d \rightarrow d$	673
FIPAMINO	$\pi \rightarrow \pi^*$	217/255
	$n \rightarrow \sigma^*$	273
	LMCT	275
	$d \rightarrow d$	730
FIPIMIDA	$\pi \rightarrow \pi^*$	208
	$n \rightarrow \sigma^*$	261
	LMCT	300
	$d \rightarrow d$	715

A partir de la longitud de onda máxima de la transición $d \rightarrow d$ se calculó la energía de desdoblamiento (Tabla 6) mediante la ecuación 34.

$$\Delta = hc/\lambda \quad \text{Ec. 34}$$

Esto se hizo para proponer la geometría de los compuestos de coordinación, producto de la separación de los orbitales d en las series t_{2g} y e_g por la coordinación del metal con los ligantes.

Tabla. 6. Energía de desdoblamiento.

Compuesto	Longitud de onda (nm)	Energía (cm ⁻¹)
FIPRAY	760	13,174
FIPBROMO	755	13,350
FIPRAY—H	738	13,567
XUBNIR	673	14,944
FIPAMINO	730	14,000
FIPIMIDA	715	13,715

De acuerdo con Lever, (1986), para un compuesto de coordinación con cobre 2+ (que se encuentra penta y hexacoordinado con geometría de octaedro distorsionado y pirámide de base cuadrada) la energía de la transición de $t_{2g} \rightarrow e_g$ estará en el intervalo de 11,000 a 14,000 cm⁻¹ y 14,000 a 17,000 cm⁻¹ respectivamente. Los valores obtenidos de energía de desdoblamiento (Δ) para FIPRAY, FIPBROMO, FIPRAY-H, FIPAMINO Y FIPIMIDA están en el intervalo correspondiente a una geometría octaédrica distorsionada; lo cual se ve confirmado por la estructura de rayos X; mientras que XUBNIR ajustaría para una pirámide de base cuadrada.

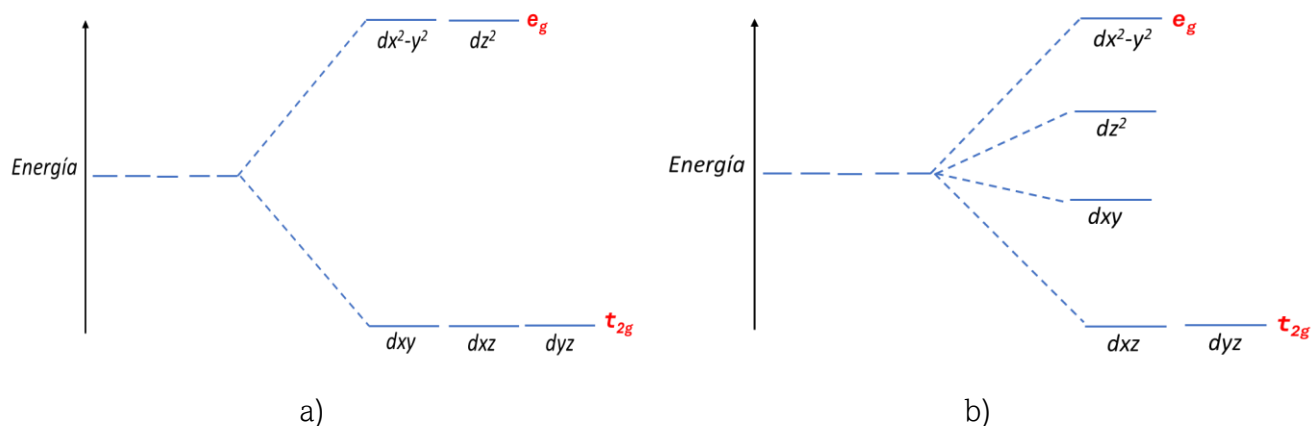


Figura. 49. Diagramas de desdoblamiento de los orbitales d

Otro factor que condiciona el valor de la energía es la naturaleza de los ligantes representada en la serie espectroquímica en la que se ordena a los ligantes de acuerdo con su capacidad para desdoblar los orbitales d ; por ejemplo, compuestos formados por ligantes como CN^- y CO tienen energías de $30,000\text{ cm}^{-1}$, por el contrario, los ligantes como Br^- e I^- producen desdoblamientos pequeños con energías menores a $10,000\text{ cm}^{-1}$ (Gray, 2003).

Resonancia Magnética Nuclear de protón (RMN- ^1H)

Para la obtención de los espectros de RMN de las materias primas (bis-tris, imidazol y 4-aminopiridina), éstas se disolvieron en CD_3OD y $\text{DMSO}-d_6$ para evitar la sustitución de los protones por el deuterio presente en los disolventes y así poder asignar las señales del espectro. Éstos espectros se encuentran en el anexo 4.

Para los compuestos de coordinación el disolvente se eligió por la solubilidad de los compuestos, por lo que se disolvieron en D_2O .

Para todos los espectros se hicieron 1035 barridos en un intervalo de -100 a 100 ppm , esto se hace en los compuestos de coordinación porque al haber un mayor desdoblamiento del Zeeman nuclear se requiere de mayor energía para excitar al núcleo, por lo que las señales se desplazan a mayores ppm.

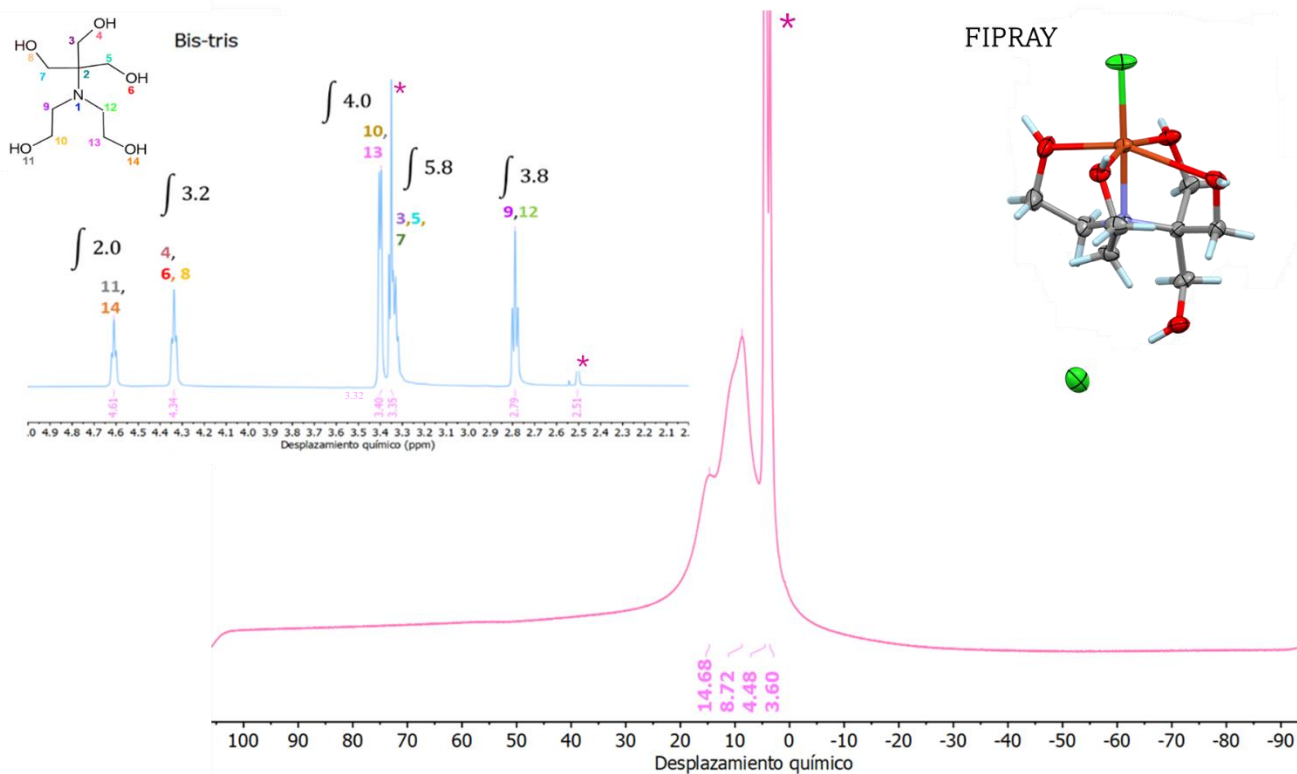


Figura. 50. Espectros de RMN-¹H de FIPRAY y bis-tris

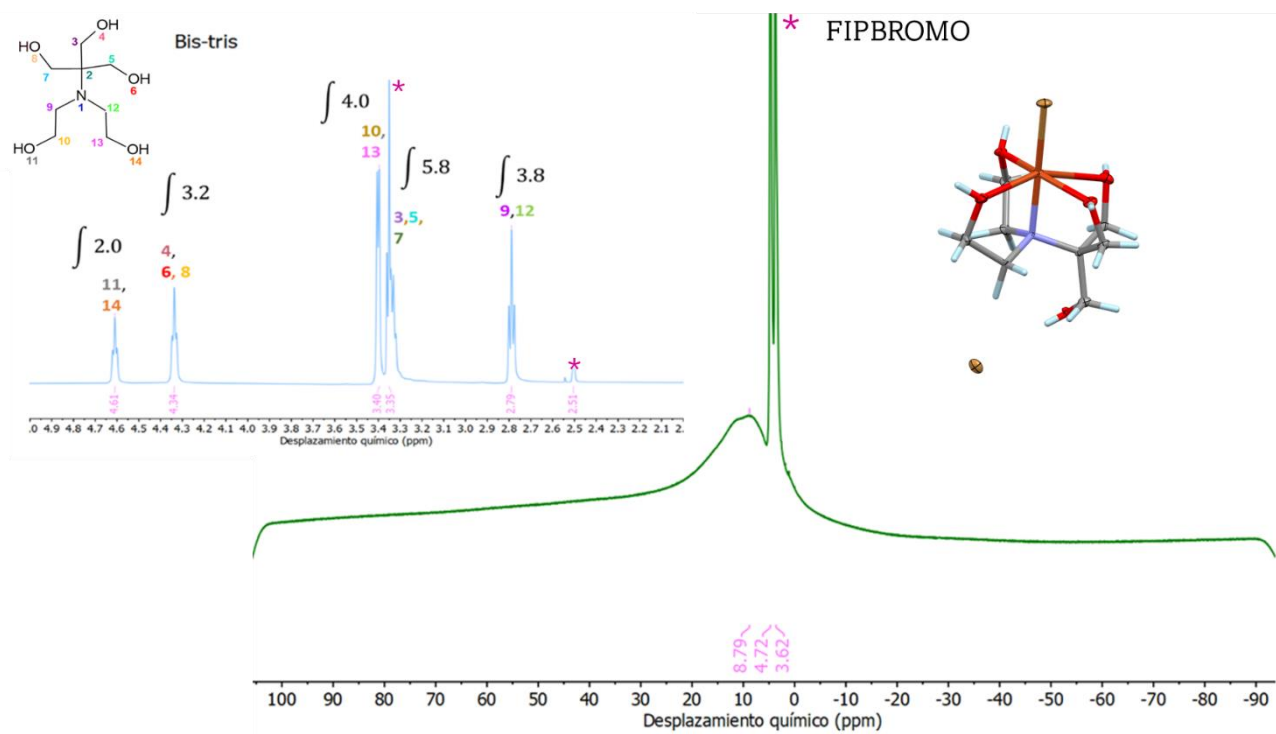


Figura. 51. Espectros de RMN-¹H de FIPBROMO y bis-tris

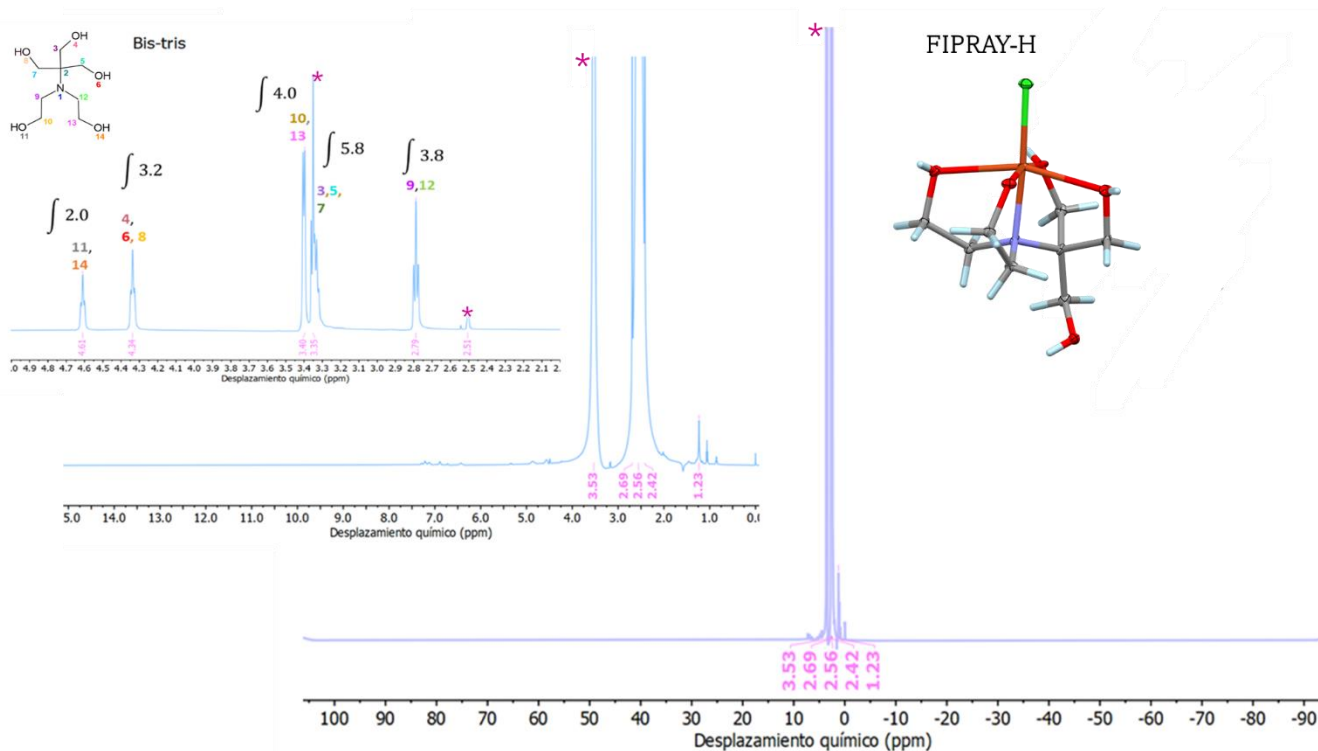


Figura. 52. Espectros de $\text{RMN-}^1\text{H}$ de FIPRAY-H y bis-tris

Las figuras 50, 51 y 52 corresponden a los compuestos de coordinación derivados de bis-tris: FIPRAY, FIPBROMO y FIPRAY-H. Se incluye en la parte superior izquierda un zoom de 2 a 5 ppm del espectro de bis-tris que muestra tripletes en 2.79, 4.34 y 4.61 ppm que integran para 4, 3 y 2 protones. Esto sucede porque estos protones tienen un ambiente químico equivalente. Las señales en 3.32 y 3.40 ppm corresponden a los CH_2 de la molécula a diferencia del CH_2 en 2.79 ppm, éstos se encuentran desplazados a campos altos por su cercanía al átomo de oxígeno. Las señales marcadas con asterisco pertenecen al disolvente.

En el caso de los espectros de los compuestos de coordinación FIPRAY y FIPBROMO se observan señales a mayores ppm y muy anchas por lo que no es posible asignarlas con exactitud.

En FIPRAY-H estas señales no se observaron, debido a que el mecanismo de relajación t_2 es más eficiente; es decir tiene tiempos de relajación más cortos a comparación de FIPRAY y FIPBROMO por lo que el equipo no es capaz de detectar el cambio de estado del espín nuclear.

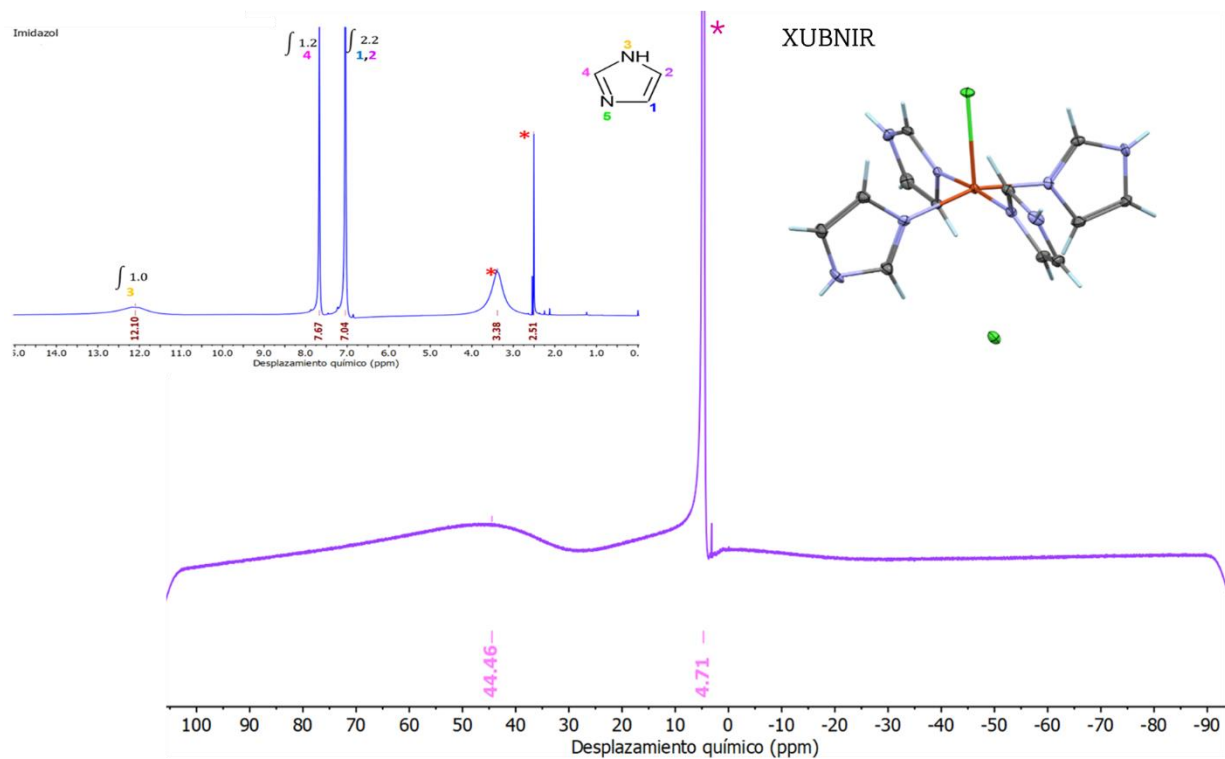


Figura. 53. Espectro de RMN- ^1H de XUBNIR y del imidazol

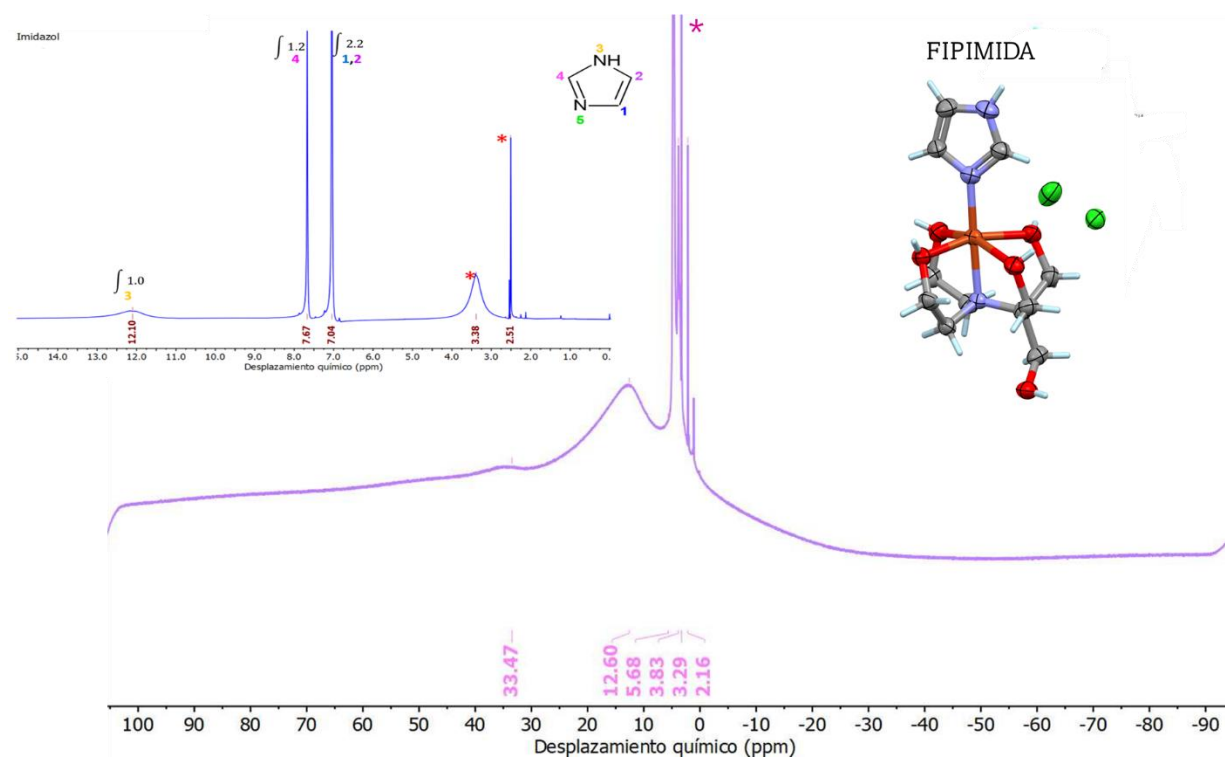


Figura. 54. Espectro de RMN- ^1H de FIPIMIDA y del imidazol.

En las figuras 53 y 54 se presentan los espectros de XUBNIR y FIPIMIDA; en este caso en la parte superior izquierda se encuentra el espectro del imidazol que muestra señales en 7.04, 7.67 y 12.10 ppm asignadas a los protones del anillo; el ancho en la señal, en 12.10 ppm se debe a la cercanía del protón con el átomo de nitrógeno.

Al igual que en los espectros anteriores para ambos compuestos se observan señales muy anchas, en el caso de XUBNIR se observa una en 44.46 ppm en la que posiblemente se encuentren las señales de los protones del anillo de imidazol; sin embargo, no es posible asignarlas.

El espectro de FIPIMIDA muestra mayor cantidad de señales debido a las correspondientes al ligante bis-tris desplazadas a mayores ppm por la coordinación al cobre, las señales en 2.16, 3.29 y 3.83 probablemente correspondan a la región del ligante más alejada del ion paramagnético.

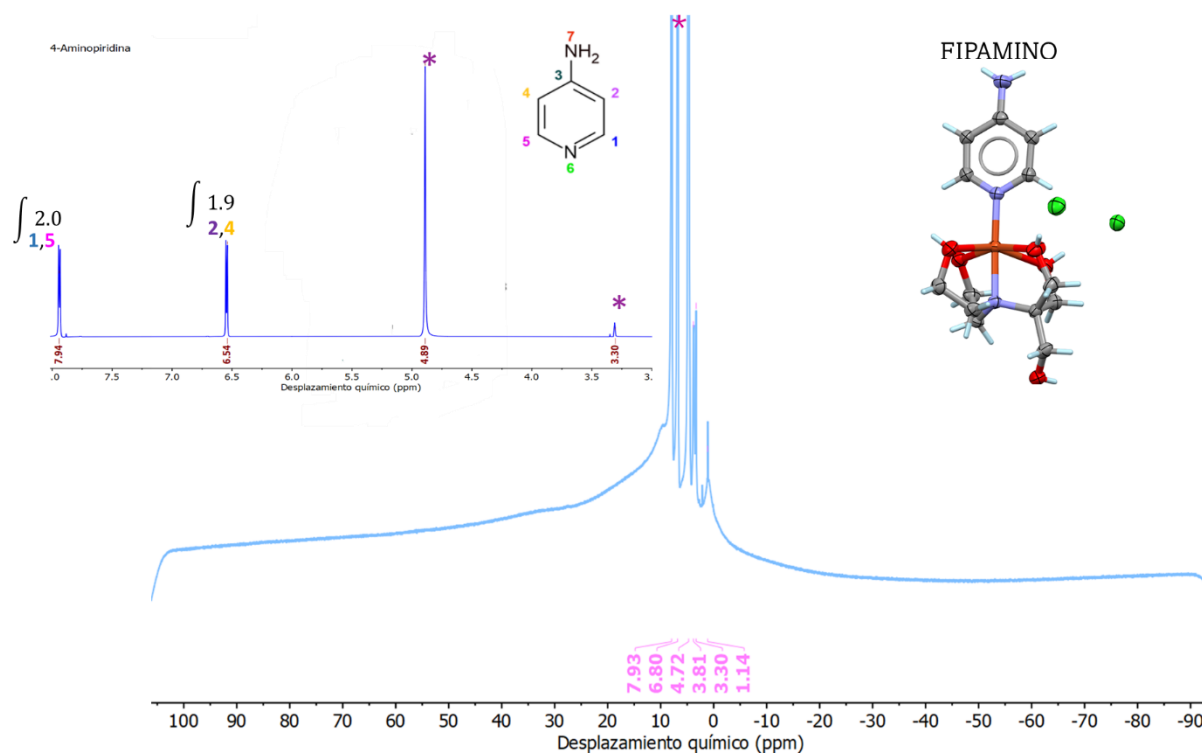


Figura. 55. Espectro de RMN^{-1}H de FIPAMINO y de la 4-aminopiridina

La región del espectro de la 4-aminopiridina muestra dobletes en 6.54 y 7.94 ppm y cada una integra para 2 protones; la señal de los protones del NH_2 no se observa debido a que el espectro se

hizo en CD₃OD que afecta la presencia de la señal por la sustitución de los hidrógenos por deuterio. En el espectro del compuesto FIPAMINO se observan señales a ppm bajas, probablemente de la parte del ligante más lejana al cobre.

En los compuestos de coordinación las señales anchas son producto del carácter paramagnético del ion metálico (Cu²⁺) que al ser un d^9 y tener un electrón desapareado da una contribución de espín electrónico que consiste en disipar el campo magnético del núcleo provocando que se relaje de manera más rápida y eficiente (mecanismo de relajación T_2) produciendo este tipo de señales. Esto nos indica que la coordinación con el cobre si se lleva a cabo.

Para verificar que los tiempos de relajación de los compuestos de coordinación son más cortos, que los de las materias primas y, por lo tanto, que el mecanismo de relajación es más eficiente.

Se calcularon los tiempos de relajación de las señales. Para calcularlos se obtuvo un promedio en Hertz de cada pico del espectro y el valor se transformó en milisegundos, para facilitar la lectura de los resultados que se presentan en la tabla 7. Se puede ver que las señales en la región de campo bajo del espectro (marcadas en azul), tiene tiempos de relajación más lentos en comparación de las señales que aparecen a mayores ppm (señales más anchas), debido a que son señales de protones que se encuentran más alejados del metal, por lo que el espín electrónico del electrón desapareado del cobre, las afecta con menor intensidad.

Tabla. 7. Tiempos de relajación de materias primas y compuestos.

Compuestos	Desplazamiento (ppm)	Tiempo de relajación (ms)
bis-tris	Triplete 2.79	26
	Multiplete 3.35	23
	Doblete 3.40	37
	Triplete 4.34	30
FIPRAY	3.60	1.7
	8.72	0.5
	10.52	0.6
	14.68	0.37
FIPRAY-H	1.23	21
	2.42	6.7
	2.56	8.2
	2.69	7.7
FIPBROMO	3.62	1.3
	8.79	0.6
	11.41	0.3
Imidazol	Singulete 7.04, 7.64 y 12.10	5.8/8.2/3.4
XUBNIR	44.46	0.045
4-Aminopiridina	Doblete 6.54 y 7.94	53/43
FIPAMINO	1.14	1.2
	3.30	3.2
	6.80	1.6
	7.93	1.3
	9.80	0.91

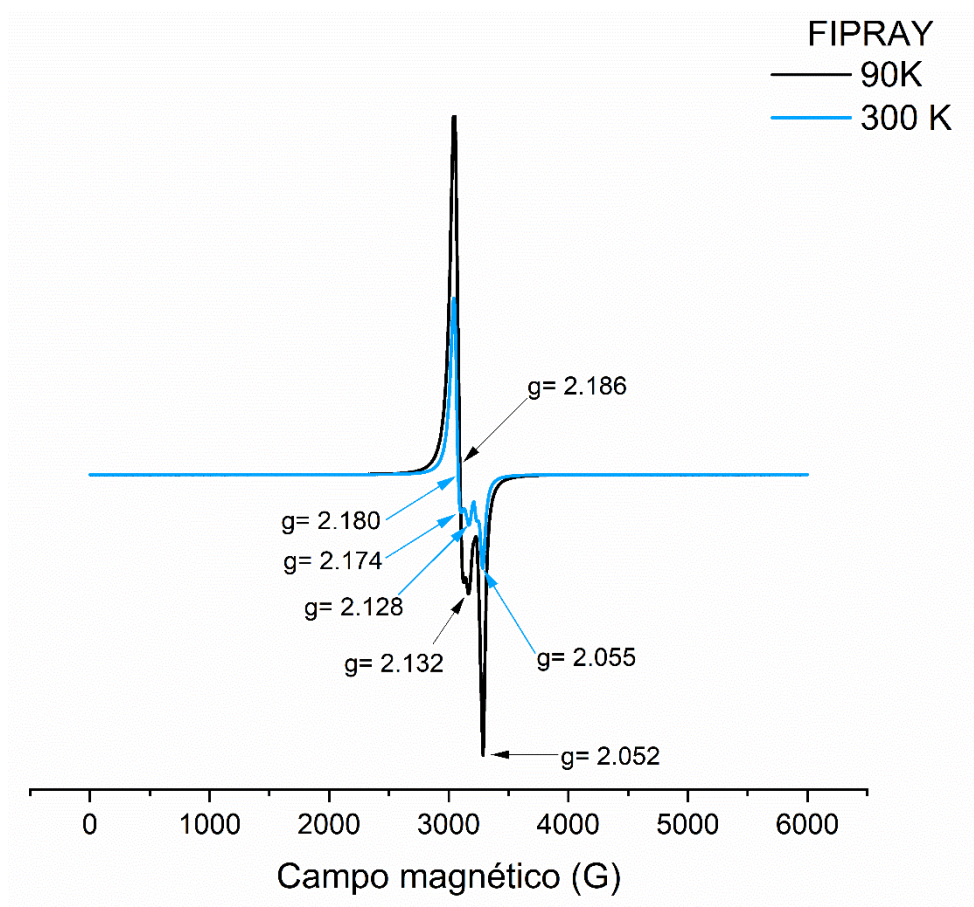
Resonancia Paramagnética Electrónica (RPE)

Figura. 56. Espectro de EPR de FIPRAY a diferentes temperaturas.

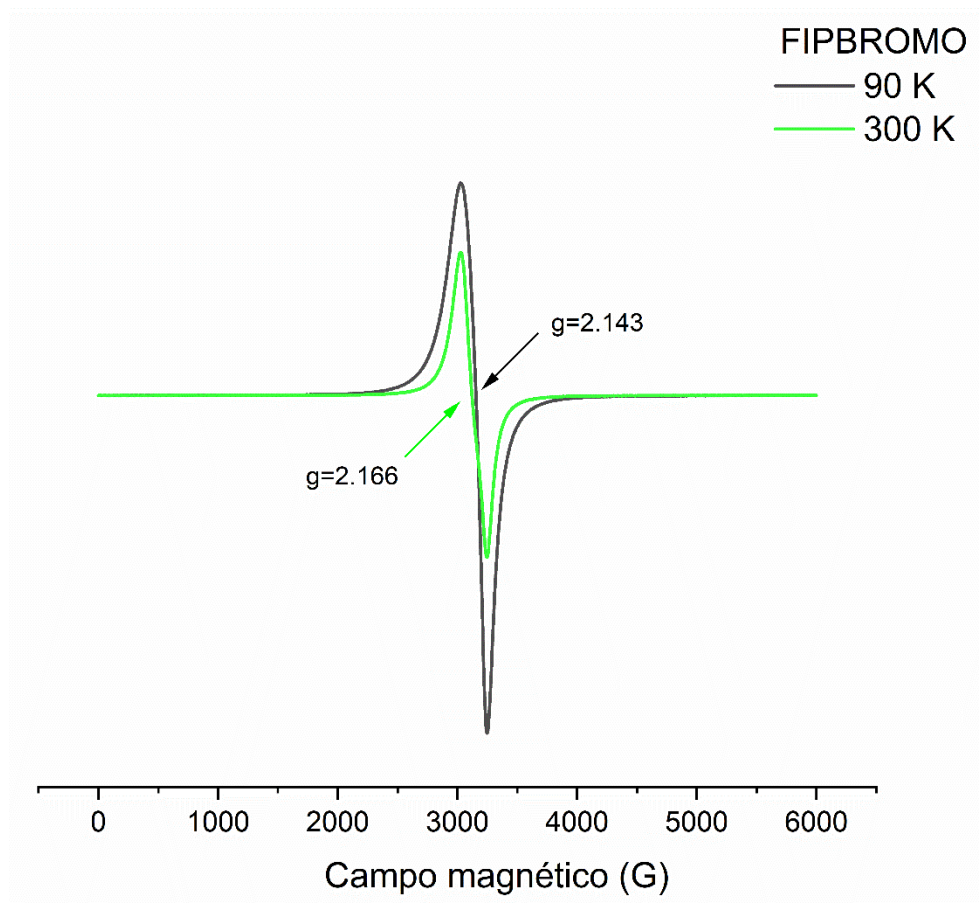


Figura. 57. Espectro de EPR de FIPBROMO a diferentes temperaturas.

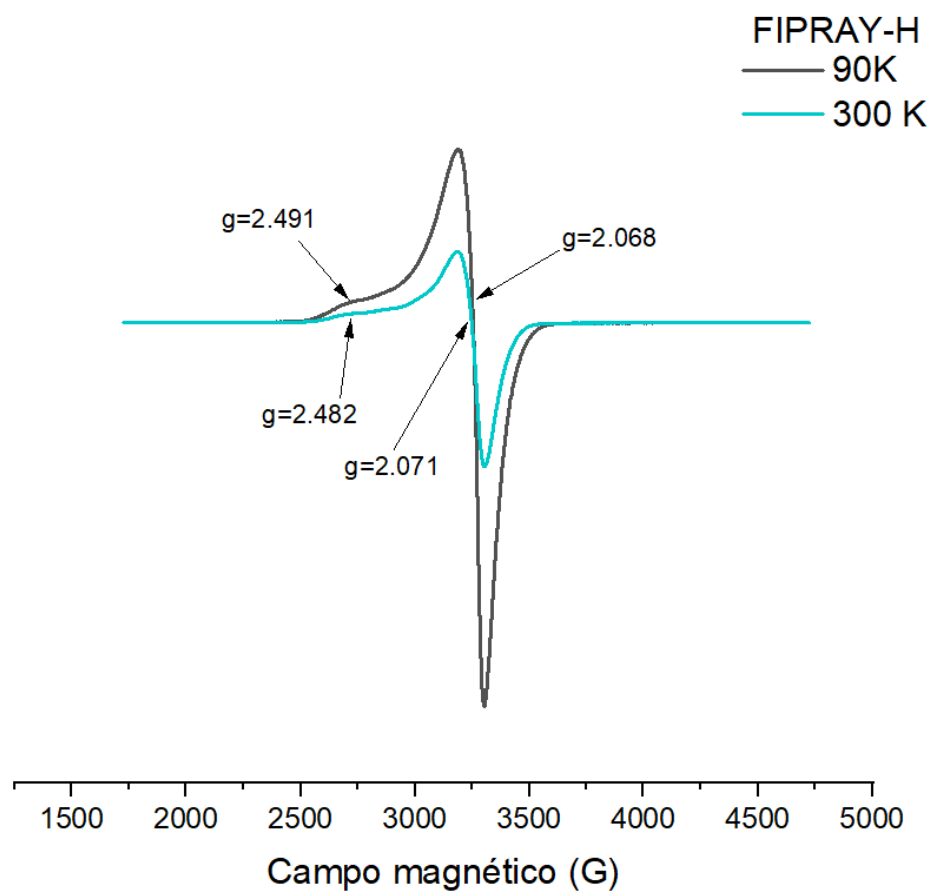


Figura. 58. Espectro de EPR de FIPRAY-H a diferentes temperaturas.

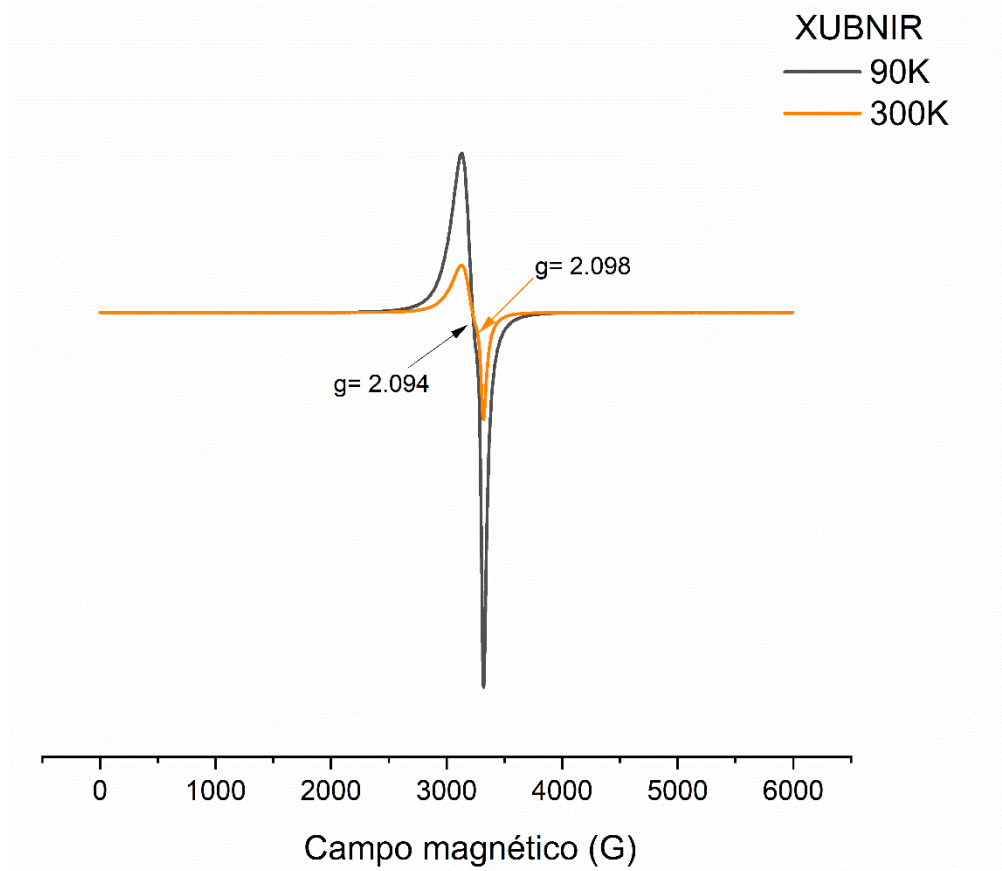


Figura. 59. Espectro de EPR de XUBNIR a diferentes temperaturas.

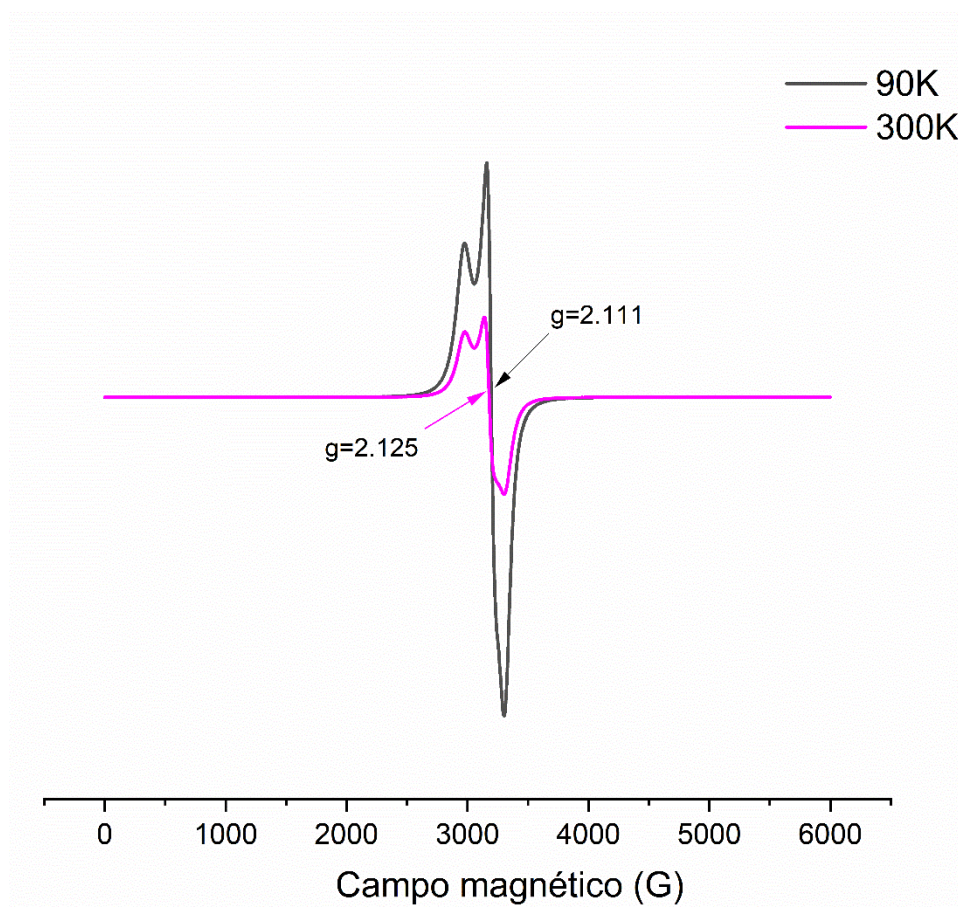


Figura. 60. Espectro de EPR de FIPIMIDA a diferentes temperaturas

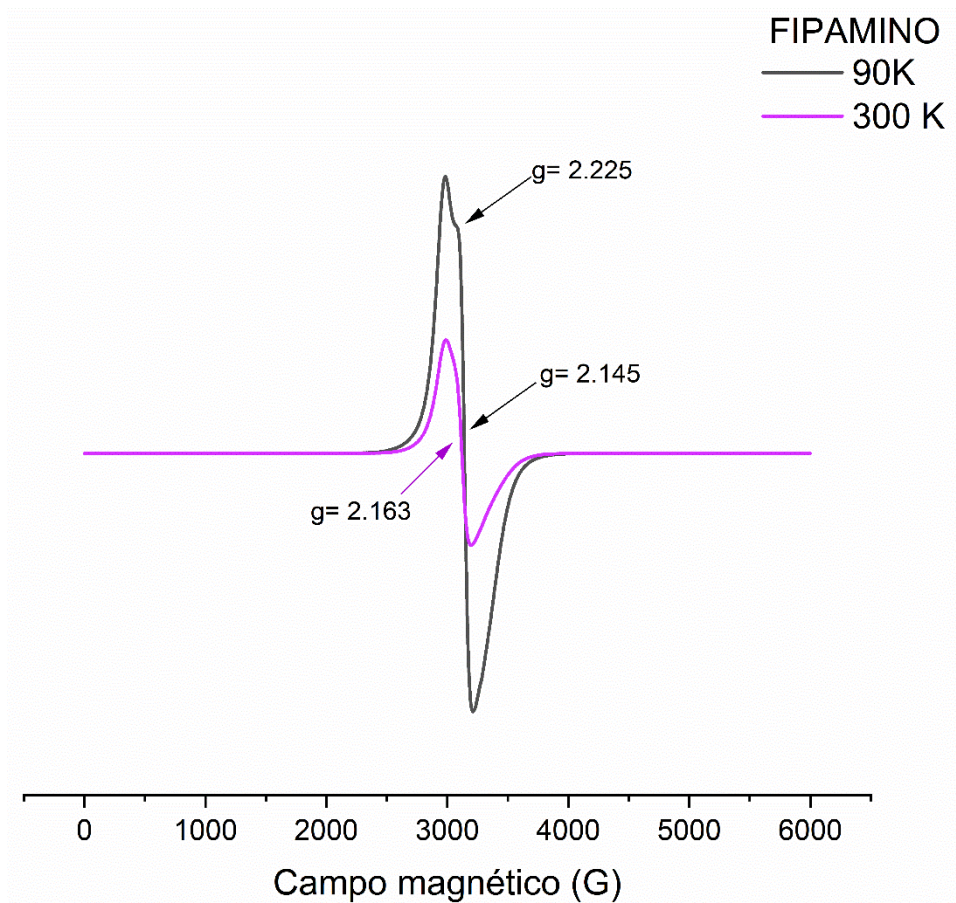


Figura. 61. Espectro de EPR de FIPAMINO a diferentes temperaturas.

Difracción de Rayos-X en monocristal

La difracción de Rayos-X en monocristal nos permite conocer la estructura de un compuesto con mayor precisión, en la figura 56 se presentan las estructuras de los compuestos FIPBROMO y FIPRAY-H, mientras que sus datos cristalográficos se listan en la tabla 9. Debido a que XUBNIR ya se encuentra en la base de datos del CCDC no se describe (Anexo 5; *Otieno, et al. 2001*).

Las estructuras de FIPRAY, FIPAMINO Y FIPIMIDA se usaron como referencia por lo que se encuentran en la sección de antecedentes y sus parámetros cristalográficos se encuentran en el anexo 5. (*Fortis M., 2020*).

Compuestos derivados de FIPRAY

Los compuestos obtenidos derivados de FIPRAY, se denominaron en este trabajo como FIPBROMO y FIPRAY-H. En el centro de la estructura tienen un átomo de cobre hexacoordinado a 4 átomos de oxígeno, un nitrógeno y cloro o bromo respectivamente, por lo que ambos poseen una geometría octaédrica distorsionada. Esto se debe a la distorsión de Jahn-Teller propia del cobre en estado de oxidación 2+. En el caso de FIPBROMO la carga del cobre es estabilizada tanto por el átomo de bromo enlazado en posición axial como el bromo presente fuera de la esfera de coordinación que actúa como contraión; mientras que en FIPRAY-H los átomos responsables de neutralizar al compuesto son el oxígeno en la posición 5 y el átomo de cloro en posición axial.

En ambas estructuras se midieron las longitudes de los enlaces Cu—Cl, Cu—Br y Cu—O en las posiciones 3 y 5, (en caso de FIPRAY en la posición 2); el enlace con el oxígeno 3 es visiblemente más largo producto de la distorsión en el compuesto; mientras que, el oxígeno 5 es el que se desprotona en el compuesto FIPRAY-H y se compararon con FIPRAY para ver el efecto del cambio de halógeno y la desprotonación. De acuerdo con la tabla 8 a diferencia de FIPRAY los enlaces Cu—Cl y Cu—O en posiciones 3 y 5 de FIPRAY-H son más cortos debido a que tanto el átomo de cloro como el de oxígeno 5 estabilizan la carga positiva en el cobre, éste retiene su densidad electrónica con más fuerza por lo que ambos átomos se acercan, produciendo enlaces más cortos.

Lo contrario ocurre en el FIPBROMO ya que la distancia de enlace de ambos incrementa. En el caso del enlace Cu–Br, éste es más largo por 0.083 Å y puede deberse al volumen del átomo de bromo ya que es mayor al del cloro.

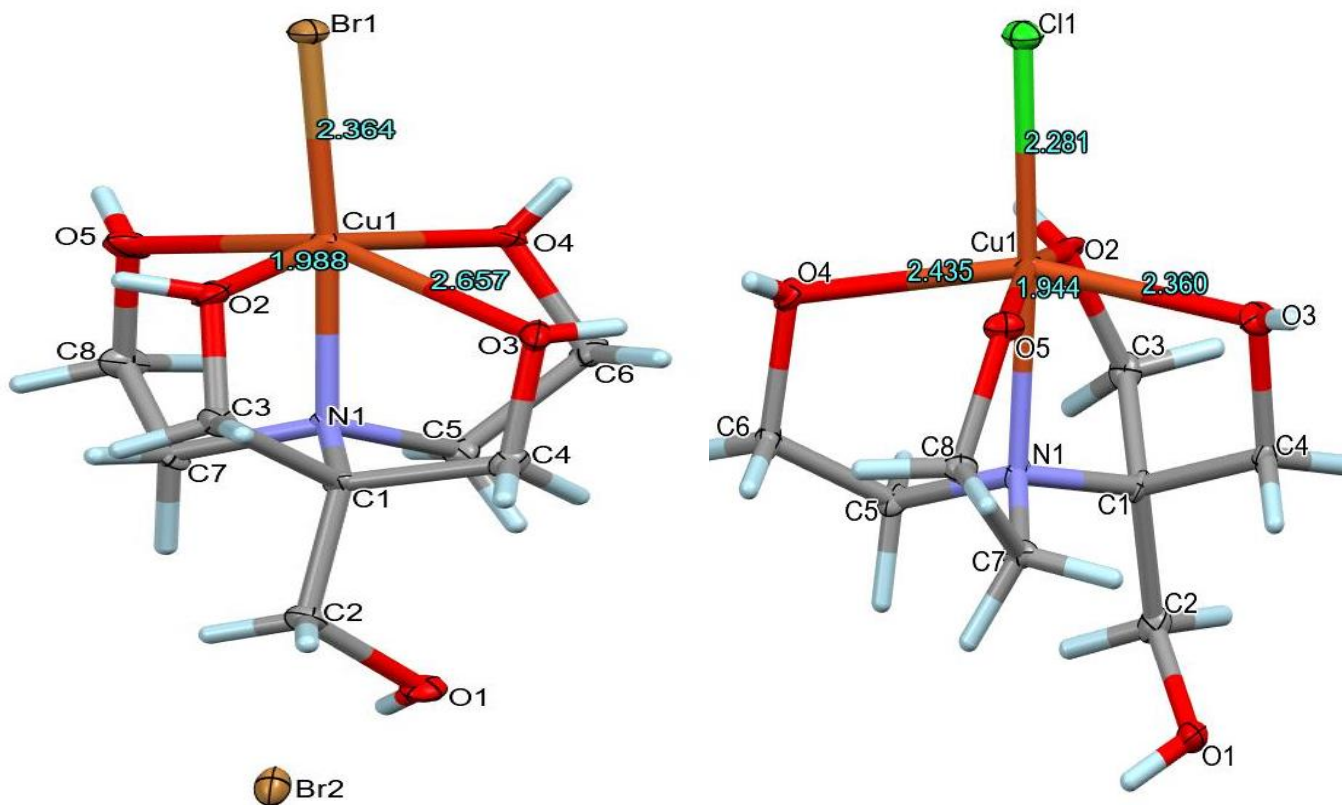


Figura. 62. Estructuras de rayos-X de FIPBROMO (izquierda) y FIPRAY-H (derecha)

Tabla. 8. Datos cristalográficos de los compuestos obtenidos

	FIPBROMO	FIPRAY-H
Fórmula	CuBr ₂ C ₈ H ₁₉ NO ₅	CuClC ₈ H ₁₈ NO ₅
Masa (g/mol)	432.6	342.7
Sistema y grupo espacial	Ortorrómbico $P2_12_12_1$	Monoclínico $P2_1/n$
Parámetros de celda (Å)	8.7908(4) / 11.8881(6) / 12.8492(6)	7.2605(9)/10.4221(14)/14.668(2)
a b c		
Ángulos de celda	90° / 90° / 90°	90°/94.36°(12)/90°
α , β y γ		
Factor R_1 (%)	2.42	4.7

En la tabla 9 uno de los parámetros de mayor relevancia es el factor de refinamiento R , el cual para cada uno de los compuestos es menor a 10, lo que indica que la estructura presentada es muy cercana al modelo teórico por lo que el refinamiento de la estructura cristalina es satisfactorio y por lo tanto la calidad de los cristales obtenidos para su análisis por esta técnica fueron buenos.

Tabla. 9. Distancia de los enlaces de interés para FIPRAY, FIPBROMO y FIPRAY-H

<i>COMPUESTO</i>	<i>ENLACE</i>	<i>DISTANCIA DE ENLACE</i> (Å)
<i>FIPRAY</i>	Cu—Cl	2.219(6)
	Cu—O (posición 2)	2.645(2)
	Cu—O (posición 5)	1.998(2)
<i>FIPRAY-H</i>	Cu—Cl	2.281(1)
	Cu—O (posición 3)	2.360(3)
	Cu—O (posición 5)	1.944(2)
<i>FIPBROMO</i>	Cu—Br	2.364(5)
	Cu—O (posición 3)	2.657(3)

En la figura 57 se observa la celda de FIPBROMO sobre el eje a . Se observan cuatro moléculas de FIPBROMO de las cuales solo una se encuentra completa. También se ven dentro de la celda cuatro átomos de bromo actuando como contraiones.

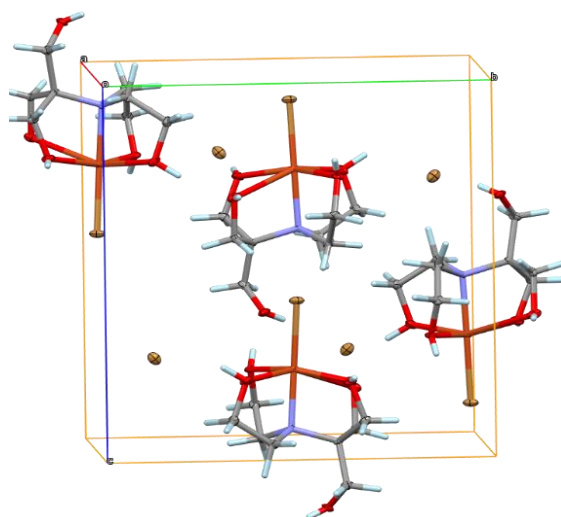


Figura. 63. Celda unitaria sobre el eje a de FIPBROMO

En la celda del compuesto FIPRAY-H se ven 4 moléculas dentro, de las cuales 2 se encuentran completas y las restantes tienen al grupo OH fuera. A diferencia de FIPBROMO no se observan contraiones ya que la molécula se neutraliza por el átomo de cloro en posición axial y el oxígeno número 5

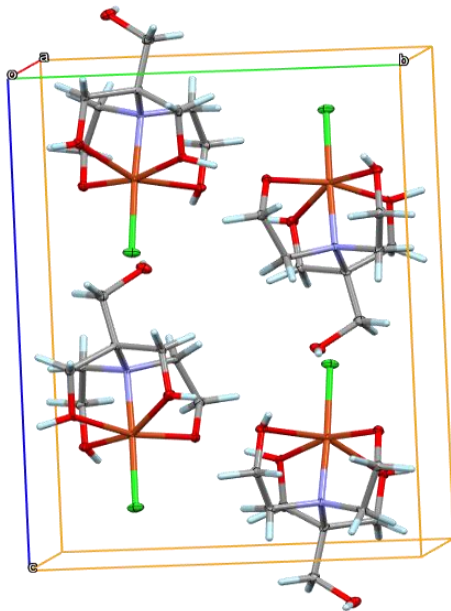


Figura. 64. Celda de FIPRAY-H vista desde el eje a.

Análisis graph-set de FIPBROMO y FIPRAY-H

Este análisis se hizo en el programa Mercury 2022.3.0 con la finalidad de analizar las interacciones por puente de hidrógeno de ambos compuestos y se compararon con FIPRAY por la semejanza estructural, la cual en el caso de FIPBROMO le permite tener un comportamiento similar a FIPRAY ya que forma cadenas por interacciones entre grupos OH del ligante y con el OH libre y el átomo de bromo que actúa como contraión (Figura 59)

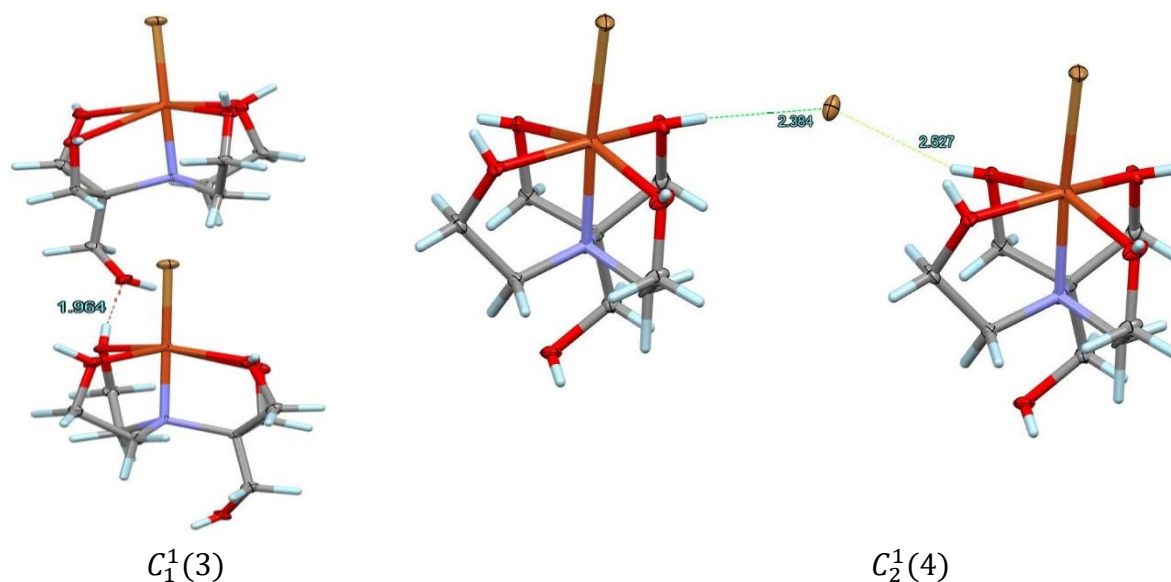


Figura. 65. Arreglos por puente de hidrógeno de FIPBROMO

En FIPRAY-H debido al átomo de oxígeno que se encuentra desprotonado tiene más interacciones que FIPRAY ya que no solo forma arreglos con el átomo de cloro fuera de la esfera de coordinación, similares a los de FIPBROMO y FIPRAY, sino que también uno de los grupos OH enlazados al cobre y el oxígeno desprotonado interactúan con otras moléculas de FIPRAY-H formando cadenas y anillos como los que se observan en las figuras 60 y 61.

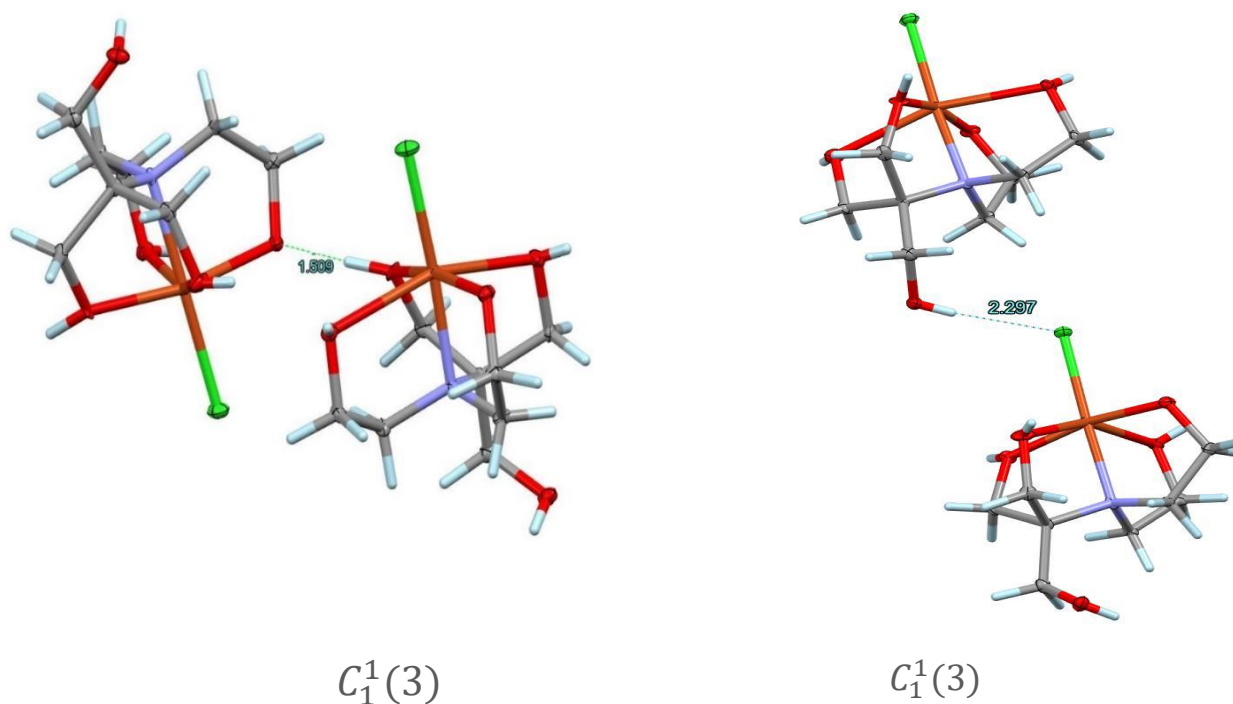


Figura. 66. Arreglo en cadena formados por puentes de hidrógeno de FIPRAY-H

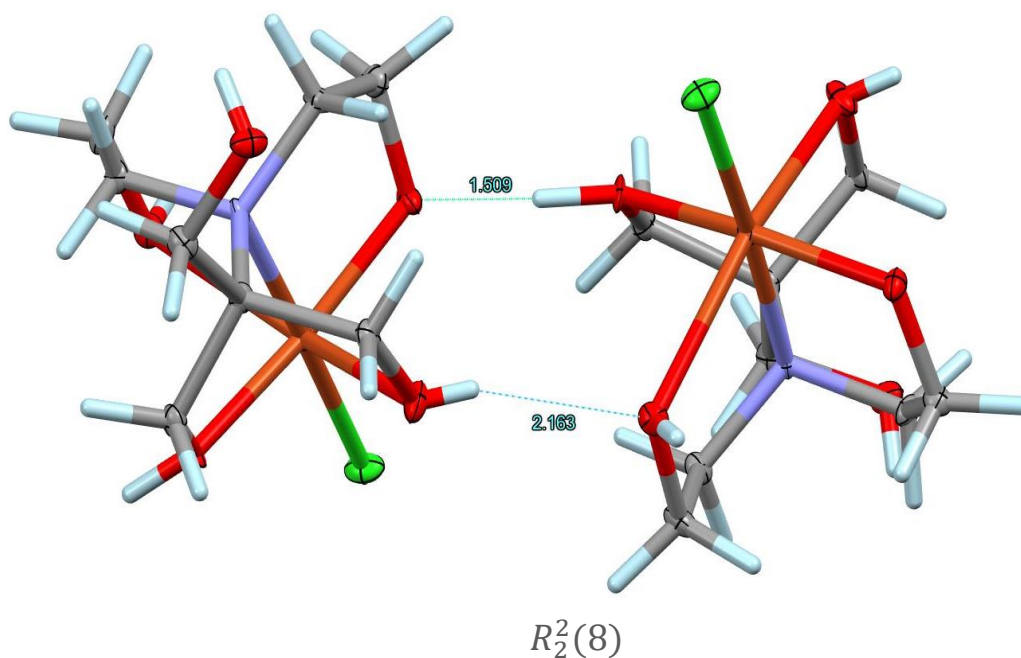


Figura. 67. Arreglo en anillo formado por puente de hidrógeno de FIPRAY-H

A partir del análisis *graph-set* se observa que los compuestos FIPBROMO y FIPRAY-H forman cadenas principalmente; sin embargo, FIPRAY-H forma un anillo por la interacción del oxígeno desprotonado con un grupo OH. En cuanto a los puentes de hidrógeno estos tienen menor distancia cuando se forman entre $O\cdots H$, por lo que este tipo de puentes son más fuertes en comparación con los formados por $X\cdots H$ donde $X=Cl, Br$, los cuales funcionan como aceptores en la formación del puente de hidrógeno; ya que la distancia entre ellos es mayor por lo que la interacción es más débil.

Análisis microbiológicos.

Para probar la actividad biológica de los compuestos sintetizados se hicieron pruebas microbiológicas por el método de dilución para determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) y concentración mínima bactericida (MBC).

Dichas mediciones fueron realizadas por el Dr. Samuel Hernández Anzaldo en colaboración con el Dr. Carlos Fernández-Patrón del departamento de Bioquímica de la Universidad de Alberta con la intención de darle mayor proyección y aplicación a los compuestos obtenidos.

Los análisis microbiológicos se hicieron *in vitro* contra 2 cepas bacterianas (*Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*). Para validación del experimento se usaron las cepas certificadas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

Preparación de las cepas

Se cultivaron las cepas por 24h en medio Clostridial Nutrient Medium de la marca Merck Se tomaron algunas colonias y se suspendieron en solución salina hasta ajustar a 0.5 en escala de McFarland dando una suspensión de $1-2 \times 10^8$ UFC/mL.

Preparación de los compuestos

Los compuestos FIPRAY, FIPBROMO, XUBNIR, FIPAMINO y FIPIMIDA se prepararon en una concentración 0.1 mM y a partir de esta se hicieron 10 diluciones seriadas 1:10 en PBS.

Una vez preparadas ambas soluciones se inocularon con 50 μ L de cada una de las cepas y se incubaron a 35°C por 18h para MIC, en el caso de MBC se incubaron por 24h. La determinación de ambos parámetros se hizo usando la sal de tetrazolio: bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) como indicador. Para el tratamiento estadístico se utilizó el promedio del error estándar con el modelo *T-student* usando el programa Sigma-Plot.

Los resultados obtenidos, se presentan en la tabla 10.

Tabla. 10. MIC y MBC de los compuestos.

Cepa	FIPRAY		FIPBROMO		XUBNIR		FIPIMIDA		FIPAMINO		Doxiciclina	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>Staphylococcus aureus</i>	6.06	24.99	15.98	22.36	15.02	24.77	14.32	28	18	36.5	4.2×10^{-4}	7.6×10^{-3}
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	11.1	23.55	12.08	17.25	26.03	33.3	22.1	31.5	22.5	36	2.1×10^{-4}	3.7×10^{-3}
<i>Escherichia coli</i>	12.33	18.89	15.36	26.09	15.14	45.03	11.3	21	21	25.5	7.9×10^{-3}	1.5×10^{-2}
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	12	32.08	12.12	32.6	19.2	40.9	12.8	28	18	38	1.5×10^{-2}	3.1×10^{-2}

*Las concentraciones están dadas en mg/mL.

Los resultados se graficaron para poder comparar la actividad de los compuestos frente a cada una de las cepas. Las gráficas se muestran en las figuras 62 y 63 para *E. coli* y en 64 y 65 para *Staphylococcus aureus*. Las gráficas de las cepas control se encuentran en el anexo 6.

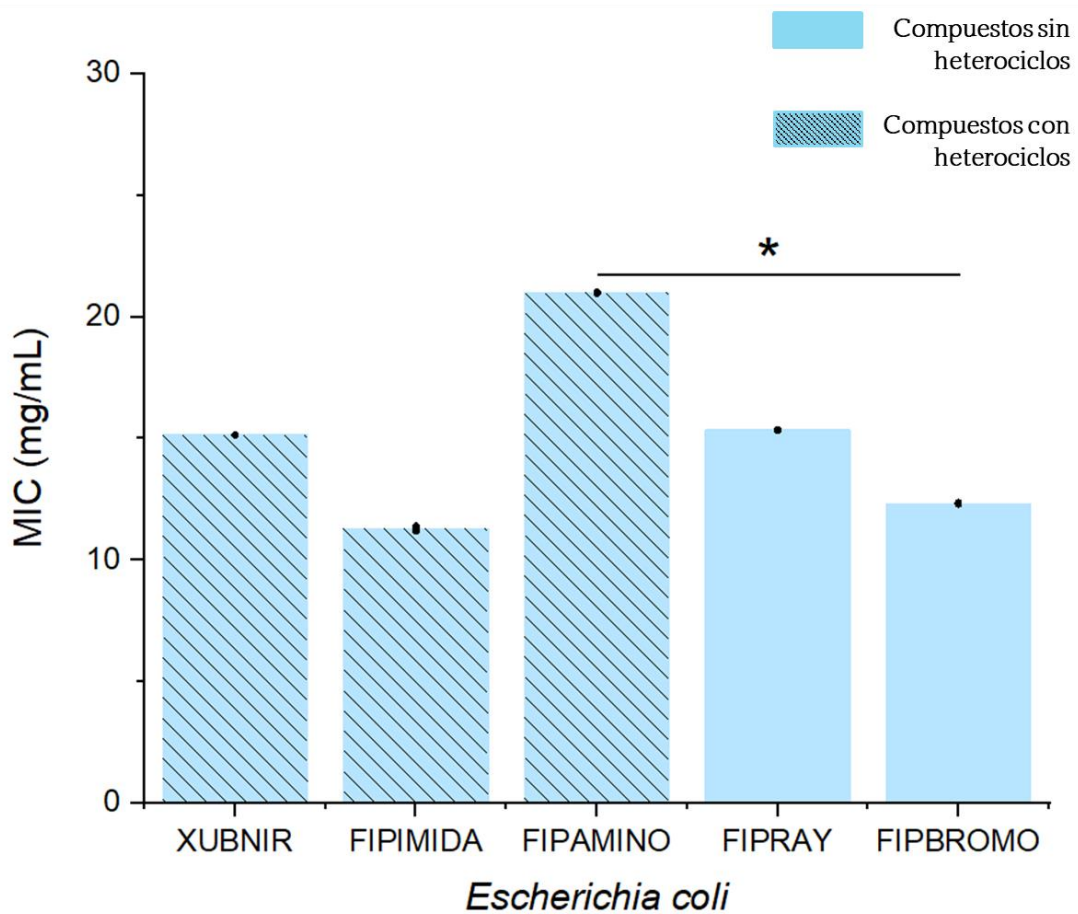


Figura. 68. MIC de los compuestos frente a *Escherichia coli*.

* $P \leq 0.001$ FIPAMINO vs FIPBROMO

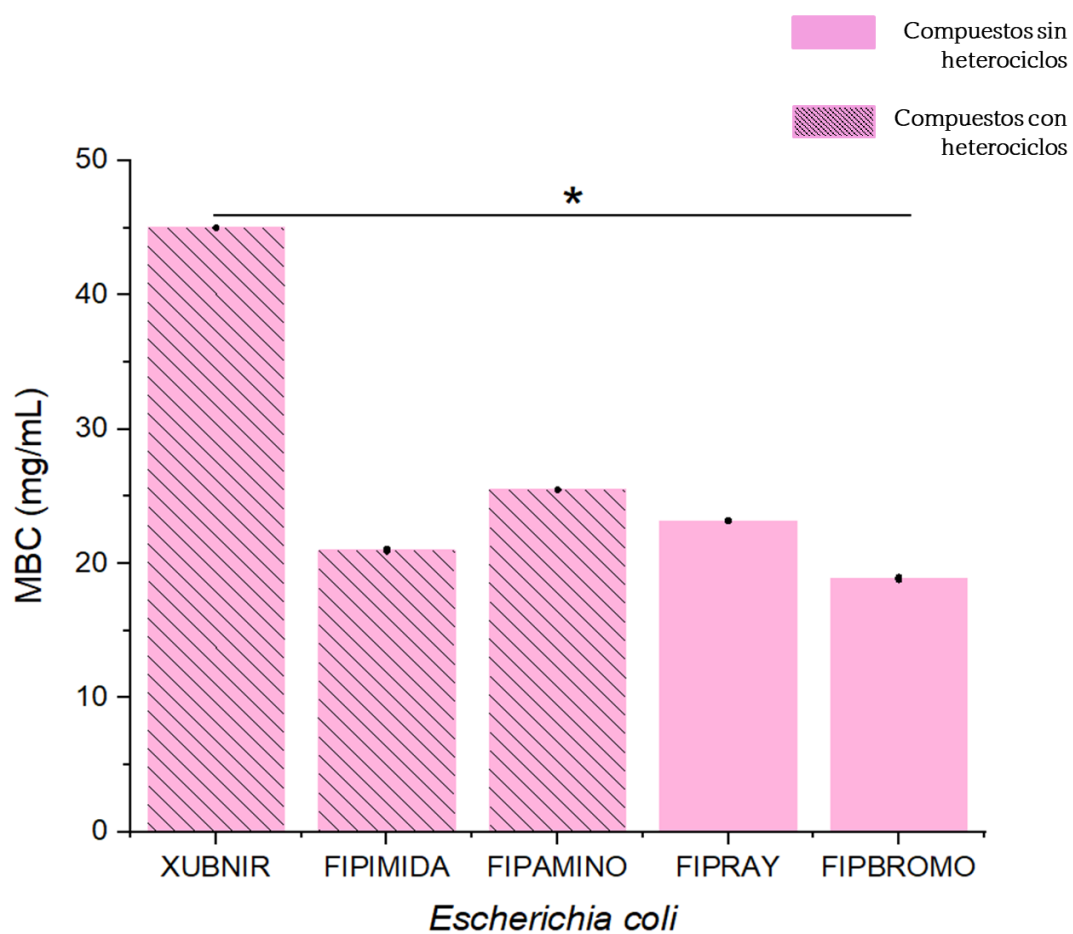


Figura. 69. MBC de los compuestos obtenidos frente a *Escherichia coli*.

* $P \leq 0.001$ XUBNIR vs FIPBROMO

De los cinco compuestos probados el compuesto que tuvo la menor MIC frente a *E. coli* fue FIPIMIDA, mientras que la menor MBC la tuvo FIPBROMO.

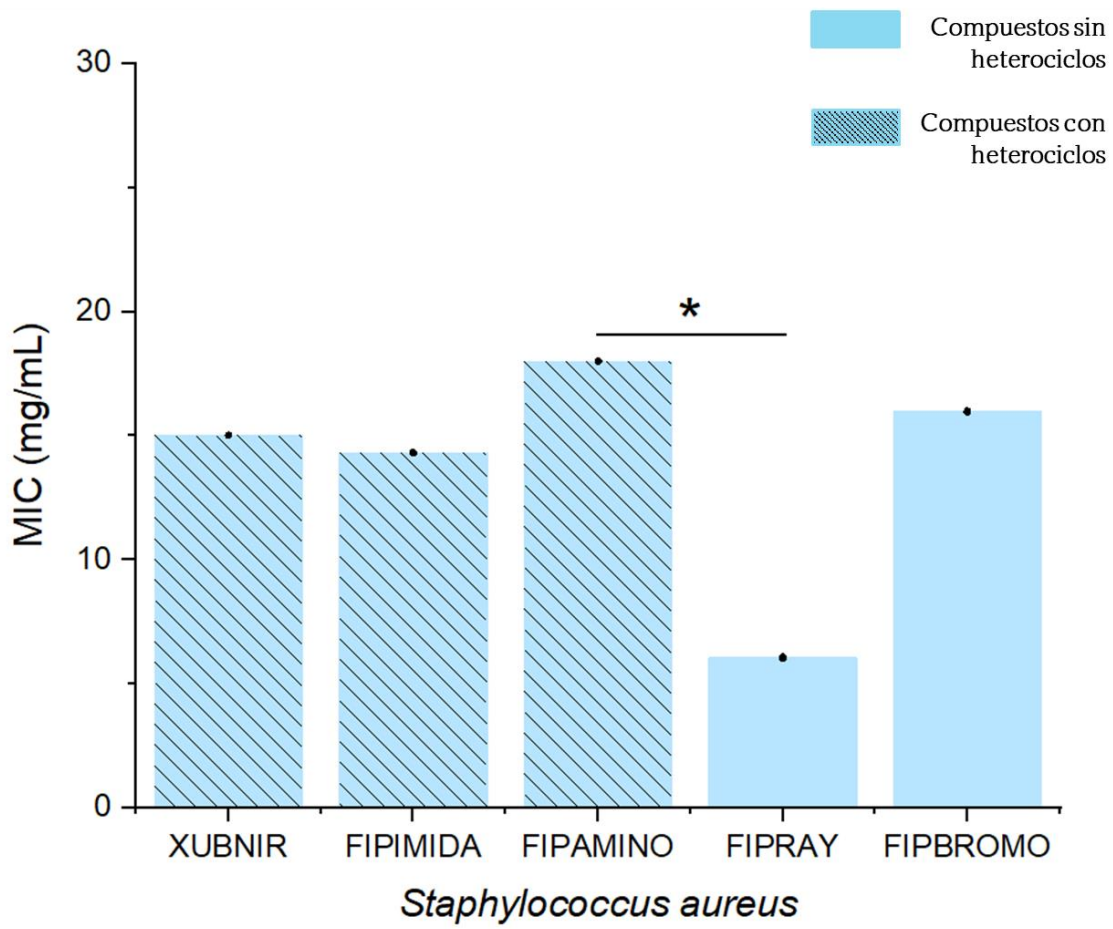


Figura. 70. MIC de los compuestos obtenidos frente a *Staphylococcus aureus*

* $P \leq 0.001$ FIPAMINO vs FIPRAY

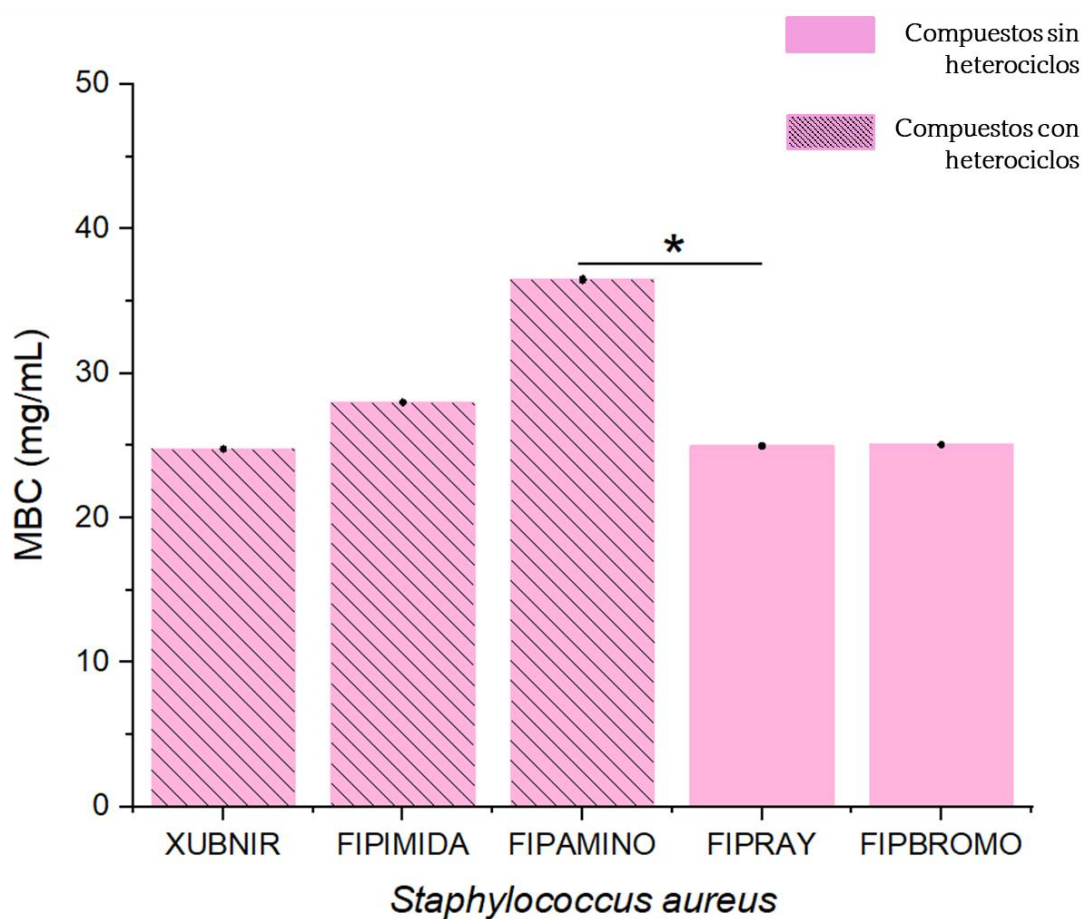


Figura. 71. MBC de los compuestos frente a *Staphylococcus aureus*

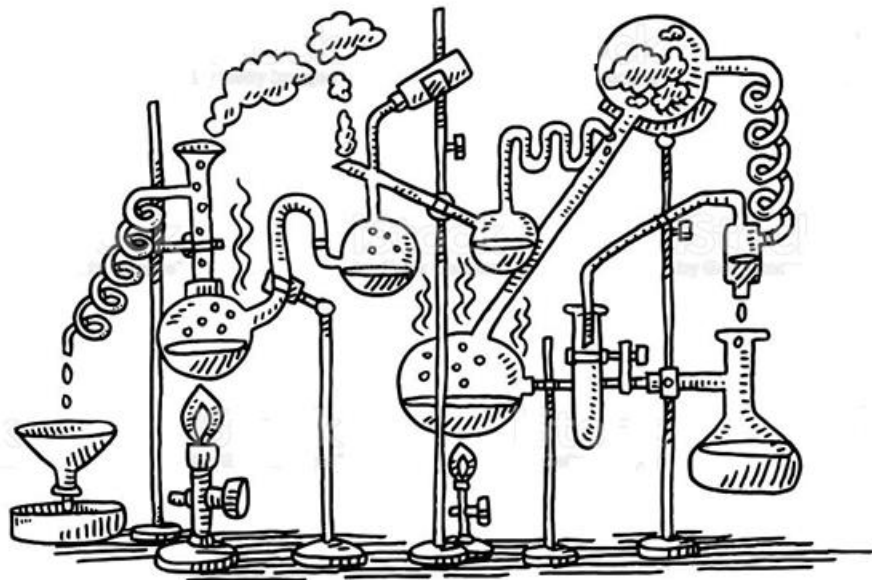
* $P \leq 0.001$ FIPAMINO vs FIPRAY

Para *Staphylococcus aureus* los compuestos FIPRAY y FIPBROMO mostraron las menores MIC y MBC respectivamente. En este caso los compuestos con ligantes heterocíclicos no mostraron una mejor actividad a comparación de los compuestos halogenados.

En ambos casos se encontró que contrario a lo esperado por reportes previos (Larios-Cervantes, 2022; Navarro, et al., 2019 y Bagchi, et al, 2023) los compuestos con ligantes heterocíclicos no tuvieron una mejora en la actividad antimicrobiana en comparación con sus precursores FIPRAY y FIPBROMO.

CAPÍTULO V

Conclusiones



CONCLUSIONES

- ✓ Los compuestos de coordinación con ligantes derivados de imidazol no se obtuvieron por la metodología propuesta; sin embargo, se sintetizaron tres compuestos de coordinación, de los cuales dos compuestos son nuevos FIPBROMO y FIPRAY-H.
- ✓ Los compuestos obtenidos se caracterizaron por temperatura de fusión, IR, UV-Vis, RMN-¹H, RPE, Masas, Raman y DRX en monocristal. Mediante estas técnicas se pudo proponer y confirmar la estructura y el estado de oxidación del cobre.
- ✓ Las estructuras de rayos-X confirman la geometría propuesta de los compuestos por UV-Vis, los enlaces observados en IR y Raman y la posición del cobre como átomo central.
- ✓ La estructura de XUBNIR a pesar de ya estar reportada por *Otieno & cols. 2001* se obtuvo con un buen porcentaje de refinamiento comparando con los reportes previos, además de obtenerse mediante otra ruta sintética y caracterizarlo por técnicas no reportadas (RPE, espectrometría de masas). Adicionalmente se le hicieron pruebas antimicrobianas.
- ✓ Todos los compuestos mostraron una actividad antimicrobiana insatisfactoria frente a bacterias del grupo ESKAPE como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* que actualmente son consideradas como amenaza mayor para la salud. Lo cual contrasta con lo reportado previamente ya que a pesar de que algunos compuestos poseen ligantes heterocíclicos no mostraron una mejora en su actividad como antibacterianos.

Bibliografía

1. Angyal, S. (1974). ChemInform Abstract: Complexing of polyols with cations. Chemischer Informationsdienst, 5(37). doi: 10.1002/chin.197437339
2. Arendsen, L. P., Thakar, R., & Sultan, A. H. (2019). The Use of Copper as an Antimicrobial Agent in Health Care, Including Obstetrics and Gynecology. Clinical microbiology reviews, 32(4), e00125-18. [doi:10.1128/cmr.00125-18](https://doi.org/10.1128/cmr.00125-18)
3. Atkins, P. W. (1998). Química Física (6th ed.). Omega.
4. Barbosa, A., Caleffi—Ferracioli, K., Feite, C., García-Ramos, J., Toledano-Magaña, Y., Ruiz-Azuara, L., Siquiera, V., Pavan, F. & Cardoso, R. (2016). Potencial of Casiopeínas® copper complexes and Antituberculosis Drug Combination against *Mycobacterium tuberculosis*. Chemotherapy, 16(61). doi: 10.1159/000443496.
5. Balouiri, M., Sadiki, M. and Ibsouda, S.K. (2016) 'Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A Review', Journal of Pharmaceutical Analysis, 6(2), pp. 71–79. doi:10.1016/j.jpha.2015.11.005.
6. Borah, P., Hazarika, S., Chettri, A., Sharma, D., Deka, S., Venugopala, K. N., Shinu, P., Al-Shar'i, N. A., Bardaweel, S. K., Deb, P. K., Bagchi, D., Das, A., & Downs, B. W. (2023). 61. In Viral, Parasitic, Bacterial and Fungal Infections. Antimicrobial, Host Defense and Therapeutic Strategies (pp. 781–800). essay, Elsevier.
7. De la Fuente-Salcido, N. M., Villarreal-Prieto, J. Ma., Díaz León, M. Á., & García Pérez, A. P. (2015). Evaluación de la actividad de los agentes antimicrobianos ante el desafío de la resistencia bacteriana. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas , 46(2), 6–16.
8. De Marco, B. A., Rechelo, B. S., Tótolí, E. G., Kogawa, A. C., & Salgado, H. R. (2019). Evolution of green chemistry and its multidimensional impacts: A Review. Saudi Pharmaceutical Journal, 27(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2018.07.011>

9. De Oliveira, D. M., Forde, B. M., Kidd, T. J., Harris, P. N., Schembri, M. A., Beatson, S. A., Paterson, D. L., & Walker, M. J. (2020). Antimicrobial resistance in Eskape pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(3). <https://doi.org/10.1128/cmr.00181-19>
10. Drago, R. S. (1992). *Physical Methods for Chemists* (2nd ed.). surfside .
11. Etter, M. C., MacDonald, J. C., & Bernstein, J. (1990). Graph-set analysis of hydrogen-bond patterns in organic crystals. *Acta Crystallographica Section B Structural Science*, 46(2), 256–262. <https://doi.org/10.1107/s0108768189012929>
12. Faraldos, M., & Goberna, C. (2011). *Técnicas de análisis y caracterización de materiales*. Consejo Superior investigación científica / CSIC
13. *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) 10 ed.* México; 2011. Secretaría de Salud, Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.
14. Fortis Valera, M., Bernès, S., Arroyo Carmona, R., & Pérez Benítez, A. (2019). Experimental Crystal Structure Determination. *CCDC*, (1888167). doi: 10.5517/ccdc.csd.cc21csmv
15. Fortis Valera, M. (2020). *Síntesis verde y caracterización espectroscópica y estructural de compuestos de coordinación a partir de cobre, metformina y aminopolialcoholes*. (Tesis de Licenciatura). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
16. Fun, H.-K., Yip, B.-C., Lu, Z., Duan, C.-Y., Tian, Y.-B., & You, X.-Z. (1996). Synthesis, characterization and crystal structure of a tris(2-aminoethyl)Amine Copper Complex with a imidazole coligand. *Transition Metal Chemistry*, 21(3), 193–196. <https://doi.org/10.1007/bf00165965>
17. Giacovazzo, C., Monaco, H. L., Viterbo, D., Scordari, F., Gilli, G., Zanotti, G., & Catti, M. (2000). *Fundamentals of Crystallography* (4th ed.). Oxford University Press.
18. Giono-Cerezo, S., Santos-Preciado, J., Morfín-Otero, M., Torres-López, F., & Alcántar-Curiel, M.

- (2020). Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla. *Gaceta De México*, 156(2). doi: 10.24875/gmm.20005624
19. Guinier, A. (1963). *X-ray diffraction in crystals, imperfect crystals and amorphous bodies* (1st ed.). Freeman.
20. Godlewska, S., Jezierska, J., Baranowska, K., Augustin, E., & Dołęga, A. (2013). Copper(II) complexes with substituted imidazole and chlorido ligands: X-ray, UV-Vis, magnetic and EPR studies and chemotherapeutic potential. *Polyhedron*, 65, 288—297. doi: 10.1016/j.poly.2013.08.039
21. Gong, Y., Hu, C., & Xia, Z. (2007). Synthesis and characterization of metal(II)-fluconazole complexes: Chain-like structure and photoluminescence. *Journal Of Molecular Structure*, 837(1-3), 48-57. doi: 10.1016/j.molstruc.2006.10.001
22. Gray, H. B. (2003). *Electrons and chemical bonds*. España: Reverté.
23. Hansen, P.E. and Spanget-Larsen, J. (2017) 'NMR and IR investigations of strong intramolecular hydrogen bonds', *Molecules*, 22(4), p. 552. doi:10.3390/molecules22040552.
24. Hilal Dandan, R., Knollmann, B., Timossi Baldi, C., & Brunton, L. (2012). *Goodman & Gilman: las bases farmacológicas de la terapéutica* (12th ed.).
25. Hong, K. H. Ha, E. J. Bai, K. S. A Study on the Complexation of Copper(II) Ion with 2,2-Bis(hydroxymethyl)-2,2',2''-nitrioltriethanol in Aqueous Solution, *Bull. Kor. Chem. Soc.*,16, 406, 1995.
26. Iman, K., Raza, M., Ansari, M., Monika, Ansari, A., & Ahmad, M. et al. (2021). Novel {Cu₄} and {Cu₄Cd₆} clusters derived from flexible aminoalcohols: synthesis, characterization, crystal structures, and evaluation of anticancer properties. *Dalton Transactions*, 50(34), 11941-11953. doi: 10.1039/d1dt00324k

27. Inomata, Y., Gochou, Y., Nogami, M., Howell, F., & Takeuchi, T. (2004). Characterization of ternary bivalent metal complexes with bis(2-hydroxyethyl) iminotris(hydroxymethyl)methane (Bis-Tris) and the comparison of five crystal structures of Bis-Tris complexes. *Journal Of Molecular Structure*, 702(1-3), 61-70. doi: 10.1016/j.molstruc.2004.06.010
28. Ivanova, B. B., & Mayer-Figge, H. (2005). Crystal structure and Solid State IR-LD analysis of a mononuclear cu(ii) complex of 4-aminopyridine. *Journal of Coordination Chemistry*, 58(8), 653–659. <https://doi.org/10.1080/00958970412331336295>
29. Katritzky, A. R., Ramsden, C. A., Joule, J. A., & Zhdkankin, V. V. (2008). *Handbook of Heterocyclic Chemistry* (3rd ed.). Elsevier Science.
30. Klimešová, V., Svoboda, M., Waisser, K., Kaustová, J., Buchta, V., & Králová, K. (1999). Synthesis of 2-benzylthiopyridine-4-carbothioamide derivatives and their antimycobacterial, antifungal and photosynthesis-inhibiting activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 34(5), 433–440. [https://doi.org/10.1016/s0223-5234\(99\)80093-2](https://doi.org/10.1016/s0223-5234(99)80093-2)
31. Larios-Cervantes, A., Chavez-Cortez, E., Martinez-Hernandez, M., Talavera-Contreras, L., Espinoza-Guillen, A., Carrillo-Ávila, B. Ruiz-Azuara, L., Álvarez-Pérez, M. & Martínez-Aguilar, V. (2022). Antimicrobial effect of Casiopeinas® copper- and ruthenium-based compounds on *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and in vitro cell viability onto osteoblasts cells. *Brazilian Journal of Microbiology*, 53(1), 179–184. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00648-3>
32. Lever, A.B.P. (1986) *Inorganic Electronic Spectroscopy*. 2nd edn. Amsterdam: Elsevier.
33. Lu, Z. L., Duan, C.-Y., You, X.-Z., Zhou, Z.-Y., & Mak, T. C. (1997). Crystal structure and spectroscopic studies of TRIS(2-aminoethyl)amine copper(ii) complexes with 4-aminopyridine. *Journal of Coordination Chemistry*, 44(1–2), 151–161.

<https://doi.org/10.1080/00958979808022889>

34. Luis Herrera, M. (1999). Pruebas de sensibilidad antimicrobiana metodología de laboratorio. Rev. Méd. Hosp. Nac. Niños, 34, 1–8.
35. Madani, S. *et al.* (2019) Synthesis, Characterization and In vitro evaluation of antibacterial and antifungal activities of New Schiff Base and Its Metal Complexes, 03, pp. 01–09.
36. Macrae, C.F. *et al.* (2020) 'mercury 4.0: From visualization to analysis, design and prediction', Journal of Applied Crystallography, 53(1), pp. 226–235. doi:10.1107/s1600576719014092.
37. Mancuso, G., Midiri, A., Gerace, E., & Biondo, C. (2021). Bacterial antibiotic resistance: The most critical pathogens. Pathogens, 10(10), 1310. <https://doi.org/10.3390/pathogens10101310>
38. Mengana-Torres, Y., & Lores-Guevara, M. A. (2016). Determinación de los tiempos de relajación T1 y T2 en disoluciones de caña de azúcar. Rev. Cubana Quím., 28, 364–377.
39. Milosevic, M. (2012). Internal reflection and ATR spectroscopy. John Wiley & Sons.
40. Morzyk-Ociepa, B., Różycka-Sokołowska, E., & Michalska, D. (2012). Revised crystal and molecular structure, FT-IR spectra and DFT studies of chlorotetrakis(imidazole)copper(ii) chloride. *Journal of Molecular Structure*, 1028, 49–56.
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2012.06.028>
41. Mulani, M. S., Kamble, E. E., Kumkar, S. N., Tawre, M. S., & Pardesi, K. R. (2019). Emerging strategies to combat ESKAPE pathogens in the era of antimicrobial resistance: A Review. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00539>
42. Nakamoto, K. (2009). Infrared and Raman spectra of Inorganic and Coordination Compounds (6th ed.). Wiley.
43. Navarro-Peñaloza, R., Vázquez-Palma, A., López-Sandoval, H., Sánchez-Bartéz, F., Gracia-Mora,

- I., & Barba-Behrens, N. (2021). Coordination compounds with heterocyclic ester derivatives. Structural characterization and anti-proliferative activity. *Journal Of Inorganic Biochemistry*, 219, 111432. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2021.111432
44. Oh, S., Choi, Y., Hwangbo, S., Bae, S., Ku, J., & Park, J. (1998). Structure and phosphodiesterase activity of Bis—Tris coordinated lanthanide(III) complexes. *Chemical Communications*, (20), 2189-2190. doi: 10.1039/a806021e
45. Otieno, T., Hatfield, M. J., Asher, S. L., McMullin, A. I., Patrick, B. O., & Parkin, S. (2001). Structures of pentakis- (imidazole)copper(ii) hexafluoroarsenate monohydrate and chlorotetrakis- (imidazole)copper(ii) chloride. *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*, 31(9), 1587–1598. <https://doi.org/10.1081/sim-100107705>
46. Pájaro Castro, N. P., & Olivero Verbel, J. T. (2011). Química Verde: Un Nuevo Reto. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*, 21(2), 169. <https://doi.org/10.18359/rcin.265>
47. Pavia. D. Lampman, G. George, K. (2001) *Intrudution to spectroscopy* (3^a ed) Brooks/cole
48. Picazo, J. J. (2000). Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos, en: *Procedimientos en microbiología clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Consultado en: [seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf](#)
49. Pretsch, E., Bühlmann, P., & Badertscher, M. (2020). *Structure determination of organic compounds: Tables of spectral data*. Springer Berlin Heidelberg.
50. Raczuk, E., Dmochowska, B., Samaszko-Fiertek, J., & Madaj, J. (2022). Different Schiff Bases- Structure, Importance and Classification. *Molecules*, 27(3), 787. doi: 10.3390/molecules27030787
51. Rodríguez-Angeles, G. (2002). Principales Características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Pública de México*, 44(5). <https://doi.org/10.1590/s0036->

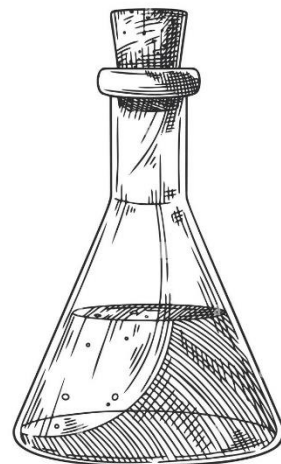
[36342002000500011](https://doi.org/10.3390/molecules25173777)

52. Rostas, A. M., Badea, M., Ruta, L. L., Farcasanu, I. C., Maxim, C., Chifiriuc, M. C., Popa, M., Luca, M., Celan Korosin, N., Cerc Korosec, R., Bacalum, M., Raileanu, M., & Olar, R. (2020). Copper(II) complexes with mixed heterocycle ligands as promising antibacterial and antitumor species. *Molecules*, 25(17), 3777. <https://doi.org/10.3390/molecules25173777>
53. Selimović, E., Jeremić, S., Ličina, B., & Soldatović, T. (2018). Kinetics, DFT study and antibacterial activity of zinc(ii) and copper(ii) terpyridine complexes. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 62(1). <https://doi.org/10.29356/jmcs.v62i1.576>
54. Shriver, D. F., Weller, M. T., Overton, T., Rourke, J., Armstrong, F., & Atkins, P. (2010). *Inorganic Chemistry* (4th ed.). W.H. Freeman and Company.
55. Stevanović, N., Aleksic, I., Kljun, J., Skaro Bogojevic, S., Veselinovic, A., & Nikodinovic-Runic, J. et al. (2020). Copper(II) and Zinc(II) Complexes with the Clinically Used Fluconazole: Comparison of Antifungal Activity and Therapeutic Potential. *Pharmaceuticals*, 14(1), 24. doi: 10.3390/ph14010024
56. Suksrichavalit, T., Prachayasittikul, S., Nantasenamat, C., Isarankura-Na-Ayudhya, C., & Prachayasittikul, V. (2009). Copper complexes of pyridine derivatives with superoxide scavenging and antimicrobial activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(8), 3259–3265. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.03.033>
57. Szymański, P., Frączek, T., Markowicz, M., & Mikiciuk-Olasik, E. (2012). Development of copper based drugs, radiopharmaceuticals and medical materials. *Biometals*, 25(6), 1089-1112. doi: 10.1007/s10534-012-9578-y
58. Takayama, M. (1994). Fast atom bombardment mass spectrometry: Matrix effects on ion formation and fragmentation. *Journal of the Mass Spectrometry Society of Japan*, 42(5), 249–275. <https://doi.org/10.5702/massspec.42.249>

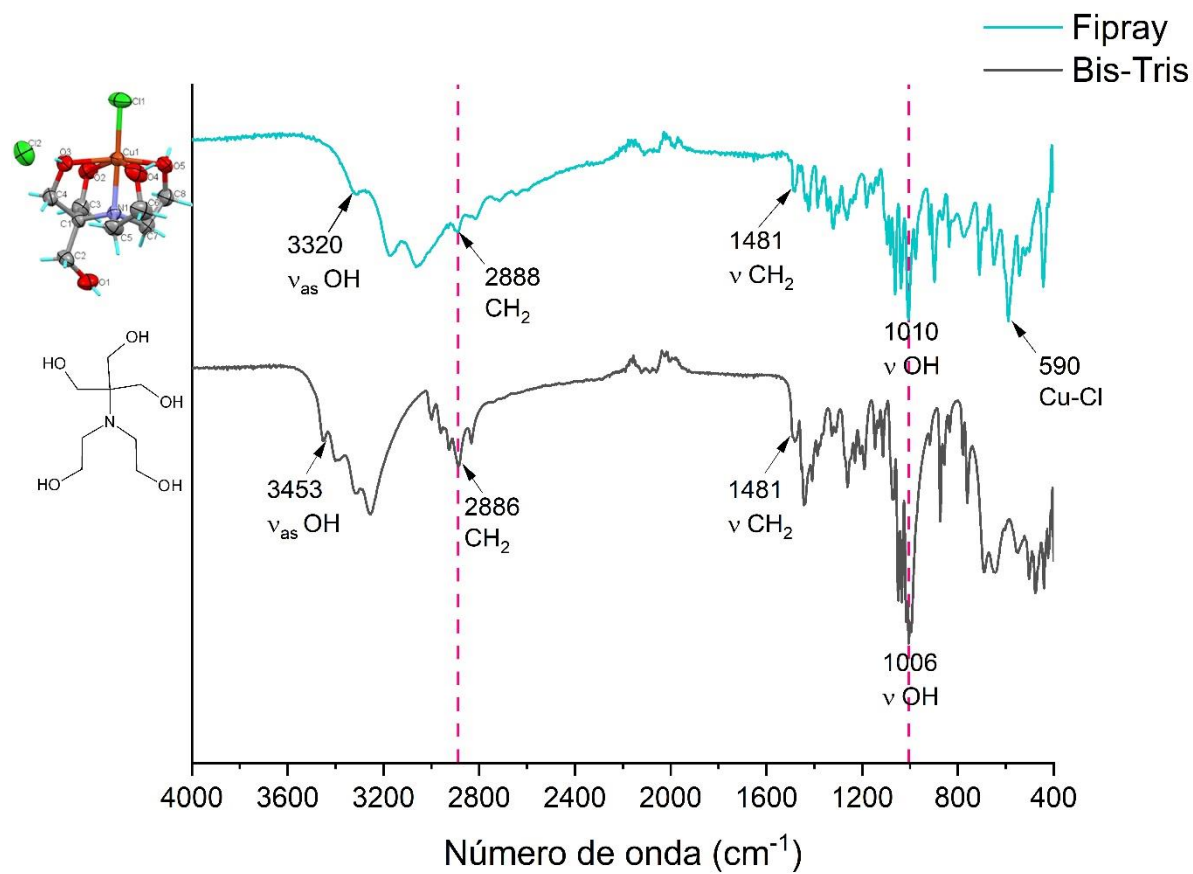
59. Torreggiani, A., Tamba, M., Bonora, S., & Fini, G. (2003). Raman and IR study on copper binding of histamine. *Biopolymers*, 72(4), 290–298. <https://doi.org/10.1002/bip.10406>
60. Turecka, K., Chylewska, A., Rychłowski, M., Zakrzewska, J., & Waleron, K. (2021). Antibacterial activity of CO(III) complexes with diamine chelate ligands against a broad spectrum of bacteria with a DNA interaction mechanism. *Pharmaceutics*, 13(7), 946. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13070946>
61. Wang, P., Yuan, Y., Xu, K., Zhong, H., Yang, Y., Jin, S., Yang, K., & Qi, X. (2021). Biological applications of copper-containing materials. *Bioactive Materials*, 6(4), 916–927. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.09.017>
62. Wikler, M. A., Cockerill, F. R., Dudley, M. N., Eliopoulos, G. M., Hardy, D. J., Hecht, D. W., Ferraro, M. J., Swenson, J. M., Hindler, J. F., Patel, J. B., Powell, M., Turnidge, J. D., Weinstein, M. P., & Zimmer, B. L., Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically approved standard 1–87 (2009). Wayne, Pennsylvania; CLSI/NCCLS.
63. Yarto, M., Gavilán, A., & Martínez, M. Á. (2004). La química verde en México. *Gaceta Ecológica*, (72), 35-44.
64. Ząbek, A., Nagaj, J., Grabowiecka, A., Dworniczek, E., Nawrot, U., Młynarz, P., & Jeżowska-Bojczuk, M. (2014). Activity of fluconazole and its Cu(II) complex towards *Candida* species. *Medicinal Chemistry Research*, 24(5), 2005-2010. doi: 10.1007/s00044-014-1275-7
65. Zhang, J., Ba, Y., Wang, S., Yang, H., Hou, X., & Xu, Z. (2019). Nitroimidazole-containing compounds and their antibacterial and antitubercular activities. *European Journal Of Medicinal Chemistry*, 179, 376—388. doi: 10.1016/j.ejmech.2019.06.068

-
66. Zając, A., Dymińska, L., Lorenc, J., Kaczmarek, S. M., Leniec, G., Ptak, M., & Hanuza, J. (2018). Spectroscopic properties and molecular structure of Copper Phytate Complexes: IR, Raman, UV-Vis, EPR studies and DFT calculations. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 24(1), 11-20. <https://doi.org/10.1007/s00775-018-1622-0>

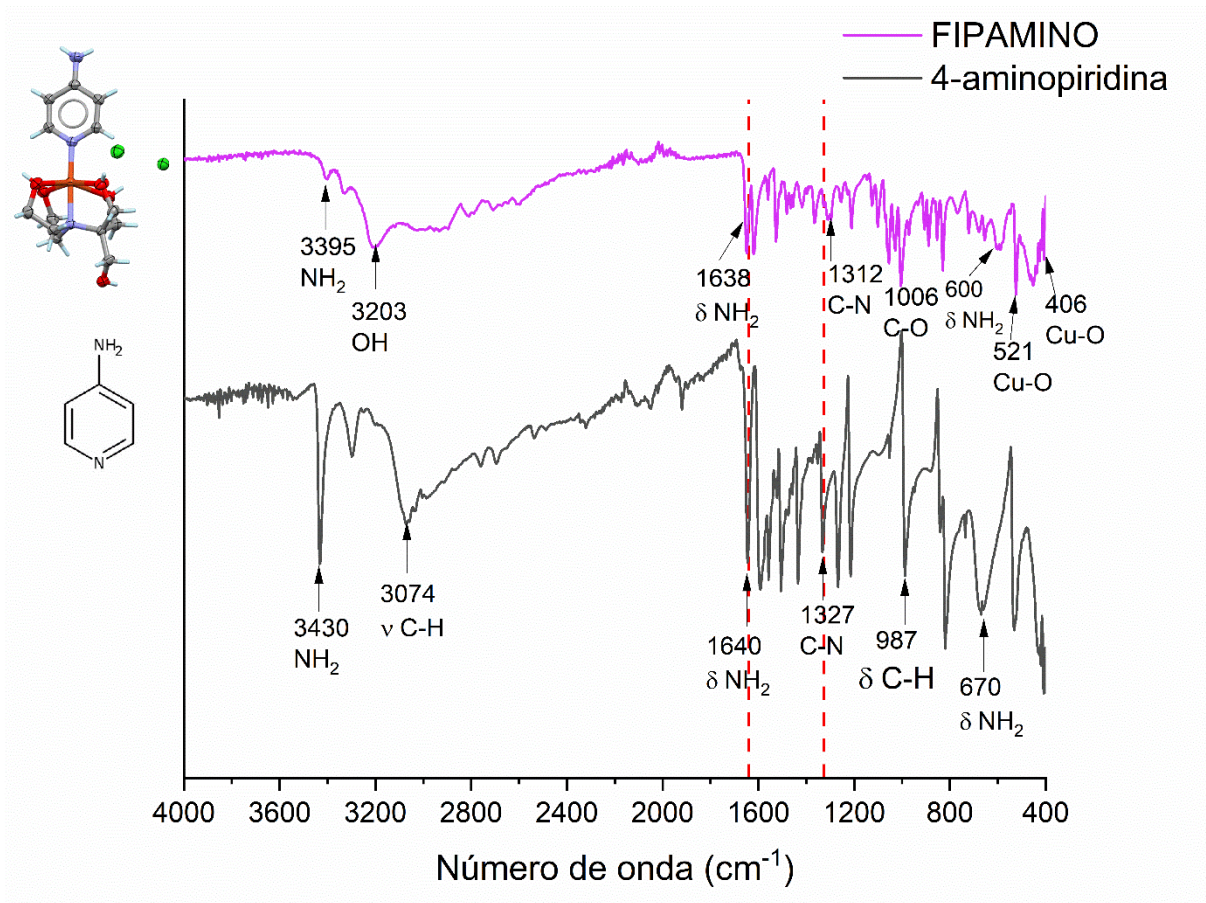
Anexos



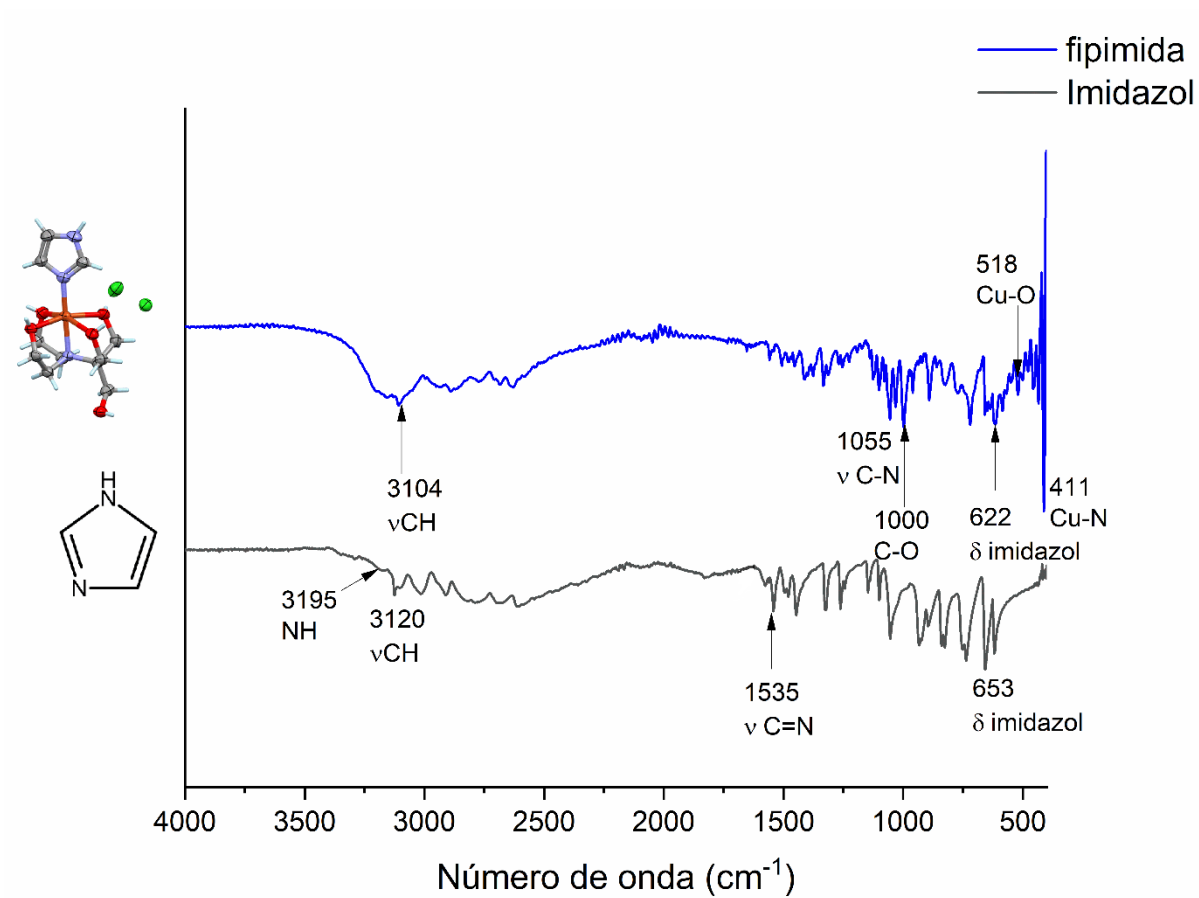
Anexo 1. Espectros de Infrarrojo de FIPRAY, FIPAMINO y FIPIMIDA.



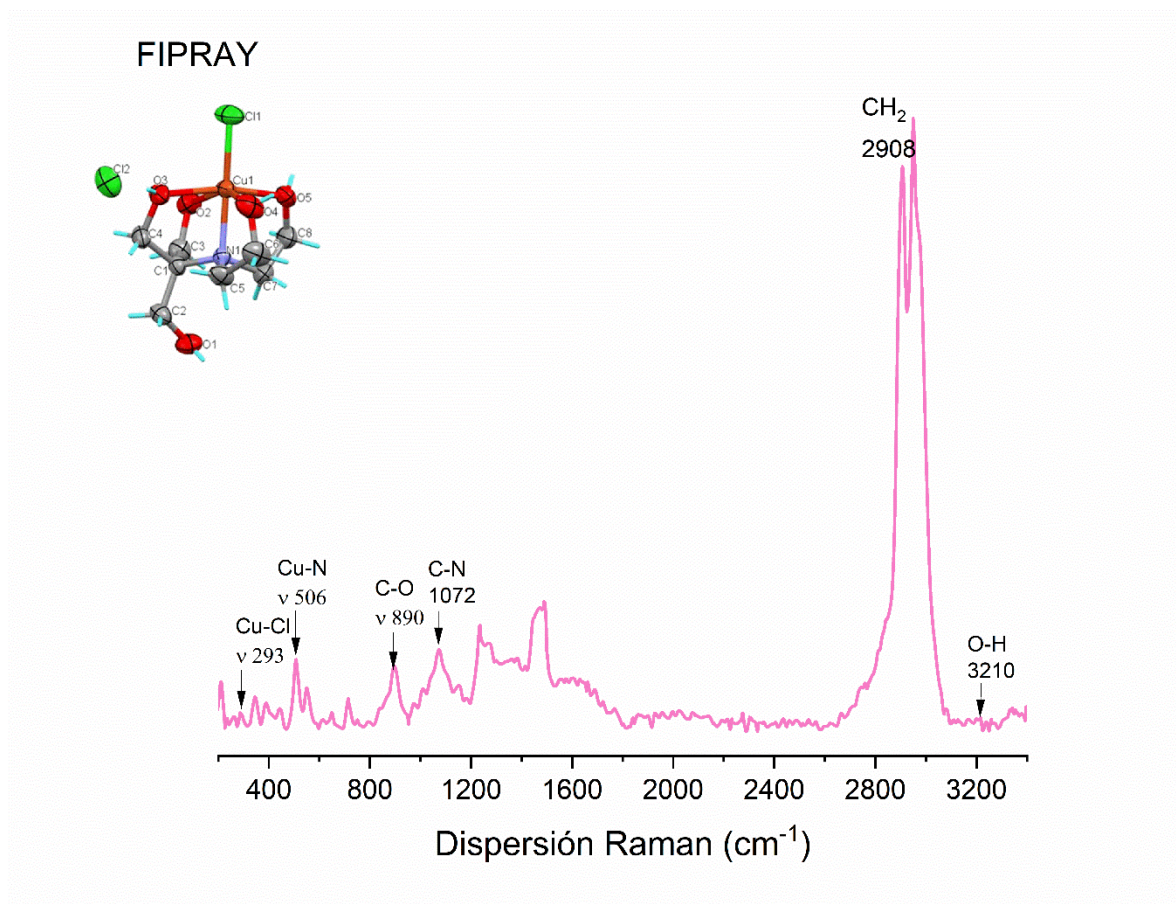
Espectro de IR comparativo de FIPRAY vs bis-tris.



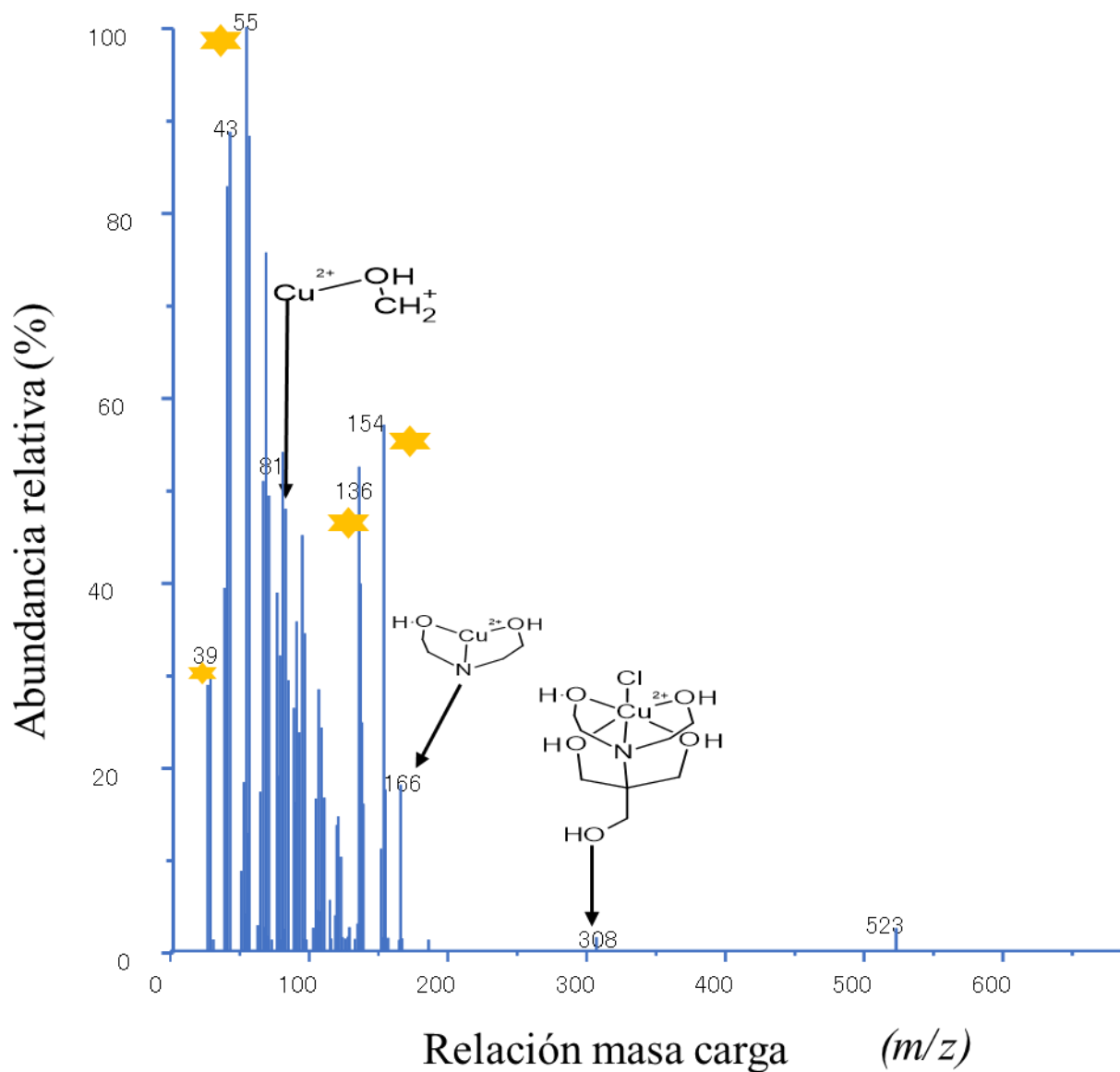
Espectro de IR comparativo de FIPAMINO vs 4-aminopiridina



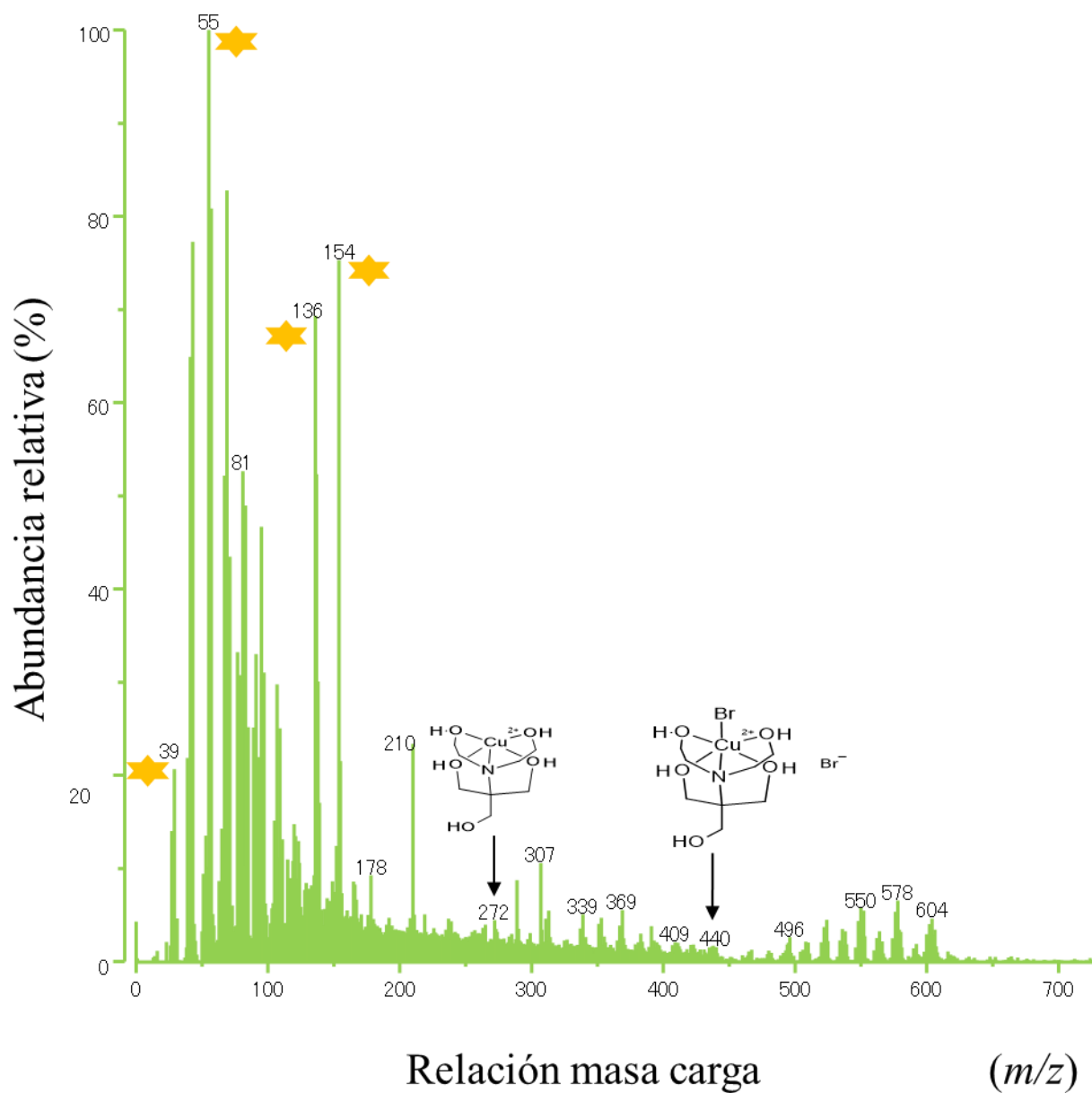
Espectro de IR comparativo de FIPIMIDA vs imidazol

Anexo 2. Espectro de Raman de FIPRAY*Espectro de Raman de FIPRAY*

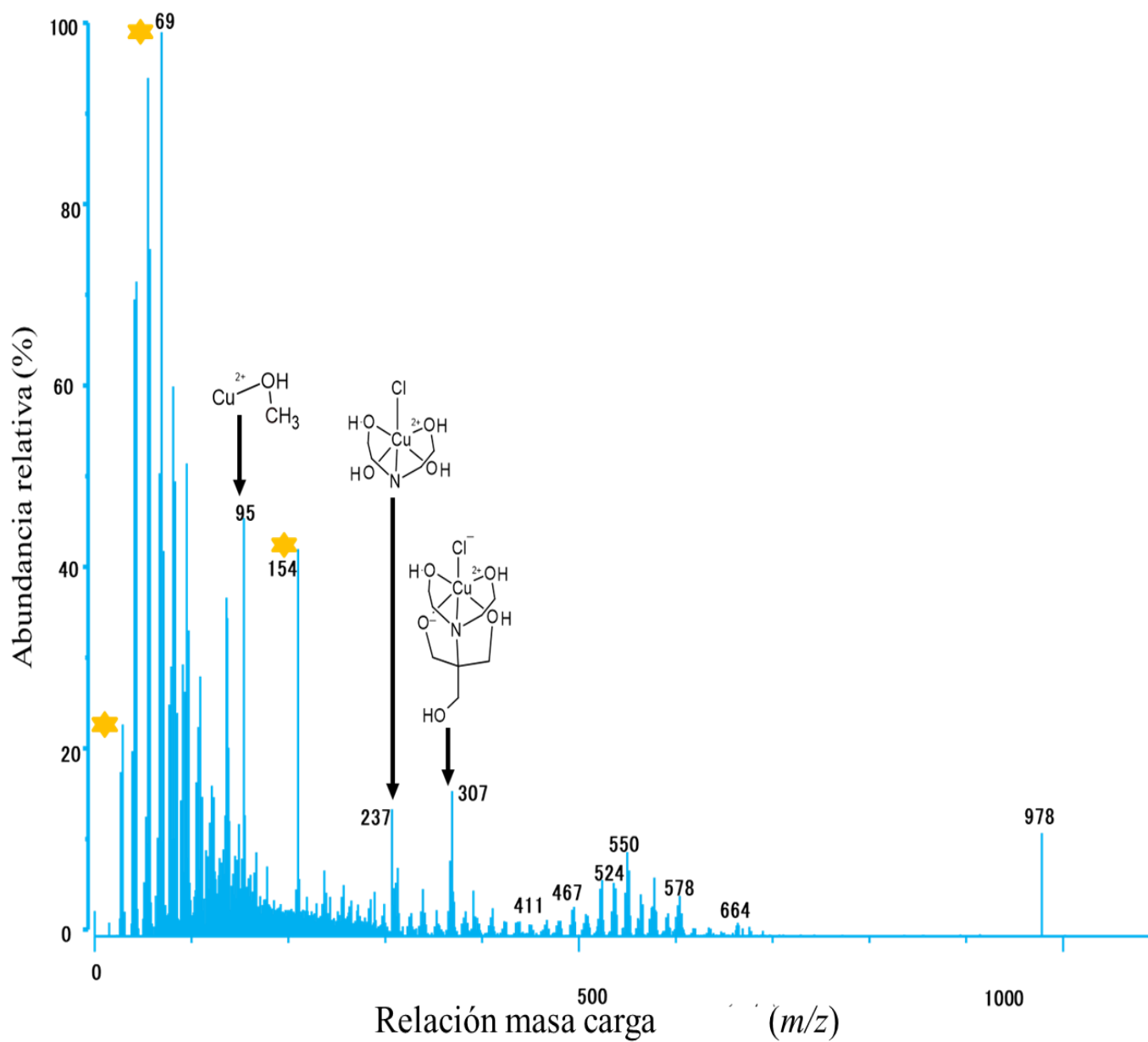
Anexo 3. Espectros de masas de FIPRAY, FIPBROMO, FIPRAY-H, XUBNIR, FIPAMINO y FIPIMIDA.



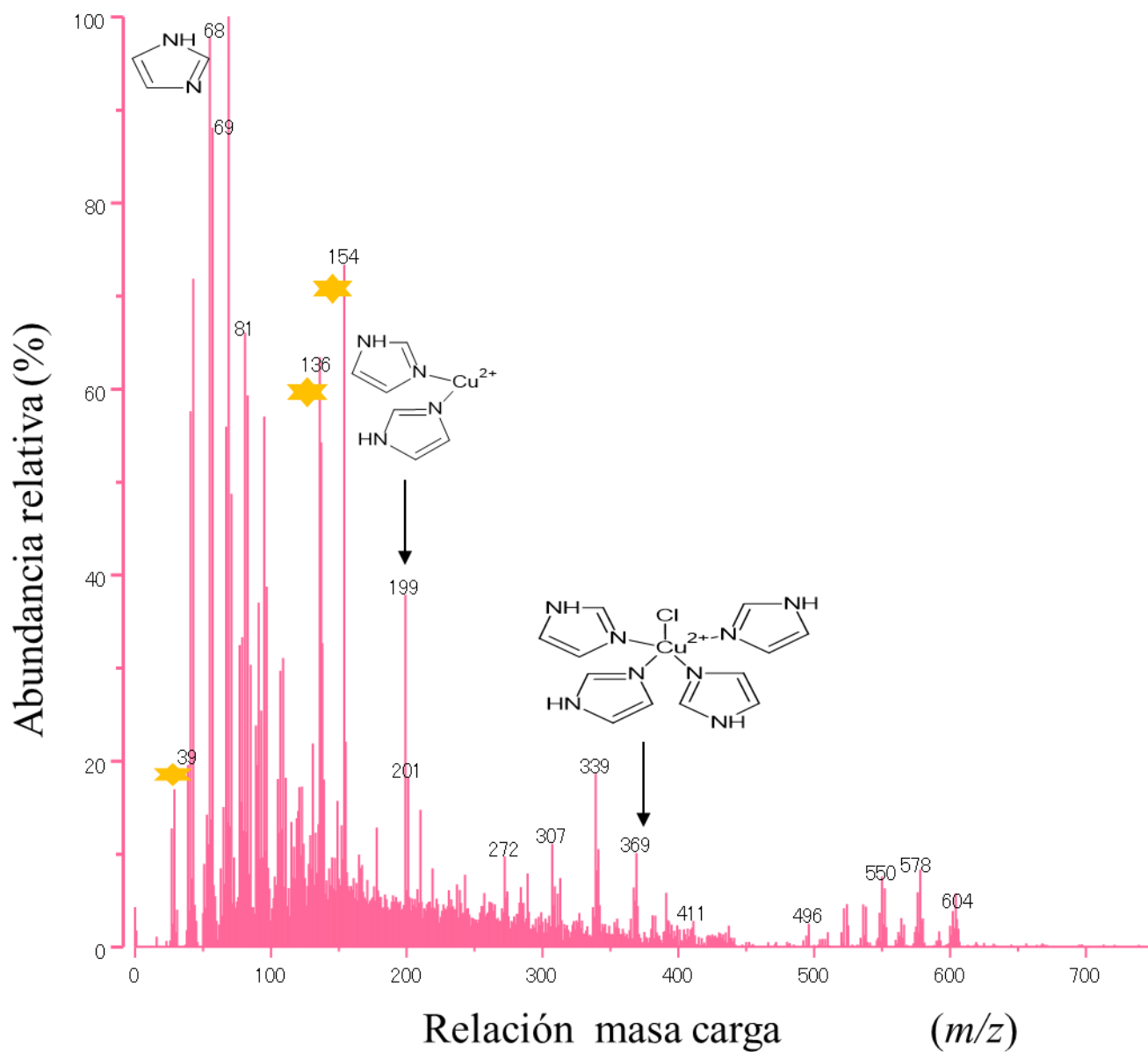
Espectro de masas de FIPRAY, método FAB, las señales marcadas con estrellas corresponden a la matriz de NBA.



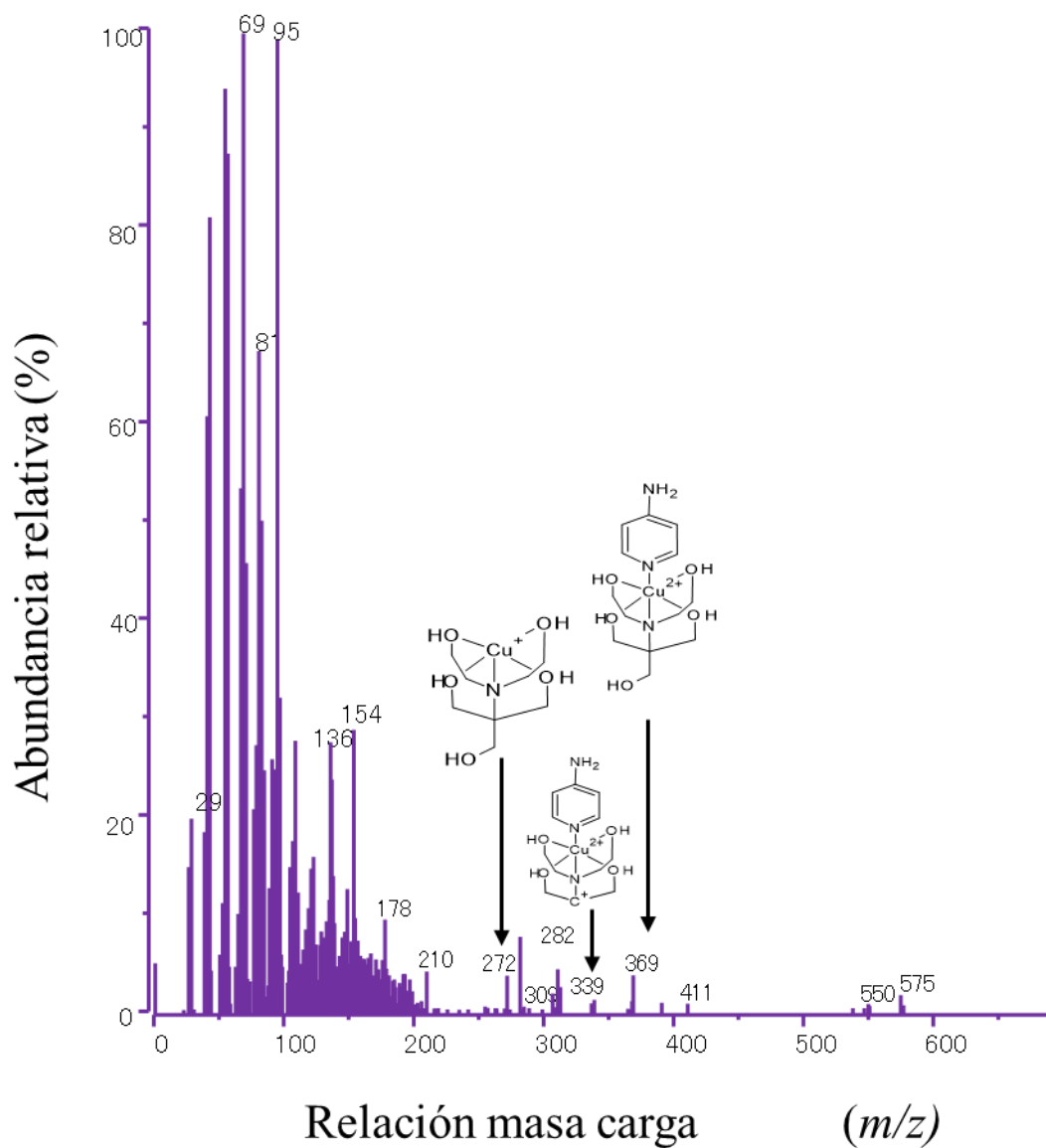
Espectro de masas de FIPBROMO, método FAB. Las señales marcadas con estrellas corresponden a la matriz de NBA



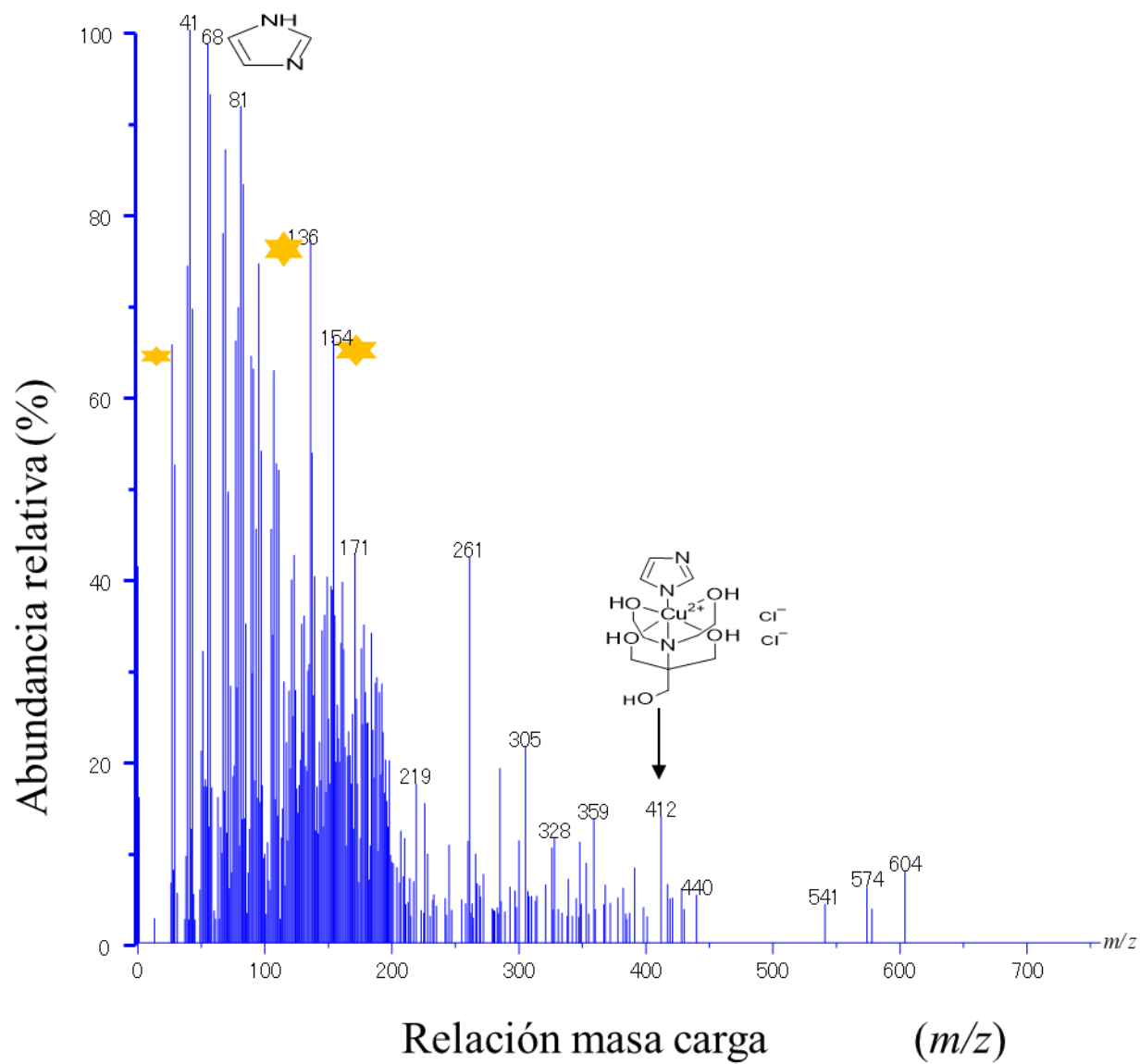
Espectro de masas de FIPRAY-H, método FAB. Las señales marcadas con estrellas corresponden a la matriz de NBA



Espectro de masas de XUBNIR, método FAB. Las señales marcadas con estrellas corresponden a la matriz de NBA

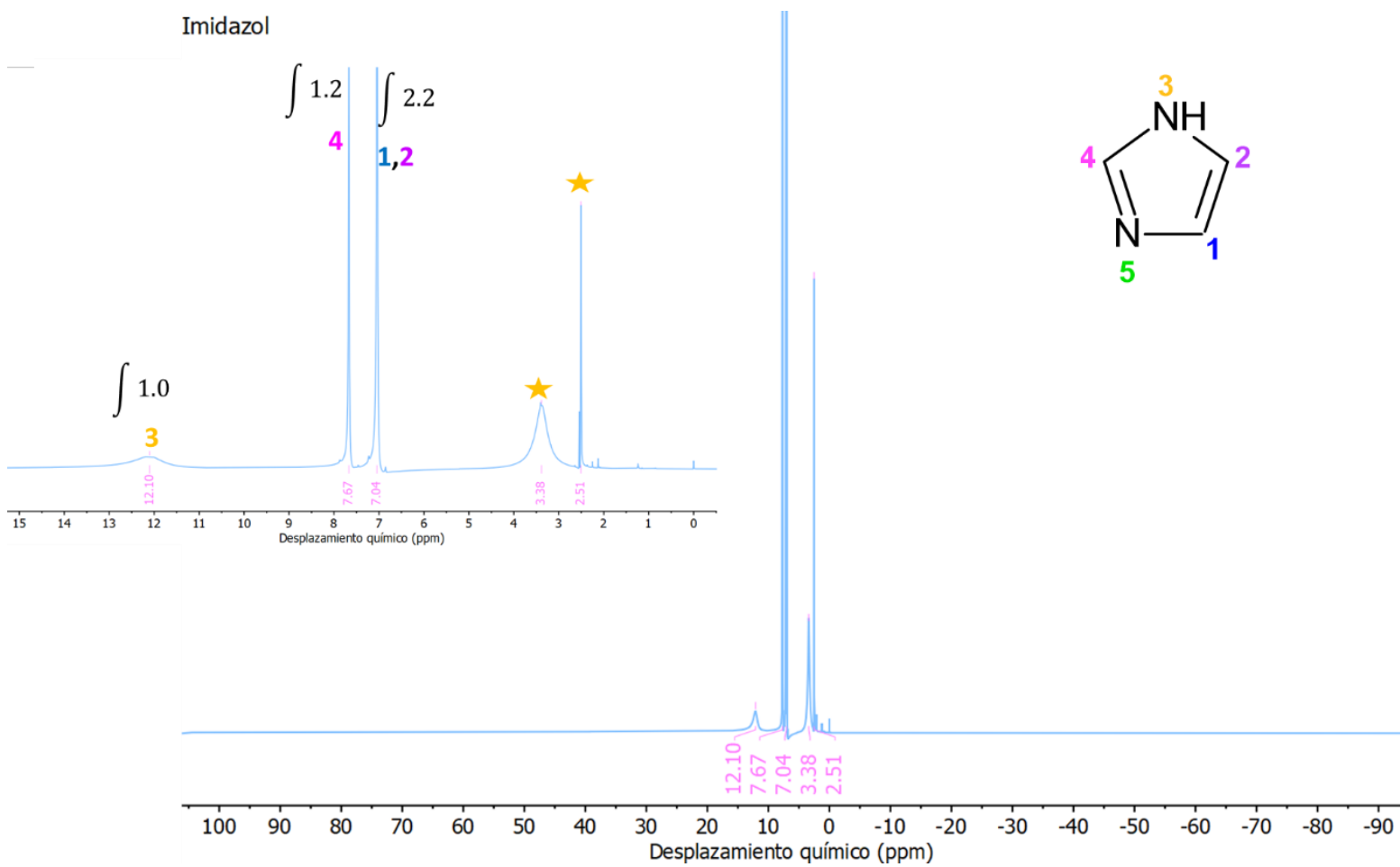


Espectro de masas de FIPAMINO, método FAB. Las señales marcadas con estrellas corresponden a la matriz de NBA

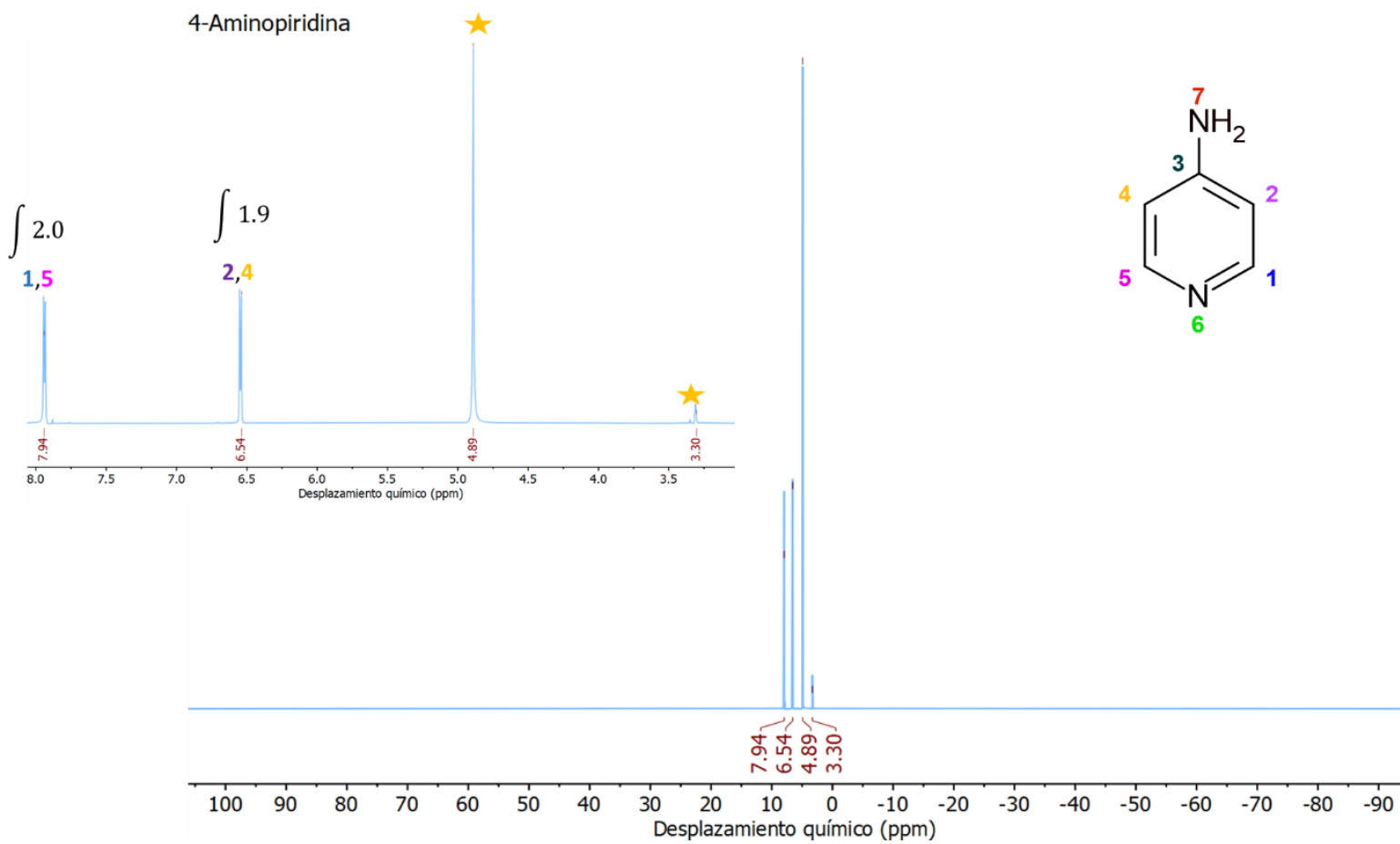


Espectro de masas de FIPIMIDA, método FAB. Las señales marcadas con estrellas corresponden a la matriz de NBA

Imidazol

*Espectro de RMN- ^1H de imidazol en DMSO-d_6*

4-Aminopiridina



Espectro de RMN- ^1H de 4-aminopiridina en CD_3OD

Anexo 5. Datos cristalográficos de FIPRAY, XUBNIR, FIPAMINO y FIPIMIDA.

Tabla. 11. Datos cristalográficos de FIPRAY. (Inomata, et al., 2004; Fortis, et al., 2019)

	FIPRAY (2004)	FIPRAY 01 (2019)
<i>Fórmula</i>	$\text{CuCl}_2\text{C}_8\text{H}_{19}\text{NO}_5$	$\text{CuCl}_2\text{C}_8\text{H}_{19}\text{NO}_5$
<i>Masa (g/mol)</i>	343.692	343.692
<i>Sistema y grupo espacial</i>	Ortorrómbico $P 2_1 2_1 2_1$	Ortorrómbico $P 2_1 2_1 2_1$
<i>Parámetros de celda</i>		
<i>a</i>	11.978 (4) Å	8.5230 (2) Å
<i>b</i>	12.748 (2) Å	11.9789 (3) Å
<i>c</i>	8.533 (1) Å	12.7403 (5) Å
α	90°	90°
β	90°	90°
γ	90°	90°
<i>Factor R (%)</i>	0.051	0.024

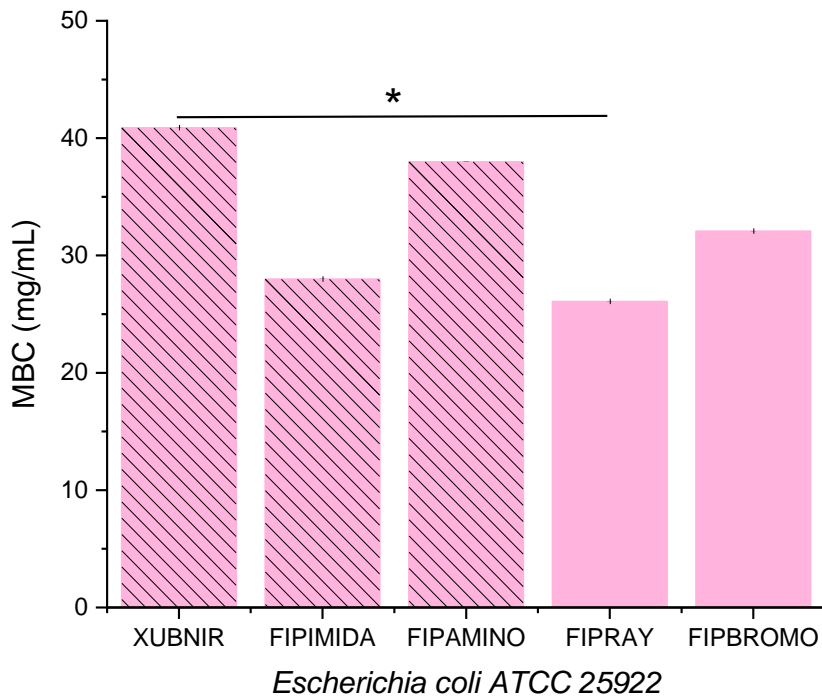
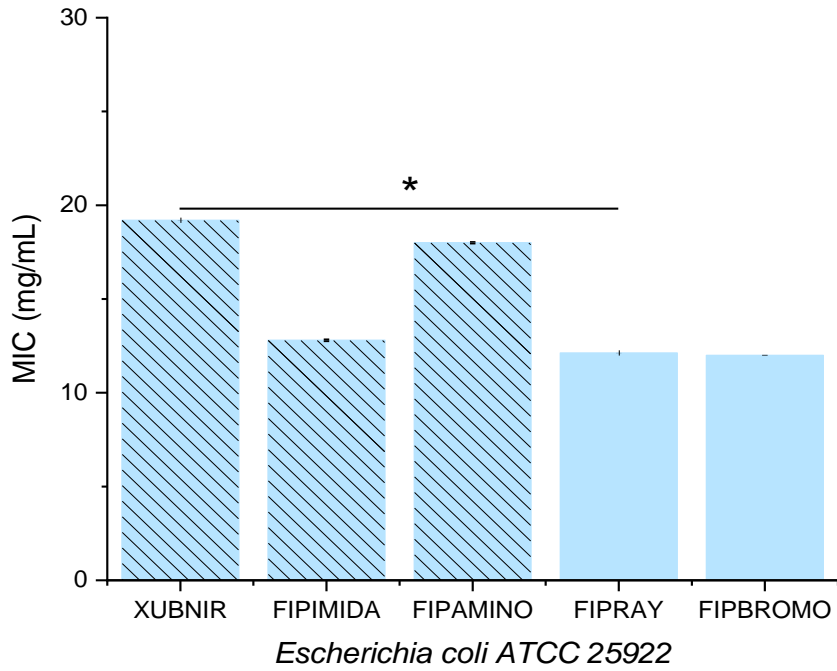
Tabla. 12. Datos cristalográficos de XUBNIR (Otieno, et al., 2001)

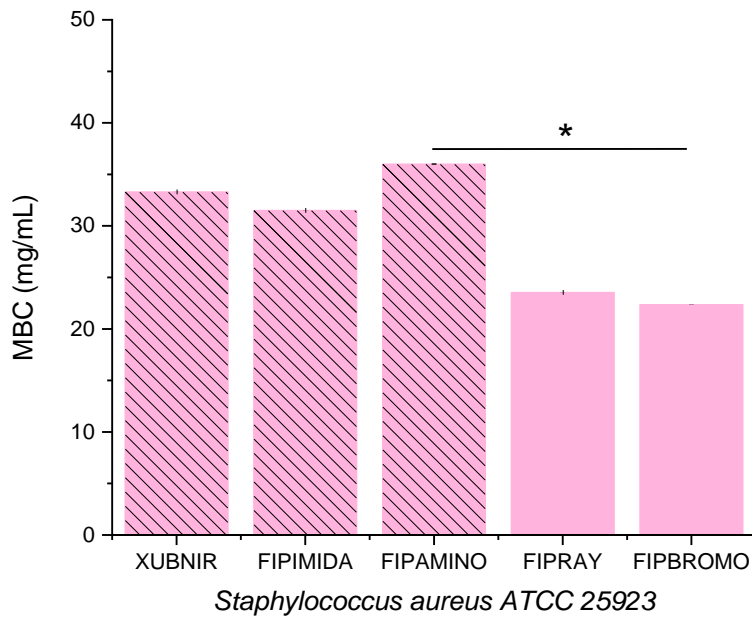
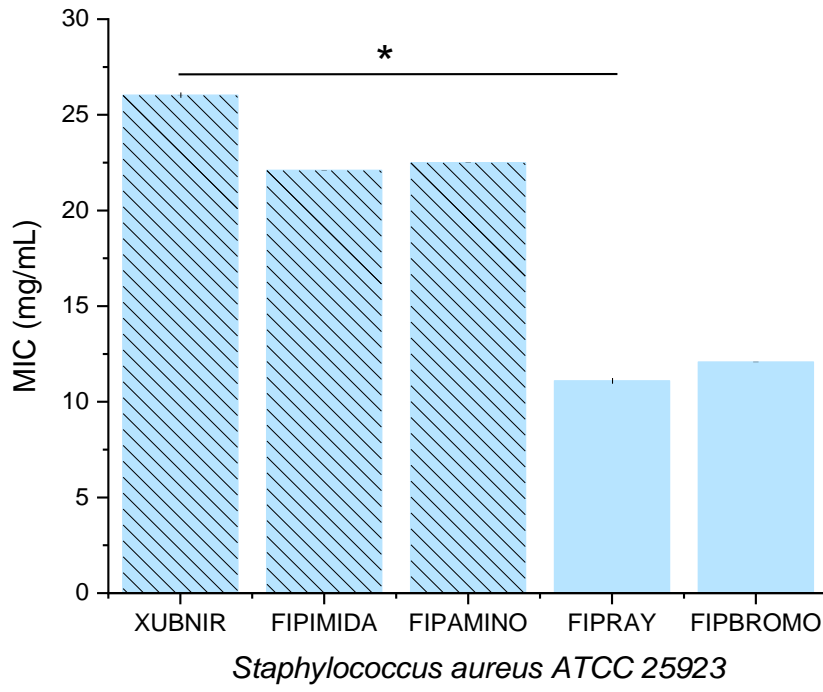
	XUBNIR (2001)	XUBNIR (2023)
<i>Fórmula</i>	$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{CuN}_8$	$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{CuN}_8$
<i>Masa (g/mol)</i>	406.77	406.77
<i>Sistema y grupo espacial</i>	Monoclínico $P2_1/n$	Monoclínico $P2_1/n$
<i>Parámetros de celda</i>		
<i>a</i>	8.8430 (18) Å	13.8195 (11) Å
<i>b</i>	13.209 (3) Å	13.1404 (8) Å
<i>c</i>	13.866 (3) Å	8.8119 (6) Å
α	90°	90°
β	90°(10)	90°
γ	90°	90°
<i>Factor R (%)</i>	0.066	0.028

Tabla. 13. Datos cristalográficos de FIPAMINO y FIPIMIDA (Fortis, M., 2020)

	FIPAMINO	FIPIMIDA
<i>Fórmula</i>	C ₁₃ H ₂₅ CuN ₃ O ₅ ·2Cl	C ₁₁ H ₂₃ CuN ₃ O ₅ ·2Cl
<i>Masa (g/mol)</i>	437.81	411.76
<i>Sistema y grupo espacial</i>	Monoclínico <i>P</i> 2 ₁ / <i>n</i>	Ortorrómbico <i>Pca</i> 2 ₁
<i>Parámetros de celda</i>		
<i>a</i>	8.9338 (3) Å	13.3923 (4) Å
<i>b</i>	16.6584 (6) Å	11.3196 (3) Å
<i>c</i>	12.0611 (3) Å	11.0379 (3) Å
<i>α</i>	90°	90°
<i>β</i>	92.708 (2)°	90°
<i>γ</i>	90°	90°
<i>Factor R (%)</i>	0.03	0.03

Anexo 6. Gráficas de actividad antimicrobiana MIC/MBC de los compuestos FIPRAY, FIPBROMO, FIPAMINO, FIPIMIDA y XUBNIR frente a cepas *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* 25923.





Anexo 7. Parámetros fisicoquímicos: Constante de distribución (K_d) y cálculo de calorimetría de combustión.

Tabla 1. Valores de K_d para los compuestos FIPRAY, FIPBROMO, XUBNIR, FIPAMINO Y FIPIMIDA.

Compuesto	K_{d_1}	K_{d_2}	K_d promedio
FIPRAY	0.046	0.050	0.046
FIPBROMO	0.023	0.020	0.0215
XUBNIR	0.050	0.031	0.040
FIPAMINO	0.080	0.080	0.080
FIPIMIDA	0.080	0.080	0.080

* K_d a temperatura ambiente en un sistema tolueno/agua

Tabla 2. Resultados de calorimetría de combustión para los compuestos bis-tris, FIPRAY y FIPBROMO.

Parámetro	bis-tris	FIPRAY	FIPBROMO
masa (g)	1.009	0.956	0.482
T_i (K)	297.21	293.51	294.09
T_f (K)	299.45	295.93	295.21
ΔT	2.073	2.397	0.811
$\Delta_c U$ (kcal/mol)	-3829.2818	-4666.276	-3936.267
$\Delta_c H$ (kcal/mol)	3831.3484	-4668.317	-3938.312
Δn (mol)	-3.5	-3.5	-3.5

*La calorimetría de combustión se hizo usando una bomba calorimétrica modelo 1341 de Parr Instrument Company.