



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**MOLÉCULAS QUELATANTES DE COBRE Y SU POSIBLE
FUNCIÓN ANTIOXIDANTE; UN ESTUDIO TEÓRICO**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO

PRESENTA

Jonathan Edgar Tudela Martínez

DIRECTOR DE TESIS

Dra. Ana María Martínez Vázquez



CIUDAD UNIVERSITARIA, Cd. Mx., 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado Asignado:

Presidente: Francisco Miguel de Jesús Castro Martínez

Vocal: Juan Raúl Álvarez Idaboy

Secretario: Ana María Martínez Vázquez

1er Suplente: Martha Magdalena Flores Leonar

2do Suplente: Alan Ulises Mendieta Martínez

Este trabajo se realizó en el Instituto de Investigaciones en Materiales de la UNAM. En el departamento de materiales de baja dimensionalidad, Edificio C, segundo piso, laboratorio de química computacional L-C-209.

Asesor
Dra. Ana María Martínez Vázquez.

Supervisor técnico
Dr. Miguel Reina Tapia

Sustentante
Jonathan Edgar Tudela Martínez

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	9
OBJETIVO GENERAL.....	11
OBJETIVOS PARTICULARES	11
MARCO TEÓRICO.....	12
DETALLES COMPUTACIONALES	14
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
QUELATACIÓN	17
TRANSFERENCIA DE ÁTOMO DE HIDRÓGENO	19
FORMACIÓN DE ADUCTO RADICAL	26
TRANSFERENCIA DE ELECTRÓN	33
CONCLUSIONES	36
BIBLIOGRAFÍA	37

INTRODUCCIÓN

El estrés oxidativo es un proceso bioquímico donde existe un desbalance entre la producción y el consumo de radicales libres.[2] El exceso de radicales libres conlleva a un daño potencial cuando interactúan con moléculas como proteínas, ADN, ARN, azúcares y lípidos. El estrés oxidativo ha sido asociado a enfermedades pulmonares [5], renales [6] y oculares. [7] Se ha estudiado su relación con artritis reumatoide [8], preclamsia [10], restricción de crecimiento fetal, [9] desordenes neurodegenerativos [11] y enfermedades cardiovasculares [12-14]. En general se estima que el estrés oxidativo es responsable de 10 000 modificaciones del ADN por célula, por día. [15]

Los radicales libres son átomos, moléculas o iones con al menos, un electrón desapareado. Los radicales libres en sistemas biológicos suelen derivar de tres elementos: oxígeno (especies reactivas de oxígeno, RO[•]), nitrógeno (especies reactivas de nitrógeno, RN[•]) y azufre (especies reactivas de azufre, RS[•]) [3].

Los radicales libres en exceso son dañinos pero también son parte fundamental en el funcionamiento de los sistemas biológicos, ya que participan en la maduración de la estructura celular [4], la señalización celular [5-7] y la apoptosis de células defectuosas [9,10]. Se pueden producir dentro del sistema biológico o por agentes externos. Las causas inherentes al organismo son inflamaciones [16], la respuesta inmune [17], el estrés físico o mental [18] y el envejecimiento. [16] Los factores externos que producen radicales libres son la contaminación ambiental [19], la exposición a metales de transición [20], el humo de cigarro [21], ciertos medicamentos [22], el alcohol [23] y algunos tipos de radiación. [24]

Para regular la cantidad de radicales libres hay sustancias llamadas antirradicales. Un antirradical es cualquier sustancia que inhibe o previene la acción de los radicales libres. Existen antirradicales endógenos (producidos por el propio organismo) y exógenos (se

adquieren del exterior), que ayudan a mantener el balance de radicales libres disminuyendo el estrés oxidativo. Los antirradicales endógenos se pueden clasificar en enzimáticos (por ejemplo la superóxido dismutasa y la catalasa) y no enzimáticos (como la melatonina). [25] Los antirradicales exógenos son carotenos o vitaminas por ejemplo, y en general se adquieren con la alimentación.

Por otra parte, la exposición constante a ciertos metales de transición y metaloides (como hierro, cobre, plomo y arsénico) hace que se acumulen en los organismos vivos. A esto se le conoce como bioacumulación. Las fuentes potenciales de exposición a estos metales, son la ingesta de agua contaminada, el trabajo directo con estos metales, el curtido de cuero y la minería. [26-28] Una de las fuentes más prominentes de intoxicación es la herbolaria, ya que en países como La India, China y México es común el uso de la medicina tradicional utilizando distintas hierbas. [29] Estas hierbas medicinales en muchas ocasiones contienen metales en exceso, debido a que se riegan con aguas residuales que los contienen. [30] La bioacumulación de metales nocivos conlleva a que estos desplacen a los metales inherentes del sistema. Los metales nocivos suplen a metales esenciales en las proteínas, lo que genera intoxicación de la célula. [31]

Una forma en la cual se logra eliminar el exceso de metales del cuerpo humano es por medio de una práctica médica llamada terapia de quelatación, que está basada en la administración de sustancias que atrapan a los metales para su posterior expulsión del cuerpo. Estas sustancias atrapadoras de metales se llaman "agentes quelatantes", también conocidos como ligantes quelatos. Los quelatos son moléculas que interactúan con metales de transición, generando dos o más enlaces coordinados. De ahí el origen etimológico de la palabra quelato, que proviene de la palabra *chela* que significa pinza. [32]

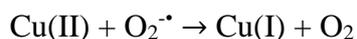
Aunado a la intoxicación generada por el exceso de estos metales, estos últimos participan en la producción de especies reactivas de oxígeno. En particular el $\bullet\text{OH}$ puede generarse por dos mecanismos principales: la reacción de Fenton y la reacción de Haber-Weiss. La reacción de Fenton involucra iones metálicos de Cu y Fe. A continuación, se muestra esquemáticamente la reacción con Cu(I).



La reacción de Haber-Weiss se muestra en su forma global a continuación.



La reacción de Haber-Weiss es lenta y no tiene importancia fisiológica, a menos que se encuentre catalizada por iones metálicos. [33] En términos cinéticos la reacción de Haber-Weiss catalizada es más rápida y el proceso de producción de radicales libres se vuelve una combinación de las dos reacciones principales. A continuación se muestra esquemáticamente la reacción de Haber-Weiss catalizada por Cu(II).



En la reacción se puede observar que el Cu(II) se reduce a Cu(I) y se vuelve a oxidar a Cu(II), por lo que con pocas cantidades del ion metálico se producen grandes cantidades del radical $\bullet\text{OH}$, que es especialmente dañino debido a su alta reactividad. Entre las especies reactivas de oxígeno es el más electrofílico, [34] lo que hace que este radical libre reaccione casi instantáneamente con cualquier molécula que se encuentre en las vecindades de donde se genera.

El Cu(II) es el ion que genera más rendimiento en la reacción de Fenton y el que más lesiones causa al ADN. [35] Aunado a esto, la mayor parte del cobre que se encuentra en la célula está en la forma de Cu(I), lo que aumenta su incidencia en la reacción de Fenton. [36]

Como se mencionó anteriormente es posible disminuir la actividad de estos iones metálicos quelatándolos. [35] A pesar de que la terapia de quelatación ha ayudado en el tratamiento de la intoxicación, no se ha probado otro beneficio de la terapia de quelatación que el de remover metales del cuerpo. [37] Sin embargo se ha sugerido [31] y se ha experimentado [38] la capacidad antirradicalaria de agentes quelatantes.

Un ligante quelato muy usado en la química de coordinación es la 1,10-Fenantrolina (FEN) cuya fórmula se muestra en la Figura 1. Gracias a su estructura plana, rígida e hidrofóbica, es de especial utilidad como precursor para distintas reacciones de interés biológico, tecnológico y ambiental. [39] La FEN, tiene propiedades antibacteriales [40], antivirales [41] y antineoplásicas [42]

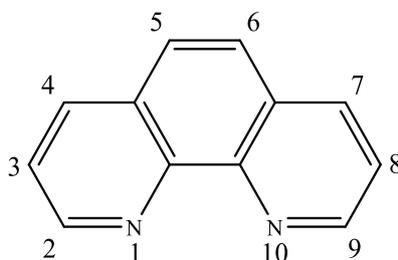


Figura 1. Fórmula desarrollada de la 1,10-fenantrolina (FEN).

No solo la FEN presenta propiedades importantes. También sus derivados metilados, y con fenilos que se muestran en la Figura 2.

En este trabajo se busca analizar la capacidad antirradicalaria de la FEN y sus derivados (Figura 2), la capacidad de atrapar átomos de Cu(II) y la viabilidad antirradicalaria de los quelatos formados.

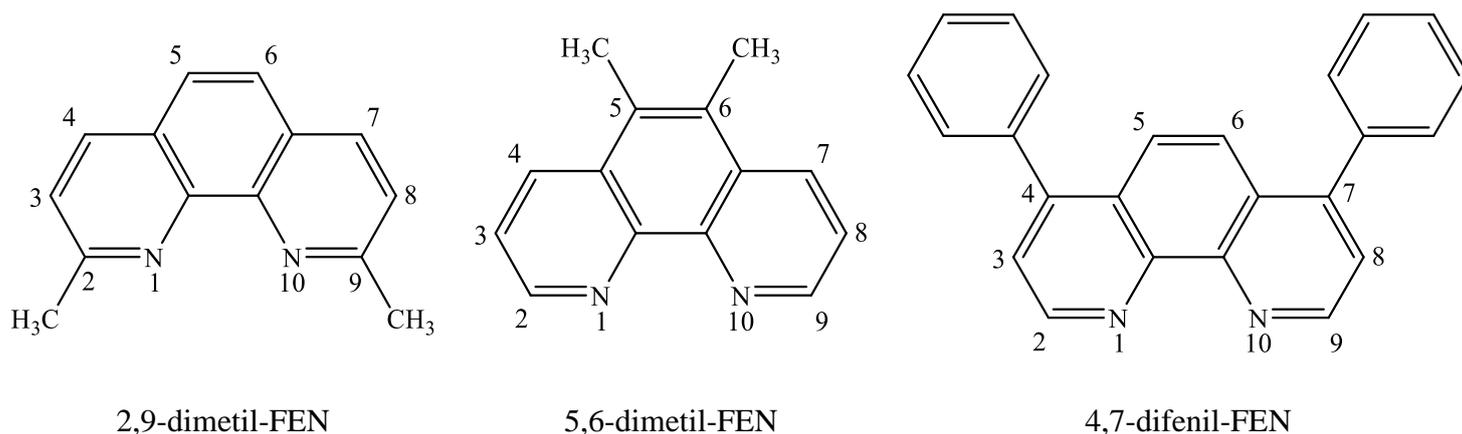


Figura 2. Fórmulas desarrolladas de las fenantrolinas analizadas en este trabajo.

Los compuestos tipo metal-ligante con FEN han sido ampliamente estudiados en el ámbito de la salud. Por ejemplo, se ha observado que el ligante FEN presenta actividad antioxidante. Cuando se encuentra coordinada con Pd tiene una mayor actividad antioxidante que el ligante aislado. [43] Al coordinarse con Ru puede fungir como un agente de identificación de $\bullet\text{OH}$. [44] Por otra parte cuando la FEN se coordina a Fe se ha observado que protege a las células epiteliales pulmonares de compuestos tóxicos. [45]

La relación de la presencia de Cu con el estrés oxidativo ha sido ampliamente estudiada. La idea de un secuestrante de Cu para prevenir la catálisis de la reacción de Haber-Weiss ha sido previamente planteada con distintos ligantes como la melatonina [46] o el hyperjovinol. [47] Sin embargo no ha sido reportada la actividad antirradicalaria del compuesto posterior a la quelatación del metal, lo que es un objetivo de este trabajo.

Los compuestos metal-ligante de Cu con FEN se han estudiado desde los años 50 pero es a finales de los años 70 cuando se estudió su interacción con el ADN y su relación con el estrés oxidativo. Se observó que la molécula $[\text{Cu}(\text{FEN})_2]^+$ es buena para separar hebras de ADN. [48] Posteriormente se encontró que este compuesto, en presencia de H_2O_2 , es potencialmente dañino para el ADN debido a la producción de $\bullet\text{OH}$. [49] También el compuesto $[\text{Cu}(\text{FEN})_2]^{2+}$, ha sido estudiado como estimulante en la apoptosis de células cancerígenas. [48]

Con lo que respecta al derivado 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina, los metilos en las posiciones dos y nueve de la FEN le confieren cierta especificidad a la quelatación del ion Cu^+ , debido al impedimento estérico en el sitio de coordinación. [50] El compuesto metal-ligante, $[\text{Cu}(2,9\text{-dimetil-FEN})_2]^{2+}$ ha sido caracterizado como un compuesto con actividad citotóxica, es decir que daña a las células cancerígenas, y es particularmente efectivo contra células de leucemia L1210. [51] Aunado a esto, el compuesto $[\text{Cu}(2,9\text{-dimetil-FEN})_2]^{2+}$ ha sido utilizado como un agente oxidante cromóforo en la medida de la capacidad antioxidante en polifenoles. [52]

Los compuestos $[\text{Cu}(5,6\text{-dimetil-FEN})_2]^{2+}$ y $[\text{Cu}(4,7\text{-difenil-FEN})_2]^{2+}$ han demostrado actividad antimicrobiótica. [53] En el contexto de estrés oxidativo, el compuesto $[\text{Cu}(5,6\text{-dimetil-FEN})_2]^{2+}$ ha sido utilizado como intermediario para la extracción de antioxidantes. [54]

Otro tipo de compuestos que contienen a la FEN y algunos derivados coordinados con Cu, son las Casiopeinas[®]. Estas últimas tienen la forma general: $[\text{Cu}(\text{N-N})(\text{O-N})]^+$ y $[\text{Cu}(\text{N-N})(\text{O-O})]^+$. [55] En la Figura 3, se puede observar el esquema de la fórmula, donde N-N es la 1,10-fenantrolina o una bipyridina, el ligante O-N es un α -aminoácido, acidato o péptido y el O-O es un ligante acetyl acetato o salisaldehído.

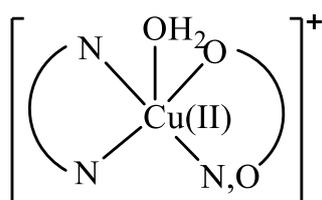


Figura 3. Fórmula esquemática de las Casiopeinas[®].

La FEN y algunos de sus derivados como la 5,6-dimetil-FEN y 4,7-difenil-FEN, han sido estudiados como ligantes en compuestos tipo Casiopeinas[®]. [56] Estas moléculas se han probado como compuestos anticancerígenos. [57,58]

Para el estudio de la capacidad de atrapar radicales libres se suelen analizar distintos tipos de mecanismos. Se han propuesto mecanismos directos y mecanismos secuenciales. Los

mecanismos directos, como su nombre lo indica, se realizan en un solo paso, mientras que los mecanismos secuenciales, se llevan a cabo en más de un paso, con la pérdida de un protón. Mecanismos como la transferencia de átomo de hidrógeno, la formación de aducto radical y la transferencia de electrón, son ejemplos de mecanismos directos. Ejemplos de mecanismos secuenciales pueden ser la transferencia de átomo de hidrógeno por pérdida de protón secuencial, la transferencia de electrón secuencial por pérdida de protón y la transferencia de electrón por acoplamiento de protón. En este trabajo se estudiaron los mecanismos directos.

En el mecanismo de transferencia de átomo de hidrógeno se lleva a cabo una ruptura homolítica de un hidrógeno del antirradical, donde el $\cdot\text{H}$ se une al radical. El radical remanente es menos reactivo, por lo que se dice que el radical se “estabiliza”. Este mecanismo suele proponerse para antirradicales polifenólicos.

El mecanismo de formación de aducto radical suele aplicarse en antirradicales que contienen enlaces múltiples, ya que el radical libre al ser un nucleófilo, se une a estos enlaces insaturados generando un compuesto radical, lo que disminuye la reactividad del compuesto o “aducto” radical formado.

El mecanismo de transferencia de electrón depende de la capacidad aceptora de electrones del radical libre y de la capacidad donadora de electrones por parte del antirradical. Para interpretar la viabilidad y comparar la capacidad de los antioxidantes, se comparan los valores de afinidad electrónica (AE) y de energía de ionización (EI). Estos parámetros se comparan en un sistema de coordenadas cartesiano, que se conoce como mapa de transferencia total de electrones, mejor conocido por su acrónimo inglés FEDAM (*full electron donator acceptor map*).

En este trabajo se busca conocer la viabilidad como agentes quelatantes y la capacidad antioxidante de la 1,10-fenantrolina y algunos de sus derivados (Figura 2). Se estudiaron los

tres mecanismos antirradicalarios directos explicados anteriormente, para las fenantrolinas aisladas y para los compuestos metal-ligante con Cu(II).

ANTECEDENTES.

En trabajos previos se han estudiado Cassiopeinas[®] en el contexto del estrés oxidativo y su impacto como posibles antioxidantes. [59] Hay reportes sobre la capacidad antirradicalaria desde el punto de vista del mecanismo de transferencia de electrón, analizando distintas Casiopeinas[®]. De acuerdo con el FEDAM las Casiopeinas[®] son buenas aceptoras de electrones, por lo que la actividad anticancerígena de estos compuestos puede estar relacionada con su actividad antioxidante aceptando electrones del radical O_2^{\bullet} , lo que evita el estrés oxidativo en la célula.

Recientemente se reportó una metodología para estudiar agentes secuestradores de metales, y evaluar su actividad antioxidante. [60] A esto se le conoce como una terapia combinatoria. En ese trabajo se utilizó D-penicilamina (DPEN) como ligante y Cu como átomo metálico. La DPEN resultó tener capacidad para quelatar al átomo de Cu, y también se determinó una buena función antioxidante del compuesto metal-ligante.

En este trabajo se utilizará la misma metodología usada para la DPEN en el estudio de la 1-10-fenantrolina y se analizarán termodinámicamente los mecanismos directos previamente mencionados. En resumen para el estudio de la capacidad antirradical de los sistemas de interés, se buscan de preferentemente moléculas capaces de quelatar metales, y posteriormente de su capacidad de atrapar radicales libres. En la Figura 4 se muestra el diagrama de flujo para el análisis de moléculas propuesto previamente [60], modificando para poderlo usar en este trabajo.

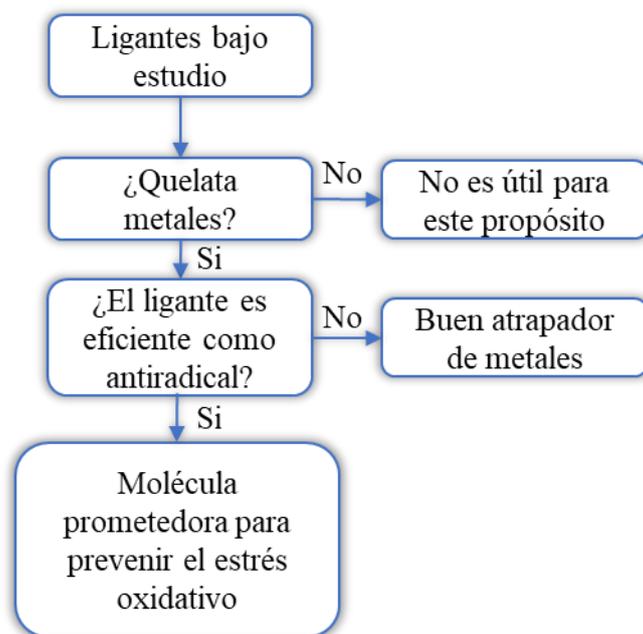


Figura 4. Diagrama de flujo parcial propuesto previamente [60] para el análisis de moléculas prometedoras como atraparoras de metales y atraparoras de radicales libres.

OBJETIVO GENERAL

- Investigar teóricamente la capacidad de reducir el estrés oxidativo de los ligantes FEN, 2,9-dimetil-FEN, 5.6-dimetil-FEN y 4,6-difenil-FEN; aislados y coordinados con Cu(II).

OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar la capacidad de las moléculas de estudio para atrapar Cu(II).
- Estudiar los mecanismos de transferencia de átomo de hidrógeno, formación de aducto radical y transferencia de electrón para cada molécula de estudio (aislada y coordinada).
- Analizar la influencia de los sustituyentes en la FEN en su capacidad para atrapar Cu(II).
- Analizar la influencia en la capacidad de atrapar radicales libres de los sustituyentes de la FEN en los compuestos aislados y quelatados con Cu(II).

MARCO TEÓRICO

La teoría de funcionales de la densidad fue desarrollada por Pierre Hohenberg y Walter Khon en 1964, quienes demostraron que la densidad electrónica del estado de mínima energía (ρ_0) de un sistema determina su energía. [61] Esto es posible relacionando la densidad electrónica con el potencial externo, que es una energía potencial de interacción entre los electrones y los núcleos. Dentro del modelo la energía se trata como un funcional de la densidad, de acuerdo con la expresión siguiente:

$$E_0 = E_0[\rho_0] = T[\rho_0] + V_{ee}[\rho_0] + V_{ne}[\rho_0]$$

donde $T[\rho_0]$ es el funcional de energía cinética, $V_{ee}[\rho_0]$ es el funcional de energía interactuante electrón-electron y $V_{ne}[\rho_0]$ es el funcional del potencial externo.

En el año de 1965, Walter Khon y Lu Jeu Sham publicaron una forma de determinar ρ_0 y E_0 . [62] Esto lo realizaron asumiendo un sistema para electrones no interactuantes. Las consecuencias de esta propuesta imaginaria fue la agrupación de los funcionales desconocidos en un funcional de intercambio y correlación ($E_{xc}[\rho_0]$) que no se conoce, pero se puede aproximar. La expresión matemática es la que sigue:

$$E_0[\rho_0] = T[\rho_0] + V_{ee}[\rho_0] + V_{ne}[\rho_0] + E_{xc}[\rho_0]$$

El funcional $E_{xc}[\rho_0]$ se ha aproximado de distintas formas. Una de las primeras aproximaciones fue la aproximación local que se basa en considerar un gas de electrones homogéneo. Otra aproximación es GGA, acrónimo inglés de *generalized gradient approximation* (aproximación de gradiente generalizado), también se basa en un gas homogéneo de electrones, pero corrigiendo las deficiencias calculando el gradiente de la densidad. Los funcionales meta-GGA son funcionales que usan un gradiente de segundo orden. Los funcionales híbridos son un tipo de funcionales donde $E_{xc}[\rho_0]$ contienen una parte de energía de intercambio exacto de Hartree-Fock y otro tipo de aproximaciones.

El funcional M06 es un funcional híbrido meta-GGA, el cual tiene 27% de intercambio exacto de Hartree-Fock y se encuentra parametrizado para interacciones no covalentes y para metales de transición. [63] Su expresión matemática es la que sigue:

$$E_{XC}^{M06} = 0.27E_X^{HF} + 0.73E_X^{M06} + E_C^{M06}$$

Las funciones de base son funciones que buscan representar orbitales como combinaciones lineales. Para el modelado de átomos pesados se utilizan pseudopotenciales, que son funciones de base donde dividen orbitales internos y externos. En estas funciones de base solo se consideran los electrones de valencia moviéndose en el potencial generado por el núcleo y los electrones de orbitales internos.

El pseudopotencial LanL2DZ es un conjunto de bases desarrollado por Hay y Wadlt en el Laboratorio Nacional de los Alamos. [64] Este pseudopotencial describe bien compuestos con átomos pesados ($Z < 38$). Es ampliamente usado para modelar metales de transición debido a que ajusta para elementos del tercer periodo y con orbitales de valencia nd , $(n+1)s$ y $(n+1)p$. Este pseudopotencial usa 19 electrones de valencia para describir los átomos del grupo 11.

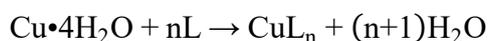
DETALLES COMPUTACIONALES

Este trabajo se desarrolló con Gaussian 09 y con la interfaz gráfica Gaussview 5. El estudio se llevó a cabo con base en la teoría de funcionales de la densidad, usando el funcional M06 y un pseudopotencial LanL2DZ.

Se investigó la capacidad para atrapar Cu(II) de las fenantrolinas. Posteriormente se comprobó la capacidad antirradicalaria de cada uno de los ligantes con el radical •OH. Por último se determinó la capacidad antirradicalaria de los compuestos quelatados de Cu(II) con •OH.

Para el análisis de la quelatación y la capacidad antioxidante, se determinó la viabilidad termodinámica de cada reacción utilizando la diferencia de energía libre de Gibbs como criterio termodinámico. Calculando optimizaciones estructurales y frecuencias vibracionales de cada compuesto, se obtuvieron las energías libres de Gibbs correspondientes.

La reacción de quelatación se lleva a cabo entre un ligante que se coordina por dos o más sitios a un átomo central. A continuación se muestra la reacción de quelatación y la fórmula que se utilizó para calcular la diferencia de energía libre de Gibbs (ΔG_Q). L representa a las distintas fenantrolinas y n es la cantidad de fenantrolinas que se quelatan. En este trabajo los compuestos donde n=1 se les llamará “monoquelatos”, mientras que los compuestos que cuenten con n=2 se les llamará “bisquelatos”.



$$\Delta G_Q = \left(G_{\text{CuL}_n} + (n+1)G_{\text{H}_2\text{O}} \right) - \left(G_{\text{Cu}\cdot 4\text{H}_2\text{O}} + nG_{\text{L}} \right)$$

La capacidad antioxidante se evalúa mediante los mecanismos de transferencia de átomo de hidrógeno, la formación de aducto radical y la transferencia de electrón.

El mecanismo de transferencia de átomo de hidrógeno se basa en la transferencia de un átomo de hidrógeno de un anti-radical (L) al radical libre (•OH). En la Tabla 1 se proponen las

reacciones generales de este mecanismo para las fenantrolinas aisladas y quelatadas con Cu(II).

También se muestra la forma en la cual se calculó la energía libre de Gibbs para cada reacción.

Tabla 1. Reacciones generales propuestas para el mecanismo de transferencia de átomo de hidrógeno en las distintas fenantrolinas (L), y la fórmula para calcular la diferencia de energía libre de Gibbs para cada caso.

Deshidrogenación de fenantrolinas aisladas
$L + \bullet\text{OH} \rightarrow L_{(-\text{H})} + \text{H}_2\text{O}$
$\Delta G_{\text{H}} = (G_{L_{(-\text{H})}} + G_{\text{H}_2\text{O}}) - (G_{\text{L}} + G_{\bullet\text{OH}})$
Deshidrogenación de fenantrolinas quelatadas
$\text{CuL}_n + \bullet\text{OH} \rightarrow \text{CuL}_{n(-\text{H})} + \text{H}_2\text{O}$
$\Delta G_{\text{H}} = (G_{\text{CuL}_{n(-\text{H})}} + G_{\text{H}_2\text{O}}) - (G_{\text{CuL}_n} + G_{\bullet\text{OH}})$

En el mecanismo de formación de aducto radical como su nombre lo dice, se forma un aducto entre un antiradical (L) y un radical libre ($\bullet\text{OH}$). En la Tabla 2 se presentan las reacciones generales y el cálculo de la diferencia de energía libre de Gibbs (ΔG_{A}) para los compuestos aislados y quelatados con Cu(II).

Tabla 2. Reacciones generales propuestas para el mecanismo de formación de aducto radical en las distintas fenantrolinas (L), y la fórmula para calcular la diferencia de energía libre de Gibbs para cada caso

Formación de aducto radical de fenantrolinas aisladas
$L + \bullet\text{OH} \rightarrow [\text{L-OH}]^{\bullet}$
$\Delta G_{\text{A}} = (G_{[\text{L-OH}]^{\bullet}}) - (G_{\text{L}} + G_{\bullet\text{OH}})$
Formación de aducto radical de fenantrolinas quelatadas
$\text{CuL}_n + \bullet\text{OH} \rightarrow [\text{CuL}_n\text{-OH}]^{\bullet}$
$\Delta G_{\text{A}} = (G_{[\text{CuL}_n\text{-OH}]^{\bullet}}) - (G_{\text{CuL}_n} + G_{\bullet\text{OH}})$

El mecanismo de transferencia electrónica se analizó con la herramienta gráfica conocida como FEDAM (Figura 5). Se grafica la energía de ionización y la afinidad electrónica con el fin de clasificar a las moléculas de acuerdo con la capacidad de donar y aceptar electrones. Para esto

se calcula la energía de ionización y la afinidad electrónica vertical de cada fenantrolina aislada y quelatada. Esto se asume debido a que se considera que la relajación molecular no afecta los resultados. En el FEDAM se reconocen dos secciones: una donde están los buenos donadores de electrones (abajo a la izquierda) y otra donde se ubican los buenos aceptores de electrones (arriba a la derecha).

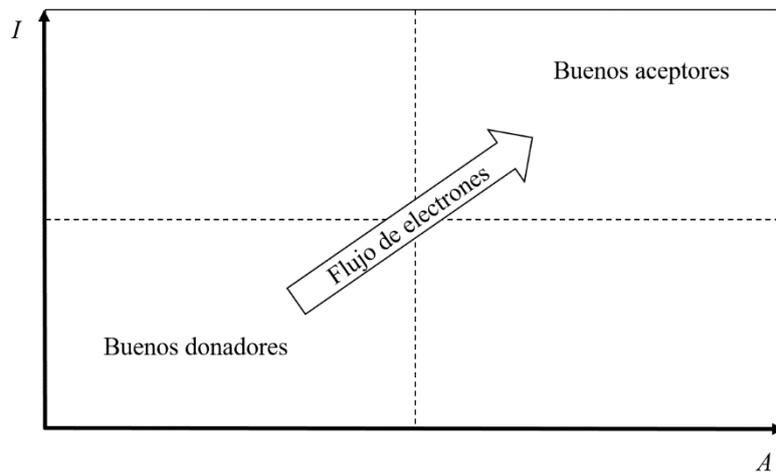


Figura 5. Mapa de transferencia total de electrones (FEDAM).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados se presentan con base en la propuesta metodológica del diagrama de la Figura 4. En un principio se reporta la capacidad de atrapar Cu(II) (quelatación), posteriormente se presenta la capacidad de inhibir o atrapar radicales libres con los distintos mecanismos propuestos. Se analizaron los ligantes aislados, monoquelatados y bisquelatados para de esta forma clasificarlos como prometedores anti-radicales o como moléculas promotoras para terapia de quelatación.

QUELATACIÓN

La quelatación es una reacción donde se coordina un ligante (L) por dos o más sitios de la molécula a un átomo central. La reacción general de la reacción de quelatación usando como átomo central el Cu(II) se puede representar como sigue, donde n es el número de ligantes (L) que pueden quelatarse al átomo central. En este caso n puede ser uno o dos.



En la Figura 6 se presentan las fórmulas desarrolladas de los ligantes y las estructuras optimizadas de los compuestos metal-ligante. La diferencia de energía libre de Gibbs asociada a cada reacción se presenta en la Tabla 3. Se puede observar que las reacciones de quelatación para todos los ligantes monoquelatados y bisquelatados resultan ser exergónicas. De acuerdo con los resultados es más estable la formación de bisquelatos que monoquelatos.

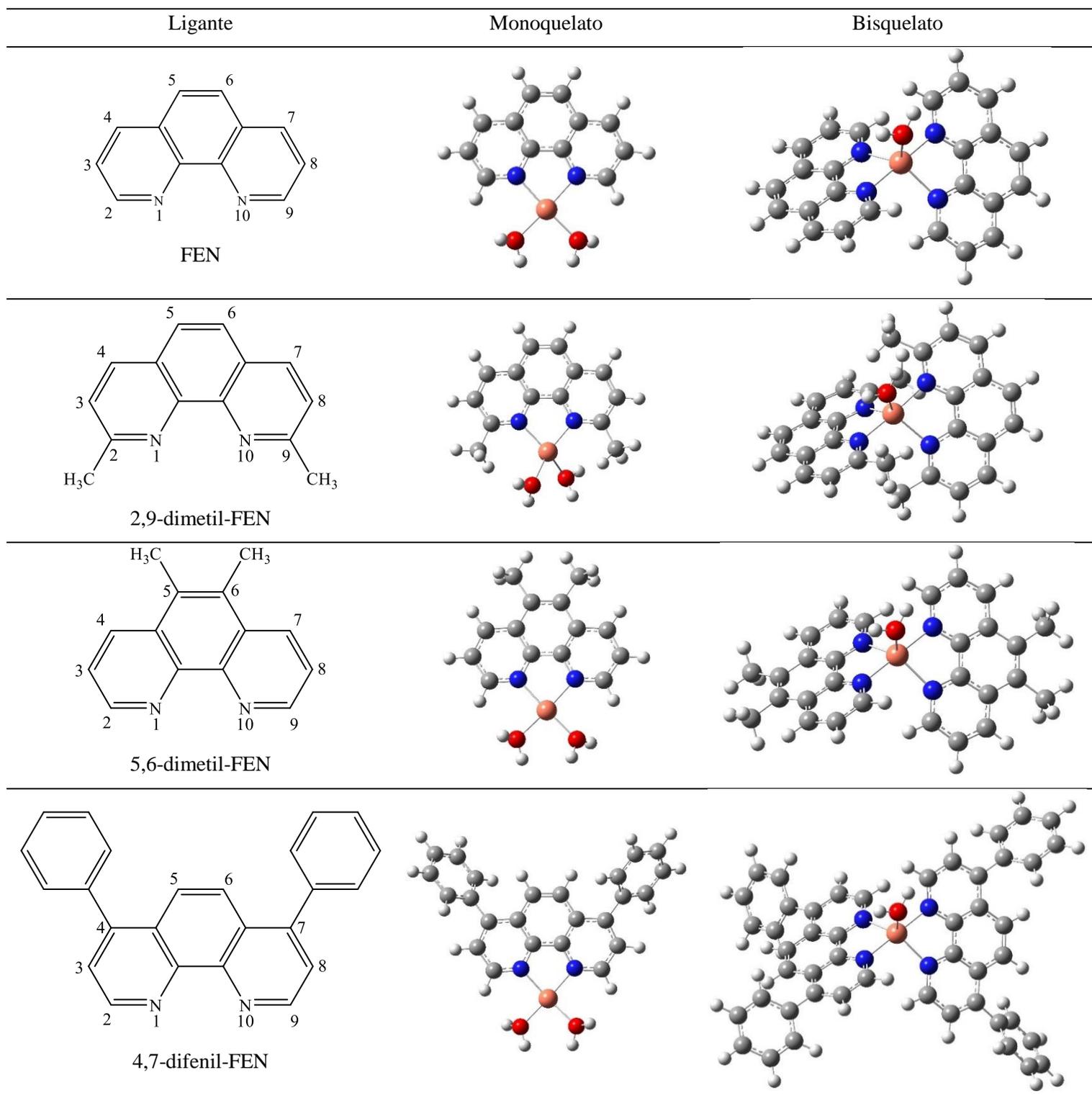
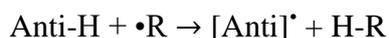


Figura 6. Fórmulas desarrolladas de los ligantes y estructuras optimizadas de los compuestos mono y bisquelatados de Cu(II). Las distancias Cu-N se encuentran entre 1.98Å y 2.15Å; las distancias Cu-O para los monoquelatos están entre 1.92 Å a 2.04 Å, mientras que para los bisquelatos es 2.17 Å.

TRANSFERENCIA DE ÁTOMO DE HIDRÓGENO

El mecanismo de transferencia de átomo de hidrógeno consiste en la transferencia de un átomo de hidrógeno de un antirradical (Anti-H) a un radical libre (\bullet R). El esquema del mecanismo se muestra a continuación.



En este trabajo los antirradicales que se utilizan son fenantrolinas que tienen distintos átomos de hidrógeno que pueden transferirse. Por lo mismo es necesario determinar que átomo tiene menor energía de disociación. Para esto se obtiene el orden de estabilidad de los distintos isómeros deshidrogenados, comparando las energías totales. Cuando la diferencia entre los isómeros es menor a 10 kcal/mol se establece que estamos en el límite de precisión de los cálculos y por lo tanto es posible obtener todos los isómeros experimentalmente. Para fines de un análisis más detallado se trabajará con el isómero de menor energía. El radical de prueba usado en este trabajo es \bullet OH. Se comenzará presentando los resultados de los ligantes, para posteriormente reportar los compuestos *mono* y *bis* quelatados con Cu(II), respectivamente.

Tabla 3. Diferencias de energía libre de Gibbs (kcal/mol) asociadas a la reacción de quelatación para los compuestos mono y bis quelatados, donde L se refiere a las distintas fenantrolinas.

Reacción $\text{Cu}^{2+} + \text{L} \rightarrow [\text{CuL}]^{2+}$		Reacción $\text{Cu}^{2+} + 2\text{L} \rightarrow [\text{CuL}_2]^{2+}$	
L	ΔG	L	ΔG
[Cu(FEN)]	-20.6	[Cu(FEN) ₂]	-35.9
[Cu(2,9-dimetil-FEN)]	-19.8	[Cu(2,9-dimetil-FEN) ₂]	-38.4
[Cu(5,6-dimetil-FEN)]	-22.8	[Cu(5,6-dimetil-FEN) ₂]	-40.0
[Cu(4,7-difenil-FEN)]	-22.9	[Cu(4,7-difenil-FEN) ₂]	-38.2

En la Figura 7 se reportan las estructuras optimizadas de los compuestos deshidrogenados del mecanismo de transferencia de átomo de hidrógeno, presentadas en escalas relativas de energía tomando como referencia el isómero más estable. Se encontró que la diferencia de energía entre todos los isómeros de FEN y 4,7-difenil-FEN es menor a 10 kcal/mol, mientras que para la 2,9-dimetil-FEN y 5,6-dimetil-FEN la diferencia de energía entre el isómero más estable y los demás es mayor a 10 kcal/mol. Para los ligantes FEN y 4,7-difenil-FEN el isómero más estable resultó ser el que disoció el átomo de hidrógeno en la posición uno, mientras que para los ligantes 2,9-dimetil-FEN y 5,6-dimetil-FEN resultaron ser los hidrógenos localizados en los metilos. En la Tabla 4 se reportan las diferencias de energía libre de Gibbs (ΔG). Se observa que para todos los ligantes resulta exergónico este mecanismo de reacción, siendo los ligantes que están sustituidos por metilos los más exergónicos.

Tabla 4. Diferencia de energía libre de Gibbs (kcal/mol) asociada a cada una de las reacciones propuestas con las distintas fenantrolinas (L), en el mecanismo de transferencia de átomo de hidrógeno

Reacción	
$L + \bullet\text{OH} \rightarrow L_{(-\text{H})}\bullet + \text{H}_2\text{O}$	
L	ΔG
FEN	-5.59
2,9-dimetil-FEN	-24.93
5,6-dimetil-FEN	-28.58
4,7-difenil-FEN	-6.12

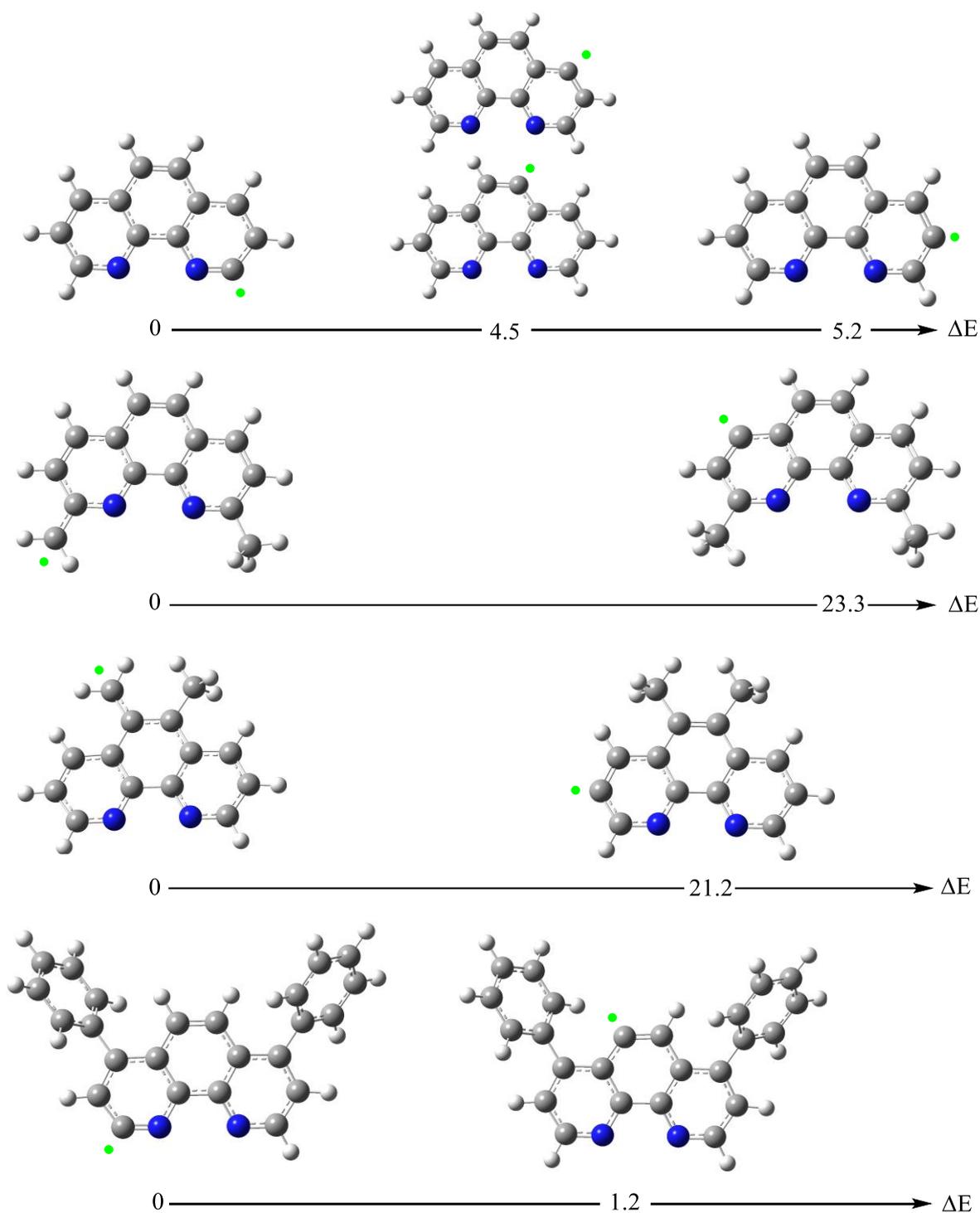


Figura 7. Estructuras optimizadas y escalas de energía relativa, para los productos de la deshidrogenación de las distintas fenantrolinas. El punto verde señala el átomo donde se llevó a cabo la deshidrogenación. Las escalas relativas de energía se reportan en kcal/mol.

En la Figura 8 se presentan las estructuras optimizadas deshidrogenadas de los compuestos monoquelatados con un átomo de Cu(II) y se incluyen una escala de energía relativa tomando como referencia el compuesto más estable. Para todos los casos, la energía entre el isómero más estable y los demás es de más 10 kcal/mol. La disociación del átomo de hidrógeno que resulta más estable para los compuestos [Cu(FEN)] y [Cu(4,7-difenil-FEN)] es del átomo localizado en la posición uno, mientras que para los compuestos [Cu(2,9-dimetil-FEN)] y [Cu(5,6-dimetil-FEN)] resultan ser los hidrógenos de los metilos. La diferencia de energía libre de Gibbs para las reacciones de transferencia de hidrógeno de los isómeros de menor energía se reporta en la Tabla 5. Se observa que para los compuestos con FEN y 4,7-difenil-FEN, las reacciones no son exergónicas, mientras que para los compuestos con 2,9-dimetil-FEN y 4,7-difenil-FEN, las reacciones son exergónicas. Comparando con los resultados de la Tabla 5, se puede observar que la presencia de los metilos favorece la deshidrogenación, si se compara con los resultados de la Tabla 4, la ΔG es más negativa en presencia de fenantrolinas con metilos.

Tabla 5. Diferencia de energía libre de Gibbs (kcal/mol) asociada a cada una de las reacciones propuestas de los compuestos monoquelatados con Cu(II), en el mecanismo de Transferencia de Átomo de Hidrógeno. Donde L son las fenantrolinas bajo estudio.

Reacción	
$\text{CuL} + \bullet\text{OH} \rightarrow \text{CuL}_{(-\text{H})}\bullet + \text{H}_2\text{O}$	
L	ΔG
FEN	11.95
2,9-dimetil-FEN	-13.78
5,6-dimetil-FEN	-17.85
4,7-difenil-FEN	11.36

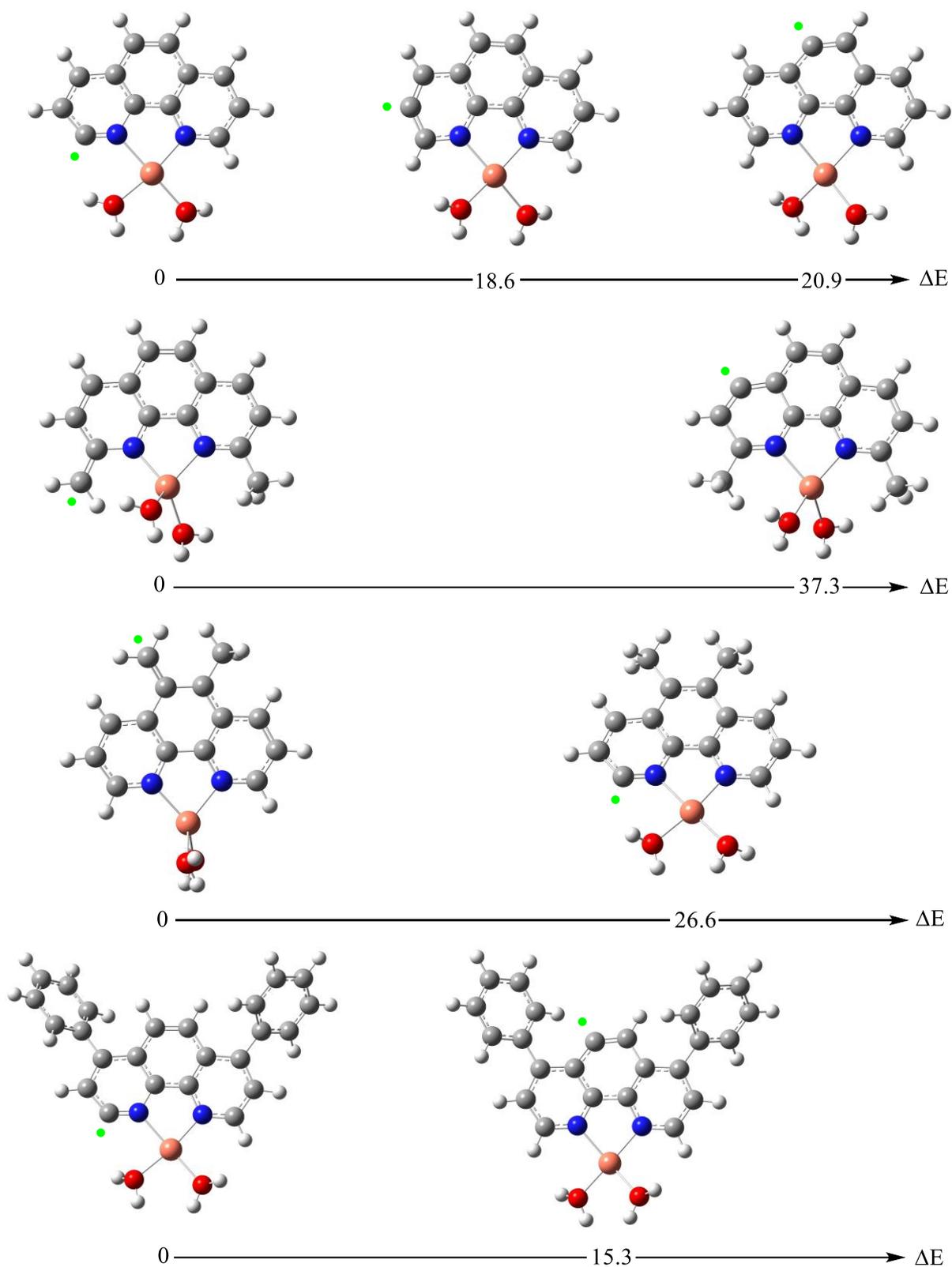


Figura 8. Estructuras optimizadas y escalas de energía relativa, para los productos de deshidrogenación de los compuestos monoquelatados con Cu(II). El punto verde señala el átomo donde se llevó a cabo la deshidrogenación. Las escalas relativas de energía se reportan en kcal/mol.

En la Figura 9 se reportan las estructuras optimizadas de los compuestos bisquelatados deshidrogenados y las escalas relativas de energía tomando como referencia el compuesto más estable. Se observa que la diferencia de energía entre los isómeros es de más de 10 kcal/mol. Para los compuestos [Cu(FEN)₂] y [Cu(4,7-difenil-FEN)₂] el hidrógeno con menor energía de disociación es el de la posición uno, mientras que para [Cu(2,9-dimetil-FEN)₂] y [Cu(5,6-dimetil-FEN)₂] los que tienen menor energía de disociación menor son los hidrógenos de los metilos. En la Tabla 6 se reportan las diferencias de energía libre de Gibbs para los isómeros de menor energía. La deshidrogenación de los compuestos con FEN y 4,7-difenil-FEN no resultaron ser exergónicas, mientras que las reacciones con 2,9-dimetil-FEN y 5,6-dimetil-FEN resultaron ser exergónicas. Comparando los valores de las fenantrolinas sin Cu(II) de la Tabla 4, se observa que la presencia de Cu(II) disminuye la exergonicidad de la reacción. Si se compara con la Tabla 5 se observa que no hay variación considerable en los valores de diferencia de energía libre de Gibbs entre la bisquelatación y la monoquelatación.

Tabla 6. Diferencia de energía libre de Gibbs (kcal/mol) asociada a cada una de las reacciones propuestas de los compuestos bisquelatados con Cu(II), en el mecanismo de Transferencia de Átomo de Hidrógeno. Donde L son las fenantrolinas bajo estudio.

Reacción	
$\text{CuL}_2 + \bullet\text{OH} \rightarrow \text{CuL}_{2(\text{-H})}\bullet + \text{H}_2\text{O}$	
L	ΔG
FEN	9.88
2,9-dimetil-FEN	-13.58
5,6-dimetil-FEN	-15.65
4,7-difenil-FEN	7.56

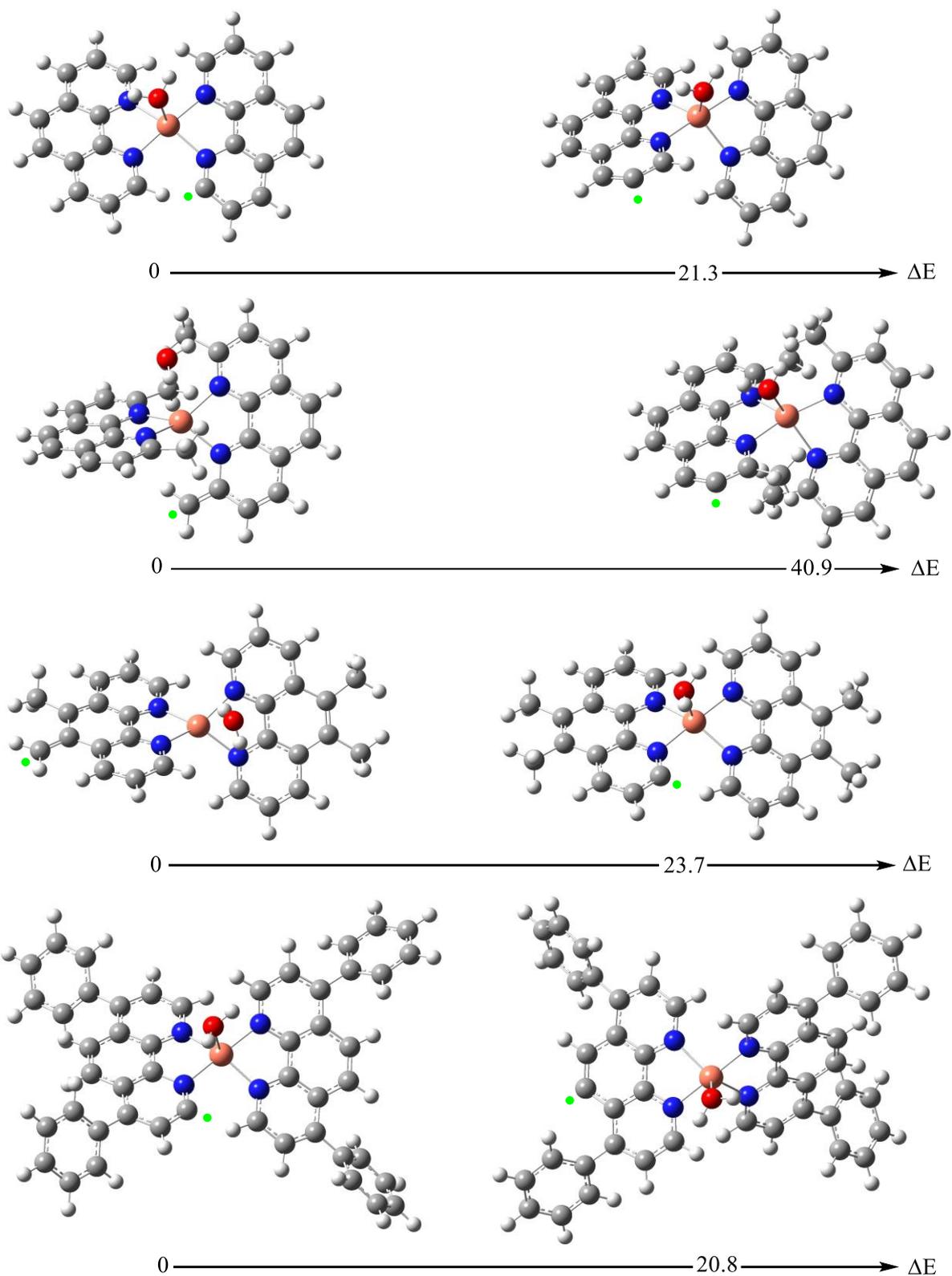
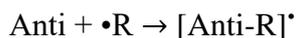


Figura 9. Estructuras optimizadas y escalas de energía relativa, para los productos de deshidrogenación de los compuestos bisquelatados con Cu(II). El punto verde señala el átomo donde se llevó a cabo la deshidrogenación. Las escalas relativas de energía se reportan en kcal/mol.

FORMACIÓN DE ADUCTO RADICAL

El mecanismo de formación de aducto radical, consiste en la adición de un radical libre ($\bullet R$) sobre una molécula (Anti) que se considere un antirradical. El esquema del mecanismo se muestra a continuación.



Los antirradicales que se estudian en este trabajo son fenantrolinas que tienen más de un lugar posible para la adición. Por lo tanto es necesario determinar cual es el sitio más probable de reacción. Para esto se determinará el orden de estabilidad de los distintos isómeros comparando las energías totales. Cuando la diferencia entre los isómeros es menor a 10 kcal/mol, se dice que estamos en los límites del cálculo y entonces es posible obtener todos los isómeros experimentalmente. Para la discusión consideraremos el isómero que tenga menor energía. En este estudio se utilizó el radical $\bullet OH$. Se presentan los resultados comenzando por los ligantes sin Cu(II), para después discutir las reacciones de los compuestos quelatados.

En la Figura 10 se reportan las estructuras optimizadas resultantes de la adición de $\bullet\text{OH}$ sobre las fenantrolinas sin Cu(II). Se puede observar que para todos los casos, el isómero que presenta menor energía es donde el radical se une a la posición cinco (ver Figura 10) y la diferencia de energía es menor a 10 kcal/mol con respecto al isómero más estable. La energía libre de Gibbs para los isómeros de menor energía se reporta en la Tabla 7. Se observa que para todos los casos la reacción es exotérmica. El 5,6-dimetil-FEN es el ligante que tiene el valor de ΔG más bajo.

Tabla 7. Diferencia de energía libre de Gibbs (kcal/mol) asociada a cada una de las reacciones propuestas con las distintas fenantrolinas, en el mecanismo de Formación de Aducto Radical.

Reacción	
$L + \bullet\text{OH} \rightarrow [\text{L}(\text{OH})]^\bullet$	
L	ΔG
FEN	-10.45
2,9-dimetil-FEN	-10.56
5,6-dimetil-FEN	-15.30
4,7-difenil-FEN	-10.97

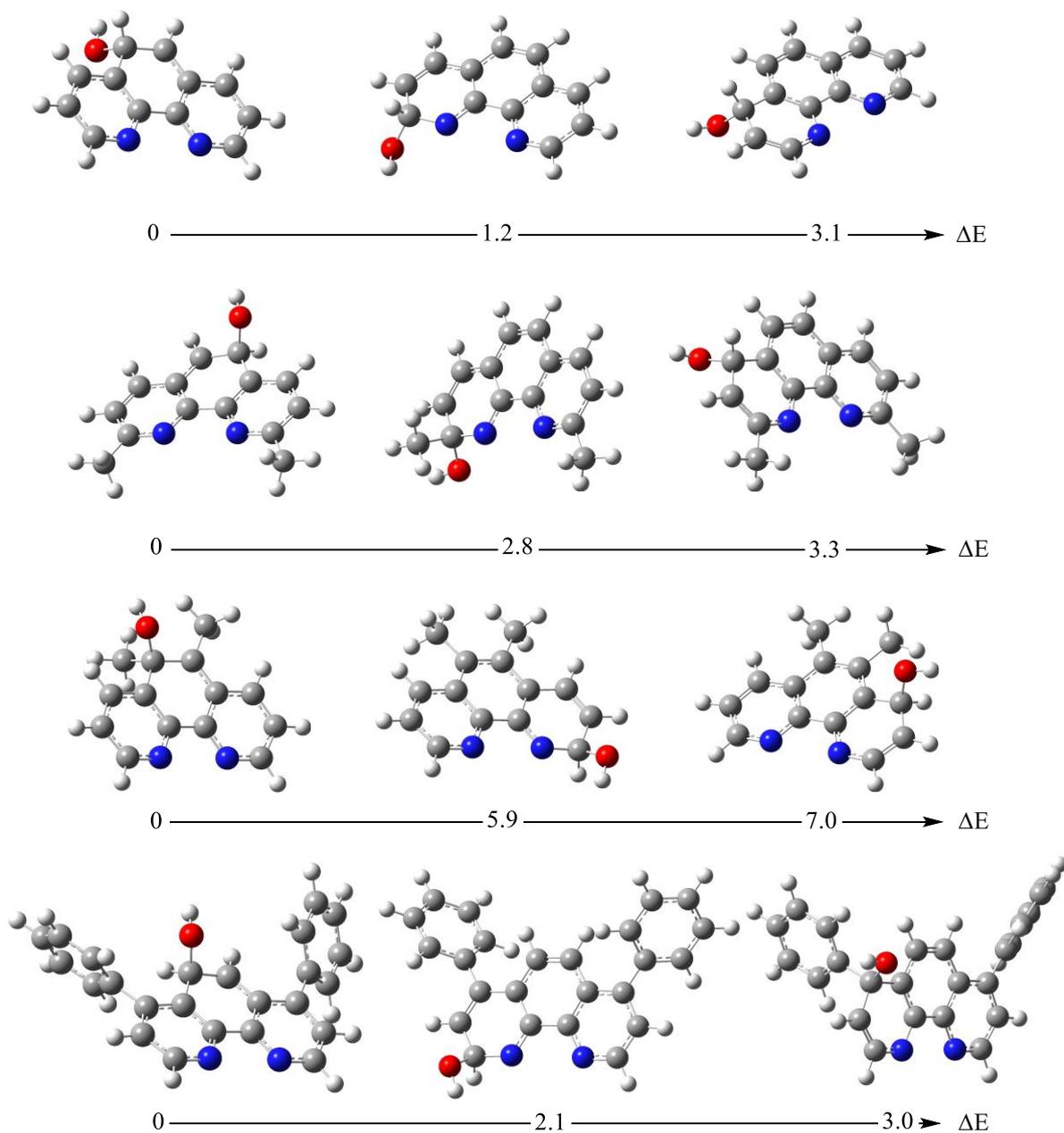


Figura 10. Estructuras optimizadas y escalas de energía relativa, para los productos del aducto radical de las fenantrolinas con el radical $\bullet\text{OH}$. Las escalas relativas de energía se reportan en kcal/mol.

En la Figura 11 se pueden observar las estructuras optimizadas de los resultados de la adición de $\bullet\text{OH}$ sobre los compuestos monoquelatados con un átomo de Cu(II) y la escala relativa de energía tomando como referencia el compuesto más estable. Los isómeros más estables, se encuentran en una diferencia de energía de menos de 10 kcal/mol con respecto al más bajo en energía. Para los compuestos con FEN y 4,7-difenil-FEN, el isómero más estable es aquél donde el radical se une a un átomo de nitrógeno. En la molécula [Cu(2,9-dimetil-FEN)] y [Cu(5,6-dimetil-FEN)] la unión del radical más estable en se da en la posición cinco (ver Figura 11). En la Tabla 8 se reporta la diferencia de energía libre de Gibbs. La reacción para todos los compuestos resulta ser exergónica. Los compuestos que tienen sustituyentes metilo son los que presentan un menor valor de ΔG . La presencia de Cu(II) en el compuesto disminuye la exergonicidad de la reacción (ver Tabla 7).

Tabla 8. Diferencia de energía libre de Gibbs (kcal/mol) asociada a cada una de las reacciones propuestas con los distintos ligantes monoquelatados con Cu(II), en el mecanismo de Formación de Aducto Radical. Donde L son las fenantrolinas bajo estudio.

Reacción	
CuL + $\bullet\text{OH}$ \rightarrow [CuL(OH)] \bullet	
L	ΔG
FEN	-3.42
2,9-dimetil-FEN	-6.62
5,6-dimetil-FEN	-6.86
4,7-difenil-FEN	-1.88

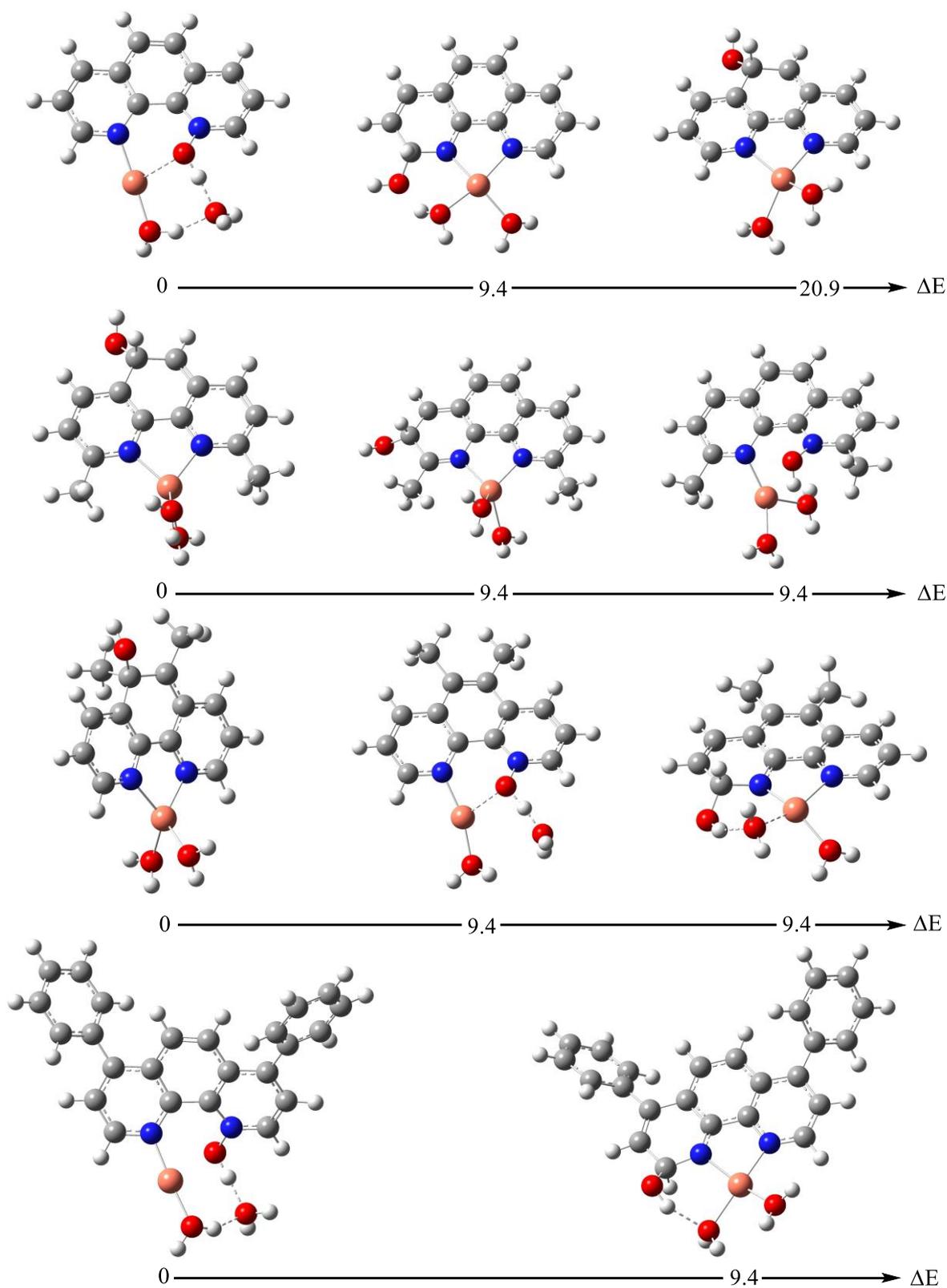


Figura 11. Estructuras optimizadas y escalas de energía relativa, para los productos del aducto radical de los compuestos monoquelatados con Cu(II) y el radical $\bullet\text{OH}$. Las escalas relativas de energía se reportan en kcal/mol.

En la Figura 12 se reportan las estructuras optimizadas de los compuestos formados por el bisquelato con Cu(II) y el $\bullet\text{OH}$ adicionado en distintas posiciones, con las escalas relativas energía tomando como referencia el isómero más estable. Para todos los compuestos la unión del radical se da en un átomo de nitrógeno. Para los compuestos con 2,9-dimetil-FEN y 4,7-difenil-FEN la diferencia de energía entre los isómeros más estables es de menos de 10 kcal/mol. Por otra parte, los isómeros más estables de los compuestos $[\text{Cu}(\text{FEN})_2]$ y $[\text{Cu}(5,6\text{-dimetil-FEN})_2]$ tienen una diferencia de energía de más de 10 kcal/mol con respecto al más estable. En la Tabla 9 se presentan las diferencias de energía libre de Gibbs. Todas las reacciones son exotérmicas. Comparando los valores de la Tabla 7 observa una disminución del valor de ΔG en la bisquelatación. Al comparar la Tabla 9 con la Tabla 8 se puede observar que existe un aumento en la exergonicidad en la segunda quelatación. El compuesto $[\text{Cu}(2,9\text{-dimetil-FEN})]$ es el único caso donde la reacción más exergónica se da en ausencia de Cu(II).

Tabla 9. Diferencia de energía libre de Gibbs (kcal/mol) asociada a cada una de las reacciones propuestas con los distintos ligantes bisquelatados con Cu(II), en el mecanismo de Formación de Aducto Radical. Donde L son las fenantrolinas bajo estudio.

Reacción	
$\text{CuL}_2 + \bullet\text{OH} \rightarrow [\text{CuL}_2(\text{OH})]^\bullet$	
L	ΔG
FEN	-17.46
2,9-dimetil-FEN	-6.19
5,6-dimetil-FEN	-15.67
4,7-difenil-FEN	-13.27

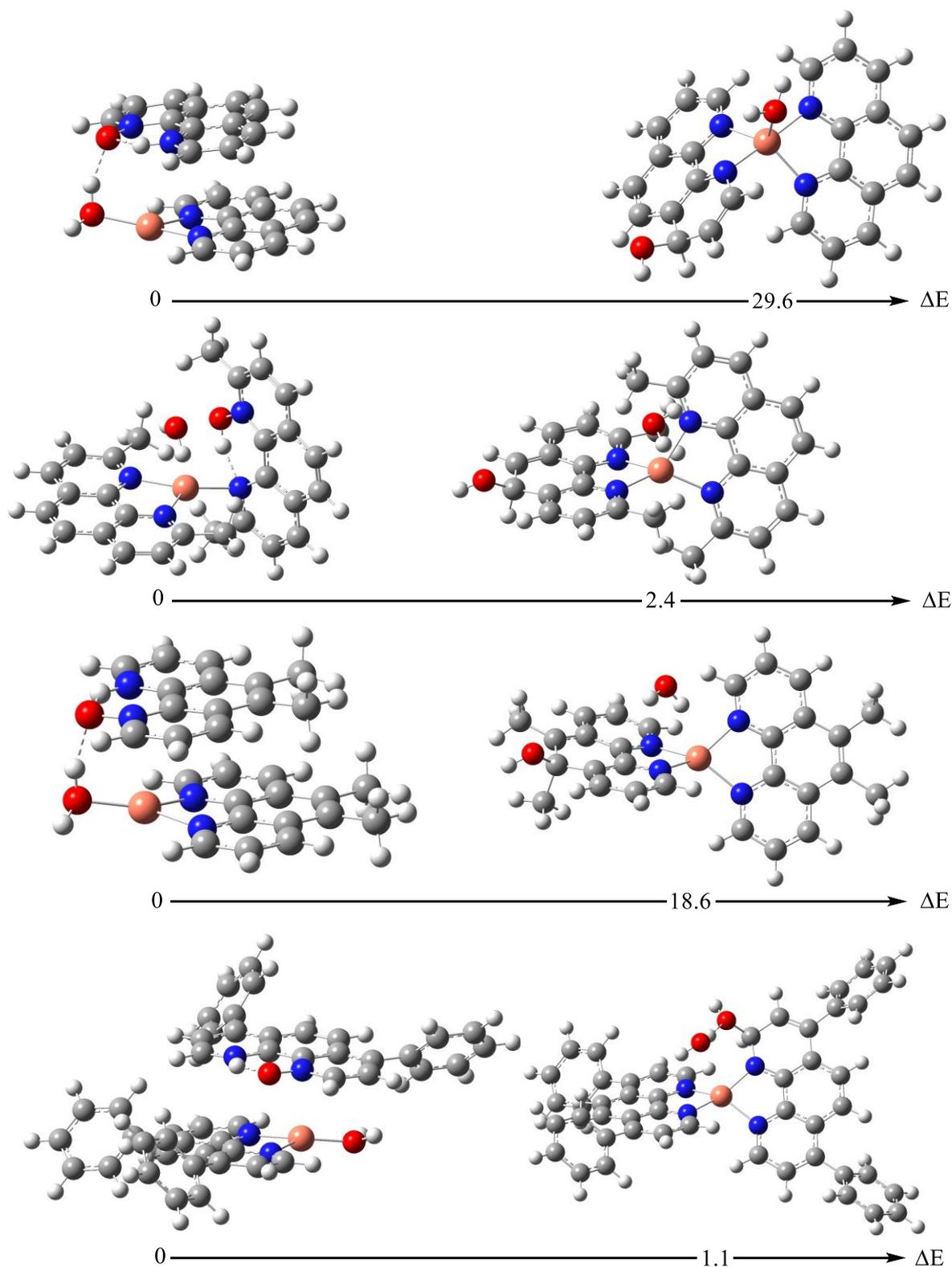
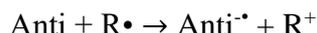
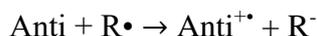


Figura 12. Estructuras optimizadas y escalas de energía relativa, para los productos del aducto radical de los compuestos bisquelatados con Cu(II) y el radical $\bullet\text{OH}$. Las escalas relativas de energía se reportan en kcal/mol.

TRANSFERENCIA DE ELECTRÓN

Este mecanismo desactiva radicales libres ($\bullet R$) transfiriendo un electrón de un antiradical (Anti) a un radical libre, o viceversa. A continuación se muestran las reacciones que pueden llevarse a cabo:



El mecanismo depende de la capacidad para donar y aceptar un electrón de cada especie. Para cuantificar estas propiedades se usan parámetros como la energía de ionización y la afinidad electrónica. Un análisis cualitativo de este mecanismo se puede realizar con el Mapa de Transferencia Total de Electrones. En esta herramienta visual, se grafica en el eje de las ordenadas la energía de ionización (I) y en el eje de las abscisas, la afinidad electrónica (A). La transferencia de electrón se lleva a cabo de las especies con buena capacidad de donación, es decir baja I y baja A hacia las especies con buena capacidad de aceptación, donde se tiene alta I y alta A de electrones.

En la Figura 13 se reporta el mapa de transferencia total de electrones con las moléculas bajo estudio (aisladas, monoquelatadas y bisquelatadas con Cu(II)). Se puede observar que las fenantrolinas sin Cu(II) son buenos donadores con respecto a los compuestos quelatados. La presencia de Cu(II) en los compuestos aumenta su capacidad aceptora, mientras que el aumento en el número de ligantes la disminuye. Los ligantes aislados son los mejores donadores de electrones y los radicales $\bullet OH$ son los mejores aceptores de electrones, por lo que se espera que los compuestos que mejor funcionen en este mecanismo sean las fenantrolinas aisladas.

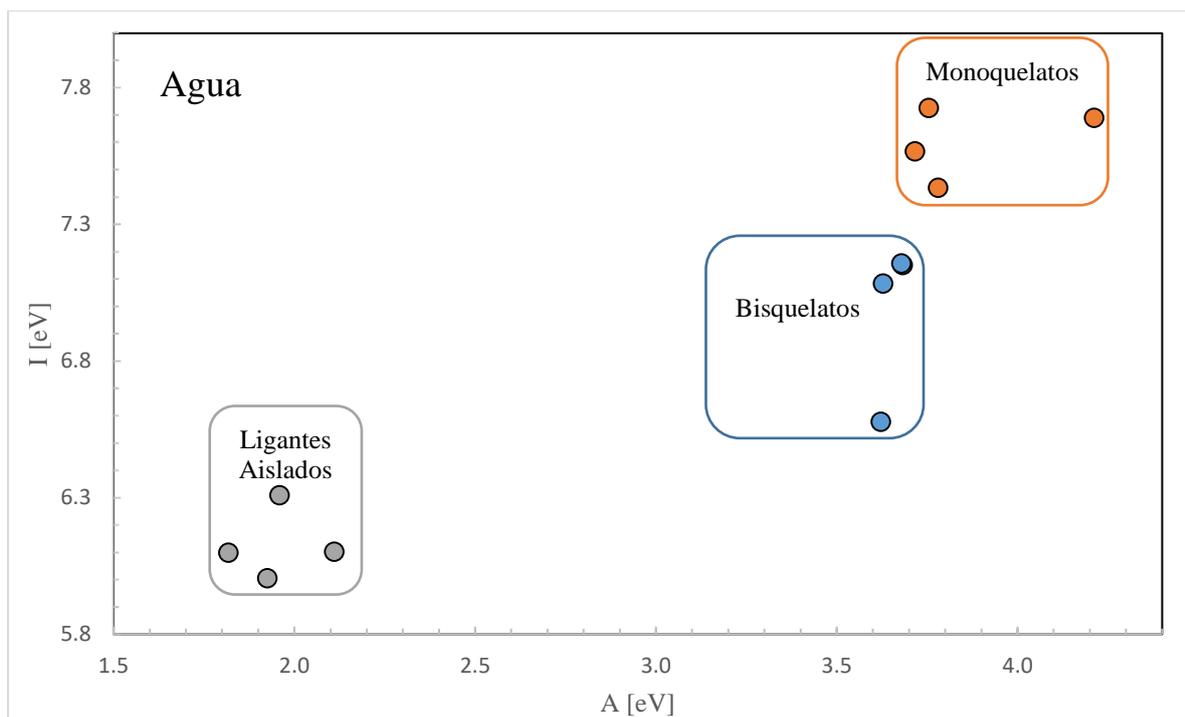


Figura 13. Mapa de Transferencia Total de Electrones para los ligantes FEN, 2,9-dimetil-FEN, 5,6-dimetil-FEN y 4,7-difenil-FEN. Aislados, monoquelatados y bisquelatados.

Con el objetivo de analizar los resultados con la propuesta metodológica de la Figura 4, se desarrolló un diagrama de flujo con los resultados obtenidos en este trabajo. Este diagrama se presenta en la Figura 14. Los ligantes bajo estudio resultaron ser buenos anti-radicales y buenos atrapadores de Cu(II). Los compuestos quelatados son viables como anti-radicales en los tres mecanismos propuestos, con la excepción de los compuestos *mono* y *bis* quelatados de FEN y 4,7-dimetil-FEN en el mecanismo de transferencia de átomo de hidrógeno, cuyas reacciones no resultaron ser exergónicas.

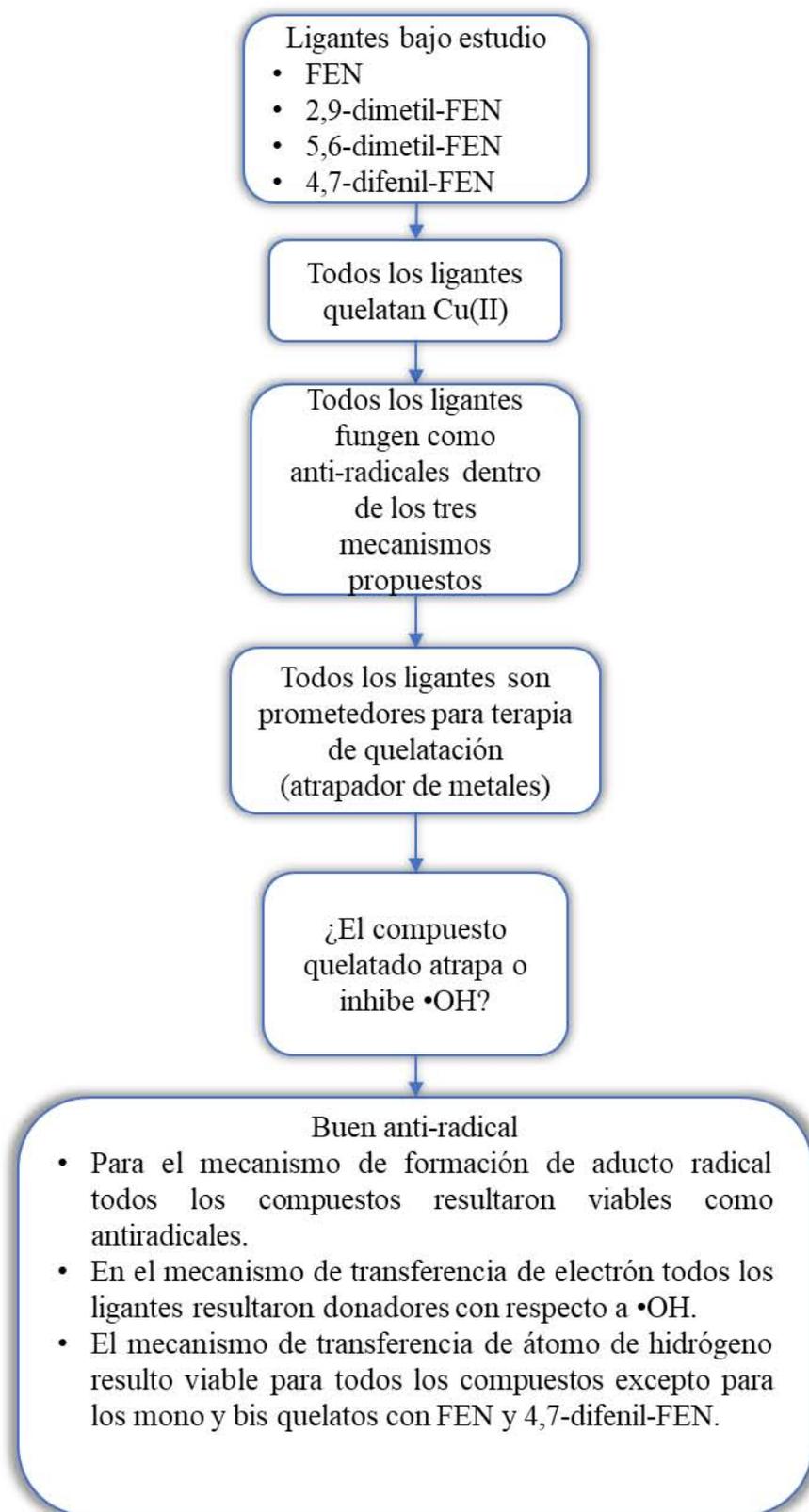


Figura 14. Diagrama de flujo adaptado con los resultados obtenidos.

CONCLUSIONES

- Todos los ligantes aislados reducen el estrés oxidativo porque los mecanismos estudiados se llevan a cabo a través de reacciones exotérmicas. De la misma forma todos los compuestos coordinados disminuyen el estrés oxidativo, aunque las reacciones son menos exotérmicas que las de los ligantes aislados.
- Las reacciones de quelatación de Cu(II) de todos los ligantes, son exotérmicas, por lo que estos ligantes son buenos atrapadores de Cu(II). Esto concuerda con la información experimental.
- De acuerdo con los tres mecanismos propuestos se tiene que:
 - Para el mecanismo de átomo de hidrógeno, todas las reacciones resultaron viables termodinámicamente, exceptuando los compuestos mono y bis quelatados de FEN y 4,7-difenil-FEN.
 - En el mecanismo de formación de aducto radical todas las reacciones de los ligantes aislados y quelatados resultaron ser exergónicas.
 - En el mecanismo de transferencia de electrón, todos los compuestos aislados y coordinados resultaron ser donadores de electrones con respecto al radical $\bullet\text{OH}$.
- Para todos los casos las fenantrolinas sustituidas resultaron atrapar mejor el Cu(II) que la FEN, exceptuando el caso del compuesto [Cu(2,9-dimetil-FEN)].
- De acuerdo con los mecanismos de transferencia de átomo de hidrógeno y formación de aducto radical, las fenantrolinas con metilos sustituidos inhiben y atrapan mejor los radicales $\bullet\text{OH}$ (exceptuando la formación de aducto radical con bisquelatos de Cu(II)).

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Galano. A. *J. Mex. Chem. Soc.* **2015**, 59(4), 231-262
- [2] Sayre, L. M.; Perry, G.; Smith, M. A. *Chem. Res. Toxicol.* **2008**, 21, 172-188.
- [3] Ferreira I. C.F.R.. *Food and Chem. Tox.* **2013**, 51, 15-25.
- [4] Pham-Huy, L. A.; He, H.; Pham-Huy, C. *Int. J. Biomed. Sci.* **2008**, 4, 89-96.
- [5] MacNee, W. *Eur. J. Pharmacol.* **2001**, 429, 195-207.
- [6] Galle, J. *Nephrol. Dial. Transplant.* **2001**, 16, 2135-2137.
- [7] Beatty, S., et al. *Surv. Ophthalmol.* **2000**, 45, 115-134.
- [8] Mahajan, A.; Tandon, V. R. *J. Indian Rheumatol. Assoc.* **2004**, 12, 139-142.
- [9] Myatt, L. *J. Physiol.* **2006**, 572, 25-30.
- [10] Biri, A., et al. *Gynecol. Obstet. Invest.* **2007**, 64, 187-192.
- [11] Sayre, L. M.; Smith, M. A.; Perry, G. *Curr. Med. Chem.* **2001**, 8, 721-738.
- [12] Janero, D. R. *Free Radic. Biol. Med.* **1991**, 11, 129-144.
- [13] Salonen J. T. et al. *Circulation.* **1992**, 86, 803-811.
- [14] Matsuda, M.; Simomura, I. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* **2014**, 15, 1-10.
- [15] Ames B. A., Shingenaga M. K. and Park E. M., *Oxidation Damage and Repair: Chemical, Biological and Medical Aspects*, Pergamon Press, Elmsford, NY, USA, 1991, p. 181.
- [16] Griffiths, H. R., et al. *Biochem. Soc. Trans.* **2011**, 39, 1273-1278.
- [17] Giannapas, M.; Karnis, L.; Dailianis, S. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* **2012**, 155, 182-189.

- [18] De Luca, C., et al. *Toxicol. Ind. Health.* **2009**, 25, 259-267.
- [19] Valencia-Islas, N.; Zambrano, A.; Rojas, J. L. *J. Chem. Ecol.* **2007**, 33, 1619-1634.
- [20] Kamiński, P.; Kurhalyuk, N.; Szady-Grad, M. *Polish J. Environ. Studies.* **2007**, 16, 555-562.
- [21] Robinson, E. A.; Johnson, J. D. *Mini Rev. Org. Chem.* **2011**, 8, 401-411.
- [22] Aleryani, S. L.; Aleryani, R. A.; Al-Akwa, A. A. *Drug Test Anal.* **2011**, 3, 548-551.
- [23] Karadayian, A. G., et al. *Neuroscience.* **2015**, 304, 47-59.
- [24] Rancan, F., et al. *Skin Res. Technol.* **2014**, 20, 182-193.
- [25] B. Halliwell, M. Whiteman, *Br. J. Pharmacol.* **2004**, 142, 231.
- [26] Steenland, K. et. al. *Am. J. Ind. Med.* **1996**, 29:474 – 490.
- [27] Mahata, J. et. al., *Mutat. Res.* **2003**, 534:133–143.
- [28] Hopenhayn-Rich, C. et. al., *Int. J. Epidemiol.* **1998**, 27:561 – 569.
- [29] Sharma S.A., Deshmukh G. A., Puri V., *An International Journal of Medicine*, **2016**, 109, 8, 565-566.
- [30] Lucho-Constantino C. A. et. al., *Environment International*, 31, 3, 313–323.
- [31] Flora S.J.S., Mittal M., Mehta A., *Indian J Med Res*, **2008**, 128, 501-523.
- [32] Maurice B., *Curso de química inorgánica*, ed. Cecsca, **1995**.
- [33] Weinstein, J.; Bielski, B. H. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, 101, 58–62.
- [34] Pryor, W. A. *Free Radical Bio. Med.* **1988**, 4, 219-223.
- [35] Daniel R. Lloyd, Phillips. David H., *Mutation Research*, **1999**, 424, 23–36.
- [36] Penner-Hahn JE, et. al., *Science*, **1997**, 278:853–856.

- [37] Hider R. C., Liu Z. D., and Khodr H. H., *Methods in Enzymology*, Academic press, **2001**, 198-212.
- [38] Syed R., et. al., *New J.Chem.*, **2015**, 39, 2720.
- [39] Lippolis V., Bencini A.. *Coordination Chemistry Reviews* **2010**, 254, 2096–2180.
- [40] Lay P. A., *J Biol Inorg Chem*, **2017**, 22, 5, 663-672.
- [41] Tocher A. D., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1993**, 3393-3399.
- [42] Egan D. A., *Cancer Letters*, **2007**, 247, 224–233.
- [43] Goshev I. et. al. *J. Chem. Tech. Metl.* **2017**, 52(5), 777-780.
- [44] Han H et. al., *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, **1999**, vol. 8, p. 005.
- [45] T. Ishiia et. al. *Free Rad. Bio. Med.*, **2005**, 38(1), 388-395.
- [46] Galano A. et. al. *J. Pineal Res.* **2015**, 58, 107-116.
- [47] Mammino. L. *J. Mol. Mod.* **2013**, 19(5), 2127-2142.
- [48] Cai X., Pan N., Zou. G., *BioMetals*, **2007**, 20, 1-11.
- [49] S. Sigman et. al. *Journ. Biol. Chem.* **1979**, 254, 12269-12272.
- [50] Hall J. R., Marchant N. K., y Plowma. R. A., *Aust. Chem.* **1962**, 16(1), 34-40.
- [51] Rabinovitz Marco et. al. *Biochem. Pharmacology.* **1983**. 32(23), 3627-3632.
- [52] Resat Apak et. al. *J. Agric. Food. Chem.* **2004**, 52, 7970-7981.
- [53] Zoroddu M. A. et. al. *J. Inorg. Biochem.* **1996**, 63, 291-300.
- [54] HU Zhi-de et. al. *J. Lanzhou University.* **2004**-04.
- [55] Rafael Radi et. al. *Chem. Res. Toxicol.* **1997**, 10, 1338-1344.

- [56] Cortéz-Guzman F. et. al. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, 13, 14510-14515.
- [57] Ruiz-Azuara L. et. al. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, 129, 266-274.
- [58] De Vizcaya-Ruiz A. et al. *Toxicology*, **2003**, 194, 103–113.
- [59] Martinez Ana, M. Avelar. *J. Mex. Chem. Soc.* **2012**, 56(3), 250-256.
- [60] Martínez Ana et. al. *Int. Quantum Chem.* **2018**;118:e25457.
- [61] Hohenberg P. and Kohn W., *Phys. Rev.*, **1964**, 136.
- [62] W. Kohn and L. J. Sham. *Phys. Rev.*, **1965**, 140.
- [63] Zhao Yan, Truhlar D. G., *Theor Chem Account*, **2008**, 120, 215–241.
- [64] Hay P. J., Wadt W. R., *J. Chem. Phys.*, **1985**, 82, 270-283.