

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

**ESTUDIO DE ESPECIACIÓN QUÍMICA  
DE LOS COMPUESTOS ORGÁNICOS  
DIISOPROPILIMINODIACETOAMIDA Y  
CURCUMINA CON IONES DE INTERÉS  
FARMACÉUTICO Y CLÍNICO.**

**TESIS QUE PRESENTA LA**

***Q.F.B. MARGARITA BERNABÉ PINEDA***

**PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE**

***DOCTORA EN CIENCIAS (QUÍMICA)***

***ASESOR: DR. ALBERTO ROJAS HERNÁNDEZ***

**ABRIL DE 2009**

# **AGRADECIMIENTOS**

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar a Dios, por permitirme realizar todos los objetivos planteados en mi vida y por el apoyo espiritual que me ha mantenido firme aún en los momentos más difíciles

Agradezco a cada miembro del jurado por sus observaciones, consejos, comentarios y su tiempo invertido para la revisión de este trabajo

Al Dr. Alberto Rojas Hernández por su tiempo y paciencia como asesor

A ti Tere por ser como un ángel que siempre me levanta cuando creo que ya no puedo seguir

A mi Familia por su apoyo para lograr la finalización de una meta más.

A mis grandes amigos Mónica, Gaby, Giaan, Patty, Martincito, Silvia, Gina, Pastora, Román, Nacho, Víctor, Julieta, Gerardo

A ti Chio que siempre has confiado en mí, por tu apoyo incondicional por ser una hermana más

A todos mis amigos de la UMAR y de la UNCA por su comprensión y cariño

A ti HFG por hacer que volviera a creer en mí

A la Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa por permitirme seguir con mi formación profesional y en especial al área de Química Analítica

Al CONACyT por el apoyo económico que me brindo para la realización de mis estudios de postgrado mediante el número de becario 114123

# **DEDICATORIA**

Sin Tí no hubiera tenido la fuerza para terminar,  
me enseñaste a confiar en mis sueños, en mis anhelos,  
jamás tuve miedo a la oscuridad o lo desconocido,  
porque sabía que estabas a mi lado.

Hoy ha terminado una etapa más en mi vida,  
y lo logre gracias a Ti.

Este trabajo es para Ti, gracias por todo tu apoyo

**Papá†.**

# ÍNDICE

	i
<b>Resumen</b>	lv
<b>1. Introducción General</b>	1
<b>2. Objetivos</b>	8
2.1. <i>Objetivo general</i>	9
2.2. <i>Objetivos particulares</i>	9
<b>3. Determinación de las constantes de acidez de la diisopropiliminodiacetoamida (L)</b>	10
3.1 <i>Introducción</i>	11
3.2 <i>Parte experimental</i>	13
3.2.1 Síntesis de la 4,8-dioxo-2,10-dimetil-3,6,9-triazaundecano (diisopropiliminodiacetoamida)	13
3.2.2 Análisis de los elementos para la C <sub>10</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	13
3.2.3 Bandas de IR	13
3.2.4 <sup>13</sup> C-NMR	13
3.2.5. Espectroscopia de masas	13
3.2.6. Estudio potenciométrico y espectrofotométrico	14
3.3. <i>Determinación de las constantes de acidez para la diisopropiliminodiacetoamida (L)</i>	14
3.3.1. Estudio potenciométrico	15
3.3.2 Número promedio de ligandos	18
3.3.3 Determinación de las constantes de acidez correspondientes a la diisopropiliminodiacetoamida por SUPERQUAD	22

3.4. Estudio espectrofotométrico	23
<b>4. Actividad quelante de la diisopropiliminodiacetoamida con el cobre (II)</b>	<b>25</b>
4.1 Introducción	26
4.2. Parte experimental	27
4.3. Comportamiento espectrofotométrico del ion $\text{Cu}^{2+}$ en medio acuoso	27
4.4. Estudio del sistema diisopropiliminodiacetoamida-Cu(II) en medio acuoso	28
4.4.1. Estudio de relaciones molares	28
4.4.2. Determinación de las constantes de complejación de la diisopropiliminodiacetoamida con cobre (II) empleando el programa SQUAD	31
<b>5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la de la curcumina en medio acuoso</b>	<b>40</b>
5.1 Introducción	41
5.2. Parte experimental	46
5.3 Comportamiento espectrofotométrico en medio acuoso de la curcumina	46
5.4. Estudio cinético por espectrofotometría	48
5.5. Determinación de las constantes de acidez para la curcumina	52
5.5.1 Método gráfico	52
5.5.2 Método computacional	57
<b>6. Determinación de las constantes correspondientes a los complejos curcumina-Fe(III)-agua y curcumina-Fe(II)-agua</b>	<b>64</b>
6.1. Introducción	65
6.2. Parte experimental	67
6.3. Estudio Espectrofotométrico para el sistema curcumina-Fe(II)- $\text{H}_2\text{O}$	67

6.4. Estudio Espectrofotométrico para el sistema curcumina-Fe(III)-H <sub>2</sub> O	72
6.5. Determinación de las constantes de formación para el sistema curcumina-Fe(III)-H <sub>2</sub> O	75
<b>7. Conclusiones y Perspectivas</b>	<b>81</b>
7.1 Conclusiones	82
7.2 Perspectivas	84
<b>8. Referencias</b>	<b>85</b>
<b>Anexos</b>	<b>92</b>
<i>Anexo A. Métodos gráficos para determinar constantes de equilibrio</i>	93
<i>Anexo B. Métodos computacionales para determinar constantes de equilibrio o la construcción de representaciones gráficas de sistemas multicomponentes y multirreaccionantes</i>	101
<i>Anexo C. Estudios voltamperométricos de los sistemas curcumina-Fe(III)-H<sub>2</sub>O y curcumina-Fe(II)-H<sub>2</sub>O en medios ácido y básico</i>	105

# RESUMEN

Desde hace varios años se ha demostrado la importancia de los complejos formados entre compuestos orgánicos con iones metálicos, esto ha permitido un importante desarrollo en el área de la Química Bioinorgánica, la cual va tomando una gran fuerza en el campo de la investigación.

Los ligandos orgánicos son empleados en diversas áreas de investigación como es en el campo de la medicina, en análisis clínicos, como excipientes en diferentes formas farmacéuticas. Esto ha originado que se realicen síntesis de nuevas sustancias, identificación de principios activos de origen natural, modificación de estructuras, etc.

La interacción de los ligandos orgánicos con ciertos iones hacen a un más importante su estudio, no sólo es necesario conocer si existe interacción entre el ligando orgánico y el ión metálico, sino las condiciones en las cuales se pueda llevar a cabo la formación del complejo ligando-metal. En este trabajo se estudian dos ligandos orgánicos, uno sintético (diisopropiliminodiacetoamida) y el otro de origen natural (curcumina) empleando la técnica de espectrofotometría UV-VIS para la determinación de sus constantes de acidez y el estudio de su acción quelante principalmente con los iones  $\text{Cu(II)}$  y  $\text{Fe(III)/Fe(II)}$  los cuales tienen importancia en los procesos bioquímicos.

Se emplean métodos gráficos como el número promedio de ligandos y las relaciones molares así como programas computacionales como es SUPERQUAD y SQUAD para la determinación de las constantes de acidez de la diisopropiliminodiacetoamida. También se estudió la actividad quelante de la diisopropiliminodiacetoamida con el ion cobre (II), el comportamiento de la

curcumina en medio acuoso, y la formación de complejos curcumina con el par Fe(III)/Fe(II) en medio acuoso.

# **1. INTRODUCCIÓN GENERAL**

## 1. Introducción general

Los seres vivos animales o vegetales, necesitan elementos minerales para desarrollar diversas funciones, por ejemplo se pueden mencionar [1]:

- a. al ion  $\text{Na}^+$  que controla presión osmótica y potenciales de membrana
- b. el ion  $\text{K}^+$  con actividad similar al de sodio, pero particularmente importante al estar contenido en las células, la importancia se manifiesta al actuar como cofactor para algunas enzimas intracelulares
- c. el ion  $\text{Zn}^{2+}$  involucrado en el buffer de pH en la hidrólisis de fosfato y la síntesis de ARN
- d. el ion  $\text{Mg}^{2+}$  mantiene la estructura interna estable de las células por la unión entre los grupos carboxilatos vecinos de las lipoproteínas, además ayuda a mantener el potencial de membrana y transmitir signos nerviosos, además de participar en la replicación del ADN. En la plantas es esencial para la conversión de la fotosíntesis del dióxido de carbono hacia carbohidratos
- e. el ion  $\text{Mn}^{2+}$  reemplaza al magnesio en ciertas reacciones enzimáticas.  
Posible cofactor en enzimas respiratorias
- f. el par  $\text{Fe}^{2+} / \text{Fe}^{3+}$  involucrado en el transporte de oxígeno a través de la hemoglobina, son extensamente involucrados en reacciones redox
- g. el ion  $\text{Cu}^{2+}$  se le involucra en reacciones redox de aproximadamente doce enzimas, junto con el hierro intervienen en la pigmentación de la piel.

Un análisis total del cuerpo podría mostrar la presencia de varios de los elementos de la Tabla Periódica, sin embargo muchos de ellos pueden ser introducidos accidentalmente [1].

## 1. Introducción general

El aumento o la disminución de algún ion en el organismo provoca una alteración fisiológica; para corregir esto se han empleado diversos agentes quelantes.

Lo anterior ha creado un foco de interés sobre este campo originando una serie de trabajos, este tipo de estudios se desarrolla actualmente con una rapidez considerable debido al amplio campo de aplicación que incluye los siguientes puntos de interés, materia de estudio de la química bioinorgánica.

**a)** La química de los elementos esenciales para la vida, exceptuando hidrógeno, carbono, oxígeno y nitrógeno [1]

**b)** La interacción de dichos elementos con fármacos, aditivos alimenticios y otros ligantes de interés biológico [2-3]

**c)** El diseño y la obtención de moléculas que contienen metales de transición u otros elementos capaces de ejercer efectos terapéuticos [4,5,6,7]

**d)** El diseño y la obtención de agentes quelantes, destinados a la desintoxicación de organismos envenenados por metales no esenciales, o por aquéllos que, aunque esenciales, excedan sus concentraciones normales [1,8]

**e)** El uso del conocimiento obtenido de los sistemas biológicos para el desarrollo de nuevos compuestos similares a los encontrados en dichos sistemas [1,9]

En procesos bioquímicos se conoce que la actividad de algunas enzimas depende solamente de su estructura como proteínas, mientras que otros necesitan, además uno o más componentes no proteícos llamados cofactores. El cofactor puede ser unión metal, o bien una molécula orgánica llamada coenzima; algunas enzimas necesitan de ambos. Los cofactores son generalmente estables frente al calor, mientras que muchas proteínas enzimáticas pierden la actividad ante cambios de temperatura[3].

En tales enzimas el ion metálico puede actuar como:

- 1) Centro catalítico primario.
- 2) Grupo puente para reunir el sustrato y la enzima, formando un complejo de coordinación.
- 3) Agente estabilizante de la conformación de la proteína enzimática en su forma catalítica activa.

Al conocer la acción que puede llegar a tener en ion metálico ante un compuesto orgánico, ha llevado al estudio de compuestos de coordinación que ayuden a corregir ciertas alteraciones fisiológicas, por ejemplo ciertos complejos de platino que exhiben potente actividad antitumoral [5].

La aplicación de agentes quelantes también es importante en industrias como la textil, papelera, cosmética y metalmeccánica, encontrándolos en productos de limpieza, como tintas, para el lavado de botellas, en el tratamiento de aguas, etc.

De los puntos anteriores, el estudio entre las interacciones entre iones metálicos y ligantes orgánicos abarca un amplio espectro de aplicaciones en medicina ya que se han empleado como agentes para corregir alguna deficiencia metabólica, como antídoto en intoxicaciones por ejemplo dos sustancias particularmente eficaces para eliminar el plomo de la sangre o de los tejidos son el etilendiaminotetraacetato (EDTA) y el 2,3-dimercaptopropanol, más conocido como BAL, el envenenamiento con mercurio también sigue un tratamiento eficaz con sales de calcio de EDTA [8], también se han usado como sensores, en diagnóstico, en radioterapia entre otras [10],

Esto ha dado pie a la búsqueda de nuevos ligantes, los cuales deben reunir una serie de características; por ejemplo, un ligante adecuado para remover iones metálicos no deseados debería satisfacer los siguientes requisitos [11]:

- 1) Ser un ligante multidentado que sature el número de coordinación del ion metálico y que forme un complejo que posea una buena solubilidad en agua, para que sea fácilmente excretado
- 2) El ligante no debe ser destruido por el método de introducción en el organismo.
- 3) Los grupos donadores del ligante son elegidos de acuerdo a su carácter de unión fuerte o débil con el ion metálico que desea removerse
- 4) Los requerimientos estéricos del ion metálico tienen que ser considerados
- 5) Si el ligante o sus complejos tienen que pasar a través de una membrana celular, la cual tiene características similares a las de una fase no acuosa, entonces ambos deberán tener una baja carga eléctrica o nula
- 6) La estequiometría del sistema metal-ligante tiene que ser considerada
- 7) Tanto el ligante como el complejo tienen que ser no tóxicos. Se tiene como ejemplo que el 2,3-dimercaptopropanol no debe ser usado para remover al zinc o al cadmio, porque los complejos que se forman con estos iones metálicos son más venenosos que el ion metálico libre

El estudio de los ligantes, contempla varios factores que deben ser tomados en cuenta, como su comportamiento ácido-base, ya que se pueden disociar a valores específicos de pH y gran parte de las propiedades biológicas y físicas de estas moléculas dependen de su disociación.

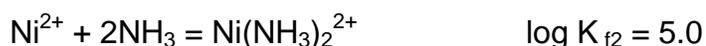
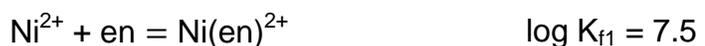
El proceso natural por medio del cual un ion metálico se une a un ligante multidentado o quelante se le conoce como quelación. El producto de esta

## 1. Introducción general

interacción se conoce como quelato. Como ejemplos de productos quelatos naturales se pueden citar: la hemoglobina con el hierro, la clorofila con el magnesio o la vitamina B<sub>12</sub> con el cobalto. Como agentes quelantes se han utilizado distintos compuestos (como el EDTA, la etilendiamina, los aminoácidos, etc.). Los quelatos con aminoácidos son muy estables, lo que disminuye algunas características de reactividad del ion metálico. Sólo los complejos formados por aminoácidos y con peso molecular inferior a 800 daltons incluido el metal atraviesan las membranas de las células intestinales sin necesidad de ser hidrolizados en el lumen. En medicina la quelación se emplea en terapias por vía oral o intravenosa como una alternativa a la cirugía.

Existen varias propiedades que intervienen en la unión ligante-ion metálico (por ejemplo: solvatación, entropía), una de las correlaciones mas prosperas sigue siendo la propiedad ácido-base de los ligantes. La razón se basa en el hecho de que el H<sup>+</sup> y los iones metálicos M<sup>+m</sup> actúan como ácidos de Lewis hacia ligantes con características de bases de Lewis.

Las constantes de estabilidad para la formación de complejos (ML) de un ion metálico involucran distintas propiedades del ligando (L) y del ion metálico (M). Experimentalmente se ha observado que los complejos de ligantes clasificados como quelantes son más estables que los complejos con ligantes monodentados. Por ejemplo, la constante de complejación para el complejo de Ni(II) con etilendiamina (en) es mayor que la constante de complejación por dos moléculas NH<sub>3</sub>



## 1. Introducción general

El estudio de la capacidad quelante está vinculado con el valor de las constantes de formación entre los ligantes con los iones metálicos, para lo cual distintos autores han empleado varias técnicas experimentales para el cálculo de las constantes de equilibrio entre las técnicas que se emplean podemos mencionar: calorimetría, potenciometría, polarografía, intercambio iónico, extracción por solvente, espectrofotometría UV/Visible. El empleo de la técnica dependerá de las características del sistema en estudio de acuerdo a las características que presente el sistema de ligante-ión metálico. Los ligantes pueden ser de origen natural o sintético, una fuente rica de ligantes orgánicos son las plantas con uso medicinal. El empleo de forma empírica de diversas especies botánicas en el campo de la medicina ha despertado el interés de los científicos en conocer los componentes fitoquímicos a los cuales se les pueda atribuir el efecto terapéutico. Pocas plantas han atrapado el interés de los científicos y han sido sometidas a investigaciones científicas [12].

El presente trabajo está dividido en dos partes, en las cuales se involucra el estudio de dos ligantes orgánicos. En la primera parte del estudio se realiza la especiación de un ligante sintético con características de los polipéptidos (diisopropiliminodiacetoamida) realizando el cálculo de constantes de acidez y su interacción en el ion cobre (II), en la segunda parte se realiza el estudio con un ligante de origen natural perteneciendo a la familia de los compuestos polifenólicos (curcumina) y su interacción con el par  $\text{Fe(III)/Fe(II)}$ . En ambos estudios se emplean métodos gráficos y computacionales [13-18]

## **2. OBJETIVOS**

## 2.1 Objetivo General

- Estudiar la interacción química de la diisopropiliminodiacetoamida (**L**) y curcumina ( $H_3Cur$ ) con iones metálicos con aplicaciones en el campo Farmacéutico, Médico o Ambiental.

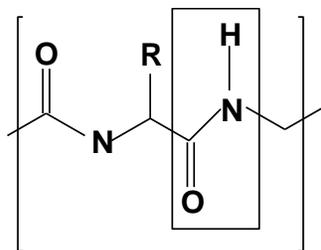
## 2.2 Objetivos Particulares

- Determinar las constantes ácido-base de **L** en medio acuoso.
- Estudiar la interacción química de la **L** con el ion  $Cu(II)$  mediante espectroscopia UV-VIS
- Calcular las constantes de acidez de la curcumina en medio acuoso.
- Estudiar la interacción química de la curcumina con el par  $Fe(III)/Fe(II)$  y calcular las constantes de los posibles complejos en medio acuoso.

3. Determinación de las constantes de  
acidez de la *diisopropiliminodiacetoamida* (**L**)

### 3.1 Introducción

Las proteínas son compuestos más abundantes en el interior de las células, pues constituyen el 50 % o más de su peso en seco [19]. Hay proteínas que contienen algunos elementos adicionales, particularmente fósforo, hierro, zinc y cobre. En las moléculas proteicas la secuencia de aminoácidos se realiza mediante uniones covalentes entre sí formando largos polímeros no ramificados, estas uniones son una ordenación de cabeza a cola mediante uniones amida sustituidas, llamadas enlaces peptídicos, producidas por eliminación de los elementos del agua entre el grupo carboxilo de un aminoácido y el grupo  $\alpha$ -amino del siguiente [19]. Un péptido consiste en dos o más residuos de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos [20], en la figura 3.1. se muestra la representación de la fórmula estructural general de los polipéptidos.

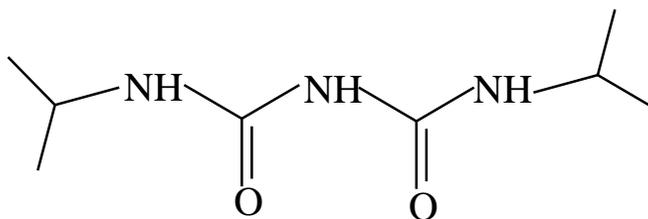


**Figura 3.1.** Estructura general de un polipéptido. En el recuadro se identifica el enlace peptídico

Los péptidos son compuestos que tienen gran interés biomédico, particularmente en endocrinología. Muchas de las hormonas son péptidos y pueden administrarse a pacientes para corregir deficiencias (por ejemplo, la administración de insulina a pacientes diabéticos). Muchos antibióticos son péptidos o contienen un pequeño componente peptídico como parte de la estructura global (valinomicina, gramicidina), igual que unos cuantos agentes antitumorales (bleomicina) [21].

Los péptidos además tienen la propiedad de actuar como agentes quelantes con algunos iones metálicos ejemplo de ello es la reacción de Biuret, reacción muy empleada en los Análisis Clínicos, la cual consiste en hacer reaccionar muestra clínica (suero) con una solución de sulfato cúprico en medio básico dando como resultado un complejo purpúreo en presencia de péptido y proteínas [19].

La amplia aplicación que se le ha dado a los ligantes con características peptídicas ha llevado a los químicos orgánicos a realizar síntesis de nuevos compuestos que puedan ser empleados como agentes quelantes y puede ser utilizados en varias áreas de investigación. En el presente trabajo se estudiará un compuesto orgánico sintético con características semejantes a los péptidos (figura 3.2)



**Figura 3.2.** Estructura general de la *diisopropiliminodiacetoamida* (sintetizada por el Dr. Rafael Tapia Benavides en el Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo)

El nombre científico del ligante es 4,8-dioxo-2,10-dimetil-3,6,9-triazaundecano, su nombre común *diisopropiliminodiacetoamida* y se le abreviará como **L** durante el presente trabajo.

## 3.2 Parte experimental

### 3.2.1 Síntesis de la 4,8-dioxo-2,10-dimetil-3,6,9-triazaundecano

#### *(diisopropiliminodiacetoamida).*

Se mezclan 2.03g (12.6mmol) de 5-aza-2,8-dioxanona-3,7-diona, 0.06 g (1.26 mmol) de NaCN y 25 mL de 2-propilamina, manteniendo agitación constante a una temperatura de 20°C por tres semanas. Entonces el exceso de 2-propilamina es removido bajo vacío obteniendo 2.71g de la 4,8-dioxo-2,10dimetil-3,6,9-triazaundecano, mp 113-115 °C

### 3.2.2 Análisis de los elementos para la C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>

calculada: C, 55.79%; H, 9.78%; N, 19.53%

experimental: C, 54.04%; H, 9.13%; N, 18.89%

### 3.2.3 Bandas de IR

$\bar{\nu}_{\max}$  /cm<sup>-1</sup> (CHCl<sub>3</sub>): 3350 (NH), 3000, 2974, 2037, 2906, 2933 (CH), 1662 (C=O), 1526 (amida), 1456 (CH<sub>2</sub>), 1388 (CH<sub>3</sub>).

### 2.1.3. <sup>1</sup>H-NMR

$\delta_{1H}$  /ppm (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.19 [d, 12H, CH<sub>3</sub>], 2.11 [b, 1H, NH], 3.22 [2, 4H, CH<sub>2</sub>], 4.10 [m, 2H, CH], 6.45 [b, 2H, NH].

### 3.2.4 <sup>13</sup>C-NMR

$\delta_{13C}$  /ppm (67.80 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 22.69 (CH<sub>3</sub>), 41.11 (CH), 52.55 (CH<sub>2</sub>), 169.89 (C=O).

### 3.2.5. Espectrometría de masas

m/z (EI, 70 eV): 216 (21), 215 (10), 156 (13), 130 (11), 129 (84), 115 (3), 114 (3), 101 (13), 87 (7), 86 (10), 73 (7), 72 (71), 58 (70), 87 (69), 59 (30), 58 (17),

57 (7), 55 (2), 45 (3), 44 (58), 43 (87), 42 (100), 41 (39), 40 (3), 39 (9), 31 (2), 30 (38), 29 (3), 28 (19), 27 (29).

### **3.2.6. Estudio potenciométrico y espectrofotométrico**

El equipo utilizado para de la determinación de las constantes de acidez de la **L** es un Potenciómetro Radiometer-Tacussel LPH430T ( $\text{pH} = \pm 0.001$ ), Electrodo Radiometer Analytical pH3006-9, para las mediciones de absorbancia se usó un espectrofotómetro UV-VIS Perkin Elmer Lambda 20, celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico. Todas las soluciones fueron preparadas con agua desionizada de Tipo I (US Filter PURELAB Plus UV), la calibración del potenciómetro se llevó a cabo con solución buffer de fosfatos Beckman ( $\text{pH} = 7.00 \pm 0.01$  a  $25^\circ\text{C}$ ). Durante el desarrollo experimental se mantuvo el sistema en atmósfera inerte (con  $\text{N}_2$ ). Se preparan soluciones de **L** a diferentes concentraciones en agua desionizada las cuales se titulan con soluciones de HCl y NaOH, durante el estudio se mantiene el sistema en atmósfera inerte y temperatura constante.

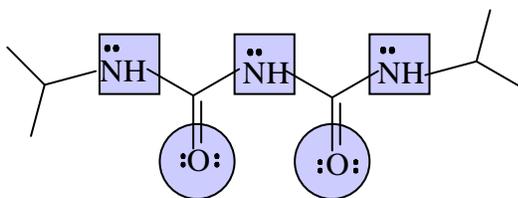
### **3.3. Determinación de las constantes de acidez para L**

Varias técnicas han sido empleadas para el análisis de datos y la obtención del número de especies observables y la determinación de las constantes de equilibrio en sistemas multicomponentes y multireaccionantes en solución. Se comienza con la propuesta de un modelo para el sistema de **L** en medio acuoso basado en sus características químicas. Una vez que el equilibrio es conocido, entonces se realiza el cálculo de la constante utilizando primeramente métodos gráficos y posteriormente métodos computacionales.

### 3.3.1. Estudio potenciométrico

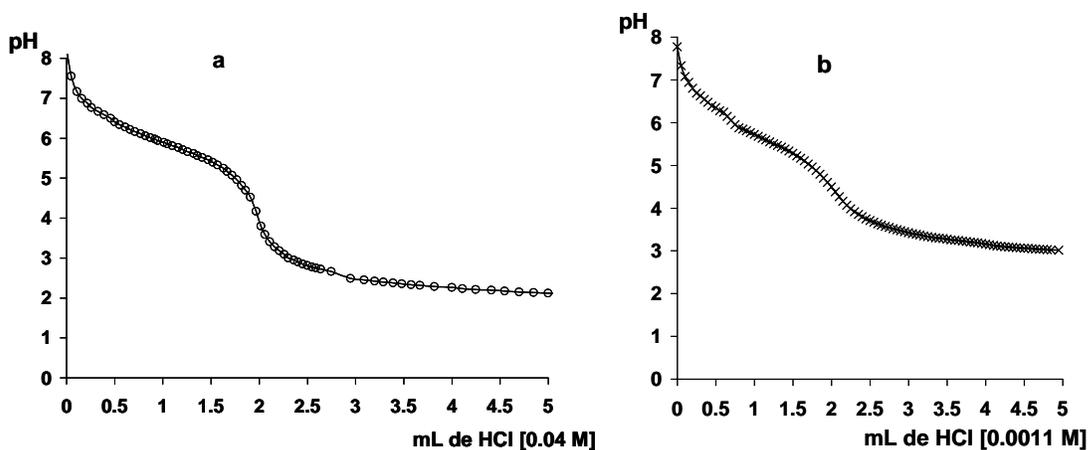
Una de las primeras consideraciones es buscar el mejor tiempo de estabilización para **L** ya que con esto se trata de minimizar los errores sistemáticos; una vez que se comprueba que las soluciones de **L** no presentan cambios con respecto al tiempo, se procede a la valoración de diferentes soluciones de **L**, cuidando siempre de mantener la atmósfera inerte y la temperatura constante.

El estudio se inicia estableciendo las condiciones experimentales de trabajo de la **L**, siendo un compuesto orgánico es importante conocer si presenta procesos cinéticos que afecten su estabilidad en solución. Al analizar la estructura química de la **L**, se pueden observar zonas polares sobre los grupos amino y carboxilo, la presencia de estos grupos debe darle solubilidad en agua o algún otro disolvente polar (figura 3.3).



**Figura 3.3.** Identificación de las zonas polares en la estructura general de la **L**.

Las soluciones de **L** en medio acuoso son de naturaleza básica, esto era de esperarse por la presencia de los grupos aminos. De acuerdo a su comportamiento en solución, se le pudo clasificar como una base débil y por lo tanto se puede valorar con ácidos fuertes para la determinación de su constante de acidez ( $K_a$ ). Se realizan primero las valoraciones de la **L** con ácido clorhídrico dando como resultado un punto de inflexión como se puede observar en la figura 3.4.

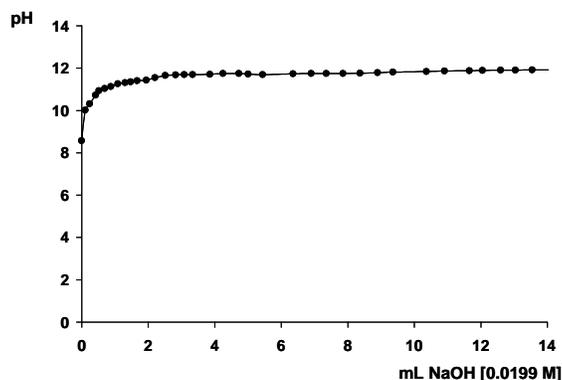


**Figura 3.4.** Curvas típicas de valoración de **L** con ácido clorhídrico: a)  $[L]: 8.84 \times 10^{-3} \text{ M}$ .

b)  $[L]: 1.02 \times 10^{-3} \text{ M}$

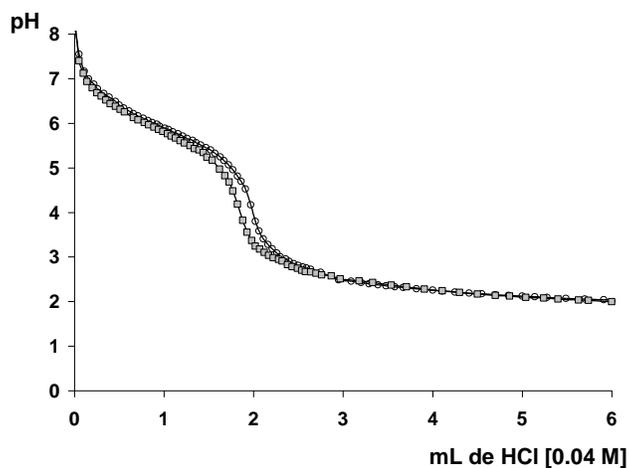
El valor de pH de las soluciones de **L** son ligeramente básicas como se observa en la figura 3.4 lo cual se esperaba si recordamos la estructura de la **L**, los grupos que presentan dan la característica de base débil las cuales en solución presentan valores de pH entre 8 o 9 aproximadamente. Se observa que al iniciar la adición de ácido de a la solución de **L** apenas cambia hasta que llega a un punto cercano a la neutralización; en dicha fase, el valor de pH cambia muy rápidamente hasta que nuevamente vuelve a presentar pequeños cambios en los valores de pH, por lo que solo se puede observa un punto de inflexión en el intervalo de pH de 6 a 4, lo que propone un solo punto de equivalencia entre la base y su ácido conjugado. Sabiendo que se trata de una base débil, las valoraciones a pH mayores no aportarían información experimental que permita establecer al un equilibrio, y esto se puede observar en la figura 3.5.

### 3. Determinación de las constantes de acidez de la diisopropiliminodiacetoamida



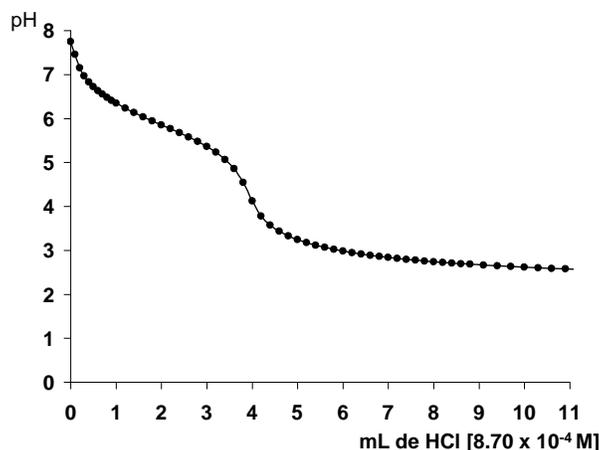
**Figura 3.5.** Curvas típicas de valoración de **L** con NaOH. Concentración de **[L]**: $1.8 \times 10^{-3}$  M

Como se puede apreciar en la curva de valoración de la **L** a medio básico no proporciona información que sea útil para la propuesta de las posibles especies ácido-base de la **L**. Se realizan varias valoraciones de **L** con HCl variando las concentraciones de ambos. La reproducibilidad del comportamiento de la curva de valoración de **L** con ácido clorhídrico se muestra en la figura 3.6.



**Figura 3.6.** Curvas típicas de valoración de **L** con NaOH. Concentración de **[L]**: $1.8 \times 10^{-3}$  M

Al emplear soluciones más diluidas del ligando y del ácido es posible tener mayor definición en el punto de inflexión en la curva de valoración (figura 3.7).



**Figura 3.7.** Curva de valoración de la **L**  $1.02 \times 10^{-3}$  M

Como no se tienen referencias de constantes de acidez de **L**, el tratamiento de los datos experimentales se realizará un método gráfico que permita establecer un valor que apoye el comportamiento experimental observado de **L**. Uno de los métodos que se emplea para tener una perspectiva de que especies pudieran estar presentes en solución que fuera una buena base matemática para proponer un primer modelo, es el cálculo de número promedio de ligandos (anexo A).

### 3.3.2 Número promedio de ligandos

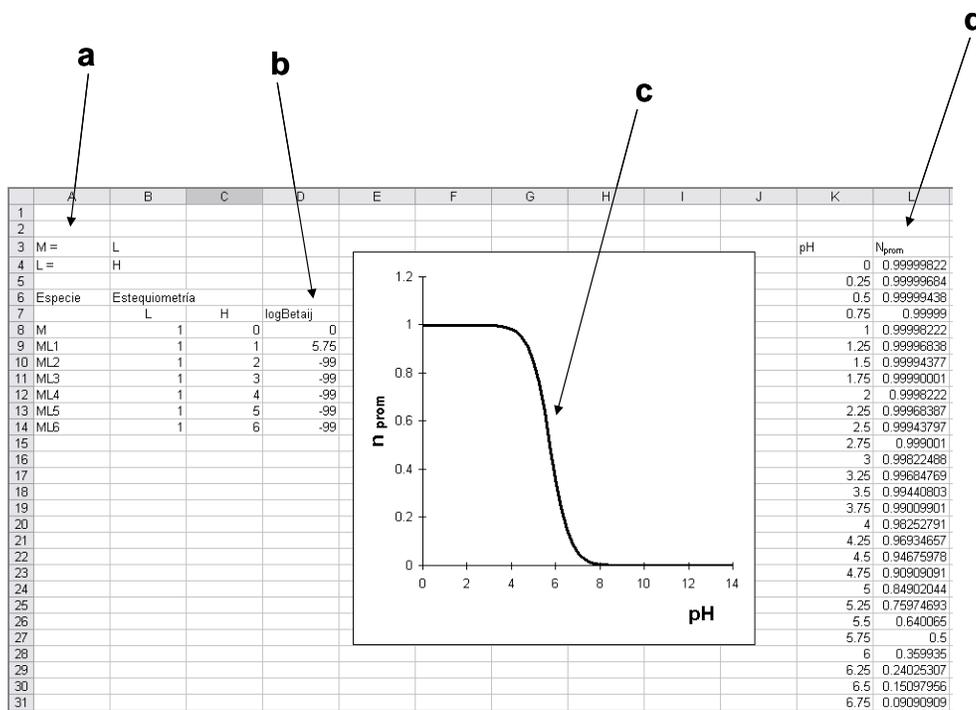
Con los datos obtenidos de las curvas de valoración de **L** es posible construir gráficas que muestren la relación del ligante con la sustancia en estudio, en este caso el ligante será los protones que se van adicionando a la solución de **L**, aún cuando la estructura de **L** indique varios sitios posibles de protonación (figura 3.3), en los grupos carboxílicos y los grupos amino, en base a lo anterior es posible sugerir varios modelos (tabla 3.1)

Tabla 3.1. Propuesta de modelos de protonación de la diisopropiliminodiacetoamida

Modelo	Equilibrio
I	$L + H^+ = HL^+$
II	$L + H^+ = HL^+$
	$L + 2H^+ = HL^{2+}$
III	$L + H^+ = HL^+$
	$L + 2H^+ = HL^{2+}$
	$L + 3H^+ = HL^{3+}$
IV	$L + 2H^+ = HL^{2+}$

Aunque se pueden proponer varios modelos para la protonación de **L** como se muestra en la tabla 3.1 el modelo teórico deberá satisfacer el comportamiento experimental obtenido de las valoraciones de **L**. En base a lo anterior y considerando los datos obtenidos de las valoraciones se construyen los gráficos correspondientes a las curvas del número promedio de ligando ( $n_{prom}$ ) ajustando el modelo teórico a la curva obtenida experimental. Se construye primeramente una hoja de cálculo que permita realizar las curvas teóricas de los diferentes modelos de todos los posibles equilibrios que puedan llegar a estar presentes en un sistema, en la figura 3.8 se muestra la hoja de cálculo utilizada.

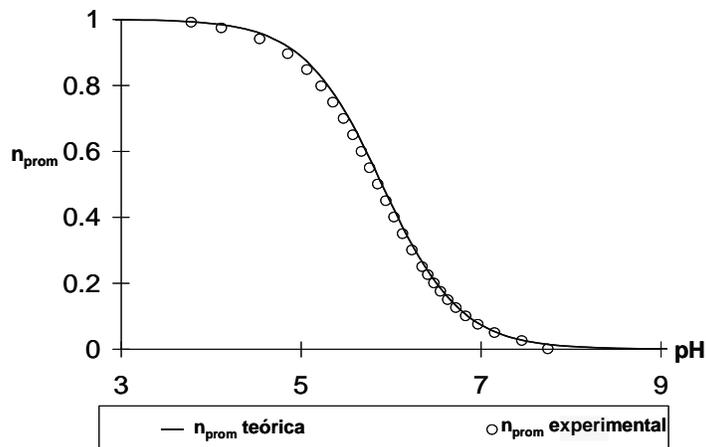
### 3. Determinación de las constantes de acidez de la diisopropiliminodiacetoamida



**Figura 3.8.** Ejemplo de una hoja de cálculo para el análisis del número promedio de ligandos. **a)** Especies presentes en el sistema. **b)** Valores de  $\log\beta$  de formación del complejo. **c)** Gráfica resultante que indica la relación estequiométrica del complejo. **d)** Celdas de entrada que calculan la relación de la concentración total de protones unidos entre la concentración total de **L**.

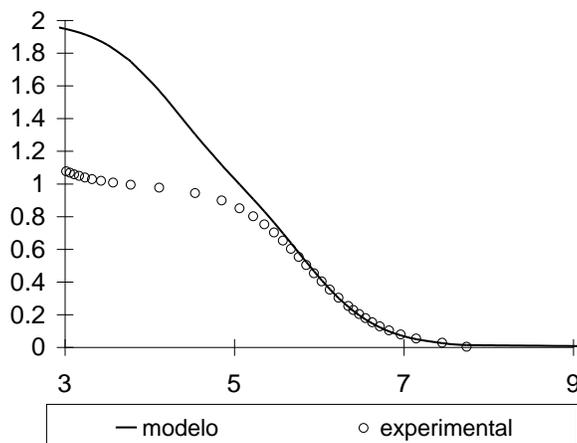
Se realiza el cálculo de la  $n_{prom}$  experimental y se sobrepone con la  $n_{prom}$  teórica, la cual se va ajustando a la experimental con los valores de  $\beta$  de formación propuestos. En la figura 3.9 se presenta la mejor curva teórica ajustada a la obtenida a partir de los datos experimentales.

3. Determinación de las constantes de acidez de la diispropiliminodiacetoamida



**Figura 3.9.** Curva del número promedio de ligandos. Relación estequiométrica 1:1

La curva teórica que ajusta mejor los valores experimentales de  $n_{prom}$  es la del modelo donde se considera el equilibrio 1:1, obteniéndose una  $\beta = 5.85$ . La curva obtenida experimental solo se ajusta a la teórica cuando se propone un solo equilibrio, cuando se proponen la presencia de otros complejos, la curva experimental se aleja de la teórica (figura 3.10).



**Figura 3.10.** Curva del número promedio de ligandos. Relaciones estequiométricas propuestas: 1:1 y 1:2.

Con los resultados obtenidos del análisis del número promedio de ligandos y retomando el comportamiento de las curvas de valoración de **L** en donde sólo se presenta un punto de inflexión se apoya la propuesta de una sola protonación de **L**, para reforzar la propuesta de un solo equilibrio de acidez de **L** se elige utilizar el programa computacional SUPERQUAD el cual emplea datos potenciométricos que son los que se tienen en este estudio experimental.

### 3.3.3 Determinación de las constantes de acidez correspondientes a la diisopropiliminodiacetoamida por SUPERQUAD

De las valoraciones realizadas a **L** se arman los archivos de entrada del programa computacional SUPERQUAD (anexo A), en la tabla 3.2 se presentan los resultados obtenidos por SUPERQUAD.

**TABLA 3.2.** Resultados obtenidos por SUPERQUAD, para las constantes de acidez de la diisopropiliminodiacetoamida. El número de puntos empleados para el programa es de 30.

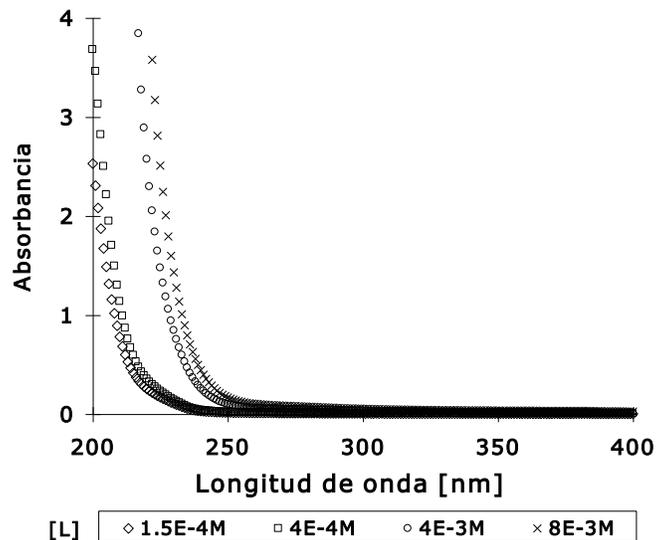
	Log $\beta$ (refinados por SUPERQUAD)	Suma de cuadrados ( $U^2$ )	$\chi^2$	$\sigma$
<b>Modelo I</b>				
$L + H^+ = HL$	$5.79 \pm 0.04$	$2.54 (10^{-3})$	47.21	5.56

Aun cuando el programa SUPERQUAD es capaz de refinar diferentes modelos que se le proponen, sólo se consideran la formación de un ácido, teniendo un valor en la suma de cuadrados de milésimas que indica un buen ajuste del los datos teóricos con los experimentales. El valor de la  $\beta$  de formación, lo que apoya lo obtenido con el método gráfico del número promedio de ligandos. Ambos

métodos empleados llevan a la propuesta de sólo un equilibrio de acidez para la **L**. Una vez conocido el comportamiento potenciométrico, se procede a utilizar otro método de cálculo para obtener las constantes, el cual se base en datos espectrofotométricos de **L**.

### 3.4. Estudio espectrofotométrico

Otro programa computacional útil en el cálculo de constantes de formación es SQUAD (Anexo A) mediante el empleo de datos espectrofotométricos, en base a esto se realizan soluciones a diferentes concentraciones de **L** y se registran los espectros de absorción UV-VIS. En la figura 3.11 se muestra el comportamiento espectrofotométrico de **L**.



**Figura 3.11** Espectros de absorción UV de la diisopropiliminodiacetoamida a diferentes concentraciones.

Como se muestra en la figura 3.11, los espectros de absorción de **L** no presentan máximos de absorción, por lo que no hay señales que puedan ser empleadas por el programa SQUAD, sin embargo como el estudio de **L** va enfocado a determinar

### 3. Determinación de las constantes de acidez de la diispropiliminodiacetoamida

su capacidad para formar complejos con iones metálicos por ejemplo el ion  $\text{Cu(II)}$ , el par  $\text{Fe(III)/Fe(II)}$ ,  $\text{Ni(II)}$  entre otros, los cuales presentan bandas de absorción en el UV-VIS, la ausencia de bandas absorción de **L** permitiría entonces observar el cambio que sufran los espectros de los iones en presencia de **L**.

4. Actividad quelante de la  
diisopropiliminodiacetoamida (**L**) con el  
ion cobre (II)

#### 4.1 Introducción.

El encontrar nuevos agentes quelantes para iones metálicos, ha permitido el desarrollo de la síntesis de nuevos compuestos orgánicos, en este capítulo se presenta el estudio de la interacción entre el ion  $\text{Cu(II)}$  con la diisopropiliminodiacetoamida. El ion cobre realiza diversas funciones en procesos metabólicos por ejemplo su interacción con varias enzimas [22], de ahí que tenga una alta actividad biológica, particularmente en el sistema nervioso central. El cobre es un elemento biológicamente esencial, el cual es distribuido irregularmente a través de todo el cuerpo (50-100 mg por adulto) [4]. Entre las funciones que se le atribuyen al cobre se pueden mencionar las siguientes:

- a) factor de diversas coenzimas que intervienen en la cadena respiratoria
- b) formación de hemoglobina, glóbulos rojos y diversas enzimas
- c) Su presencia favorece la utilización del hierro.

Aunque es raro que se pueda tener una deficiencia de cobre, esto no garantiza que se pueda tener una intoxicación por él. El cobre en altas concentraciones en el organismo provoca la enfermedad de Wilson, lo cual se presenta cuando se tiene una baja excreción de cobre en bilis provocando una acumulación en el hígado, inhibiendo su propio acoplamiento a la ceruplasmina [23], además de provocar enfermedades hepáticas crónicas, anemias hemolíticas. La deficiencia de cobre en el organismo provoca el Síndrome de Menkes (trastorno semejante a la deficiencia nutricional), trastorno de crecimiento, retraso mental, muerte súbita asociada a la ruptura espontánea de un vaso sanguíneo mayor o del corazón.

Así mismo el cobre ha sido estudiado en su interacción con proteínas [24], en su participación con procesos genéticos [25-26]. Todo esto hace al cobre un elemento de interés para su estudio en la formación de nuevos complejos.

#### **4.2. Parte experimental.**

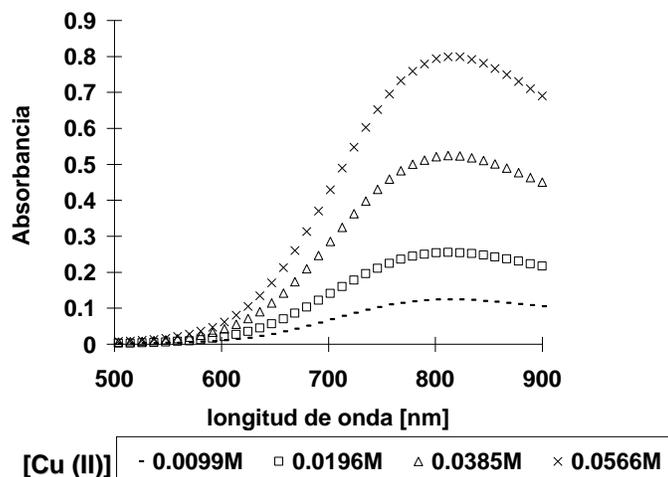
Se preparan soluciones del ion Cu (II) a partir de la sal de  $\text{CuCl}_2$  y de **L** empleando agua desionizada, para la modificación del valor de pH se emplean soluciones de HCl y NaOH, durante los ensayos experimentales se mantiene la atmósfera inerte mediante el burbujeo de  $\text{N}_2$ .

En una primera parte del estudio se mantiene fija la concentración de las soluciones de Cu (II) y se van adicionando volúmenes de soluciones de **L**. Para realizar un cálculo estimado de la relación estequiométrica entre **L** y el ion cobre (II) se utiliza primero un estudio de relaciones molares empleando datos espectrofotométricos.

#### **4.3. Comportamiento espectrofotométrico del ion Cu(II) en medio acuoso.**

Las soluciones del ion cobre presentan un color azul lo cual permite utilizar esta propiedad recordando que la **L** no registra bandas de absorbancia en la región visible, empleando así la espectrofotometría VIS para estudiar la posible interacción química entre la **L** y el ion Cu (II). Primero se realiza se caracterizan las bandas de absorción de las soluciones de ion cobre (II). En la figura 4.1 se presentan los espectros de absorción visible para soluciones de ion cobre (II).

#### 4. Actividad quelante de la diisopropiliminodiacetoamida con el ion Cobre (II)



**Figura 4.1.** Espectros de absorción correspondientes al Cu (II) a diferentes concentraciones.

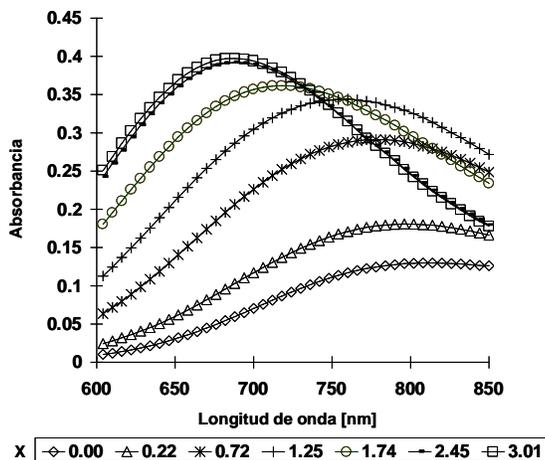
Como se puede observar en la figura 4.1, el ion Cu(II) presenta un máximo de absorción a una longitud de onda de 812 nm independiente de la concentración del cobre en el sistema. Una vez registrado el máximo de absorción de las soluciones de ion cobre (II), se continúa con el estudio de la interacción química con la diisopropiliminodiacetoamida para obtener la relación molar entre estas especies.

#### 4.4. Estudio del sistema L-Cu(II) en medio acuoso

##### 4.4.1. Estudio de relaciones molares.

Empleando el método de relaciones molares (Anexo A), se realiza el análisis de la interacción de la L con el cobre (II). Se mantiene fija la concentración del ion cobre (II) y se va adicionando al sistema L, los espectros de absorción resultantes se muestran en la figura 4.2.

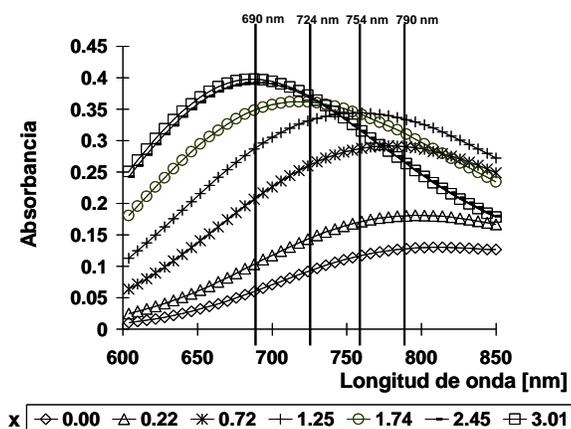
4. Actividad quelante de la diisopropiliminodiacetoamida con el ion Cobre (II)



**Figura 4.2.** Espectros Vis correspondientes al sistema Cobre (II) [0.0105 M]-L en relaciones

molares variables (X), donde X corresponde a la relación de  $\frac{[L]}{[Cu(II)]}$

Siguiendo el procedimiento gráfico del método de relaciones molares, se gráfica la fracción mol  $\frac{[L]}{[Cu(II)]}$  contra absorbancia a una longitud de onda de trabajo, la elección de la longitud de onda se basa en los máximos de absorbancia de cada espectro como se en la figura 4.3



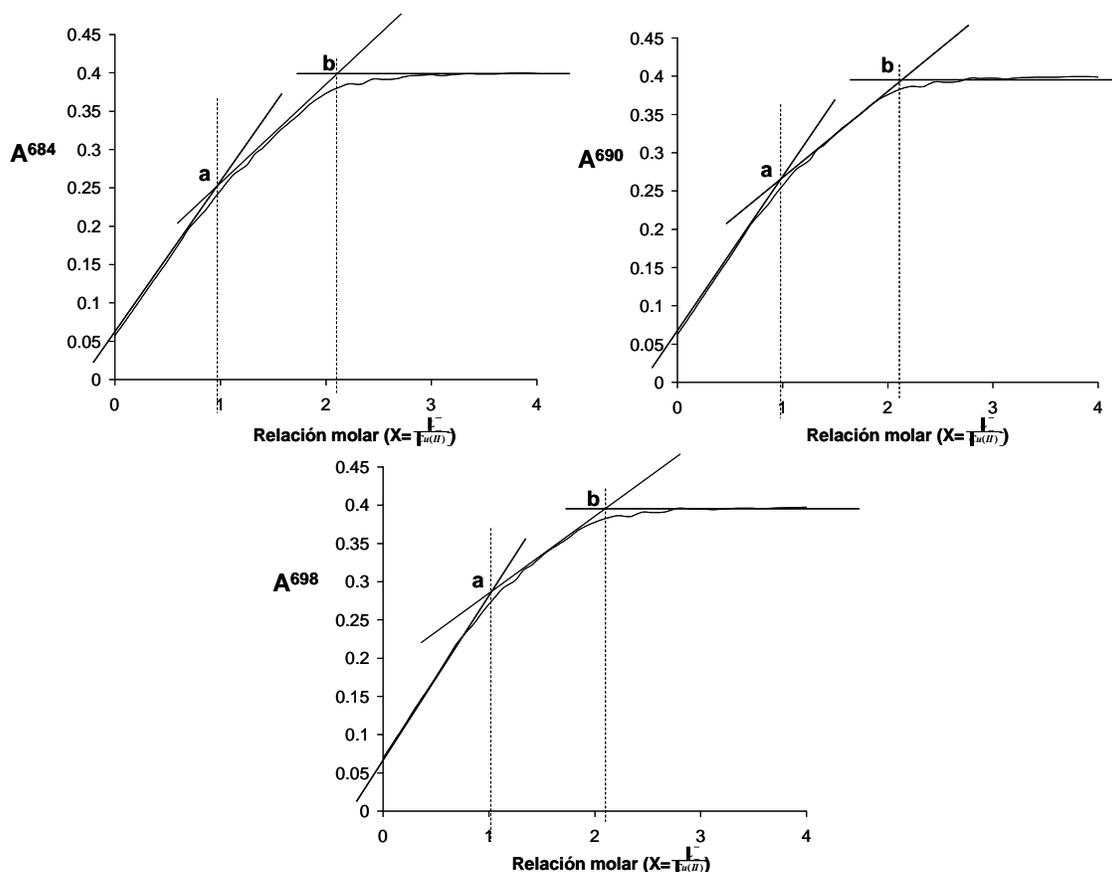
**Figura 4.3.** Espectros Vis correspondientes al sistema Cobre (II) [0.0105 M]-L en relaciones

molares variables (X), donde X corresponde a la relación de  $\frac{[L]}{[Cu(II)]}$ , las líneas que cruzan los

espectros de absorbancia marcan el máximo de absorbancia.

#### 4. Actividad quelante de la diisopropiliminodiacetoamida con el ion Cobre (II)

Se realizan los gráficos a diferentes máximos de absorptividad, se observa que en el intervalo de longitud de onda entre 680 nm y 690 nm se presentan dos cambios de pendiente (figura 4.4)



**Figura 4.4.** Gráfico de variaciones molares a diferentes longitudes de onda de trabajo. El punto de intersección **a** representa la relación molar 1:1. El punto de intersección **b** representa la relación molar 1:2

Al observar la grafica de absorbancia contra la relación molar de las especies en el sistema (L y Cu(II)), en cada cambio de pendiente se indica una relación presente, en la gráfica se aprecian dos cambios de pendiente, el primero en 1:1 y un segundo en aproximadamente 1:2, lleva a plantear la formación de los siguientes complejos:



b) Complejo 1:2 [ $\text{Cu}^{2+} + 2\text{L} = \text{CuL}_2^{2+}$ ]

El método de relaciones molares proporciona la relación existente entre **L** y el ion cobre (II), pero para realizar el cálculo de los valores de las constantes de formación de los complejos propuestos es necesario emplear otros métodos. El refinamiento de las constantes de formación para el sistema de **L-Cu(II)** se realiza con el programa computacional SQUAD (Anexo A).

**4.4.2. Determinación de las constantes de formación de los complejos de diisopropiliminodiacetoamida-Cu(II) empleando el programa SQUAD.**

Con los datos de los espectros de absorción del estudio de variaciones molares se emplean para alimentar al programa SQUAD. Se realiza diferentes propuestas de las especies posibles en el sistema:

Modelo I



Modelo II



Cabe señalar que las soluciones de cobre (II) se encuentran en medio ácido en un valor de pH de trabajo de 4.01 por lo tanto debe estar incluido el equilibrio ácido-base de la **L** considerando el valor obtenido por SUPERQUAD, se utiliza este valor

4. Actividad quelante de la diisopropiliminodiacetoamida con el ion Cobre (II)

ya que es el único con el que se cuenta. Los resultados se presentan en la tabla 4.1.

**TABLA 4.1.** Resultados obtenidos por SQUAD para las constantes de formación L-Cu(II). 21 espectros en un intervalo de 504 a 900 nm con incrementos de 11 nm fueron empleados en el programa.

<b>Modelo propuesto</b>	<b>Log <math>\beta \pm \sigma</math> refinada</b>	$\sigma_A$	<b>U</b> <b>Suma de cuadrados</b>
<b>MODELO I</b>			
H + L → HL			
Cu <sup>2+</sup> + L → CuL <sup>2+</sup>	<b>NO CONVERGE</b>		
H + L → HL	5.8*		
Cu <sup>2+</sup> + L → CuL <sup>2+</sup>	4.45 ± 0.03	3.42 x 10 <sup>-2</sup>	9.34 x 10 <sup>-1</sup>
<b>MODELO II</b>			
H + L → HL	5.44 ± 0.08		
Cu <sup>2+</sup> + L → CuL <sup>2+</sup>	5.52 ± 0.65	1.04 x 10 <sup>-2</sup>	8.10 x 10 <sup>-2</sup>
Cu <sup>2+</sup> + 2L → CuL <sub>2</sub> <sup>2+</sup>	6.95 ± 0.66		
H + L → HL	5.8*		
Cu <sup>2+</sup> + L → CuL <sup>2+</sup>	5.85 ± 0.22	1.06 x 10 <sup>-2</sup>	8.44 x 10 <sup>-2</sup>
Cu <sup>2+</sup> + 2L → CuL <sub>2</sub> <sup>2+</sup>	7.45 ± 0.24		

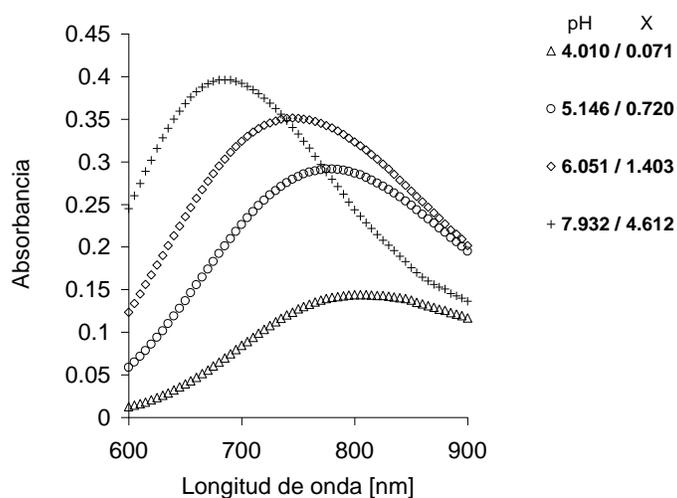
\* Constante Fija. El valor se redondea a dos cifras significativas

La primera propuesta para SQUAD es el modelo I, donde se incluye que calcule nuevamente el valor de la constante de acidez de L (en el estudio de variaciones molares no se fijo el valor de pH, al adicionar L al sistema de cobre (II) el valor de pH se modificaba). Para que SQUAD realice el cálculo de la constante de

#### 4. Actividad quelante de la diisopropiliminodiacetoamida con el ion Cobre (II)

formación del complejo en el modelo I es necesario mantener fija la constante de acidez de **L**.

Para el modelo II el programa converge con las dos propuestas que se le realizan, manteniendo fijo el valor de la constante de acidez de **L** y sin fijar dicho valor. Al analizar los parámetros estadísticos que proporciona SQUAD, con la desviación estándar sobre las longitudes de onda ( $\sigma_A$ ) y la suma de cuadrados (U), se tiene un valor menor al considerar la formación de dos complejos de **L** con el ion cobre (II), este resultado apoya a lo obtenido en el método gráfico, sin embargo los espectros empleados para correr SQUAD, no se mantuvo fijo el valor de pH en la solución como se puede observar en la figura 4.5



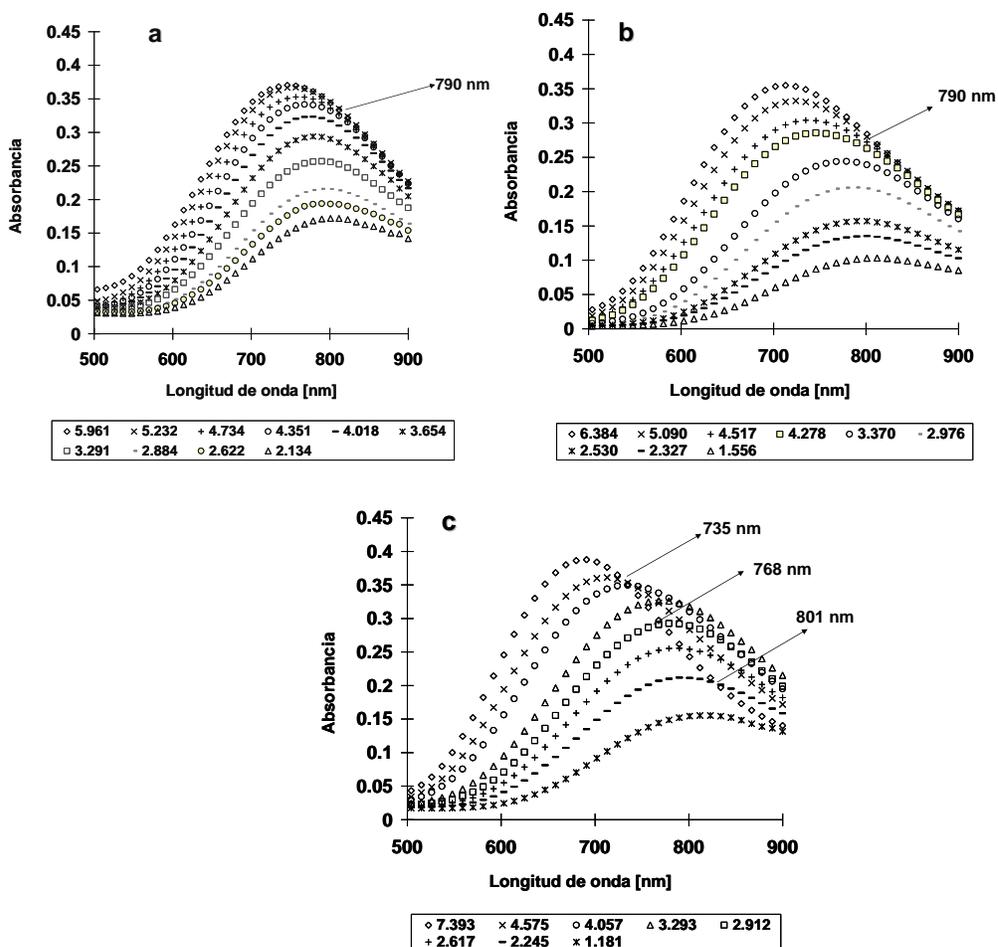
**Figura 4.5.** Espectros Vis correspondientes al estudio de relaciones molares de **L**-cobre (II), donde

X corresponde a la relación de  $\frac{[L]}{[Cu(II)]}$

El cambio en los espectros de absorción van acompañados de una variación en el valor de pH, tomando en cuenta esta interferencia en el cálculo de los valores de las constantes de formación de los complejos de **L**-Cu(II) se realizan sistemas donde se mantienen fijas las concentraciones de ambos y se va

4. Actividad quelante de la diisopropiliminodiacetoamida con el ion Cobre (II)

modificando el pH del medio. En la figura 4.6 se presentan los espectros de absorción obtenidos para este estudio.



**Figura 4.6** Espectros Vis correspondientes los sistemas: **a)**  $L$   $1.5 \times 10^{-2} M$ -Cu(II)  $9.9 \times 10^{-3} M$ , **b)**  $L$   $1.8 \times 10^{-2} M$ -Cu(II)  $9.9 \times 10^{-3} M$  y **c)**  $L$   $2.78 (10^{-2}) M$ - Cu(II)  $9.9 \times 10^{-3} M$  en función del pH.

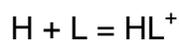
Al disminuir el valor de pH del medio los espectros del sistema  $L$ -Cu(II) presentan un comportamiento batocrómico, dicho comportamiento se presenta sin importar la relación molar presente en el sistema  $L$ -Cu(II). Con respecto a los puntos isobéuticos, estos presentan una mejor definición cuando la concentración de  $L$  se encuentra en mayor proporción con respecto a Cu(II) lo cual se puede observar en la figura 4.6c (relación 3:1), en donde se aprecia dos máximos de

absortividad, el primero localizado en 691 nm y el segundo en 735 nm además de tres puntos isobésticos. Es posible apreciar que conforme el medio registra un pH más ácido el espectro de absorción es el perteneciente al Cu(II) (figura 4.1), indicando que los complejos formados entre L-Cu(II) no son estables en medio ácido.

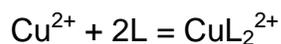
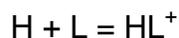
Se emplean los espectros mostrados en la figura 4.6 para ser utilizados en el programa computacional SQUAD. Con la información obtenida por las relaciones molares y de los resultados preliminares por SQUAD (TABLA 4.1). Se propone nuevamente la presencia de un solo complejo de L-Cu(II) y el correspondiente a los dos complejos.

Los modelos alimentados a SQUAD, son:

**Modelo I**



**Modelo II**



Con los nuevos juegos de espectros se realizan los cálculos para la determinación de las constantes, estos resultados se presentan en la tabla 4.2.

4. Actividad quelante de la diisopropiliminodiacetoamida con el ion Cobre (II)

**TABLA 4.2.** Resultados obtenidos por SQUAD para las constantes de formación L-Cu(II) 24 espectros en un intervalo de 500 a 900 nm con incrementos de 8 nm fueron empleados en el programa.

RELACIÓN [L] 1.5(10 <sup>-2</sup> )M-Cu(II) 9.9 (10 <sup>-3</sup> ) M	Log β ± σ-refinada	σ <sub>A</sub>	U Suma de cuadrados
<b>Modelo I</b>			
H + L → HL <sup>+</sup>	5.8*	7.83 x10 <sup>-3</sup>	4.30 x10 <sup>-2</sup>
Cu <sup>2+</sup> + L → CuL <sup>2+</sup>	4.30 ± 0.01		
<b>Modelo II</b>			
H + L → HL <sup>+</sup>	5.8*	1.69 x10 <sup>-3</sup>	1.89 x10 <sup>-3</sup>
Cu <sup>2+</sup> + L → CuL <sup>2+</sup>	4.41 ± 0.01		
Cu <sup>2+</sup> + 2L → CuL <sub>2</sub> <sup>2+</sup>	7.54 ± 0.02		
RELACIÓN [L] 1.8(10 <sup>-2</sup> )M-Cu(II) 9.9 (10 <sup>-3</sup> ) M	Log β ± σ-refinada	σ <sub>A</sub>	U Suma de cuadrados
<b>Modelo I</b>			
H + L → HL <sup>+</sup>	5.8*	1.47 x10 <sup>-2</sup>	1.43x10 <sup>-1</sup>
Cu <sup>2+</sup> + L → CuL <sup>2+</sup>	4.36±0.02		
<b>Modelo II</b>			
H + L → HL <sup>+</sup>	5.8*	3.07x10 <sup>-3</sup>	5.91x10 <sup>-3</sup>
Cu <sup>2+</sup> + L → CuL <sup>2+</sup>	4.81 ± 0.01		
Cu <sup>2+</sup> + 2L → CuL <sub>2</sub> <sup>2+</sup>	8.29 ± 0.02		
RELACIÓN [L] 2.78(10 <sup>-2</sup> )M-Cu(II) 9.9 (10 <sup>-3</sup> ) M	Log β ± σ-refinada	σ <sub>A</sub>	U Suma de cuadrados
<b>Modelo I</b>			
H + L → HL <sup>+</sup>	5.8*	2.70x10 <sup>-2</sup>	5.67x10 <sup>-1</sup>
Cu <sup>2+</sup> + L → CuL <sup>2+</sup>	4.41±0.03		
<b>Modelo II</b>			
H + L → HL <sup>+</sup>	5.8*	1.13x10 <sup>-3</sup>	9.57x10 <sup>-4</sup>
Cu <sup>2+</sup> + L → CuL <sup>2+</sup>	4.79 ± 0.002		
Cu <sup>2+</sup> + 2L → CuL <sub>2</sub> <sup>2+</sup>	8.30 ± 0.004		

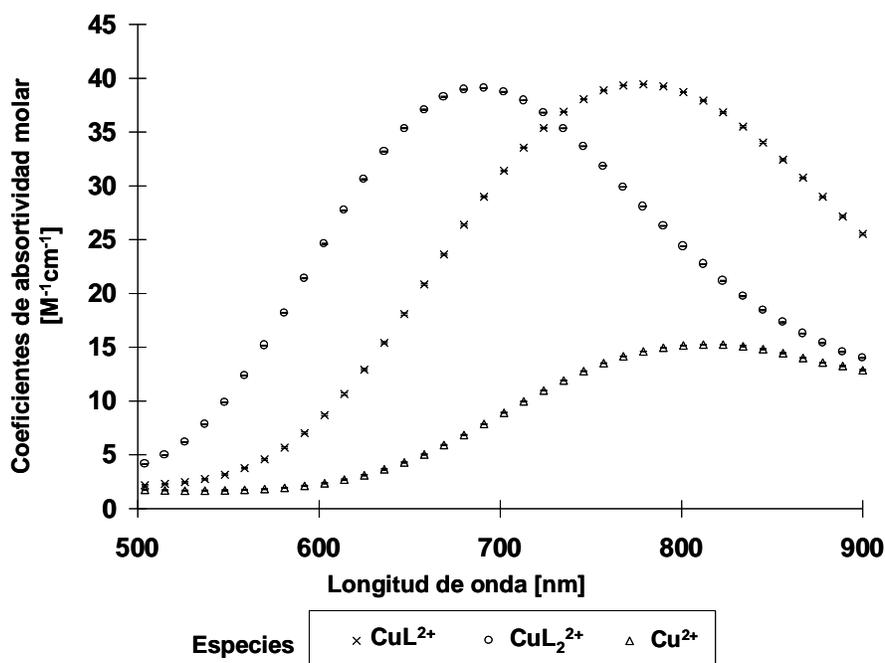
\*constante fija durante el refinamiento

#### 4. Actividad quelante de la diisopropiliminodiacetoamida con el ion Cobre (II)

El programa SQUAD refina tanto al modelo I como al modelo II, sin embargo los resultados obtenidos por SQUAD con lo que respecta a  $\sigma_A$  y  $U$  (parámetros estadísticos) presentan valores del orden de milésimas al considerar dos complejos de L-Cu (II) sobre el modelo que solo considera un complejo además están los puntos isobésticos que indican la presencia de tres especies (figura 4.6).

Los datos mejoran cuando en el sistema se asegura la relación de los dos complejos de L con el cobre (II).

Los coeficientes molares proporcionados por SQUAD se muestran en la figura 4.7.

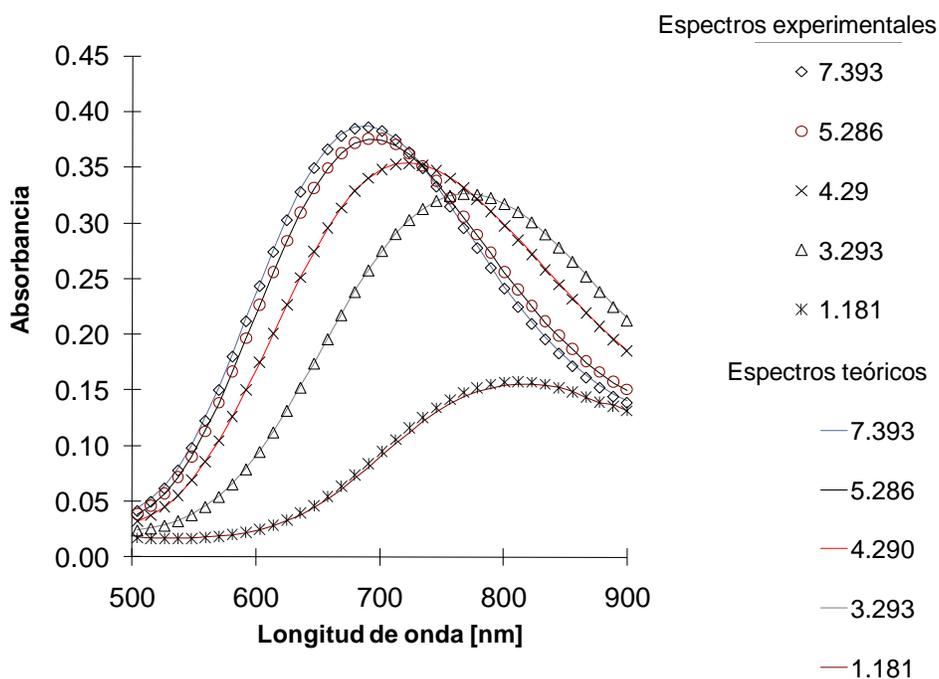


**Figura 4.7** Coeficientes de absorptividad molar del sistema L-Cu (II) en solución.

La figura 4.7 muestra las curvas correspondientes a los coeficientes de absorptividad molar de los complejos de L-Cu(II) y del  $Cu^{2+}$ , graficadas junto a las barras de error para cada punto; los valores de los errores son menores al 2 %, lo

#### 4. Actividad quelante de la diisopropiliminodiacetoamida con el ion Cobre (II)

que indica un buen ajuste realizado por el programa a los datos experimentales, esto se demuestra al utilizar los coeficientes para construir los espectros teóricos y sobreponerlos con los obtenidos experimentalmente. En la figura 4.8 se muestran algunos espectros teóricos comparados con los espectros experimentales.

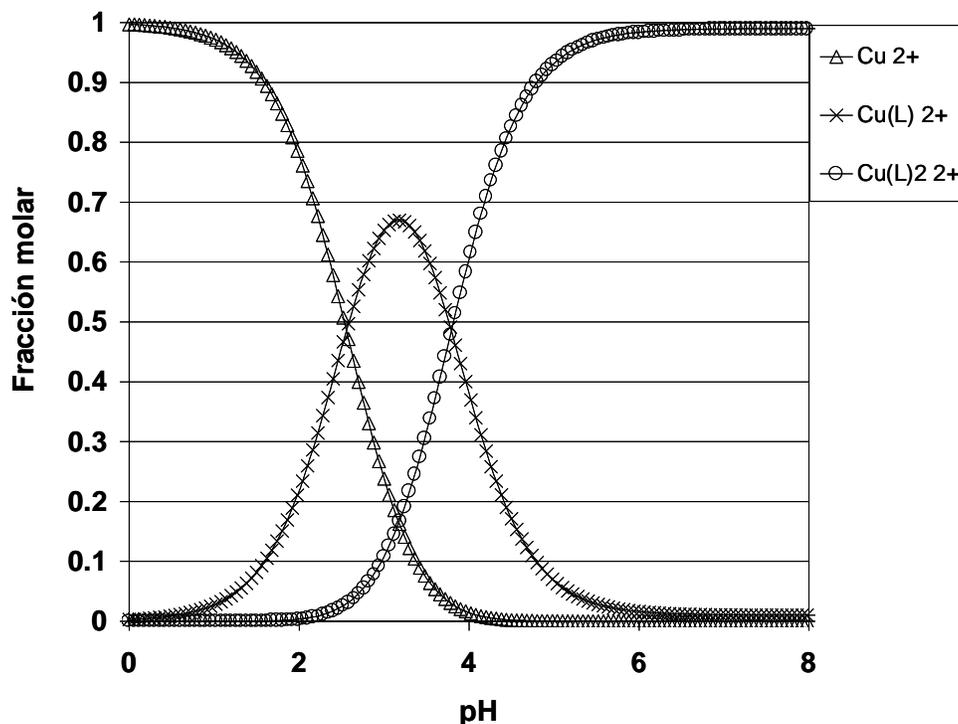


**Figura 4.8** Espectros Vis correspondientes los sistemas: a)  $L 1.5(10^{-2})M-Cu(II) 9.9 (10^{-3}) M$ . Las líneas continuas corresponden a los espectros teóricos

De todos los modelos que se pueden alimentar al programa SQUAD, el mejor es aquel que puede reproducir el comportamiento experimental obtenido, (figura 4.8), lo que apoya el modelo de dos complejos que forma la **L** con el ion cobre (II).

En la figura 4.9. se presenta el diagrama de distribución de las complejos correspondientes al sistema **L-Cu(II)**.

#### 4. Actividad quelante de la diisopropiliminodiacetoamida con el ion Cobre (II)



**Figura 4.9.** Diagrama de fracción molar para el sistema diisopropiliminodiacetoamida-Cu (II) en función del valor de pH.

Como se observa en la figura 4.9 se tiene que la especie  $\text{CuL}_2^{2+}$  tiene un amplio predominio entre los valores de pH 6 a 10, que en cuestiones de aplicaciones en el organismo podría ser utilizado (sangre pH 7.2), por ejemplo como tratamiento para la artritis.

Tanto el diagrama de la figura 4.9 como el ajuste de los resultados determinados con los experimentales, que se muestra en la figura 4.8, se obtuvieron con la ayuda del programa MEDUSA (por sus siglas en inglés, ver Anexo B).

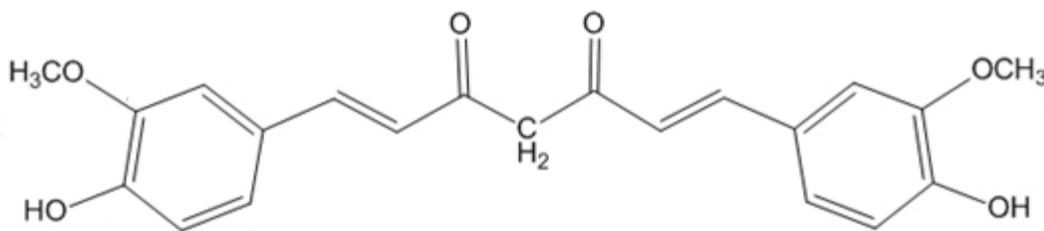
El empleo de **L** para formar complejos con iones metálicos es factible. Como queda demostrado con el Cu (II), se necesita realizar el estudio con otros iones para que quede registro de su actividad química.

## 5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la curcumina en medio acuoso

## 5.1 Introducción

La curcumina es una especie presente en tubérculos de jengibre, raíz de curcuma longa, planta perenial cultivada en todos los trópicos, especialmente India, China e Indonesia.

El nombre científico de la curcumina, cuya fórmula condensada es  $C_{21}H_{20}O_6$  y su peso molecular es igual a  $368.37 \text{ g mol}^{-1}$ , es: 1,7-bis (4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona, su estructura química se presenta a continuación:



**Figura 5.1** Estructura química de la curcumina.

La curcumina (  $C_{21}H_{20}O_6$  ) es un antioxidante natural que tiene una diversidad de aplicaciones entre las que se encuentran su empleo en la medicina como antiinflamatorio, antioxidante y anticancerígeno [27-47]; Los médicos han empleado curcumina para tratamientos inflamatorios como lo es la artritis, osteoartritis, e infecciones agudas; también para atacar daños causados por radicales libres como son problemas cardiovasculares, daños arteriales y enfermedades del corazón, en el tratamiento de cáncer certero, para prevenir tumores, habilidad para retardar algunos procesos del virus del HIV [48-49]. La curcumina ha sido seleccionada como un posible inhibidor del HIV-1PR por tres razones:

5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la de la curcumina en medio acuoso

- 1) En algunos modelos estudiados la estructura de la curcumina se ajusta bien dentro de los sitios potenciales de la estructura cristalina del HIV-1PR3
- 2) La curcumina es relativamente no tóxica, y
- 3) Por su actividad antiinflamatoria esta lista para absorberse.

Así mismo se ha utilizado en enfermedades del hígado, ingestión, enfermedades en el tracto urinario [50], purificación de la sangre, desórdenes dermatólogos, preventivo arterosclerótico. La curcumina ha demostrado la habilidad para disminuir niveles de colesterol total y colesterol LDL en suero [51-52], y a incrementar el colesterol benéfico HDL, de igual manera la curcumina baja significativamente los niveles de peroxidación de lípidos, se ha observado que también presenta impactos positivos contra úlceras, endurecimientos de las arterias y en defensa de las bacterias gastrointestinales.

También es empleada como colorante, marcador biológico, colorante alimenticio, indicador ácido-base, indicador para boro [48, 53-57] y saborizante alimenticio (polvos de curry en los cuales ésta no sólo imparte o concede un color amarillo intenso sino adiciona un sabor picante y distintivo).

Toxicológicamente es relativamente inerte ya que no se ha encontrado daño en humanos y animales, pero es tóxico para algunas bacterias y hongos en altas concentraciones [58-59]. En la parte analítica se emplea para la detección de metales alcalinos tales como: Berilio, Magnesio, etc. [12, 39, 60-61].

Entre las principales características fisicoquímicas que presenta la curcumina tenemos:

1. Un color anaranjado-amarillento
2. Gravedad específica: 0.9348

5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la de la curcumina en medio acuoso

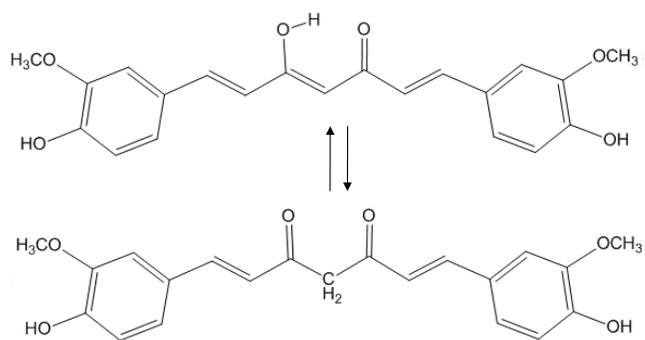
3. Densidad 0.93 g/mL

4. Solubilidades:

- a) Agua: ligeramente soluble (caliente), aunque complejos metálicos con estaño o zinc son solubles
- b) 95% EtOH : soluble
- c) Acetona: ligeramente soluble
- d) Ácido acético glacial: soluble
- e) Alcalis: soluble, proporciona un color rojo oscuro, en ácidos proporciona un color amarillo claro.
- f) Éter: soluble

5. Reactividad: este compuesto puede reaccionar con materiales oxidantes.

Las propiedades que se le han atribuido a la curcumina van ligadas a la estructura química que presenta en el medio en el cual se esté empleando, la cual puede ser una estructura en un equilibrio ceto-enol ó encontrarse en su estructura totalmente ceto (figura 5.2.).



**Figura 5.2.** Equilibrio ceto-enol de la molécula de curcumina.

## 5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la de la curcumina en medio acuoso

Las soluciones de curcumina son bastante coloridas, lo que ha permitido realizar una amplia de estudios espectrofotométricos para su caracterización.

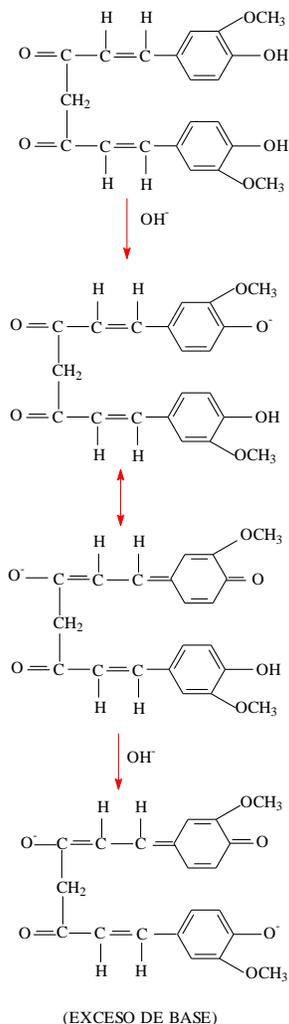
El comportamiento espectrofotométrico típico UV-VIS reportado para la curcumina es la presencia de un máximo de absorción localizado entre 420-430 nm que dependerá del disolvente empleado. En la tabla 5.1 se presenta la variación que muestra la principal banda de absorción en función del medio empleado [4].

**Tabla 5.1. Máximos de absorción de la curcumina dependientes del disolvente.**

<b>MEDIO</b>	<b><math>\lambda_{\max}</math> [nm]</b>
Acetonitrilo	422
Tolueno	420
Etanol	430
SDS (0.1 M)	432
Triton X-100	428

Se ha determinado que las energías de transición electrónica calculadas para la curcumina neutra son  $\lambda_{\max} (n \rightarrow \pi^*) = 430$  nm y  $\lambda_{\max} (\pi \rightarrow \pi^*) = 261.5$  nm y correlacionan bien con los valores experimentales de 420-430 nm y 265 nm, respectivamente de acuerdo a los datos teóricos obtenidos por Balasubramanian [68]. Balasubramanian propone la obtención del anión de la curcumina en medios básicos, la desprotonación de los grupos OH en la estructura y el movimiento electrónico para la formación de una estructura quinoide, esta estructura es la responsable de la coloración roja de las soluciones de curcumina en medio básico (figura 5.3).

## 5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la de la curcumina en medio acuoso



**Figura 5.3.** Propuesta del mecanismo de desprotonación de la curcumina en medio alcalino [68].

Los valores calculados teóricamente para las transiciones  $n \rightarrow \pi^*$  y  $\pi \rightarrow \pi^*$  son 483 y 343 nm, respectivamente [62].

Sin embargo, el estudio de la curcumina en medios acuosos causa algunos problemas con el manejo de sus soluciones, debido a la baja solubilidad que presenta en agua o en medios neutros, lo que ha llevado a la búsqueda de alternativas que ayuden a su solubilidad y estabilidad. Entre los que se pueden mencionar está la interacción con algún agente químico como sería un ion metálico, un agente tensoactivo ó ciclodextrinas [63-64].

## 5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la de la curcumina en medio acuoso

Debido a la gran aplicación que tiene la curcumina en procesos bioquímicos y que éstos dependen del pH del medio, uno de los objetivos de este trabajo fue encontrar las condiciones propicias para la determinación de las constantes de acidez de la curcumina en medio acuoso, mediante el uso de técnicas espectrofotométricas UV-VIS y el uso de métodos gráficos y computaciones para el tratamiento de los datos.

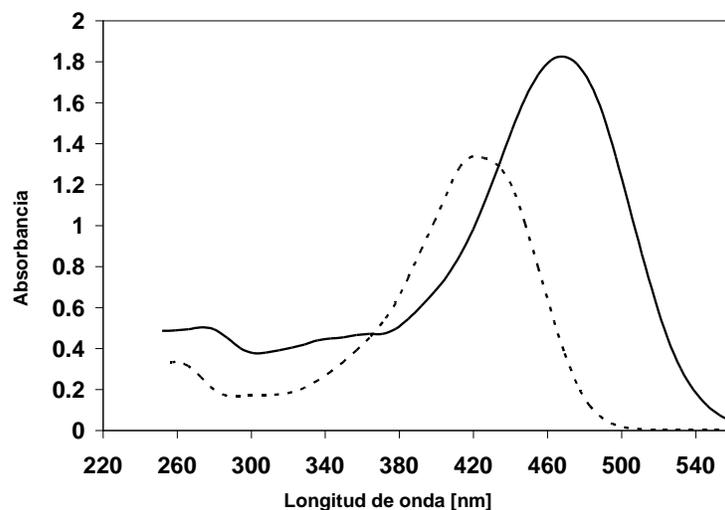
### **5.2. Parte experimental**

La primera parte primera del estudio busca encontrar las condiciones experimentales que permitan realizar la determinación de las constantes de equilibrio, para lo cual se preparan soluciones de curcumina en medio básico, empleando soluciones de NaOH libres de carbonatos. Las soluciones de curcumina se protegieron de la luz y el pH del medio se cambió mediante soluciones de HCl. Todas las soluciones son preparadas al momento de realizar cada uno de los estudios.

### **5.3. Comportamiento espectrofotométrico en medio acuoso de la curcumina**

Teniendo como base la información teórica realizada para describir el comportamiento espectroscópico de la curcumina, se registra el comportamiento UV-VIS de la curcumina bajo las condiciones de estudio de este trabajo. En la figura 5.4 se muestran los espectros de la curcumina en medio ácido y en media básico obtenidos experimentalmente.

## 5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la de la curcumina en medio acuoso



**Figura 5.4.** Espectros UV-Vis de la curcumina a) Línea continua medio básico en agua. b) Línea discontinua en ácido acético glacial.

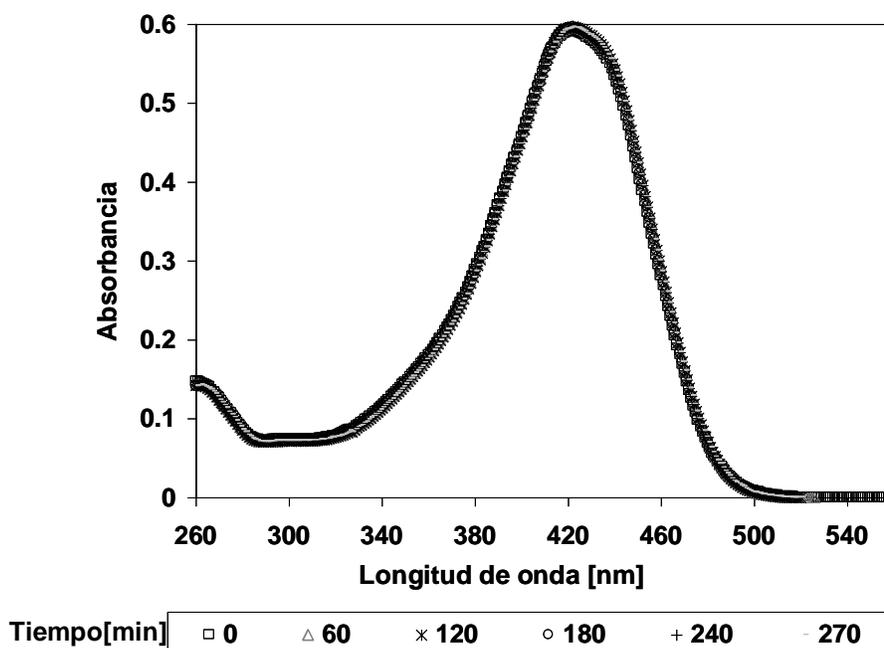
Como se puede observar en la figura 5.4 se muestran los espectros UV-VIS del comportamiento típico de la curcumina en ácido acético glacial y en solución acuosa básica. El máximo de absorción en medio ácido se presenta en un longitud de onda en 422 nm (figura 5.4.a) y en medio básico de 469 nm (figura 5.4.b). La dificultad del estudio de la curcumina en solución acuosa es el lento proceso de descomposición que presenta (aunque la lentitud del proceso ayuda a alcanzar un estado estacionario para la determinación de parámetros termodinámicos).

Como el objetivo de este trabajo es determinar las constantes de equilibrio de la curcumina en medio acuoso, lo primero es encontrar las condiciones experimentales que permita obtener datos que se puedan ser utilizados para establecer las constantes de acidez de la curcumina.

#### 5.4. Estudio cinético por espectrofotometría

La curcumina en ácido acético glacial no presenta cambios en la banda principal de absorción en función del tiempo, esto se puede observar en la figura

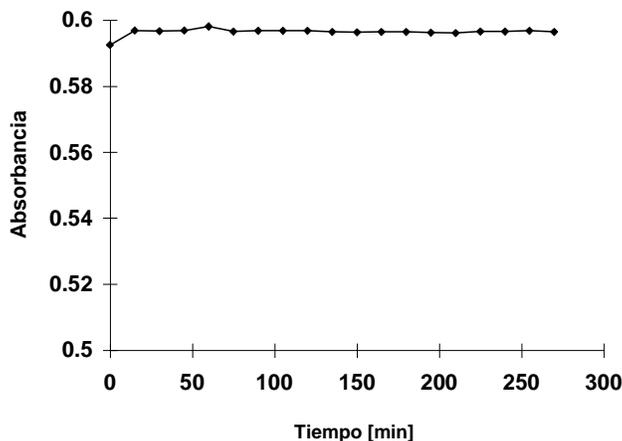
5.5



**Figura 5.5.** Espectros UV-VIS de la *curcumina* [ $1.57 \times 10^{-5}$  M] en ácido acético dependientes del tiempo.

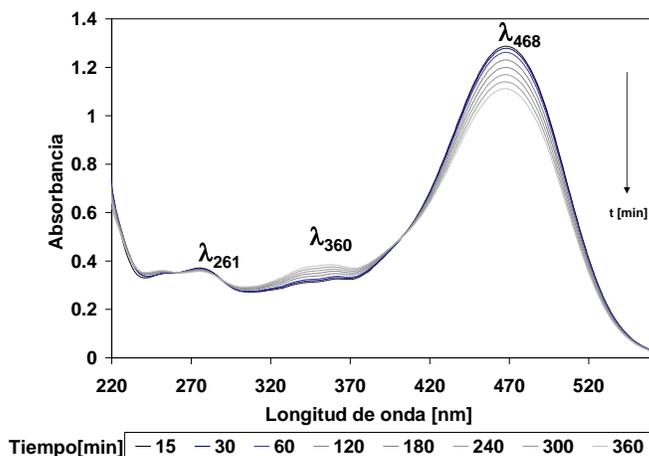
Como se observa en la figura 5.5, el espectro de la curcumina  $1.57 \times 10^{-5}$  M en ácido acético glacial presenta un máximo para una  $\lambda_{\max}$  de 422 nm, con una absorbancia de 0.59, una explicación sobre este comportamiento se basa en la estructura química de la curcumina (figura 5.1) la cual presenta hidrógenos ácidos y al encontrarse en un medio ácido no se altera su estructura y permanece constante, al graficar la absorbancia en función de tiempo se tiene como resultante una recta (figura 5.6).

5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la de la curcumina en medio acuoso



**Figura 5.6.** Espectros UV-VIS de la curcumina [ $1.57 \times 10^{-5}$  M] en ácido acético dependientes del tiempo.

Al realizar los registros de los espectros de la curcumina en medio básico se obtiene un comportamiento diferente al presentado en ácido acético glacial (figura 5.7.)



**Figura 5.7.** Espectros UV-VIS de la curcumina [ $8.14 \times 10^{-5}$  M] en NaOH 0.5 M dependientes del tiempo.

La figura 5.7 muestra el comportamiento espectrofotométrico de la curcumina en medio alcalino, donde se observan tres máximos de absorción, el primero y siendo la banda principal en una  $\lambda_{\max}$  de 468 nm, el segundo en  $\lambda_{\max}$  de 360 nm y el tercero en  $\lambda_{\max}$  de 261 nm, la banda principal en 468 nm tiene una

## 5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la de la curcumina en medio acuoso

disminución en su absorbancia con respecto al tiempo, mientras que las otras dos bandas presentan un pequeño aumento.

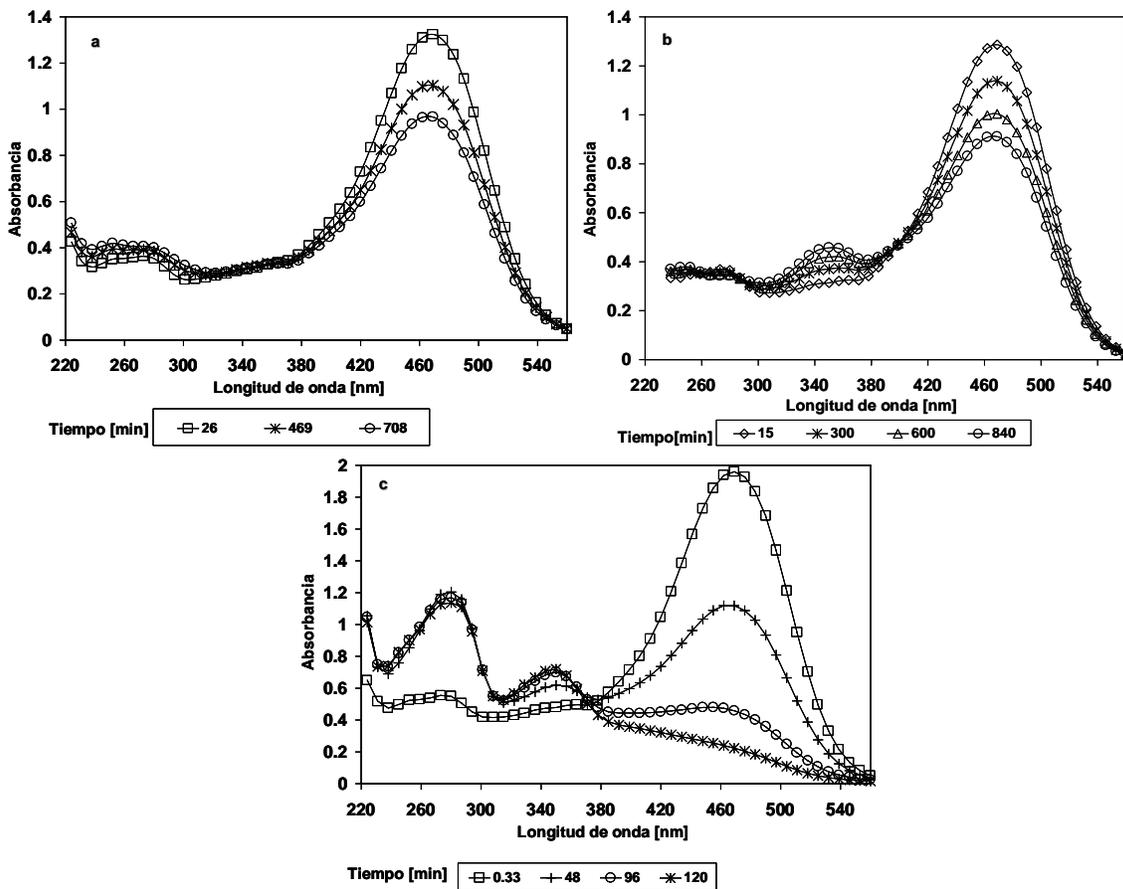
Como el objetivo es estudiar las especies de curcumina en medio acuoso, se analiza el comportamiento cinético partiendo de un medio básico. El estudio cinético de la curcumina se sigue en sistemas básicos a diferentes concentraciones de OH<sup>-</sup>; la curcumina se disuelve en soluciones de NaOH imponiendo un pH básico al sistema, con lo que se pretende formar la especie totalmente desprotonada; lo que al parecer favorece la formación de sistemas quinoides (figura 5.3.) proporcionando así la coloración roja característica del sistema [62]. El pH del medio es impuesto por el NaOH, el intervalo de pH de trabajo fue de 13.5 a 10, los espectros UV-VIS resultantes se presentan en al figura 5.7.

Una característica común es el efecto hipocrómico de las soluciones en función del tiempo (figura 5.7), sin embargo la velocidad con la que disminuye la absorbancia de los sistemas depende de la concentración de [OH<sup>-</sup>] (figura 5.8). El gráfico de absorbancia en función del tiempo se presenta en la figura 5.9.

En la figura 5.9 se observa que los datos de velocidad de desaparición de la curcumina ( $r = \frac{-d[\text{curcu min } a]}{dt}$ ) se ajustan a un modelo de pseudo orden cero. Además se tiene una ventana de trabajo de 4 horas, utilizando soluciones de NaOH 0.005 M donde el factor cinético afecta poco a las especies de la curcumina en medio acuoso. Considerando lo anterior, se decidió preparar sistemas de curcumina en NaOH 0.005M y la modificación del valor de pH en el sistema se realiza con la adición de soluciones de HCl para lograr tener el comportamiento

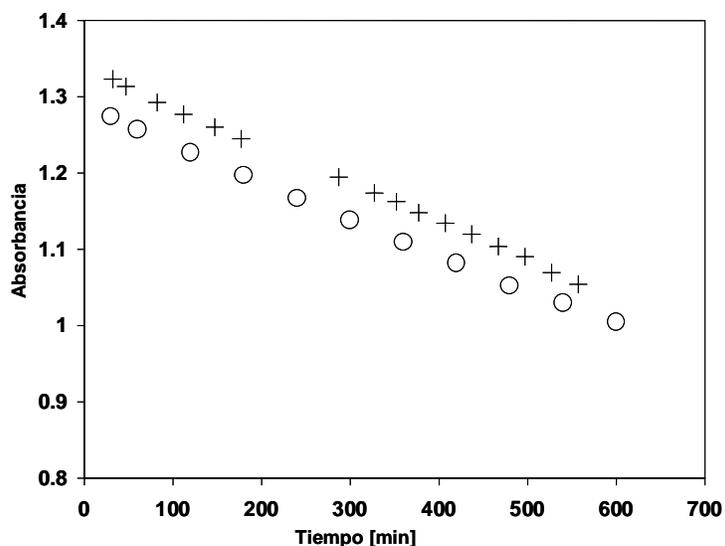
5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la de la curcumina en medio acuoso

acido-base de la curcumina a lo largo de la escala de pH y determinar sus constantes de acidez.



**Figura 5.8.** Espectros UV-VIS de la curcumina dependientes del tiempo. a)  $2.8 \times 10^{-5}$  M en NaOH  $7.02 \times 10^{-3}$  M, b)  $8.14 \times 10^{-5}$  M en NaOH 0.5 M, c)  $4.99 \times 10^{-5}$  M en NaOH 0.09 M.  $\lambda =$

## 5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la de la curcumina en medio acuoso



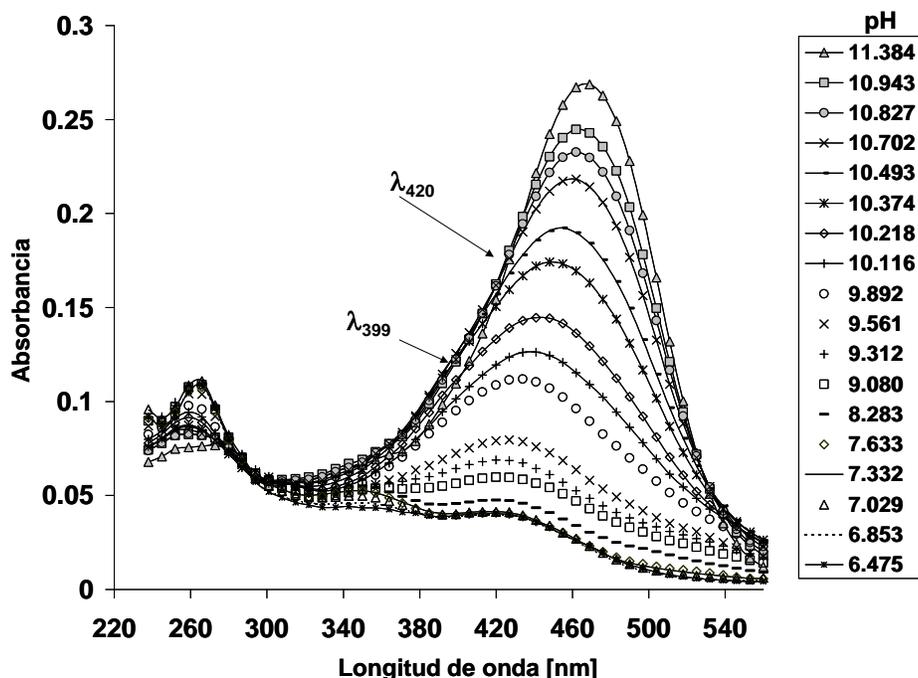
**Figura 5.9.** Representación gráfica de absorbanza en función del tiempo para una cinética de pseudo-orden cero, ( o ) sistema a pH de  $12.9 \pm 0.1$  y ( + ) sistema a pH de  $11.7 \pm 0.1$ .  $\lambda_{\max}$  de 468 nm

### 5.5. Determinación de las constantes de acidez para la curcumina.

#### 5.5.1 Método gráfico

Se utilizaron diferentes soluciones de curcumina en un intervalo de concentración de  $8 \times 10^{-6}$  M a  $2 \times 10^{-5}$  M, a las cuales se les modificó el pH mediante la adición de HCl. Los espectros de absorción obtenidos a diferentes valores de pH se presentan en la figura 5.10, para una concentración de curcumina  $8 \times 10^{-6}$  M.

5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la de la curcumina en medio acuoso



**Figura 5.10.** Espectros UV-VIS típicos de la curcumina [ $8 \times 10^{-6}$  M] en NaOH [ $5 \times 10^{-3}$  M] en función de pH. Los espectros obtenidos para otras concentraciones menores de curcumina es similar.

La figura 5.10 muestra un ligero desplazamiento hipsocrómico en la banda principal de absorbancia (468 nm) además de puntos isosbéticos (399 nm y 420 nm).

Para conocer el número de especies involucradas en el sistema primero se utilizó el método gráfico consistente en obtener curvas de absorbancia como función de pH del sistema. Si solamente se tiene un equilibrio ácido-base en el sistema  $HX = X^- + H^+$  con un valor de  $K_A$ , se obtendría una curva sigmoide típica con un punto de inflexión [65]; en caso contrario el comportamiento observado será más complicado.

Los gráficos correspondientes al estudio de la curcumina se muestran en la figura 5.11.

5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la de la curcumina en medio acuoso

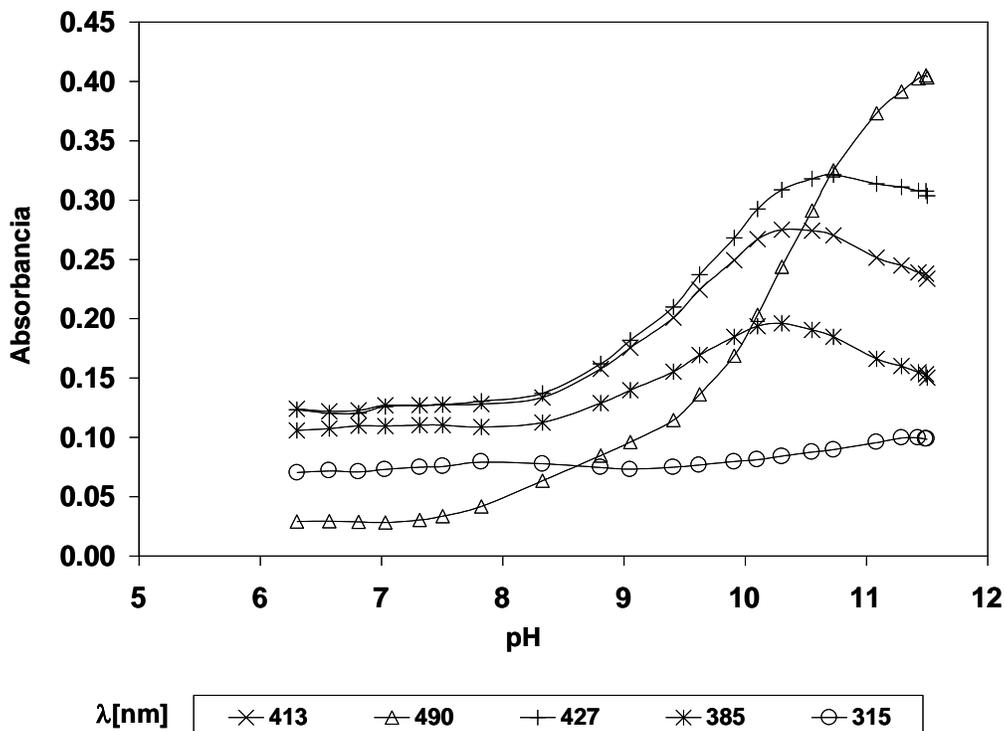
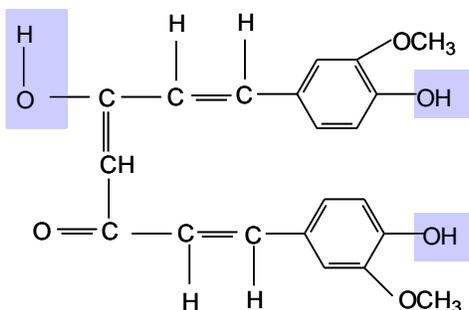


Figura 5.11. Espectros de absorbancia en función del pH a diferentes longitudes de onda en nm.

En la figura 5.11 se observan varios puntos de inflexión en valores de pH cercanos a 10 y a 8 aproximadamente, lo que indica la existencia de dos o tres equilibrios ácido-base. Con base en la estructura de la curcumina en su forma enol se pueden identificar tres protones con características ácidas:

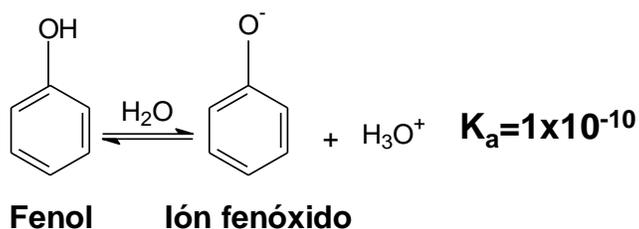


Esta estructura enol de la curcumina en medios muy básicos pierde sus tres protones.

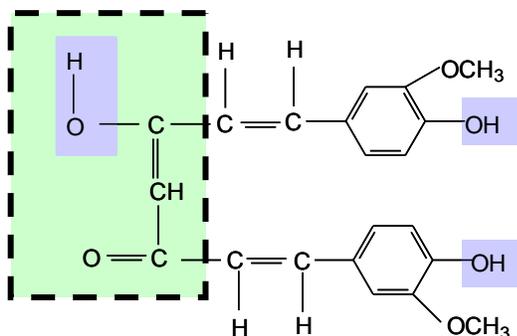
5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la de la curcumina en medio acuoso

Las curvas de absorbancia vs pH muestra puntos de inflexión en un intervalos de valores de 8 a 10 (figura 5.11).

Los hidrógenos ácidos de la curcumina se encuentran en dos principales zonas de su estructura química. La primera zona es en el grupo fenol, el cual presenta un equilibrio de ionización para la generación del ion fenóxido que se asocia a una constante de acidez [66]:

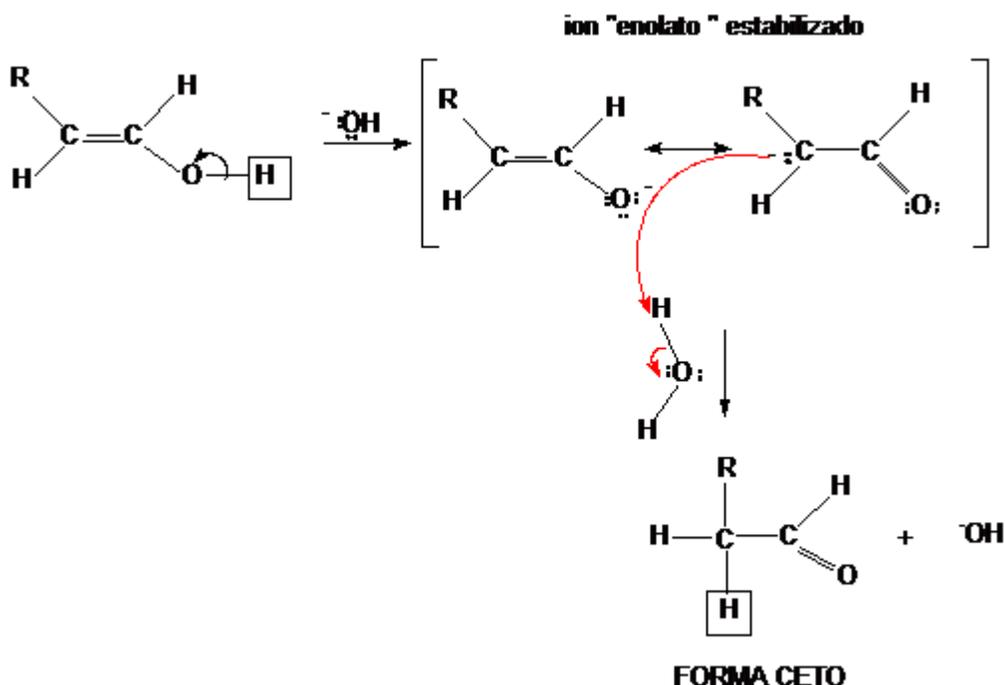


La segunda zona donde se encuentra un protón ácido es en el equilibrio ceto-enol de la curcumina:

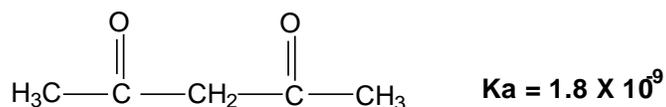


bajo condiciones básicas, el enol pierde el protón del hidróxilo, y después lo recupera en el átomo de carbono adyacente tal como se muestra a continuación:

5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la de la curcumina en medio acuoso



Esta estructura tiene una semejanza con la estructura química de la acetilacetona, que además tiene asociada una constante de acidez asociada [67], la estructura química de la acetilacetona es la siguiente:



**Acetilacetona**

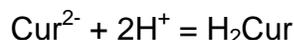
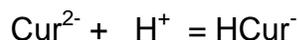
Por estas semejanzas que presenta la estructura de la curcumina con la acetilacetona y el fenol (recordar que son dos fenoles equivalentes), en base a esto se pueden proponer tres equilibrios acido-base, dos tendrían su  $pK_a$  muy cercanos al  $pK_a$  del equilibrio del fenol, y uno más tendría un valor cercano al de la acetilacetona. El siguiente paso es realizar la determinación de las constantes de acidez de la curcumina, para lo cual se emplea un programa computacional que utiliza espectros de absorción.

### 5.5.2 Método computacional

El programa computacional que se emplea para esta parte del trabajo es SQUAD [68-70], el cual trabaja empleando datos de absorbancia. Tomando en cuenta los resultados obtenidos en la parte del análisis de método gráfico, se proponen dos modelos al programa computacional SQUAD, tomando en cuenta sólo dos protonaciones y, posteriormente, considerando los tres protones (forma enol) de la curcumina.

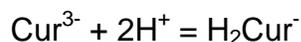
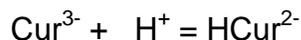
El modelo I considera la forma ceto de la curcumina, tomando en cuenta solo dos hidrógenos ácidos, siendo  $H_2Cur$  la fórmula condensada de la curcumina para esta forma.

#### Modelo I



El modelo II considera la forma enol de la curcumina, tomando en cuenta tres hidrógenos ácidos, la fórmula condensada para esta forma es la de  $H_3Cur$

#### Modelo II



El programa SQUAD es alimentado por los espectros obtenidos al realizar el estudio de gráfico (figura 5.10). Los resultados obtenidos por SQUAD se muestran en la tabla 5.1.

5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la de la curcumina en medio acuoso

**Tabla 5.1. Resultados obtenidos por SQUAD de las constantes globales de acidez para la curcumina en solución. 22 espectros en un intervalo de 560 a 238 nm con incrementos de 7 nm fueron empleados en el programa**

Modelo	Equilibrio	U (Suma de cuadrados)	Log $\beta$ -refinado $\pm \sigma$	$\sigma_A$
I	$H^+ + Cur^{2-} = HCur^-$	$1.03 \times 10^{-2}$	$10.55 \pm 0.02$	$2.88 \times 10^{-3}$
	$2H^+ + Cur^{2-} = H_2Cur$		$20.81 \pm 0.03$	
II	$H^+ + Cur^{3-} = HCur^{2-}$	$4.57 \times 10^{-3}$	$10.51 \pm 0.01$	$2.27 \times 10^{-3}$
	$2H^+ + Cur^{3-} = H_2Cur^-$		$20.39 \pm 0.02$	
	$3H^+ + Cur^{3-} = H_3Cur$		$28.77 \pm 0.04$	

Como se puede observar en la tabla 5.1, los mejores datos estadísticos se obtienen al incorporar el tercer equilibrio ácido-base al modelo, al comparar la U y la  $\sigma_A$  entre ambos modelos se tiene una valores menores en el modelo II indicando un mejor ajuste con los datos experimentales proporcionados.

El modelo II justifica bien la presencia de los tres equilibrios ácido-base de la curcumina y refuerza lo obtenido por el método gráfico, aunque al analizar los juegos de espectros no sea tan evidente, lo cual podría atribuirse a que dos de los valores que se están asignado pertenezcan a los fenoles de la estructura y lo que ocasionaría es que se tengan valores muy cercanos que dificulta el análisis espectrofotométrico del  $pK_{A2}$ , por lo que los incrementos de pH estudiados deben ser muy pequeños en el intervalo de pH de 9 a 11.

5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la de la curcumina en medio acuoso

Uno de los autores que han reportado valores de  $pK_A$  para la curcumina es Jovanovic *et al.* [30], los valores obtenidos por Jovanovic se basan también en la propiedad espectral de la curcumina, por lo tanto se comparan con los resultados obtenidos por el programa SQUAD en este trabajo (tabla 5.2).

**Tabla 5.2. La comparación entre los valores de  $pK_a$  reportados por Jovanovic et al [41] y los obtenidos en este trabajo usando SQUAD.**

<b>Equilibrio<sup>1</sup></b>	<b>Reportados por Jovanovic <i>et al.</i></b>	<b>Obtenidos por SQUAD</b>
$H_{Cur} = H^+ + Cur$	$10.41 \pm 0.05$	$10.51 \pm 0.01$
$H_2Cur = H^+ + H_{Cur}$	$8.55 \pm 0.05$	$9.88 \pm 0.02$
$H_3Cur = H^+ + H_2Cur$		$8.38 \pm 0.04$

<sup>1</sup> La carga eléctrica de las especies de la curcumina son omitidas por simplicidad.

Comparando los resultados de Jovanovic *et al.* [41], se observa que los valores que corresponden a los  $pK_{A1}$  en ambos trabajos son muy semejantes, pero no es así con el  $pK_{A2}$ . El  $pK_{A2}$  reportado por dichos autores puede entenderse como un promedio entre los valores del  $pK_{A2}$  y el  $pK_{A3}$  obtenidos en el presente trabajo, empleando el modelo II.

Otro paquete computacional es empleado también empleado para calcular las especies acido-base de la curcumina en medio acuoso. El programa ACD/pKa DB versión 5.0 de la Advanced Chemical Development Inc (anexo B). Este programa puede realizar el cálculo de la forma ceto y enol de la curcumina por separado, comparando la estructura de la curcumina con su base de datos teóricos.

5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la de la curcumina en medio acuoso

Se comparan los datos obtenidos por el programa ACD/pKa DB y los obtenidos experimentalmente en este trabajo en la tabla 5.3.

**Tabla 5.3. Valores obtenidos de  $pK_A$  por el programa ACD/pKa DB y valores de  $pK_A$  obtenidos con SQUAD.**

Equilibrio	ACD/pKa DB		SQUAD
	Forma ceto	Forma enol	
$HCur^{2-} = H^+ + Cur^{3-}$	$10.24 \pm 0.20$	$10.10 \pm 0.20$	$10.51 \pm 0.01$
$H_2Cur^- = H^+ + HCur^{2-}$	$9.64 \pm 0.20$	$9.75 \pm 0.20$	$9.88 \pm 0.02$
$H_3Cur = H^+ + H_2Cur^-$	$8.38 \pm 0.20$	$8.34 \pm 0.50$	$8.38 \pm 0.04$

Los resultados obtenidos por el programa ACD/pKa DB presentan valores semejantes a los obtenidos por SQUAD, existiendo una variación entre los valores de los primeros dos equilibrios de aproximadamente 0.24 y de 0.04 para el tercer equilibrio con respecto a los resultados obtenidos experimentalmente por medio SQUAD del modelo II para la curcumina.

Para la determinación de los tres valores de  $pK_A$  para la curcumina siguiendo los cambios de los espectros UV-VIS, se debe considerar que los valores de  $pK_{A2}$  y  $pK_{A3}$  se encuentran muy cercanos, y esto se debe a gran medida a la simetría que presenta la molécula.

Son tan cercanos los valores de  $K_A$  de las especies mono ( $HCur^{2-}$ ) y di protonada ( $H_2Cur^-$ ) que al realizar el estudio espectrofotométrico otros autores sólo reportan dos valores de pH en el cambio de los espectros [41].

5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la de la curcumina en medio acuoso

Para tener la evidencia experimental del tercer valor de pKa de la curcumina es necesario realizar mediciones minuciosas en el intervalo de pH que considere los valores de  $pK_{A1}$  y  $pK_{A2}$ .

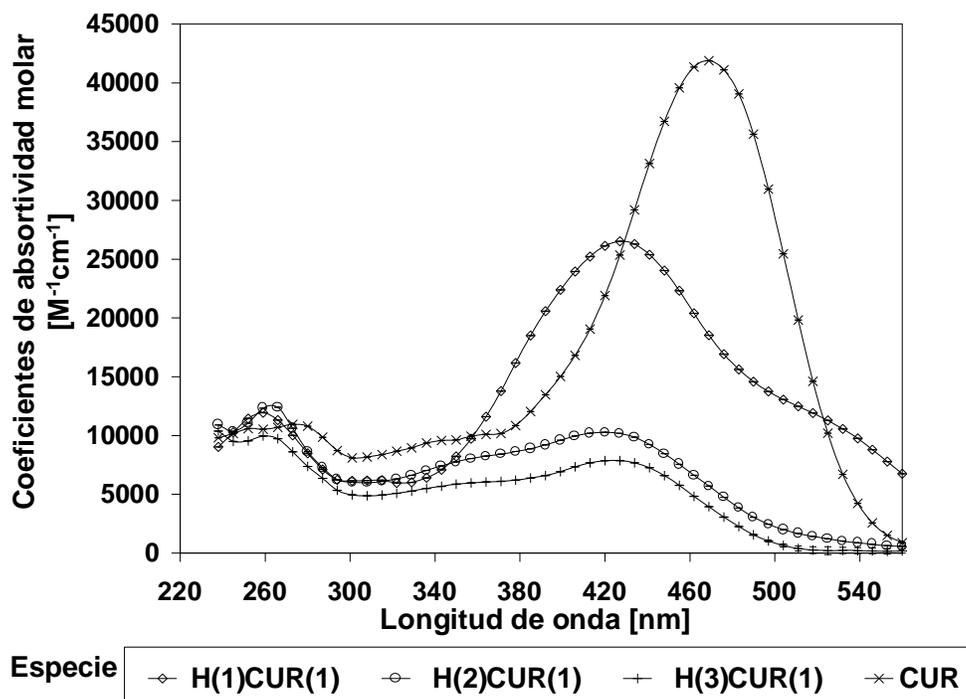


Figura 5.12. Coeficientes de absorptividad molar para las especies de *curcumina* en medio acuoso.

Otra información que proporciona SQUAD son los valores de los coeficientes de absorptividad molar de las especies refinadas en el estudio. La figura 5.12. muestra el gráfico correspondiente a los coeficientes de absorptividad de las especies de curcumina con sus barras de error (desviaciones estándar porcentuales menores o iguales al 12%), lo que indica una buena convergencia del programa SQUAD al los datos experimentales.

La especie con un alto coeficiente de absorptividad molar con máximo principal en 466 nm corresponde al ion curcuminato  $[Cur^{3-}]$ , como se observa en la

5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la de la curcumina en medio acuoso

figura 5.12, al protonarse la curcumina en general se provoca un decremento en los coeficientes de absorción de las otras especies, además de un desplazamiento hipsocrómico de las bandas de absorción, indicando la desaparición de la estructura quinoide del sistema.

Una vez obtenidos los coeficientes de absorción es posible realizar el cálculo de la constante de velocidad de desaparición de la especie predominante en el sistema a las condiciones de trabajo impuestas.

Empleando la siguiente ecuación:

$$\left( r = \frac{-d[Cur']}{dt} \right)$$

donde [Cur'] es la especie presente a las condiciones de estudio y en base a las constantes proporcionadas por SQUAD tenemos las fracciones molares de cada especie de curcumina en función del valor de pH presentadas en la figura 5.13.

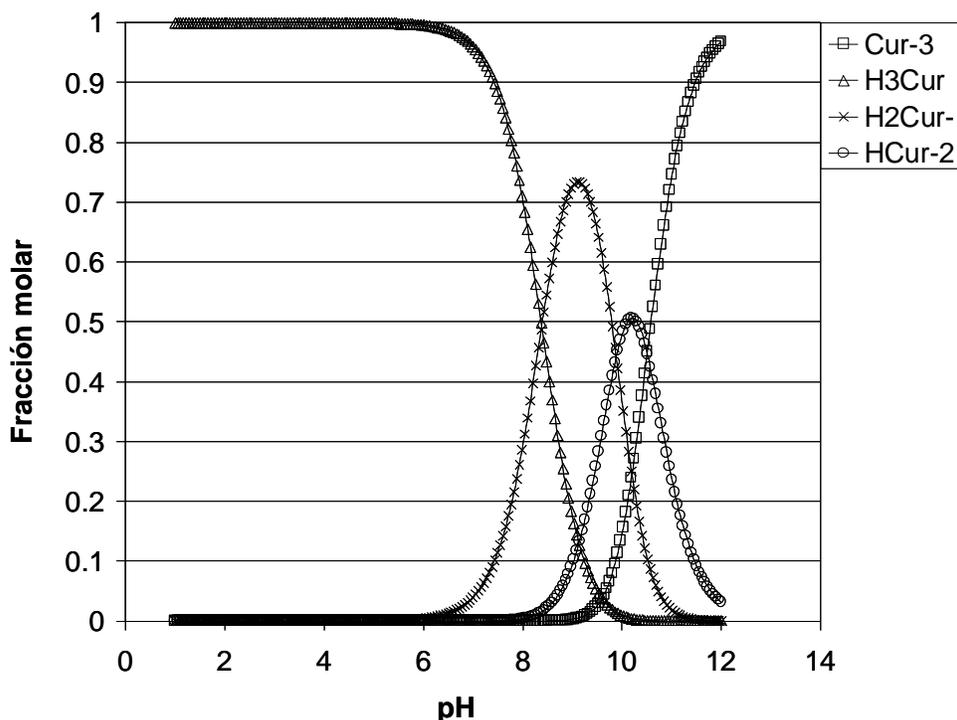


Figura 5.13. Diagrama de fracción molar para el sistema de curcumina en función del valor de pH.

## 5. Especiación y cálculo de las constantes de acidez de la de la curcumina en medio acuoso

Si consideramos que la curcumina se comporta bajo un modelo de pseudo orden cero, y que la expresión de la velocidad para este caso es  $-\frac{dCur'}{dt} = k'$ , integrando la ecuación se tiene que  $kt = [Cur'] - [Cur'_0]$ , la pendiente en este caso es igual al inverso aditivo de la constante de velocidad  $k'$  dividida por el coeficiente de absorción de la especie de curcumina predominante en el sistema ( $Cur^{3-}$ ), lo que proporciona una ventana de trabajo donde se puede estudiar a la curcumina sin que el factor cinético sea determinante en la especies presentes en el sistema. El valor de la constante de desaparición obtenido para la especie  $Cur^{3-}$  es igual a:  $1.39 \times 10^{-9} \text{ M min}^{-1}$ .

Una vez teniendo las condiciones óptimas de trabajo para la curcumina, el paso siguiente es calcular los valores de las constantes de formación con el Fe, ya que la actividad antioxidante de la curcumina puede estar ligada a la interacción química que presenta con Fe en el organismo.

6. DETERMINACIÓN DE LAS CONSTANTES  
CORRESPONDIENTES A LOS COMPLEJOS

CURCUMINA-Fe(III)-AGUA

Y

CURCUMINA-Fe(II)-AGUA.

### 6.1. Introducción

Los diversos procesos bioquímicos involucran una diversidad de compuestos orgánicos que realizan interacciones químicas con metaloelementos (Cu, Fe y Mn) [71-74]. Una de las funciones de la acción quelante se ha dado en la propiedad de actuar como compuestos antioxidantes, los cuales desempeñan un papel importante en varios daños biológicos (gastritis, úlceras intestinales, etc.).

Los daños ocasionados por productos de oxidaciones a las células se piensa es el factor que desencadena diversas enfermedades y el envejecimiento de éstas. Los culpables son radicales libres o especies reactivas del oxígeno, ion hidroxilo y del nitrógeno. Los radicales libres naturalmente se presentan por su participación en diferentes procesos biológicos tales como los procesos de inmunidad, inflamación, crecimiento y reparación, aunque también se ha estudiado el efecto negativo que los radicales libres ocasionan, por ejemplo cuando dañan las proteínas, los lípidos y los ácidos nucleicos, sin embargo se mantienen normalmente en equilibrio en sistemas biológicos por los mecanismos de defensa antioxidantes naturales. El aumento de la concentración de los radicales libres en el organismo se atribuye a la exposición a diversos agentes externos, entre los cuales se pueden mencionar a los daños ambientales, las infecciones, tabaquismo, la radiación y la luz del sol.

De manera natural el organismo puede evitar un incremento de radicales libres y realizar así una protección contra estos desordenes fisiológicos. Las explicaciones alrededor de cómo logra ese mecanismo de defensa ha llevado a varios autores a explicar el proceso mediante la quelación de algunos compuestos antiinflamatorios con el ion Fe(III) [75].

6. Determinación de las constantes correspondientes a los complejos curcumina-Fe(III)-agua y curcumina-Fe(II)-agua

Ese proceso de quelación ha sido de interés científico y ha llevado al estudio de diversos ligandos orgánicos que forman complejos con iones de hierro. Entre los ligandos que se han estudiado y demostrado su capacidad antioxidante se puede mencionar a la curcumina.

La importancia de estudiar la interacción química entre la curcumina y el hierro, radica en la actividad antioxidante de la curcumina sobre los diversos radicales libres biológicos relevantes que se producen durante procesos fisiológicos [31], además de participar en la cascada oxidativa, y de inhibir la oxidación de ciertos iones metálicos [76-80].

La importancia del hierro para la vida se debe a que participa en procesos tales como la transferencia del transporte de oxígeno y la síntesis del ADN, entre otros, además de jugar un papel importante en el consumo humano se tiene que la desferroxiamina es el único agente quelante empleado para uso clínico, debido a su baja absorción gastrointestinal; esto hace aún más atractivo el estudio de la interacción curcumina-hierro para encontrar otras alternativas de agentes quelantes que puedan emplearse para distintos fines [79].

El estudio de la interacción entre la curcumina y el par Fe(III)/Fe(II) ha creado varias líneas de investigación[76-79,81], por ejemplo, algunos estudios han puesto en evidencia la capacidad de la curcumina para reducir al Fe(III), inhibición de la actividad del Fe(II) [76, 78, 81] y la capacidad de formar complejos con el Fe(III) [79].

En este capítulo se plantea el estudio de la interacción entre la curcumina y los iones de Fe(III) y Fe(II) para determinar las constantes de formación de los posibles complejos del sistema curcumina-hierro.

## 6.2. Parte experimental

La experimentación se realiza con soluciones de curcumina recientes, preparándose con NaOH  $5 \times 10^{-3}$  M, se utilizan sales de FeCl<sub>3</sub> y FeCl<sub>2</sub>, para las soluciones de Fe(II) y Fe (III) se emplea agua desionizada y libre de oxígeno, en el caso de las soluciones de Fe(II) durante toda la experimentación se mantiene burbujeando la solución con N<sub>2</sub>.

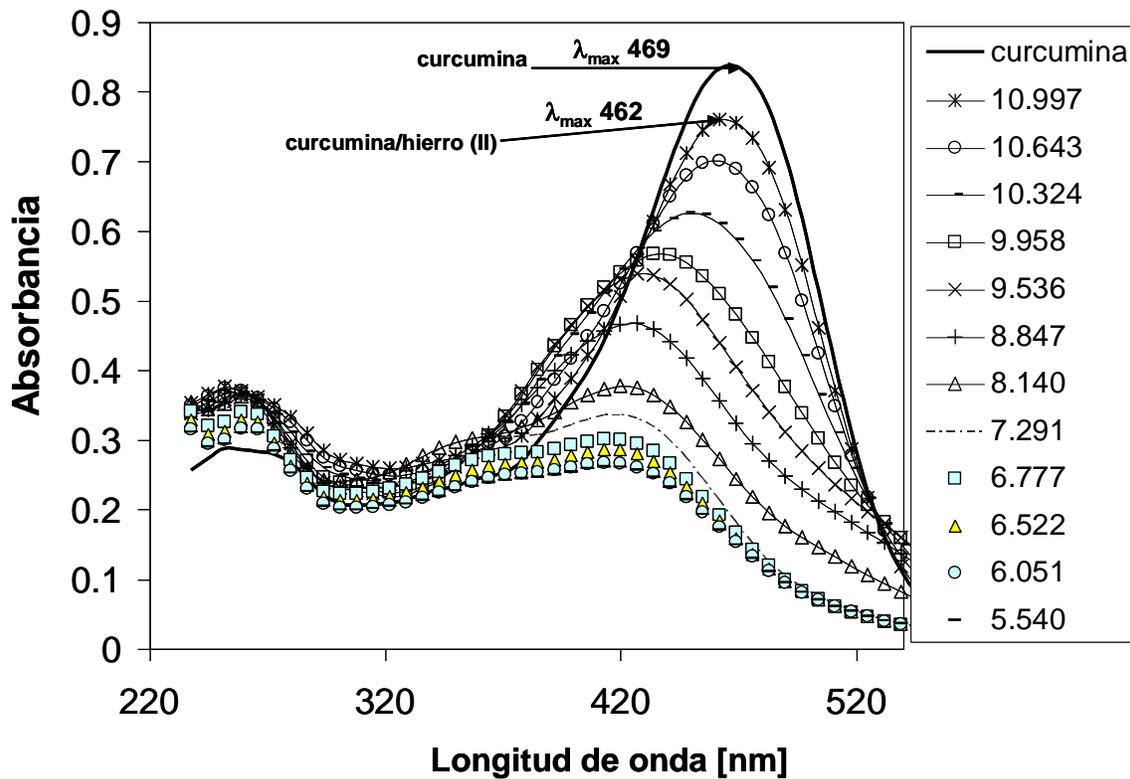
Los sistemas empleados son de 50 mL se registra el espectro UV-Vis de la curcumina sola, después se adiciona el ion Fe(III) o Fe(II) , se deja reaccionar en intervalos de 3 a 5 minutos. Se toma la lectura de pH y se realiza el registro de los espectros. La variación del valor de pH del sistema se realiza con la adición de soluciones de HCl.

## 6.3. Estudio espectrofotométrico para el sistema curcumina-Fe(II)-H<sub>2</sub>O

En el capítulo 5 quedó identificado el comportamiento UV-Vis y los máximos de absorción de la curcumina en medio acuoso, así que un cambio en los espectros originales de la curcumina será indicativo de alguna interacción entre la curcumina y el hierro.

En la figura 6.1 se muestran algunos de los espectros del sistema curcumina [ $2.44 \times 10^{-5}$  M]-Fe(II) [ $1.93 \times 10^{-5}$ ] M en función del valor de pH.

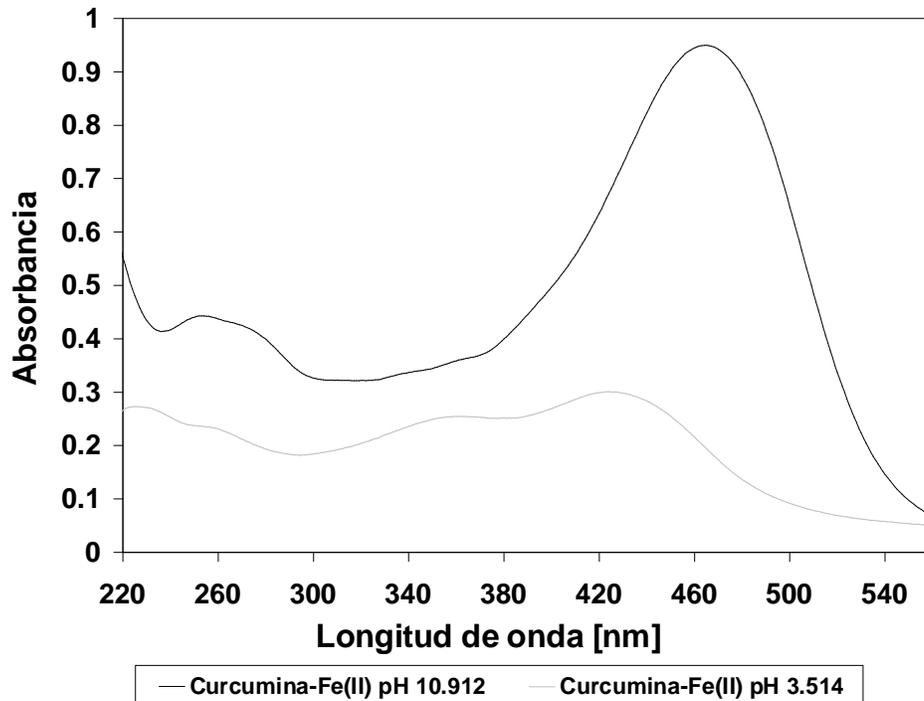
6. Determinación de las constantes correspondientes a los complejos curcumina-Fe(III)-agua y curcumina-Fe(II)-agua



**Figura 6.1.** Espectros UV-VIS para el sistema curcumina  $2.44 \times 10^{-5}$  M-Fe(II)  $1.93 \times 10^{-5}$  M en función de pH.

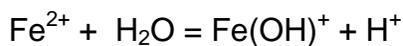
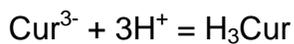
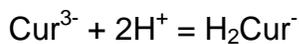
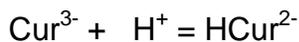
Como se observa en la Figura 6.1, el primer espectro (línea gruesa) corresponde al espectro UV-VIS de la curcumina y al adicionar el Fe(II) al sistema, la absorbancia de la banda inicial presenta un comportamiento hipocrómico aunado a un ligero corrimiento hipsocrómico. Al variar el valor pH hacia medios ácidos, se puede observar que la banda principal de absorbancia va definiendo dos máximos de absorbancia localizados en las longitudes de onda de 419 nm y 361 nm.(Figura 6.2)

6. Determinación de las constantes correspondientes a los complejos curcumina-Fe(III)-agua y curcumina-Fe(II)-agua



**Figura 6.2.** Espectros UV-VIS para el sistema curcumina  $2.89 \times 10^{-5} \text{M}$ -Fe(II)  $2.78 \times 10^{-5} \text{M}$ . (—) pH básico. (—) pH ácido.

Una vez registrado el comportamiento UV-VIS del sistema curcumina-Fe(II), se proponen diferentes modelos para los posibles complejos curcumina-Fe(II), fijando los equilibrios de acidez correspondientes a la curcumina así como, sus coeficientes de absorción (figura 5.11), además de fijar el valor de la constante de formación del hidroxicomplejo de Fe(II) correspondiente a la especie  $\text{Fe}(\text{OH})^+$  [86], los equilibrios fijos son:



6. Determinación de las constantes correspondientes a los complejos curcumina-Fe(III)-agua y curcumina-Fe(II)-agua

Entre los múltiples modelos que se van proponiendo al programa, se tiene que ir ajustando de tal manera que los datos que se obtengan sea los más próximos al comportamiento visto experimentalmente. Entre los modelos que presentaron mejor respuestas en los parámetros estadísticos se presentan en la tabla 6.1

**Tabla 6.1. Resultados obtenidos por SQUAD correspondientes a los complejos de formación de curcumina-Fe(II) en medio acuoso. 22 espectros fueron empleados en el programa en un intervalo de 238 a 560 nm con incrementos de 7 nm**

**Tabla 6.1a**

Modelo propuesto	( $\log\beta \pm \sigma$ refinada)	Suma de cuadrados (U)	$\sigma_A$
*HCur <sup>2-</sup>	10.51 **		
*H <sub>2</sub> Cur <sup>-</sup>	20.39 **		
*H <sub>3</sub> Cur	28.77 **		
*Fe(OH) <sup>+</sup>	-9.30***		
FeCur <sup>-</sup>	$\log\beta_{110} = 12.49 \pm 0.06$	4.79	$7.15 \times 10^{-2}$

\*constantes fijas

\*\*\* Datos tomados del Capítulo 5 (tabla 5.3)

\*\*\* [82] C.F. Baes, R.E. Mesmer, The Hydrolysis of Cations, Robert E. Krieger, Malabar, 1986.

**Tabla 6.1b**

Modelo propuesto	( $\log\beta \pm \sigma$ refinada)	Suma de cuadrados (U)	$\sigma_A$
*HCur <sup>2-</sup>	10.51 **		
*H <sub>2</sub> Cur <sup>-</sup>	20.39 **		
*H <sub>3</sub> Cur	28.77 **		
*Fe(OH) <sup>+</sup>	-9.30***		
FeCur <sup>-</sup>	$\log\beta_{110} = 11.91 \pm 0.08$	$8.39 \times 10^{-1}$	$3.07 \times 10^{-2}$
FeHCur	$\log\beta_{111} = 21.77 \pm 0.07$		

\*constantes fijas

\*\*\* Datos tomados del Capítulo 5 (tabla 5.3)

\*\*\* [82] C.F. Baes, R.E. Mesmer, The Hydrolysis of Cations, Robert E. Krieger, Malabar, 1986.

6. Determinación de las constantes correspondientes a los complejos curcumina-Fe(III)-agua y curcumina-Fe(II)-agua

TABLA 6.1c

Modelo propuesto	(log $\beta \pm \sigma$ refinada)	Suma de cuadrados (U)	$\sigma_A$
*HCur <sup>2-</sup>	10.51 **		
*H <sub>2</sub> Cur <sup>-</sup>	20.39 **		
*H <sub>3</sub> Cur	28.77 **		
*Fe(OH) <sup>+</sup>	-9.30***		
FeCur <sup>-</sup>	log $\beta_{110} = 9.20 \pm 0.04$		
FeHCur	log $\beta_{111} = 19.76 \pm 0.03$	4.52x10 <sup>-2</sup>	7.32x10 <sup>-3</sup>
FeH <sub>2</sub> Cur <sup>+</sup>	log $\beta_{112} = 28.11 \pm 0.02$		

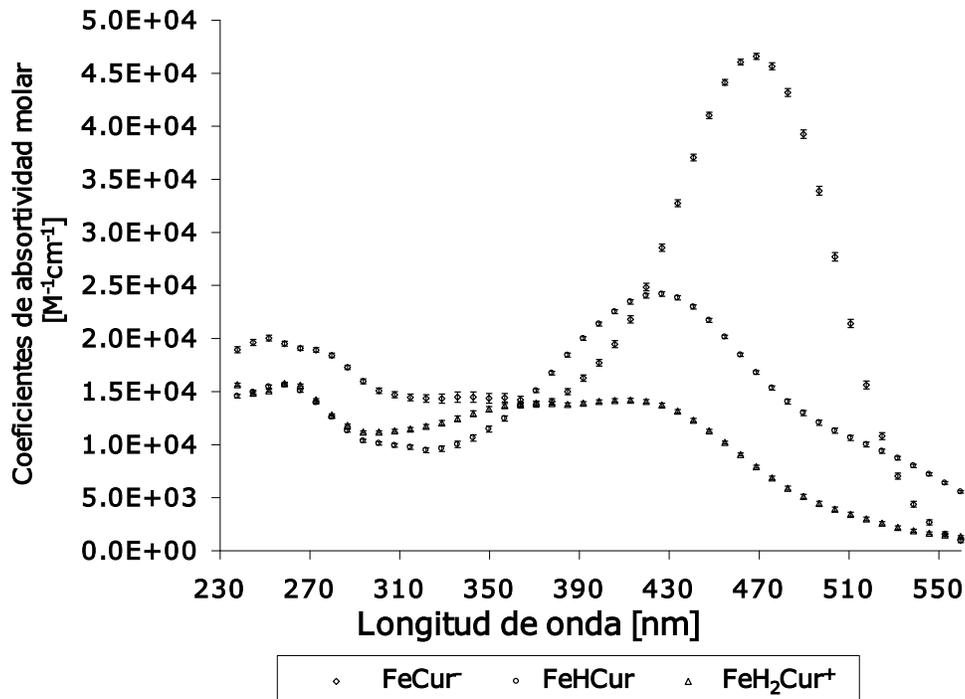
\* Constantes que se mantuvieron fijas durante el refinamiento

\*\* Datos tomados del Capítulo 5 (tabla 5.3)

\*\*\* [82] C.F. Baes, R.E. Mesmer, *The Hydrolysis of Cations*, Robert E. Krieger, Malabar, 1986.

El mejor refinamiento se obtiene al incorporar al sistema la formación de tres complejos de curcumina con el ion Fe(II) (tabla 6.1c), hay una disminución en el valor de la suma de cuadrados a valores de centésimas, además que con los coeficientes que proporciona el programa es posible construir el espectro de cada especie y el comportamiento que se tiene como resultado es el que se obtiene experimentalmente. En la figura 6.3 se presentan los valores de los coeficientes de absortividad molar que proporciona el programa SQUAD para cada especie como función de la longitud de onda.

6. Determinación de las constantes correspondientes a los complejos curcumina-Fe(III)-agua y curcumina-Fe(II)-agua



**Figura 6.3.** Coeficientes de absorptividad molar para el sistema curcumina-Fe(II) en solución acuosa.

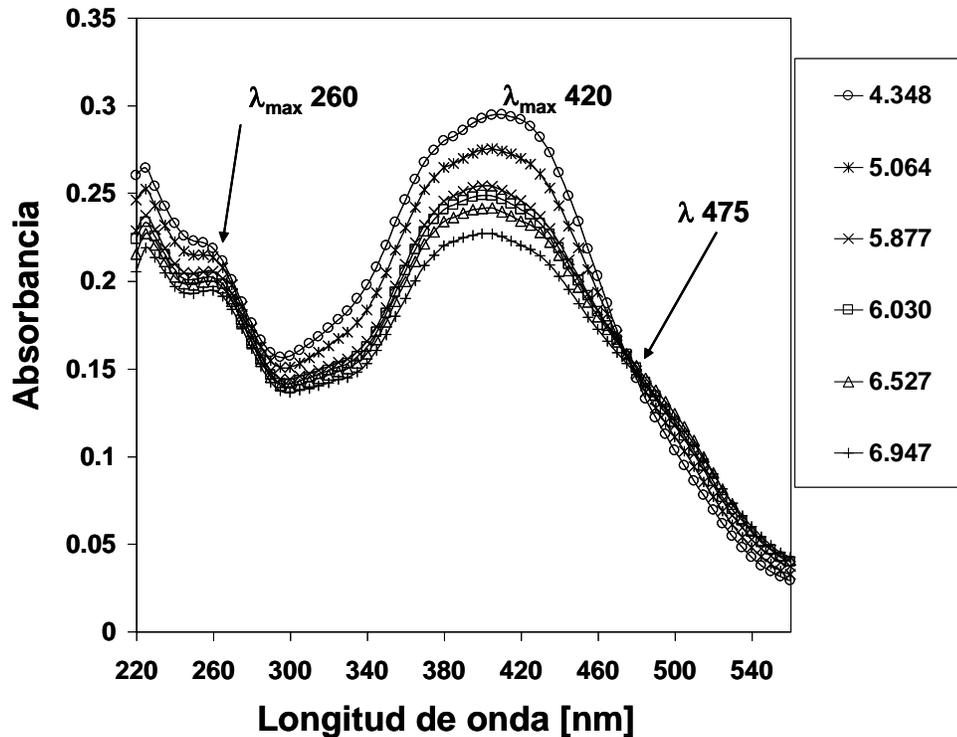
Se gráfica junto a los coeficientes de absorptividad las barras de error (menores al 10 %), para cada coeficiente de absorptividad molar.

#### 6.4. Estudio espectrofotométrico para el sistema curcumina-Fe(III)-H<sub>2</sub>O

Empleando el mismo diseño experimental utilizado para los sistemas de curcumina-Fe(II) (sección 6.2) se realiza la determinación de los espectros de absorción para los sistemas de curcumina-Fe(III).

Los resultados obtenidos al modificar el pH de valores ácidos a básicos se muestran en la figura 6.4.

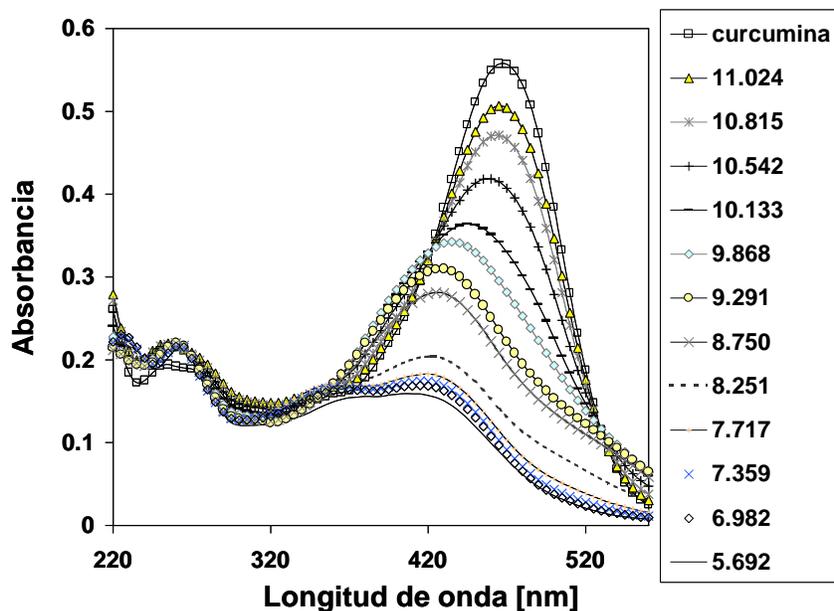
6. Determinación de las constantes correspondientes a los complejos curcumina-Fe(III)-agua y curcumina-Fe(II)-agua



**Figura 6.4.** Espectros UV-VIS correspondientes a la relación: curcumina  $1.52 \times 10^{-5}$  M-Fe(III)  $1.39 \times 10^{-5}$  M.

La respuesta obtenida del sistema curcumina-Fe(III) en medio ácido es la presencia de una banda principal de absorción en aproximadamente 420 nm además de observarse una pequeña señal en forma de hombro en aproximadamente 260 nm así como un punto isobéptico en aproximadamente 475 nm. Cuando el sistema adquiere valores mayores de pH, la señal principal disminuye (comportamiento hipocrómico). El comportamiento del sistema curcumina-Fe(III) iniciando en medio básico a ácido se presenta en la figura 6.5

6. Determinación de las constantes correspondientes a los complejos curcumina-Fe(III)-agua y curcumina-Fe(II)-agua



**Figura 6.5.** Espectros UV-VIS correspondientes al sistema *curcumina*  $1.14 \times 10^{-5}$  M-Fe(III)  $5.77 \times 10^{-6}$  M al variar el pH de 11.02 a 5.69.

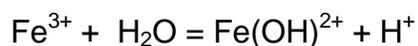
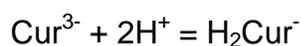
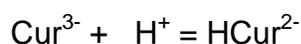
El sistema presenta el máximo de absorción a una longitud de onda de 465 nm a pH 10.542 (figura 6.5), al variar el valor de pH hacia valores menores, la absorbancia decrece y el máximo se va moviendo a longitudes de onda menores, teniendo el sistema un comportamiento hipsocrómico; cuando el sistema alcanza valores de pH menores de 7.7 el espectro presenta dos máximos de absorción en las siguientes longitudes de onda 420 y 378 nm respectivamente, sigue la tendencia que presentó el sistema de curcumina-Fe(II) (figura 6.1). Encontrar esta similitud de espectros entre los sistemas a las condiciones de trabajo empleadas, lleva a pensar en los trabajos que se realizan con la curcumina y la capacidad de la curcumina para reducir al ion Fe(III) además de la formación de complejos con este ion [79]. Como el objetivo de este estudio es encontrar la interacción de la curcumina y el ion Fe(III) para encontrar los datos experimentales que permitan la

6. Determinación de las constantes correspondientes a los complejos curcumina-Fe(III)-agua y curcumina-Fe(II)-agua

determinación de las constantes de equilibrio de los complejos que pueden formarse entre ellos en solución acuosa. Por tal motivo se realiza un estudio de reconocimiento sobre las propiedades redox de la curcumina y de los sistemas de curcumina con el par Fe(III)/Fe(II) en medio básico y medio ácido (Anexo C). El estudio electroquímico muestra que en medio básico se lleva a cabo la reducción de Fe(III) y posteriormente la formación de los complejos curcumina-Fe(II) por el exceso del ligando, y esto explicaría la similitud del comportamiento espectrofotométrico del sistema curcumina-Fe(III)-H<sub>2</sub>O en medio básico con el de curcumina-Fe(II)-H<sub>2</sub>O y permite concluir que la determinación de las constantes de formación de los complejos de Fe(III) con curcumina debe hacerse con la familia de espectros de absorción en donde el pH se hizo variar de medio ácido a básico.

**6.5. Determinación de las constantes de formación para el sistema curcumina-Fe(III)-H<sub>2</sub>O**

Empleando los datos espectrofotométricos del sistema curcumina-Fe(III) iniciando en medio ácido, se proponen diferentes modelos al programa SQUAD, se mantienen fijas las constantes de acidez de la curcumina, sus coeficientes de absorptividad y de los hidroxocomplejos del Fe(III) que de acuerdo a las condiciones experimentales usadas podrían existir [81]:



6. Determinación de las constantes correspondientes a los complejos curcumina-Fe(III)-agua y curcumina-Fe(II)-agua

Se realizan varios modelos, los cuales se proponen al programa SQUAD, en la tabla 6.2 se presentan algunos ejemplos de archivos de salida del programa.

**Tabla 6.2.** Resultados obtenidos por SQUAD correspondientes a los complejos de formación de curcumina-Fe(III) en medio acuoso. 15 espectros fueron empleados en el programa en un intervalo de 560 a 238 nm con incrementos de 7 nm.

**TABLA 6.2a.**

Modelo propuesto	$\log\beta_{\pm\sigma}$ refinada	Suma de cuadrados (U)	$\sigma_A$
*HCur <sup>2-</sup>	10.51**		
*H <sub>2</sub> Cur <sup>-</sup>	20.39**		
*H <sub>3</sub> Cur	28.77**		
*Fe(OH) <sup>2+</sup>	-3.05***		
*Fe(OH) <sub>2</sub> <sup>+</sup>	-6.37***		
FeCur	$\log\beta_{110} = 24.04 \pm 0.31$	$1.46 \times 10^{-1}$	$1.61 \times 10^{-2}$

\*constantes fijas

\*\*\* Datos tomados del Capítulo 5 (tabla 5.3)

\*\*\* C.F. Baes, R.E. Mesmer, The Hydrolysis of Cations, Robert E. Krieger, Malabar, 1986

**TABLA 6.2b.**

Modelo propuesto	Log $\beta_{\pm\sigma}$ refinada	Suma de cuadrados (U)	$\sigma_A$
*HCur <sup>2-</sup>	10.51**		
*H <sub>2</sub> Cur <sup>-</sup>	20.39**		
*H <sub>3</sub> Cur	28.77**		
*Fe(OH) <sup>2+</sup>	-3.05***		
*Fe(OH) <sub>2</sub> <sup>+</sup>	-6.37***		
FeHCur <sup>+</sup>	$\log\beta_{111} = 31.62 \pm 0.20$	$1.92 \times 10^{-1}$	$1.51 \times 10^{-2}$

\*constantes fijas

\*\*\* Datos tomados del Capítulo 5 (tabla 5.3)

\*\*\* C.F. Baes, R.E. Mesmer, The Hydrolysis of Cations, Robert E. Krieger, Malabar, 1986

6. Determinación de las constantes correspondientes a los complejos curcumina-Fe(III)-agua y curcumina-Fe(II)-agua

**TABLA 6.2c.**

Modelo propuesto	$\log\beta_{\pm\sigma}$ refinada	Suma de cuadrados (U)	$\sigma_A$
*HCur <sup>2-</sup>	10.51**		
*H <sub>2</sub> Cur <sup>-</sup>	20.39**		
*H <sub>3</sub> Cur	28.77**		
*Fe(OH) <sup>2+</sup>	-3.05***		
*Fe(OH) <sub>2</sub> <sup>+</sup>	-6.37***		
FeCur	$\log\beta_{110} = 23.70 \pm 5.44$	$1.19 \times 10^{-2}$	$5.32 \times 10^{-3}$
FeHCur <sup>+</sup>	$\log\beta_{111} = 34.23 \pm 5.40$		

\*constantes fijas

\*\*\* Datos tomados del Capítulo 5 (tabla 5.3)

\*\*\* C.F. Baes, R.E. Mesmer, *The Hydrolysis of Cations*, Robert E. Krieger, Malabar, 1986.

De todos los modelos propuestos se elige el que presenta los mejores resultados estadísticos, el mejor modelo refinado se presenta en la tabla 6.3

**TABLA 6.3.** Resultados obtenidos por SQUAD correspondientes a los complejos de formación de curcumina-Fe(III) en medio acuoso. 15 espectros fueron empleados en el programa en un intervalo de 560 a 238 nm con incrementos de 7 nm.

Modelo propuesto	$\log\beta_{\pm\sigma}$ refinada	Suma de cuadrados (U)	$\sigma_A$
*HCur <sup>2-</sup>	10.51**		
*H <sub>2</sub> Cur <sup>-</sup>	20.39**		
*H <sub>3</sub> Cur	28.77**		
*Fe(OH) <sup>2+</sup>	-3.05***		
*Fe(OH) <sub>2</sub> <sup>+</sup>	-6.37***		
FeCur	$\log\beta_{110} = 22.25 \pm 0.03$		
FeCur(OH) <sup>-</sup>	$\log\beta_{11-1} = 12.14 \pm 0.03$	$3.91 \times 10^{-3}$	$2.53 \times 10^{-3}$

\*constantes fijas

\*\* Datos tomados del Capítulo 5 (tabla 5.3)

\*\*\* C.F. Baes, R.E. Mesmer, *The Hydrolysis of Cations*, Robert E. Krieger, Malabar, 1986.

6. Determinación de las constantes correspondientes a los complejos curcumina-Fe(III)-agua y curcumina-Fe(II)-agua

Los mejores datos obtenidos por el programa SQUAD es cuando se propone un modelo con la presencia de dos complejos: FeCur y FeCur(OH)<sup>-</sup>. El sistema de curcumina-hierro ha sido estudiado por algunos autores, aunque no todos han realizado cálculo de constantes de formación entre el par Fe(III)/Fe(II) con la curcumina, una de las propuestas encontrar en la literatura han sido en medios con mezclas de etanol-agua realizada por Borsari (2002). Borsari y col. [79] calcularon constantes de formación de complejos entre la curcumina y el Fe (III), los datos obtenidos por se presentan en la tabla 6.4.

**TABLA 6.4.** Resultados reportados por Borsari y col. [79].

<b>Complejos</b>	<b>log β</b>
[FeH <sub>2</sub> Cur] <sup>++</sup>	29.13
[FeH <sub>2</sub> Cur(OH) <sub>2</sub> ]	22.06
[FeH <sub>2</sub> Cur(OH) <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>	12.51

Para colocar especies análogas en ambos trabajos, el equilibrio propuesto por Borsari para la formación de sus complejos es de la forma siguiente:



En la tabla 6.5 se muestran las especies análogas identificadas por Borsari y las obtenidas en este trabajo.

**TABLA 6.5.** Comparación de los resultados reportados por Borsari y col. Con los obtenidos por SQUAD

<b>Especies Borsari y col</b>	<b>Especies SQUAD</b>
FeH <sub>2</sub> Cur(OH) <sub>2</sub>	FeCur
FeH <sub>2</sub> Cur(OH) <sub>3</sub>	FeCurOH

6. Determinación de las constantes correspondientes a los complejos curcumina-Fe(III)-agua y curcumina-Fe(II)-agua

La diferencia de nomenclatura entre ellas se debe a que en el programa SQUAD se alimenta de los iones participantes y no se admite que se coloquen los  $H^+$  y los  $OH^-$  en un mismo equilibrio.

Aunque la nomenclatura es diferente en las  $\beta$  de formación entre estas especies son muy parecidas, en la tabla 6.7 se presentan la comparación de datos de ambos trabajos.

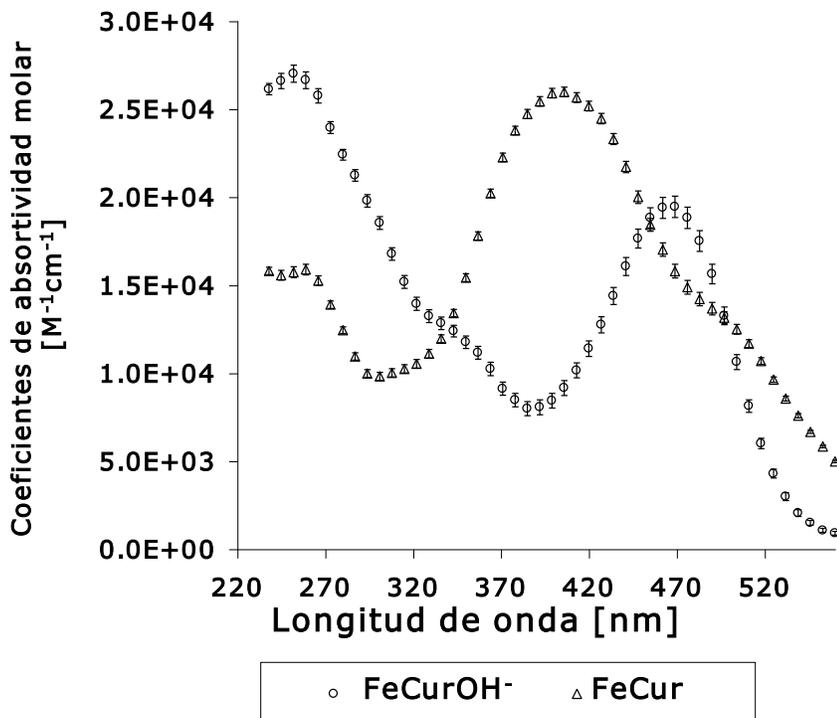
**TABLA 6.6.** Comparación entre los resultados obtenidos empleando SQUAD y los resultados reportados por Borsari y col. [79].

Complejos	Log $\beta$ calculados por SQUAD	Log $\beta$ reportados por Borsari
	Medio acuoso	Medio metanol-agua 1:1
FeCur	$\log\beta_{110} = 22.25 \pm 0.03$	22.06
FeCur(OH) <sup>-</sup>	$\log\beta_{11-1} = 12.14 \pm 0.03$	12.51

Los valores obtenidos por SQUAD convergen bien con los reportados por Borsari y col. ambos sistemas son estudiados iniciando en medio ácido y modificación del pH por adición de NaOH, aunque el sistema de Borsari y col. se realizó en medio de metanol-agua 1:1 [79].

Los coeficientes de absorptividad molar proporcionados por SQUAD para el sistema curcumina-Fe(III), se presentan en la figura 6.6.

6. Determinación de las constantes correspondientes a los complejos curcumina-Fe(III)-agua y curcumina-Fe(II)-agua



**Figura 6.6.** Coeficientes de absorptividad molar para el sistema curcumina-Fe(III) en solución acuosa.

En la figura 6.6 representa las curvas que corresponden a los coeficientes molares de la absorptividad de los dos complejos de curcumina-Fe(III) en función de la longitud de onda. Es importante mencionar que cada punto graficado fue trazado con su respectiva barra de error, no obstante es difícil notar, puesto que los errores son menores al 10 % lo que indican claramente en un buen ajuste del programa al modelo propuesto.

La formación de los complejos de la curcumina con el ion Fe(III) se da en medios ácidos, cuando se hacen interaccionar en medios básicos existe un proceso de reducción del ion Fe(III) y después formación del complejo curcumina-Fe(II) estos resultados fueron apoyados por resultados electroquímicos efectuados.

## 7. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

## 7.1 Conclusiones

El empleo de métodos gráficos da resultados que permiten establecer opciones en el cálculo de constantes de equilibrio para nuevos sistemas.

Se calculó una constante de acidez de la diisopropiliminodiacetoamida empleando el número promedio de ligandos y SUPERQUAD empleando datos potenciométricos. El valor para la constante de acidez es:  $pK_A = 5.84 \pm 0.04$ .

Se determinaron dos constantes de formación de la diisopropiliminodiacetoamida con el ion Cu (II) a partir de datos espectrofotométricos utilizando el método de relaciones molares y SQUAD, los complejos obtenidos fueron dos  $CuL$  y  $CuL_2$  con valores del  $\log \beta$  de:  $\log \beta_1 = 4.79 \pm 0.002$  y  $\log \beta_2 = 8.30 \pm 0.004$  respectivamente.

Se estableció una ventana de tiempo de 5 a 6 horas para la determinación de las constantes de acidez de la curcumina en medio acuoso en la cual se puede trabajar considerándolo como sistema estacionario, para la cual se determinó la constante de desaparición aparente de  $Cur^{3-}$  cuyo valor es  $k' 1.39 (10^{-9}) M \text{ min}^{-1}$ , a valores de pH mayores de 11.0.

Se calcularon tres equilibrios ácido-base de la curcumina; los valores de  $pK_A$  para la curcumina se obtienen por el programa SQUAD; los valores son:

EQUILIBRIO	$pK_A$
$HCur = H^+ + Cur$	$10.51 \pm 0.01$
$H_2Cur = H^+ + HCur$	$9.88 \pm 0.02$
$H_3Cur = H^+ + H_2Cur$	$8.38 \pm 0.04$

Los complejos de la curcumina con el par Fe(III)/Fe(II) se forman cuando el sistema se encuentra en medio ácido; el valor de las constantes se realiza mediante SQUAD. Para el sistema curcumina-Fe(III) se refinaron constantes correspondientes a las especies FeCur ( $\log\beta_{110} = 22.25 \pm 0.03$ ) y FeCur(OH)<sup>-</sup> ( $\log\beta_{11-1} = 12.14 \pm 0.03$ ). Para el sistema de curcumina-Fe(II) se calcularon las constantes de formación correspondientes a las especies FeCur<sup>-</sup> ( $\log\beta_{110} = 9.20 \pm 0.04$ ), FeHCur ( $\log\beta_{111} = 19.76 \pm 0.03$ ) y FeH<sub>2</sub>Cur<sup>+</sup> ( $\log\beta_{112} = 28.11 \pm 0.02$ ).

De las conclusiones que correspondientes al estudio de la diisopropiliminodiacetoamida con el Cu(II) dieron lugar al artículo asociado a este trabajo: "Speciation of the new ligand di-isopropyliminodiacetamide with Cu(II) using computational processing and graphical methods" *Spectrochimica Acta Part A-Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 60 (5)1071-1076 (2004)

Con respecto a los resultados obtenidos del estudio de curcumina se dio lugar a dos publicaciones:

"Determination of acidity constants of curcumin in aqueous solution and apparent rate constant of its decomposition" *Spectrochimica Acta Part A-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 60 (5): 1091-1097 (2004)

"Spectrophotometric and electrochemical determination of the formation constants of the complexes Curcumin-Fe(III)-water and Curcumin-Fe(II)-water" *Spectrochimica Acta Part A-Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 60 (5): 1105-1113 (2004)

## 7.2 Perspectivas

Junto con la existencia de métodos computacionales que permiten el cálculo de complejos, el empleo de métodos gráficos es una opción que permite establecer un panorama general y consistente con lo que se ve experimentalmente en el sistema de trabajo, sobre todo si se trata de sistemas nuevos o de ligandos orgánicos de nueva creación.

Con respecto al estudio de un sistema en particular de este trabajo que fue la curcumina, se deja abierta una gama de rutas de investigación debido a la importancia que tiene este ligando orgánico y su interacción con diferentes iones metálicos de interés biológico principalmente con el par Fe(III)/Fe(II),deja este estudio para que otras personas interesadas en este campo puedan desarrollar otras líneas de investigación, por ejemplo:

- 1) Establecer el mecanismo de protonación de la curcumina mediante métodos teóricos.
- 2) Determinar el sitio de unión de la curcumina con el par Fe(III)/Fe(II)
- 3) Con las condiciones dadas lograr la cristalización de los complejos de la curcumina con el par Fe(III)/Fe(II) para la realización de estudios sobre la actividad del complejo este complejo sobre diversas aplicaciones como son: tratamiento para cáncer, inhibición del crecimiento de tumores, problemas artríticos, problemas cardiovasculares, su actividad antimicrobioana etc.
- 4) Realizar los estudios necesarios que permitan demostrar su actividad quelante con otros iones metálicos presentes en procesos metabólicos.

## **8. REFERENCIAS**

- [1].- E. González Vergara. Boletín de la Academia de Química Inorgánica, AMQI. 2 (1998)
- [2].- H. Shun, E. Masaaki. J. Biol. Inorg. Chem. 3 (1998) 6, 563-569.
- [3].- C. G. Zurera, R. R. Moreno. Food Chem. 51 (1994) 75-78.
- [4].- G. L. Eichhorn, Inorganic Biochemistry, Vol. 1, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, 1973.
- [5].- A.B. Corradi, G. Lusvardi, L. Menabue, M. Saladini, P. Sgarabotto. Polyhedron 18 (1999) 1975–1982.
- [6].- A.B. Rao, R.S.R. Murthy. J. Pharm. Biomed. Anal. 27 (2002) 959-965.
- [7].- B. Ahrens, M.G. Davidson, V.T. Forsyth, M.F. Mahon, A.L. Johnson, S.A. Manson, R.D. Price, P.R. Raithby. J. Am. Chem. Soc. 123 (2001) 9164-9165.
- [8].- M. Borsari, L. Menabue, M. Saladini. Polyhedron 18 (1999) 1983–1989.
- [9].- H. Drechsel, M. Fiallo, A. Garnier-Suillerot, B.F. Matzanke, V. Schünemann. Inorg. Chem. 40 (2001) 5324-5333.
- [10].- A. V. Xavier, Frontiers in Bionorganic Chemistry. VCH, Lisboa, 1986
- [11].- F.R. Hartley, C. Burgees, R.M. Alcock, Solution Equilibria, Ellis Horwood, New York, 1980.
- [12].- H.P.T. Ammon, M.A. Wahl. Planta Med. 57 (1991) 1-7
- [13].- M. T. Ramírez, A. Rojas-Hernández, Ignacio González. Talanta. **44**, (1997) 31-37.
- [14].- P. Balderas-Hernández, Ma. T. Ramírez, A. Rojas-Hernández and Atilano Gutiérrez. Talanta. 46 (1998) 1439-1452.
- [15].- D. Legget. Computational Methods for the Determination of Formation Constants. Plenum. New York. (1995) 159-217.

- [16].- M. A. Villegas-González, D. Bonilla-Martínez, Ma. T. Ramírez and A. Rojas-Hernández. *Recent Re. Devel. In Pure & Applied Anal. Chem.* 1 (1998) 1-7.
- [17].- P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, J. Chem. Soc., Dalton Trans. (1985), 1195.
- [18].-M. Meloun, J. Havel and E. Högfeltd. *Computation of Solution Equilibria: A guide to Methods in Potentiometry, Extraction and Spectrophotometry.* Ellis Horwood. Chichester. (1988) 203, 297.
- [19].- Lehninger L. Albert. *Bioquímica.* Ediciones Omega, S.A. Barcelona 1972.
- [20].- Bohniski C. Robert. *Bioquímica.* Fondo Educativo Interamericano S.A. México, D.F. 1986.
- [21].-Williams R. David. *An Introduction to Bio-ionorganic Chemistry.* Publisher.
- [22].- MC Linder, M. Hazegh-Azam. *Am. J. Clin. Nutr.* 63 (1996) 797-811.
- [23].-ED Harris. *Prog. Clin. Biol. Res.* 380 (1993) 163-179
- [24].-E.T. Adman. *Adv. Protein Chem.* 42 (1991) 145-197.
- [25].- P. Zhou, DJ Thiele. *Biofactors.* 4 (1993) 105-115.
- [26].- W. Bal, M. Dyba, H. Kozlowski. *Acta Biochim. Pol.* 44 (1997) 467-476.
- [27].-S. Bhaumik, M. D. Jyothi, A. Khar.. *FEBS Letters* 483 (2000) 78-82.
- [28].- C.F. Chignell, P. Bilski, K.J. Reszka, A.G.Motten, R.H. Sik, T.A. Dahl. *Photochem. Photobiol.* 59 (1994) 295-302.
- [29].- T.A. Dahl, P. Bilski, K.J. Reszka, C.F. Chignell.. *Photochem. Photobiol.* 59 (1994) 290-294.
- [30].- K.I. Priyadarsini. *Free Radical Biology Medicine.* 23 (1997) 838-843.

- [31].- S. M. Khopde, K. I. Priyadarsini, P. Venkatesan and M. N. A. Rao. *Biophys. Chem.* 80 (1999) 85-91.
- [32].- H. Ohtsu, Z. Xiao, J. Ishida, M. Nagai, H-K Wang, H. Itokawa, C-Y Su, C. Shih, T. Chiang, E. Chiang, Y Lee, M-Y Tsai, C. Chang, K-H Lee. *J. Med. Chem.* (2002)
- [33].- K. Mehta, P. Pantazis, T. McQueen, B. Aggarwal. *Anti-Cancer Drugs* (1997)
- [34].- R. Motterlini, R. Foresti, R. Bassi, C.J. Green. *Free Radical Biology Medicine* (2000)
- [35].- M-H Pan, W-L Chang, S-Y Lin-Shiau, C-T Ho, J-K Lin. *J. Agric. Food Chem.* (2001)
- [36].- C.S.Yang, J.M Landau, M-T Huang,H.L Newmark. *Annu. Rev. Nutr.* (2001)
- [37].- S. Somasundaram, N.A. Edmund, D. T. Moore, G.W. Small, Y.Y. Shi, R.Z. Orłowski. *Cancer Research* (2002)
- [38].- P. Mahakunakorn, M. Tohda, Y. Murakami, K. Matsumoto. *Biol. Pharm. Bull* (2003)
- [39].- L. Srinivas, V.K. Shalini, M. Shylaja. *Archives of Biochem. Biophys.* (1992)
- [40].- T. Osawa, Y. Sugiyama, M. Inayoshi, S. Kawakishi. *Biosci. Biotech. Biochem* (1995)
- [41].- S.V. Jovanovic,S. Steenken, C.W. Boone, M.G. Simic. *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999) 9677-9681
- [42].- T. Masuda, K. Hidaka, A.Shinohara, T. Maekawa, Y.Takeda, H. Yamaguchi. *J. Agric. Food Chem.* (1999)
- [43].- L. R.C. Barclay, M.R. Vinqvist, K. Mukai, H. Goto, Y. Hashimoto, A.Tokunaga, H Uno. *Organic Letters* (2000)

- [44].- S.V. Jovanovic, C.W. Boone, S. Steenken, M. Trinoga, R.B. Kaskey. J. Am. Chem. Soc. (2001)
- [45].- T. Masuda, T. Maekawa, K. Hidaka, H. Bando, Y. Takeda, H. Yamaguchi. J. Agric. Food Chem. (2001)
- [46].- T. Masuda, Y. Toi, H. Bando, T. Maekawa, Y. Takeda, H. Yamaguchi. J. J. Agric. Food Chem (2002)
- [47].- D. Morin, S. Barthélémy, R. Zini, S. Labidalle, J-P. Tillement. FEBS Letters (2001)
- [48].- Z. Sui, R. Salto, J. Li, C. Craik, P.R. Ortiz de Montellano. Biiorg. Med. Chem. 1 (1993) 415-422
- [49].- A. Mazumder, N. Neamati, S. Sunder, J. Schulz, H. Pertz, E. Eich, Y. Pommier. J. Med. Chem (1997).
- [50].- E.Balogun, R. Foresti, C.J.Green, R. Motterlini. Biochem. Biophys. Res. Comunications 308 (2003) 950-955.
- [51].- F. Zsila, Z. Bikádi, M. Simonyi. Biochem. Biophys. Research Comunications 301 (2003) 776-782.
- [52].- F. Zsila, Z. Bikádi, M. Simonyi. Tetrahedron: Asymmetry 14 (2003) 2433-2444.
- [53].- L. Silverman, K. Trego. Anal. Chem. 25 (1953) 1264-1267.
- [54].- D. E. Williams, J. Vlamis. Anal. Chem. 33 (1961) 1098-1100.
- [55].- A.S. Baker. Agric. Food Chem. 12 (1964) 367-370.
- [56].- J.W.Mair, H.G. Day. Anal. Chem. 44 (1972) 2015-2017.
- [57]. - E.W. Grotheer. Anal. Chem. 51 (1979) 2402-2403.
- [58]. - H.C.F. Su, R. Horvat, G. Jilani. J. Agric. Food Chem. 3 (1982) 290-292.

- [59]. - M-K Kim, G-J Choi, H-S Lee. *J. Agric. Food Chem.* (2003)
- [60]. - M. J. Logan-Smith, P.J. Lockyers, J.M. East, A. G. Lee. *J. Biol. Chem.* 276 (2001) 46905-46911.
- [61]. - J.H. Bae, J-W Park, T.K. Kwon. *Biochem. Biophys. Res. Communications* (2003)
- [62]. - K. Balasubramanian. *Indian J. Chem Sec. A.* 30 (1991) 61-65.
- [63]. - B. Tang, L.Ma, H-Ywang, G-Y Zhang. *J. Agric. Food Chem* (2002)
- [64]. - H.H. Tonnesen, M. Masson, T.Loftsson. *Int. J. Pharm.* (2002)
- [65]. - D.C. Harris. *Quantitative Chemical Analysis.* Freeman. New York. (1995) 528-529.
- [66]. - L. G. Wade. *Organic Chemistry.* Prentice-Hall. New Jersey. (1992) 402-403.
- [67]. - Z. Holzbecher , L. Divis, M. Kral, L. Sucha and F. Vlacil. *Handbook of Organic Reagents in Inorganic Analysis..* Ellis Horwood. Chichester. (1976) 603
- [68].- M. T. Ramírez, A. Rojas-Hernández, I. González. *Talanta.* 44 (1997) 31-37.
- [69].- P. Balderas-Hernández, M. T. Ramírez, A. Rojas-Hernández, A. Gutiérrez. *Talanta.* 46 (1998) 1439-1452.
- [70].- M. Meloun, S. Bordovská, T. Syrový, A. Vrána. *Anal. Chim. Acta.* 580 (2006) 107-121.
- [71].- M.T. Fernandez, M. L. Mira, M. H. Florencio, K.R. Jennings. *J. Inorg. Biochem.* 92 (2002) 105-111.
- [72].- Y. Song, J. Kang, Z. Wang, X. Lu, J. Gao, L. Wang. *J. Inorg. Biochem.* 91 (2002) 470-474.
- [73]. - J.P. Cornard, J.C. Merlin. *J. Inorg. Biochem.* 92 (2002) 19-27.

- [74].- L.A. Tavadyan, H.G. Tonikyan, S.H. Minasyan, L.A. Harutyunyan, F.T. Greenaway, S. Williams, R.A. Gray-Kaufman, J.R.J. Sorenson, *Inorg. Chim. Acta* 328 (2002) 1.
- [75].-J.M.Hernández Pérez. Memorias X Simposio de estudiantes de posgrado en química "Fernando Romo". UAM-Iztapalapa. 1996 1-5.
- [76]. - E. Kunchandy ,M.N.A. Rao. *Int. J. Pharm* (1989)
- [77].- E. Kunchandy ,M.N.A. Rao. *Int. J. Pharm* (1990)
- [78].- A.Ch.Pulla Reddy, B.R. Lokesh. *Molec. Cell. Biochem.* 137 (1994) 1-8.
- [79].- M. Borsari, E. Ferrari, R. Grandi, M. Saladini. *Inorg. Chim. Acta* 328 (2002) 61-68.
- [80].- S. P.Verma, B.R.Goldin. *Biochem. Biophys. Res. Communications* 310 (2003) 104-108.
- [81]. - H.H. Tonnesen, J.V. Greenhill, *Int. J. Pharm.* 87 (1992) 79-87.
- [82]. - C.F. Baes, R.E. Mesmer, *The Hydrolysis of Cations*, Robert E. Krieger, Malabar, 1986.

# ANEXOS

## **A. Métodos gráficos para la determinación de constantes de equilibrio [A1]**

Cuando se estudian nuevos sistemas para la determinación del número de especies presentes a las condiciones experimentales propuestas, la elección de un método que permita realizar el cálculo dependerá de la propiedad experimental que se elija para el sistema en estudio. El tratamiento de datos experimentales se puede realizar de manera gráfica o empleando métodos computacionales que han tomado auge en los últimos años.

A continuación se describen de manera breve algunos métodos gráficos y computacionales que permitieron el tratamiento de datos de los sistemas que se estudiaron en este escrito.

### **A.1. Métodos Gráficos para determinación del número de especies en solución.**

Abordan nuevos sistemas, en los cuales no se cuente con información previa puede llevar a la elección de varios caminos, sin embargo es preciso conocer la propiedad experimental que se tendrá que ocupar ya que de ello dependerá como realizar un análisis de datos que nos ayuden a entender las especies que se formen en las condiciones experimentales propuestas. Por ejemplo, si el sistema presenta color, entonces podemos seguir su comportamiento empleando la espectroscopia UV-vis y para realizar el análisis de datos al aplicar un método gráfico se debe considerar un número total de especies absorbente que sea en un número menor o igual a tres y que obedezcan la ley de Beer.

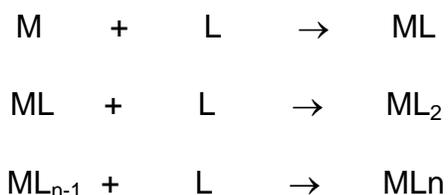
Los procedimientos gráficos han sido desarrollados para dos tipos de condiciones:

- 1) Procedimiento gráfico cuando no está restringido el lugar sobre la estequiometría de las soluciones examinadas.
- 2) Procedimiento gráfico para restricciones estequiométricas.

La elección de uno o del otro dependerá del sistema en estudio.

### A.2. La función de formación del complejo $n_{prom}$

Si en un sistema consideramos la presencia de un ion metálico y a un ligando interactuando en una solución de fuerza iónica constante, el equilibrio que se establece puede darse de la forma siguiente:



Donde el subíndice n representa el máximo número de coordinación del ion metálico y del multidentismo del ligando. Definiendo el sistema se realiza el balance de masa para ambos.

La concentración total de ion metálico incluye las concentraciones de todos los complejos formados:

$$[M]_T = [M] + [ML] + [ML_2] + \dots [ML_n]$$

y en el caso del ligando, la concentración total, se daría por:

$$[L]_T = [L] + [ML] + 2[ML_2] + \dots n[ML_n]$$

La función  $n_{prom}$ , definida como el número promedio de ligandos, L unidos a el metal M, está escrito de la siguiente forma:

$n_{prom}$  = concentración total del ligando unido / concentración del metal total

$$n_{prom} = \frac{[L]_T - [L]}{[M]_T}$$

En términos de concentraciones y de constantes de formación  $n_{prom}$  queda finalmente de la siguiente manera:

$$n_{prom} = \frac{\sum_{n=1}^{n=N} n\beta_n [L]^n}{1 + \sum_{n=1}^{n=N} \beta_n [L]^n} \equiv \frac{\sum_{n=0}^{n=N} n\beta_n [L]^n}{\sum_{n=0}^{n=N} \beta_n [L]^n}$$

donde se observa que  $n_{prom}$  es solamente dependiente de la concentración del ligando libre [L], y es independiente de  $[M]_T$ ,  $[L]_T$  y de la concentración del ion metálico. La función  $n_{prom}$ , este termino fue introducido primero por Niels Bjerrum y después por Jannik Bjerrum es el punto inicial para varios métodos usados en el cálculo de constantes de estabilidad.

### A.3. El grado de formación $\alpha_c$

Para algunos componentes individuales del el sistema, la variables  $\alpha_c$  puede ser definida como:

$$\alpha_c = \frac{[ML_c]}{[M]_T} \quad \text{para } c = 0, 1, 2, \dots, N$$

$\alpha_c$  es la fracción mol parcial de el componente  $ML_c$ , esta función da la distribución para el ion metálico libre in la solución.

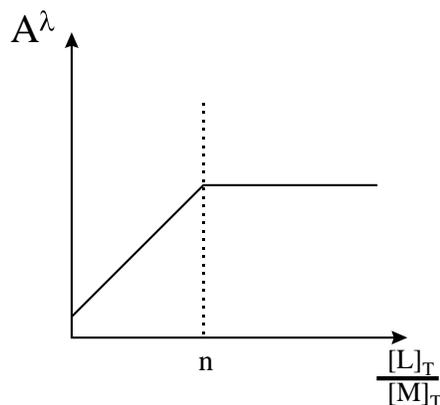
$$\alpha_c = \frac{\sum_{c=1}^{c=N} \beta_c [L]^c}{1 + \sum_{c=1}^{c=N} \beta_c [L]^c} \equiv \frac{\sum_{c=0}^{c=N} \beta_c [L]^c}{\sum_{c=0}^{c=N} \beta_c [L]^c}$$

Cuando no se lleva a cabo la formación del complejo  $\alpha_c$  es la unidad, porque  $[M]_T = [M]$ .

#### A.4. Método de relaciones molares

Habiendo determinado el número de especies presentes en solución, el próximo problema es encontrar la estequiometría de cada una de ellas. El método más simple consiste en usar el método de relaciones molares. En este método, si la reacción produce un cambio en el espectro de absorción, la absorbancia en una longitud de onda adecuada de una serie de soluciones de concentración constante de metal conteniendo variaciones de cantidad de ligando.

Idealmente dos líneas rectas son obtenidas sobre el gráfico de absorbancia observada contra la variación del metal hacia el ligando se puede observar en la figura A.1.



**Figura A.1.** Gráfico representativo de variaciones molares.

El punto de intersección correspondiente a la relación estequiométrica sobre la interpolación en el eje x. En la práctica sin embargo, deben considerarse los siguientes criterios para evitar tener datos erróneos.

- a) La reacción metal-ligando sólo forma un complejo
- b) La constante de estabilidad K es suficientemente grande para producir un punto de corte claro de intersección.
- c) Otras especies, tales como amortiguadores de pH o agentes enmascarantes estén presentes en concentraciones elevadas y pueden formar otras especies químicas.

#### A.5. Método de variaciones continuas (Método de Job)

Otra aproximación es el método de variaciones continuas. Este es popularmente atribuido a Job pero los principios fueron establecidos por Ostromslensky y Denison. Considerando la formación de un complejo  $ML_n$  descrita por la ecuación:



Una serie de soluciones son preparadas tal que la suma de las concentraciones totales del metal y del ligando sea constante. Así:

$$[M]_T + [L]_T \rightarrow C \quad (1)$$

Haciendo un balance de masa en la ecuación (1) tenemos:

$$[M] = C(1-x) - [ML_n]$$

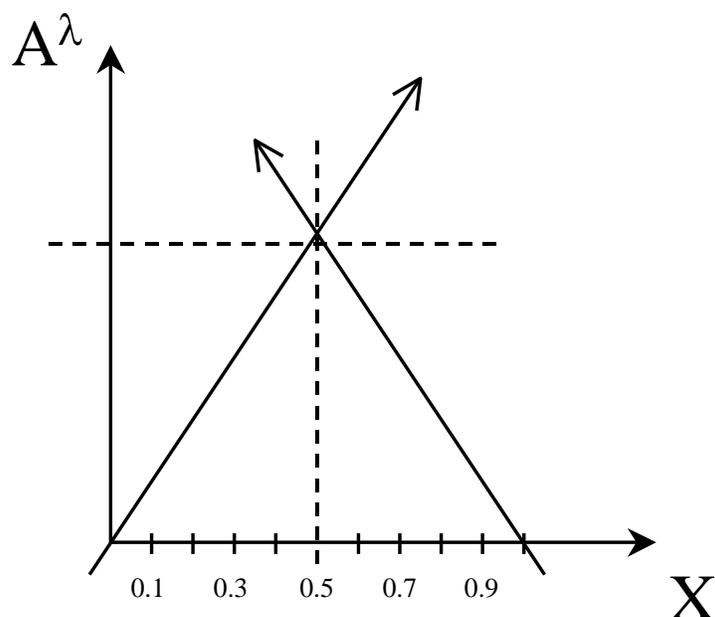
$$[L] = Cx - n[ML_n] \quad (2)$$

$$[ML_n] = \beta_n [M] [L]^n \quad (3)$$

donde  $x$  es la fracción mol de el ligando. Tomando la primera diferencial de las ecuaciones (2) y (3) y siguiendo por eliminación de  $[M]$ ,  $[L]$  y  $[ML_n]$ , produciendo un valor para  $x$ ,  $x_{\max}$  las cuales son dependientes solamente de  $n$

$$n = x_{\max}/1 - x_{\max} \quad (4)$$

Si la absorbancia de una solución esta dada a una longitud es graficada contra fracción mol de ligando dando un gráfico que se muestra en la figura A.2.



**Figura C.2.** Gráfico representativo de variaciones continuas.

El valor  $x_{\max}$  es obtenido por un valor máximo de  $A_{\text{obs}}^{\lambda}$  es de 0.5 donde la ecuación (4) es indicativo del complejo 1:1, si  $x_{\max}$  es obtenido en 0.67 o 0.75, estos valores corresponden a estequiometrías 1:2 o 1:3.

Si se considera que se cumplen la ley de Beer y aditividad es posible escribir

$$A_{\text{obs}}^{\lambda/\ell} = \epsilon_1^{\lambda} [M] + \epsilon_2^{\lambda} [L] + \epsilon_3^{\lambda} [ML_n]$$

donde  $\epsilon_1^{\lambda}$ ,  $\epsilon_2^{\lambda}$  y  $\epsilon_3^{\lambda}$  son las absorptividades molares del metal, ligando y complejo respectivamente. La absorbancia teórica debida al ligando y al metal solos, si no hubiera reacción entre ambos, puede escribirse como  $A_{\text{teo}}^{\lambda}$

$$A_{\text{teo}}^{\lambda/\ell} = \epsilon_1^{\lambda} [M] + \epsilon_2^{\lambda} [L]$$

Tomando la longitud de paso óptico como igual a la unidad de longitud, se obtiene.

$$A_{\text{obs}}^{\lambda} = \epsilon_1^{\lambda} C(1-x) - \epsilon_1^{\lambda} C[ML_n] + \epsilon_2^{\lambda} Cx - \epsilon_2^{\lambda} n [ML_n] + \epsilon_3^{\lambda} [ML_n]$$

y

$$A_{\text{teo}}^{\lambda} = \epsilon_1^{\lambda} C (1-x) + \epsilon_2^{\lambda} Cx$$

Por lo tanto la función de absorbancia corregida  $Y_{\text{calc}}^{\lambda}$ , puede ser definida como la diferencia entre  $A_{\text{obs}}^{\lambda}$  y  $A_{\text{teo}}^{\lambda}$ , por lo que el valor de  $Y_{\text{calc}}^{\lambda}$  es independiente de C y una función de  $[ML_n]$  solamente.

$$Y_{\text{calc}}^{\lambda} = A_{\text{obs}}^{\lambda} - A_{\text{teo}}^{\lambda} = \epsilon_3^{\lambda} [ML_n] - \epsilon_1^{\lambda} [ML_n] - n\epsilon_2^{\lambda} [ML_n]$$

Si no absorbe el ligando L ni el ion M libre en la región de longitudes de onda de interés, la ecuación anterior se reduce a:

$$Y_{\text{calc}}^{\lambda} = \epsilon_3^{\lambda} [ML_n]$$

Obteniéndose un máximo cuando la concentración del complejo formado se obtiene cuando se han mezclado las cantidades estequiométricas (ver ecuación 4).

Se debe considerar ciertos criterios al emplear este método tales como:

- 1) Los reactivos no deben participar en otros equilibrios tales como asociación-ion o protonación, en adición de reacciones.
- 2) La ley de acción de masa es válida en términos de concentración (la actividad de los coeficientes sea efectivamente constante)
- 3) Hay solamente un complejo formado.

Esto es usualmente posible, para asegurar conformidad experimental razonable con las primeras condiciones, la última condición no es muy complicada con ligandos uni o bi dentados y metales de transición. Resultados erróneos pueden ocurrir si el intervalo de longitud de onda estudiado es limitado.

#### **A.6. Variables de concentración secundaria**

Es posible para definir una serie de constantes de estabilidad para la formación sucesiva de complejos mononucleares involucrando dos especies. El orden para evaluar esas constantes de estabilidad es necesariamente para encontrar una relación entre las especies y las variables determinadas experimentalmente ( $[M]$ ,  $[L]$ , etc.). Esta relación es frecuentemente establecida vía la definición de variables de concentración secundaria. A continuación se describe brevemente algunos procedimientos para el cálculo de constantes.

## **B. Métodos computacionales para la determinación de constantes de equilibrio o la construcción de representaciones gráficas de sistemas multicomponentes y multirreaccionantes [A2-A8].**

### **C.2. Métodos computacionales.**

Actualmente se cuenta con métodos computacionales, que ofrecen varias ventajas sobre el empleo de métodos gráficos, como es el ágil y rápido manejo de la información experimental, que permite trabajar con sistemas más complicados y mayor número de datos, así como tener una mayor confiabilidad por el tratamiento estadístico de la información.

Se han desarrollado paquetes computacionales que permiten calcular distintos parámetros termodinámicos como son las constantes de equilibrio por ejemplo SQUAD y SUPERQUAD.

**SQUAD.**- El programa está escrito en FORTRAN y está diseñado para calcular los mejores valores para las constantes de estabilidad para un modelo propuesto, esto lo realiza por minimización de la suma de residuales al cuadrado de los valores de las absorbancia. Este programa puede refinar constantes de complejos tales como  $M_p M_q^r L_r L_s^j H_j$  donde  $p, q, r, s, j \geq 0$  y  $j$  es positiva para protones, negativa para iones hidroxilo o cero. Por esta razón este programa es una buena opción para estudios de equilibrios ácido-base para ligandos que pueden ser

ácidos o bases débiles,  $M_mL_n$  complejos mixtos de metales con ligandos, complejos protonados o hidroxocomplejos.

Para un número  $i$  de soluciones medidas y un número  $k$  de longitudes de onda, la absorbancia  $A_{ik}$  se define por la ecuación siguiente:

$$A_{ij} = \ell \sum \varepsilon_{kj} C_j$$

donde  $\varepsilon_{kj}$  es la absorptividad de cada una de las especies  $M_pL_qH_r$  a cada longitud de onda  $K$ ,  $\ell$  es la longitud del paso óptico y  $C_j$  es la concentración de cada especie, SQUAD computa los valores de las constantes de formación global minimizando la suma de cuadrados que existe entre los valores de absorbancia observados experimentalmente y los valores de absorbancia calculados por el programa [A1-A6].

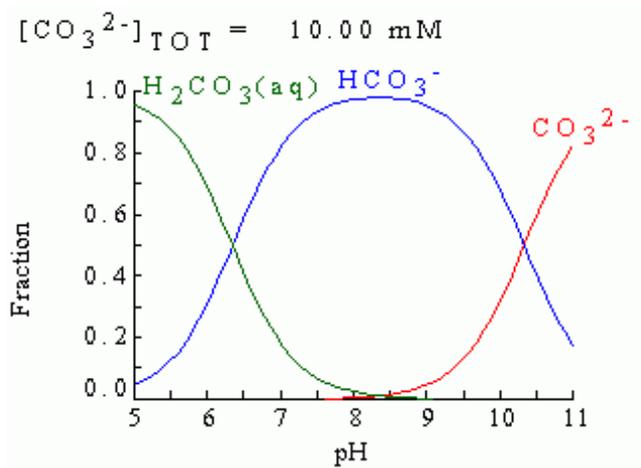
**SUPERQUAD.**- Este programa refina valores de constantes de equilibrio por minimización de la suma de cuadrados de los residuales de los potenciales de celda, de manera similar que SQUAD con los valores de absorbancia.

Es importante señalar que el mejor modelo para los programas que usan el algoritmo de diferencia de cuadrados como SQUAD y SUPERQUAD, es el que presenta el valor más pequeño de la suma de residuales al cuadrado ( $U$ ). Los residuales son las diferencias entre los valores determinados experimentalmente y los calculados por el programa para una propiedad fisicoquímica dada [A7].

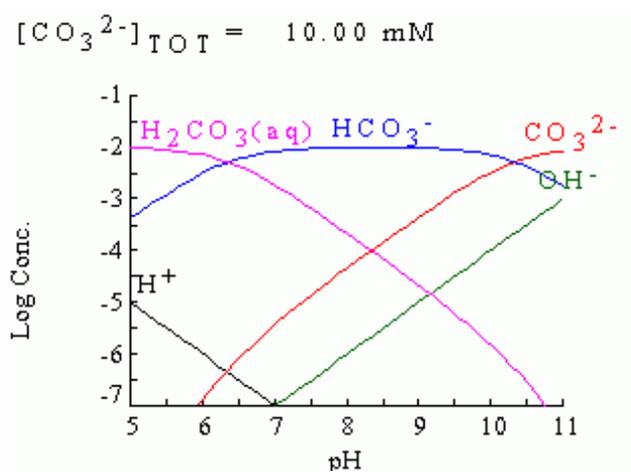
**MEDUSA.**

Es un Software de Equilibrios Químicos con el cual es posible crear diversos diagramas, por ejemplo :

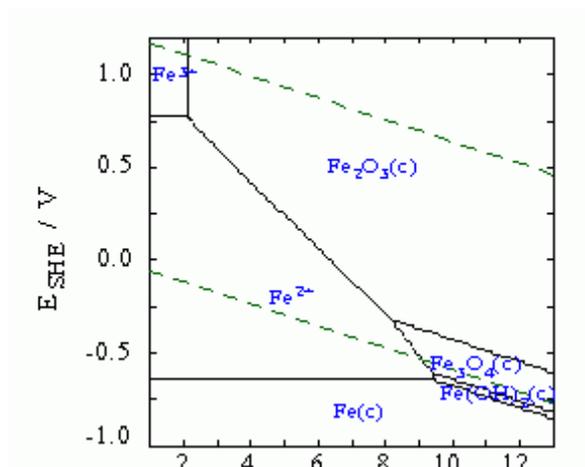
- a) Diagramas de distribución o de fracciones



- b) Diagramas logarítmicos



## c) Diagramas de zonas de predominio



Para la construcción de los diagramas se tiene el apoyo de una base de datos llamada HYDRA, que contiene una base de datos de constantes de formación a 25° C. La construcción del diagrama depende de los componentes y constantes de equilibrio que se le proporcione en función del sistema en estudio. El software fue diseñado por el Dr. Ignasi Puigdomenech para el Departamento de Química Inorgánica del Royal Institute of Technology de Estocolmo, Suecia [A8].

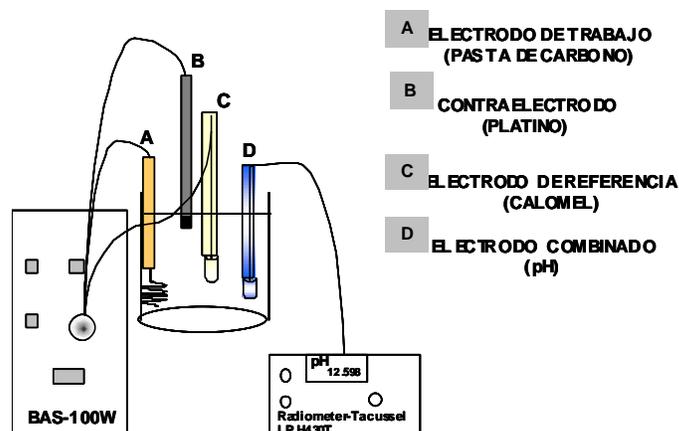
## **C.- Estudios voltamperométricos de los sistemas curcumina-Fe(III)-H<sub>2</sub>O y curcumina-Fe(II)-H<sub>2</sub>O en medios ácido y básico**

Se realizaron estudios de voltamperometría cíclica con la finalidad de poner en evidencia que puede haber una reacción redox entre la curcumina y el Fe(III), en donde se produce Fe(II) y algún producto de oxidación de la curcumina.

Es por ello que primero se presentan estudios de los sistemas binarios de curcumina-H<sub>2</sub>O, Fe(III)-H<sub>2</sub>O y Fe(II)-H<sub>2</sub>O en medios ácido y básico, para poder interpretar los resultados voltamperométricos de los sistemas ternarios curcumina-Fe(III)-H<sub>2</sub>O y curcumina-Fe(II)-H<sub>2</sub>O en medios ácido y básico.

### **C.1. Montaje experimental.**

Se utilizó una celda con un sistema de tres electrodos. Un electrodo de calomel saturado (ECS) como electrodo de referencia, un electrodo de platino como electrodo auxiliar, como electrodo de trabajo se utilizó un electrodo de pasta de carbono (EPC). El pH del sistema fue ajustado con NaOH o con HCl según fuera conveniente y fue medido con un electrodo combinado conectado a un potenciómetro Radiometer-Tacussel LPH430T (Figura C.1).



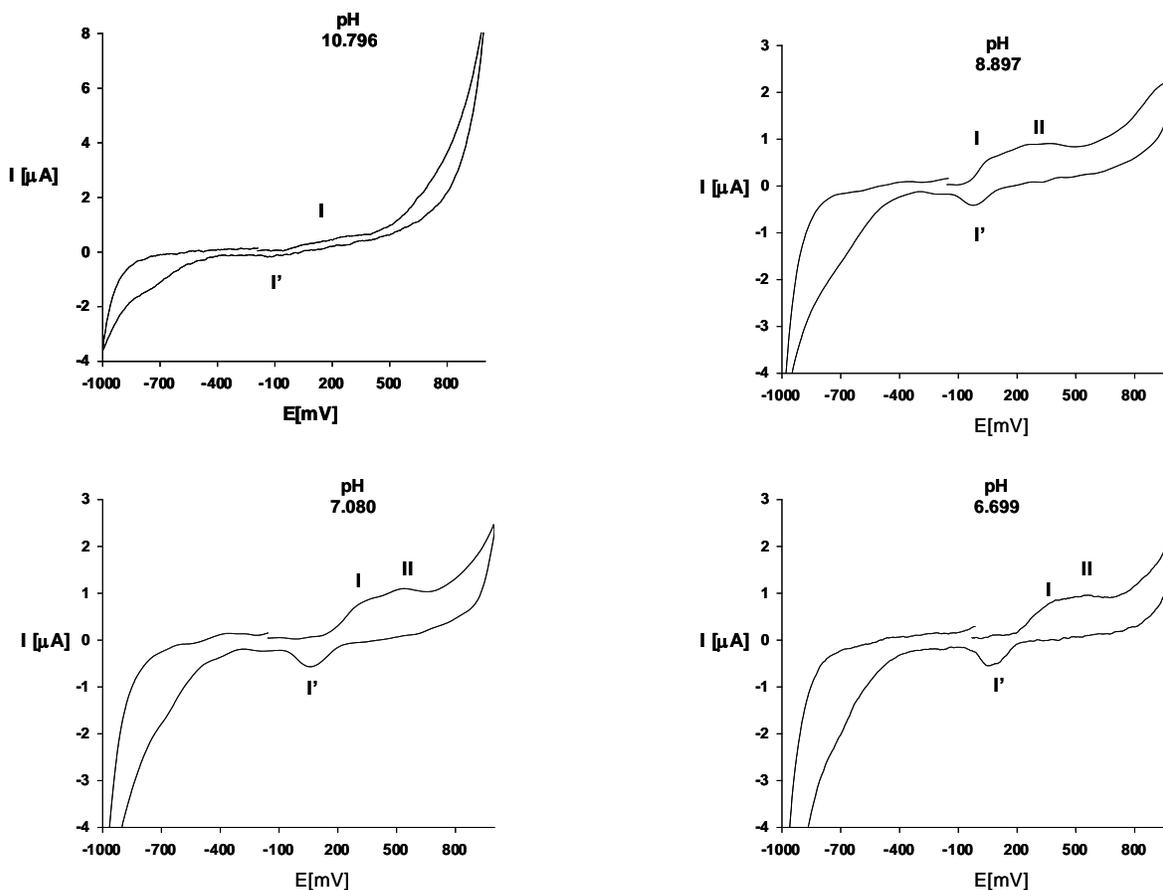
**Figura C.1.** Esquema de trabajo para el estudio electroquímico.

Las soluciones son preparadas al momento de utilizarse en todas se utiliza agua desionizada y para evitar la presencia de carbonatos se hierve y se burbujea con  $N_2$ . Los barridos son iniciados a partir del potencial de corriente nula, se mantiene el sistema con burbujeo constante de  $N_2$  durante toda la experimentación. En el caso del electrodo de trabajo, para cada barrido se renueva la superficie mediante la expulsión de la pasta de carbono. Los potenciales del electrodo de trabajo se reportan con respecto al electrodo de calomel saturado (ECS) a menos que se indique otra cosa.

## **C.2. Comportamiento electroquímico de la curcumina.**

Se obtuvieron los voltamperogramas cíclicos de la curcumina a diferentes valores de pH, en cada valor de pH de voltamperogramas se registraba el potencial de corriente nula, para medios básicos mayores de 10 se inicia el barrido en un potencial promedio de -210 mV hasta -1000 mV y luego se lleva hasta un potencial de 1000 mV y se termina el barrido en el potencial de corriente nula, los

resultados obtenidos cuando se realiza el barrido en dirección anódica se presentan en la figura C.2.



**Figura C.2.** Voltamogramas cíclicos correspondientes a curcumina  $1.95 \times 10^{-5}$  M en función del pH. Se inicia en el potencial de corriente nula. Barrido en sentido anódico. Velocidad de barrido de 100 mV/s. El valor del potencial del electrodo de trabajo, E, se reporta con respecto al electrodo de calomel saturado (ECS).

Como se puede observar en la figura C.2, se presentan dos procesos de oxidación y uno de reducción cuando se parte del potencial de corriente nula en el sentido anódico, dependiendo del valor de pH en solución. Cuando el sistema se

encuentra en medio básico, (pH 10.796) sólo se distingue un proceso de oxidación con un potencial de pico anódico  $E_{P_{al}} = 217 \text{ mV vs ECS}$ , al invertir el potencial de barrido se tiene un proceso de reducción con un potencial de pico catódico  $E_{P_{cl}'} = -112 \text{ mV vs ECS}$  cuando el valor de pH disminuye (pH 8.897) se tiene la presencia de un segundo proceso de oxidación en aproximadamente en un  $E_{P_{all}} = 336 \text{ mV vs ECS}$ . Los potenciales de los picos se hacen mayores conforme la solución se hace más ácida; en la tabla C.1. se muestran los valores de potencial de pico en función del pH.

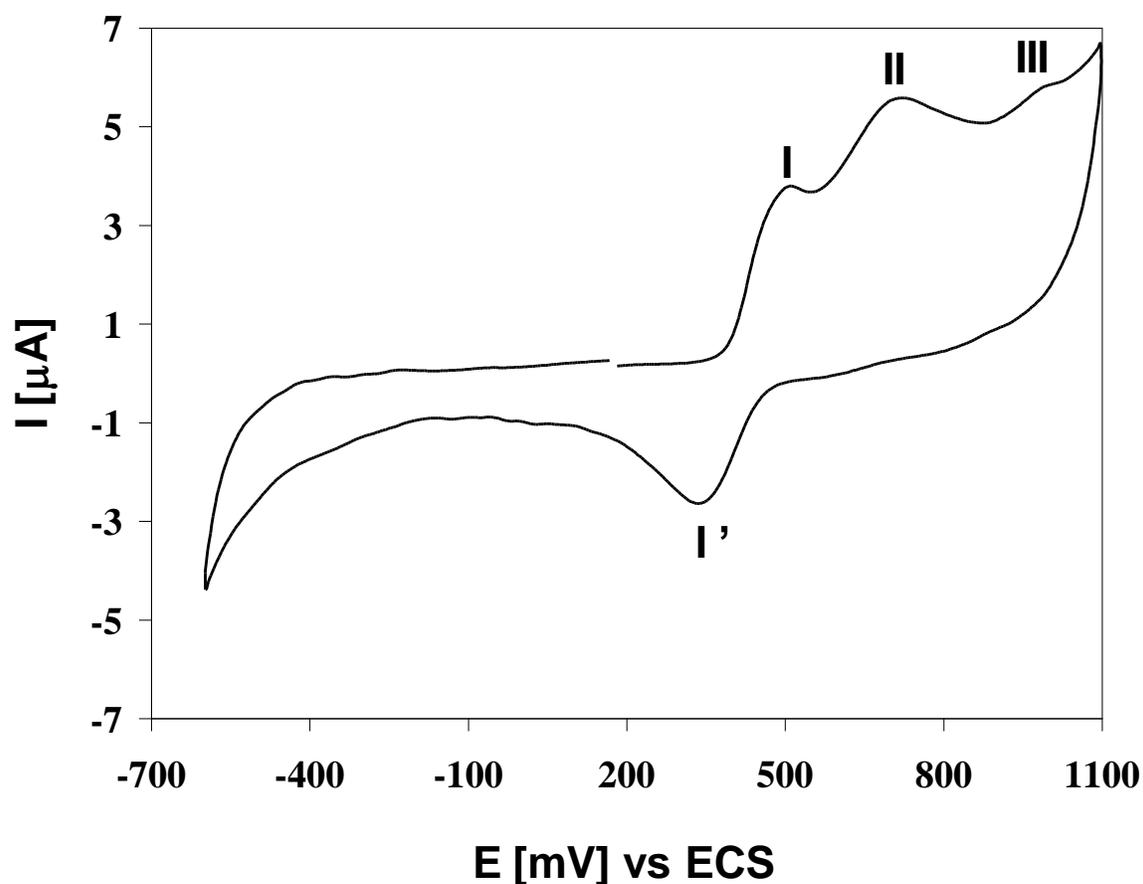
**Tabla C.1.** Valores de potenciales de pico de los procesos electroquímicos de la curcumina en función del pH.

[curcumina] (M)	Valor de pH de la solución	$E_{P_{al}}$ [mV vs ECS]	$E_{P_{all}}$ [mV vs ECS]	$E_{P_{all}}$ [mV vs ECS]	$E_{P_{cl}'}$ [mV vs ECS]
$1.95 \times 10^{-5}$	10.796	*	*	*	-112
$1.68 \times 10^{-5}$	10.000	-32.9	305	*	-115
$1.95 \times 10^{-5}$	8.897	81	331	*	-16
$1.95 \times 10^{-5}$	7.080	331	541	*	64
$1.95 \times 10^{-5}$	6.699	383	558	*	72
$2.44 \times 10^{-5}$	3.000	497	682	994	268

\* Pico no detectable

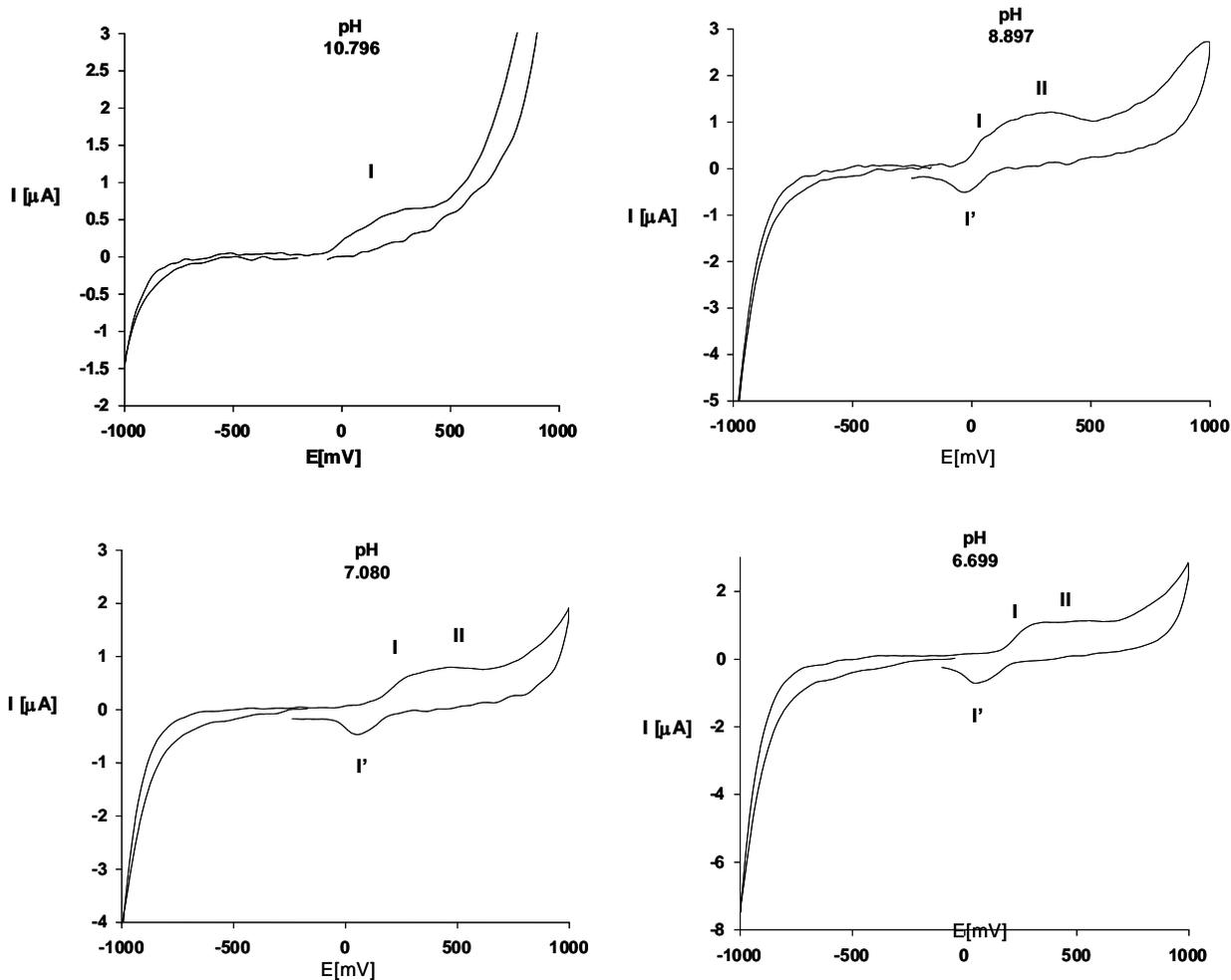
El comportamiento electroquímico de la curcumina en medio ácido (pH 3) presenta tres procesos de oxidación y uno de reducción. En la Figura D.3 se muestra el voltamperograma del sistema de curcumina  $2.44 \times 10^{-5} \text{ M}$  a pH 3, iniciando el barrido en sentido anódico. Se observa un primer pico de oxidación con un  $E_{P_{al}} = 497 \text{ mV vs ECS}$ , un segundo proceso de oxidación en  $E_{P_{all}} = 682 \text{ mV}$

vs ECS y un tercer proceso de oxidación poco definido en un  $E_{PaIII} = 994$  mV vs ECS; al invertir el potencial de barrido se presenta un proceso de reducción en un  $E_{PcI'} = 268$  mV vs ECS. El primer proceso de oxidación es característico del sistema catecol, en tanto que el segundo proceso de oxidación puede ser atribuido a la forma fenol del compuesto producto de la hidrólisis del grupo metóxido [A9-A11]



**Figura C.3.** Voltamogramas cíclicos correspondientes a curcumina  $2.44 \times 10^{-5}$  M en medio ácido (pH 3). Barrido en sentido anódico. Velocidad de barrido de 100 mV/s.

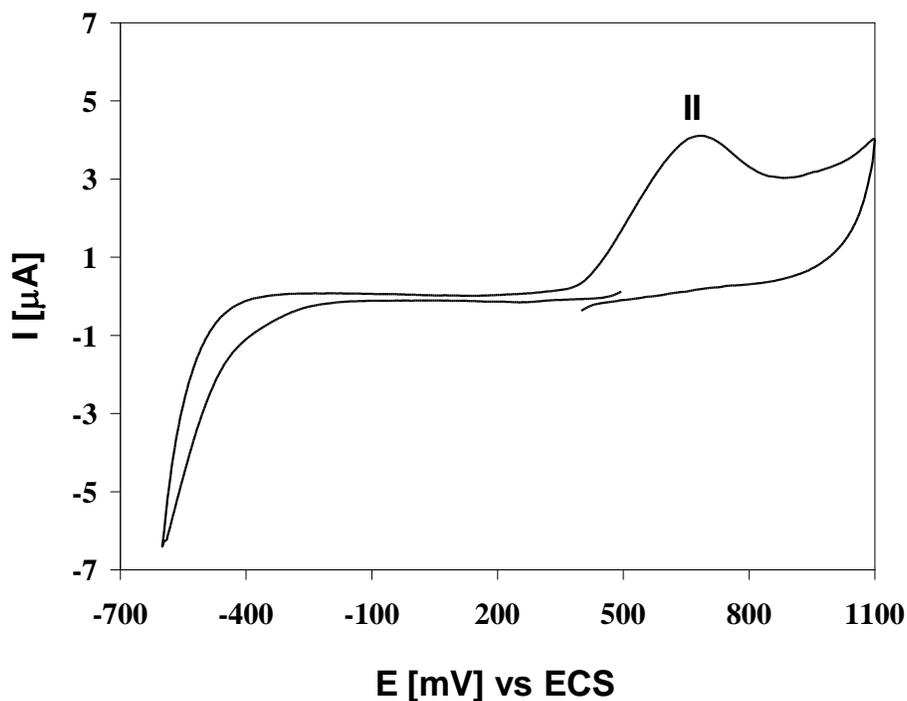
En la figura C.4 se presenta el comportamiento que tiene la curcumina al realizar los barridos partiendo del potencial de corriente nula hacia el sentido catódico.



**Figura C.4.** Voltamogramas cíclicos correspondientes a *curcumina*  $1.9510^{-5}$  M en función del pH. Barrido en sentido catódico. Velocidad de barrido de 100 mV/s. El valor del potencial del electrodo de trabajo, E, se reporta con respecto al ECS.

Al realizar el barrido en sentido catódico se siguen presentando tres procesos, dos de oxidación y uno de reducción (aunque este último sólo se observa a partir del segundo ciclo); sin embargo la dependencia del pH en el

medio permite presentar una mejor definición en medios más ácidos, lo que ocurre también cuando se realizó el barrido catódico. En la figura C.5 se presenta el voltamperograma correspondiente al barrido catódico a pH 3.

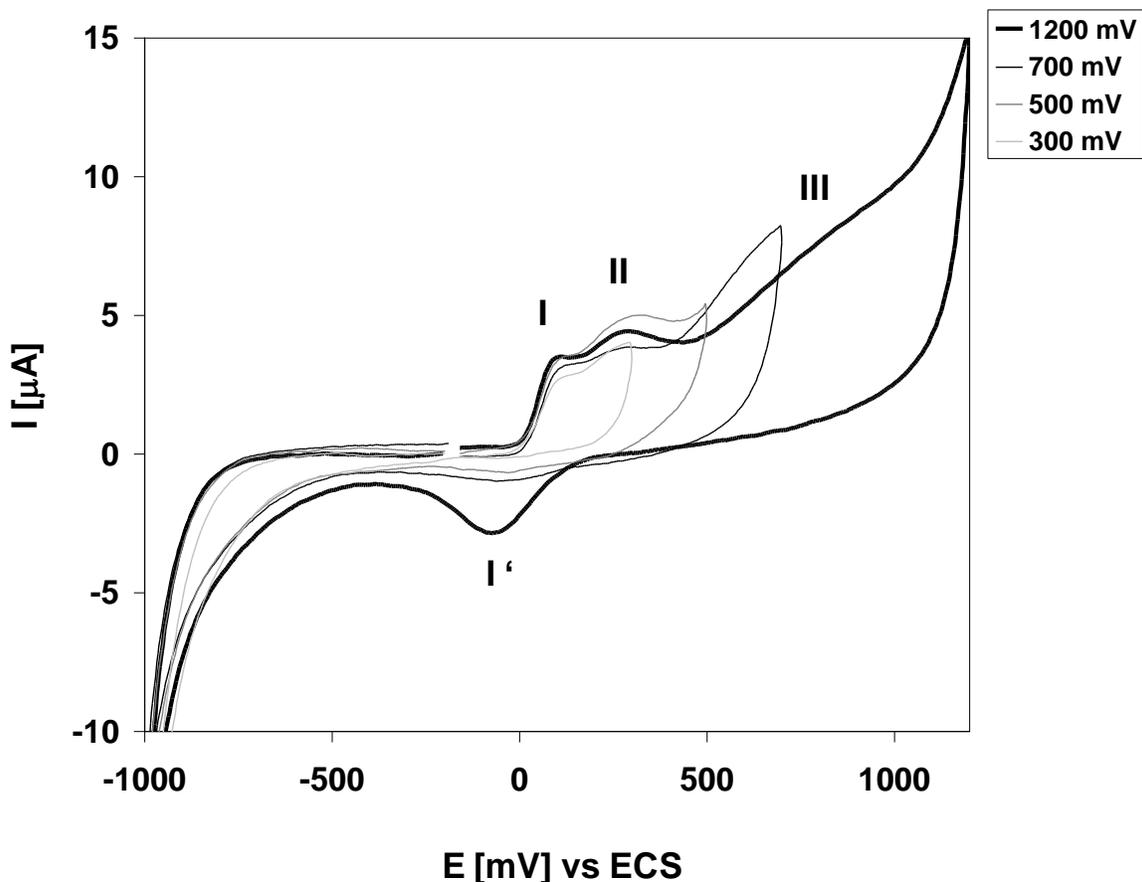


**Figura C.5.** Voltamperogramas cíclico correspondientes a curcumina  $2.4 \times 10^{-5}$  M a pH 3. Inicio del barrido en 500 mV. Sentido catódico. Velocidad de barrido de 100 mV/s.

En la figura C.5. se presenta el voltamperograma cíclico correspondiente a curcumina  $2.44 \times 10^{-5}$  M a pH 3 sobre un EPC. Al realizar el barrido en sentido catódico figura 6.10 no se presentan procesos de reducción; al invertir el potencial de barrido sólo se presenta un proceso de oxidación en un  $E_{PaII} = 685$  mV vs ECS.

Para conocer cual de los procesos de oxidación (I,II ó III) está relacionado con el proceso de reducción (I') que muestra el comportamiento de la curcumina,

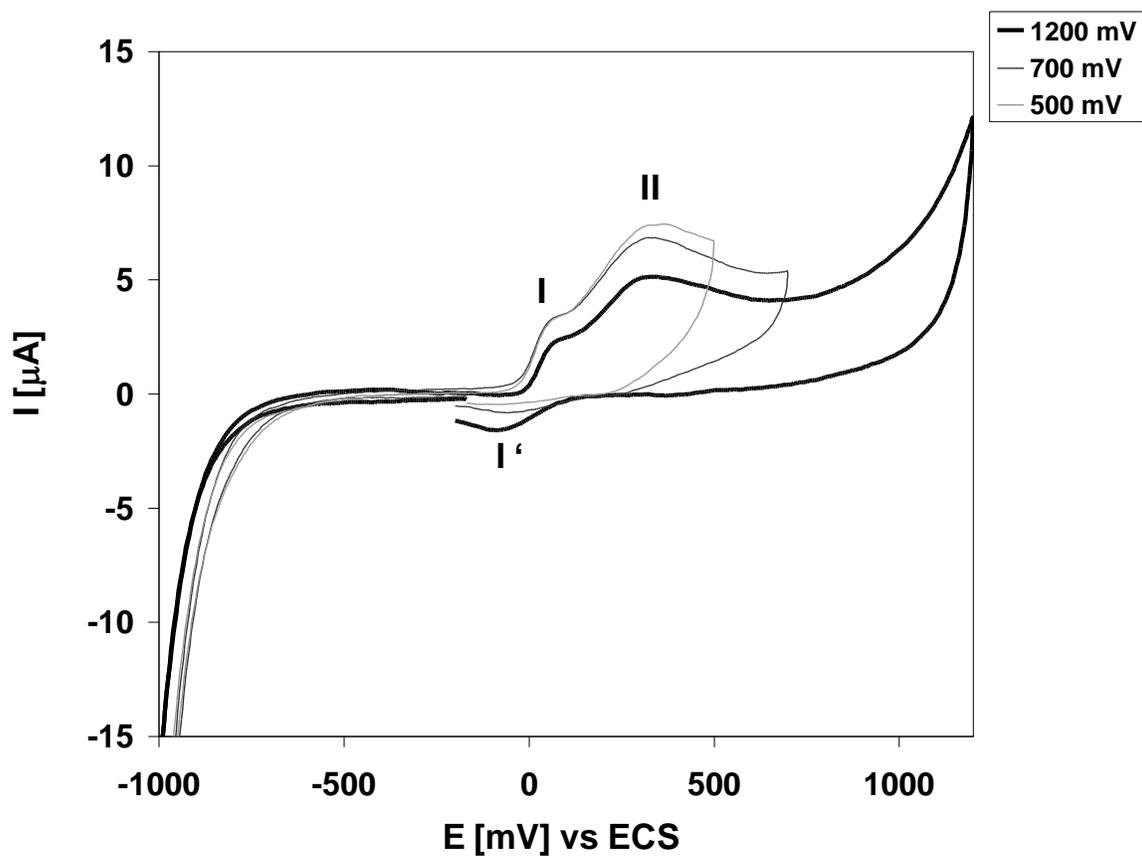
se realiza un estudio de inversión de potencial, los resultados obtenidos se presentan en las figuras C.6. y C.7.



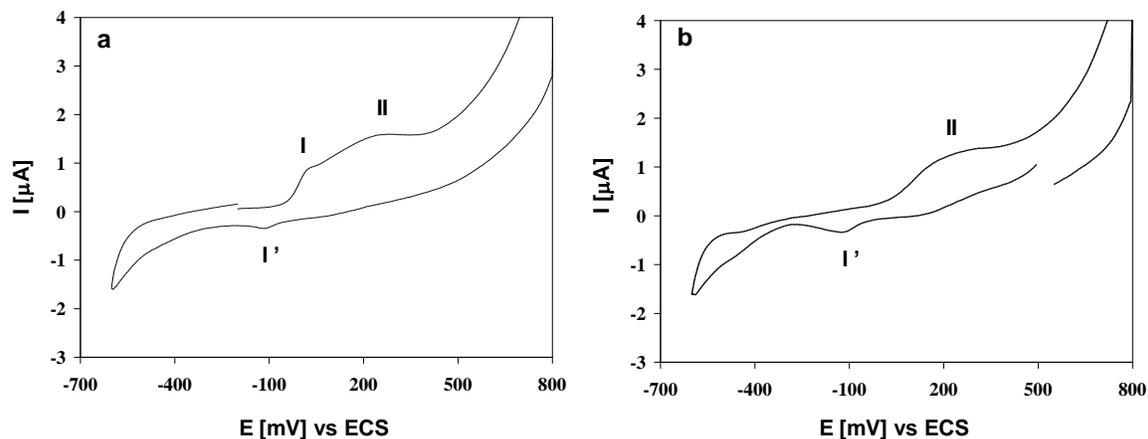
**Figura C.6.** Voltamogramas cíclicos correspondientes a curcumina  $1.95 \times 10^{-5}$  M. Influencia de la inversión de potencial anódico. Velocidad de barrido de 100 mV/s.

Como se puede observar en los voltamperogramas de las figuras C.6 y C.7, el proceso de reducción  $E_{P_{Cl}'}$  es independiente de los procesos de oxidación correspondientes a los picos  $E_{PaII}$  y  $E_{PaIII}$ . Cuando se lleva la reacción en medio básico tenemos que la definición de los picos es baja, así como la intensidad, este comportamiento lo presenta la curcumina tanto en el barrido anódico como el

catódico; en la figura C.8 se muestra el comportamiento electroquímico de la curcumina  $1.68 \times 10^{-5}$  M a pH 10.



**Figura C.7.** Voltamogramas cíclicos correspondientes a curcumina  $1.95 \times 10^{-5}$  M. Influencia de la inversión de potencial catódico. Velocidad de barrido de 100 mV/s.



**Figura C.8.** Voltamogramas cíclicos correspondientes a curcumina  $1.68 \times 10^{-5}$  M en medio básico (pH 10): **a)** sentido anódico, **b)** sentido catódico. Velocidad de barrido de 100 mV/s.

En la Figura C.8a se presentan dos procesos de oxidación, el primero poco definido en un  $E_{PaI} = -32.9$  mV vs ECS, un segundo proceso en un  $E_{PaII} = 305$  mV vs ECS en forma de meseta, al invertir el potencial de barrido se tiene un proceso de reducción en un  $E_{PcI}' = -115$  mV vs ECS; el barrido en sentido catódico (Figura 6.13b) se tiene la presencia de un pico de reducción en un  $E_{PcI}' = -125$  mV vs ECS, al invertir el barrido de potencial sólo un proceso de oxidación en forma de hombro en un  $E_{PaII} = 315$  mV vs ECS.

a curcumina en medio básico.

Los procesos a los cuales se han denominado como  $E_{PaI}$ ,  $E_{PaII}$ ,  $E_{PaIII}$  y  $E_{PcI}'$ ; sufren un desplazamiento en sus valores de potencial en función del pH, como se puede observar en la Tabla C.2.

**Tabla C.2.** Valores de potenciales de los procesos electroquímicos de la curcumina en medio ácido y básico

	$E_{PaI}$	$E_{PaII}$	$E_{PaIII}$	$E_{PcI}'$
	[mV vs ECS]	[mV vs ECS]	[mV vs ECS]	[mV vs ECS]
Medio ácido				
(pH 3)				
Barrido anódico	497	682	994	268
Barrido catódico	*	685	*	*
Medio básico				
(pH 10)				
Barrido anódico	-32.9	305	*	-115
Barrido catódico	*	315	*	-125

\* No se presenta pico

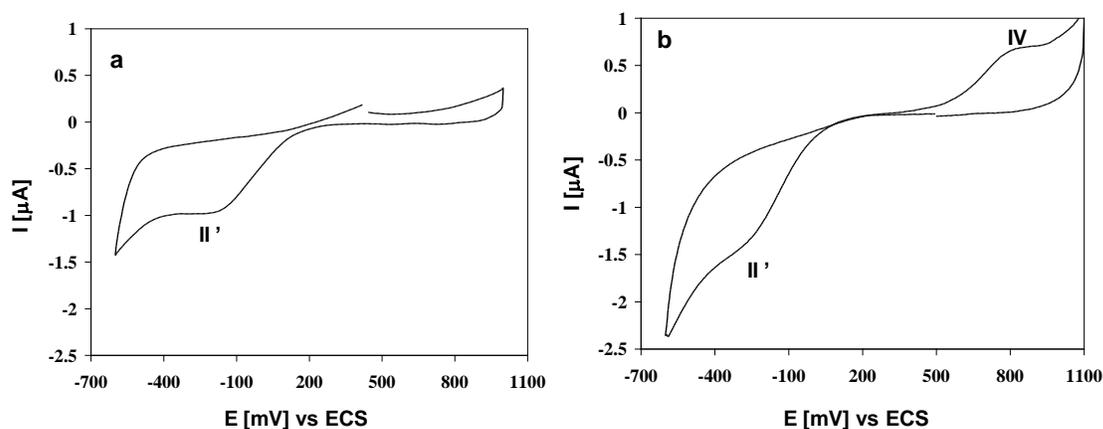
El pico de oxidación  $E_{PaI}$  que se presenta a pH 3 tiene un desplazamiento de 529 mV hacia potenciales más negativos al iniciar el barrido de potencial a pH 10, el  $E_{PaII}$  cuando se tiene a la curcumina a pH 3 se desplaza 370 mV hacia potenciales más negativos al iniciar a pH 10, mientras que el proceso de oxidación  $E_{PaIII}$  sólo se presenta al iniciar el potencial de barrido en sentido anódico a pH 3. Con respecto al  $E_{PcI}'$  está presente a pH 3 sólo cuando se realiza la inversión del barrido de potencial, mientras que en pH 10 se presenta tanto en barrido de potencial anódico como catódico, desplazándose 383 mV el valor de potencial de pH 3 a 10 hacia valores más negativos (tabla C.2.), además de mostrar mejor definición cuando el sistema se encuentra a pH 3 (figuras C.4 y C.6.).

Una vez caracterizado el comportamiento electroquímico de la curcumina se realiza el estudio con los iones Fe(III) y Fe(II).

### C.3. Comportamiento electroquímico de soluciones acuosas de Fe(III) y Fe(II).

Se realizan los voltamperogramas cíclicos para Fe(II) y Fe(III) para el registro de los picos de oxidación y reducción de ambos. Hay que señalar que en el caso del Fe(II) la solución se mantiene más controlado el burbujeo de N<sub>2</sub>.

En la Figura C.9 se muestran los voltamperogramas correspondientes al Fe(III) 5.27x10<sup>-5</sup> M, a pH 3.8.

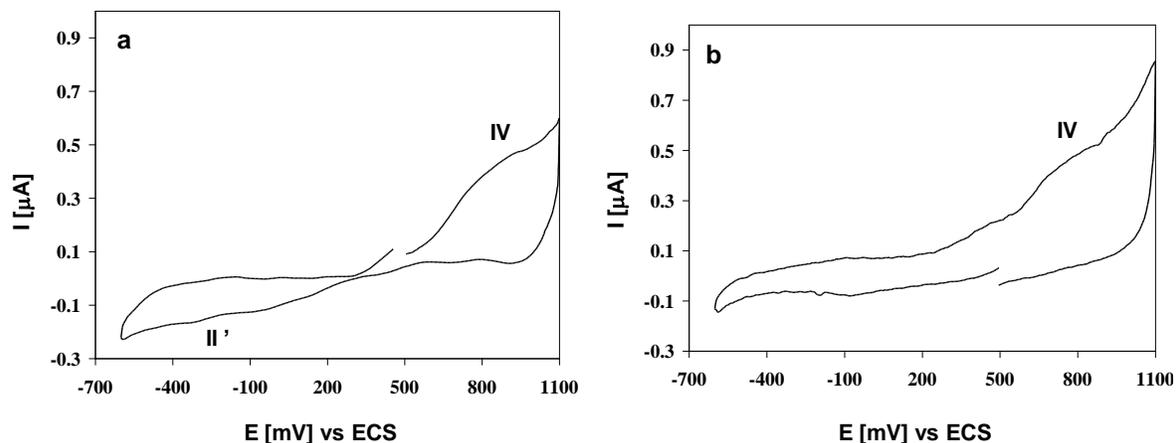


**Figura C.9.** Voltamperogramas cíclicos correspondientes a Fe(III) 5.27x10<sup>-5</sup> M en medio ácido (pH 3.8). **a)** barrido anódico **b)** barrido catódico. Velocidad 100 mV/s

Cuando se inicia el barrido de potencial en sentido anódico no se observa ningún proceso de oxidación, al invertir el potencial de barrido se presenta un proceso de reducción forma de meseta en un  $E_{P_{cII}'} = -275$  mV vs ECS, el cual se le asigna a la reducción del Fe(III). Al iniciar el barrido en sentido catódico (Figura C.9b) se tiene el proceso de reducción en un  $E_{P_{cII}'} = -269$  mV vs ECS, atribuido al

proceso de reducción del Fe(III) a Fe(II), al invertir el potencial de barrido se presenta un pico de oxidación en un  $E_{PaIV} = 870$  que se le asigna a la oxidación del Fe(II) formado anteriormente.

Los voltamperogramas cíclicos correspondientes al Fe(II)  $1.39 \times 10^{-5}$  M a pH ácido se muestran en la Figura C.10.



**Figura C.10.** Voltamperogramas cíclicos correspondientes Fe(II)  $1.39 \times 10^{-5}$  M medio ácido (pH 4). **a)** barrido anódico **b)** barrido catódico. Velocidad de barrido de 100 mV/s.

Al iniciar el barrido de potencial en sentido anódico se tiene un pico de oxidación en un  $E_{PaIV} = 870$  mV vs ESC, se le asigna a la oxidación del Fe(II), al invertir el potencial de barrido se tiene un proceso de reducción en un  $E_{PcII}' = -295$  mV vs ECS el cual es atribuido a la reducción de Fe(III) formado; al iniciar el barrido en sentido catódico (figura C.10b) no se presentan procesos de reducción, al invertir el potencial de barrido se tiene un pico de oxidación en un  $E_{PaIV} = 840$  mV vs ECS asignado a la oxidación del Fe(II).

Los valores de potencial de los procesos de oxidación y reducción de Fe(III) y Fe(II) a las condiciones experimentales planteadas se presentan en la tabla C.3.

**Tabla C.3.** Valores de potenciales de los procesos electroquímicos del Fe(III) y Fe(II) en medio ácido.

	$E_{PaIV}$	$E_{PcII'}$
	[mV vs ECS]	[Mv vs ECS]
<b>Fe(III)</b>		
Barrido anódico	*	-269
Barrido catódico	870	-275
<b>Fe(II)</b>		
Barrido anódico	870	-295
Barrido catódico	840	*

\* No se presenta pico

La tabla C.3 muestra el valor de potencial asignado a la oxidación de Fe(II) ( $E_{PaIV}$ ), el cual se mantiene en ambos barridos de Fe(II) y se presenta al iniciar el barrido en sentido catódico para Fe(III), mientras que el valor de  $E_{PcII'}$  se presenta en ambos barridos para el Fe(III) y sólo se tiene en el Fe(II) cuando se inicia el barrido en sentido anódico.

El registro de los voltamperogramas del sistema Fe(III)/Fe(II) en medio básico es complicado por la formación de hidroxocomplejos insolubles, por lo que no se pudo tener una respuesta voltamperométrica adecuada en este trabajo.

Una vez caracterizados los picos de oxidación y reducción para Fe(III) y Fe(II), se registran los voltamperogramas cíclicos correspondientes a su interacción con la curcumina.

#### **C.4. Comportamiento electroquímico de los sistemas curcumina-Fe(III) y curcumina-Fe(II). Medio ácido.**

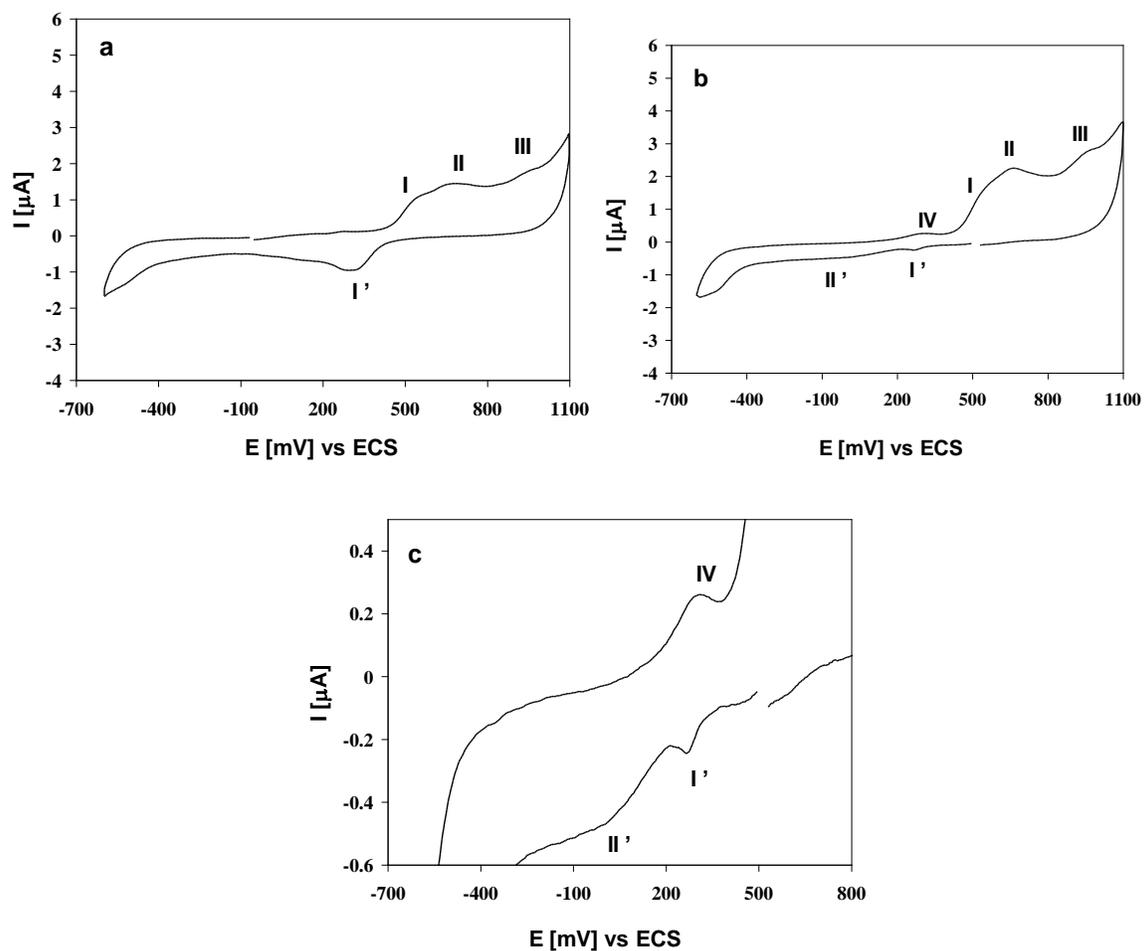
Se realiza el estudio electroquímico en medio ácido (pH 3), en estas condiciones experimentales el comportamiento presentado para los sistemas de curcumina-Fe(III) y curcumina-Fe(II) son diferentes.

Los voltamperogramas del sistema de curcumina-Fe(III) a pH 3, se muestran en la Figura C.11.

La Figura C.11a. muestra el voltamperograma correspondiente a curcumina  $2.44 \times 10^{-5}$  M -Fe(III)  $1.99 \times 10^{-5}$  M, al iniciar el barrido en sentido anódico, el cual registra tres procesos de oxidación el primero poco definido (formación de un hombro) en un  $E_{PaI} = 557$  mV vs ECS, el segundo en  $E_{PaII} = 687$  mV vs ECS y el tercero en forma de hombro en un  $E_{PaIII} = 977$  mV vs ECS, al invertir el potencial de barrido en sentido catódico se tiene un pico de reducción en un  $E_{PcI}' = 303$  mV vs ECS. Estos picos al parecer están relacionados con procesos electroquímicos similares a los que se dan en el sistema binario curcumina-H<sub>2</sub>O en medio ácido (ver Figura C.3 y Tabla C.2).

La Figura C.11b presenta el voltamperograma correspondiente a curcumina  $2.44 \times 10^{-5}$  M -Fe(III)  $1.99 \times 10^{-5}$  M iniciando el barrido en sentido catódico, en el cual se observan un proceso de oxidación y dos procesos de reducción no muy definidos porque los picos son pequeños, por lo que se realiza una ampliación en el intervalo de potenciales correspondiente (figura C.11c). En las figuras C.11b y C.11c se pueden observar los dos procesos de reducción, el primero en un  $E_{PcI}' = 265$  mV vs ECS y en el segundo en un  $E_{PcII}' = -30$  mV vs ECS; al invertir el potencial de barrido se presentan cuatro procesos de oxidación, el primero en un

$E_{PaIV} = 315$  mV vs ECS, el segundo, con forma de hombro, en un  $E_{PaI} = 550$  mV vs ECS; el tercero en un  $E_{PaII} = 670$  mV vs ECS y el cuarto en un  $E_{PaIII} = 985$  mV vs ECS (Figura C.11b). Un resumen de esta información se ha presentado en la Tabla C.4.



**Figura C.11.** Voltamogramas cíclicos de correspondientes curcumina  $2.44 \times 10^{-5}$  M -Fe(III)  $1.99 \times 10^{-5}$  M medio ácido (pH 3). **a)** sentido anódico. **b)** sentido catódico. **c)** ampliación del barrido catódico. Velocidad de barrido de  $100$  mV/s.

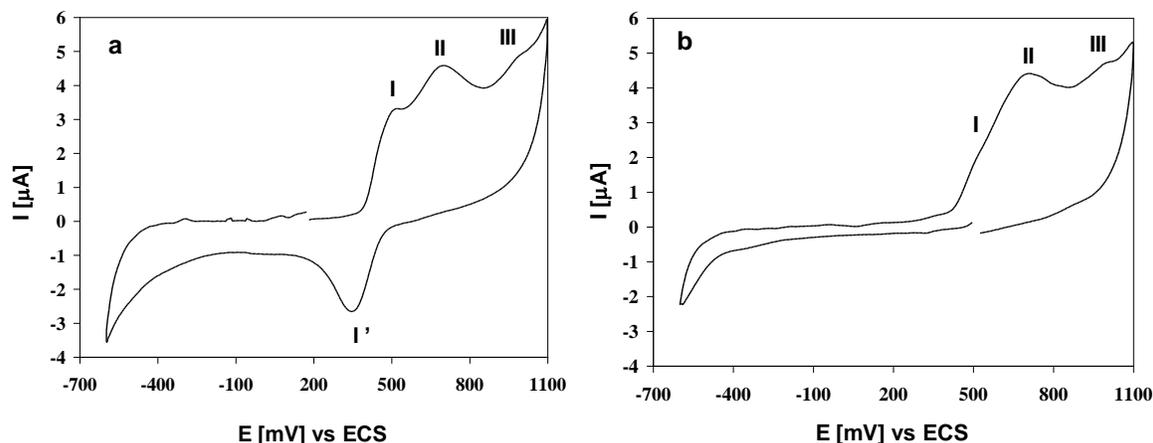
**Tabla C.4.** Valores de potenciales de los picos de los procesos electroquímicos de los sistemas de curcumina-Fe(III) y curcumina-Fe(II) en medio ácido (pH 3).

Sistema en medio ácido (pH 3)	$E_{Pal}$ [mV vs ECS]	$E_{Pall}$ [mV vs ECS]	$E_{PallI}$ [mV vs ECS]	$E_{PalIV}$ [mV vs ECS]	$E_{PcI'}$ [mV vs ECS]	$E_{PcII'}$ [mV vs ECS]
<b>Curcumina-Fe(III)</b>						
Barrido anódico	557	687	977	*	303	*
Barrido catódico	550	670	985	315	265	-30
<b>Curcumina-Fe(II)</b>						
Barrido anódico	512	702	1002	*	343	*
Barrido catódico	510	710	1005	*	*	*

\* Pico no detectable

Como también se puede observar en la Figura C.11 y en la Tabla C.4, los picos IV y II' sólo se observan en los voltamperogramas del sistema curcumina-Fe(III)-H<sub>2</sub>O en medio ácido (pH 3), cuando se inicia el barrido en el sentido catódico. Es más, si se compara el valor de  $E_{PalIV}$  con los reportados en la Tabla C.3 se observa un desplazamiento del pico de aproximadamente 400 mV hacia potenciales menos positivos, en presencia de curcumina; en tanto que el valor de  $E_{PallI'}$  parece desplazado unos 250 mV hacia potenciales más positivos. Esto implica que la presencia de curcumina afecta tanto a la oxidación del Fe(II) como a la reducción del Fe(III), lo que apoya la hipótesis que se forman complejos de curcumina con las especies de Fe en ambos estados de oxidación.

Una vez realizado el estudio de caracterización del sistema curcumina-Fe(III), se efectúa la caracterización del sistema curcumina-Fe(II). En la figura C.12 se presentan los voltamperogramas correspondientes al sistema de curcumina  $1.67 \times 10^{-5} \text{M-Fe(II)}$   $1.56 \times 10^{-5} \text{M}$  a pH 3:



**Figura C.12.** Voltamperogramas cíclicos correspondientes a curcumina  $1.67 \times 10^{-5} \text{M}$ -Fe(II)  $1.56 \times 10^{-5} \text{M}$  en medio ácido (pH 3). **a)** sentido anódico. **b)** sentido catódico. Velocidad de barrido de 100 mV/s.

El voltamperograma de la figura C.12a, realizando el barrido inicial en el sentido anódico, muestra tres procesos de oxidación, el primero en un  $E_{\text{PaI}} = 512 \text{ mV vs ECS}$ , el segundo en un  $E_{\text{PaII}} = 702 \text{ mV vs ECS}$  y el tercero en un  $E_{\text{PaIII}} = 1002 \text{ mV vs ECS}$ ; al invertir el potencial de barrido se tiene un proceso de reducción en un  $E_{\text{PcI}'} = 343 \text{ mV vs ECS}$ .

Al iniciar el barrido de potencial en sentido catódico (Figura C.7b) no se presenta ningún proceso de reducción, al invertir el potencial de barrido en sentido anódico se presentan un hombro y dos picos de oxidación, el primero en un  $E_{\text{PaI}} = 510 \text{ mV vs ECS}$ , el segundo en un  $E_{\text{PaII}} = 710 \text{ mV vs ECS}$  y el tercero no muy definido en un  $E_{\text{PaIII}} = 1005 \text{ mV vs ECS}$ .

Existe un pequeño desplazamiento de los valores de potencial en los sistemas de curcumina-Fe(III) y curcumina-Fe(II) como se puede observar en la Tabla C.4.

La presencia de Fe(III) o Fe(II) en el sistema modifica en forma y valor de potencial al proceso  $E_{\text{PaI}}$  teniendo el mayor desplazamiento en presencia de Fe(II)

de 60 mV hacia potenciales menos positivos, además de que se presentan tanto al iniciar en sentido anódico como catódico en presencia de Fe(III) o de Fe(II). El proceso  $E_{PaII}$  se modifica de igual manera que  $E_{PaI}$ , aunque el mayor desplazamiento se tiene con la presencia de Fe(II) desplazando el valor 17 mV hacia potenciales más positivos; el proceso  $E_{PaIII}$  disminuye en valor de potencial en presencia de Fe(III), hacia valores de potencial más negativo; mientras que con el Fe(II) se desplaza el valor de potencial 11 mV a valores más positivos.

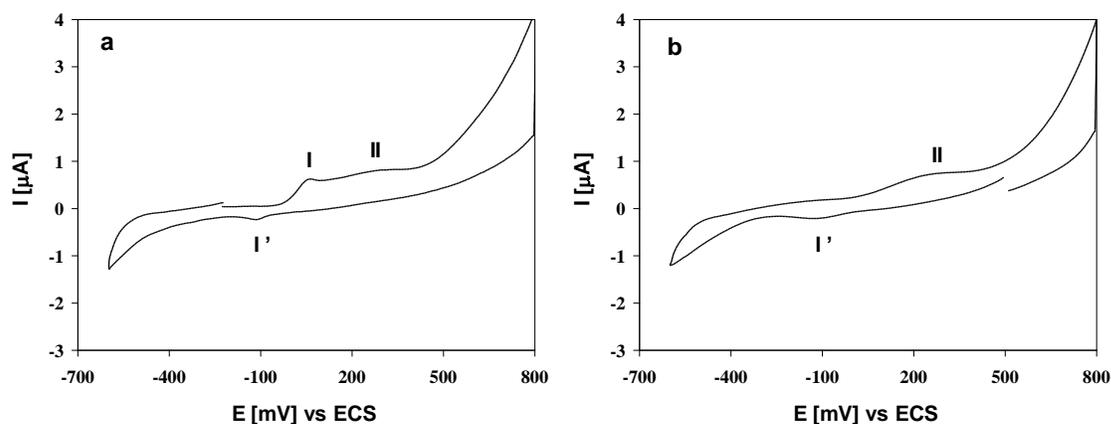
El pico  $E_{PcII}'$  se le asigna a la reducción del complejo formado por el Fe(III) y curcumina, considerando el valor de potencial del Fe(III) (tabla C.3) se tiene un desplazamiento de 239 mV hacia potenciales más positivos cuando forma la interacción con la curcumina, este proceso no se presenta en el sistema con Fe(II), lo que apoya la hipótesis de la formación del complejo curcumina-Fe(III). Para el caso de  $E_{PaII}$  y  $E_{PaIII}$ , se ven modificados principalmente por la presencia de Fe(II), indicando la interacción química del Fe(II) con la curcumina.

Por la forma de los picos  $E_{PcI}'$  y  $E_{PaI}$  indicando un proceso de adsorción dado por la curcumina, y se ve afectado por la presencia de Fe(II) y Fe(II) (tabla 6.5) así como el pH del medio.

En medio básico tenemos la similitud en el comportamiento espectrofotométrico de los sistemas de curcumina con Fe(III) y Fe(II). El comportamiento electroquímico presentado por este sistema se describe a continuación

### C.5. Comportamiento electroquímico de los sistemas curcumina- Fe(III) y curcumina-Fe(II). Medio básico.

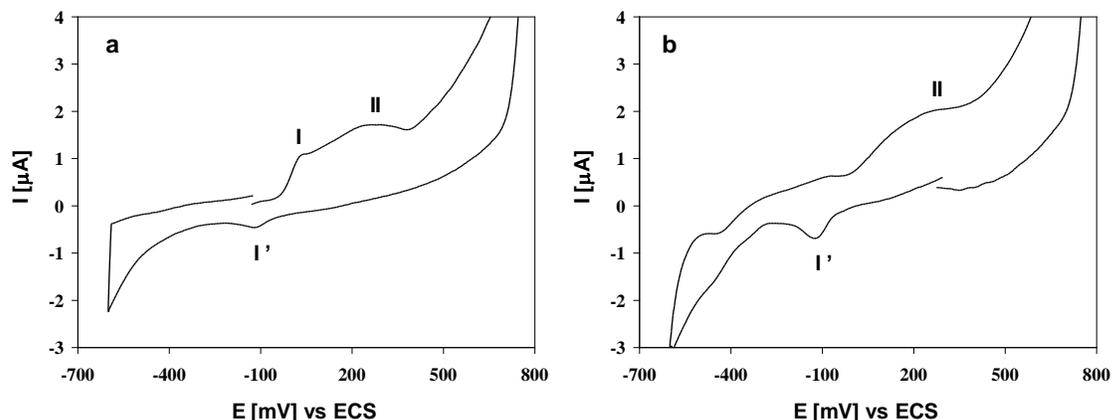
Los voltamperogramas correspondientes al sistema de curcumina  $1.68 \times 10^{-5}$  M-Fe(III)  $1.54 \times 10^{-5}$  M pH 10 se presentan en la Figura C.13.



**Figura C.13.** Voltamperogramas cíclicos correspondientes al sistema curcumina  $1.68 \times 10^{-5}$  M-Fe(III)  $1.54 \times 10^{-5}$  M medio básico (pH 10). **a)** barrido anódico. **b)** barrido catódico. Velocidad de barrido de 100 mV/s.

Los voltamperogramas realizados iniciando el barrido en sentido anódico, presentan dos procesos de oxidación, el primero en un  $E_{PaI} = 58$  mV vs ECS y el segundo en un  $E_{PaII} = 283$  mV vs ECS, al invertir el potencial de barrido se tiene un proceso de reducción en un  $E_{PcI}' = -113$  mV vs ECS, cuando se realiza el barrido en sentido catódico (Figura 6.18b) se tiene un solo proceso de reducción en un  $E_{PcI}' = -115$  mV vs ECS, al invertir el potencial de barrido se presenta un proceso de oxidación en forma de un hombro en un  $E_{PaII} = 295$  mV vs ECS.

Los voltamperogramas correspondientes al sistema curcumina  $1.85 \times 10^{-5}$  M-Fe(II)  $1.59 \times 10^{-5}$  M a pH 10 se presentan en la figura C.14.



**Figura C.14.** Voltamperogramas cíclicos correspondientes al sistema: curcumina  $1.85 \times 10^{-5}$  M- Fe(II)  $1.59 \times 10^{-5}$  M, pH 10. **a)** barrido anódico. **b)** barrido catódico. Velocidad de barrido de 100 mV/s

La figura C.14a. muestra el voltamperograma del sistema curcumina  $1.85 \times 10^{-5}$  M- Fe(II)  $1.59 \times 10^{-5}$  M al iniciar el barrido en sentido anódico presentando dos procesos de oxidación, el primero en un  $E_{PaI} = 55$  mV vs ECS y el segundo en un  $E_{PaII} = 280$  mV vs ECS, al invertir el potencial de barrido se tiene un proceso de reducción en un  $E_{PcI}' = -115$  mV vs ECS. En el caso del barrido catódico (figura 6.19b) se tiene la presencia de un pico de reducción en un  $E_{PcI}' = -120$  mV vs ECS, al invertir el potencial de barrido se tiene un proceso de oxidación (formación de un hombro) en un  $E_{PaII} = 280$  mV vs ECS.

El proceso de reducción  $E_{PcI}'$  no se ve afectado en su valor de potencial independiente del inicio del sentido de barrido (anódico o catódico) como se muestra en la Tabla C.5.

**Tabla C.5.** Valores de potenciales de los picos de los procesos electroquímicos de los sistemas de curcumina-Fe(III) y curcumina-Fe(II) en medio básico (pH 10).

Sistema en medio básico (pH 10)	$E_{Pal}$ [mV vs ECS]	$E_{Pall}$ [mV vs ECS]	$E_{Palll}$ [mV vs ECS]	$E_{Pcl'}$ [mV vs ECS]	$E_{PcII'}$ [mV vs ECS]
Curcumina-Fe(III)					
Barrido anódico	58	283	*	-113	*
Barrido catódico	*	295	*	-115	*
Curcumina-Fe (II)					
Barrido anódico	55	280	*	-115	*
Barrido catódico	*	280	*	-120	*

\* Pico no detectable

Como se puede observar en los valores de potenciales obtenidos, los procesos de oxidación  $E_{Pal}$  y  $E_{Pall}$  se encuentran desplazados hacia potenciales más positivos con respecto a los valores obtenidos para la curcumina (tabla C.2) indican la interacciones de los iones con la curcumina. El proceso de reducción  $E_{Pcl'}$  mantiene su valor de potencial con respecto a la curcumina sola (tabla C.3), apoyando así la propuesta del fenómeno de adsorción de la curcumina sobre el electrodo y no se ve afectado el procesos por la presencia de Fe(III) o Fe(II), ya que mantiene su valor de potencial (tabla C.3).

Con base a los valores de potencial (tabla C.5) y al comportamiento similar de los voltamperogramas de ambos sistemas, llevan a indicar que se tienen prácticamente los mismos procesos en medio básico tanto para el sistema curcumina-Fe(III) como para el de curcumina-Fe(II) (tabla C.3). El estudio electroquímico apoya la hipótesis de la reducción de Fe(III) por la curcumina en medio básico con la formación de los complejos curcumina-Fe(II) por el exceso del ligando. Esto explica la similitud del comportamiento espectrofométrico del sistema curcumina-Fe(III) en medio básico con el de curcumina-Fe(II).

Es por ello que la formación de los complejos del sistema curcumina-Fe(III) debe estudiarse en medio ácido. Por consiguiente, para el cálculo de las constantes de formación de los complejos de curcumina-Fe(III) se emplean los espectros UV-VIS obtenidos iniciando en medio ácido.

### Referencias de los anexos.

- [A1].- F. R. Hartley, C. Burgees and R. M. Alcock. *Solution Equilibria*. Ellis Horwood New York, N.Y. 15-59, 117-137. (1980).
- [A2].- M. T. Ramírez, A. Rojas-Hernández, Ignacio González. *Talanta*. 44, (1997) 31-37.
- [A3].- P. Balderas-Hernández, Ma. T. Ramírez, A. Rojas-Hernández and Atilano Gutiérrez. *Talanta*. 46 (1998) 1439-1452.
- [A4].- D. Legget. *Computational Methods for the Determination of Formation Constants*. Plenum. New York. (1995) 159-217.
- [A5].- M. A. Villegas-González, D. Bonilla-Martínez, Ma. T. Ramírez and A. Rojas-Hernández. *Recent Re. Devel. In Pure & Applied Anal. Chem.* 1 (1998) 1-7.
- [A6].-M. Meloun, J. Havel and E. Högfeltd. Computation of Solution Equilibria: A guide to Methods in Potentiometry, Extraction and Spectrophotometry. Ellis Horwood. Chichester. (1988) 203-297.
- [A7] P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1985), 1195.
- [A8] Puigdomenech, I. MEDUSA (Making Equilibrium Diagramas Using Sophisticated Algorithms) <http://www.kemi.kth.se/medusa/>, consultada en marzo de 2009
- [A9] M. Born, P-A Carrupt, R. Zini, F. Brée, J-P Tillement, K. Hosteotmaun, B. Testa, *Helv. Chim. Acta* 79 (1996) 1147
- [A10] Z. Stanic, A.Voulgaropoulos, S. Girousia, *Electroanalysis* 20 (2008) 1263
- [A11].- A. Navas Diaz, M.C. Ramos Peinado. *J. Agric. Food Chem.* 40 (1992) 56-59

**Estudio y especiación química de  
los compuestos orgánicos  
diisopropiliminodiacetoamida y  
curcumina con iones de interés  
farmacéutico y clínico**

**TESIS QUE PRESENTA LA  
Q.F.B. MARGARITA BERNABÉ PINEDA  
PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTORA EN CIENCIAS (QUÍMICA)**



**ASESOR:**

**DR. ALBERTO ROJAS HERNÁNDEZ**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA**

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

**ABRIL DE 2009**