



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
PUEBLA**

POSGRADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

CENTRO DE QUÍMICA-INSTITUTO DE CIENCIAS

LABORATORIO DE BIOINORGANICA APLICADA

**SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA
ACTIVIDAD ANTIDIABETICA DE NUEVOS COMPUESTOS DE
VANADIO (V)**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

P R E S E N T A

Q. EDUARDO SÁNCHEZ-LARA

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Enrique González-Vergara

Octubre 2015

CONTENIDO

		Índice de figuras	<i>i</i>
		Índice de tablas	<i>iv</i>
		Abreviaturas	<i>v</i>
		Resumen	<i>vi</i>
1		INTRODUCCIÓN	1
	1.1	Planteamiento del problema	1
	1.2	Objetivos	5
	1.2.1	Objetivo general	5
	1.2.2	Objetivos particulares	5
2		ANTECEDENTES	6
	2.1	Historia: descubrimiento del vanadio	6
	2.2	Generalidades del vanadio	11
	2.3	Vanadio en sistemas biológicos	13
	2.3.1	Tunicatos y amavadinina: dos secuestradores de vanadio	13
	2.3.2	Enzimas dependientes de vanadio: Haloperoxidasas	15
	2.3.3	Esencialidad del vanadio	18
	2.3.4	Metabolismo del vanadio	19
	2.3.5	Exposición y toxicidad	20
	2.4	Diabetes mellitus	21
	2.5	La insulina y su cascada metabólica	23
	2.6	Obesidad y síndrome metabólico	24
	2.7	Vanadio y diabetes	26
	2.7.1	Mecanismo de acción	30
	2.8	Ion decavanadato	30
	2.9	Aplicaciones del $[V_{10}O_{28}]^{6-}$ en el tratamiento de la diabetes	33
		Metformina	38
3		METODOLOGÍA	40
	3.1	Materiales y métodos	40
	3.2	Sección experimental	41
	3.3	Pruebas de actividad biológica	43
	3.3.1	Animales y caracterización morfométrica	43
	3.3.2	Formación de grupos y tratamientos	44
	3.3.3	Obtención de la muestra sanguínea.	44
	3.3.4	Composición de las dietas empleadas para cada grupo utilizado en el proyecto.	45
	3.3.5	Determinaciones tisulares	46
	3.3.6	Análisis estadístico	47
4		RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
	4.1	Síntesis y caracterización de 1, 2 y 3	48
	4.2	Descripción de las estructuras 1, 2 y 3	55
	4.3	Síntesis y caracterización de 4, 5 y 6	61
	4.4	Descripción estructural de 4, 5 y 6	67
	4.5	Pruebas de actividad biológica	78
	4.5.1	Modelo metabólicamente alterado	78

		4.5.2	Evaluación después de un mes de tratamiento	81
		4.5.3	Evaluación después de dos meses de tratamiento	85
5			CONCLUSIONES	93
6			BIBLIOGRAFÍA	95
7			APENDICES	
			1 Espectros de infrarrojo de 4-5 a diferentes temperaturas	102
			2 Datos cristalográficos de 1-3	103
			3 Publicaciones generadas durante el trabajo de maestría	104

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Diosa Nórdica Vanadis	8
Cristales del mineral vanadinita $Pb_5[VO_4]_3Cl$	9
Geometría de algunos compuestos de vanadio: 1) tetraedro, 2) pirámide de base cuadrada, 3) bipirámide trigonal, 4) octaedro, 5) bipirámide pentagonal	12
(a) Tunicato y (b) representación esquemática de la acumulación y reducción del vanadio por los vanadocitos	13
(a) <i>Amanita Muscaria</i> y (b) estructura molecular del complejo amavadina $[\Delta-V(S,S-HIDPA)_2]^{2-}$	14
Sitios activos de la cloroperoxidasa (gris) y bromoperoxidasa (rosa). En la primera se encuentra una fenilalanina en lugar de una histidina.	17
Efecto de la insulina sobre el consumo de glucosa y su metabolismo. La insulina se enlaza a su receptor (1), lo que, a su vez, comienza con varias cascadas de activación de proteínas (3), síntesis de glicógeno (4), glicolisis (5), y síntesis de ácidos grasos libres (6).	24
Cambios en el tejido adiposo en la obesidad	26
Representación estructural de los compuestos de ambos isómeros del BMOV en solución: (izquierda) trans-BMOV, (derecha) cis-aquo-BMOV.	28
Especies de monoméricas, diméricas, tetraméricas y pentaméricas de vanadio (V) (izquierda) y el anión decavanadato $[V_{10}O_{28}]^{6-}$, Va, Vb y Vc representan los tres tipos de átomos de vanadio (derecha).	32
(A1) espectro de NMR de ^{51}V del compuesto $(C_7NH_{10})_6(V_{10}O_{28}) \cdot 2H_2O$ a un pH = 7.4 y a 37 °C, (B1) espectro NMR de ^{51}V del compuesto $(C_7NH_{10})_6(V_{10}O_{28})$ con 2.5 nM de H_2O_2 a un pH= 4.0 y 37 °C, (B2) espectro	35
Mecanismo hipotético de la prodroga: $(C_7H_{10}N)_6(V_{10}O_{28}) \cdot 2H_2O$	36
Esquema propuesto de los objetivos celulares del decavanadato	37
(a) Metformina genérica en comprimidos de 850 mg, (b) Estructura química del hidrocloreuro de metformina.	39
Estructuras de (a) metformina neutra, (b) Metformina protonada (HMetf ⁺), y (c) Metformina diprotonada (H ₂ Metf ²⁺)	39
Espectros FT-IR de los compuestos 1, 2 y 3 en la zona de 3700-500 cm ⁻¹	51
Espectros FT-IR de los compuestos 1, 2 y 3 en la zona de 1700-600 cm ⁻¹	52

Análisis termogravimétrico para los compuestos 1, 2 y 3 a una velocidad de calentamiento a 25/10 °C/min	53
Análisis térmico diferencial (DSC) de los compuestos 1, 2 y 3 a una velocidad de calentamiento de 25/10 °C/min	54
Unidad asimétrica de 1. El anión $[V_{10}O_{28}]^{6-}$ es representado en estilo wireframe, los cationes y las moléculas de agua están dibujadas a un 50% de probabilidad de desplazamiento elipsoidal. Los principales enlaces de hidrógeno entre los cationes y el anión forman anillos $R_2^2(8)$ que son mostrados con líneas punteadas.	55
Parte de la estructura cristalina de 2 mostrando el anillo $R_8^8(28)$ formado a través de enlaces de hidrógeno (líneas punteadas) entre los cationes amonio y cuatro aniones $[V_{10}O_{28}]^{6-}$. Cada molécula de agua incluida dentro del anillo tiene un factor de ocupación de $\frac{1}{2}$. Un centro de inversión cristalográfico se encuentra en el centro de la figura.	58
Una parte de la estructura cristalina de 3 mostrando el anillo $R_8^8(32)$ formado a través de enlaces de hidrogeno entre cuatro cationes NH_4^+ y cuatro $[V_{10}O_{28}]^{6-}$. Un centro de inversión cristalográfico se encuentra en el centro de la imagen.	60
Espectros FT-IR de los compuestos $[HDMAP]_6[V_{10}O_{28}] \cdot 16H_2O$ (4), $[HDMAP]_6[V_{10}O_{28}] \cdot H_2O$ (5), $[HDMAP]_4[H_2V_{10}O_{28}] \cdot 5H_2O$ (6) en la zona de 3500-450 cm^{-1}	64
Espectros FT-IR de los compuestos $[HDMAP]_6[V_{10}O_{28}] \cdot 16H_2O$ (4), $[HDMAP]_6[V_{10}O_{28}] \cdot H_2O$ (5), $[HDMAP]_4[H_2V_{10}O_{28}] \cdot 5H_2O$ (6) en la zona de 1700-450 cm^{-1}	65
TGA/DSC para el compuesto $[HDMAP]_6[V_{10}O_{28}] \cdot 16H_2O$ (4)	66
TGA/DSC para el compuesto $[HDMAP]_6[V_{10}O_{28}] \cdot H_2O$ (5)	67
Celda unitaria del compuesto 1 , $(HDMAP)_6[V_{10}O_{28}] \cdot 16H_2O$, con elipsoides vibracionales al 50% de probabilidad	69
Parte de la estructura cristalina de 4, omitiendo los cations $[HDMAP]^+$. La red supramolecular formada por moléculas de agua está basada en enlaces de hidrogeno (líneas punteadas).	73
Celda unitaria contenida en el compuesto 5 , $(HDMAP)_6[V_{10}O_{28}] \cdot 16H_2O$, con elipsoides vibracionales al 50% de probabilidad. Los enlaces de H que enlazan a los cationes y aniones están representados como líneas punteadas	75
Estructura del compuesto 6, $(HDMAP)_4[H_2V_{10}O_{28}] \cdot 5H_2O$, con desplazamiento elipsoidal mostrado al 50% de probabilidad	77
Curvas de tolerancia oral a la glucosa a un mes de tratamiento	82
Concentración de glucógeno y triglicéridos en los diferentes tejidos de la cepa Wistar a 1	84

mes con los diferentes tratamientos.

Curvas de tolerancia oral a la glucosa a dos meses de tratamiento 86

Concentración de glucógeno y triglicéridos en los diferentes tejidos de la cepa Wistar a 2 meses con los diferentes tratamientos. A) Glicógeno, B) Triglicéridos. 88

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Resumen de los datos cristalográficos y parámetros del refinamiento estructural de 1, 2 y 3.	49
Resumen de los datos cristalográficos y parámetros del refinamiento estructural de 4, 5 y 6.	62
Enlaces de hidrogeno en la estructura cristalina de 1, $(\text{HDMAP})_6[\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 16\text{H}_2\text{O}$	70
Enlaces de hidrogeno en la estructura de 5, $(\text{HDMAP})_6[\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot \text{H}_2\text{O}$	75
Enlaces de hidrogeno en la estructura cristalina de 6, $(\text{HDMAP})_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	78
Modelo metabólicamente alterado	80
Determinaciones séricas después de un mes de tratamiento	82
Determinaciones séricas después de dos meses de tratamiento	86

ABREVIATURAS

AC	Canales Aniónicos
AGL	Ácidos Grasos Libres
Arg	Arginina
BEOV	Bis(etilmaltolato)oxovanadio
BMOV	Bis(maltolato)oxovanadio
BVS	Suma de enlace valencia
CT	Carbohidratos Totales
DM	Diabetes Mellitus
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DPOV	Dipicolinato oxovanadio
DSC	Calorimetría Diferencial de Barrido
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
GLUT-4	Transportador de glucosa-4
HC	Dieta hipercalórica
NC	Dieta normocalórica
HDL-col	Lipoproteínas de alta densidad
HDMAP	4-Dimetilaminopiridinium
IL-6	Interleucina-6
IMC	Índice de masa corporal
IRS-1	Sustrato del receptor de insulina-1
KVO ₃	Vanadato de potasio
LSH	Lipasa sensible a hormonas
LT	Lípidos Totales
Lys	Lisina
NAVO ₃	Vanadato de sodio
NH ₄ Vo ₃	Metavanadato de amonio

PAI-1	Inhibidor del Activador del plasminógeno-1
PKB	Proteína cinasa B
PTP-1B	Proteína Tirosina Fosfatasa
POV	Polioxovanadato
RI	Receptor de insulina
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SM	Síndrome Metabólico
SSAO	Amino Oxidasa Sensible a Semicarbazida
STZ	Streptozotocina
TGA	Análisis Termogravimétrico
TNF- α	Factor de necrosis tumoral
TOG	Tolerancia Oral a la Glucosa
Tyr	Tirosina
V ₂ O ₅	Pentóxido de Vanadio
V-BrPO	Vanadio Bromoperoxidasa
V-CIPO	Vanadio Cloroperoxidasa
V-HPO	Vanadio Haloperoxidasa
VLDL-col	Lipoproteínas de muy baja densidad

RESUMEN

La diabetes es uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial. Durante las últimas décadas, el número de personas que padecen diabetes en México se ha incrementado y actualmente figura entre las primeras causas de muerte en el país, dando como resultado la necesidad de diseñar nuevos y potentes fármacos que la controlen y prevengan, con la menor cantidad de efectos secundarios.

Desde finales del siglo XX se conoce la actividad antidiabética de los compuestos de vanadio, y desde entonces se han diseñado una gran variedad de moléculas conteniendo este metal. Algunos de estos compuestos se han perfilado como fármacos antidiabéticos potenciales.

En el presente trabajo se sintetizaron seis compuestos de vanadio basados en el ión decavanadato ($V_{10}O_{28}$)⁶⁻ y utilizando como grupos catiónicos al fármaco antidiabético Metformina y al grupo 4-Dimetilaminopiridina, los compuestos son formulados como sigue: $[H_2Metf]_3[V_{10}O_{28}] \cdot H_2O$ (**1**), $[H_2Metf]_2[NH_4]_2[V_{10}O_{28}] \cdot 10H_2O$ (**2**), $[H_2Metf]_2[NH_4]_2[V_{10}O_{28}] \cdot 4H_2O$ (**3**), $[HDMAP]_6[V_{10}O_{28}] \cdot 16H_2O$ (**4**), $[HDMAP]_6[V_{10}O_{28}] \cdot H_2O$ (**5**) y $[HDMAP]_4[H_2V_{10}O_{28}] \cdot 5H_2O$ (**6**). Los compuestos fueron sintetizados y caracterizados espectroscópicamente. Las estructuras de los seis compuestos fueron obtenidas a partir de cristalografía de rayos-X de monocristal. El compuesto $[H_2Metf]_3[V_{10}O_{28}] \cdot H_2O$ (**1**) fue probado en relación a su posible actividad hipoglucémica en ratas Wistar alimentadas con dieta hipercalórica. Los resultados biológicos sugieren que el compuesto cabeza de serie actúa como regulador metabólico, normalizando la concentración de metabolitos tales como lípidos, colesterol y carbohidratos y reduciendo los niveles de glucosa sérica a valores cercanos a los encontrados para el grupo control sano.

CAPITULO 1

INTRODUCCIÓN

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México, la diabetes es uno de los problemas más graves de salud pública. Se estima que el número de personas que la padecen se ha incrementado en los últimos años y según datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT 2012)¹ la diabetes figura entre las primeras causas de muerte en el país, identificándose a 6.4 millones de adultos mexicanos con diabetes, es decir, aproximadamente el 9.2% de los adultos en México han recibido ya un diagnóstico de diabetes. Sin embargo, el número total de personas con este trastorno podría ser el doble, de acuerdo a la evidencia previa sobre el porcentaje de diabéticos que no conocen su condición.²⁻³ En la misma encuesta, del total de sujetos con diagnóstico de diabetes, 47.6% (tres millones) refirió visión borrosa, 38% (889000) daños en la retina, 2% (128000) amputaciones, 1.4% (89000) diálisis y 2.8% (182000) infartos del miocardio.

Por otro lado, la diabetes mellitus en México se ha asociado fuertemente con la carga genética, así como la hipertensión arterial, la obesidad, la dieta rica en carbohidratos y azúcares y la falta de actividad física. Debido a esto la prevalencia de la diabetes en nuestro país se ha incrementado sustancialmente en las últimas décadas.⁴

Actualmente las recomendaciones y acciones a nivel nacional no han logrado reducir el impacto de la diabetes y se espera que para el año 2030 México ocupe el séptimo lugar a nivel mundial con 12 millones de diabéticos.⁵

El tratamiento convencional de la diabetes comprende estrategias nutricionales como pérdida de peso, adecuación de fármacos a los hábitos dietéticos y ejercicio físico;

agentes orales como sulfonilureas que controlan la hiperglucemia, biguanidas que incrementan la sensibilidad a la insulina, inhibidores de la α -glucosidasa que reduce la hiperglucemia postprandial, las tiazolidinedionas cuyo mecanismo de acción principal es el aumento de la sensibilidad a la insulina y diferentes preparados de insulina humana.⁶ Sin embargo, los tratamientos medicamentosos actuales presentan obvias fallas, debido a su incapacidad de simular la secreción basal de insulina, y la de no restablecer el equilibrio entre la producción y el consumo de glucosa por parte de las células corporales, ya que solo corrigen parcialmente las alteraciones celulares que caracterizan a la diabetes. A nivel molecular se desconoce exactamente el mecanismo de acción de los fármacos antidiabéticos orales, por lo que no se ha logrado un mejor control de la enfermedad. Esto conlleva a que los pacientes diabéticos permanezcan en riesgo de morbilidad crónica y mortalidad prematura, a pesar del consumo asiduo de los fármacos disponibles.⁷

Actualmente, a nivel molecular se han identificado blancos o dianas moleculares con un potencial para el diseño de nuevos fármacos antidiabéticos. Dichas dianas se han identificado sobre la base de la predicción de la función de las enzimas clave, para modular uno o más aspectos de la patogénesis de la diabetes y del síndrome metabólico.⁸ Uno de los blancos moleculares que se han logrado identificar es la proteína tirosina fosfatasa (PTP-1B).⁹ Esta enzima tiene un papel protagónico como regulador negativo de la cascada de la insulina. La PTP-1B se ha detectado en cantidades muy por arriba de las normales en personas con resistencia a la insulina. Mientras que la ausencia de esta enzima en ratones de laboratorio modificados genéticamente los hace inmunes a la obesidad y a la diabetes, aun con dietas hipercalóricas.¹⁰ Gracias al conocimiento estructural y biológico de esta enzima, es que se han podido diseñar nuevas moléculas con capacidad de inhibirla.

Entre las especies que se han perfilado como potentes inhibidores de la PTP-1B se encuentran los compuestos de vanadio.¹¹⁻¹² Esta capacidad se debe a que el ión vanadato es un análogo tanto estructural como isoelectrónico del fosfato. La inhibición de la PTP-1B por el ion vanadato permite, en su sentido más amplio, que se lleve a cabo el proceso de señalización de la insulina y con ello el consumo de glucosa por parte de las células.¹³⁻¹⁴ Sobre esta base, se han sintetizado una gran cantidad de compuestos conteniendo vanadio y se han realizado estudios tanto *in vivo* como *in vitro*; generando un amplio campo de investigación sobre este metal de transición.¹⁵⁻¹⁶ Sin embargo, el mecanismo exacto por el cual actúan los diferentes compuestos de vanadio y su efecto en diferentes sistemas celulares parece ser más complicado, y actualmente el estudio sobre las bases moleculares de acción de estos compuestos sigue vigente.

Dentro de la amplia familia de compuestos de vanadio que se han perfilado como agentes antidiabéticos, los que contienen al anión decavanadato ($V_{10}O_{28}$)⁶⁻ han mostrado resultados notables. El estudio de la actividad biológica de estas especies ha resultado en un mecanismo de acción que se explica a través de la generación de especies reactivas de oxígeno. Este mecanismo de acción puede explicar la actividad anticancerígena y antidiabética del decavanadato.¹⁷ Además, una de las ventajas de estos materiales es que sus sales pueden contener moléculas activas biológicamente y pueden dar paso a una sinergia, aumentando la actividad biológica y evitando eventos antagónicos como toxicidad. En los últimos años gran parte de la investigación realizada sobre vanadio, ha sido enfocada a esta clase de compuestos.

Desde hace más de una década la Universidad Autónoma de Puebla ha sido pionera en la investigación del vanadio. Gran parte de las investigaciones realizadas se han enfocado al modelamiento molecular (docking) sobre compuestos orgánicos de vanadio, reportados por diferentes grupos de investigación y que se han perfilado como candidatos a posibles fármacos antidiabéticos; estos estudios se han realizado con el objetivo de demostrar que

uno de los posibles mecanismos de acción es la inhibición de la enzima PTP-1B. Parte de las investigaciones realizadas en la universidad han sido plasmadas en el primer libro de vanadio escrito en México y editado por la Universidad Autónoma de Puebla y que se titula: La investigación del vanadio en la BUAP.¹⁸

En nuestro grupo de trabajo se han diseñado nuevos complejos de vanadio basado en el anión decavanadato¹⁹⁻²⁰, y se han llevado a cabo estudios biológicos en modelos animales de diabetes para examinar su posible actividad antidiabética.²¹ Los resultados hasta ahora han permitido conocer más de cerca el rol de estos compuestos a nivel biológico y han abierto un extenso campo de investigación que actualmente se está enfocando a la actividad, estabilidad y toxicidad de estos materiales.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo general

Sintetizar, caracterizar y determinar la actividad biológica de nuevos compuestos de vanadio (V) en relación a su posible actividad antidiabética.

1.2.2 Objetivos particulares

Sintetizar compuestos de vanadio empleando aminas biológicas y/o aminas empleadas en la terapia de la Diabetes Mellitus.

Caracterizar los compuestos obtenidos según objetivo 1 mediante espectroscopia infrarroja (IR), Resonancia Magnética Nuclear de ^{51}V , análisis elemental, análisis termogravimétrico, Espectroscopia Raman y difracción de rayos-X de monocristal.

Estudiar el efecto de la administración de al menos uno de los compuestos sintetizados en ratas Wistar con desorden metabólico inducido por dieta hipercalórica.

Realizar estudios biológicos del compuesto seleccionado en ratas Wistar, centrándose en el manejo de lípidos y carbohidratos mediante pruebas de triglicéridos, colesterol total, Col-HDL, Col-LDL, ácidos grasos libres, leptina, insulina, albúmina, Hemoglobina glucosilada, HbA1c y en pruebas de tolerancia a la glucosa.

CAPITULO II

ANTECEDENTES

2.1 HISTORIA: DESCUBRIMIENTO DEL VANADIO

El descubrimiento del vanadio es conocido internacionalmente en su forma latina y es tan colorido como su química.²² El 22 de Enero de 1831, el célebre químico J.J Berzelius escribió una carta para animar a F. Wöhler,²³ quien había perdido la batalla en el descubrimiento del nuevo elemento; en la cual contó la siguiente historia para describir la desdicha de Wöhler:

Referente a la muestra que me enviaste, quisiera contarte la siguiente anécdota: En tiempos remotos la bella diosa Vanadis vivía en el norte lejano. Un día, alguien tocó a la puerta de su casa. La diosa cómodamente sentada en su sillón, pensó: dejare que vuelva a llamar otra vez. Pero los golpes cesaron y el que llamaba se alejó de la puerta. La diosa sintió curiosidad. "¿Quién será este visitante tan tímido e indeciso?" Abrió la ventana y miró a la calle. Este era un tal Wöhler, que se marchaba apresuradamente del palacio. Poco tiempo después, alguien tocó a su puerta nuevamente y esta vez el llamado fue tan persistente y enérgico que la diosa finalmente abrió la puerta. El químico Sefström entró, y de este encuentro nació el elemento vanadio.

La muestra que se menciona al principio de este anécdota fue un espécimen (un polvo blanco) obtenido por tratamiento de un mineral conocido como plomo pardo proveniente de Zimapán, municipio del actual estado de Hidalgo, en México. El mineral había sido entregado al Barón von Humboldt por el mineralogista español Andrés Manuel del Río en ocasión de su visita en 1803-04 a México, y llevado por Humboldt al Museo Für Naturkunde en Berlín en 1805.²⁴ Una segunda muestra del mineral de plomo pardo del mineralogista español fue enviada al laboratorio de Collet-Descotil en París. Collet-Descotil, analizó la muestra en 1805 llegando a la conclusión que el mineral contenía

Cromo (descubierto en 1797). Wöhler comenzó a investigar el mineral de plomo pardo en 1828 y notó que, en contraste con los resultados de Collet-Descotil, sus propiedades no se parecían a las del Cromo. Sin embargo, Wöhler enfermó a causa de una intoxicación ocasionada al respirar vapores de ácido fluorhídrico y dejó de lado sus investigaciones. Más tarde, le comentó en una carta a Berzelius: *“He sido un verdadero asno al dejar pasar inadvertido el nuevo elemento en el mineral pardo de plomo. Berzelius tiene razón cuando, no sin ironía, se burla de cuán desventurada y débilmente, sin tesón, llamé a la puerta de la diosa Vanadis”*.²²

Mientras tanto, Niels Gabriel Sefström, un químico, que enseñaba en la escuela de minas en Falun, Suecia, comenzó en 1820, a investigar un polvo negro obtenido al tratar el hierro en barra proveniente del monte de Taberg, con ácido clorhídrico. Sefström continuó sus estudios con el polvo negro en abril de 1830, descubriendo una sustancia que tenía ciertas propiedades en común con el cromo y otras con el uranio²⁵, pero pronto encontró que esta sustancia no contenía ninguno de estos dos elementos, sino que era algo completamente nuevo. Los experimentos fueron continuados en el laboratorio de Berzelius, donde los colores en tono de azul de los estados de oxidación del nuevo elemento fueron establecidos como una de sus peculiaridades.

En el curso de este trabajo, Sefström originalmente había propuesto el nombre de *Odinium* para el nuevo metal. Odín es el dios de los vientos en la mitología nórdica. Pero después, Sefström le propuso a Berzelius que le ayudara a escoger un mejor nombre que el de *Odinium* porque este “se ajustaba muy mal en Francés e Inglés”. El nuevo metal fue entonces renombrado *Erian*, después *Erianae*, un epíteto de la diosa griega Atena. Wöhler, en su respuesta a Berzelius (4 de Enero de 1831), uso el nombre de *Sefströnium*. Sin embargo, Sefström finalmente eligió el nombre de vanadin (en latín *vanadium*) para el nuevo metal, en honor de Vanadis, un epíteto de la diosa nórdica Freya, esposa de Odín,²⁵ la más aristocrática de las deidades de la mitología gótica, que

simboliza belleza y fertilidad-características esenciales de la química del vanadio-. Vanadis (Figura 1) se ilustra usualmente, en una actitud un tanto marcial, con una lanza en la mano y de pie sobre un carruaje tirado por gatos, animales que eran sacrificados en las tribus germánicas del norte. Una motivación adicional de Sefström al escoger vanadin (o vanadium), surgió del hecho de que ninguno de los elementos descubiertos hasta entonces comenzaba con la letra V.^{25a}



Figura 1. La diosa Nórdica Vanadis

En una segunda carta escrita a Berzelius (9 de Enero de 1831), Wöhler escribió que el polvo blanco mencionado anteriormente, podría tratarse de Erianoxydo. Wohler fue eventualmente capaz de demostrar que su muestra (proveniente del mineral de Zimapán) era idéntica al nuevo metal vanadio de Sefström, lo que originó que se añadiera la leyenda *Vanadinbleierz* (mineral de plomo de vanadio; actualmente vanadinita, $\text{Pb}_5[\text{VO}_4]_3\text{Cl}$, Figura 2, la cual es isomorfa con la hidroxoapatita) a la etiqueta original de

Humboldt en la descripción del mineral de Zimapán, que todavía es exhibido en el museo de Berlín.²⁴



Figura 2. Cristales del mineral vanadinita $Pb_5[VO_4]_3Cl$

Poggendorf (Editor de *Annals of Physical Chemistry*) adicionó una nota al artículo de Sefström referente al descubrimiento del vanadio^{25b} en el cual se anticipa a las posibles denuncias en relación con la prioridad del descubrimiento de Sefström, en particular con respecto a la denuncia de Andrés Manuel Del Río (que más tarde retiró) por haber hecho el descubrimiento en 1801-1803 del vanadio en el mineral de plomo pardo de Zimapán.

Andrés Manuel del Río y Fernández descubrió el vanadio al experimentar con el mineral de plomo pardo obtenido de la mina El Cardonal en Zimapán, Hidalgo. Fascinado por los diferentes colores que presentaron las sales del nuevo elemento, se decidió a llamarlo *Pancromio*. Una nota corta respecto a este descubrimiento está contenida en Anales de Ciencias Naturales (Madrid) 1803, 6, 46: "*Pancromio: nueva materia metálica anunciada por el Sr. Manuel del Río en un reporte desde México dirigido a Don Antonio Cavanillas, fechado el 26 de Septiembre de 1802.*" Después renombró al nuevo elemento *Eritronio* (erythronium)²² haciendo referencia al color rojo obtenido cuando las sales alcalinas y alcalinoterreas del nuevo metal se calientan o se tratan con ácidos. Debido a que las

propiedades del eritronium en cierta medida se asemejaban a las del cromo, Del Río perdió la confianza en su descubrimiento, desalentado además, por el análisis descuidado realizado por Collet-Descotils. Posteriormente observó que el supuesto nuevo elemento no era diferente del cromo, y renunció completamente a su descubrimiento. Más adelante Del Río acusó a Humboldt de no haberle otorgado su descubrimiento y la debida atención y publicidad, un reporte esencialmente injustificado, debido a que los documentos de los experimentos del español se habían perdido en el océano cuando, sin saberlo Del Río, el barco que viajaba a Francia con los archivos naufragó.²⁴

Desde un punto de vista actual, parece extraño que las diferencias obvias entre el comportamiento químico del cromo y del eritronio hayan sido pasadas por alto en los experimentos realizados por Del Río y por Collet-Descotils, un renombrado químico de su época: cuando el amonio se adiciona a la vanadinita tratada, se obtiene vanadato de amonio que es de color blanco (el cromato de amonio es amarillo). Cuando se calienta, se forma un polvo rojo de pentóxido de vanadio V_2O_5 ; cuando se trata con ácidos, se forma una solución roja que indica la formación del ión decavanadato ($[H_2V_{10}O_{28}]^{4-}$). Las reacciones respectivas con cromato dan el verde Cr_2O_3 y el dicromato que es de color naranja.

Berzelius, Johnston y otros intentaron en vano aislar el metal. Las sustancias que ellos pensaron era vanadio metálico, obtenidas por reducción de óxido de vanadio con carbón o potasio, o a partir de cloruros de vanadio (VCl_3 , $VOCl_3$) con potasio o amonio, resultaron ser carburos, siliciuros, nitruros (VN) u óxidos de valencia baja (VO). Al parecer el primer éxito en el aislamiento de vanadio metálico fue realizado por Sir Henry Enfield Roscoe en 1869 por reducción de VCl_2 con hidrogeno.²²

2.2 GENERALIDADES DEL VANADIO

El vanadio ocupa el lugar número 22 entre los elementos más abundantes en la corteza terrestre, incluso es más abundante que el Cobre y el Zinc, y es el segundo elemento más abundante en el ambiente marino, tan solo superado por el molibdeno (aproximadamente 100 nM Mo [VI]; V, 35 nM) y antecediendo al hierro que tiene una concentración en disolución mucho menor (25 nM).²⁶ En la tabla periódica se ubica como el primer elemento de transición del grupo 5. Es un metal de color grisáceo con densidad de 6.11 g/cm³, tiene un número atómico de 23, configuración electrónica [Ar]4s²3d³, peso atómico 50.95, punto de fusión 1959 °C y punto de ebullición de 3600 °C.²⁷ Los estados de oxidación más comunes del metal van de -1 a +5, y generalmente pasa de un estado de oxidación a otro por la transferencia de un electrón a través de procesos redox. Los estados de oxidación que van de +3 a +5 se pueden mantener en solución acuosa, y participar en sistemas biológicos.²⁶

De manera similar al molibdeno (Mo), el vanadio tiene una posición excepcional dentro de los biometales, ya que participa en procesos biológicos en forma de catión o anión. En condiciones fisiológicas (pH desde 3 hasta 7 aproximadamente) los estados de oxidación IV y V del vanadio predominan como catión vanadilo (VO²⁺) y anión vanadato (H₂VO₄)⁻, aunque pueden presentarse otras especies catiónicas (VO³⁺, VO²⁺) y aniones de vanadio V (HVO₄²⁻, V₄O₁₂⁴⁻ y V₁₀O₂₈⁶⁻) y aniones para V(IV) ([VO]₂(OH)₅)⁻²⁷

Los compuestos de coordinación del vanadio presentan comúnmente geometría octaédrica, de pirámide cuadrada o de bipirámide cuadrada (Figura 3), con un átomo de oxígeno que forma un doble enlace con el catión V⁴⁺ o V⁵⁺. Este oxígeno se conoce como grupo “oxo” y a los compuestos se les denomina oxovanadilos u oxovanadatos, según sea su estado de oxidación. Otra estructura posible es la de bipirámide trigonal, que es además, un análogo estructural y electrónico del intermediario de la reacción de hidrólisis del fosfato, de ahí que el vanadato pueda enlazarse a las enzimas que hidrolizan trifosfato de adenosina (ATP) y, debido a que es mucho más estable que el fosfato en esta

estructura bipiramidal, “congela” el estado de transición en la enzima, inhibiendo su actividad.

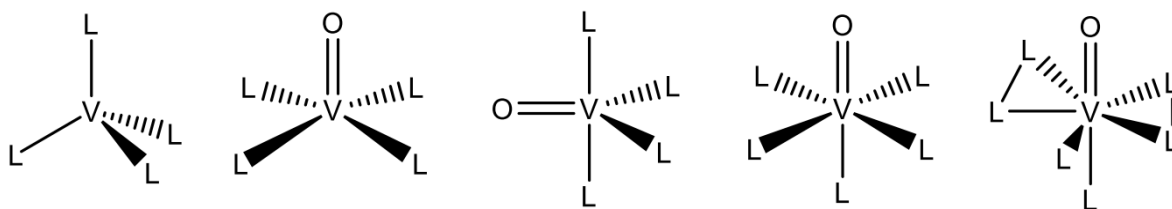


Figura 3. Geometría de algunos compuestos de vanadio: 1) tetraedro, 2) pirámide de base cuadrada, 3) bipirámide trigonal, 4) octaedro, 5) bipirámide pentagonal

Existen algunas geometrías adicionales en los casos en que el vanadio no tiene el ligante oxo, como la trigonal prismática y la estructura octacoordinada propuesta para el complejo metálico amavadina. Adicionalmente, los peroxovanadatos, que incluyen al mono- y diperoxovanadato, tienen estructuras en las que los grupos peroxo se coordinan en el plano ecuatorial, en geometría de bipirámide pentagonal.²⁸

Hasta antes de 1950 el estudio del vanadio y sus compuestos fue principalmente estimulado por sus aplicaciones industriales. Sin embargo, en la década de los ochenta se descubrió que varias enzimas contienen a dicho metal en su sitio activo, lo cual aumento el interés en entender su papel biológico y farmacológico.

2.3 VANADIO EN SISTEMAS BIOLÓGICOS

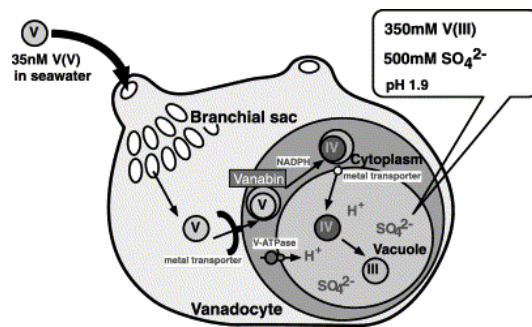
2.3.1 Tunicatos y Amavadina: dos secuestradores de vanadio

La acumulación de vanadio por sistemas vivos ocurre principalmente en tunicatos por medio de tunicromos, y en hongos de la familia *Amanita muscaria*, por medio de la amavadina. Los tunicatos, son organismos marinos invertebrados nombrados así porque la pared de su cuerpo asemeja una túnica construida por una sustancia celulósica llamada tunicina. Algunas especies de tunicatos presentan la capacidad de acumular

cantidades excepcionales de vanadio en su sangre. Estas especies fueron descubiertas por Henze en 1911, quien encontró, que en las células sanguíneas de los tunicatos - llamados vanadocitos- se encuentran concentraciones de vanadio 100 millones de veces superiores a las del agua de mar, del cual extraen su alimento. Los tunicatos son secuestradores de vanadio (V) proveniente del agua de mar en forma de $(\text{H}_2\text{VO}_4)^-$ y lo almacenan en los vanadocitos en forma de vanadio (III). Sin embargo, el vanadio (III) es demasiado reductor como para existir a pH neutro, por lo que una enzima $\text{H}^+\text{ATP-asa}$ se encarga de introducir protones a dicha célula y mantiene un $\text{pH}=1.9$. Se piensa que la función del vanadio en estos organismos es la de intervenir en la síntesis de la túnica, la cual actúa como repelente de los posibles predadores, ya que cataliza la polimerización de las fibras de la tunicina.²⁹



(a)



(b)

Figura 4. (a) Tunicato y (b) representación esquemática de la acumulación y reducción del vanadio por los vanadocitos

La amavadina por otro lado, se encuentra en los hongos de la familia *Amanita Muscaria*. El descubrimiento de altos niveles de vanadio en el hongo *A. Muscaria* ocurrió en 1931, pero no fue hasta 1972 que se logró aislar el producto natural por Bayer y Kneifel. La amavadina es un complejo metálico que contiene dos equivalentes de ligante y un equivalente de vanadio. El ligante H_3Hidpa enlaza V(IV) para formar amavadina $[\text{V}(\text{hidpa})_2]^{2-}$. Este ligante presenta un comportamiento similar al de los sideróforos y presenta una alta afinidad por el vanadio ($\log K_2= 23$). Los grupos de coordinación que

secuestran vanadio en este ligante son grupos carboxilatos e hidroxilos, dando origen a un compuesto octacoordinado con geometría de dodecaedro trigonal distorsionado (Figura 5) Los hongos *Amanita* son los pocos organismos en la biosfera que acumulan altos niveles de vanadio. Algunas plantas comunes y animales que han absorbido fluidos o alimentos ricos en vanadio pueden acumular niveles altos de vanadio, pero estos organismos, en contraste con los hongos *Amanita* y los tunicatos no tienen la capacidad de sintetizar productos naturales conteniendo vanadio.³⁰

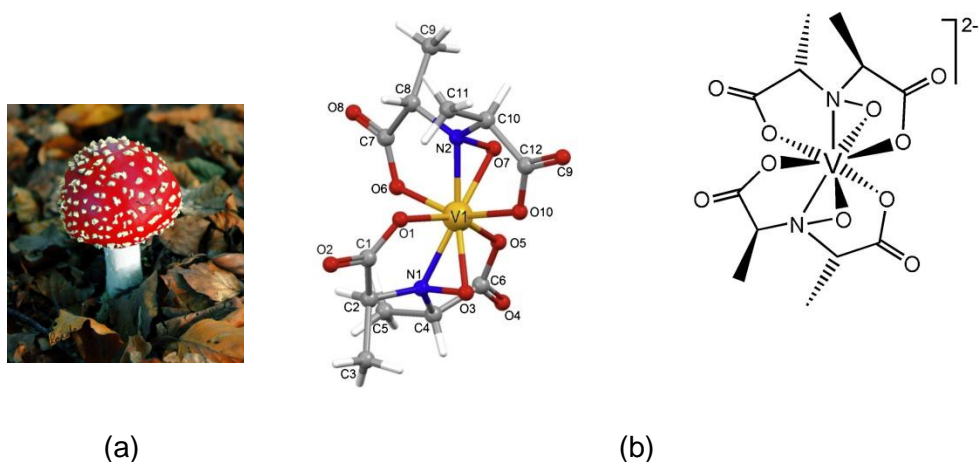


Figura 5. (a) *Amanita Muscaria* y (b) estructura molecular del complejo amavadina $[\Delta\text{-V(S,S-HIDPA)}_2]^{2-}$

La función biológica del complejo amavadina es similar al de las peroxidasas (en presencia de tioles biológicos) y catalasas (en presencia de H_2O_2). En el primer caso actúa como mediador en reacciones de oxidación de tioles para formar puentes disulfuro. Esta función es equivalente a la de las peroxidasas, las cuales pueden formar uniones entre grupos tiol de proteínas vegetales, como una estrategia defensiva de autoregeneración de tejidos dañados, proveyendo una protección suplementaria contra patógenos microbianos externos. Otra función es como reductor de H_2O_2 y oxidante de H_2O . El peróxido de hidrogeno es un residuo del metabolismo celular en muchos organismos vivos y tiene, entre otras funciones, la de protegerlos

contra microorganismo patógenos, dada su toxicidad debe transformarse rápidamente en compuestos menos peligrosos a través de la acción de las catalasas. Sin embargo, la amavadina no es tan eficiente como las peroxidases y catalasas dependientes de hierro, y esto puede explicar la presencia limitada de estas biomoléculas en organismos vivos.²⁹⁻³¹

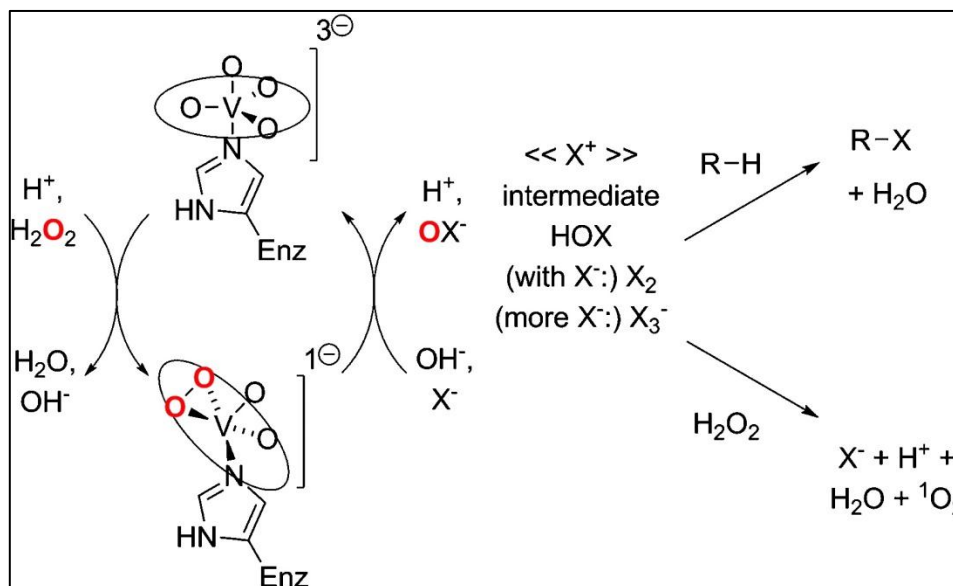
2.3.2 Enzimas dependientes de vanadio: Haloperoxidasas

Las vanadio haloperoxidasas son enzimas que catalizan la halogenación de substratos orgánicos utilizando peróxido de hidrogeno. Estas enzimas se clasifican en función del halógeno más electronegativo que logran oxidar. Así, las cloroperoxidasas (V-CIPOs) pueden oxidar cloruro, bromuro y ioduro, mientras que las vanadio bromoperoxidasas (V-BrPOs) pueden oxidar bromuro y ioduros. Las vanadio cloroperoxidasas ha sido aisladas del hongo *dematiaceous hyphomycete*, hasta el día de hoy no han sido aisladas de organismos marinos. Mientras que las V-BrPO ha sido aisladas y caracterizadas de diferentes clases de algas marinas, incluyendo *chlorophyta* (alga verde), *phaeophyta* (alga café), y *rhodophyta* (alga roja).³²

La reacción global que catalizan las vanadio-haloperoxidasas es:



En la primer etapa las V-HPOs catalizan la oxidación de haluros (X^-) utilizando peróxido de hidrogeno, produciendo un halógeno intermediario oxidado (i.e. " Br^+ "). En la segunda etapa, el intermediario oxidado puede halogenar un substrato orgánico o reaccionar con otro equivalente de peróxido de hidrogeno, para formar dioxigeno en un estado excitado singulete ($^1\text{O}_2$, $^1\Delta_g$) [Esquema 1].



Esquema 1. Mecanismo propuesto para las VHPOs, con X⁻= haluro. Izquierda: mecanismo para la formación del intermediario oxidado OX⁻ o "X⁺". Las elipsoides indican los planos ecuatoriales de las geometrías de coordinación bipirámide trigonal y pirámide de base cuadrada del estado nativo (arriba) y peroxo (abajo) de la enzima. Los átomos de O del H₂O₂ son remarcados en rojo para hacer un seguimiento (nótese que uno de los átomos de O en el vanadato de la enzima nativa también se origina a partir del H₂O₂). Derecha: reacciones globales del sistema VHPOs/H₂O₂, X:Br, Cl, I. R-H: compuesto orgánico. R-X: compuesto halogenado.³³

En la estructura de las vanadio-haloperoxidasas, el ion vanadato es el centro de una bipirámide trigonal con los tres ligantes oxo en la posición ecuatorial, un oxígeno en la posición axial y un enlace covalente coordinado con un nitrógeno del aminoácido histidina. Dos aminoácidos cargados positivamente (Lys, Arg) forman un especie de capa alrededor de la bipirámide trigonal que compensa la carga negativa de los átomos de oxígeno en el plano ecuatorial; adicionalmente, en la bromo y cloroperoxidasa hay puentes de hidrogeno con los aminoácidos glicina y serina. Aun cuando no se ha determinado la estructura de la yodoperoxidasa, algunos estudios

han revelado que su diferencia con las bromoperoxidasas es el aminoácido alanina en lugar del aminoácido serina (Figura 6).²⁹

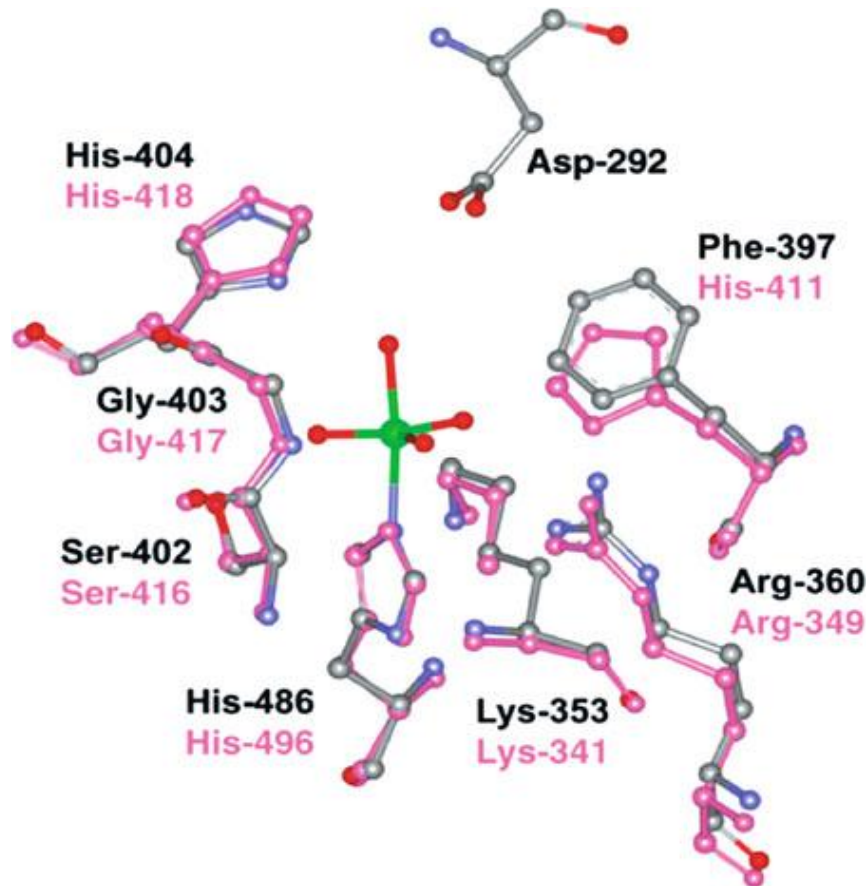


Figura 6. Sitios activos de la cloroperoxidasa (gris) y bromoperoxidasa (rosa). En la primera se encuentra una fenilalanina en lugar de una histidina.

2.3.3 Esencialidad del vanadio

El vanadio ha sido fuente de investigación desde que se conoce su presencia en varias especies marinas que lo almacenan como nutriente esencial. Aunque la mayoría de los alimentos contiene bajas cantidades de este metal (<1ng/g), el alimento es la mayor fuente de exposición de vanadio por la población mundial. Varios cereales, pescados, frutas y vegetales contienen este elemento en una cantidad cercana a los 40 mg/g de alimento. Algunos alimentos ricos en vanadio son los hongos, frutas, vegetales, mariscos,

perejil, pimienta negra, etc. Se ha estimado que la ingesta de vanadio en la dieta en promedio es de 13 a 15 $\mu\text{g}/\text{día}$ y algunos autores mencionan que alcanza valores de 70 $\mu\text{g}/\text{día}$. En la mayoría de los casos el vanadio se presenta en forma de sulfato de vanadilo, metavanadato de sodio, ortovanadato de sodio y pentóxido de vanadio.³⁴

Un tema que actualmente sigue causando cierta controversia es si el vanadio es o no un elemento esencial para los seres humanos, ya que las bajas concentraciones de este elemento (mayores a 1×10^{-6} M) son bien toleradas y la ingesta diaria ocurre inevitablemente debido a la presencia del vanadio en los alimentos. Actualmente no se conoce algún síntoma por deficiencia como para afirmar que es biológicamente necesario para los seres humanos. Sin embargo, existen procesos biológicos asociados a este metal como lo es la regulación genética de las MAP cinasas, Ras, TNF- α e interleucinas entre otras y la biotransformación de glucosa y lípidos. La ingesta diaria normal es aproximadamente de 0.2 a 1.2×10^{-6} M, siendo la comida la mayor fuente y no el agua potable.^{18,34} En general se acepta que el vanadio es esencial para el normal desarrollo esquelético y el crecimiento de mamíferos. En este sentido, se han llevado a cabo algunos estudios utilizando modelos murinos y caprinos con el fin de demostrar esta hipótesis. En cabras alimentadas con dietas deficientes en vanadio, se ha observado que presentaban menor sobrevida que los controles, dolor en las extremidades y deformaciones esqueléticas, así como también disminución en la producción de leche, disminución de los niveles de enzimas séricas y aumento de los niveles plasmáticos de glucosa. En ratas se ha observado que la privación de este metal en la dieta, causa un incremento en el peso de la tiroides/peso corporal, así como una tendencia a disminuir el crecimiento. Sin embargo, se ha comprobado (utilizando métodos analíticos) que las dietas “ausentes de vanadio” contienen entre 0,5 y 2 μg vanadio/g de alimento. Por este motivo, la controversia sobre la esencialidad de este elemento continúa actualmente sin ser establecida inequívocamente.³⁴⁻³⁵

2.3.4 Metabolismo del vanadio

Diariamente consumimos alrededor de 10 a 70 $\mu\text{gV}/\text{dia}$, proveniente del aire, los alimentos y del agua de beber. Varias investigaciones mostraron que el vanadio es pobremente absorbido desde el tracto gastrointestinal (solo un 10%). La mayoría del vanadio ingerido es transformado en vanadio (IV) en el estómago antes de ser absorbido en el duodeno. En la forma de vanadato (VO_4^{3-}) se absorbe aproximadamente 5 veces más que en la forma de vanadilo, a través de un sistema de transporte aniónico, principalmente por los canales de fosfato.^{27,36} Una vez que el vanadato alcanza el flujo sanguíneo puede ser reducido a vanadio (IV) por la acción del glutatión presente en los eritrocitos o por otras moléculas pequeñas como el ácido ascórbico, las catecolaminas y otras sustancias reductoras del plasma. Ambas formas químicas se unen a las proteínas albúmina y transferrina y son rápidamente transportadas por la sangre a distintos tejidos. Las condiciones de pH neutro propician el dominio de vanadio (V). En animales crónicamente tratados mediante administración oral, el vanadio se acumula en el hígado, el riñón, el bazo, en los testículos y principalmente en los huesos. Intracelularmente, el vanadio tiene afinidad por el material genético. El vanadio en estado de oxidación +4 y +5 administrado a ratas vía intraperitoneal, se distribuye en el núcleo, las mitocondrias, los microsomas y el citoplasma en células de hígado. El vanadio ingerido se elimina principalmente por la bilis y finalmente por las heces y por orina.³⁶

2.3.5 Exposición y Toxicidad

El vanadio es capaz de ejercer efectos tóxicos que dependen tanto de la especie, la dosis, la vía de administración y la duración del tratamiento, así como también de la naturaleza del compuesto. Es probable que la razón principal detrás de las desviaciones hacia la investigación de insulino-miméticos libres de vanadio³⁷ sea evitar la toxicidad típica de los metales pesados-anormalidades del sistema nervioso central como

desórdenes cognitivos y motores; deterioro del tracto gastrointestinal y renal; sistemas hepático, cardiovascular, respiratorio, inmune y reproductor-así como efectos intrínsecos no dissociables. Si la selectividad a un blanco molecular específico se pierde, se pueden esperar una gran cantidad de efectos colaterales a partir de la imitación del fosfato: activación de factores de transcripción celular^{38,39}, apoptosis,⁴⁰ fosforilación por cinasas que son vitales para el ciclo celular en mamíferos⁴¹, y expresión de genes regulatorios necesarios para el inicio de la replicación del DNA.⁴² Como se mencionó anteriormente, la toxicidad del vanadio varia con la naturaleza del compuesto y esta aumenta con el aumento del estado de oxidación de este elemento, siendo los de V(V) los más tóxicos.

La toxicidad aguda en animales por ingesta de compuestos de vanadio lleva a disturbios nerviosos, parálisis de los miembros, falla respiratoria, convulsiones, deposiciones con sangre y muerte.³⁷

Se han revisado extensamente algunos datos sobre la dosis, efectos tóxicos, intervalos y concentraciones encontrados en trabajos experimentales, concluyendo que la toxicidad del vanadio depende de la forma química específica, el estado de oxidación, la vía de administración, periodo y dosis, así como del tipo de organismo estudiado. El límite de administración para que los compuestos de vanadio sean tóxicos depende del tipo de ambiente de coordinación. Como regla general, se ha estimado que concentraciones por debajo de 0.01×10^{-3} M son seguras y aún tienen la capacidad de mantener la actividad biológica, mientras que se espera que aquellas mayores a 1.0×10^{-3} M sean tóxicas tras su uso crónico.¹⁸

2.4 DIABETES MELLITUS

La Diabetes mellitus (DM) es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por niveles elevados de glucosa en la sangre, esta hiperglucemia es ocasionada por defectos en la secreción de insulina, en la acción de la insulina, o por ambas. La hiperglucemia

crónica de la diabetes está asociada con daño a largo plazo, disfunción, y fallo de varios órganos, especialmente ojos, riñón, nervios, corazón y vasos sanguíneos.⁴³

Varios procesos patológicos están implicados en el desarrollo de la diabetes. Estos van desde una destrucción autoinmune de las células β del páncreas ocasionando una deficiencia en la secreción de insulina hasta anomalías que resultan en la llamada resistencia a la insulina (RI). Estas anomalías pueden estar relacionadas con un mal manejo de carbohidratos, proteínas y grasas, generando una acción deficiente de la insulina o una disminución de la respuesta celular a la acción de la misma. Tanto la disminución en la secreción de la insulina como defectos en su acción comúnmente coexisten en el mismo paciente, y a menudo es difícil saber que anomalía fue la causa inicial de la hiperglucemia.

La diabetes se caracteriza por poliuria (expulsión de gran volumen de orina), polidipsia (ingestión de cantidades excesivas de líquidos), adelgazamiento corporal a pesar de polifagia (mayor apetito), hiperglucemia, glucosuria, cetosis, acidosis y visión borrosa. La hiperglucemia crónica también puede afectar el crecimiento y aumentar la susceptibilidad a ciertas infecciones.⁴⁴

Las complicaciones a largo plazo de la diabetes incluyen retinopatía con potencial pérdida de visión, nefropatía que ocasiona falla renal, neuropatía periférica con riesgo de ulceraciones en pies, pie diabético, amputaciones; y neuropatía autonómica causando disfunción gastrointestinal, cardiovascular, genitourinaria y sexual.⁴³

La mayoría de casos de diabetes han caído dentro de dos amplias categorías:

Diabetes Mellitus tipo 1

Diabetes Mellitus tipo 2

En la DM tipo 1 existe la cercana o total ausencia de insulina debido a que el páncreas carece o tiene defectuosas las células β . Esta condición usualmente resulta de una respuesta autoinmune que destruye dichas células. Una causa conocida son mutaciones

en la estructura de la insulina ocasionando que la hormona sea inactiva. Las personas que padecen este tipo de diabetes, requieren de inyecciones de insulina para sobrevivir y deben seguir una dieta cuidadosamente balanceada y ejercicio riguroso. La DM tipo 2 usualmente se presenta en individuos obesos con una predisposición genética para esta condición. Estos individuos tienen niveles normales o elevados de insulina y son resistentes a la acción de la misma, aparentemente porque cuando las células adiposas están llenas de grasa, hay una disminución en el número de receptores insulínicos disponibles en sus superficies.^{45,46,47}

El fracaso de la insulina para actuar normalmente impulsando la utilización de la glucosa, con la consiguiente acumulación de esta última en la sangre, priva a las células de nutrientes y promueve unas respuestas metabólicas similares a las del ayuno. Las células hepáticas intentan generar más glucosa mediante la estimulación de la gluconeogénesis. La mayor parte de los sustratos se originan de los aminoácidos, que a su vez resultan en gran parte de la degradación de las proteínas musculares. La glucosa no puede reutilizarse para volver a sintetizar aminoácidos o ácidos grasos, por lo que los diabéticos pueden perder peso aunque consuman lo que en condiciones normales sería una cantidad de calorías adecuada para su dieta.⁴⁶

2.5 LA INSULINA Y SU CASCADA METABOLICA

La insulina es una hormona polipeptídica de 5.8 KDa que es liberada por las células β del páncreas en respuesta a niveles elevados de nutrientes en la sangre, controlando funciones energéticas críticas como el metabolismo de la glucosa y lípidos. Su función principal es la de mantener la concentración de glucosa en un rango normal entre 80-105 mg/dl favoreciendo la entrada y almacenamiento de la glucosa en músculo y tejido adiposo.⁴⁸

La cascada de la insulina inicia con la unión de esta con su receptor en la membrana celular (denominado receptor de insulina). El receptor de insulina (RI) es una glucoproteína que pertenece a la familia de receptores para factores de crecimiento con actividad intrínseca de cinasas de Tyr, los cuales al ser estimulados por su ligante se autofosforilan en residuos de Tyr.⁴⁹⁻⁵⁰

El RI es un heterotetrámero compuesto por dos subunidades α y dos subunidades β unidas por puentes disulfuro. Las subunidades α se encuentran localizadas en el exterior de la membrana plasmática y contienen sitios de unión a la insulina, mientras que las subunidades β tienen una porción extracelular, una transmembranal y una porción intracelular en donde se localiza el dominio con actividad de cinasa de Tyr. Después de que la insulina se une a su receptor, las subunidades α sufren cambios conformacionales que permiten que las subunidades β se activen y sean capaces de autofosforilarse en residuos de Tyr. Una vez que la insulina interacciona con su receptor y este es activado se inicia el encendido de cascadas de señalización que dependen de un número de interacciones proteicas que tienen como resultado final la absorción de la glucosa por parte de la célula (Figura 7)⁴⁸⁻⁴⁹.

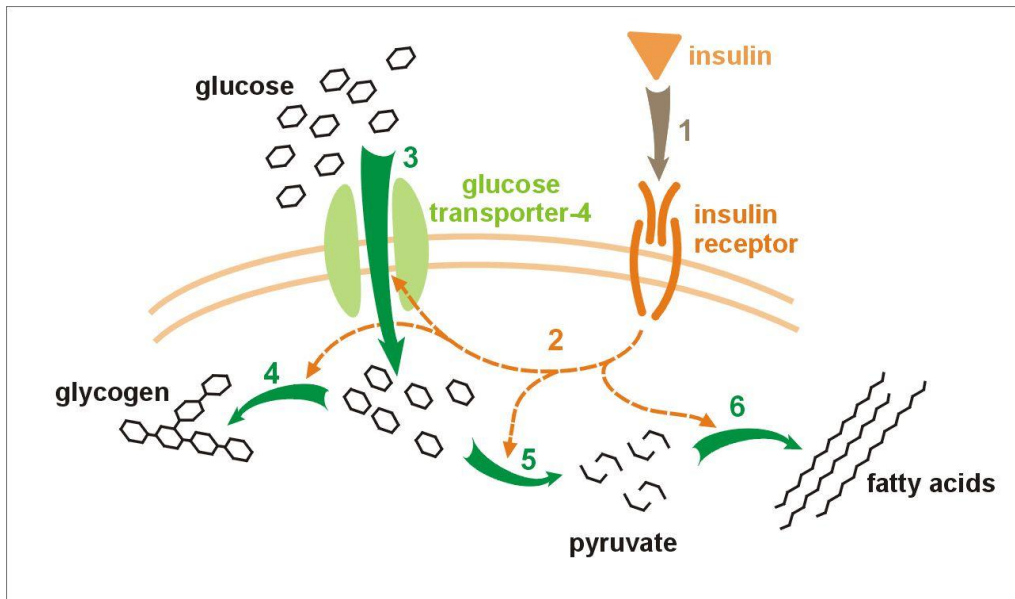


Figura 7. Efecto de la insulina sobre el consumo de glucosa y su metabolismo. La insulina se enlaza a su receptor (1), lo que, a su vez, comienza con varias cascadas de activación de proteínas (3), síntesis de glicógeno (4), glicolisis (5), y síntesis de ácidos grasos libres (6).

2.6 OBESIDAD Y SINDROME METABOLICO

El síndrome metabólico (SM) se ha definido como la asociación de varios factores de riesgo precursores de enfermedades cardiovasculares y de diabetes mellitus tipo 2. Ya en 1988, Reaven observó que algunos factores de riesgo cardiovascular, como la dislipidemia, la hipertensión y la hiperglucemia, solían aparecer agrupados y denominó a esta asociación síndrome X. Postuló que la resistencia a la insulina (RI) tenía un papel protagonista en su fisiopatología, de ahí que también comenzara a denominarse síndrome de resistencia a la insulina.⁵¹

La patogénesis del síndrome metabólico es compleja, participando tanto factores genéticos como ambientales, que van a influir principalmente sobre el tejido adiposo. En este sentido la obesidad desempeña un papel medular en el desarrollo de síndrome metabólico, ya que la ingesta excesiva de calorías acompañada de una vida sedentaria son factores que promueven el crecimiento del tejido adiposo.

En condiciones fisiológicas normales, el tejido adiposo tiene la función de liberar diversas sustancias bioactivas, tales como: leptina, adiponectina, interleucina-6 (IL-6), el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y el inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1). La liberación de estas sustancias se mantiene en equilibrio cuando no hay un exceso de tejido adiposo. Sin embargo, en condiciones patológicas de obesidad, ante la presencia de tejido adiposo disfuncional, se altera el balance de estas moléculas, aumenta la liberación de leptina, IL-6 y TNF- α y disminuye adiponectina; situación que contribuye de manera importante al desarrollo del síndrome metabólico, dislipidemias y síndrome metabólico (Figura 8).⁵² De todas estas sustancias una de las más importantes es el TNF-

α , ya que se piensa produce resistencia a la insulina al inducir un defecto en la capacidad de autofosforilación de residuos de tirosina en el primer sustrato del receptor de insulina (IRS-1), necesaria para la progresión de la señal intracelular de la hormona, y al disminuir la expresión génica de los transportadores de glucosa GLUT-4.

Por otra parte, debido a la acción del TNF- α , de la IL-6, el propio aumento del tejido adiposo y a la aparición de resistencia a la insulina en el tejido adiposo, se estimula la lipasa sensible a hormonas (LSH) favoreciendo la lipólisis de los triglicéridos almacenados en dicho tejido, lo que aumenta la liberación de ácidos grasos libres (AGL) a partir del adipocito. Los AGL se encuentran fuertemente relacionados con resistencia a la insulina y diabetes mellitus tipo 2.⁵³

El término resistencia a la insulina normalmente connota resistencia del organismo a los efectos de la insulina, principalmente relacionados con la captura, metabolismo o almacenamiento de la glucosa por el hígado, músculo y tejido adiposo. Se caracteriza por niveles elevados de glucosa en sangre, incremento de las partículas VLDL e incrementos de los niveles circulantes de ácidos grasos libres. La RI puede ocasionar la disfunción del músculo cardíaco, al afectar la captura de glucosa. Para compensar estas alteraciones el organismo secreta más insulina; sin embargo, sus efectos metabólicos no se manifiestan, debido a que en condiciones de obesidad se interrumpe la vía de señalización de dicha hormona.⁵²

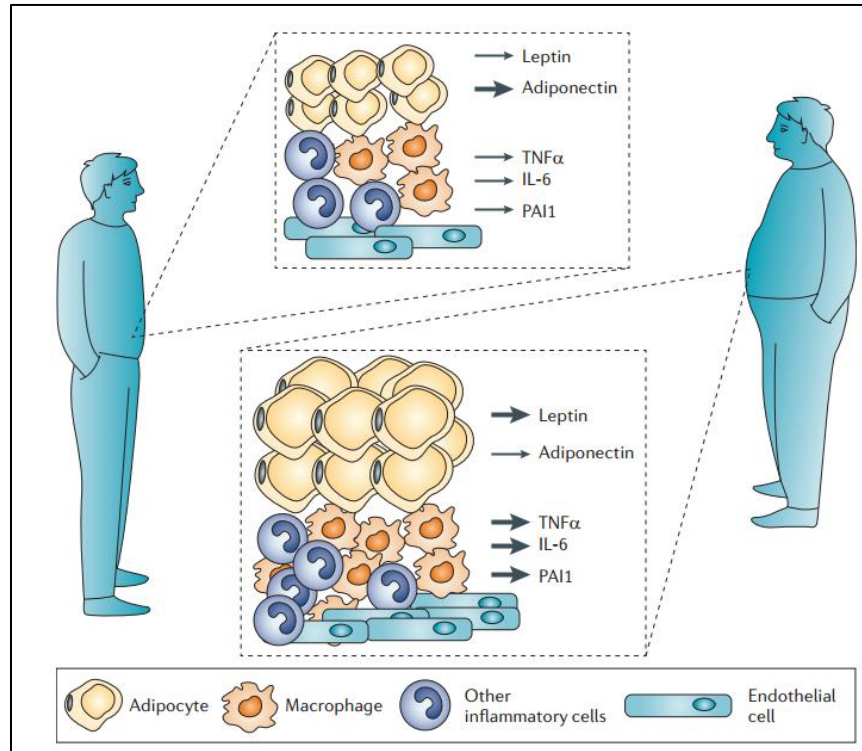


Figura 8. Cambios en el tejido adiposo en la obesidad. En una persona que no presenta obesidad existe un equilibrio entre las sustancias que secreta el tejido adiposo, se observa que hay un aumento de adiponectina, la cual favorece el proceso de señalización de la insulina “ayudando” a que la glucosa ingrese a las células. En condiciones de obesidad este equilibrio se rompe y hay un aumento importante en sustancias inflamatorias (citoquinas), generando entre otras cosas resistencia a la insulina.

2.7 VANADIO Y DIABETES

La primera evidencia clínica de la actividad antidiabética de las sales de vanadio ocurrió a finales del siglo XIX, cuando Lyonnet, fisiólogo francés, dio como tratamiento común a sus pacientes (3 de ellos diabéticos) metavanadato de sodio (NaVO_3). Poco después del tratamiento observó que dos de los tres pacientes con diabetes mejoraban sus niveles de glucosa en sangre.⁵⁴ Ellos describieron lo que podría considerarse hoy una “Fase 0” en los ensayos clínicos: *aproximadamente 4-5 mg de metavanadato de sodio (antes de los alimentos) cada 24 horas, tres veces por semana*. Sin embargo, este hecho pasó desapercibido por la comunidad científica tras el descubrimiento de la insulina en 1922 y su adopción como medicamento ideal para el tratamiento de la DM, y no fue hasta

1979 cuando Tolman *et al*, demostraron *in vitro* la actividad insulino-mimética de las sales de vanadio. Este grupo mostró que varias sales inorgánicas de vanadio, de manera similar a la insulina, incrementaron el metabolismo de la glucosa en células de diafragma de ratas e inhibían la gluconeogénesis en células hepáticas.⁵⁵ Desde entonces, numerosos estudios han revelado varios efectos miméticos de insulina de los compuestos de vanadio tanto *in vivo* como *in vitro*.

McNeill *et al* dieron a conocer que el vanadato, cuando se administraba en el agua de bebida, reducía los niveles elevados de glucosa en sangre y prevenía la depresión del funcionamiento cardíaco en ratas hechas diabéticas con STZ. Este trabajo ha sido uno de los más importantes en este campo.⁵⁶

Un trabajo realizado por Sakurai *et al* demostró que los niveles de glucosa en sangre de ratas diabéticas inducidas por STZ descendía desde niveles hiperglucémicos hasta niveles hipoglucémicos en el espacio de 24-48 h después del tratamiento con sulfato de vanadilo por inyección intraperitoneal.⁵⁷

McNeill *et al* ha demostrado que el vanadilo, administrado oralmente como sulfato de vanadilo, también reduce la glucosa en sangre y los lípidos en sangre en ratas diabéticas con STZ e impide complicaciones secundarias de la diabetes, tales como las cataratas y disfunción cardíaca. Se ha demostrado que el sulfato de vanadilo es menos tóxico que el vanadato, pero de igual forma se absorbe de forma deficiente.⁵⁸

Entre los primeros compuestos con actividad tipo insulina y que han sido hasta ahora de los más exitosos, se encuentra el bis(maltolato)oxovanadio(IV) (BMOV). El BMOV es efectivo en promover la captación de la glucosa y la disminución de lípidos en plasma.⁵⁹ La estructura cristalina de este compuesto determinada por difracción de rayos-X de monocristal tiene la forma de pirámide cuadrada con los oxígenos de los dos ligantes maltolato en la base y el vanadilo. V=O, en la posición apical. En solución tiene una geometría casi octaédrica, predominando en isómero *cis* formado por los dos ligantes

maltolato y la sexta posición de coordinación ocupada por el disolvente (Figura 9). El maltolato es un conocido ligante bidentado que forma complejos de coordinación estables con distintos metales, siendo su precursor el maltol un compuesto no tóxico usado como aditivo en comidas. Otras ventajas son su balance hidrofílico/hidrofóbico favorable y el hecho de poseer una comprobada eficacia como ligante promotor de la absorción para una variedad de metales, incluyendo Al^{3+} , Ga^{3+} , In^{3+} , Mo^{6+} y Fe^{3+} .⁶⁰

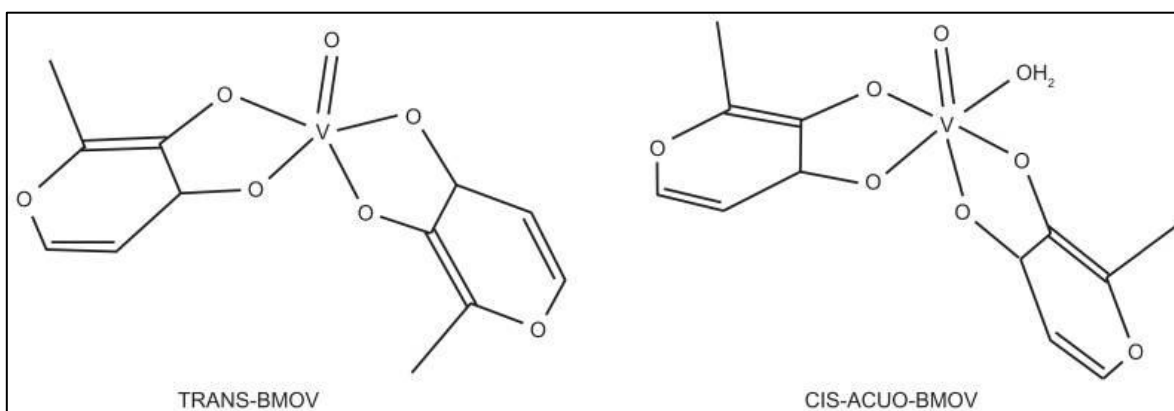


Figura 9. Representación estructural de los compuestos de ambos isómeros del BMOV en solución: (izquierda) trans-BMOV, (derecha) cis-aquo-BMOV.

El BMOV no presentó toxicidad y es efectivo en un periodo de administración de seis meses siendo dos a tres veces más potente que el sulfato de vanadilo.⁶¹

Otro compuesto que demostró fuerte actividad hipoglucémica, administrado oralmente a ratas inducidas con STZ, es el complejo bis(picolinato)oxovanadio (DPOV). El éxito de este compuesto impulsó la síntesis de varios análogos, de los cuales se ha podido obtener mejores propiedades⁶²⁻⁶³. Además de esto, se ha observado que el dipicolinato oxovanandio (V) de amonio administrado de manera oral, es un agente hipoglucemiante útil clínicamente en gatos con DM adquirida naturalmente.⁶⁴

Se ha demostrado con anterioridad que tanto el BMOV como el DPOV, son potenciales inhibidores de la enzima PTP-1B; ya que los complejos formados entre estos

compuestos de vanadio (ligantes) y es sitio activo de la PTP-1B (receptor), observan energías favorables en los ensayos de *docking* simulado en computadora.⁴⁵

Hasta el momento no se ha encontrado un complejo de coordinación de vanadio (IV) de mayor actividad que el BMOV. Su análogo etil sustituido de actividad similar, el bis(etilmaltolato)oxovanadio (IV) (BEOV) es el primer complejo ensayado en humanos habiendo completado actualmente la fase 1 de las pruebas clínicas.⁵⁴

Los primeros ensayos en humanos se completaron a mediados de los años 90's en dos centros de investigación de la diabetes en Estados Unidos.⁵⁴ En el caso de los pacientes con diabetes tipo 1, la terapia con NaVO_3 (125 mg/día, 2 semanas), causó una disminución pequeña pero significativa en los requerimientos diarios de insulina y una mejora en la utilización de glucosa en dos de cinco pacientes. En pacientes con diabetes tipo 2, aunque no condujo a un cambio en la dosis de la gente hipoglucémico oral, aumentó la sensibilidad a la insulina.^{54,65}

Similarmente, el tratamiento con VOSO_4 , disminuyó la resistencia a la insulina en pacientes con DM2, produjo una ligera reducción de la glucosa plasmática en ayunas y del porcentaje de hemoglobina glucosilada (HbA_{1c}), así como una mejora en la toma de glucosa mediada por la insulina y en la supresión de la producción hepática de glucosa.⁶⁵

El primer ensayo en humanos usando un complejo de coordinación de vanadio (IV), el BEOV, completó su fase clínica 1 en el año 2000. El estudio se realizó con cuarenta voluntarios sanos (no diabéticos) entre hombres y mujeres esterilizadas de 18 a 45 años, a los cuales se les dividió en 6 grupos de 4, administrándoseles a 5 grupos una única dosis escalonada entre 10 y 90 mg de BEOV y al sexto grupo una de 50 mg de VOSO_4 .

Los objetivos de este estudio fueron: (1) Establecer la no toxicidad y la tolerancia de individuos sanos a dosis orales crecientes de BEOV, (2) Determinar la farmacocinética de

modestas dosis de BEOV a partir de parámetros plasmáticos, urinarios y fecales, (3) Comparar la biodisponibilidad de dosis orales de BEOV y VOSO_4 a concentraciones similares y, (4) Estudiar los efectos del ayuno y alimentación sobre la biodisponibilidad del BEOV. No se observaron efectos adversos sobre ninguno de los voluntarios; las funciones gastrointestinales del hígado y riñones así como los parámetros sanguíneos permanecieron dentro de los niveles normales a través de todo el estudio.⁵⁴

2.7.1 Mecanismo de acción

Son diversos los mecanismos de acción propuestos para el vanadio^{54,59,66-67}. Una sugerencia es que la formación *in situ* de peroxovanadatos conduce a la inhibición de PTPasas en la cascada de señalización de la insulina. Otra es que el vanadilo estimula proteínas quinansas citosólicas, puenteando así al receptor de insulina por completo⁶⁸⁻⁷⁰. Otros efectos son la traslocación de transportadores de glucosa GLUT4 desde el compartimiento intracelular a la membrana plasmática⁷¹⁻⁷². Lo más probable es que el efecto derive de la combinación de los mencionados mecanismos⁷²⁻⁷³.

2.8 ION DECAVANADATO

El número de artículos dedicados al vanadio en la década pasada (2001-2010) se ha duplicado en comparación con la anterior (1991-2000), de 1149 a 2616, de los cuales, 74 están dedicados a la química del decavanadato; y de estas publicaciones solo siete han sido estudios biológicos *in vivo*. Estos estudios han demostrado que el decavanadato administrado a animales induce diferentes cambios por la acumulación de esta especie, influyendo en la peroxidación lipídica, y en la actividad antioxidante de varias enzimas.⁷⁴

El decavanadato es conocido por interactuar con varias proteínas y por poseer marcada actividad biológica, principalmente *in vitro*.⁷⁵⁻⁷⁶ En la década pasada se ha demostrado que el decavanadato interacciona con la Ca^{2+} -ATPasa, miosina y actina,

sugiriendo que puede participar y afectar varios procesos biológicos importantes, como la contracción muscular y su regulación, la polimerización de la actina y la homeostasis del calcio.⁷⁷⁻⁷⁹

La pregunta; ¿Puede la química compleja del vanadio explicar la diversidad de sus efectos biológicos? sigue sin respuesta. Incluso en 2011, varios estudios usando vanadio fueron claramente malinterpretados, dejando conclusiones erradas sobre su química, no solo desde el punto de vista biológico, sino también químico.⁷⁴ La complejidad de la química del vanadio en solución incluye importantes aspectos como: (1) varios estados de oxidación, (2) similitud química del vanadato con el fosfato, (3) habilidad del vanadio para formar especies oligoméricas, tales como el decavanadato; (4) capacidad para formar complejos con varias moléculas de interés biológico como el ATP, ribosa, glutatión y aminoácidos a través de diferentes átomos de coordinación como O, N, y S; (5) habilidad para presentar varias configuraciones geométricas, algunas de estas mimetizan el estado de transición de varios sustratos enzimáticos; (6) baja solubilidad en solución acuosa de compuestos de interés biológico; (7) baja estabilidad a condiciones fisiológicas de varios complejos de vanadio usados como miméticos de insulina o como agentes anticancerígenos.^{74-76,80-82}

El estado de oxidación más alto del vanadio, genera una variedad de diferentes oxovanadatos; cuya formación depende fuertemente del pH y de la concentración de vanadio.³⁰ Así, la solución incolora de vanadio (V) contiene especies de metavanadatos (VO_3), como el vanadato monomérico [V_1 , ejemplo: VO_4^{3-}], vanadato dimérico (V_2), vanadato tetramérico (V_4) y vanadato pentamérico (V_5). Si a una solución de vanadio (V) se le agregan unas gotas de ácido, se observa instantáneamente la aparición de un color naranja indicando la formación del ion decavanadato (Figura 10). Esta especie es estable en un rango de pH de 4 a 6.⁷⁶

El decavanadato con fórmula química $[V_{10}O_{28}]^{6-}$, presenta una estructura única, con dimensiones de 8.3 Å, 7.7 Å y 5.4 Å (Figura 10). Contiene diez átomos de vanadio ensamblados en una estructura compacta y cada uno rodeado por seis átomos de oxígeno, formando 10 unidades pseudo-octaédricas. El decavanadato se aproxima a una geometría del grupo puntual D_{2h} . Por espectroscopia NMR de ^{51}V , pueden ser distinguidos tres tipos de átomos de vanadio (Va, Vb y Vc), mientras que por técnicas espectrofotométricas como UV/Vis, pueden ser detectadas absorciones a 360nm y 400nm, atribuidas a transferencia de carga en el $(V_{10}O_{28})^{6-}$, las cuales son responsables del color naranja característico de estos compuestos.^{75-76,83}

La base de datos de Cambridge (CSD) contiene más de 100 diferentes estructuras de rayos-X para decavanadatos. Estas estructuras difieren tanto del grado de protonación del anión como de la naturaleza de los contraiones. Algunos de estos compuestos muestran una red intrincada de puentes de hidrógeno que se asemejan a las interacciones vistas en algunas proteínas que contienen $[V_{10}O_{28}]^{6-}$.⁸²

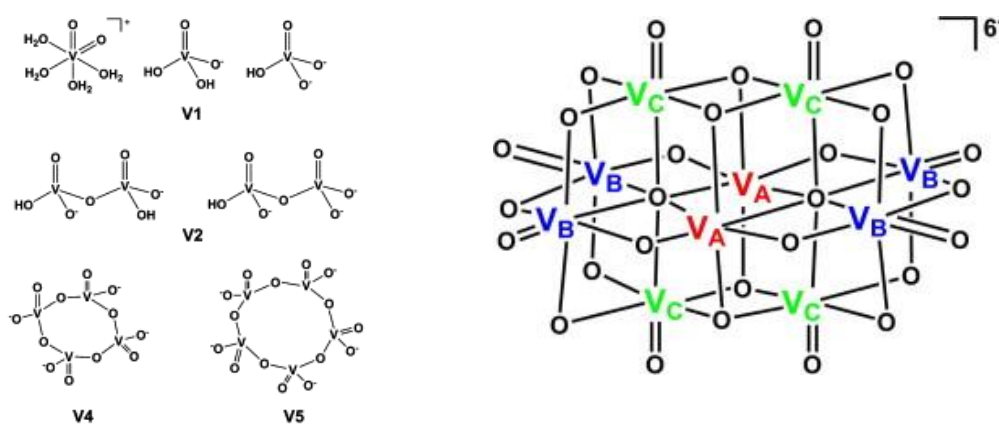


Figura 10. Especies de monoméricas, diméricas, tetraméricas y pentaméricas de vanadio (V) (izquierda) y el anión decavanadato $[V_{10}O_{28}]^{6-}$, Va, Vb y Vc representan los tres tipos de átomos de vanadio (derecha).

2.9 APLICACIONES DEL $[V_{10}O_{28}]^{6-}$ EN EL TRATAMIENTO DE LA DIABETES

Una estrategia novedosa en el diseño de complejos como potenciales metalofármacos consiste en la búsqueda de un efecto sinérgico metal-ligante en el caso de los compuestos de coordinación; o anión-catión *vía* enlaces de hidrogeno en el caso de compuestos con cúmulos inorgánicos. En este sentido los compuestos con $[V_{10}O_{28}]^{6-}$ son eficientes para lograr una sinergia con moléculas activas biológicamente o con propiedades antidiabéticas. Debido a la carga (6-) del anión, es posible emplear aminas que bajo condiciones de pH ácido (que además facilita la formación de especies decamericas, $V_{10}O_{28}^{6-}$) se logren protonar y actúen como entidades catiónicas que estabilicen la carga del decavanadato a través de interacciones electrostáticas, así, una amplia familia de aminas con actividad biológica se pueden emplear para sintetizar nuevos materiales y aumentar el efecto biológico, y disminuyendo su toxicidad. Esto es parte fundamental del trabajo desarrollado por nuestro grupo.

En el año 2000 Zorzano *et al* encontraron que los compuestos de vanadio que incluyen al decavanadato en combinación con aminas farmacéuticamente aceptables seleccionadas del grupo de los sustratos de la amino oxidasa sensible a semicarbazida (abreviado SSAO) han funcionado como imitadores de la insulina. Las aminas utilizadas en este trabajo han sido la bencilamina y la tiramina. La sinergia entre el compuesto de vanadio y la amina, hace que la concentración eficaz de vanadato en la combinación sea un orden de magnitud menor que la correspondiente al vanadato solo. Esto hace que la toxicidad sea mucho más baja que la toxicidad correspondiente al vanadio solo, lo cual representa una ventaja crucial de estos materiales para el tratamiento de la DM.⁸⁴⁻⁸⁵

La SSAO es una enzima presente en tejidos de mamíferos que es capaz de oxidar una amplia variedad de aminas con la producción concomitante de peróxido de hidrogeno y que es inhibida por la semicarbazida. Esta enzima es parte del mecanismo que transporta glucosa a la célula. Junto a unos pocos ejemplos de aminas secundarias, la

mayoría de los sustratos de amino oxidasa sensible a semicarbazida son aminas primarias, tales como; tiramina, bencilamina, desoxiepinefrina, epinefrina, norepinefrina, dopamina e histamina. Este grupo demostró que la combinación de decavanadato-tiramina estimula el transporte de glucosa y la translocación de transportadores de glucosa, de la misma forma que lo hace la insulina. De forma similar, la combinación de vanadato y bencilamina estimula el transporte de glucosa y la translocación de transportadores de glucosa, imitando los efectos de la insulina.^{84,86-87}

En este trabajo se observó que las concentraciones eficaces de decavanadato, son de un orden de magnitud menor que las concentraciones necesarias para imitar la acción de la insulina cuando se usa vanadato solo. Esto significa que hay una sinergia entre el compuesto de vanadio y la amina. Desde el punto de vista práctico, esta sinergia significa que, para un efecto imitador de insulina dado, la toxicidad del medicamento basado en una combinación decavanadato+amina es mucho menor que la toxicidad de un medicamento basado en vanadio solo. En este sentido, para el tratamiento y/o la prevención de la DM, esto representa una enorme ventaja.⁸⁴⁻⁸⁵

Yraola *et al.*⁸⁸ propusieron un mecanismo de acción para el compuesto decavanadato-bencilamina: $(C_7NH_{10})_6(V_{10}O_{28}) \cdot 2H_2O$. Estudiaron la estabilidad del compuesto a condiciones fisiológicas y a diferentes valores de pH por NMR de ^{51}V . En principio, encontraron que el compuesto se disocia para dar bencilamina y decavanadato en forma separada. Adicionalmente, los espectro de NMR de ^{51}V fueron llevados a cabo en solución acuosa a pH= 7.4 y a 37 °C. El espectro del compuesto a $t=0$ muestra las señales típicas para el ion decavanadato (V10 A, V10 B, V10C, $t=0$), que se correlacionan con los tres tipos de átomos de vanadio presentes en el estado sólido y detectados por difracción de rayos-X de monocristal (Figura 11). Se puede notar que el espectro también muestra un rápido equilibrio oligomérico con tres diferentes especies: de oxovanadatos V1 (VO_4^{3-} , -551 ppm), V2 ($V_2O_7^{4-}$, -564 ppm) y V4 ($V_4O_{12}^{4-}$, -576 ppm). Es

decir, el decavanadato se está disociando lentamente para formar estas especies, el estado de oxidación (+5) se mantiene.

La estabilidad del compuesto se estudió por NMR de ^{51}V después de 5 h, encontrado que el equilibrio está completamente desplazado hacia los productos (oxovanadatos de baja nuclearidad), en los cuales la especie $\text{V}_4\text{O}_{12}^{4-}$ es la predominante. Posteriormente de caracterizar el compuesto se llevaron a cabo experimentos empleando NMR de ^{51}V para caracterizar un posible mecanismo de acción. Se ha postulado que la bencilamina es oxidada por la acción de la SSAO para generar *in situ* H_2O_2 , el cual va a reaccionar con las especies de vanadio formadas por la disociación del $[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{6-}$, generando peroxovanadatos con actividad tipo insulina. La formación de estos peroxovanadatos fue comprobada por NMR de ^{51}V haciendo reaccionar el compuesto $(\text{C}_7\text{NH}_{10})_6(\text{V}_{10}\text{O}_{28})\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ con peróxido de hidrogeno encontrando la formación de la especie: $[\text{V}(\text{OH})_2(\text{OO})_2(\text{OH})_2]^{2-}$ (Figura 11). Los autores sugieren que son estos peroxovanadatos y no el decavanadato el que actúa a nivel intracelular (Figura 12).⁸⁸

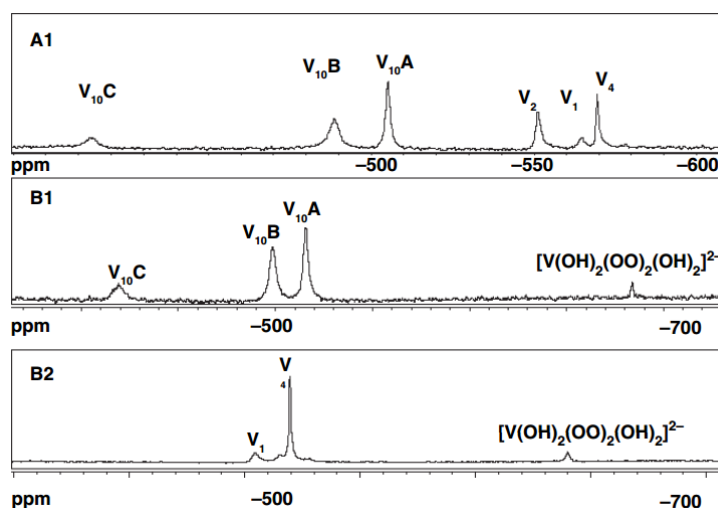


Figura 11. (A1) espectro de NMR de ^{51}V del compuesto $(\text{C}_7\text{NH}_{10})_6(\text{V}_{10}\text{O}_{28})\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a un pH = 7.4 y a 37 °C, (B1) espectro NMR de ^{51}V del compuesto $(\text{C}_7\text{NH}_{10})_6(\text{V}_{10}\text{O}_{28})$ con 2.5 nM de H_2O_2 a un pH= 4.0 y 37 °C, (B2) espectro de NMR de ^{51}V del compuesto $(\text{C}_7\text{NH}_{10})_6(\text{V}_{10}\text{O}_{28})$ con 2.5 mM de H_2O_2 a pH=7.4 y 37 °C.

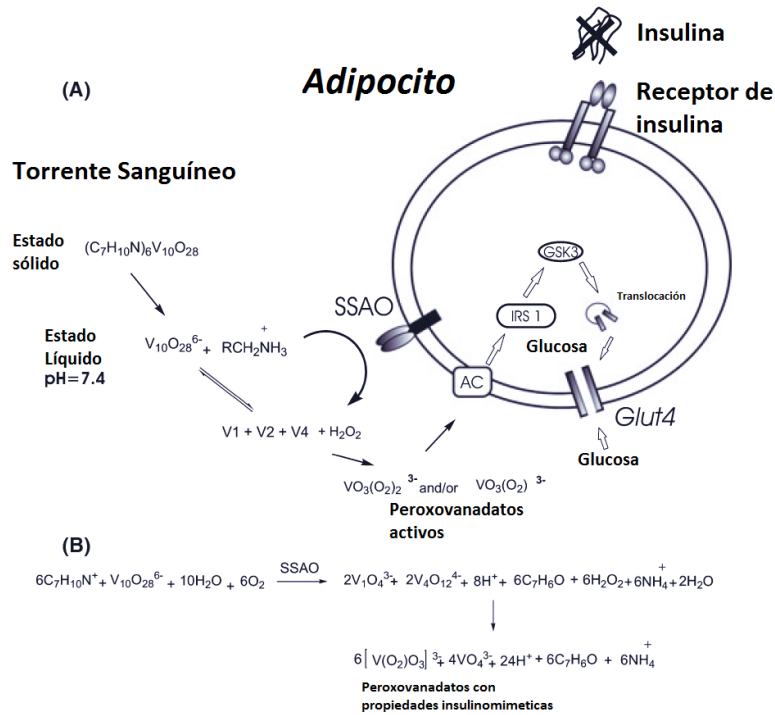


Figura 12. A) Mecanismo hipotético de la prodroga: $(C_7H_{10}N)_6(V_{10}O_{28}) \cdot 2H_2O$. Este compuesto se disocia a condiciones fisiológicas generando especies de vanadio [$V1, (VO_4^3), V2(V_2O_7^4), V4(V_4O_{12}^{4-})$]. Por otro lado, la bencilamina es oxidada por la SSAO y genera H_2O_2 como producto de la reacción. Las especies de vanadio formadas reaccionan con el H_2O_2 para generar peroxovanadatos, los cuales ingresan al interior de la célula mediante canales aniónicos (AC) y actúan río abajo iniciando señales caracterizadas por la activación del sustrato receptor de insulina (IRS-1), Akt (proteína cinasa B) y glucógeno sintasa 3 (GSK3) independiente de la fosforilación de IRS. Estos eventos promueven la activación de transportadores de glucosa (Glut-4) facilitando el consumo de glucosa por parte de la célula. (B) Reacción para la formación de peroxovanadatos mediante la metabolización de la SSAO.

Por otro lado, Pereira *et al* en otros estudios reportaron que los efectos del decavanadato en relación al consumo de glucosa en adipocitos de rata fue seis veces mayor que el grupo control empleado, y fue más efectivo que el BMOV y otros complejos de vanadio. Sin embargo estudios preliminares en células adiposas de humanos (datos sin publicarse) han mostrado que los efectos descritos en adipocitos en ratas no pueden ser extrapolados a los humanos debido a que no se encontraron efectos similares en el consumo de la glucosa.⁸⁹

Aureliano y Crans⁹⁰, han sugerido que las especies decamericas de vanadio pueden a su vez generarse o regenerarse a nivel intracelular en el citosol tras la acidificación promovida por una reacción química o por una bomba iónica. Sin embargo, basados en la química del vanadato, la interconversion puede ocurrir en compartimientos celulares ácidos como endosomas o lisosomas.⁷⁵ Por lo tanto, la formación del decavanadato a partir de vanadato monomérico es posible en dominios celulares donde el pH favorezca la formación de estas especies. Después de la formación, el $[V_{10}O_{28}]^{6-}$ se enlaza a proteínas específicas, induciendo así respuestas celulares diferentes que las observadas para otras especies de vanadio (Figura 13).^{81,75,76}

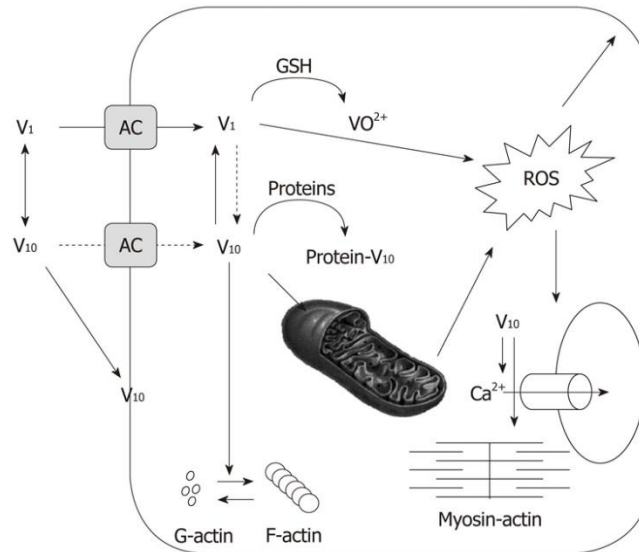


Figura 13. Esquema propuesto de los objetivos celulares del decavanadato. El ion $(V_{10}O_{28})^{6-}$ entra a la célula a través de canales aniónicos (AC). La formación del decavanadato a partir de especies monoméricas (V_1) puede ocurrir en el citosol, pero es más probable que esto ocurra en organelos que presenten un ambiente ácido. A nivel intracelular puede ocurrir la reducción de vanadato monomérico por agentes oxidantes como la GSH y generar especies reactivas de oxígeno (ROS). Por otro lado, el decavanadato puede unirse a proteínas a nivel intracelular por anclaje con alguna proteína acumulándose en la mitocondria, afectando el consumo de oxígeno mitocondrial. El decavanadato también actúa sobre el sistema contráctil y su regulación, así como en la homeostasis del calcio.

3. METFORMINA

Las biguanidas son un grupo farmacológico constituido por la metformina, la fenformina y la buformina, siendo la metformina el fármaco más relevante de este grupo. La fenformina y la buformina fueron retirados del mercado en la mayor parte de los países, debido a su asociación con acidosis láctica mortal.⁵¹

La metformina se ha utilizado en el tratamiento de la DM2 desde la década de los cincuenta del siglo pasado, aunque su uso más extendido es a partir de la década de los noventa, tras la realización de ensayos clínicos que avalaban su seguridad y eficacia en el tratamiento de la diabetes. De esta forma en la actualidad, se considera como fármaco de primera línea en el tratamiento de la DM2 cuando fracasan las medidas no farmacológicas (Figura 14).^{51,91}

La metformina ejerce varios efectos fisiológicos que contribuyen a su capacidad de disminuir la hiperglucemia de los pacientes con DM2. Es capaz de reducir significativamente la glucemia plasmática en ayunas, la glucemia posprandial y el valor de hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}) de forma independiente de los niveles de insulina circulantes en sangre.

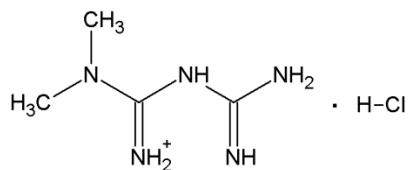
La metformina actúa fundamentalmente a dos niveles: en el músculo y en el hígado. En el músculo aumenta la captación y utilización tisular de la glucosa, incrementando la sensibilidad a la insulina. En el hígado disminuye la producción de glucosa al reducir principalmente la gluconeogénesis y, en menor medida, reduciendo la glucogenólisis. La disminución de producción de glucosa por el hígado contribuye a la reducción de la glucemia en ayunas.

La metformina también actúa sobre el metabolismo de los lípidos. Reduce moderadamente los triglicéridos plasmáticos, debido a la reducción de la síntesis hepática de lipoproteínas VLDL. También disminuye el colesterol total y las concentraciones plasmáticas de ácidos grasos libres.⁵¹

También se ha demostrado que la metformina inhibe la respiración celular por acciones específicas en el complejo I mitocondrial.⁹²



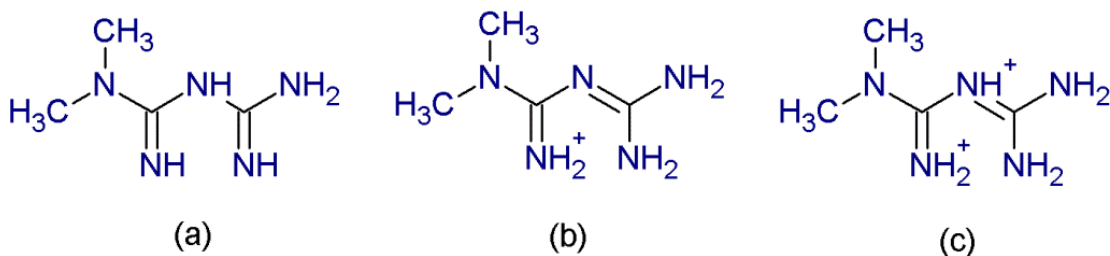
(a)



(b)

Figura 14. (a) Metformina genérica en comprimidos de 850 mg, (b) Estructura química del hidrocloreto de metformina.

Como la biguanida, la metformina es una base moderadamente fuerte con dos valores de pK_a en solución acuosa de 2.8 y 11.5. A pH neutro, la forma monoprotonada, $C_4H_{12}N_5^+$ (HMetf⁺, Figura 15) es estabilizada; HMetf⁺ ha sido utilizada como ligante bidentado debido a que se puede coordinar a iones metálicos de transición como Co, Ni, Cu, y Pt. Los complejos de metformina han sido utilizados para el estudio de los mecanismos de acción de la droga y para mejorar su acción biológica, evitando daños causados a largo plazo. Por otra lado, la molécula de metformina puede actuar como un grupo aceptor y donador de enlaces de hidrogeno, facilitando la generación de nuevos materiales con diversas propiedades y estructuras.²⁰



(a)

(b)

(c)

Figura 15. Estructuras de (a) metformina neutra, (b) Metformina protonada (HMetf⁺), y (c) Metformina diprotonada (H₂Metf²⁺)

CAPITULO III

METODOLOGÍA

Para el desarrollo del estudio y alcanzar los objetivos propuestos, se ha llevado a cabo la siguiente metodología y se han utilizado los materiales que se exponen a continuación.

3.1 MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales: Todos los reactivos mencionados fueron obtenidos de Aldrich y usados como se recibieron. Metavanadato de amonio (NH_4VO_3), metavanadato de sodio (NaVO_3), metavanadato de potasio (KVO_3), 4-Dimetilaminopiridina, ácido clorhídrico, ácido acético, dimetilsulfoxido (DMSO), D_2O . El hidrocloreuro de metformina fue aislado de tabletas comerciales de 850 mg.

Metodos: Los espectros de infrarrojo (IR) fueron colectados en pastillas comprimidas de KBr en la región de $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ en un espectrofotómetro IR Digilab Scimitar FT-IR. Los datos de difracción de rayos-X de monocristal fueron colectados en un equipo Xcalibur Atlas Gemini, con un detector de área CCD a 298 K usando $\text{Mo K}\alpha$ ($\lambda=0.71073$) siguiendo los procedimientos estándar. Las estructuras se resolvieron utilizando métodos directos y se refinaron por la técnica de mínimos cuadrados de matriz completa utilizando los programas computacionales SHELXS-97 y SHELXL 97, para las gráficas moleculares. Los espectros de NMR de ^{51}V fueron colectados a 131.5 MHz usando parámetros reportados previamente⁹³. Los datos de TGA se obtuvieron usando un equipo NETZSCH TGA/DSC STA 449F3 Jupiter thermal analyzer. Las curvas de TGA se llevaron a cabo en un rango de temperatura de $25\text{-}500\text{ }^\circ\text{C}$ con una velocidad de calentamiento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ bajo atmosfera de nitrógeno. El análisis elemental para los compuestos 1, 2, y 3 se llevaron a cabo por triplicado en el USAI de la Facultad de Química de la UNAM en un analizador Perkin-Elmer PE2400. El análisis elemental para los compuestos 4 y 5 se llevó

a cabo por triplicado en el Instituto de Química de la UNAM en un analizador Thermo Scientific, modelo Flash 2000.

3.2 SECCIÓN EXPERIMENTAL

Síntesis de $[C_4H_{13}N_5]_3[V_{10}O_{28}] \cdot 8H_2O$ (1). **Metodo A:** 1 mmol de metavanadato de sodio $NaVO_3$ y 1.2 mmoles de hidrocloreuro de metformina fueron adicionados en 20 mL de agua destilada. Posteriormente la suspensión fue agitada a temperatura ambiente por una hora, el pH fue ajustado a 4 mediante la adición de HCl (1 M). La solución naranja resultante fue filtrada, y se deja cristalizar a 4°C. Cristales naranjas de **1** fueron obtenidos después de dos días.

Método B: el compuesto **1** también pudo ser sintetizado a pH 2.9 usando NH_4VO_3 en lugar de la sal de sodio, las condiciones y cantidades utilizadas fueron similares al método A. $C_{12}H_{55}N_{15}O_{36}V_{10}$ (1494.73): calc. C 9.64, H 3.71, N 14.05; encontrado C 9.88, H 3.44, N 14.02. IR (KBr) IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3340$ (br), 3170 (br), 1690 (m), 1635 (m), 960 (s), 830 (m), 750 (m), 580 (m), 540 (w) cm^{-1} . ^{51}V NMR (131.5 MHz, $[D_6]DMSO$): $\delta = -427.65$ (2 V), -500.38 (4 V), -521.74 (4 V) ppm. 1H NMR ($[D_6]DMSO$): $\delta = 2.93$ (s, 6 H), 6.57 (s, 4 H), 7.2 (s, 2 H) ppm. Rendimiento: 50%.

Síntesis de $[C_4H_{13}N_5]_2[NH_4][V_{10}O_{28}] \cdot 10H_2O$ (2): 10 mmoles de NH_4Cl y 1.2 mmoles de hidrocloreuro de metformina fueron adicionados a una suspensión de NH_4VO_3 (2 mmoles) en 40 mL de agua destilada. El pH de la suspensión fue ajustada a 4.5 mediante la adición de HCl (1 M). La solución naranja resultante fue filtrada dejada cristalizar a 4°C. Después de dos semanas, una mezcla de tres compuestos fueron aislados como cristales naranjas. $C_8H_{54}N_{12}O_{38}V_{10}$ (1435.71): calc. C 6.69, H 3.79, N 11.7; encontrado C 7.01, H 3.63, N 11.93. IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3490$ (br), 3360 (br), 1690 (m), 1637 (m), 1421 (m), 1404 (m), 955 (s), 833 (m), 745 (m), 582 (m), 532 (w) cm^{-1} . ^{51}V NMR (131.5 MHz, $[D_6]DMSO$): $\delta =$

-426.55 (2 V), -491.49 (4 V), -513.14 (4 V) ppm. ^1H NMR ([D6]DMSO): δ = 2.94 (s, 6 H), 6.67 (s, 4 H), 7.18 (s, 2 H) ppm. Rendimiento: 24%.

Síntesis de $[\text{C}_4\text{H}_{13}\text{N}_5]_2[\text{NH}_4]_2[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (3): 1 mmol de metavanadato de sodio NaVO_3 y 1.2 mmoles de hidrocloreto de metformina fueron adicionados en 20 mL de agua destilada. Posteriormente la suspensión fue agitada a temperatura ambiente por una hora, el pH fue ajustado a 5 mediante la adición de HCl o CH_3COOH (50% v/v). La solución naranja resultante fue filtrada, y el filtrado se dejó cristalizar a 4°C . Cristales naranjas de **3** fueron obtenidos después de dos días. $\text{C}_8\text{H}_{42}\text{N}_{12}\text{O}_{32}\text{V}_{10}$ (1327.64): calc. C 7.24, H 3.19, N 12.66; encontrado C 7.47, H 2.86, N 11.72. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3430 (br), 3270 (br), 1680 (m), 1640 (m), 1450 (m), 1400 (m), 960 (s), 830 (m), 750 (m), 580 (m), 530 (w) cm^{-1} . ^{51}V NMR (131.5 MHz, [D6]-DMSO): δ = -426.55 (2 V), -500.38 (4 V), -520.91 (4 V) ppm. ^1H NMR ([D6]DMSO): δ = 2.93 (s, 6 H), 6.57 (s, 4 H), 7.2 (s, 2 H) ppm.

Síntesis de $[\text{HDMAP}]_6[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]\cdot 16\text{H}_2\text{O}$ (4): 3.63 mmoles de metavanadato de potasio KVO_3 fueron disueltos en 30 mL de agua destilada a 40°C . Después que la solución alcanzó la temperatura ambiente se mantuvo en el refrigerador a 10°C , posteriormente se le agregaron 3 gotas de HCl al 37%. 1 mmol de 4-Dimetilaminopiridina se disolvió en 5 mL de agua y se adicionó gota a gota a la solución naranja. Alcanzando un pH~5. La solución fue filtrada y se dejó cristalizar a 10°C . Cristales naranjas de (4) fueron obtenidos después de 1 día. IR (KBr, ν/cm^{-1}) = 3410 (s), 3089 (w), 2927 (w), 1647 ((s), 1560 (s), 1444 (m), 1400 (m), 1280 (w), 1218 (s), 1058 (w), 948 (s), 820 (s), 734 (m), 564 (m), 522 (m), 461(w)

Síntesis de $[\text{HDMAP}]_6[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (5): 3.63 mmoles de metavanadato de potasio KVO_3 fueron disueltos en 30 mL de agua destilada a 40°C . Después que la solución alcanzó la temperatura ambiente se le agregaron 3 gotas de HCl al 37%. 1 mmol de 4-Dimetilaminopiridina se disolvió en 5 mL de agua y se adicionó gota a gota a la solución naranja. Alcanzando un pH~5. La solución fue filtrada y se dejó cristalizar a temperatura

ambiente. Cristales naranjas de (5) fueron obtenidos después de 1 día. Anal. Calcd. for $C_{42}H_{98}N_{12}O_{44}V_{10}$ (MW 1984.72 g/mol) C, 29.18 ; H, 3.99 ; N 9.612. Found: C, 29.39 ; H, 3.96 ; N, 9.80. IR (KBr, ν/cm^{-1}) = 3103 (w), 2922 (w), 1643 (s), 1549 (m), 1442 (m), 1398 (m), 1222 (s), 1065 (w), 945 (s), 831 (m), 721 (m), 566 (m), 520 (m), 484 (vw), 430 (vw).

3.3 PRUEBAS DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Para las pruebas de actividad biológica se contó con la colaboración de los siguientes investigadores:

Dr. Samuel Treviño-Mora, M. C. José Ángel Francisco Flores-Hernández, Q.F.B Víctor Enrique Sarmiento-Ortega y Dr. Eduardo Brambila-Colombres

3.3.1 Animales y caracterización Zoometrica

En este estudio se emplearon 120 ratas macho de cada cepa: Wistar, con un peso de 70 a 80g, provenientes del Bioterio Claude Bernard de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, las cuales se mantuvieron en condiciones controladas con ciclos de luz, obscuridad de 12 horas y temperatura de 19-26 °C, en cajas de policarbonato con una cama de serrín con disponibilidad de alimento y agua “*Ad libitum*”. Los animales se acondicionaron con dieta normocalórica hasta los 100 g, aproximadamente 15 días post-destete. Al alcanzar el peso de inicio del estudio se separaron aleatoriamente en los grupos dieta NC (normo-calórica) y HC (hiper-calórica) a los cuales se les midió peso, perímetro del abdomen y talla desde la punta de la nariz a la base de la cola con ayuda de una cinta métrica; con los datos obtenidos se calculó el IMC y % de grasa corporal (índice de Lee). Los dos grupos divididos por cada cepa, se sometieron a diferentes condiciones de alimentación, es decir, al grupo control se mantuvo con una dieta a base de pellet balanceada (LabDiet 5001) y agua a libre consumo “*ad libitum*”. El grupo problema o experimental, fue sometida con la dieta Hiperglúcida⁹⁴⁻⁹⁵ y agua “*ad libitum*”. Cada

procedimiento se siguió de acuerdo a la “Guía para el Cuidado y uso de animales de Laboratorio” de México y aprobados por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de laboratorio.

3.3.2 Formación de grupos y tratamientos

Posterior a la fase de inducción (3 meses) con dieta normo e hipercalórica, se formaron 4 grupos de trabajo. El grupo 1 (n=20) se conformó con los animales que recibieron la dieta normocalórica, verificando que se encontraran dentro de los parámetros de inclusión. El grupo 2 (n=20) se conformó por animales desregulados metabólicamente con dieta HC. El grupo 3 (n=20) se conformó con animales desregulados metabólicamente con dieta HC y administrados diariamente por vía oral (por cánula) con una solución 0.12 M de Metformina/kg de peso; la dosis fue hecha conforme a la toxicidad y toxicocinética de la metformina en ratas establecida por Quaile et al., 2010⁹⁶. El grupo 4 (n=20) fue administrado cada tercer día por vía oral (por cánula) con una solución 2.5 μM de Metf- $\text{V}_{10}\text{O}_{28}$ /kg de peso. Los grupos 2-4 permanecieron alimentados *ad libitum* con dieta HC. Al cabo de 30 y 60 días una n=10 de cada grupo se les realizó el protocolo específico para la recolección de muestra sanguínea y se les sacrifico para la extracción de los diferentes tejidos.

3.3.3 Obtención de la muestra sanguínea.

Para la obtención de las muestras sanguíneas se suspendió el consumo de agua y alimento de 4 a 5 horas antes de realizarse el procedimiento. Se anestesiaron a los animales (en una dosis de ketamina+xilazina 0.2 ml/100 g. via intraperitoneal). Las muestras se tomaron mediante punción intracardiaca y se les extrajo 700 μL de sangre (aproximadamente) se recogió en tubos sin anticoagulante para la separación de suero. Así mismo, se procedió a realizar curvas de tolerancia oral a la glucosa en ayuno. Se recolectaron las muestras en un tubo Eppendorf, a los 0, 30, 60 y 90 minutos después de

una carga de glucosa de 75g/100mL/70kg de peso; las muestras se centrifugaron a 8000 r.p.m. durante 10 minutos, se separó el suero y se congeló a -70°C hasta su análisis. El suero de los tiempos 30, 60 y 90 min, se les cuantificó la concentración de glucosa, mientras que el suero de la condición basal (ayuno), se utilizó para la medición de glucosa, triglicéridos, lípidos y colesterol totales, HDL-col, LDL-col y VLDL-col; por medio de kits comerciales y cuantificadas por espectrofotometría en un analizador BTS-350 de BioSystems. El lactato fue medido por el método de Slide VITROS DT LAC y el Kit de VITROS Chemistry Products DT calibrador de sistemas de química VITROS DT60/DT60 II y cuantificado en un analizador VITROS DT-60 de ABBOT por reflectrometría. Finalmente, los ácidos grasos libres (AGL) fueron extraídos con cloroformo y evidenciados por reactivo de cobre – cuprizona y revelados por una fuente amoniacal, la concentración fue determinada en un espectrofotómetro PerkinElmer modelo Lambda EZ150 a una longitud de onda de 620 nm.

3.3.4 Composición de las dietas empleadas para cada grupo utilizado en el proyecto.

Dieta balanceada para el consumo de animales de laboratorio (LabDiet 5001):

10 g de dieta balanceada contiene:

4.87g de carbohidratos = 19.48 Kcal

2.39g de Proteínas = 9.56 Kcal

0.5g de Lípidos= 4.5 Kcal

0.51g de fibra = 1.0 Kcal

0.7g de cenizas.

Total: 34.54 Kcal

Dieta HC, inductora de SM:

10 g de la dieta hiperglúcida - hipercalórica contiene:

7.14 g de carbohidratos =28.6 Kcal

0.73 g de Proteínas = 2.92 Kcal

0.58 g de Lípidos=5.22 Kcal

0.0 g de fibra = 0 Kcal

0.35 g de cenizas.

Total= 36.74 Kcal.

Ambas dietas cumplen con las cantidades mínimas necesarias de sustratos energéticos aprovechables, según lo indicado por la Guía Internacional para el Cuidado y Manejo de Animales de Laboratorio.

Ingredientes para preparar la dieta H.C

3.943 kg de harina de trigo San Blas.

1.96 kg de azúcar refinada.

0.49 kg de azúcar glass.

0.27 kg de polvo para merengue

0.7 kg de mantequilla.

0.28 kg de sales.

0.07 kg de salvado.

3.3.5 Determinaciones tisulares

Las biopsias de tejidos (hígado, músculo, corazón, riñón, y tejido adiposo) fueron extraídas, finalizada la punción cardiaca y per fundidos con solución salina isotónica fría y se almacenaron a -70°C para la posterior determinación de triglicéridos y glucógeno. 100

mg de tejido fueron homogenizados en 800 μ l de SSI se resuspendió el homogenizado y se procedió a realizar el protocolo para la determinación de glucógeno mediante la técnica descrita por Bennett en el 2007. Así mismo, del homogenado se hizo una dilución 1:2 y se siguió el protocolo descrito por el fabricante para el kit de triglicéridos.

3.3.6 Análisis estadístico.

Los resultados fueron expresados como la media \pm el error estándar de la media (EEM) y evaluados e interpretados por una prueba estadística de T de Student a un nivel de significancia de $P \leq 0.05$.

CAPITULO IV

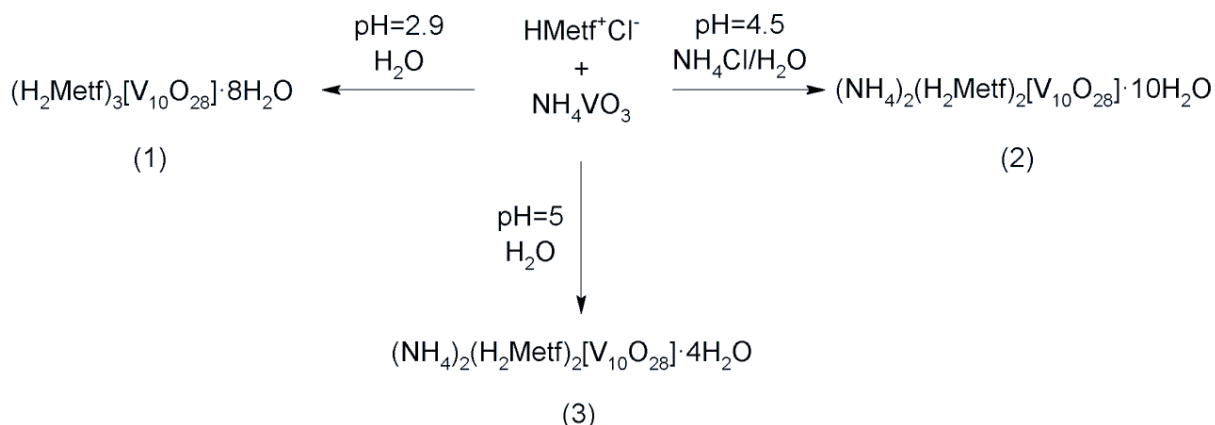
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 SINTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE 1, 2 Y 3 (COMPUESTOS CON METFORMINA)

El compuesto $[H_2Metf]_3[V_{10}O_{28}] \cdot 8H_2O$ (**1**) fue preparado a partir de dos diferentes fuentes de vanadio y condiciones. Con metavanadato de sodio $NaVO_3$ a $pH=4$ (método A) se obtuvieron cristales de **1**, y en la estructura cristalina el ión decavanadato esta desprotonado. Con la intención de obtener otro compuesto en el cual se lograra la protonación del anión (esto ocurre generalmente a pH ácido), la síntesis se llevó a cabo en condiciones similares pero utilizando NH_4VO_3 a un $pH=2.9$ (Método B). Sin embargo, el compuesto **1** fue obtenido nuevamente; este es un resultado bastante sorprendente, ya que el valor de PK_{a2} del decavanadato está en el rango de $3.1-3.7^{96-97}$ y, por lo tanto, la molécula de metformina debería encontrarse doblemente protonada bajo las condiciones de reacción usadas. Los compuestos $[C_4H_{13}N_5]_2[NH_4][V_{10}O_{28}] \cdot 10H_2O$ (**2**) y $[C_4H_{13}N_5]_2[NH_4]_2[V_{10}O_{28}] \cdot 4H_2O$ (**3**) fueron obtenidos utilizando metavanadato de amonio NH_4VO_3 . Sin embargo, **3** fue preparado selectivamente con un buen rendimiento a un $pH \geq 4.5$, mientras que **2** fue encontrado siempre con mezcla de **1** y **3**. En las reacciones llevadas a cabo con cantidades equimolares de NH_4VO_3 , H_2Metf^+ , y NH_4Cl a valores de pH de 4.5 y 5.5, se obtuvieron tres hábitos cristalinos después de la cristalización, los cuales fueron asignados por difracción de rayos-X como **1**, **2** y **3** (Tabla 1). La síntesis de **2** y **3** mostró una marcada dependencia de la estequiometria; mientras que **2** se obtuvo como el único producto en presencia de un exceso de cloruro de amonio y 0.5 equivalentes de $HMetf^+$, **3** también se obtuvo de una mezcla equimolar $NH_4VO_3/HMetf^+$, nuevamente en presencia de un exceso de cloruro de amonio (Esquema 2).

Tabla 1. Resumen de los datos cristalográficos y parámetros del refinamiento estructural de **1**, **2** y **3**.

	1	2	3
Empirical formula	C ₁₂ H ₅₅ N ₁₅ O ₃₆ V ₁₀	C ₈ H ₅₄ N ₁₂ O ₃₈ V ₁₀	C ₈ H ₄₂ N ₁₂ O ₃₂ V ₁₀
Formula weight	1495.11	1436.03	
Crystal system	Monoclinic	Monoclinic	Monoclinic
<i>T</i> (K)	293	293	150
Space group	<i>P</i> 2 ₁ / <i>n</i>	<i>P</i> 2 ₁ / <i>c</i>	<i>P</i> 2 ₁ / <i>n</i>
<i>a</i> (Å)	11.1676(3)	13.4564(5)	11.27786(18)
<i>b</i> (Å)	36.7129(7)	12.6517(4)	15.41508(17)
<i>c</i> (Å)	12.5122(3)	14.6302(6)	12.2675(2)
<i>β</i> (°)	112.323(3)	112.674(5)	113.8276(19)
Volume (Å ³)	4745.2(2)	2298.24(17)	1950.92(6)
<i>Z</i>	4	2	2
<i>D</i> _{calc} (g/cm ³)	2.093	2.075	2.261
<i>μ</i> (mm ⁻¹)	1.992	2.053	2.398
Crystal size (mm ³)	0.5 × 0.19 × 0.17	0.46 × 0.09 × 0.05	0.46 × 0.33 × 0.24
<i>θ</i> _{min} , <i>θ</i> _{max} (°)	3.0, 29.7	3.0, 26.4	3.2, 26.4
Reflections collected	52975	24242	41062
Independent reflections	12035	4683	3987
Parameters	775	387	369
Goodness-of-fit on <i>F</i> ²	1.10	1.07	1.10
Final <i>R</i> index [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]	0.0515	0.0320	0.0243
<i>wR</i> ₂ (all data)	0.1047	0.0984	0.0667
Largest diff. Peak and hole (eÅ ⁻³)	1.11, -0.68	0.95, -0.55	0.81, -0.51



Esquema 2. Ruta de síntesis para los compuestos **1**, **2** y **3** a partir de NH_4VO_3

El compuesto **1** es inestable al aire (después de unos días, los cristales cambian de color naranja a verde); sin embargo, los cristales se lograron mantener estables almacenados en la solución madre a 4°C por varios meses sin evidencia de descomposición. En contraste, el hidrato **3** es bastante estable al aire. Algo que resulta interesante es que los cristales obtenidos empleando ácido acético parecen ser más estables al aire que aquellos sintetizados con HCl al mismo valor de pH, incluso después de varios meses. Para evitar la hidrólisis del decavanadato, la cual se promueve por la presencia de HCl remanente en la superficie del material cristalino^{76,98} **1**, **2** y **3** se lavaron con 2-propanol frío. Este procedimiento produce buenos resultados, y **1** parece ser más estable durante dos a tres semanas.

Los espectros de **1**, **2** y **3** (Figura 16 y 17) exhiben una banda ancha que corresponde a la vibración de estiramiento del enlace O–H a $\tilde{\nu} = 3400\text{--}3300\text{ cm}^{-1}$ y una señal fuerte que corresponde a la vibración de estiramiento del enlace N–H en la región de $\tilde{\nu} = 3360\text{--}3170\text{ cm}^{-1}$. Para **1** y **2**, una banda a $\tilde{\nu} = 3491\text{ cm}^{-1}$ puede ser asociada a las moléculas de agua de cristalización, y dos bandas a $\tilde{\nu} = 3200\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ para **1-3** son atribuidas al estiramiento del enlace N–H. En el espectro de IR de **1-3**, dos absorciones

fuerzas a $\tilde{\nu} = 1690$ y 1640 cm^{-1} , pueden atribuirse a las vibraciones de flexión asimétricas de las aminas primarias, y las bandas de intensidad media encontradas a $\tilde{\nu} = 1450$ y 1423 cm^{-1} confirman la presencia de los dicaciones $\text{H}_2\text{Metf}^{2+}$; sin embargo, la vibración de flexión de los iones NH_4^+ para los compuestos **2** y **3** ubicadas a $\tilde{\nu} = 1635$ y 1402 cm^{-1} se traslapan con las vibraciones de flexión de los $\text{H}_2\text{Metf}^{2+99-102}$. La banda a $\tilde{\nu} = 960 \text{ cm}^{-1}$ para **1–3** se atribuye al modo de estiramiento de los enlaces terminales $\text{V}=\text{O}$ para el $[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{6-}$ e indica que esta especie no se encuentra protonada. Las vibraciones simétricas y asimétricas de los enlaces puente $\text{V}-\text{O}-\text{V}$ aparecen a $\tilde{\nu} = 830/750 \text{ cm}^{-1}$ y $580/540 \text{ cm}^{-1}$ ¹⁹²⁻

102.

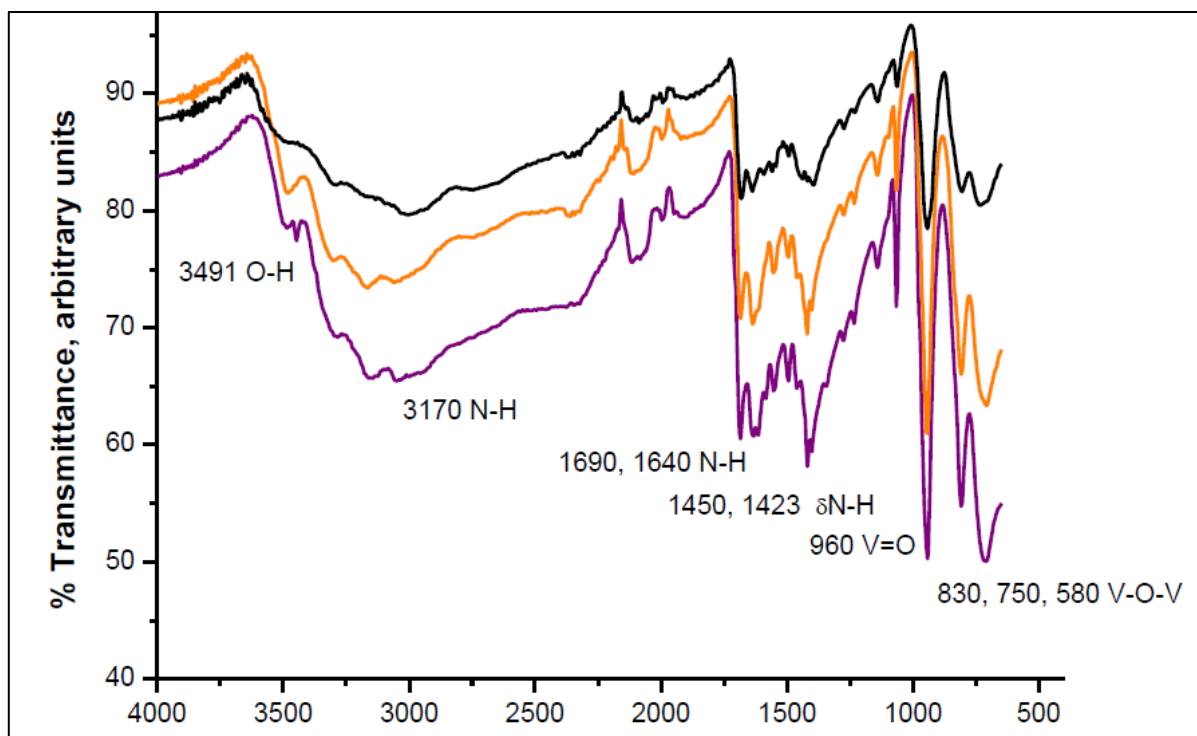


Figure 16. Espectros FT-IR de los compuestos (---)1, (---)2 y (---)3 en la zona de 3700-500 cm^{-1}

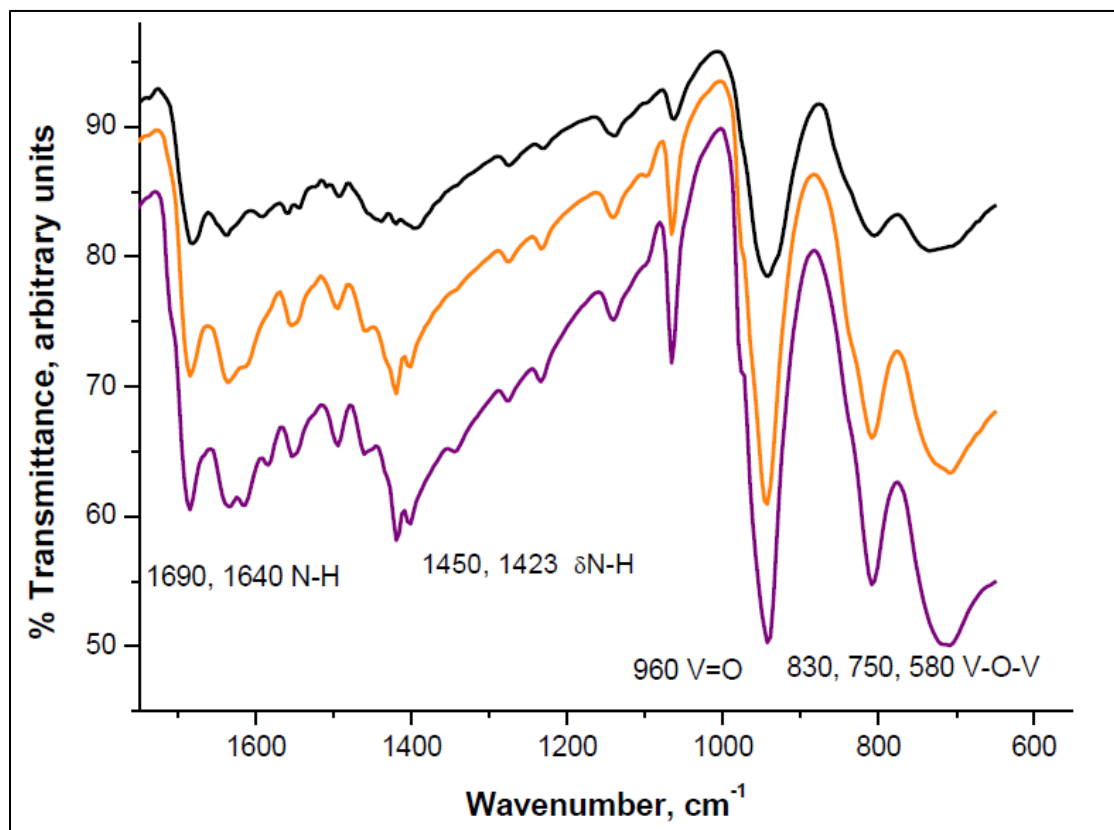


Figure 17. Espectros FT-IR de los compuestos (---)1, (---)2 y (---)3 en la zona de 1700-600 cm^{-1}

Los estudios térmicos (TGA) junto con los análisis elementales de los hidratos son consistentes con las formulaciones propuestas para **1**, **2** y **3** (Figura 18). El análisis térmico diferencial (DSC) para **1–3** confirma la existencia de diferentes números y tipos de moléculas de agua de cristalización en la red cristalina (Figura 19). El DSC para **1** muestra tres picos endotérmicos a 109, 135 y 163 °C, mientras que para **2** aparecen a 78 y 135 °C. Para **3**, solo se observa un pico en 157 °C¹⁰⁰⁻¹⁰¹. Los resultados de TGA para los tres compuestos muestran claramente que los procesos ocurren en varias etapas (Figura 8). Para **1**, que contiene ocho moléculas de agua es posible observar que cuatro moléculas de hidratación son removidas a 109 °C (encontrado 4.16%, calculado 4.82%), y las otras cuatro moléculas de agua remanentes son removidas a 163 °C (encontrado 9.85%, calculado 9,64%). Por lo tanto, el termograma de **1** puede ser dividido en un

proceso en varias etapas, como fue confirmado por los tres picos en el DSC; el primer pico exotérmico a 210 °C puede estar relacionado con la descomposición del compuesto, y el pico endotérmico a 221 °C^{103a} indica el punto de fusión y la remoción de una molécula diprotónada de metformina H_2Metf^{2+} (encontrado 16.14%, calculado 18.42%). Después de esta temperatura, otro pico endotérmico aparece en 304 °C, el cual puede estar relacionado con la liberación de una segunda molécula de metformina (encontrado 31.78 %, calculado 27.2%). La última etapa está caracterizada por una significativa pérdida de peso que finaliza a 500 °C, como se confirma por un pico exotérmico en el DSC; este pérdida de peso corresponde a la remoción de la tercer metformina H_2Metf^{2+} y al colapso del decavanadato para dar V_2O_5 (encontrado 45.01%, calculado 44.18%)⁹⁹⁻¹⁰³. El DSC y el TGA para **2** muestran una primera pérdida de peso a 78 °C que corresponde a la pérdida de cinco moléculas de agua (encontrado 6.23%, calculado 6.27%).

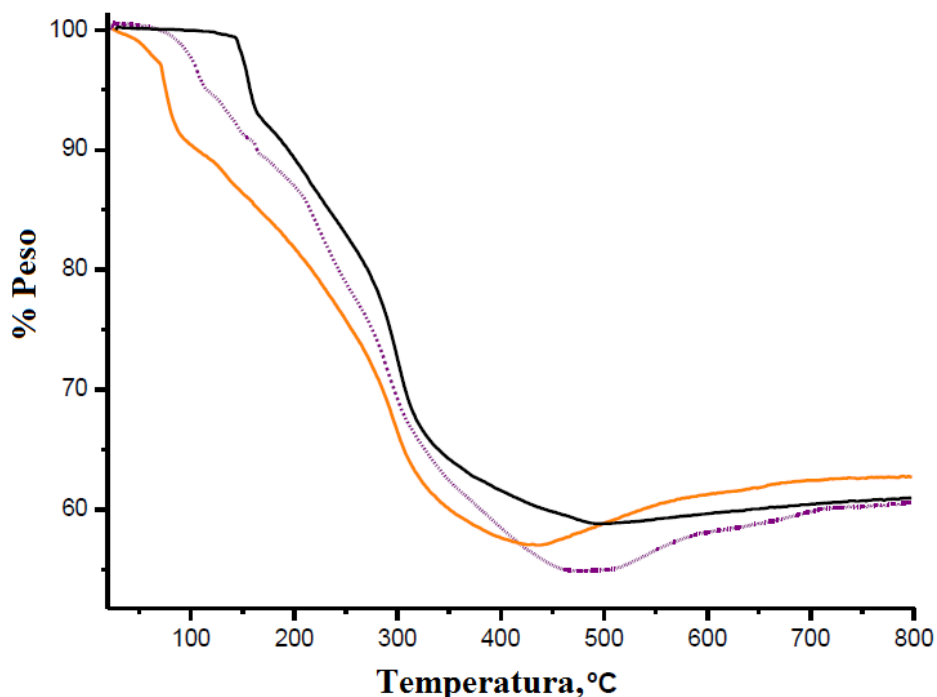


Figura 18. Análisis termogravimétrico para los compuestos (---)1, (---)2 and (---)3 a una velocidad de calentamiento a 25/10 °C/min

El DSC muestra un pico endotérmico a 135 °C, el cual puede corresponder a la pérdida de otras cinco moléculas de agua de hidratación (encontrado 12.23%, calculado 12.54%), y otro pico endotérmico a 304 °C puede estar relacionado a la superposición de dos etapas que ocurren a la misma temperatura; una corresponde a la pérdida de dos cationes $\text{H}_2\text{Metf}^{2+}$, y la segunda a la liberación de dos iones NH_4^+ (encontrado 33.34%, calculado 33.47)^{103b}. La descomposición térmica de **3** puede ser dividida en un proceso de cuatro etapas. En la primera etapa, cuatro moléculas de hidratación son removidas a 156 °C (encontrado 4.6%, calculado 5.43%), y en el segundo proceso de 221 a 270 °C, un catión $\text{H}_2\text{Metf}^{2+}$ es removido (encontrado 13.45%, calculado 15.31%). En la tercera etapa, dos iones NH_4^+ y una segunda $\text{H}_2\text{Metf}^{2+}$ son removidos por encima de 280 °C, y finaliza con un pico endotérmico a 303 °C (encontrado 28.67%, calculado 27.91%). El proceso termina con una pérdida de peso progresiva sin picos claros en el DSC hasta un pico exotérmico en 478 °C, en el cual ocurre el colapso del decavanadato⁹⁹⁻¹⁰³.

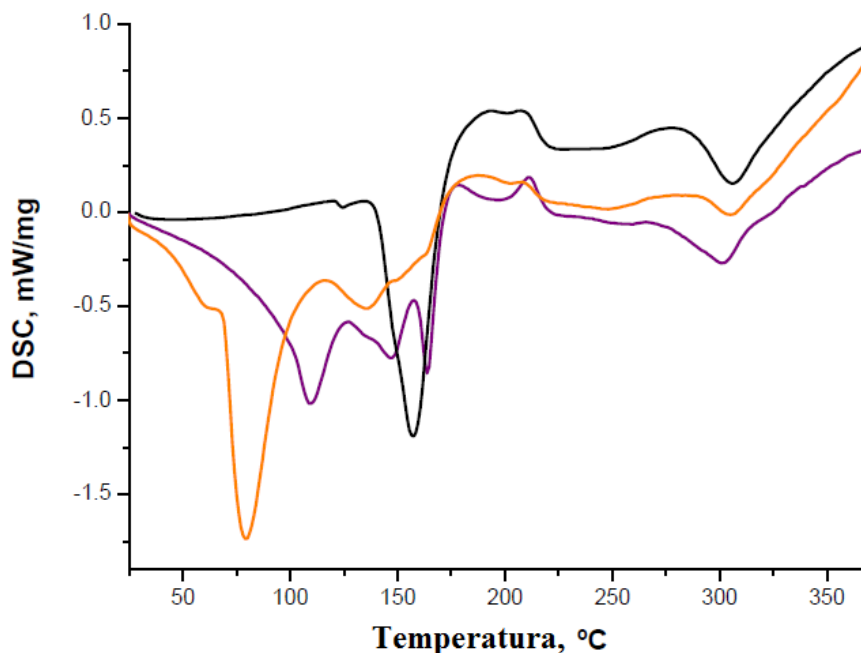


Figura 19. Análisis térmico diferencial (DSC) de los compuestos (---)1, (---)2 and (---)3 a una velocidad de calentamiento de 25/10 °C/min

4.2 Descripción de las estructuras 1, 2 y 3

En el compuesto **1**, la fórmula química $[C_4H_{13}N_5]_3[V_{10}O_{28}] \cdot 8H_2O$, coincide con la unidad asimétrica de la celda unitaria monoclinica (Figura 20). Esta es una situación poco común debido a la alta simetría que presenta el ion $[V_{10}O_{28}]^{6-}$, el cual tiene una fuerte tendencia a ser localizado en un centro de inversión en la mayoría de las estructuras cristalinas conocidas. Sin embargo, el anión se aproxima a la simetría puntual D_{2h} esperada, que incluye un centro de inversión no cristalográfico. Tres dicaciones H_2Metf^{2+} que balancean la carga del decavanadato y se encuentran en las inmediaciones del anión, como resultado de las fuerzas de Coulomb que surgen de las cargas iónicas. La unidad asimétrica se completa por ocho moléculas de agua, que se distribuyen entorno al ion decavanadato a distancias similares a las observadas para otros cationes.^{100,104-106}

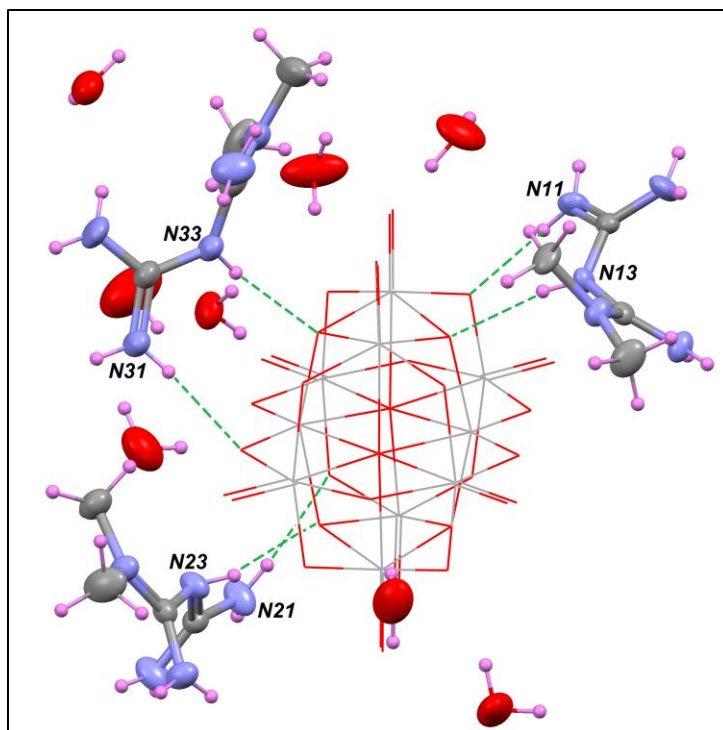


Figura 20. Unidad asimétrica de **1**. El anión $[V_{10}O_{28}]^{6-}$ es representado en estilo *wireframe*, los cationes y las moléculas de agua están dibujadas a un 50% de probabilidad de desplazamiento elipsoidal. Los principales enlaces de hidrógeno entre los cationes y el anión forman anillos $R_2^2(8)$ que son mostrados con líneas punteadas.

La resolución de los datos de rayos-X permitió una detección adecuada de todos los átomos de hidrogeno en los dicaciones H_2Metf^{2+} y, por lo tanto, los sitios en los cuales ocurre la protonación en estas moléculas: los tres grupos amino terminales se encuentran en la forma de grupos NH_2 , mientras que la amina secundaria central NH no se encuentra afectada en **1**. Así, ambos grupos imina $C=NH$ de la metformina¹⁰³ se encuentran protonados, como en el material de partida H_2Metf^{2+} . Esta forma tautomérica de H_2Metf^{2+} también se encuentra estabilizada en la sal con dinitrato, la cual ha sido caracterizada por difracción de rayos-X de monocristal¹⁰⁷. Como se observó anteriormente, bajo protonación, la conjugación de toda la molécula de metformina se rompe para dar un catión H_2Metf^{2+} que no presenta planaridad¹⁰⁸⁻¹⁰⁹. El catión se encuentra torcido sobre la funcionalidad central NH y el ángulo diedro entre la porción plana varia de 79,9(2) a 64.9(2) y 72.0(2)° para los cationes independientes N10, N20 y N30, respectivamente. Otra consecuencia de la perdida de conjugación para los cationes es que los dobles enlaces $N=C$ se encuentran parcialmente localizados, como se refleja por la longitud corta del enlace. Por ejemplo, en el catión N10, la longitud de enlace $N11=C12$ y $N15=C14$ es de 1.311(5) y 1.303(5) Å respectivamente y por lo tanto, pueden ser considerados como enlaces con un significativo carácter π .

Los reportes estructurales sobre sales con metformina diprotonada son bastante escasos comparados en los que se encuentra la metformina como monocation, sin embargo, han sido reportadas algunas sales con dinitrato^{107a}, sulfato, oxalato¹⁰⁸ y complejos con $[CuCl_4]^{2-}$ ¹⁰⁹. En estos compuestos, la protonación de la amina es idéntica a los obtenidos para los compuestos **1-3**, y la longitud del enlace $C=NH_2$ implicado en la protonación de los grupos imina están distribuidos alrededor del valor esperado de 1.31 Å con pequeñas desviaciones en el rango de incertidumbres experimentales. En contraste, un amplio rango de conformaciones parecen ser accesibles para el dication: el ángulo

diedro entre los grupos planos en el dication cubren el rango de 37-62°; esto permite que los grupos NH_2^+ se encuentren orientados en la estructura cristalina en forma tal que los enlaces de hidrógenos se formen. Esta característica de adaptabilidad para $\text{H}_2\text{Metf}_{2+}$ se mantiene en acción para **1–3**. Este punto no es realmente sorprendente, en vista de la fórmula de $\text{H}_2\text{Metf}_{2+}$, la cual incluye siete átomos donadores de H potenciales para enlaces de hidrogeno y ningún aceptor.

La flexibilidad conformacional que presenta el catión $\text{H}_2\text{Metf}^{2+}$ es favorable para el anclaje de los cationes en la superficie del anión decavanadato. Cada catión independiente forma dos enlaces de hidrogeno con el anión a través del grupo central NH y un grupo NH_2 en la periferia como donadores, y los átomos $\mu_2\text{-O}$ y $\mu_3\text{-O}$ son los aceptores para estas interacciones, las cuales producen un sistema con anillos $R_2^2(8)^{110}$.

Por remplazo de un dication metforminium(2+) por dos iones NH_4^+ , se obtienen los hidratos $[\text{C}_4\text{H}_{13}\text{N}_5]_2[\text{NH}_4]_2[\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (**2**) y $[\text{C}_4\text{H}_{13}\text{N}_5]_2[\text{NH}_4]_2[\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**3**) los cuales solo difieren por el contenido de moléculas de agua. Aunque estos dos compuestos cristalizan en el mismo grupo espacial que **1**, una primer diferencia es que el $[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{6-}$ se encuentra en un centro de inversión para **2** y **3**. Los cationes se encuentran enlazados mediante enlaces de hidrógeno al anión decavanadato a través de anillos $R_2^2(8)$. Un estudio de los patrones 3D formados por los enlaces de hidrógeno en las estructuras **2** y **3** es complicado, en parte porque una molécula de agua esta desordenada en **2**, mientras que el catión NH_4^+ está dividido sobre dos sitios en **3**. Virtualmente todos los amonios, aminas y los grupos hidroxilo están comprometidos en enlaces de hidrogeno. En particular, los cationes NH_4^+ interaccionan con moléculas de agua y con decavanadatos en **2** y **3**. Por ello, la presencia de cationes tetraédricos NH_4^+ dentro de la red resulta en cuatro nuevos grupos NH donadores con diferente orientación comparados con aquellos grupos donadores encontrados en los dicaciones $\text{H}_2\text{Metf}^{2+}$. Esto otorga a esta familia de polioxovanadatos (POV's) mayor variabilidad en la composición y naturaleza de las

interacciones de los enlaces de hidrógeno. Sin embargo, los dicaciones $\text{H}_2\text{Metf}^{2+}$ contienen formalmente siete grupos donadores NH y esto maximiza la capacidad de interactuar por enlaces de hidrógeno con dos o tres iones decavanadatos y moléculas de agua; por lo tanto, los enlaces de hidrógeno juegan un rol fundamental en estas tres estructuras.

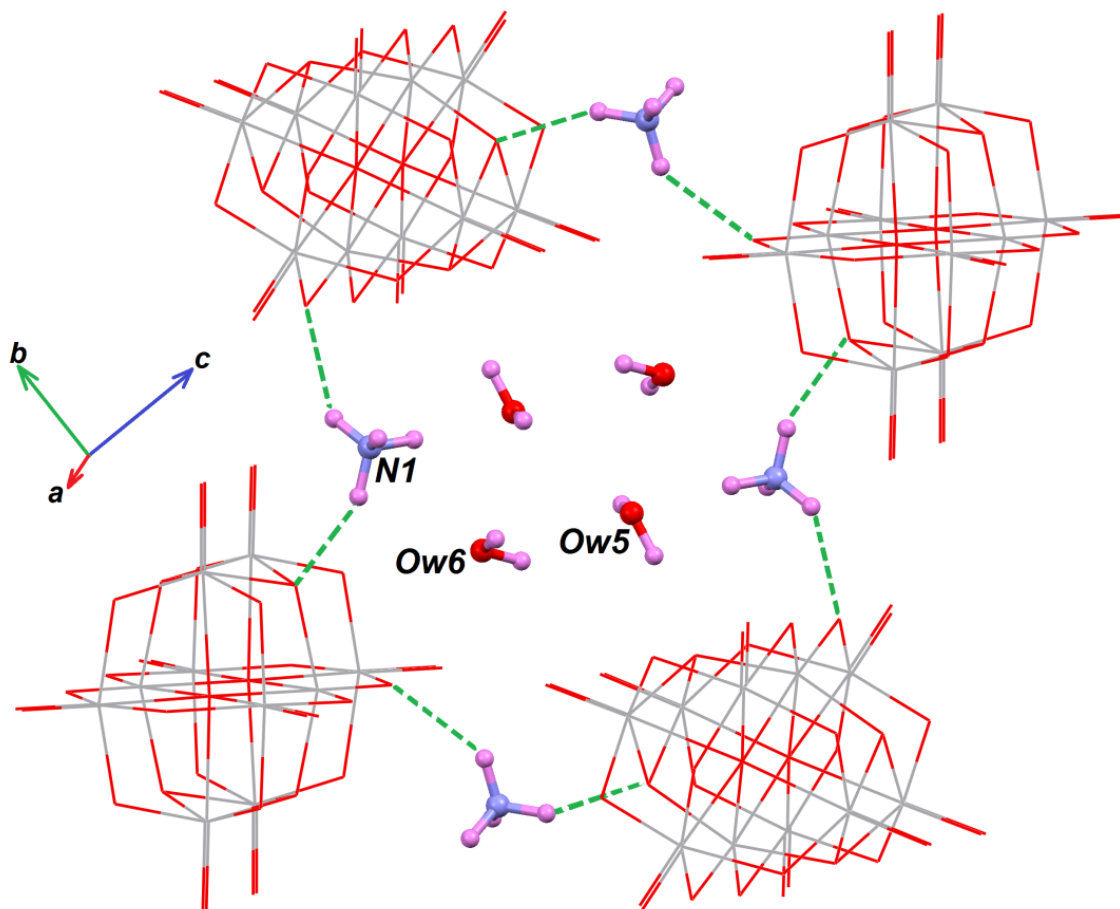


Figura 21. Parte de la estructura cristalina de **2** mostrando el anillo $R_8^3(28)$ formado a través de enlaces de hidrógeno (líneas punteadas) entre los cationes amonio y cuatro aniones $[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{6-}$. Cada molécula de agua incluida dentro del anillo tiene un factor de ocupación de $\frac{1}{2}$. Un centro de inversión cristalográfico se encuentra en el centro de la figura.

Aunque varias estructuras de decavanadatos con cationes orgánicos han sido reportados, la mayoría de ellos son una combinación de monocationes y decavanadatos protonados o desprotonados de acuerdo a la fórmula $[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{6-}$. En particular, la variación

del contenido de agua en los diferentes compuestos en este trabajo podría ser un factor que promueve el pseudo-polimorfismo en **2** y **3**. Aunque el presente trabajo está basado en un reducido número de ejemplos, una regla general es que la mezcla de cationes con múltiples grupos donadores para enlaces de hidrógeno, tales como los derivados de biguanida, hace fuertes las interacciones con los cúmulos de vanadio.

Los cálculos de suma de enlace valencia¹¹¹ (BVS, por sus siglas en inglés) para los centros de vanadio en los tres compuestos caracterizados estructuralmente por rayos-X se encuentran en el rango de 5.025 a 5.090 unidades de valencia (u.v.); por lo tanto, los átomos de vanadio se encuentran completamente oxidados V^{5+} . Para los sitios μ_2 -oxo y μ_3 -oxo, los cuales son sitios potenciales para protonación en los $[V_{10}O_{28}]^{6-}$, los cálculos de BVS son cercanos a los valores esperados de 2 u.v. para los aniones sin protonar. Sin embargo, se logró observar una ligera desviación. En **1**, el sitio μ_3 -oxo (O26) tiene un valor BVS de 1.73 u.v., el cual es similar al que presenta para el sitio μ_2 -oxo (O7) en **2** de 1.74. En **3**, el cual se obtuvo a un pH de 5, el valor de BVS calculado para O6 (sitio μ_2 -oxo) es de 1.57. Estas desviaciones observadas podrían reflejar una parcial protonación del anión principalmente a valores bajos de pH. De hecho, los átomos de O con valores bajos de BVS se encuentran comprometidos en contactos cortos con los cationes H_2Metf^{2+} . Así, al menos parcialmente podemos hablar de una competencia (o intercambio) del protón entre los cationes y el decavanadato para formar cúmulos del tipo $[H_xV_{10}O_{28}]^{6-x}$. Sin embargo, los mapas de densidad de Fourier muestran que la densidad electrónica para los átomos de H están distribuidos sobre los cationes más que sobre los átomos de O de los decavanadatos. En algunos casos, sin embargo, en el que el compuesto se obtuvo a un pH tan bajo como 2,9 es posible formular parte del cúmulo como $[H_xV_{10}O_{28}]^{6-x}$ con x muy cercano a 0, esto sería consistente con las pequeñas desviaciones de los valores esperados de BVS para los átomos de oxígeno puente.

Continuando con la descripción supramolecular, un ejemplo para **2** es la formación de anillos $R_8^8(22)$ entre cuatro decavanadatos y cuatro cationes NH_4^+ (Figura 10). Los cationes sirven de puentes entre los aniones para formar un anillo casi plano, y los cationes amonio están orientados para formar enlaces de hidrogeno con las moléculas de agua desordenadas que completan el anillo. Un anillo similar $R_8^8(32)$ se encuentra en la estructura **3**, en la cual dos cationes $\text{H}_2\text{Metf}^{2+}$ y dos iones amonio sirven de puentes entre cuatro decavanadatos (Figura 22).

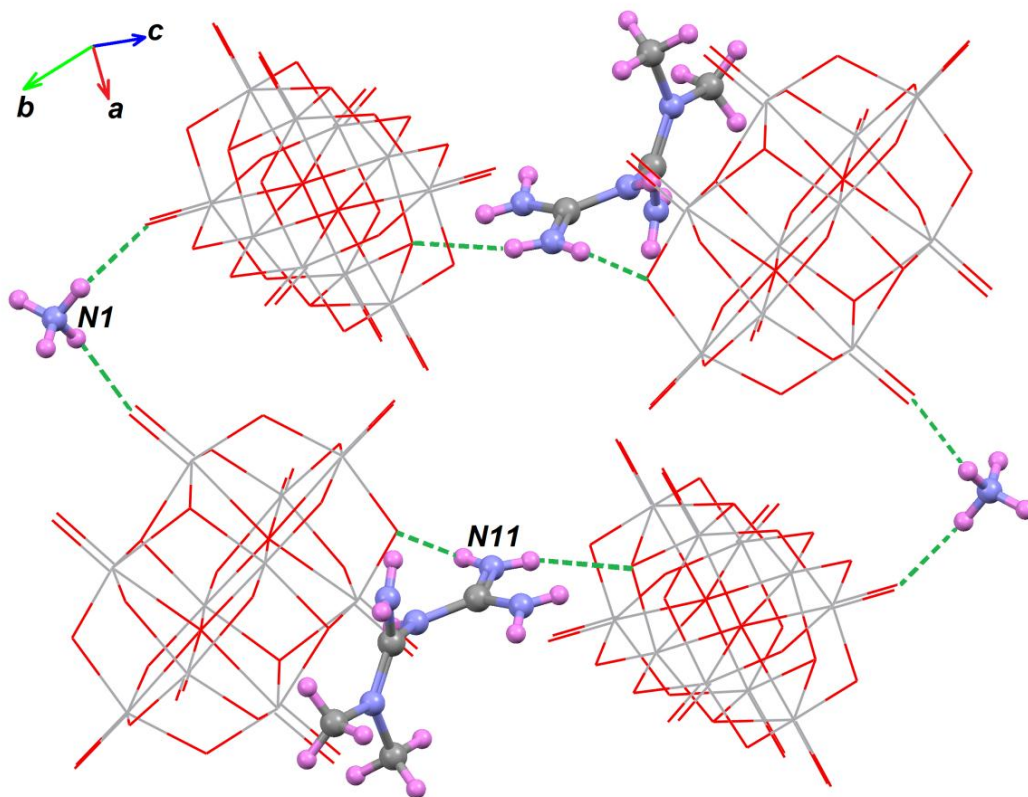


Figura 22. Una parte de la estructura cristalina de **3** mostrando el anillo $R_8^8(32)$ formado a través de enlaces de hidrogeno entre cuatro cationes NH_4^+ y cuatro $[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{6-}$. Un centro de inversión cristalográfico se encuentra en el centro de la imagen.

4.3 SINTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE 4 ,5 y 6

El primer intento por sintetizar un compuesto basado en el ion $[V_{10}O_{28}]^{6-}$ y cationes de 4-Dimetilaminopiridina (4-DMAP) fue explorado por nuestro grupo. La síntesis se llevó a cabo con NH_4VO_3 y se obtuvo un compuesto de fórmula molecular: $[(CH_3)_2NC_5H_4NH]_4(NH_4)_2[V_{10}O_{28}] \cdot 8H_2O$ ¹⁹. Con la intención de reemplazar los iones amonio se llevó a cabo la misma reacción pero empleando como fuente de vanadio metavanadato de sodio $NaVO_3$. En principio, se esperaba que los iones Na^+ pudieran estar presentes en forma de acuocomplejos $[Na(H_2O)_n]^x$, como se ha observado para algunas sales con decavanadatos, sin embargo, con $NaVO_3$ y 4-DMAP en medio ácido (pH~6), se observó la cristalización de tres fases cristalinas en la misma reacción. Los tres cristales fueron separados y formulados por difracción de rayos-X de monocristal como: $[HDMAP]_6[V_{10}O_{28}] \cdot 16H_2O$ (**4**), $[HDMAP]_6[V_{10}O_{28}] \cdot H_2O$ (**5**), $[HDMAP]_4[H_2V_{10}O_{28}] \cdot 5H_2O$ (**6**) ($HDMAP^+ = 4$ -Dimetilaminopiridinium) (Tabla 2). (**5**) y (**6**) fueron obtenidos en forma aislada con metavanadato de potasio KVO_3 controlando la temperatura de cristalización. (**4**) se obtuvo a 10 °C y el compuesto (**5**) se obtuvo a temperatura ambiente. El compuesto (**6**) se obtuvo como subproducto de la reacción llevada a cabo con $NaVO_3$ y únicamente se ha caracterizado a través de difracción de rayos-X de monocristal y por espectroscopia infrarroja. Como se ha observado en los compuestos con H_2Metf^{2+} es común la formación de compuestos que difieran únicamente en la cantidad de moléculas de agua. Este pseudopolimorfismo también se ha observado para los compuestos con los cationes HDMAP. Sin embargo, la formación del compuesto con el decavanadato protonado (**6**) fue inesperada debido a que el valor de pH inicial era próximo a 6 y la especie $[H_2V_{10}O_{28}]^{4-}$ generalmente se encuentra a un rango de pH cercano a 4.¹¹²

Tabla 2. Resumen de los datos cristalográficos y parámetros del refinamiento estructural de **4**, **5** y **6**.

	4	5	6
Empirical formula	C ₁₂ H ₄₀ N ₆ O ₂₂ V ₅	C ₄₂ H ₆₈ N ₁₂ O ₂₉ V ₁₀	C ₂₈ H ₅₆ N ₈ O ₃₃ V ₁₀
Formula weight	1966.50	1714.48	1542.20
Crystal system	Triclinic	Monoclinic	Monoclinic
<i>T</i> (K)	293	298	298
Space group	<i>P</i> -1	<i>P</i> 2 ₁ / <i>n</i>	<i>P</i> 2 ₁ / <i>n</i>
<i>a</i> (Å)	11.2785(3)	11.0212(2)	10.93249(9)
<i>b</i> (Å)	11.7777(3)	23.845(4)	9.91005(11)
<i>c</i> (Å)	15.0569(4)	12.20887(19)	24.12328(19)
α (°)	93.4088 (19)	90	90
β (°)	102.469 (2)	103.3412(17)	90.3898(8)
γ (°)	100.691(2)	90	113.8276(19)
Volume (Å ³)	1908.65 (8)	3122.0(5)	
<i>Z</i>	2	2	2
μ (mm ⁻¹)	1.268	12.794	15.226
Crystal size (mm ³)	0.5 × 0.19 × 0.17		
Reflections collected	42889	42521	
Independent reflections	12035	4683	4217
Parameters	523	445	372
Goodness-of-fit on <i>F</i> ²	1.045	1.07	
Final <i>R</i> index [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]	0.0359	0.044	0.030
<i>wR</i> ₂ (all data)	0.0566	0.127	0.0667
Largest diff. Peak and hole (eÅ ⁻³)	0.66, -0.74		

Los espectros de infrarrojo para los compuestos **4–6** presentan bandas bastantes similares. En **(4)** la banda de estiramiento O–H de las moléculas de agua en 3400 cm^{-1} aparece más ensanchada que en **(5)** y **(6)** debido a que es el hidrato que presenta un mayor contenido de agua. Para **(5)** esta banda aparece como una señal muy débil y en **(6)** esta región está acompañada de vibraciones que pueden corresponder a las interacciones donador-aceptor O–H...O entre dímeros formados por los $[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{6-}$. Las bandas IR dentro del rango de $3000\text{--}2900\text{ cm}^{-1}$ son asignadas a los modos de estiramiento de los grupos CH_3 de los cationes HDMAP^{113} . En los tres compuestos, la región comprendida entre $1650\text{ a }1050\text{ cm}^{-1}$ engloba los modos de vibración de la parte orgánica, los tres espectros presentan ligeras diferencias en cuanto a los desplazamientos. El estiramiento del enlace aromático C=C, conocido como estiramiento de semicírculo muestra un pico intenso alrededor de 1643 cm^{-1} . Las bandas a 1332 y 1384 cm^{-1} son adscritas a las vibraciones de estiramiento C=N y C–N respectivamente. Las bandas a 1223 y 1398 cm^{-1} se deben a flexiones en el plano C–H.¹¹³⁻¹¹⁴ El modo de vibración de estiramiento simétrico de los enlaces terminales V=O se observa para **(4)** y **(5)** en la región de 950 cm^{-1} y para **(6)** en 965 cm^{-1} , el ligero desplazamiento en **(6)** se debe que el oxígeno terminal O(3) se encuentra en posición trans respecto al átomo de oxígeno puente protonado (H)O–V, la influencia de la protonación en el anión decavanadato acorta la distancia de enlace terminal V=O y alarga la distancia del enlace V–O(8), lo que afecta la constante de fuerza y por tanto el desplazamiento en la señal¹¹². Para **(4)** y **(5)** se observan dos señales de intensidad fuerte en el rango de $820\text{--}732\text{ cm}^{-1}$ y que corresponden al modo de vibración asimétrico de los enlaces puente V–O_b. Un dato importante aquí, es que los desplazamientos en **(4–6)** indican que el anión $[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{6-}$ está ligeramente afectado por las interacciones catión-anión y por la cantidad de agua presente en ambas estructuras. Sin embargo, en **(6)** se observa claramente que el

esqueleto del polioxovanadato modifica ligeramente su estructura debido a la protonación. El grado de desdoblamiento en **(6)** indica que el anión decavanadato se encuentra protonado. Dos señales de intensidad fuerte en 849 y 813 cm^{-1} corresponden a los modos de vibración V–O–V y una de intensidad débil en la región de 605 cm^{-1} indica la protonación. Las señales alrededor de 400 cm^{-1} para los tres complejos son atribuidas a los modos de deformación de los grupos puente V–O_b.⁹²⁻¹⁰² Los espectros de infrarrojo para **(4–6)** van de acuerdo a las estructuras cristalinas obtenidas por rayos-X.

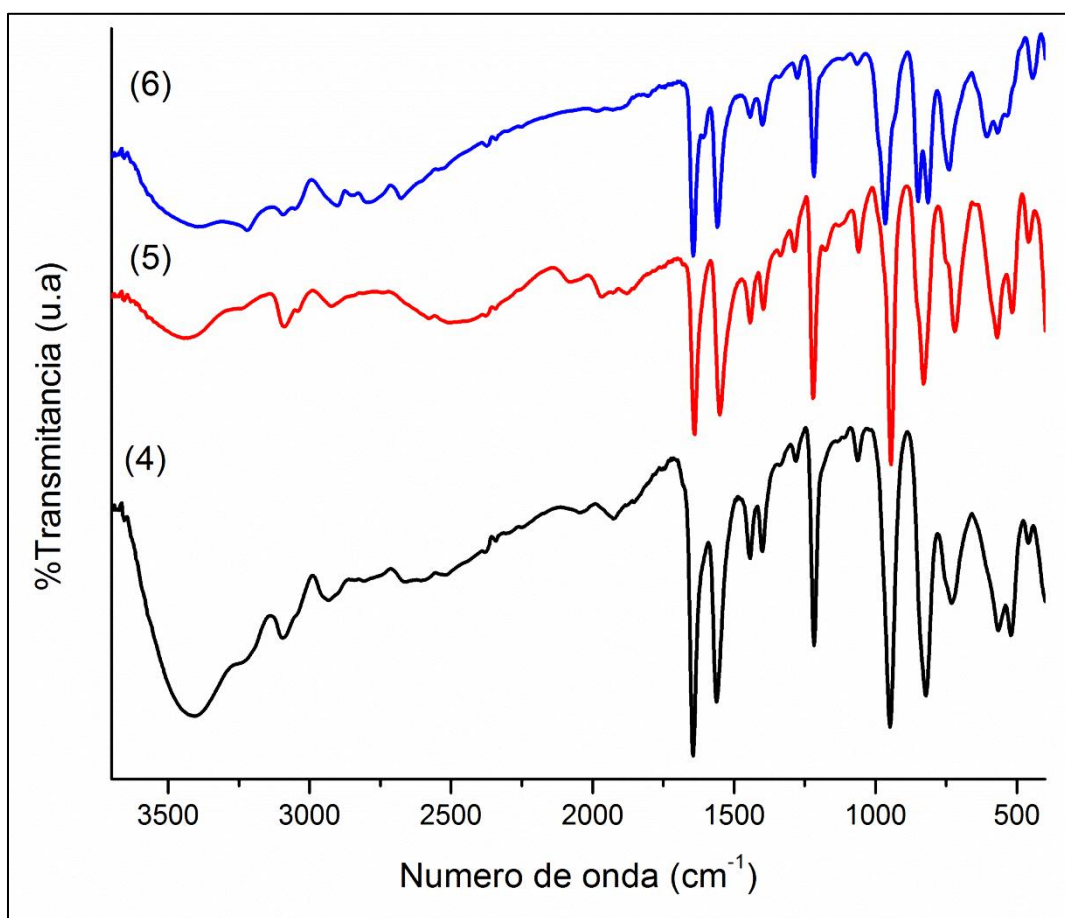


Figure 23. Espectros FT-IR de los compuestos $[\text{HDMAP}]_6[\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 16\text{H}_2\text{O}$ **(4)**, $[\text{HDMAP}]_6[\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot \text{H}_2\text{O}$ **(5)**, $[\text{HDMAP}]_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ **(6)** en la zona de 3500-450 cm^{-1}

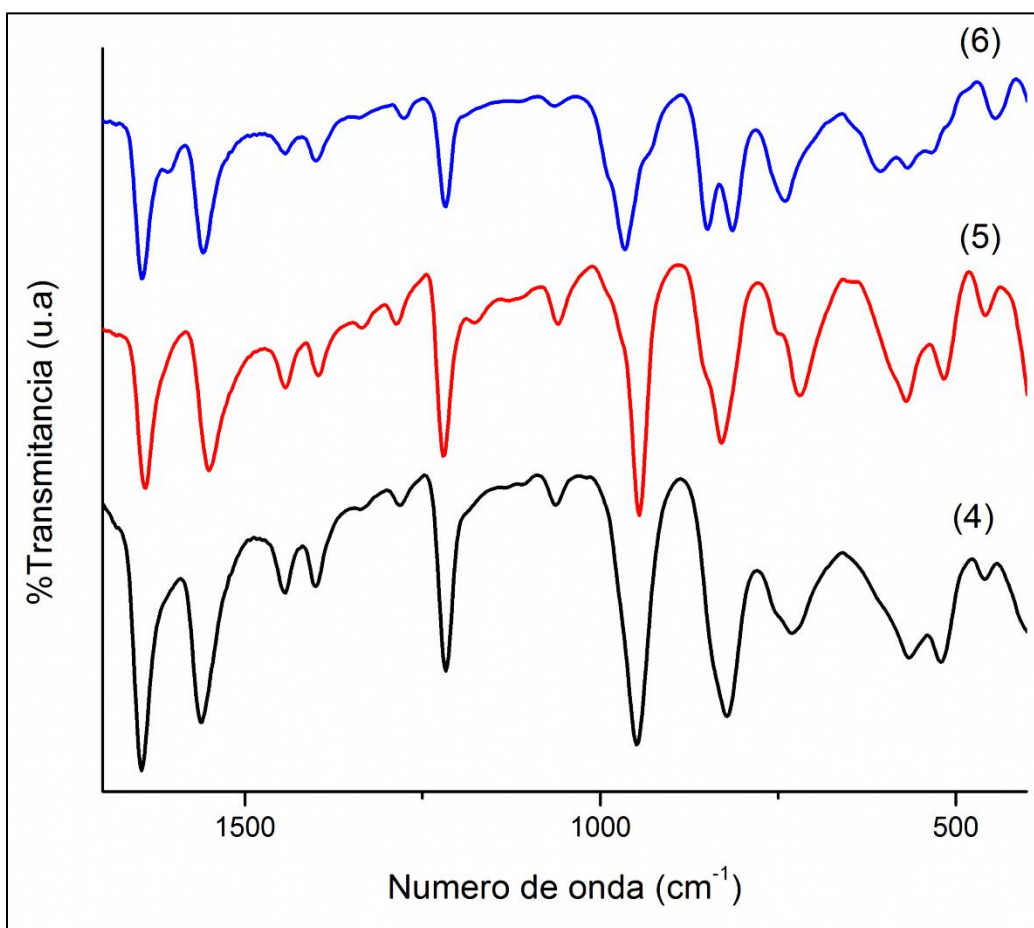


Figure 24. Espectros FT-IR de los compuestos $[\text{HDMAP}]_6[\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 16\text{H}_2\text{O}$ **(4)**, $[\text{HDMAP}]_6[\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot \text{H}_2\text{O}$ **(5)**, $[\text{HDMAP}]_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ **(6)** en la zona de $1700\text{-}450\text{ cm}^{-1}$

La primera etapa en la curva termo-analítica para el compuesto $[\text{HDMAP}]_6[\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 16\text{H}_2\text{O}$ **(4)** va desde $40\text{-}90^\circ\text{C}$ (Figura 24). Lo que está indicando claramente una pérdida de las moléculas de agua de cristalización. Sin embargo, esta pérdida de aproximadamente 10% es más baja que el valor esperado de 14.24%. Esto se debe a una rápida pérdida del disolvente. Este resultado va de acuerdo con los datos de análisis elemental. El inicio de pérdida de masa coincide con un pico endotérmico en el DSC a 70°C que corrobora la pérdida de las moléculas de agua de cristalización. La segunda etapa comienza

aproximadamente a 195 °C. Es claro esperar que en esta etapa ocurra una descomposición y pérdida parcial de los grupos orgánicos, como se puede corroborar por un pico en el DSC a 210 °C. Este valor es relativamente alto comparado con el punto de fusión de la amina 4-DMAP de 113°C, lo que está indicando la fuerte asociación entre los aniones $[V_{10}O_{28}]^{6-}$ y los cationes HDMAP. Sin embargo, sobre 250 °C no se puede asignar la pérdida de masa únicamente a la parte orgánica, debido a que a esta temperatura se observan cambios en la estructura del polianión. Comparando el espectro IR de **(4)** con el intermediario obtenido a 250 °C (Ver, Anexo A) se pueden observar cambios en las señales del $[V_{10}O_{28}]^{6-}$, lo cual está indicando la descomposición de la caja y la consecuente formación de productos posiblemente conteniendo óxidos de valencia mixta.^{100a,115,116} A 340°C se ha perdido cerca del 30% del total de la muestra. El intermediario obtenido a 380 °C indica cambios respecto al espécimen calentado a 250 °C. Las señales que van de 500-1000 cm^{-1} indican el colapso total del ion decavanadato y la formación de V_2O_5 con trazas de partículas orgánicas.¹¹⁷⁻¹¹⁸

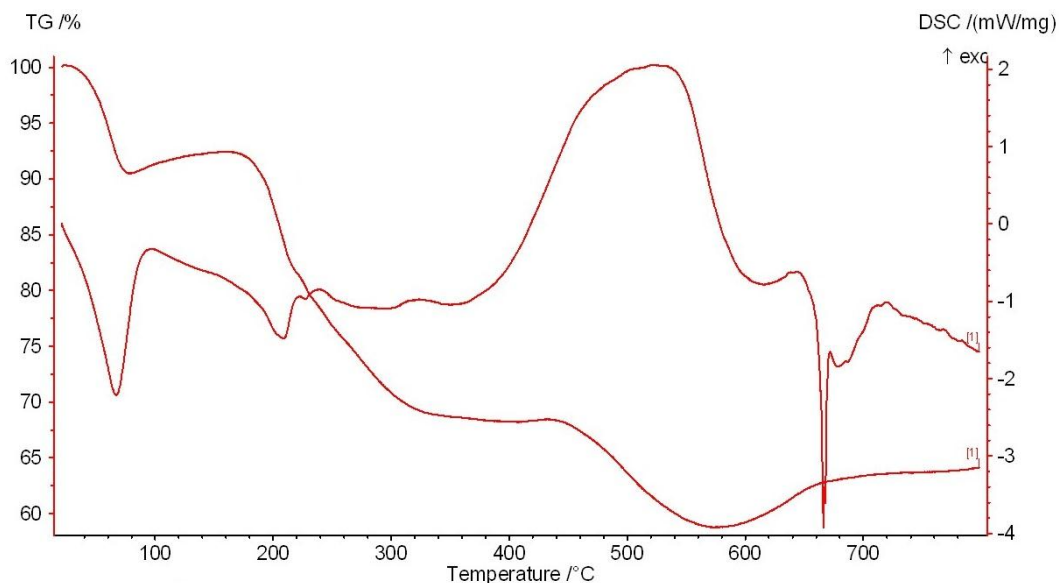


Figura 25. TGA/DSC para el compuesto $[HDMAP]_6[V_{10}O_{28}] \cdot 16H_2O$ **(4)**

El compuesto **(5)** es estable hasta 209 °C. En la primera etapa se observa un pérdida de masa de aproximadamente 20% que corresponde a la pérdida de tres cationes [HDMAP]⁺ (encontrado 20%, calculado 18.6 %). Esta pérdida de masa coincide con un pico endotérmico a 220 °C en el DSC. Sobre 250 °C se observa un comportamiento similar que en **(4)**, y los espectros IR de los intermediarios a 250 y 380 °C son muy similares con los obtenidos para el compuesto **(4)** (Ver, Anexo A).

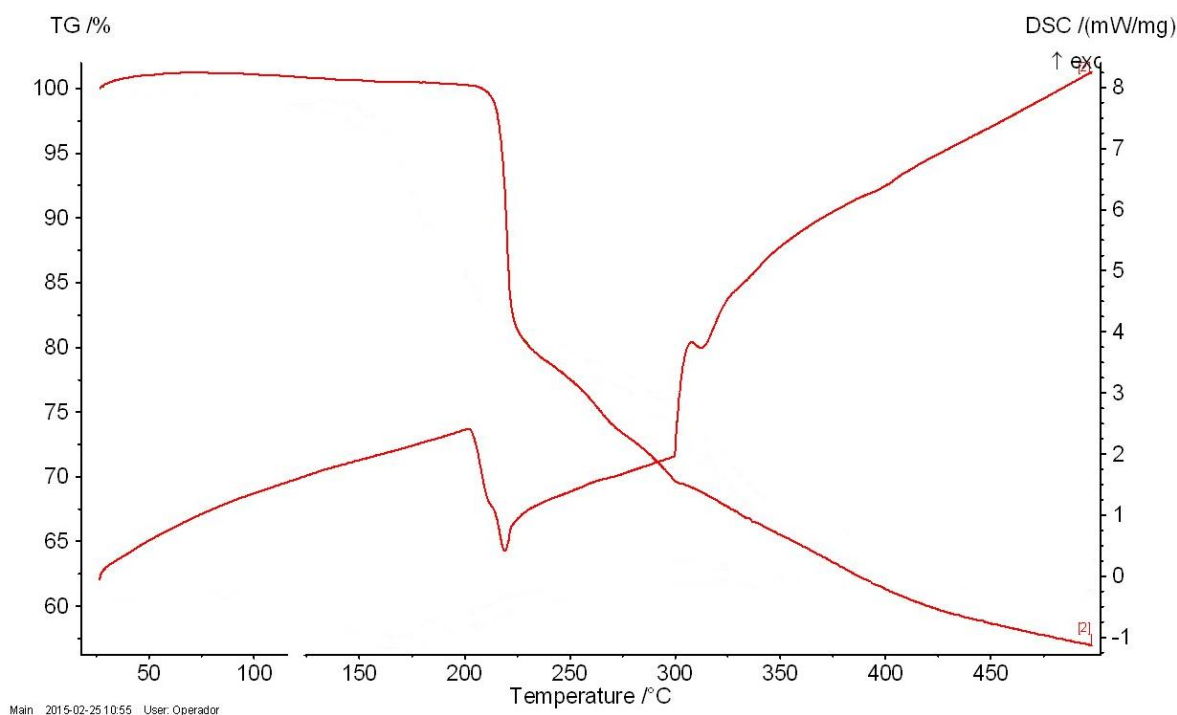


Figura 26. TGA/DSC para el compuesto [HDMAP]₆[V₁₀O₂₈]⁶⁻·H₂O **(5)**

4.4 Descripción estructural de 4, 5 y 6

El compuesto **(4)**, (HDMAP)₆[V₁₀O₂₈]⁶⁻·16H₂O, cristaliza en una celda triclinica, con el anión decavanadato [V₁₀O₂₈]⁶⁻ situado sobre un centro de inversión, mientras que tres cationes independientes HDMAP⁺ y ocho moléculas de agua están situados en posiciones generales (Figura 26). Ninguna evidencia fue observada que haya afectado el desorden

de las posiciones de las moléculas de agua durante el modelo de refinamiento, como se refleja en los parámetros homogéneos de desplazamiento elipsoidal para estas moléculas. La densidad electrónica residual es de hecho baja para datos a temperatura ambiente, ca. $0.40 \text{ e}/\text{Å}^3$, y la calidad de los datos de difracción de rayos-X fue suficientemente alta para determinar la orientación adecuada de todas las moléculas de agua, los átomos de H fueron claramente visibles en los mapas diferenciales, así como los átomos de H en los fragmentos protonados de la DMAP. La estructura cristalina resultante puede ser considerada como un estado de agregación muy eficiente, evidenciado por el alto índice de empaquetamiento del cristal, $C_k = 0.722$.¹¹⁹

Los tres cationes independientes HDMAP interactúan fuertemente con los $[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{6-}$ vía enlaces de hidrogeno N–H...O, en los que están implicados los anillos de piridina protonados que funcionan como grupos donadores y los tres grupos oxo del decavanadato como aceptores (Figura 27 y Tabla 3). Cada anión en el cristal está encapsulado por seis cationes, formando una estable, entidad neutra. Este resultado es confirmado por cálculos de suma de enlace valencia (BSV)¹¹¹ para los cinco sitios independientes de vanadio, los cuales están en el rango de 5.05-5.09 u.v. Se alcanza más estabilidad a través de la disposición de estos componentes en el cristal, debido a las interacciones de apilamiento aromático que se encuentran orientadas en la dirección $[0\bar{1}1]$ (ver Figura 27, recuadro). Los sistemas π de la piridina son casi paralelos a lo largo del apilamiento, y las separaciones $\pi \cdots \pi$, que van de 3.58 a 3.89 Å, son suficientemente cortas para asegurar la estabilización de las fuertes interacciones.¹²⁰ Este empaquetamiento es favorecido por el carácter plano del catión HDMAP, previamente observado en varias sales con cloruro¹²¹⁻¹²², picrato¹²³ o perclorato¹²⁴, además de otras. De hecho, el catión HDMAP ha sido cristalizado con una amplia variedad de aniones, aunque solo una estructura cristalina con un polioxometalato es conocido hasta la fecha.¹⁹

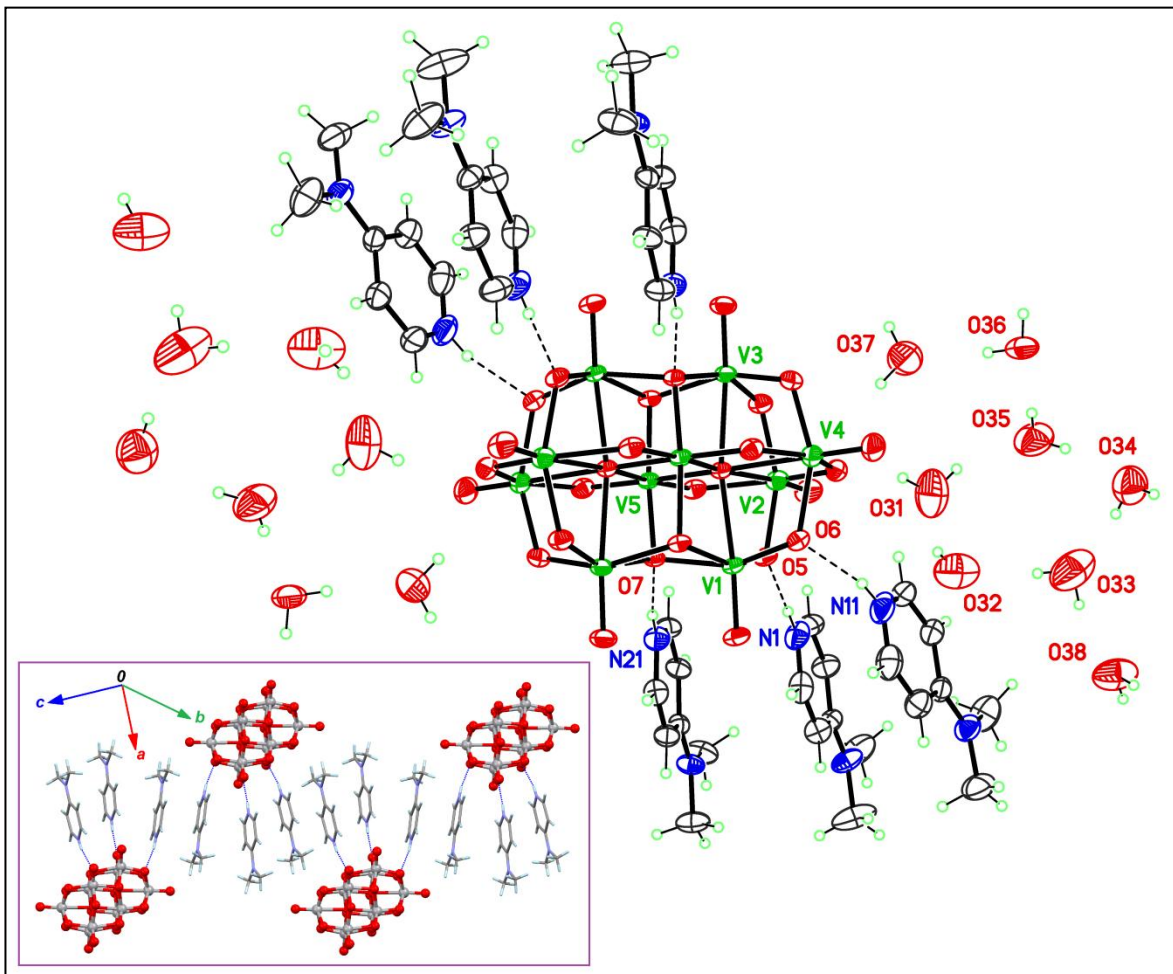


Figura 27. Celda unitaria del compuesto **4**, $(\text{HDMAP})_6[\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 16\text{H}_2\text{O}$, con elipsoides vibracionales al 50% de probabilidad. Los principales átomos están etiquetados en la unidad asimétrica, y la celda completa es generada por el código de simetría 2-x, 2-y, 2-z. Las líneas punteadas representan los enlaces de H entre los cationes y aniones. El recuadro representa una parte de la estructura cristalina, omitiendo todas las moléculas de agua de la red. La orientación de esta proyección evidencia el apilamiento de los cationes en el cristal.

Tabla 3. Enlaces de hidrogeno en la estructura cristalina de **4**, $(\text{HDMAP})_6[\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 16\text{H}_2\text{O}$

H bond $D-H \dots A$	$H \dots A$ (Å)	$D-H \dots A$ (°)	Symmetry for A
Interactions $\text{HDMAP}^+ / [\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{6-}$			
N1–H1...O5	1.94(3)	170(3)	x, y, z
N11–H11...O6	1.97(3)	166(3)	x, y, z
N21–H21...O7	1.94(3)	168(3)	x, y, z
Interactions $\text{H}_2\text{O} / \text{H}_2\text{O}$ building the $C[R(10)R(12)]$ network			
O31–H31B...O35	1.98(3)	153(6)	x, y, z
O32–H32B...O31	1.99(3)	151(5)	x, y, z
O33–H33A...O32	1.99(2)	173(6)	x, y, z
O33–H33B...O38	1.92(2)	164(5)	x, y, z
O34–H34A...O36	2.10(2)	160(5)	1-x, 3-y, 1-z
O34–H34B...O33	1.94(2)	168(5)	x, y, z
O35–H35A...O36	1.959(18)	177(5)	x, y, z
O35–H35B...O34	1.96(2)	164(5)	x, y, z
O36–H36B...O37	1.94(2)	166(3)	x, y, z
O38–H38A...O32	2.19(2)	162(5)	-x, 2-y, 1-z
Interactions $\text{H}_2\text{O} / [\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{6-}$			
O31–H31A...O2	2.28(3)	141(4)	x, y, z
O32–H32A...O13	2.11(2)	166(5)	-1+x, y, z
O36–H36A...O1	1.948(18)	178(3)	x, 1+y, z
O37–H37A...O12	2.31(2)	163(5)	x, y, z
O37–H37B...O3	2.25(3)	144(4)	2-x, 3-y, 2-z
O38–H38B...O6	1.96(2)	173(5)	1-x, 2-y, 1-z

La asociación $(\text{HDMAP})_6[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]$ ofrece una entidad anisotrópica, la cual, una vez empacada en el cristal triclinico, deja casi un 20% de volumen vacío en la celda unitaria. Estos huecos son ocupados por las moléculas de agua, dando una alta formula hidratada, con un proporción agua/POV = 16. Una revisión de la CSD¹²⁵ muestra que las estructura con mayor contenido de agua para las estructuras basadas en $[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{6-}$ presentan formulas con agua/POV = 20¹²⁶ y agua/POV = 15.¹²⁷ Ambos compuestos tienen complejos esquemas para los enlaces de hidrogeno de las moléculas de agua, debido a que los átomos de H no fueron localizados formalmente en estas estructuras, y el desorden afecta los sitios de agua en la red. En contraste, en el compuesto **4**, la estructura supramolecular formada por las 16 moléculas de agua está claramente definida

Las moléculas de agua O31 a O35 forman un anillo $R_5^5(10)^{110}$ en el cual participan cinco enlaces de hidrogeno no relacionados por simetría. En otras palabras, este patrón presenta una estructura supramolecular de nivel 5, caracterizado por un grafo simplificado¹ basado en un camino orientado $R(\vec{a}\vec{b}\vec{c}\vec{d}\vec{e})$, de acuerdo a la nomenclatura de Samuel Motherwell.¹²⁸ Este anillo esta fusionado con otros dos anillos centrosimétricos más grandes con el descriptor $R_6^4(12)$. Cada anillo está formado por seis moléculas de agua: O34, O35, O36, O34ⁱ, O35ⁱ y O36ⁱ (código de simetría *i*: 1 - x, 3 - y, 1 - z) para el primero de ellos, y O32, O33, O38, O32ⁱⁱ, O33ⁱⁱ y O38ⁱⁱ (código de simetría *ii*: -x, 2 - y, 1 - z) para el segundo. Ambos anillos de seis miembros son grafos $R_6^4(12)$ de tercer nivel, aunque no son idénticos desde el punto de vista del descriptor *Graph-set*, debido a que los enlaces de hidrogeno implicados no son equivalentes. Los caminos correspondientes pueden ser descritos como $R(\vec{a}\vec{f}\vec{g}\vec{a}\vec{f}\vec{g})$ y $R(\vec{d}\vec{h}\vec{i}\vec{d}\vec{h}\vec{i})$, donde los enlaces de H del tipo *a* y *d* son los que se fusionan para forma los anillos de 5 y 6 miembros (Ver Figura 28). El anillo $R(10)$ es plano, mientras que una ligera deformación se observa para los anillos $R(12)$, los cuales adoptan una conformación de silla. Todos los enlaces de hidrogeno tienen una significativa fuerza, y por lo tanto deberían participar en la estabilización global de la estructura en el estado sólido. Los rangos para las separaciones O...H y los ángulos O-H...O están en 1.92(2)-2.19(2) Å y 151(5)-177(5)°, respectivamente (Tabla 3).

La red de anillos resultantes se extiende en la dirección [110], formando un estructura ondulada (Figura 28, enlaces verdes) con el descriptor *Graph-set* $C[R_5^5(10)R_6^4(12)]$. Este esqueleto alternando anillos de 5 y 6 miembros es poco frecuente en cristales hidratados, aun cuando en el cristal están presentes arreglos pentagonales y hexagonales de moléculas de agua. Aparentemente, pocas estructuras cristalinas presentan un arreglo supramolecular para moléculas de agua en la red cristalina similar al

¹ "Constructor Graph" en la terminología de Samuel Motherwell.

observado en **4**. Además, la búsqueda de redes similares es defectuosa por el alto nivel del anillo $R_5^5(10)$ en **4**, debido a que actualmente no existe un software disponible para recuperar sistemas de anillos con una complejidad arriba del nivel cuatro (los programas *Pluto* y *RPluto* manejan los niveles 1 y 2, mientras *Mercury* llega hasta el nivel 4).¹²⁹ Sin embargo, se pudo encontrar al menos un ejemplo de una red $C[R(10)R(12)]$ para moléculas de agua.¹³⁰ En este caso, los anillos de cinco miembros son de nivel cuatro $R_5^4(10)$ con una conformación de sobre, y los anillos de seis miembros son de tercer nivel $R_6^6(12)$ presentando una conformación de silla, similar al observado para **4**. La topología estructural de los anillos, $C[R(10)R(12)]$, es el mismo en este derivado de piridilo y en **4**, pero los caminos de los enlaces de H en los anillos individuales son diferentes.

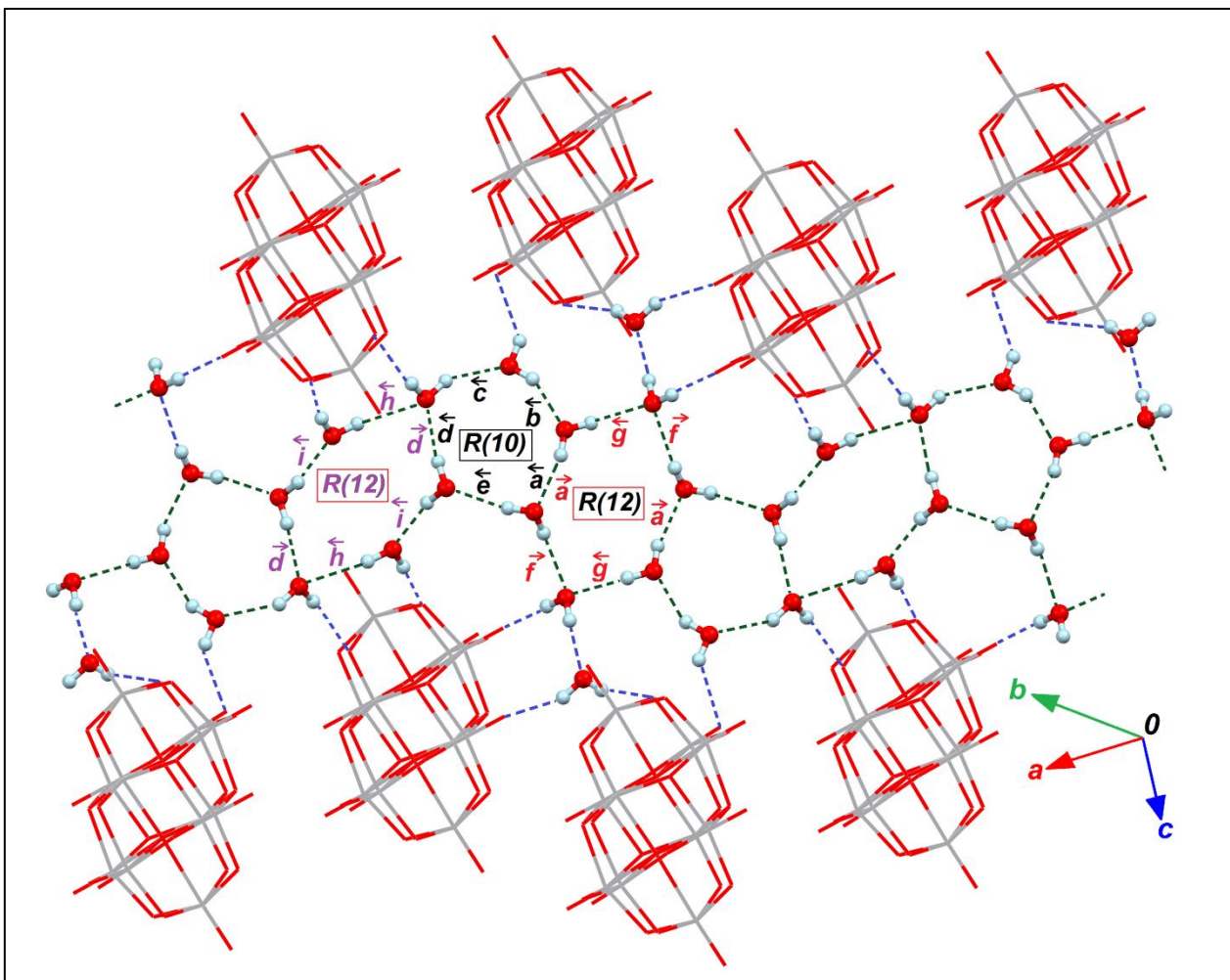


Figura 28. Parte de la estructura cristalina de **4**, omitiendo los cationes [HDMAP]⁺. La red supramolecular formada por moléculas de agua está basada en enlaces de hidrógeno (líneas punteadas). Los enlaces de H verdes son usados para formar el esqueleto C[R(10)R(12)], el cual está formado por anillos alternados $R_5^5(10)$ y $R_6^4(12)$. Los diferentes tipos de enlaces de H son etiquetados como $a \dots i$, y la secuencia del anillo está orientado contra las manecillas del reloj. Los enlaces de H azules conectan este esqueleto a los aniones $[V_{10}O_{28}]^{6-}$ en el cristal.

En **4**, las cadenas de anillos están conectados a los cúmulos $[V_{10}O_{28}]^{6-}$ por medio de enlaces de hidrogeno secundarios con los átomos aceptores de oxígeno del anión (Figura 28, enlaces azules; Tabla 3). Estos contactos forman nuevos anillos, con los descriptores $R_3^3(8)$, $R_3^3(10)$ y $R_5^5(12)$. Todas la moléculas de agua en el cristal funcionan tanto como especies donadoras comoceptoras, para formar toda la red supramolecular de enlaces de hidrogeno.

El compuesto **5**, obtenido en la misma reacción, es un pseudopolimorfo de **4**, el cual cristaliza con un bajo contenido de agua. La fórmula, determinada por difracción de rayos-X, es $(HDMAP)_6[V_{10}O_{28}]\cdot H_2O$, con el anión decavanadato situado en un centro de inversión, como en **1**, y la molécula de agua ocupa una posición general, con una ocupación refinada de 1/2. Como en el caso anterior, seis cationes $HDMAP^+$ interactúan con el decavanadato, a través de enlaces de hidrogeno $N-H\cdots O$ en los sitios μ_2 y μ_3 del anión (Figura 29). Estas interacciones claramente pertenecen a la clase de enlaces de hidrogeno fuerte, con distancias $H\cdots O$ en el rango de 1.71(2)-1.75(2) Å y ángulos $N-H\cdots O$ de 180°, si se toman en cuenta las desviaciones estándar para estos parámetros (Tabla 4). Estos enlaces son de hecho más fuertes que los observados para **4**, y como consecuencia, la densidad del cristal aumenta. Sin embargo, una diferencia importante para la asociación $(HDMAP)_6[V_{10}O_{28}]$ en **4** y **5** es la interacción de apilamiento de los anillos de piridina. La simetría cristalina, que va de un sistema triclinico (**4**) a uno monoclinico (**5**), modifica las interacciones $\pi-\pi$ en la estructura cristalina (Figura 29, recuadro). Las interacciones significativas están así limitadas por las entidades independientes $(HDMAP)_6[V_{10}O_{28}]$. En la unidad asimétrica, únicamente los nitrógenos de los cationes N1 y N2 generan contactos $\pi-\pi$, caracterizados por una distancia centroide a centroide de 3.66 Å, y un ángulo de inclinación de 14.4(2)°. El tercer catión $[HDMAP]^+$ independiente (N11) no participa en ningún contacto de estabilización de este tipo.

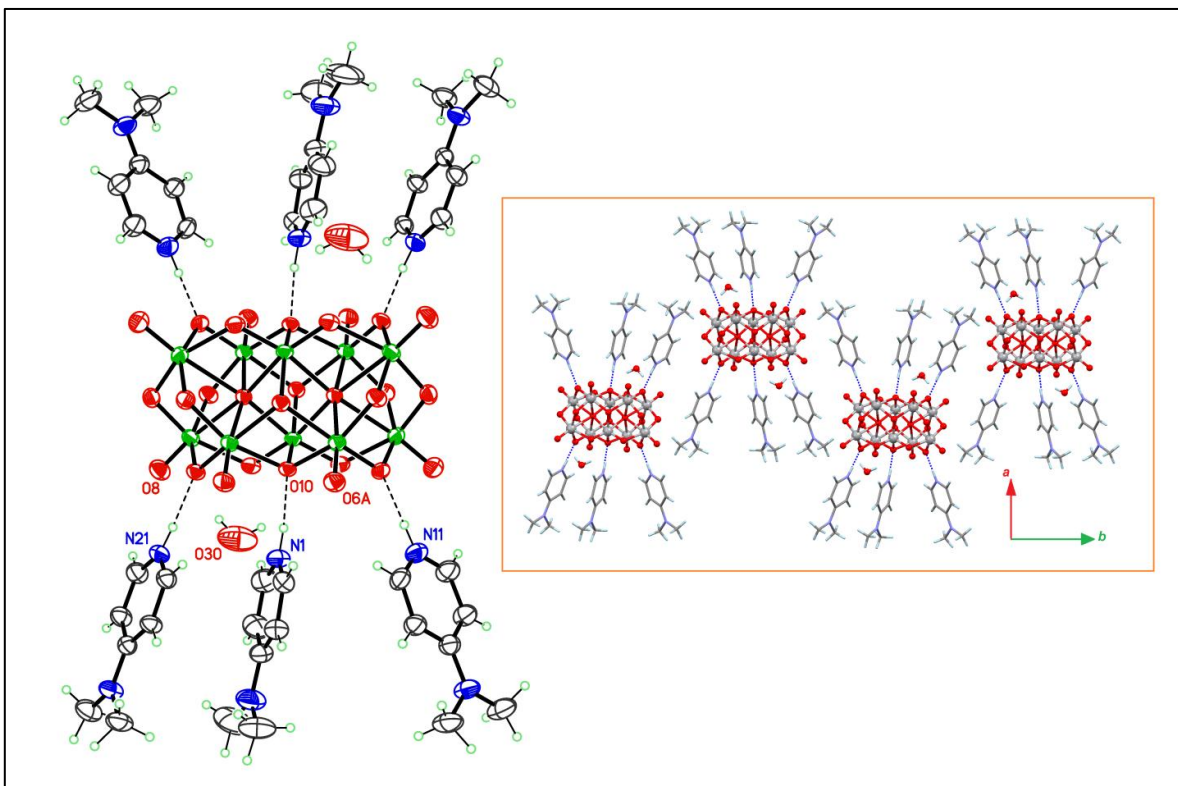


Figure 29. Celda unitaria contenida en el compuesto **5**, $(\text{HDMAP})_6[\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 16\text{H}_2\text{O}$, con elipsoides vibracionales al 50% de probabilidad. Los enlaces de H que enlazan a los cationes y aniones están representados como líneas punteadas. El factor de ocupación para la molécula de agua O30 es 1/2. El recuadro muestra el arreglo de los cúmulos en el cristal.

Tabla 4. Enlaces de hidrogeno en la estructura de **5**, $(\text{HDMAP})_6[\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot \text{H}_2\text{O}$

H bond $D-H \dots A$	$H \dots A$ (Å)	$D-H \dots A$ (°)	Symmetry for A
Interactions $\text{HDMAP}^+ / [\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{6-}$			
N1-H1...O10	1.71(2)	174(4)	x, y, z
N11-H11...O6	1.721(19)	179(4)	$1-x, 1-y, 2-z$
N21-H21...O8	1.754(19)	175(4)	x, y, z

Aunque la orientación de la única molécula de agua presente en la unidad asimétrica fue determinada a partir de mapas diferenciales, esta molécula no está comprometida en enlaces de hidrogeno, y como consecuencia, la estructura

cristalina de **5** no presenta características supramoleculares. Se puede inferir que la heteroestructura $(\text{HDMAP})_6[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]$ encontrada en **5** está fuertemente ensamblada por fuerzas Coulombicas y de enlaces de hidrogeno. Asumiendo que esta estructura sobrevive en solución, puede verse como un precursor de **4**, obtenido por hidratación de **5**. De hecho, pueden existir varios intermediarios estables con fórmulas $(\text{HDMAP})_6[\text{V}_{10}\text{O}_{28}].n\text{H}_2\text{O}$ ($1 < n < 16$), los cuales podrían cristalizar, pero los hidratos finales obtenidos en este estudio, con $n = 1$ y $n = 16$, parecen ser muy estables. Por otro lado, las reacción de equilibrio de hidratación no se deben descartar, y la posibilidad de la formación de **5** a partir de **4** bajo ciertas circunstancias también puede ser investigado

Una tercera estructura de rayos-X ha sido obtenida bajo las condiciones usadas para la síntesis, a condiciones ligeramente acidas con un valor de pH~6. El compuesto **6** está basado en un decavanadato protonado centrosimétrico, y su fórmula es establecida por difracción de rayos-X de monocristal como $(\text{HDMAP})_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}]\cdot 5\text{H}_2\text{O}$, donde el sitio de protonación ocurre en el O(8). Los cálculos de BVS¹¹¹ van de acuerdo con la fórmula de rayos-X y con el único sitio de protonación. Los valores de BVS para los átomos metálicos se encuentran dentro del rango de 5.00 a 5.07 u.v. mientras que los valores BVS para el O(8) y H(8) son de 2.57 y 1.13 u.v. respectivamente. El sitio protonado $\mu_2\text{-O8}$ permite la formación de cadenas en la dirección [010] en la que están implicados los polioxovanadatos, *vía* dobles enlaces de hidrogeno centrosimetricos (Figura 30, recuadro). Dos cationes independientes $[\text{HDMAP}]^+$ interaccionan con el anión, formando fuertes enlaces de hidrogeno, como en 4 y 5 (Figura 30, Tabla 5). Sin embargo, en 6 los cationes no forman apilamientos en el cristal. La unidad asimetrice es completada con 2.5 moléculas de agua, con el potencial para formar una red supramolecular, como el 4. Sin embargo, esta característica no se observa, probablemente debido a que el carácter supramolecular del cristal es impuesto por el anión $[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{6-}$, y debido a que la molecula

de agua O23, ocupa su sitio a un nivel del 50%, no es un grupo donador/aceptor adecuado para formar enlaces de hidrogeno.

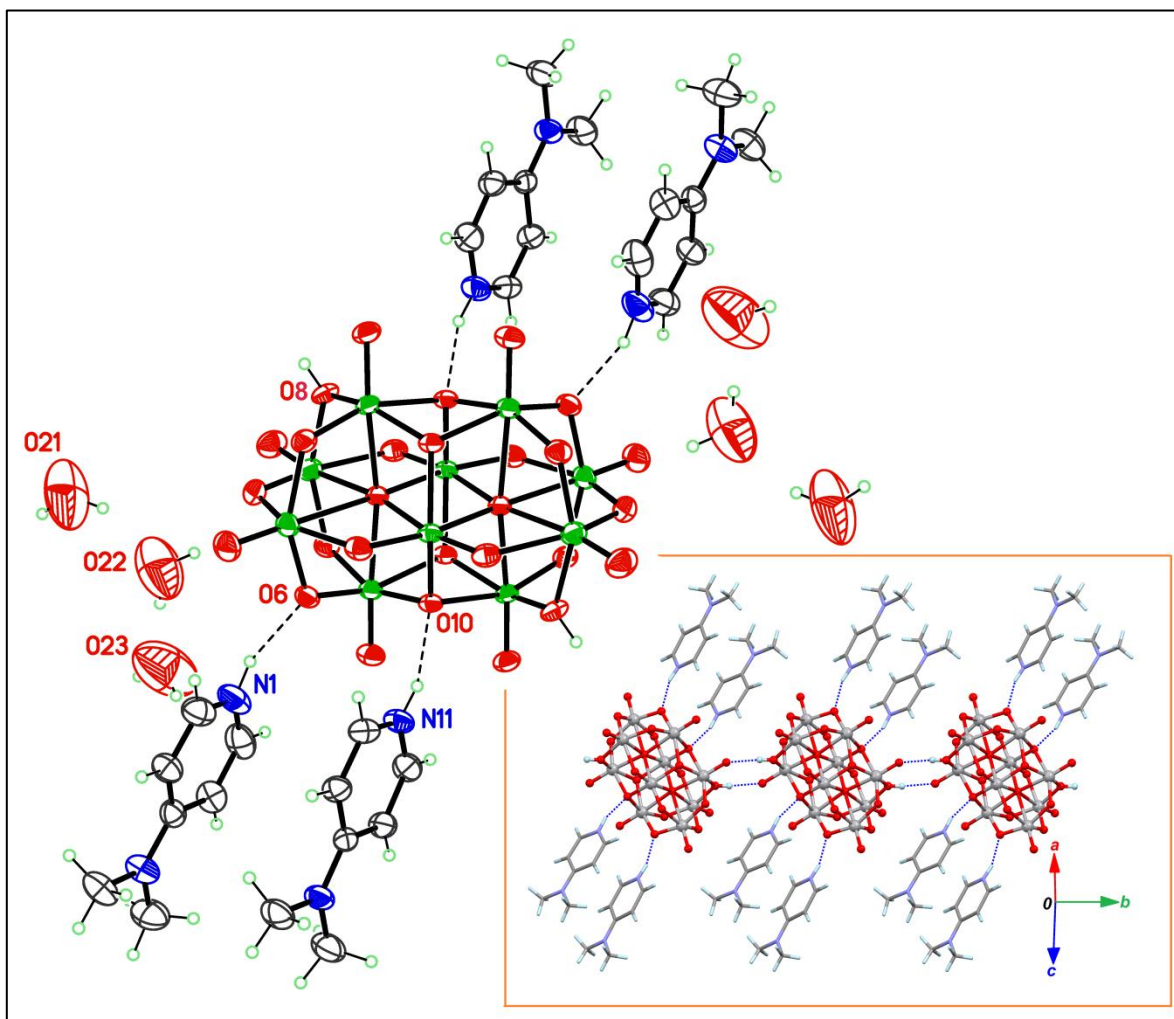


Figura 30. Estructura del compuesto 6, $(\text{HDMAP})_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, con desplazamiento elipsoidal mostrado al 50% de probabilidad. Los enlaces de hidrogeno entre los cationes y aniones son representados como líneas punteadas. En las moléculas de agua independientes O21, O22, O23, las primeras dos tienen un factor de ocupación de 1/2. El recuadro representa el arreglo de los polioxovanadatos en el cristal, enfatizando los enlaces de hidrogeno; las moléculas de agua han sido omitidas en el recuadro, debido a que no participan en la red supramolecular.

Tabla 5. Enlaces de hidrogeno en la estructura cristalina de 6, (HDMAP)₄[H₂V₁₀O₂₈].5H₂O

H bond <i>D</i> -H... <i>A</i>	H... <i>A</i> (Å)	<i>D</i> -H... <i>A</i> (°)	Symmetry for <i>A</i>
Interactions HDMAP ⁺ /[H ₂ V ₁₀ O ₂₈] ⁴⁻			
N1-H1...O6	1.88(2)	160(4)	<i>x</i> , <i>y</i> , <i>z</i>
N11-H11...O10	1.88(2)	162(4)	1+ <i>x</i> , 1+ <i>y</i> , <i>z</i>
Interaction [H ₂ V ₁₀ O ₂₈] ⁴⁻ /[H ₂ V ₁₀ O ₂₈] ⁴⁻			
O8-H8...O3	1.933(19)	172(4)	- <i>x</i> , - <i>y</i> , 1- <i>z</i>

4.5 PRUEBAS DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Los estudios biológicos se llevaron a cabo utilizando el compuesto [H₂Metf]₃[V₁₀O₂₈].8H₂O (**1**) abreviado como Metf-V₁₀O₂₈ en esta parte. Se midió su actividad hipoglucémica y su regulación metabólica en ratas de la cepa Wistar alimentadas con dieta hipercalórica. Estas pruebas se realizaron en el laboratorio de Química Clínica del Dr. Eduardo Brambila Colombres bajo la dirección del M.C. Samuel Treviño Mora y su equipo de trabajo.

4.5.1 Modelo metabólicamente alterado

Después de tres meses de exposición a una dieta hipercalórica, se observaron cambios significativos en el peso de los animales (19.5%), en la circunferencia abdominal (6%), en el IMC (índice de masa corporal) (33%) y en el contenido de grasa corporal (11.5%), así como en marcadores bioquímicos que se incrementaron significativamente: como los niveles de LT (lípidos totales), AGL (ácidos grasos libres), TGA (triglicéridos), VLDL-col, LDL-col, glucosa basal, y lactato de 54, 130, 52, 45, 87, 22, y 17% respectivamente. También se observó una disminución significativa de la fracción HDL-col (colesterol bueno) en un 47% frente al grupo control que se mantuvo bajo dieta normocalórica (Tabla 6). Para completar el panel de manejo de carbohidratos se realizó

una prueba de tolerancia a la glucosa (TOG) para evidenciar el comportamiento del manejo del carbohidrato en el consumo (postprandial) con una carga administrada por vía oral de 75g/100mL/70Kg de glucosa por peso del animal. El grupo expuesto a la dieta HC presentó un pobre manejo del carbohidrato con incremento de glucosa en condiciones basales y post carga a los 30, 60 y 90 min, presentando concentraciones mayores de glucosa que el grupo NC del 10, 62, y 114% respectivamente (Tabla 6). Lo que sugiere que los animales que conformaron el grupo HC presentaron grados variables de resistencia a la insulina. Se ha descrito que una de las primeras causas de insulino resistencia es el exceso en el aporte calórico. El análisis del contenido de TGA en hígado, musculo, corazón, corteza renal, y medula renal, se incrementó significativamente del 20, 105, 79, 156, y 88% respectivamente; mientras que en tejido adiposo fue apenas del 12%. El contenido de glicógeno fue también analizado en tejidos de hígado, musculo, corazón y medula renal con un incremento significativo del 20, 200, 35 y 150% respectivamente. Tanto los parámetros morfométricos como bioquímicos muestran un modelo de ratas Wistar alterado metabólicamente, generado por el consumo de dieta hipercalórica.

Tabla 6. Modelo metabólicamente alterado

	NC	HC	Metabolito/ 100mg de tejido	NC	HC
	n=40	n=80		n=20	n=20
Panel Zoométrico:			Triglicéridos:		
Peso (g)	341± 3.4	407± 4.3▲	Hígado	16.2± 0.7	19.4± 0.1▲
Perímetro abdominal (cm)	18.4± 0.1	19.5± 0.1▲	Músculo	3.36± 0.2	6.88± 0.4▲
Índice de masa corporal	0.93± 0.02	1.24± 0.02▲	Corazón	5.06± 0.2	9.04± 0.4▲
% grasa corporal (índice corporal)	35.9± 0.1	40.0± 0.2▲	Corteza Renal	5.98± 0.2	15.3± 1.0▲
Metabolito (mg/dL)			Medula Renal	7.46± 0.3	14± 1.5▲
Panel de lípidos:			Adiposo	51.2± 1.4	57.7± 0.5▲
Lípidos totales	184 ± 12	283.1 ± 10 ▲			
AGL	2.18 ± 0.03	5.02 ± 0.07▲	Glicógeno:		
Triglicéridos	64.4 ± 2.5	98.2 ± 3.5▲	Hígado	4.2± 0.4	11.4± 0.3▲
Colesterol total	103.1 ± 7.5	98.8 ± 10.5	Músculo	0.3± 0.03	0.9± 0.01▲
Fracc. De colesterol			Corazón	0.9± 0.05	1.22± 0.1▲
VLDL-col	13.5 ± 1.5	19.65 ± 3.5▲	Corteza renal	1.2± 0.2	1.8± 0.4
LDL-col	24.2 ± 4	44.7 ± 3▲	Médula renal	0.56± 0.2	1.4± 0.4▲
HDL-col	65.4 ± 2	34.4 ± 4.3▼	Adiposo	0.55± 0.03	0.58± 0.03
Panel de carbohidratos:					
Lactato (mmol/L)	7.3 ± 0.7	8.55 ± 0.3▲			
Glucosa basal (mg/dL)	80 ± 3.2	98 ± 3.3▲			
* Glucosa 30 min (mg/dL)	107.1 ± 2.9	118 ± 2.1▲			
* Glucosa 60 min (mg/dL)	90.6 ± 3.4	147 ± 2.5▲			
* Glucosa 90 min (mg/dL)	81.2 ± 3.0	174.3 ± 1.9▲			

4.5.2 Evaluación después de un mes de tratamiento

Una vez que el modelo animal fue alterado metabólicamente, se formaron cuatro grupos de trabajo: El grupo 1, se conformó con los animales que recibieron la dieta normocalórica. El grupo 2, se conformó por animales desregulados metabólicamente con la dieta HC. El grupo 3 se conformó con animales desregulados metabólicamente con dieta HC y administrados diariamente por vía oral (por cánula) con una solución 0.12 M de Metformina/kg de peso. El grupo 4 fue conformado por animales desregulados metabólicamente con dieta HC y administrados dos veces por semana por vía oral (por cánula) con una solución 2.5 μ M de Metf- $V_{10}O_{28}$ /kg de peso. El primer corte fue a los 30 días después de la administración de metformina y la sal Metf- $V_{10}O_{28}$. Los animales que no recibieron tratamiento y siguieron expuestos al consumo de dieta hipercalórica permanecieron desregulados metabólicamente e incrementando sus condiciones morfométricas con respecto al grupo control, mostrando un incremento de peso corporal (18%), perímetro de abdomen (9.5%), IMC (21%) y contenido en grasa corporal (9.5%); por otro lado, los parámetros bioquímicos del suero sanguíneo indicaron una elevada dislipidemia y disglucemia (Tabla 7, Figura 31), el mismo caso fue observado en diferentes tejidos para glicógeno y triglicéridos (Figura 32). Estos resultados confirman el desorden metabólico causado por el consumo de la dieta hipercalórica.

Tabla 7. Determinaciones séricas después de un mes de tratamiento.

Metabolito (mg/dL)	NC n=20	HC n=20	HC-Metf n=20	HC-Metf-V ₁₀ O ₂₈ n=20
Panel de lípidos:				
Lípidos totales	191.5 ± 9.6	240.1 ± 7.3▲	141.9 ± 12.4▼	156.4 ± 11.1▼
AGL	2.85 ± 0.1	5.96 ± 0.2▲	2.75 ± 0.1	2.04 ± 0.1▼
Triglicéridos	33.6 ± 6	66.3 ± 5.3▲	22.3 ± 2	24.6 ± 3.2▼
Colesterol total	113.6 ± 15.7	103.7 ± 10.5	88.5 ± 10.9	97.8 ± 13.7
Fracción de colesterol				
VLDL-col	6.72 ± 0.6	13.2 ± 0.5▲	4.46 ± 0.4▼	4.9 ± 0.3▼
LDL-col	36 ± 4.5	47 ± 2.5▲	28.5 ± 2.5	35.2 ± 3.6
HDL-col	70.9 ± 10.6	43.5 ± 8▼	55.5 ± 8	57.7 ± 9.8
Panel de carbohidratos				
Glucosa basal	72.9 ± 5.5	93 ± 2.3▲	86 ± 3.6	88 ± 3.3
Lactato (mmol/L)	7.3 ± 0.7	8.55 ± 0.3▲	10.9 ± 1.2▲	7.8 ± 0.8

Los resultados mostrados son el promedio de 20 experimentos diferentes ± EEM. (▲) Indica diferencia significativa con valores por encima al grupo control con dieta normocalórica, mientras que (▼) Indica diferencia significativa con valores por debajo al grupo control con dieta normocalórica $p < 0.05$ por una t de Student.

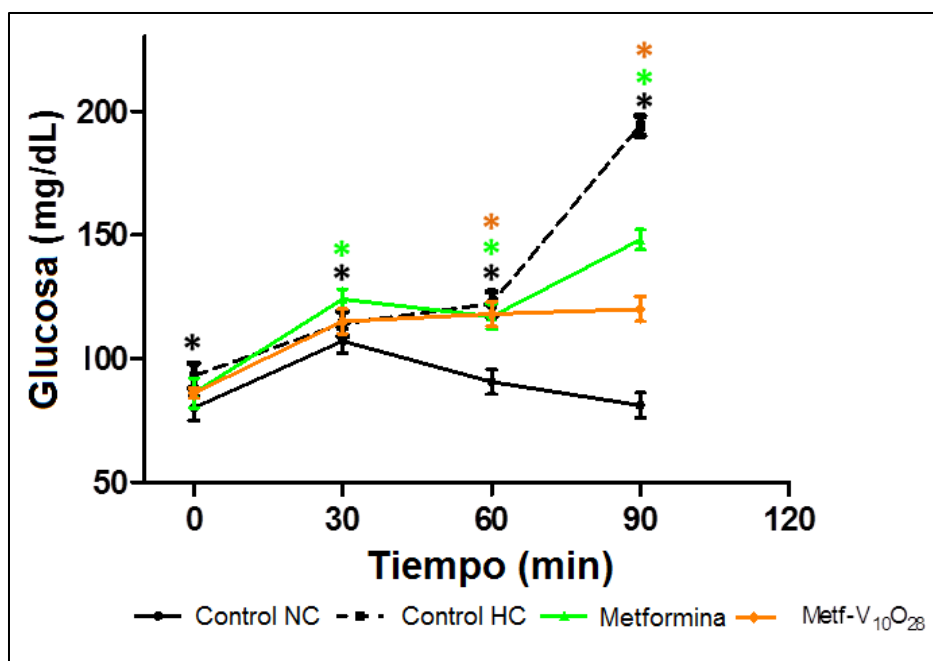


Figura 31. Curvas de tolerancia oral a la glucosa a un mes de tratamiento. Los resultados mostrados son el promedio de 20 experimentos diferentes ± EEM. (*) Indica diferencia significativa con respecto al grupo control con dieta normocalórica $p < 0.05$ por una t de Student.

Por otro lado, el grupo de ratas que fue administrado con metformina, disminuyó sus parámetros morfométricos alcanzando al grupo control con dieta normocalórica NC. Tanto el peso corporal como el porcentaje de grasa no mostró diferencias significativas respecto al grupo control NC; mientras tanto, el perímetro abdominal disminuyó (25%) y el IMC declinó en (17%) por abajo del control normocalórico. Los parámetros bioquímicos mostraron una importante mejoría; las ratas con administración diaria de metformina disminuyeron significativamente la cantidad de lípidos totales en suero (26%) y la fracción de VLDL-col en un (33.6%), mientras que las concentraciones de AGL, TAG, TC, LDL-col, HDL-col y glucosa en ayuno fueron regulados y sin diferencias contra el control normocalórico NC (Figura 31, Tabla 7). Sin embargo, el almacenamiento de glicógeno en el hígado, corazón y medula renal, aunque mejoró con respecto al grupo con dieta hipercalórica HC, permaneció (100, 63 y 96%) arriba del grupo control NC; mientras que en el tejido muscular y adiposo no redujo el contenido de glicógeno respecto al grupo HC. La corteza renal fue el único tejido que regresa a valores similares al grupo NC (Figura 32). Aunque la metformina debería también mejorar el almacenamiento de triglicéridos en los tejidos evaluados, los resultados muestran que el músculo y el riñón no se diferenciaron de los animales con dieta HC. Tanto en tejidos de hígado y riñón se observaron cambios insignificantes (28.5 y 31%), respectivamente. Sin embargo el tejido adiposo incremento su contenido de triglicéridos significativamente (34%) (Figura 32). En general, los resultados sugieren que la metformina actúa principalmente en el hígado inhibiendo la lipogénesis y la gluconeogénesis.

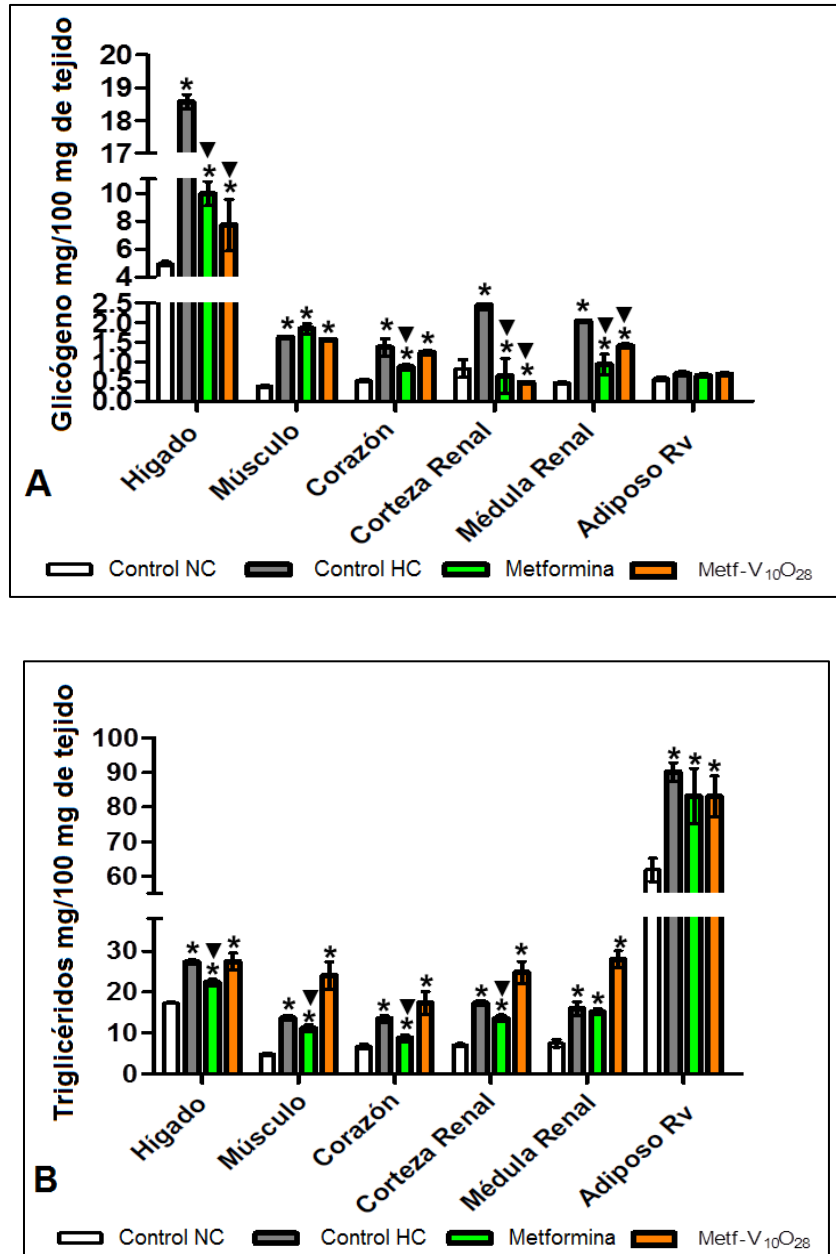


Figura 32.- Concentración de glucógeno y triglicéridos en los diferentes tejidos de la cepa Wistar a 1 mes con los diferentes tratamientos. A) Glicógeno, B) Triglicéridos. Los resultados mostrados son el promedio de 20 experimentos diferentes \pm EEM. (*) Indica diferencia significativa con valores por encima al grupo control con dieta normocalórica, mientras que (▼) Indica diferencia significativa con valores por debajo al grupo control con dieta hipercalórica $p < 0.05$ por una t de Student.

Después de un mes de tratamiento con el compuesto de vanadio MetfV₁₀O₂₈, se observó una importante mejoría; incluso, esta fue mejor a la observada para el grupo de animales

que se mantuvieron bajo administración de metformina. Este grupo mostró una mejor regulación morfométrica tanto en el IMC como en el porcentaje de grasa en forma similar al grupo con dieta normocalórica NC. De igual forma se observó una disminución en el peso corporal y en la circunferencia de abdomen, por abajo del grupo NC de (13.4 y 4%) respectivamente. Con respecto a los parámetros séricos, el compuesto MetfV₁₀O₂₈ también mostro mejores resultados en todo el manejo, disminuyendo los niveles de LT, AGL, TAG y VLDL-col por abajo del grupo NC (Tabla 7). En términos de la tolerancia al carbohidrato, los animales mostraron un mejor manejo después de una carga de glucosa y este fue mejor que el grupo con administración de metformina (Tabla 7, Fig. 31). El consumo de glicógeno también mejoró en términos del contenido en hígado, riñón y tejido adiposo y este fue similar el encontrado para el grupo NC; mientras que en musculo y corazón permaneció (315 y 133%) por arriba con respecto al grupo control NC. Por otro lado, la acumulación de triglicéridos no mostró mejoría. Contrario a esto, se observó un incremento en casi todos los tejidos analizados, excepto en el hígado que mantuvo la misma concentración que el grupo HC (Figura 32).

4.5.3 Evaluación después de dos meses de tratamiento

Los animales que no recibieron tratamiento y siguieron a 30 días más expuestos a la dieta HC mantuvieron su morfometria y características bioquímicas no reguladas como la dislipidemia y la conducta alterada a la glucosa (véase la Tabla 8 y la Figura 33). En la cantidad de glicógeno contenido en diferentes tejidos analizados, se puede observar que se acumula constantemente. La desregulación metabólica se demostró dramáticamente cuando se evaluó la acumulación de triglicéridos ectópicos. Una acumulación sobre se puede ver en el hígado (61%), músculo (229%), corazón (122%), la corteza renal (189%), médula renal (149%), y el tejido adiposo incluso mostró un máximo de almacenamiento con 94,7 mg de TAG por cada 100 mg de tejido (Figura 33).

Tabla 8. Determinaciones séricas después de dos meses de tratamiento.

Metabolito (mg/dL)	NC n=10	HC n=10	HC-Metf n=10	HC-Metf-V ₁₀ O ₂₈ n=10
Panel de lípidos:				
Lípidos Totales	190.3 ± 13	217.9 ± 14.9▲	197.4 ± 6.5	240.6 ± 11.1▲
AGL	3.49 ± 0.1	5.27 ± 0.2▲	3.33 ± 0.1	2.57± 0.1▼
Triglicéridos	50.5 ± 5.8	126 ± 8.8▲	51.1 ± 12	118.9± 7.5▲
Colesterol total	98.2 ± 11.8	122.6 ± 13	99.5 ± 4.2	86.3 ± 14.7
Fracciones de colesterol				
VLDL-col	10.1 ± 2.8	25.2 ± 5.3▲	10.2 ± 1.2	23.8± 6.3▲
LDL-col	39 ± 7	60.8 ± 3.5▲	29.2 ± 2	27± 3.6
HDL-col	49.1 ± 2	36.6 ± 4.2▼	60.1 ± 1▲	35.5 ± 4.8▼
Carbohydrate Panel:				
Glucosa basal	82.9 ± 6.3	106.1 ± 2.3▲	86 ± 3.6	88 ± 3.3
Lactato (mmol/L)	8.26 ± 0.1	10.75 ± 0.5▲	13.4 ± 0.6▲	9.1± 0.8

Los resultados mostrados son el promedio de 10 experimentos diferentes ± EEM. (▲) Indica diferencia significativa con valores por encima al grupo control con dieta normocalórica, mientras que (▼) Indica diferencia significativa con valores por debajo al grupo control con dieta normocalórica $p < 0.05$ por una t de Student.

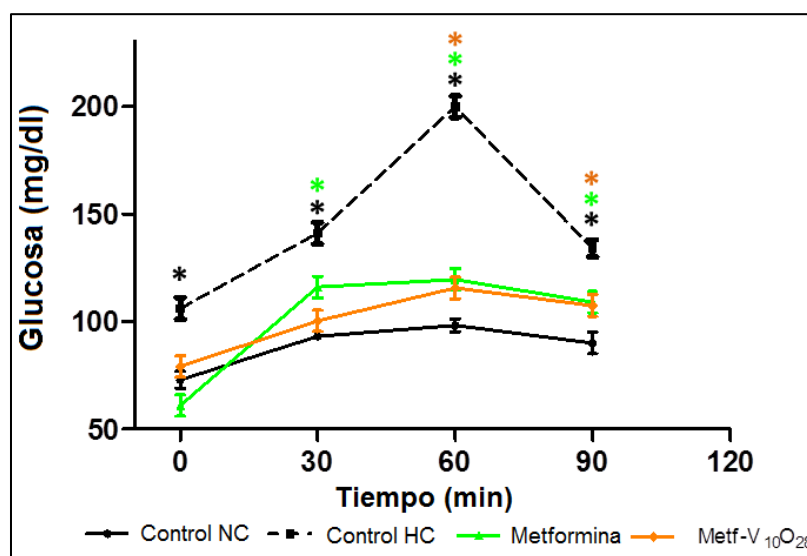


Figura 33. Curvas de tolerancia oral a la glucosa a dos meses de tratamiento. Los resultados mostrados son el promedio de 20 experimentos diferentes ± EEM. (*) Indica diferencia significativa con respecto al grupo control con dieta normocalórica $p < 0.05$ por una t de Student.

Las ratas con dieta HC y administración 0.12 M metformina al día hasta 60 días, no se presentaron diferencias en lípidos respecto a la dieta control NC, incluso HDL-cho

aumenta su concentración sérica, sin embargo, el riesgo de acidosis láctica fue mayor (63%), mientras que la respuesta a una carga de glucosa no se recupera completamente (véase la Tabla 8 y la Figura 33); sin embargo, aunque se mantuvo el contenido de glucógeno hepático, otros tejidos mostraron incrementos por encima incluso del control de dieta HC (músculo y corazón); y respecto al almacenamiento de triglicéridos sólo médula renal mostró una mejoría, el hígado aumenta su contenido en 178%, el músculo en el 406%, el corazón en un 221%, la corteza renal en el 83,5% y el tejido adiposo mostró almacenamiento máximo con 94,7 mg de TAG por cada 100 mg de tejido (Figura 33).

Por otro lado, los animales con dos meses de administración de Metf- $V_{10}O_{28}$ mostraron una mejor regulación metabólica debido a la quema de los lípidos que causó inicialmente esteatosis. Se observó leve dislipidemia, ya que la cuantificación de AGL fue el más bajo de todos los grupos (26%) con aumento de los triglicéridos en la misma magnitud, que sugieren fuertemente una modulación entre β -oxidación y la lipogénesis. HDL-chol se mantuvo en concentraciones bajas (27,7%). Mientras tanto, los hidratos de carbono se regularon finamente, debido a que el lactato y la glucosa en ayunas no mostraron diferencias significativas frente a la dieta de control NC, se observaron diferencias mínimas en la respuesta a una carga de glucosa entre las ratas Metf- $V_{10}O_{28}$ respecto al grupo de dieta NC (Tabla 8 y la Figura 33). La cuantificación del glucógeno confirmó la mejor gestión de la glucosa, debido a la regulación importante que se observó en los tejidos. El contenido en el hígado estaba solo un 25% por encima del control normocalórico y otros tejidos evaluados mostraron diferencias estadísticamente no significativas. Del mismo modo, la esteatosis desapareció en casi todos los tejidos después de la administración de protocolo de Metf- $V_{10}O_{28}$; Hígado, corazón, médula renal y el tejido adiposo no eran diferentes de los de la dieta control NC, mientras que el músculo y la corteza renal apenas presentan el doble contenido de triglicéridos (Figura 33).

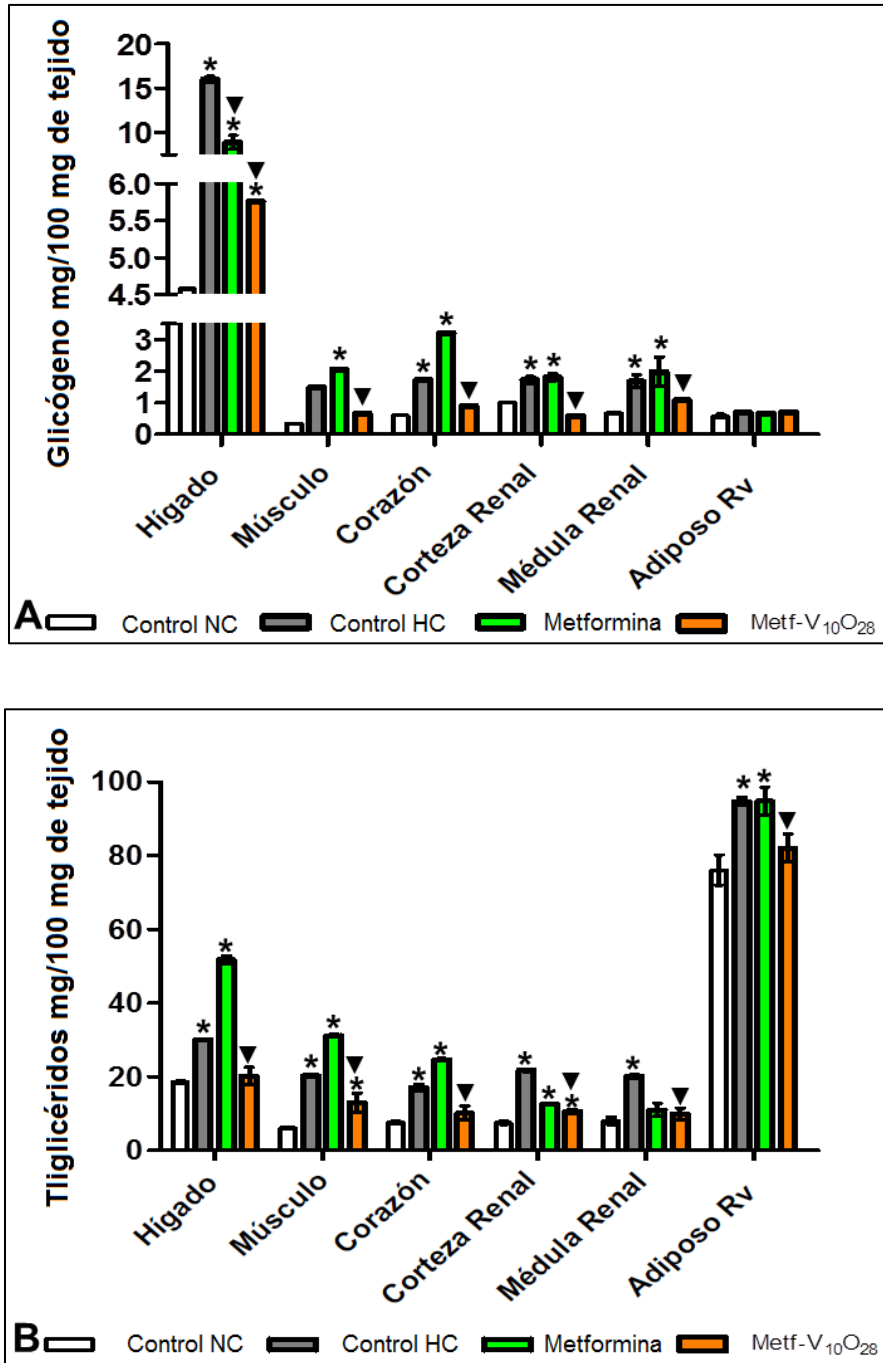


Figura 34.- Concentración de glucógeno y triglicéridos en los diferentes tejidos de la cepa Wistar a 2 meses con los diferentes tratamientos. A) Glicógeno, B) Triglicéridos. Los resultados mostrados son el promedio de 10 experimentos diferentes \pm EEM. (*) Indica diferencia significativa con valores por encima al grupo control con dieta normocalórica, mientras que (▼) Indica diferencia significativa con valores por debajo al grupo control con dieta hipercalórica $p < 0.05$ por una t de Student.

El grupo con tratamiento del compuesto Metf-V₁₀O₂₈ por 30 días, mostro una importante recuperación, ya que se observó la mejor regulación morfométrica y bioquímica, muy similar a la encontrada para el grupo con dieta normocalórica NC. De hecho, esta mejoría fue mejor que la observada para el grupo con administración de metformina, con una dosis 48,000 veces menor que biguanidina base. La tolerancia al carbohidrato también presentó una mejor respuesta a la carga de glucosa que el grupo con metformina. Esto disminuye el riesgo tanto de diabetes mellitus como de enfermedades cardiovasculares.

Como se ha comentado, existe un amplio rango de complejos de coordinación de vanadio (IV/V) que han sido sintetizados y han mostrado actividad antidiabetica, algunos de estos compuestos alivian los síntomas de la diabetes reduciendo los niveles elevados de glucosa en sangre y los niveles lipídicos. Aunque este no es el primer reporte de un compuesto hecho con vanadio y metformina¹⁰⁴⁻¹³¹, este es el primer caso en donde se muestra la actividad biológica de Metf-V₁₀O₂₈ en un modelo *in vivo*. Como se ha observado para otros compuestos, este tiene la capacidad de reducir los carbohidratos y lípidos séricos por vías oxidativas; lo cual favorece la señalización en la cascada de la insulina, y de proteínas intracelulares como la proteína cinasa B (PKB) que favorece la regulación de señales con inhibición de lipólisis.¹³²⁻¹³³ Así mismo, el rol de vanadio como hipoglucemiante, es sustentado por la inhibición de proteínas fosfatasas y como potenciador de cinasas; al respecto se ha demostrado que existe inhibición de la proteína tirosina fosfatasa (PTP-1B), la cual inhibe la actividad de insulina a nivel de la fosforilación del receptor, provocando alteraciones en la captura de glucosa¹³⁴⁻¹³⁵, por lo que la inhibición de esta enzima mejora la respuesta y la señalización hormonal sobre los tejidos dependientes de la hormona para la recaptura de glucosa.

Los animales con dos meses de administración de Metf-V₁₀O₂₈ mostraron una mejor regulación metabólica, con respecto al primer mes y con respecto al grupo con administración de metformina. Mientras que la morfometria fue similar al grupo

normocalórico. Se observó una leve dislipidemia con un incremento de triglicéridos por la misma cantidad, de ese modo hubo una disminución de los AGL, lo que sugiere una modulación entre la β -oxidación y la lipogénesis. Como consecuencia de esto también se observa un incremento de VLDL-col, respecto al grupo con administración de metformina. Respecto a la regulación de los carbohidratos se observa que el grupo experimental bajo administración del compuesto de vanadio alcanzó al grupo con dieta NC, debido a que se observa una buena tolerancia a la glucosa en ayuno y al lactato, también se observan pequeñas diferencias en respuesta a la carga de glucosa respecto al grupo normocalórico. La concentración de glicógeno fue regulada y la esteatosis desaparece en la mayoría de los tejidos después de dos meses de la administración del compuesto de vanadio y metformina. Aunque no sabemos el mecanismo exacto por el cual el modelo biológico regula su metabolismo, existen algunas evidencias que apoyan que el compuesto puede actuar no solamente a nivel hepático, sino también podría hacerlo en tejidos en el que esté implicado un balance energético.

Mientras el mecanismo del fármaco metformina es debido en parte a la inhibición del complejo I mitocondrial, desfavoreciendo la oxidación de NADH, los complejos de vanadio muestran inhibición sobre los complejos mitocondriales II y III en donde se lleva a cabo la oxidación de FADH y el transporte de electrones respectivamente, por lo que las células se encontrarían requirentes energéticamente, acelerando la quema de componentes metabólicamente activos como lípidos y carbohidratos; adicionalmente se ha mostrado que el vanadio ha mostrado regulación sobre los precursores que participan en la formación de iones superóxido por citocromos, permitiendo con ello un paso lento en la oxidación mitocondrial.¹³⁵⁻¹⁴¹ Así, aunque el efecto en la administración de MetfV₁₀O₂₈ es lento (probablemente debido a las concentraciones usadas), este contiene como contra-ión a la metformina, la cual puede actuar simultáneamente en diferentes tejidos y órganos, acelerando la oxidación de carbohidratos y lípidos de una manera más regulada,

generando una ventaja sobre la actividad que presenta el contra-ión solo en la monoterapia. Esto abre una gran oportunidad para poder investigar el mecanismo biológico por el que actúa este compuesto de vanadio, y con ello comprender como regula la alteración metabólica a bajas concentraciones, y si lo hace en forma separada en un sinergismo molecular o en forma de una unidad molecular.

Un estudio detallado de la farmacocinética de este compuesto va más allá del objetivo de este trabajo. Aun no contamos con información detallada sobre la estabilidad, especiación y distribución del compuesto metformina-decavanadato. Los comentarios sobre el posible mecanismo de acción posible de este compuesto son de alguna forma conjeturas y especulaciones que surgen del comportamiento por separado de los materiales. Sin embargo, debido a que el modelo animal es diferente al usado comúnmente para este tipo de estudios, se cree que esto genera información relevante para estudios posteriores.

CAPITULO V

CONCLUSIONES

En este trabajo se llevó a cabo la síntesis y caracterización química de seis nuevos compuestos orgánicos de vanadio, basados en la especie $[V_{10}O_{28}]^{6-}$. En este sentido, se ha descrito un método reproducible para la obtención de tres nuevos complejos metformina-decavanadato bajo condiciones suaves. Se ha demostrado que la formación selectiva de estos compuestos depende fuertemente del valor de pH, así como de las concentraciones y naturaleza de los reactivos. La caracterización espectroscópica, térmica y por difracción de rayos-X, así como el análisis elemental son consistentes con las formulas propuestas: $[H_2Metf]_3[V_{10}O_{28}] \cdot 8H_2O$ (**1**), $[H_2Metf]_2[NH_4]_2[V_{10}O_{28}] \cdot 10H_2O$ (**2**) y $[H_2Metf]_2[NH_4][V_{10}O_{28}] \cdot 4H_2O$ (**3**). En todos los casos, el análisis de rayos-X de monocristal mostró que las moléculas de metformina se encuentran en forma diprotonada, lo cual es el primer ejemplo de dicaciones H_2Metf^{2+} asociados con el anión decavanadato. La flexibilidad conformacional en el dication H_2Metf^{2+} es favorable para el anclaje de los cationes en la superficie del anión decavanadato. Por otro lado, los compuestos sintetizados con 4-dimetilaminopiridina son, desde el punto de vista cristalográfico los más interesantes. El compuesto $[HDMAP]_6[V_{10}O_{28}] \cdot 16H_2O$ (**4**) fue caracterizado por espectroscopia infrarroja, análisis térmico (TGA/DSC) y difracción de rayos-X de monocristal. En (**4**) se pudo caracterizar en estado sólido una red de alto nivel supramolecular formada por moléculas de agua conectadas a través de enlaces de hidrogeno con los polioxovanadatos. Se logró asilar un pseudopoliformo de (**4**), con formula $[HDMAP]_6[V_{10}O_{28}] \cdot H_2O$ (**5**) que se caracterizó por espectroscopia IR, análisis térmico (TGA/DSC), difracción de rayos-X y análisis elemental. Este compuesto muestra características similares con (**4**), como se observa en la espectroscopia infrarroja. En estos dos compuestos se observa una fuerte interacción electrostática entre el anión

decavanadato y seis cationes [HDMAP]⁺. Así mismo, se obtuvo un tercer compuesto de esta familia, en el que pudo observar la protonación del anión decavanadato, [HDMAP]₄[H₂V₁₀O₂₈]**(6)**, esta protonación pudo ser comprobada por espectroscopia infrarroja y por cálculos de BVS. Este compuesto fue obtenido en una mezcla de **(4)** y **(5)** a partir de la reacción con NaVO₃, sin embargo dada la baja reproducibilidad de este material solo ha sido caracterizado por estas técnicas.

Se observó que es posible, al variar ligeramente las condiciones de reacción, obtener pseudopoliformos en estos materiales, abriendo una importante área de estudio desde un punto de vista sintético y cristalográfico.

Dada la indiscutible actividad antidiabética de los compuestos de vanadio, y en especial de aquellos formados por el ion decavanadato se eligió el compuesto [H₂Metf]₃[V₁₀O₂₈]**(1)**, para llevar a cabo los estudios biológicos. Se observó que la metformina basa su actividad en el balance energético, y es más efectiva en periodos cortos de tiempo, en periodos largos muestra complicaciones multiorgánicas producidas por el desarrollo de esteatosis.

Los compuestos de vanadio por otro lado, han mostrado actividad correctiva en pacientes con metabolismo anormal de carbohidratos y lípidos, sin embargo, no se conoce con precisión el mecanismo por el cual lo hacen. Este nuevo compuesto basado en la combinación de metformina y decavanadato Metf-V₁₀O₂₈, mostró tener potencial farmacológico como hipoglucemiante y regulador metabólico, debido a que este compuesto redujo la dosis de metformina (48.000 veces) y el tiempo de administración (2 veces por semana). Aún quedan abiertas algunas preguntas importantes como el mecanismo de acción y los efectos toxicológicos, actualmente se están realizando esfuerzos en este sentido.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Encuesta Nacional de Salud, ENSANUT 2012.
<http://ensanut.insp.mx/doctos/analiticos/DiabetesMellitus.pdf>
- [2] H. King, R.E. Aubert, W.H. Herman, *Diabetes Care* 21 (1998) 1414-31.
- [3] Federación Mexicana de Diabetes. Página consultada el 13 de Julio del 2015.
http://www.fmdiabetes.org/fmd/pag/diabetes_numeros.php
- [4] M. Hernandez-Ávila, J. P. Gutierrez, N. Reynoso-Noveron, *Salud Pública de México* 55 (2013) 129-136.
- [5] *Diabetes Care* 33 (2010).
- [6] N. Mateos Santa Cruz, R. Zacarías Castillo, *Rev. Hosp. Gral. M. Gea González*, 5 (2002) 33-41.
- [7] M. Balasubramanyam & V. Mohan, *J. Biosci.* 26 (2001) 383-390.
- [8] D.E. Moller, *Nature* 414 (2001) 821-827.
- [9] Z.Y. Zhang, S.Y. Lee, *Expert. Opin. Investig. Drugs* 12 (2003) 223-33.
- [10] H. Cho, *Vitam. Horm.* 91 (2013) 405-24
- [11] A. Mohammad, J. Wang, J.H. McNeill, *Mol. Cell Biochem.* 229 (2002) 125-128.
- [12] A.K. Srivastava, M.Z. Mehdi, *Diabetic Medicine* 22 (2005) 2-13.
- [13] D. Rehder, *Inorg. Chem. Comm.* 6 (2003) 604-617.
- [14] G. Huyer, S. Liu, J. Kelly, J. Moffat, P. Payette, B. Kennedy, G. Tsaprailis, M.J. Gresser & C. Ramachandran, *Journal of Biological Chemistry* 272 (1997) 843-851.
- [15] G.R. Willsky, A.B Goldfine, P.J. Kostyniak, J.H. McNeill, L.Q. Yang, H.R. Khan, D.C Crans, *J. Inorg. Biochem.* 85 (2001) 33-42.
- [16] Y. Shechter, I. Goldwasser, M. Mirinchik, M. Fridkin, D. Gefel, *Coord. Chem. Rev.* 237 (2003) 3-11.
- [17] M. Aureliano, *World J. Biol. Chem.* 26 (2011) 215-225.
- [18] T. Scior Jung, J.A. Guevara García, *La historia del vanadio en la BUAP*, Primera edición, octubre 2014.
- [19] E. Sánchez-Lara, I. Sánchez-Lombardo, A. Pérez-Benítez, Á. Mendoza, M. Flores-Álamo & E. González Vergara, *J. Clust. Sci.* 26 (2015) 901-912.

- [20] I. Sánchez-Lombardo, E. Sánchez-Lara, A. Pérez-Benítez, A. Mendoza, Sylvain Bernès & E. González-Vergara, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2014).
- [21] S. Treviño, E. Sánchez-Lara, V.E. Sarmiento-Ortega, I. Sánchez-Lombardo, J.A. Flores-Hernandez, A. Pérez-Benítez, E. Brambila-Colombres & E. González-Vergara, *J. Inorg. Biochem.* (2015).
- [22] M.E. Weeks and H.M Leicester, *Journal of Chemical Education*, Easton, PA, 1968, 351-382.
- [23] O. Wallach, *Briefwechsel zwischen J. Berzelius und F. Wöhler*, Vol. 1, Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig, 1901.
- [24] G. Hope, J. Siemroth and F. Damaschun, *Chem Erde* 50 (1990) 81-94.
- [25] (a) N.G. Sefström, *Kgl. Vetenskapsacad. Handl.* **1830**, 255–261; (b) N. G. Sefström, *Ann. Phys. Chem.* 21 (1831) 43–49.
- [26] D. Rehder, *Vanadium Bioinorganic Chemistry* John Wiley & Sons, Chichester, 2008, cap. 1.
- [27] J.J. Rodríguez-Mercado, M.A. Altamirano-Lozano, *Rev. Int. Contam. Ambient.* 22 (2006) 173-189.
- [28] J.A. Guevara, *Edu. Quím.* 7(2007) 185-189.
- [29] D.A. Contreras-Cadena, C. Gómez-Pech, M. Rangel-García, A. Ruiz-Hernandez, P. Martínez-Built, N. Barba-Behrens, *Educ. Quim.* 25 (2014) 245-253.
- [30] D.C. Crans, J.J. Smee, E. Gaidamauskas & L. Yang, *Chem. Rev.* 104 (2004) 849-902.
- [31] J.A.L. Da Silva, J.J.R. Fraústo da Silva, A.J.L. Pombeiro, *Coordination Chemistry Reviews* 257(2013) 2388-2400.
- [32] B. Alison, J.N. Carter-Franklin, *Nat. Prod. Rep.* 21 (2004) 180-188.
- [33] C. Leblanc, H. Vitler, J.B Fournier, L. Delage, P. Potin, E. Rebuffet, G. Michel, P.L. Solari, M.C. Feiters, M. Czjzek, *Coordination Chemistry Reviews*, Available online 21 February 2015
- [34] B. Mukherjee, B. Patra, S. Mahapatra, P. Banerjee, A. Tiwari, M. Chatterjee, *Toxicology Letter* 150 (2004) 135-143.
- [35] F.H. Nielsen, *Met. Ions Biol. Syst.* 31 (1995) 543-73.
- [36] B. García Graciela, *Acta Toxicol. Argent.* 14 (2006) 32-36.
- [37] Z. Jia, D. Barford, A. Flint, N. Tonks, *Science* 268 (1995) 1754-1758.
- [38] C. Huang, N. Chen, W.Y. Ma, Z. Dong, *Int. J. Oncol.* 13 (1998) 711-715

- [39] M. Ding, J. Li, S. Leonard, J. Ye, N. Colburn, V. Castranova, V. Vallyathan, *Carcinogenesis*, 20 (1990) 663-668.
- [40] S.S. Leonard, J.J Bower, X. Shi. *Mol. Cell Biochem.* 255 (2004) 171-179.
- [41] J. Li, S. Dokka, L. Wang, X. Shi, V. Castranova, Y. Yan, M. Costa, C. Huang, *Mol. Cell Biochem.* 255 (2004) 217-225.
- [42] Z-Y. Zhang, *Current Opinion in Chemical Biology*, 42 (2002) 209-234.
- [43] *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*, *Diabetes Care* 37 (2014)
- [44] K.E. Barrett, S.M. Barman, S. Boitano, H.L. Brooks, *Fisiología Medica*, 23^a ed. 2010
- [45] N.A. Caballero-Concha, *Estudio teórico de compuestos de vanadio con actividad de tipo insulina y su interacción con la enzima PTP-1B*, Tesis de Maestría BUAP 2003.
- [46] D. Voet, J.G. Voet & C.W. Pratt, *fundamentals of Biochemistry*, 1999, John Wiley & Sons
- [47] R.K Murray, *Harpers Biochemistry*. 24 ed. 1996 Appleton & Lange.
- [48] J.A. Olivares Reyes, A. Arellano Plancarte, *REB* 27 (2008) 9-18
- [49] A.R. Saltiel, C.R. Kahn, *Nature* 13 (2001) 799-806.
- [50] J. Avruch, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 182 (1998) 31-48.
- [51] F.J Tébar Massó, F. Escobar Jimenez, *La Diabetes Mellitus en la Práctica Clínica*, Editorial médica panamericana
- [52] E.A. Contreras-Leal, J. Santiago-García, *Rev. Biomed.* 22(2011) 103-115.
- [53] J.A. Olivares Reyes, A. Arellano Plancarte, *REB.* 27 (2008) 9-18.
- [54] K.H. Thompson, C. Orvig, *J. Inorg. Biochem.* 100 (2006) 1925-1935.
- [55] E.L. Tolman, E. Barris, M. Burns, A. Pansini, R. Partredge, *Life Sci.* 13 (1979) 1159-64.
- [56] C.E. Heyliger, A.G. Tahiliani, J.H. McNeill, *Science* 227 (1985) 1474-1477.
- [57] H. Sakurai, K. Tsuchiya, M. Nukatsuka, J. Kawada, S. Ishikawa, H. Yoshida & M. Komatsu, *J. Clin. Biochem. Nutr.* 8 (1990) 193-200.
- [58] R. A. Pederson, S. Ramanadham, A.M.J. Buchan & J.H. McNeill, *Diabetes* 38 (1989) 1390-1395.
- [59] L. Marzban, R. Rahimiani, et al. *Endocrinology*, 143 (2002) 4636-4645.
- [60] P. Caravan, L. Gelimini, et al. *J. Am.Chem. Soc.*, 117 (1995) 12759-12770.
- [61] H. Sakurai, Y. Kojima, et al. *Coordination Chemistry Reviews*, 226 (2002) 187-198.
- [62] G.R. Willsky, L-H. Chi, M. Godzala, P.J. Kostyniak, J.J. Smee, A.M. Trujillo, J.A. Alfano, W. Ding, Z. Hu & D. Crans, *Coord. Chem. Rev.* 255 (2011) 2258-2269.
- [63] D.C Crans, L. Yang, T. Jakusch, & T. Kiss, *Inorg. Chem.* 39 (2000) 4409-4416.

- [64] N. A. de la Sota, J. Pacheco Calderón, C.G. Rigo-Righi, *Revista de Química* 21(2007) 37-48.
- [65] A.K. Srivastava, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 206 (2000) 177-182.
- [66] L. Marzban, S. Bhanot, J.H. McNeill, *Mol. Cell Biochem.* 223 (2001) 147-157.
- [67] K. Kawabe, Y. Adichi, H. Sakurai, *Life Sci.* 78 (2006) 2860-6
- [68] Y. Shechter, J. Li, J. Meyerovitch, D. Gefel, R. Bruck, G. Elberg, D.S. Miller, A. Shisheva, *Mol. Cell Biochem.* 153 (1995) 39-47.
- [69] G. Elberg, Z. He, J. Li, N. Sekar, Y. Shechter, *Diabetes* 46 (1997) 1648-1690.
- [70] J. Li, G. Elberg, N. Sekar, Z.B. He, Y. Shechter, *Endocrinology* 138 (1997) 2274-2279.
- [71] E. Tsiani, I.G. Fantus, *Metab.* 8 (1997) 51-58.
- [72] E. Shafrir, S. Speilman, I. Nachliel, M. Khamaisi, H. Bar-On, E. Ziv, *Diabetes Metab. Res. Rev.* 17 (2001) 55-56.
- [73] I.G. Fantus, E. Tsiani, *Mol. Cell. Biochem.* 182 (1998) 109-119.
- [74] M. Aureliano, *World J. Biol. Chem.* 2 (2011) 215-225.
- [75] M. Aureliano, D.C. Crans, *J. Inorg. Biochem.* 103 (2009) 536-546.
- [76] M. Aureliano, *Dalton Trans* (2009) 9093-9100.
- [77] M. Aureliano, *J. Inorg. Biochem.* 80 (2000) 145-147.
- [78] T. Tiago, *Biochemistry* 43 (2004) 5551-5561.
- [79] T. Tiago, M. Aureliano, J.J. Moura, *J. Inorg. Biochem.* 98 (2004) 1902-1910.
- [80] A.S. Tracey, G.R. Willsky, E.S. Takeuschi. *Vanadium Chemistry, Biochemistry, Pharmacology, and Practical Applications*. Boca Ratón: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2007
- [81] M. Aureliano, *Vanadium Biochemistry*. Kerala, India: Research Signpost Publishers, 2007.
- [82] D.C. Crans *Comments Inorg. Chem.* 16 (1994) 1-33.
- [83] O.W. Howarth, *J. Chem. Soc. Dalton Trans*, (2006) 503-506.
- [84] A. Zorzano, M. Palacín, L. Martí, S. García-Vicente, *J. Inorg. Biochem.* 103 (2009) 559-566.
- [85] L. Martí, A. Abella, C. Carpené, M. Palacín, X. Testar, A. Zorzano, *Diabetes* (50) 2061-2068.
- [86] F. Yraola, A. Zorzano, F. Alberico, M. Royo, *Chem. Med. Chem.* 4 (2009) 495-503.
- [87] F. Yraola, S. García-Vicente, J. Fernandez-Recio, F. Albericio, A. Zorzano, L. Martí & M. Royo, *J. Med. Chem.* 49 (2006) 6197-6208.
- [88] F. Yraola, S. García-Vicente, L. Martí, F. Albericio, A. Zorzano & M. Royo, *Chem. Biol.*

- Des. 69 (2007) 423-428.
- [89] M.J. Pereira, E. Carvalho, J.W. Eriksson, D.C Crans, *J. Inorg. Chem.* 86 (2009) 657-667.
- [90] M. Aureliano, R.M. Gandara, *J. Inorg. Chem.* 99 (2005) 979-985.
- [91] Diabetes Prevention Program Research Group, *N. Engl J. Med.* 346 (2002) 393-403.
- [92] S. Ota, K. Horigome, T. Ishii, et al. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 388 (2009) 311-316.
- [93] D.C. Crans, C.D. Rithner, L.A. Theisen, *J. Am. Chem. Soc.* 112 (1990) 2901-2908.
- [94] Patent Application file MX/a/2011/013386
- [95] Patent Application file MX/a/2013/007859
- [96] S. Nakamura, T. Ozeki, *J. Am. Chem. Soc., Dalton Trans*, 2001 472-480.
- [97] O.W. Howarth, M. Jarrold, *J. Chem Soc., Dalton Trans.* 1978 503-506.
- [98] B.W. Clare, D.L. Kepert, D. W. Watts, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 1973, 2481-2487.
- [99] A. Sakar, S. Pal, *Polyhedron* 27 (2008) 3472-3476.
- [100] a) A.S.J. Wery, J.M. Gutierrez-Zorrilla, A. Luque, P. Roman, *Polyhedron* 15 (1996) 4555-4564; (b) P. Roman, A. Aranzabe, A. Luque, J.M Gutierrez-Zorrilla, M. Martinez-Ripoll, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 13 (1995) 2225-2231.
- [101] a) A. Udomvech, P. Kongrat, C. Pakawatchai, H. Phetmung, *Inorg. Chem. Comm.* 17 (2012) 132-136; (b) Z.A. Siddiqui, P.K. Sharma, M. Shahid, M. Khalid, A. Siddique, S. Kumar, *J. Mol. Struc.* 1029 (2012) 86-91.
- [102] a) I. Khan, S. Ayes, E. Yohannes, R.J. Doedens, *Front. Biosci.* 8 (2003) 177-183; b) H. Kumagai, M. Arishima, S. Kitagawa, K. Ymada, S. Kawata, S. Kaizaki, *Inorg. Chem.* 41 (2002) 1989-1992.
- [103] (a) S. Ramukutty, R. Jeyasudha, E. Ramachandran, *Res. Rev. J. Pharm. Sci.* 2 (2014) 36-40; (b) L. Mai, C. Han, *Mater. Lett.* 62 (2008) 1458-1461; (c) S.-Y. Luo, X.-L. Wu, Q.-P. Hu, J.-X. Wang, C.-Z. Liu, Y.-Y. Sun, *J. Struct. Chem.* 53 (2012) 915-920.
- [104] A. Chatkon, A. Barres, N. Samart, S.E. Boyle, K.J. Haller, D.C. Crans, *Inorg. Chim. Acta*, 420 (2014) 85-95.
- [105] N. Bosnjakovic-Pavlovic, A. Spasojevic-de Biré, I. Tomaz, N. Bouhaida, F. Avecilla, U.B. Mioc, J. Costa Pessoa, N.E. Ghermani, *Inorg. Chem.* 48 (2009) 9742-9753.
- [106] D. C. Crans, M. Mahroof-Tahir, O. P. Anderson, M. M. Miller, *Inorg. Chem.* 33 (1994) 5586-5590.

- [107] a) P.V. Bharatam, D.S. Patel, P. Iqbal, *J. Med. Chem.* 48 (2005) 7615-7622; (b) M. Fridrichová, I. Císarová, I. Nemeč, *Acta Crystallogr., Sect. E* 68 (2012) o18-019.
- [108] a) L.-P. Lu, H.-M. Zhang, S.-S. Feng, M.-L. Zhu, *Acta Crystallogr., Sect. C* 60 (2004) o740–o743; (b) M.-D. Serb, R. Wang, M. Meven, U. Englert, *Acta Crystallogr., Sect. B* 267 (2011) o552–o559.
- [109] a) D.-S. Guo, H.-Q. Zhang, F. Ding, Y. Liu, *Org. Biomol. Chem.* 10 (2012) 1527–1536; (b) P. Lemoine, A. Tomas, B. Viossat, N.-H. Dung, *Acta Crystallogr., Sect. C* 50(1994) 1437–1439.
- [110] M.C. Etter, *Acc. Chem. Res.* 23 (1990) 120-126.
- [111] a) I.D. Brown, *J. Appl. Crystallogr.* 29 (1996) 479-480; (b) S. Adams, SoftBV, v. 0.96, 2004; <http://www.softBV.net>.
- [112] P. Román, A. Aranzabe, A. Luque, J.M. Gutierrez-Zorrilla, M. Martínez-Ripoll, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 1995 2225-2231.
- [113] B.B Koleva, T. Kolve, R.W. Seidel, T. Tsanev, H.Mayer-Figge, M. Spiteller, W. S. Sheldrick. *Spectrochimica Acta Part A* 71 (2008) 695-702.
- [114] N. Sundaraganesan, S. Kalaichelvan, C. Meganathan, B. Dominic, J. Cornard, *Spectrochimica Acta Part A* 71 (2008) 898-906.
- [115] L. Zurková, A. Havelková, J. Tatiersky, *Termochimica Acta* 329 (1999) 67-71.
- [116] J. M. Arrieta, *Polyhedron* 11 (1992) 3042-3068.
- [117] L. Ulická, C. Vargová, *Chem. Zvesti* 27 (1973) 152-158.
- [118] L. Ulická, *J. Thermal. Anal.* 18 (1980) 127-136.
- [119] A.L. Spek, *J. Appl. Cryst.* 36 (2003) 7-13.
- [120] M.O. Sinnokrot & C.D. Sherrill, *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004) 7690-7697.
- [121] G. L. Bryant Jr. & J.A. King Jr. *Acta Cryst.* C48 (1992) 2036-2039.
- [122] M. Chao, E. Schempp & R.D. Rosenstein, *Acta Cryst.* B33 (1997) 1820-1823.
- [123] N. Vembu, M. Nallu, J. Garrison & W.J. Youngs, *Acta Cryst.* E59 (2003) o913-o916.
- [124] R.M. Mustaqim, S. Ali, I.A. Razak, H.-K. Fun, S. Goswami & A. Adak, *Acta Cryst.* E61 (2005) o3733-o3734.
- [125] C.R. Groom & F.H. Allen, *Angew. Chem. Int. Ed.* 53 (2014) 662-671.

- [126] P.Y. Zavalij, T. Chirayil & M.S. Whittingham, *Z. Kristallogr. -New Cryst. Struct.* 212 (1997) 321-322.
- [127] H. Liu, J. Wang, Y.Li & F. Jian, *J. Chem. Cryst.* 41 (2011) 1254-1257.
- [128] W.D.S. Motherwell, G.P. Shields & F.H. Allen, *Acta Cryst.* B56 (2000) 466-473.
- [129] C.F. Macrae, I.J. Bruno, J.A. Chisholm, P.R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, L. Rodriguez-Monge, R. Taylor, J. van de Streek & P.A. Wood, *J. Appl. Cryst.* 41 (2008) 466-470.
- [130] P. Gómez-Saiz, J. García-Tojal, M.A. Maestro, F.J. Arnaiz & T. Rojo, *Inorg. Chem.* 41 (2002) 1345-1347.
- [131] L.C.Y. Woo, V.G. Yuen, K.H. Thompson, J.H McNeill, C. Orvig, *J. Inorg. Biochem.* 76 (1999) 251-257.
- [132] B.F. Harland, B.A. Harden-Williams, *J. Am. Diet. Assoc.* 94 (1994) 891–894.
- [133] J. Nilsson, A.A. Shteinman, E. Degerman, E.A. Enyedy, T. Kiss, U. Behrens, D. Rehder, E. Norldlander, *J. Inorg. Biochem.* 105 (2011) 1795–1800.
- [134] D.C. Crans, R.L. Bunch, L.A. Theisen, *J. Am. Chem. Soc.* 111 (1989) 7597–7607.
- [135] P. Zabierowski, J. Szklarzewicz, R. Grybo, B. Modryl, W. Nitek, *Dalton Trans.* 43 (2014) 17044–17053.
- [136] C.J. Bailey, *Diabetes Care* 15 (1992) 755–772.
- [137] H.S. Hundal, T. Ramlal, R. Reyes, L.A. Leiter, A. Klip, *Endocrinology* 131 (1992) 1165–1173.
- [138] G. Zhou, R. Myers, Y. Li, Y. Chen, X. Shen, J. Fenyk-Melody, M. Wu, J. Ventre, T. Doebber, N. Fujii, N. Musi, M.F. Hirshman, L.J. Goodyear, D.E. Moller, *J. Clin. Invest.* 108 (2001) 1167–1174.
- [139] M.J. Hosseini, F. Shaki, M. Ghazi-Khansari, J. Pourahmad, *Metallomics* 5 (2013) 152–166.
- [140] A.J. Davison, Q. Wu, J. Moon, A. Stern, *Biochem. Cell Biol.* 72 (1994) 169–174.
- [141] Z. Shi, H.X. Liu, X.D. Yang, *J. Chin. Pharm. Sci.* 20 (2011) 498–504.

APENDICE 2

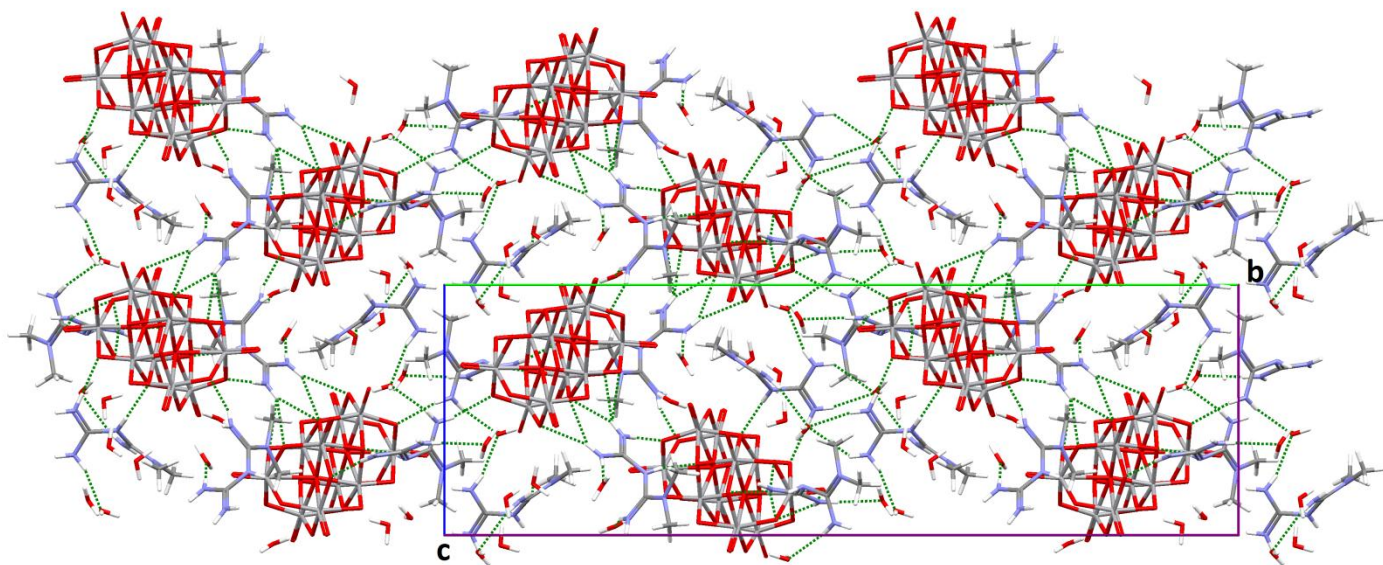
Enlaces de hidrógeno para 1 [Å y °].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
N(10)-H(10A)...OW5#1	0.831(19)	2.02(2)	2.851(6)	175(5)
N(10)-H(10B)...O(21)#2	0.824(19)	2.47(3)	3.225(4)	153(5)
N(11)-H(11A)...O(16)	0.809(19)	2.03(2)	2.837(4)	178(5)
N(11)-H(11B)...O(25)#2	0.806(19)	2.34(3)	3.071(4)	152(4)
N(13)-H(13)...O(24)	0.815(19)	1.98(2)	2.781(4)	169(4)
N(15)-H(15A)...OW3#3	0.812(19)	1.95(2)	2.730(5)	160(5)
N(15)-H(15B)...O(14)#1	0.815(19)	2.13(2)	2.919(4)	162(5)
N(20)-H(20A)...OW4#4	0.809(19)	2.13(2)	2.913(6)	164(5)
N(20)-H(20B)...O(8)#5	0.814(19)	2.62(3)	3.334(5)	147(5)
N(21)-H(21A)...O(19)	0.816(19)	2.14(2)	2.954(4)	173(5)
N(21)-H(21B)...O(11)#5	0.833(19)	2.48(3)	3.228(4)	150(4)
N(23)-H(23)...O(26)	0.801(19)	2.07(2)	2.844(4)	162(5)
N(25)-H(25B)...O(22)#4	0.821(19)	2.28(2)	3.088(4)	168(5)
N(25)-H(25A)...OW2#6	0.816(19)	2.23(2)	3.033(5)	167(5)
N(30)-H(30A)...OW2	0.82(2)	2.08(3)	2.875(6)	164(6)
N(30)-H(30B)...OW1#7	0.82(2)	2.65(4)	3.299(6)	138(5)
N(31)-H(31A)...O(10)	0.815(19)	2.08(2)	2.884(4)	170(5)
N(31)-H(31B)...OW1#7	0.828(19)	2.09(2)	2.897(5)	166(5)
N(33)-H(33)...O(23)	0.811(19)	1.97(3)	2.738(4)	158(5)
N(35)-H(35A)...OW1	0.84(2)	2.28(3)	3.065(6)	157(5)
N(35)-H(35B)...OW7#8	0.83(2)	2.43(5)	3.019(7)	128(5)
OW1-H(1A)...O(18)	0.845(10)	1.919(12)	2.760(4)	173(5)
OW1-H(1B)...OW6#9	0.845(10)	1.886(19)	2.708(6)	164(6)
OW2-H(2A)...O(3)#8	0.847(10)	2.38(2)	3.190(5)	161(6)
OW2-H(2B)...OW4#10	0.846(10)	2.25(3)	3.011(6)	150(5)
OW3-H(3A)...O(13)#2	0.847(10)	2.14(3)	2.904(5)	149(5)
OW3-H(3B)...O(2)	0.845(10)	2.33(3)	3.065(5)	146(5)
OW4-H(4A)...O(11)	0.851(10)	1.994(18)	2.828(5)	167(7)
OW4-H(4B)...OW8#11	0.851(10)	2.26(6)	2.850(7)	126(7)
OW5-H(5A)...O(15)	0.855(9)	1.934(13)	2.783(5)	173(7)
OW5-H(5B)...O(6)#2	0.846(10)	2.35(2)	3.175(6)	165(8)
OW6-H(6A)...O(5)	0.853(10)	2.35(6)	2.964(5)	129(6)
OW6-H(6B)...OW7#10	0.851(10)	2.47(4)	3.227(6)	148(6)
OW7-H(7A)...O(21)	0.861(10)	1.940(14)	2.786(5)	167(6)
OW7-H(7B)...O(5)#11	0.850(10)	2.05(4)	2.780(5)	143(5)
OW8-H(8A)...OW7#10	0.853(10)	2.17(6)	2.950(8)	151(10)
OW8-H(8B)...O(9)	0.847(10)	2.30(4)	3.123(6)	163(11)

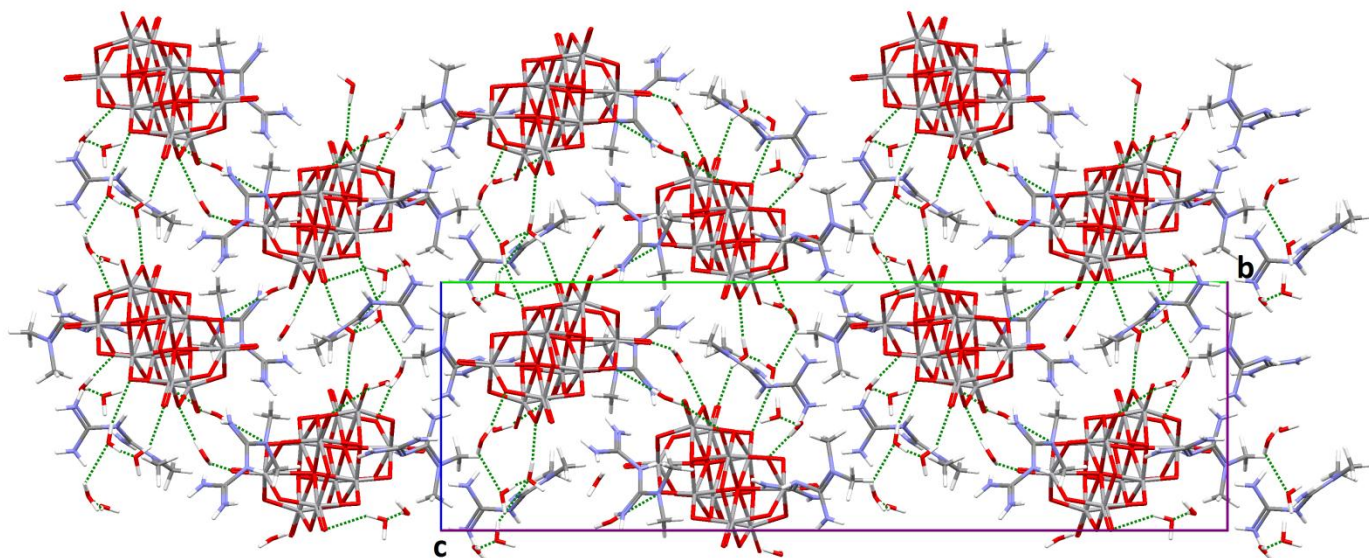
Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

#1 $x-1/2, -y+1/2, z+1/2$ #2 $x-1/2, -y+1/2, z-1/2$

#3 $x+1/2, -y+1/2, z+1/2$ #4 $-x+1, -y, -z+1$ #5 $x+1, y, z$



Enlaces de hidrógeno N–H...O en 1. La vista es sobre el eje a.



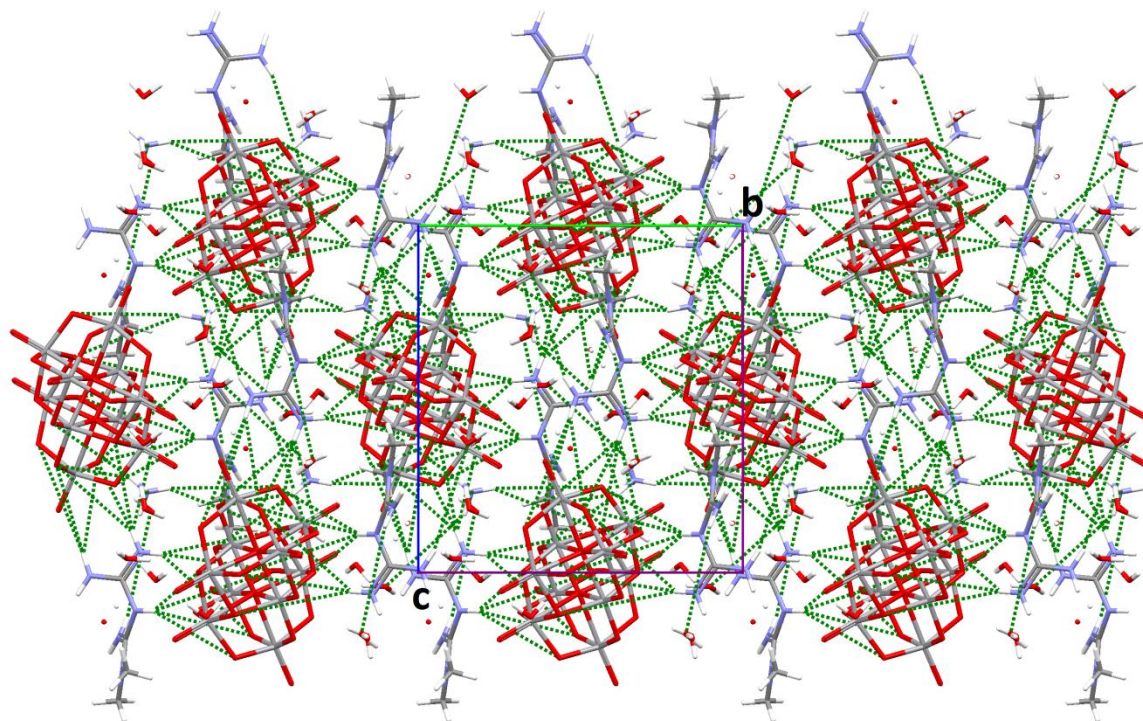
Enlaces de hidrógeno O–H...O en 1. La vista es sobre el eje a.

Enlaces de hidrógeno para **2** [Å y °].

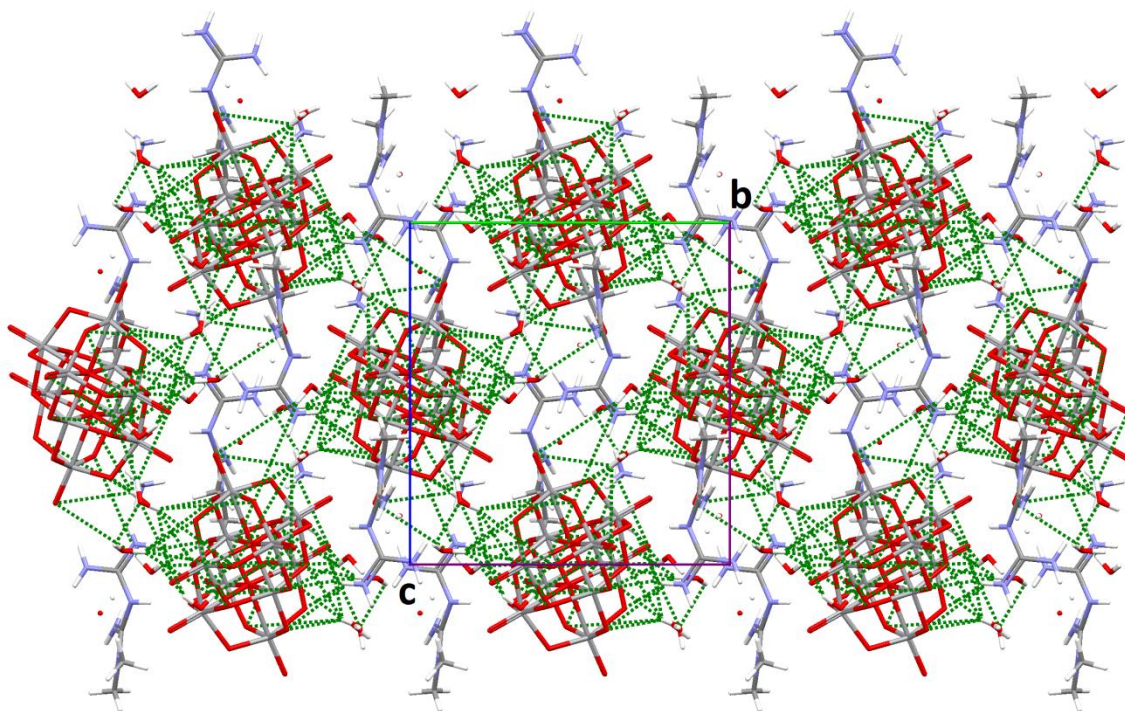
D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
N(10)-H(10A)...OW4#1	0.843(19)	2.18(2)	2.998(4)	163(4)
N(10)-H(10B)...O(5)#2	0.853(19)	2.11(2)	2.940(4)	165(4)
N(11)-H(11A)...O(12)	0.808(19)	2.27(2)	3.061(3)	165(4)
N(11)-H(11B)...O(8)#2	0.845(18)	1.990(19)	2.834(3)	177(4)
N(13)-H(13)...O(7)	0.807(18)	1.864(19)	2.670(3)	176(4)
N(15)-H(15A)...OW2	0.823(19)	2.02(2)	2.822(4)	166(4)
N(15)-H(15B)...O(13)#3	0.84(4)	2.07(4)	2.894(3)	169(4)
N(1)-H(1NA)...OW5#8	0.907(10)	1.85(2)	2.717(8)	158(4)
N(1)-H(1NB)...OW1	0.892(10)	2.29(3)	3.005(6)	138(4)
N(1)-H(1NC)...O(9)#4	0.905(10)	2.03(2)	2.883(4)	156(4)
N(1)-H(1ND)...O(3)#8	0.889(10)	2.10(3)	2.863(4)	143(4)
OW1-H(1A)...O(10)#4	0.848(10)	1.973(15)	2.809(3)	169(5)
OW1-H(1B)...OW2#5	0.844(10)	2.13(2)	2.928(4)	158(5)
OW2-H(2A)...OW3	0.845(10)	2.13(4)	2.746(4)	129(4)
OW2-H(2B)...O(4)	0.843(10)	2.28(3)	2.916(4)	133(4)
OW3-H(3A)...O(13)#2	0.842(10)	2.11(2)	2.910(3)	159(4)
OW3-H(3B)...OW4#6	0.843(10)	2.020(14)	2.844(5)	165(4)
OW4-H(4A)...OW1	0.846(10)	2.011(16)	2.836(4)	165(4)
OW4-H(4B)...O(11)#7	0.840(10)	1.950(13)	2.783(3)	171(4)

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

#1 -x+1,-y+1,-z+2 #2 x,-y+3/2,z+1/2 #3 -x,y+1/2,-z+3/2
 #4 -x+1,y-1/2,-z+5/2 #5 x+1,-y+1/2,z+1/2 #6 x-1,y+1,z
 #7 -x+1,-y,-z+2 #8 x,y-1,z



Enlaces de hidrógeno N-H...O en **2**. La vista es sobre el eje *a*.



Enlaces de hidrógeno O-H...O en **2**. La vista es sobre el eje *a*.

Enlaces de hidrógeno para **3** [Å y °].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
N(10)-H(10A)...OW2#2	0.818(17)	2.200(19)	3.005(3)	168(3)
N(10)-H(10B)...O(6)#3	0.811(18)	2.23(2)	2.969(2)	151(3)
N(11)-H(11A)...O(7)	0.820(17)	2.033(18)	2.852(2)	176(3)
N(11)-H(11B)...O(11)#4	0.810(17)	2.077(19)	2.856(2)	161(3)
N(13)-H(13)...O(8)	0.826(17)	1.920(17)	2.738(2)	171(3)
N(15)-H(15A)...OW1#5	0.828(17)	1.952(18)	2.758(3)	165(3)
N(15)-H(15B)...O(12)#6	0.817(17)	2.036(19)	2.814(2)	159(3)
N(1)-H(1NA)...N(10)#7	0.887(10)	2.649(17)	3.514(7)	165(5)
N(1)-H(1NC)...O(2)	0.892(10)	2.05(2)	2.887(6)	156(5)
N(1)-H(1ND)...O(4)#8	0.897(10)	2.048(13)	2.941(6)	174(5)
N(2)-H(2NC)...O(2)	0.894(10)	2.008(14)	2.898(7)	173(6)
OW1-H(1A)...O(1)#1	0.837(10)	2.16(2)	2.858(2)	141(3)
OW1-H(1B)...O(13)#7	0.840(10)	1.976(12)	2.803(2)	168(3)
OW2-H(2A)...O(6)#1	0.839(10)	2.01(3)	2.764(3)	149(5)
OW2-H(2B)...O(4)#7	0.839(10)	2.219(12)	3.054(3)	173(5)

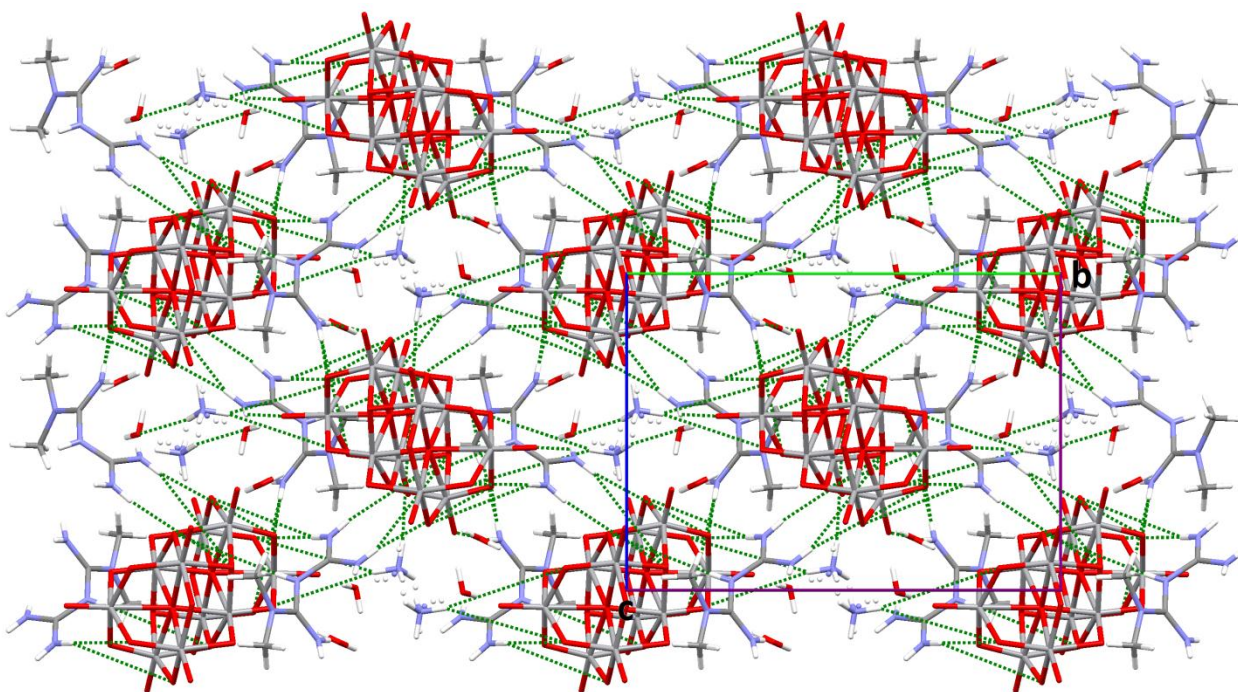
Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

#1 -x+1,-y,-z+2 #2 -x+1/2,y+1/2,-z+5/2 #3 -x+1/2,y+1/2,-z+3/2

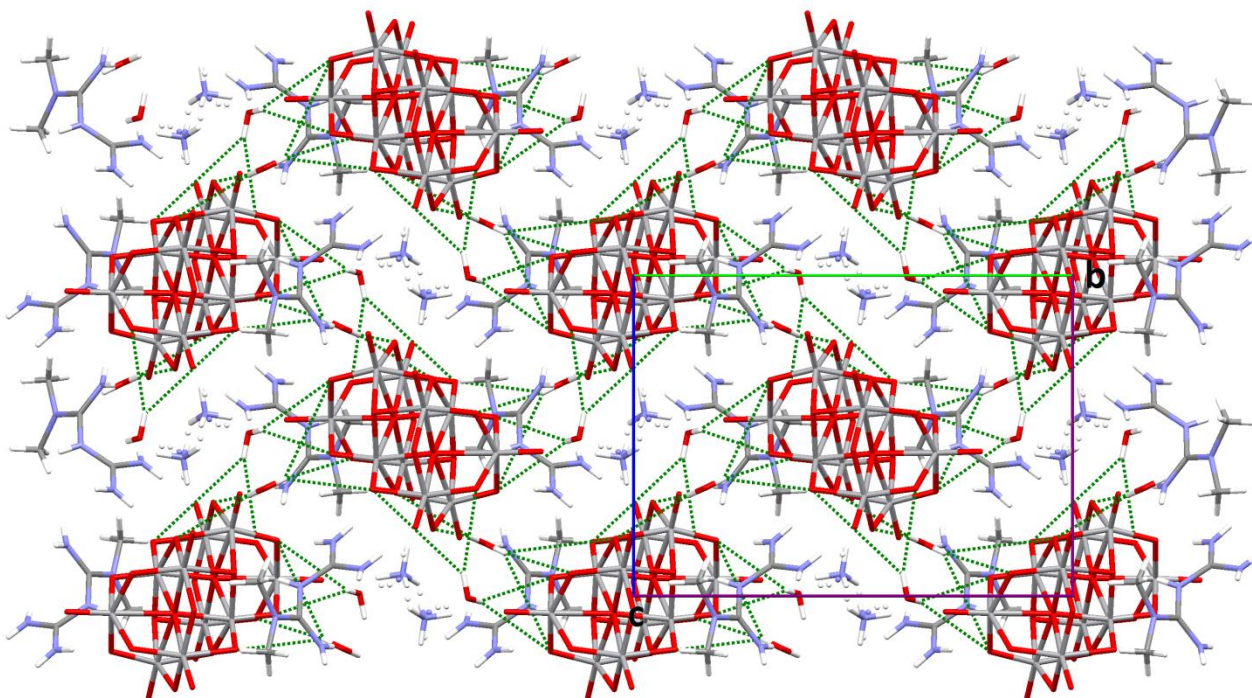
#4 x-1/2,-y+1/2,z-1/2 #5 -x+3/2,y+1/2,-z+5/2

#6 x-1/2,-y+1/2,z+1/2 #7 -x+3/2,y-1/2,-z+5/2

#8 x+1/2,-y+1/2,z+1/2

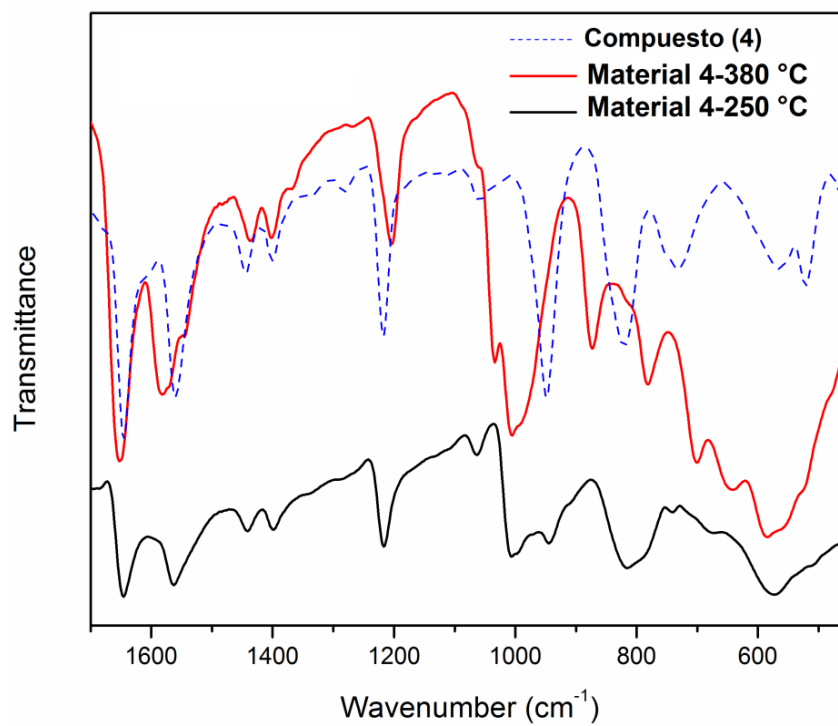


Enlaces de hidrógeno N–H...O en **3**. La vista es sobre el eje *a*.

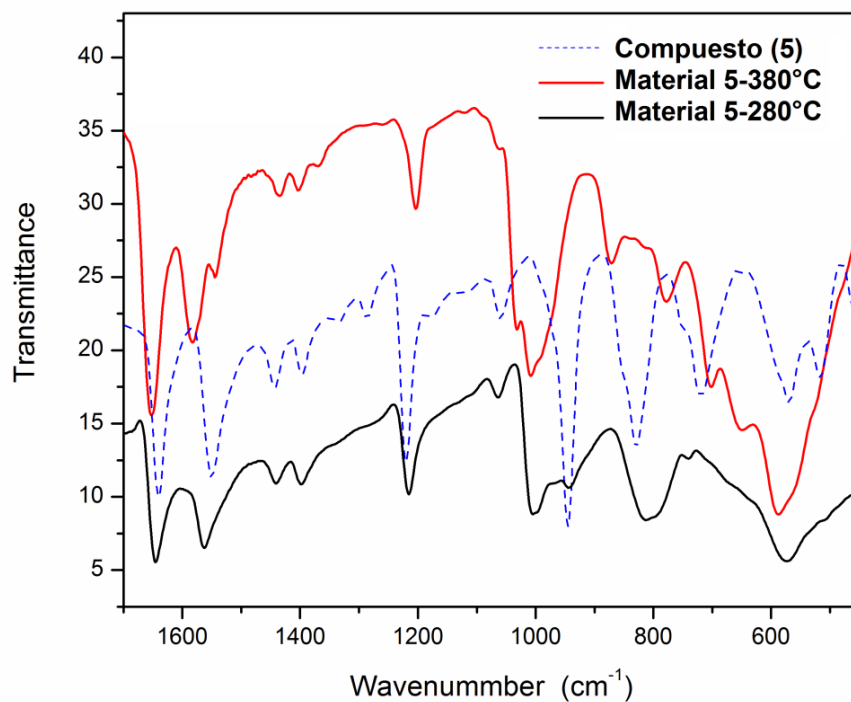


Enlaces de hidrógeno O–H...O en **3**. La vista es sobre el eje *a*.

APENDICE 1



Espectro FT-IR de (4), y espectros de la muestra calentada a diferentes temperaturas



Espectro FT-IR de (5), y espectros de la muestra calentada a diferentes temperaturas