

SÍNTESIS DE NUEVOS COMPLEJOS DE OXOVANADIO (IV) DE POTENCIAL ACTIVIDAD INSULINOMIMÉTICA CON LIGANDOS CUMARINA-3-ÁCIDO CARBOXÍLICO Y DERIVADOS SUSTITUIDOS

Paloma Salas Fernández¹, Nora Alvino De La Sota¹, Carla Galli Rigo-Righti^{1*}

RESUMEN

El trabajo consistió en el diseño y síntesis de cuatro nuevos complejos de oxovanadio (IV), metal de comprobada acción insulinomimética. Se utilizó como ligando a la cumarina-3-ácido carboxílico y derivados 6 y 6,8-sustituídos. Las cumarinas resultan de interés como ligandos por sus reconocidas propiedades biológicas y aplicaciones farmacológicas, entre las que se incluyen el efecto insulino-sensibilizador de ciertos derivados alcoxi-hidroxi. Esto último podría conducir a un eventual efecto sinérgico con el centro metálico.

La síntesis de los complejos vanadilo involucró la síntesis previa de los ligandos cumarina-3-ácido carboxílico y su derivado 6-bromo, así como la síntesis de tres derivados aún no reportados, 6-bromo-8-metoxi-, 6-bromo-8-nitro y 6-bromo-8-hidroxi-, los cuales fueron sintetizados mediante una adaptación de una condensación de Knoevenagel. Los complejos por su parte, fueron sintetizados por una reacción de metátesis entre el VO_2SO_4 y el ligando correspondiente, basándose en métodos reportados para otros complejos vanadilo y bajo un control estricto de pH.

Los ligandos cumarina-3-ácido carboxílico y derivados sustituidos fueron caracterizados por RMN, FT-IR y UV-VIS. En el caso de los complejos, el carácter paramagnético del centro metálico no permitió su caracterización por RMN; por lo que fueron identificados por espectroscopía FT-IR y determinación del porcentaje de vanadio.

Palabras clave: Diabetes mellitus, complejos de oxovanadio (IV), actividad insulinomimética, cumarina-3-ácido carboxílico.

SYNTHESIS OF NEW OXOVANADIUM (IV) COMPLEXES OF POTENTIAL INSULINMIMETIC ACTIVITY WITH COUMARIN-3-CARBOXYLIC ACID LIGANDS AND SUBSTITUTED DERIVATIVES

ABSTRACT

This work comprises the design and synthesis of four new oxovanadium (IV) complexes, a metal which possesses insulin-mimetic action. Coumarin-3-carboxylic acid and three of its 6- and 6,8- derivatives were used as ligands. Coumarins are of interest due to their well-known biological properties and pharmacological applications; these include the insulino-sensibilizing effect of certain alcoxy-hydroxy- derivatives which might lead to the eventual existence of a synergetic effect with the active metal center.

^{1*} Sección Química, Departamento de Ciencias, Pontificia Universidad Católica del Perú.
Av. Universitaria 1801 San Miguel, Lima-Perú.
cgalli@pucp.edu.pe

The synthesis of the vanadyl complexes was preceded by the synthesis of the coumarin-3-carboxylic acid and its 6-bromo- derivative, as well as the syntheses of three derivatives not previously reported: 6-bromo-8-metoxi-, 6-bromo-8-nitro-, and 6-bromo-8-hydroxy-, which were prepared by a Knoevenagel condensation reaction. The complexes, on their part, were prepared by a metathesis reaction between VO_2SO_4 and the corresponding ligands, on the basis of methods reported for other vanadyl complexes and under strict pH control.

The coumarin-3-carboxylic ligands and the derivatives were characterized by $^1\text{H-NMR}$ -, FT-IR- and UV-Vis-spectroscopy. In the case of the complexes, their paramagnetic character did not allow for NMR characterization, being thus identified by FT-IR-spectroscopy and by the quantitative determination of their vanadium contents.

Key words: *Diabetes mellitus*, oxovanadium (IV) complexes, insulin-mimetic action, coumarin-3-carboxylic acid.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) es una de las enfermedades no transmisibles más comunes en el mundo, y la primera no infecciosa considerada epidémica. Los desórdenes en el metabolismo de la glucosa, proteínas y lípidos, derivados de una absoluta deficiencia en la secreción (DM tipo 1) o en la acción de la hormona reguladora insulina (DM tipo 2), conducen a graves complicaciones vasculares y neurológicas, responsables de la elevada tasa de mortalidad mundial asociada a esta enfermedad (8,2%)¹. Esta cifra es similar a la reportada para el VIH y malaria juntas.

Si bien actualmente existen varios medicamentos orales de origen orgánico comercialmente disponibles para el tratamiento de su forma más común, la DM tipo 2, éstos adolecen de limitada eficacia, pérdida progresiva de actividad y efectos colaterales adversos. Cada uno de ellos actúa sobre algún(os) mecanismo(s) específico(s) de regulación de la glucosa, por lo que es frecuente la necesidad de una terapia combinada e incluso, en fases más avanzadas de la enfermedad, dosis de insulina o análogos de la misma.

En este contexto, el papel esencial de los iones metálicos y sus compuestos biomoleculares en el desarrollo y funcionamiento de los seres vivos estimuló un creciente interés en el campo de los metalofármacos de comprobada actividad insulinomimética, entre los cuales destacan el W, Cr, Mg, V y Zn.^{2,3} Numerosas investigaciones han demostrado que el vanadio es capaz de imitar o potenciar la mayoría de los efectos fisiológicos y terapéuticos de la insulina en el tratamiento de la diabetes. Este metal estimula el transporte y oxidación de la glucosa y regula su exceso en el organismo al estimular la síntesis de glicógeno y la lipogénesis e inhibir la gluconeogénesis y la lipólisis.^{4,5}

Las investigaciones iniciales en las sales de vanadio (IV) y (V), se extendieron en la década de los 90 a complejos de los mismos con ligandos orgánicos y, en particular, a aquellos del ion oxovanadio (IV), por ser esta la especie dominante a nivel intracelular, que es donde el vanadio ejerce su efecto IM. Estos complejos han mostrado ser más efectivos a bajas dosis gracias a una mejorada bioabsorción y presentan, además, menos efectos colaterales adversos.⁶ Una característica deseable a considerar en el diseño de estos complejos es su potencial actividad oral, la cual requiere el uso de ligandos orgánicos de relativamente bajo peso molecular y con un buen balance lipofílico-hidrofílico asociado a la presencia de un cierto número de átomos O y/o N así como de grupos NH y/o OH, que aseguren una eficaz difusión pasiva a través de las membranas biológicas.⁷ Por otro lado, los complejos deben ser relativamente estables en los fluidos corporales para ejercer cabalmente su acción terapéutica y, no tóxicos.

En este contexto, cabe mencionar al bis(etilmaltolato)oxovanadio (IV) (BEOV), complejo de oxovanadio (IV) ampliamente evaluado en su actividad IM. En un estudio de fase clínica I se comprobó su no toxicidad y tolerancia en individuos sanos y una biodisponibilidad total tres veces mayor que la del sulfato de vanadilo.⁸ Este compuesto alcanzó y completó en el año 2008 la fase clínica IIa con resultados relativamente prometedores.⁹

En el presente trabajo se reporta la síntesis de tres nuevos ligandos cumarínicos y de cuatro nuevos complejos de oxovanadio (IV) con ligandos orgánicos de la familia cumarina-3-ácido carboxílico.

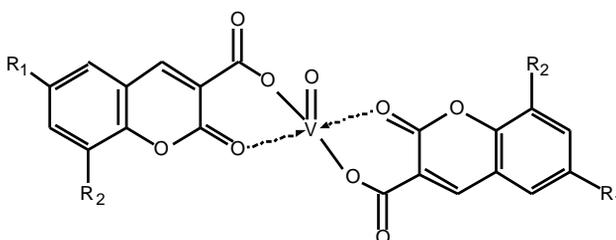


Figura 1. Estructura de los complejos de oxovanadio (IV) con ligandos cumarínicos: (1) $R_1 = H$, $R_2 = H$; (2) $R_1 = Br$, $R_2 = H$; (3) $R_1 = Br$, $R_2 = OCH_3$; (4) $R_1 = Br$, $R_2 = NO_2$; (5) $R_1 = Br$, $R_2 = OH$

La cumarina y sus derivados poseen reconocida y amplia actividad biológica y farmacológica. Los ligandos cumarínicos seleccionados poseen la capacidad de actuar como ligandos bidentados y formar complejos neutros. Asimismo, dado que algunos compuestos cumarínicos alcoxi-hidroxi han mostrado actividad hipoglicemiente y efecto atenuante de las complicaciones diabéticas podría surgir incluso un efecto sinérgico con el vanadio.¹⁰

PARTE EXPERIMENTAL

Equipos. Los espectros IR fueron obtenidos en un espectrofotómetro FTIR-Perkin Elmer 1600. Los espectros UV-Visible fueron medidos en un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 2. Los espectros 1H -RMN y ^{13}C -RMN fueron medidos en un espectrómetro Bruker de 300 MHz. Los ensayos de calcinación para el análisis del porcentaje de vanadio se realizaron en una mufla Shimaden 200 en presencia de aire desde 25 °C hasta 900 °C. Los ensayos de determinación espectrofotométrica de vanadio se realizaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 2, de acuerdo a una adaptación experimental de la Norma Estándar Americana ASTM 1548-92 para la determinación de cantidades mínimas de vanadio en muestras de aceites pesados.¹¹ El comportamiento térmico del complejo 1 (figura 1) fue estudiado mediante un análisis termogravimétrico que se realizó en el Centro de Tecnología de Recursos Minerales y Cerámica en la Ciudad de la Plata, Argentina, utilizando un equipo marca Netzsch modelo 409/c. Los análisis elementales se realizaron en el Instituto de Química y Mineralogía de la Universidad de Leipzig (Alemania).

Reactivos. Los solventes etanol absoluto, metanol, tolueno, hexano y éter dietílico se adquirieron de J.T Baker; cloroformo, diclorometano, dimetilsulfóxido, tetrahidrofurano, acetonitrilo y acetona, de Mallinckrodt Baker; ácido acético glacial, ácido sulfúrico 98%, ácido clorhídrico fumante, piperidina, de Merck. Los reactivos 2,2-dimetil-1,3-dioxano-4,6-

diona (ácido de Meldrum), 2-hidroxibenzaldehído (salicilaldehído), 5-bromo-2-hidroxi benzaldehído (5-bromosalicilaldehído), 5-bromo-2-hidroxi-3-metoxi benzaldehído (5-bromo-3-metoxi salicilaldehído), 5-bromo-2-hidroxi-3-nitro benzaldehído (5-bromo-3-nitro salicilaldehído) y ácido yodhídrico 55% se adquirieron de Sigma-Aldrich Chemical Co.

La sal de oxovanadio (IV), $\text{VOSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, empleada para la síntesis de los complejos, se obtuvo por reducción del V_2O_5 en medio ácido y con etanol. La sal acetato de piperidonio, catalizador necesario para la reacción de formación de los ligandos cumarínicos, se obtuvo por una reacción de neutralización. Asimismo, las sales de sodio de cuatro de los ligandos se sintetizaron mediante una reacción de neutralización.

Síntesis de los ligandos

Los ligandos (1-4) fueron sintetizados por una adaptación del método desarrollado por Lam y colaboradores¹², que se describe a continuación.

Una mezcla equimolar (2,5 mmol) del 2-hidroxi benzaldehído y de 2,2-dimetil-1,3-dioxano-4,6-diona (ácido de Meldrum) que contiene de 10-50 mg de acetato de piperidonio como catalizador, se disuelve en etanol absoluto a temperatura ambiente y bajo agitación. La solución resultante de color amarillo a naranja se mantiene a reflujo por 1 a 2 horas, durante las cuales se produce la precipitación gradual del producto, que se completa por enfriamiento en baño de hielo. El sólido obtenido se aísla por filtración y se lava con etanol helado.

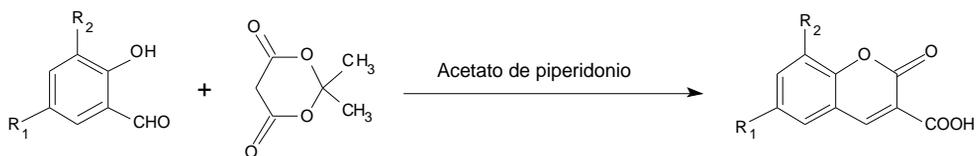


Figura 2. Esquema de síntesis para los ligandos cumarina-3-carboxilato y sus derivados
(1) R₁ = H, R₂ = H; **(2)** R₁ = Br, R₂ = H; **(3)** R₁ = Br, R₂ = OCH₃; **(4)** R₁ = Br, R₂ = NO₂;
(5) R₁ = Br, R₂ = OH

El ligando 5 se obtuvo por hidrólisis ácida de su precursor, el 6-bromo-8-metoxi-cumarina-3-acido carboxílico, con una mezcla de ácido yodhídrico 55% y ácido acético glacial (2:1) que se mantiene a reflujo por 15 horas. El producto se separa del yodo en exceso por un exhaustivo lavado con cloroformo.

A continuación se reportan los rendimientos obtenidos en la síntesis de cada uno de los ligandos, su purificación, solubilidad y caracterización espectroscópica. En caso del ligando 2 se incluye, además, los datos espectroscópicos del intermediario aislado.

Cumarina-3-ácido carboxílico (1)

Rendimiento 73,3%. Se purificó por recristalización en agua. Soluble a temperatura ambiente en diclorometano, acetato de etilo y DMSO; y en caliente en agua y etanol. IR (cm⁻¹): 3421,9 (ν_{O-H} COOH); 3056,2 (ν_{C-H} arom.); 1745,4 (ν_{C=O} lactona); 1683,9 (ν_{C=O} COOH); 1613,6/1568,3/1489,8/1452,2 (ν_{C=C} arom.); 1420,6 (δ_{O-H} en el plano); 1226,9/1207,7 (ν_{C=O} COOH); 1041,9 (δ_{O-H} fuera del plano). ¹H-RMN (DMSO) δ(ppm): 13,14 (s, COOH); 8,75 (s, H-4); 7,90 (m, H-8); 7,72 (m, H-5); 7,40 (m, H-7 y H-6).

6-bromo-cumarina-3-ácido carboxílico (2)

Rendimiento 55,6%. Se purificó por recristalización en etanol absoluto. Soluble a temperatura ambiente en: diclorometano, cloroformo y metanol; y en caliente en: etanol y acetona. IR (cm⁻¹): 3420,1 (ν_{O-H} COOH); 3046,9 (ν_{C-H} arom.); 1764,4 (ν_{C=O} lactona); 1676,9 (ν_{C=O} COOH); 1611,4/1596,8/1559,2/1479,9 (ν_{C-C} arom.); 1366,7 (δ_{O-H}); 1221,8/1206,2 (ν_{C=O} COOH); 1031,5 (δ_{O-H}). ¹H-RMN (CDCl₃) δ(ppm): 12,06 (s, COOH); 8,87 (s, H-4); 7,85 (m, H-5 y H-7); 7,40 (d, H-8).

Intermediario del ligando (2)

IR (cm⁻¹): 3444,2 (ν_{O-H} fenólico); 3042,9 (ν_{C-H} arom.); 2948,4/2840,0/2808,6 (ν_{C-H} alif.); 1755,6 (ν_{C=O} lactona); 1613,2/1600,3/1558,7/1413,8 (ν_{C-C} arom.); 1475,8 (δ_{as} CH₃); 1363,6 (δ_{O-H} fenólico); 1340,8 (δ_s CH₃); 1247,9 (ν_{C-O-C}).

6-bromo-8-metoxi-cumarina-3-ácido carboxílico (3)

Rendimiento 76,8%. Se purificó por recristalización en una mezcla etanol:acetona (4:1). Soluble a temperatura ambiente en acetona; y en caliente en: metanol y etanol. IR (cm⁻¹): ~3400 (ν_{O-H} COOH); 3061,8/3045,9 (ν_{C-H} arom.); 2978,2/2943,8 (ν_{C-H} alif.); 1746,6 (ν_{C=O} lactona); 1686,2 (ν_{C=O} COOH); 1615,3/1602,8/1566,7/1460,1 (ν_{C-C} arom.); 1474,4 (δ_{as} C-H alif.); 1368,2 (δ_s C-H alif.); 1382,2 (δ_{O-H}); 1230,5/1213,2 (ν_{C=O} COOH); 1125,8 (ν_{s C-O-C} OCH₃). ¹H-RMN (CDCl₃) δ(ppm): 12,08 (s, COOH); 8,83 (s, H-4); 7,41 (m, H-5 y H-7); 4,02 (s, OCH₃).

6-bromo-8-nitro-cumarina-3-ácido carboxílico (4)

Rendimiento 21%. Se purificó por recristalización en cloroformo con mínima cantidad de dioxano. Soluble a temperatura ambiente en dioxano; y en caliente en: metanol, etanol y etilenglicol. IR (cm⁻¹): 3467,7 (ν_{O-H} COOH); 3078,5 (ν_{C-H} arom.); 1769,8/1743,1 (ν_{C=O} lactona); 1699,9 (ν_{C=O} COOH); 1622,4/1606,9/1565,5 (ν_{C-C} arom.); 1527,1 (ν_{as} NO₂); 1448,6 (δ_{O-H}); 1348,0 (ν_s NO₂); 1226,1/1201,4 (ν_{C=O} COOH). ¹H-RMN (CDCl₃) δ(ppm): 13,60 (s, COOH); 8,95 (d, H-7); 8,88 (s, H-4); 8,75 (d, H-5).

6-bromo-8-hidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico (5)

Rendimiento 85%. Se purificó por recristalización en etanol absoluto. Soluble a temperatura ambiente en DMSO; y en caliente en: metanol y etanol. Anal. Calcd. para C₁₀H₇O₅Br: C, 42,14; H, 1,77; Br, 28,03. Exp.: C, 41,98; H, 1,62; Br, 29,12. IR (cm⁻¹): 3065,9 (ν_{C-H} arom.); 1727,8 (ν_{C=O} lactona); 1678,5 (ν_{C=O} COOH); 1606,2/1513,2 (ν_{C-C} arom.); 1377,2 (δ_{O-H} en el plano); 1231,1/1197,7 (ν_{C=O} COOH). ¹H-RMN (DMSO-d⁶) δ(ppm): 13,35 (s, 1H, H ácido); 10,89 (s, 1H, OH fenólico); 8,62 (s, 1H, H-4); 7,56 (d, 1H, H-5); 7,27 (d, 1H, H-7). ¹³C-RMN (DMSO-d⁶) δ (ppm): 115,73 (C-6); 119,58 (C-10); 120,25 (C-3); 121,66 (C-5); 122,05 (C-7); 142,67 (C-9); 145,72 (C-8); 147,38 (C-4); 156,08 (O-C=O lactona); 163,87 (COOH)

Síntesis de los complejos (figura 1).

Todos los complejos, excepto el 4 que no se logró obtener, fueron sintetizados por el método general que se describe a continuación.

Una solución concentrada de sulfato de vanadilo hidratado (2,5 mmol) se agrega a una solución del ligando cumarínico (5 mmol) en la mínima cantidad de etanol (o metanol en caso del ligando 2), mantenida a reflujo y bajo agitación. La mezcla de reacción se lleva a pH 4,5 por adición lenta de una solución de Na₂CO₃ al 10%. Al cabo de 2 a 2,5 horas de calentamiento, se aísla el producto por filtración en caliente y se lava primero con etanol caliente y luego exhaustivamente con agua helada hasta eliminación del sulfato.

Bis(cumarina-3-carboxilato)oxovanadio (IV) (1)

Rendimiento 54%. Soluble a temperatura ambiente en DMSO e insoluble en agua y en una amplia variedad de solventes orgánicos polares y apolares. Análisis de vanadio (a) por calcinación: 18,60%; (b) espectrofotométrico: 17,16%. Análisis elemental: Teórico C, 53,95; H, 2,26; O, 32,34; V, 11,45. Experimental C, 44,17; H, 2,67; O, 35,90; V, 17,26. Termograma (pérdidas de masa): 4,1% (60°C-200°C); 49,2% (200°C-390°C); 9,2% (390°C-550°C). IR (cm⁻¹): 3507,4 (ν_{O-H} H₂O); 3043,9 (ν_{C-H} arom.); 1733,6 (ν_{C=O} lactona); 1609,1 (ν_{as} COO); 1567,6/1550,1/1455,9 (ν_{C-C} arom.); 1410,9 (ν_s COO); 1281,6/1257,7 (ν_{as} C-O-C); 991,15 (ν_{v=O}).

Bis (6-bromo-cumarina-3-carboxilato) oxovanadio (IV) (2)

Rendimiento 52%. A temperatura ambiente es soluble en éter y en caliente en dioxano y THF (con descomposición en todos los casos); insoluble en agua y el resto de solventes orgánicos. Análisis de vanadio (por calcinación): 11,93 %; teórico: 8,45 %. IR (cm⁻¹): 3467,7 (ν_{O-H} H₂O); 3039,7 (ν_{C-H} arom.); 1731,4 (ν_{C=O} lactona); 1616,6/1558,7 (ν_{C-C} arom); 1568,2 (ν_{as} COO); 1425,6 (ν_s -COO); 996,1 (ν_{v=O}).

Bis (6-bromo-8-metoxi-cumarina-3-carboxilato) oxovanadio (IV) (3)

Rendimiento 40%. A temperatura ambiente es parcialmente soluble en DMSO y tolueno; y en caliente soluble en DMSO; insoluble en agua y el resto de solventes orgánicos. Análisis de vanadio (por calcinación): 9,82 %; teórico 7,66 %. IR (cm⁻¹): 3425,1 (ν_{O-H} H₂O); 3074,1 (ν_{C-H} arom); 1729,5 (ν_{C=O} lactona); 1623,8 (δ_{O-H} H₂O); 1602,4 (ν_{as} -COO); 1566,8 (ν_{C-C} arom); 1477,5 (δ_{as} C-H alif); 1412,2 (ν_s COO-); 976,5 (ν_{v=O}).

Bis (6-bromo-8-hidroxi-cumarina-3-carboxilato) oxovanadio (IV) (5)

Rendimiento 92%. A temperatura ambiente es parcialmente soluble en DMSO; insoluble en agua y el resto de solventes orgánicos. IR (cm⁻¹): 3446,3 (ν_{O-H} OH); 1727,9 (ν_{C=O} lactona); 1651,3 (ν_{as} COO); 1593,2-1565,5 (ν_{C-C} arom); 981,8 (ν_{v=O}). ¹H-RMN (DMSO-d⁶) δ (ppm): 10,93 (s, 1H, OH fenólico); 8,55 (s, 1H, H-4); 7,55 y 7,28 (d, 2H, H-5 y H-7).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El ligando cumarina-3-ácido carboxílico (1) fue sintetizado siguiendo las condiciones descritas por los autores del método.¹² Los ligandos (2), y los aún no reportados (3 y 4) han sido sintetizados por una adaptación del método de síntesis del ligando 1.

En estas síntesis, resultó determinante dos factores: el tiempo de reacción y la cantidad de catalizador. El primero asegura la conversión completa del intermediario de reacción al producto y el segundo resulta clave en el rendimiento de la reacción. Respecto al primer factor, después de iniciada la reacción precipita un sólido fino de color blanco que, para el caso del ligando (2), fue aislado y caracterizado por espectroscopía FTIR. Su estructura coincide con la esperada para el intermediario de reacción de formación del ligando propuesto por los autores del método, mas no aislado (figura 3).

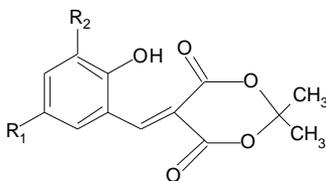


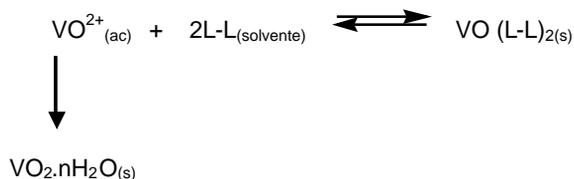
Figura 3. Intermediario de formación del ligando cumarina-3-ácido carboxílico y derivados sustituidos.

Respecto al segundo factor, se observó que existe una cantidad óptima de catalizador, la cual fue hallada empíricamente para cada ligando a las condiciones particulares de síntesis. Repetidos ensayos de síntesis mostraron que, dentro de cierto rango, una pequeña desviación por exceso o por defecto de dicha cantidad provoca una disminución considerable (10-30%) del rendimiento, mientras que por encima de este rango límite se obtiene el intermediario como único producto aún con mayor tiempo de reacción. Por debajo del rango en cuestión no se produce la reacción.

En el caso del ligando (4) se obtuvo un rendimiento máximo del 21 %, en comparación con los relativamente altos rendimientos de los otros ligandos. Esto se ha atribuido a la pobre nucleofilidad del grupo -OH en posición *orto* al grupo -NO₂ en el 2-hidroxibenzaldehído, que disminuye su efectividad para el ataque al grupo carbonilo en el paso de formación del anillo cumarínico. Además, el enlace de hidrógeno intramolecular de la estructura *o*-nitro fenólica dificultaría la desprotonación del grupo -OH y contribuiría a su baja reactividad. Aunque se sometió el intermediario a condiciones más fuertes de reacción, y se variaron tanto el solvente como el catalizador, no se logró una mejora del rendimiento.

En cuanto a la síntesis de los complejos de oxovanadio (IV), se desarrolló un método experimental tomando como referencia la síntesis de complejos de este ion con otros ligandos orgánicas.¹³⁻¹⁸ El medio de reacción fue predominantemente etanólico o metanólico por los requerimientos de solubilidad de los ligandos. Por la misma razón, la sal de vanadio se agregó disuelta en una mínima cantidad de agua caliente.

La adición de la base al medio de reacción ácido (pH=2-3) juega un papel clave en la formación del complejo. Por un lado, debe ser suficiente para garantizar una significativa desprotonación del grupo -COOH del ligando y, por otro, el medio de reacción debe mantenerse por debajo de un pH crítico de 4,5 para evitar la reacción competitiva de hidrólisis del catión VO(H₂O)₅²⁺, que da lugar a la formación irreversible del óxido hidratado VO₂.nH₂O, sólido gris. No obstante, a pesar de emplear una base débil, Na₂CO₃, y llevar a cabo la adición lentamente y bajo un estricto control del pH para favorecer la formación exclusiva del complejo, resultó imposible impedir que ocurra en cierto grado esta reacción competitiva.



Caracterización de los ligandos

El espectro IR del ligando (1) muestra bandas de absorción características de su estructura: a 3421 cm⁻¹ la vibración de estiramiento del enlace OH del grupo -COOH, de intensidad baja debido al enlace de hidrógeno intramolecular entre el -OH y el C=O lactónico, mientras que a 1683 cm⁻¹ aparece una fuerte absorción del grupo carbonilo del -COOH, típica de ácidos carboxílicos α,β-insaturados y β-dicetonos. Asimismo, el carbonilo lactónico muestra una fuerte absorción a 1745 cm⁻¹, típica de una δ-lactona α,β-insaturada respecto al C=O y al O (figura 4).

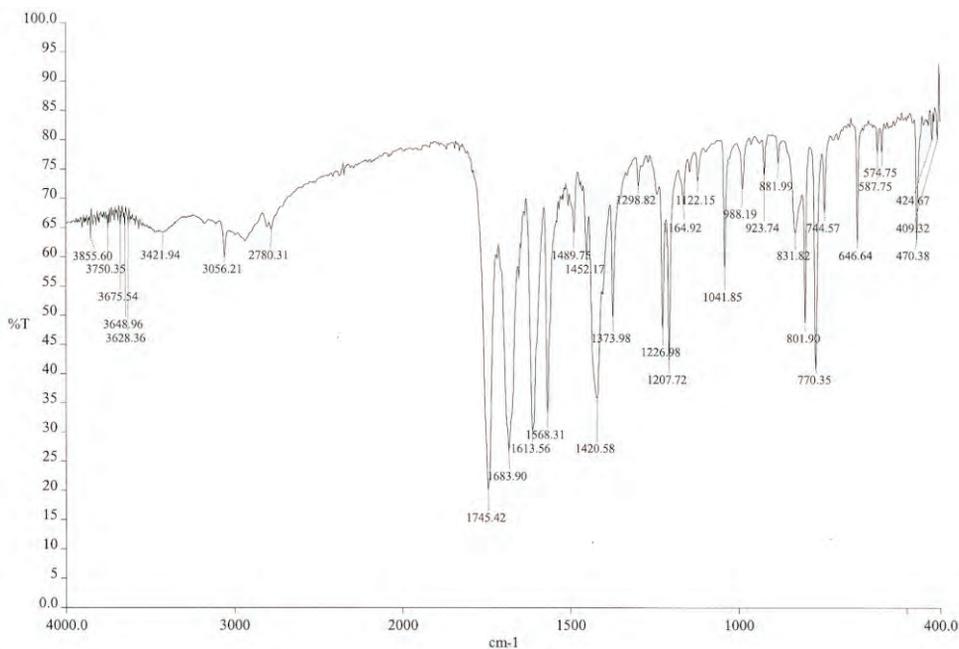


Figura 4. Espectro IR del ligando (1), cumarina-3-ácido carboxílico

El espectro $^1\text{H-RMN}$ presenta señales que concuerdan con las reportadas para el anillo cumarínico entre las que cabe destacar la señal singlete a 8,72 ppm del H-4 y una señal ancha y de baja intensidad a 13,14 ppm correspondiente al protón intercambiable del grupo $-\text{COOH}$. Asimismo, el espectro del ligando 2, corresponde al reportado.¹²

Los espectros IR de los ligandos 2, 3, 4 y 5 presentan las señales características de los grupos funcionales $-\text{COOH}$ y $\text{C}=\text{O}$ lactónico, antes discutidas para el ligando 1; además de las propias de los sustituyentes $-\text{OCH}_3$, $-\text{NO}_2$ y $-\text{OH}$, en caso de los ligandos 3, 4 y 5, respectivamente. En el ligando 4, se observa claramente las fuertes absorciones de los estiramientos asimétrico y simétrico del grupo nitro, a 1527,1 y 1348,0 cm^{-1} , respectivamente.

Por otro lado, los espectros $^1\text{H-RMN}$ de los ligandos 3, 4 y 5, aún no reportados, presentan las señales propias del H-4 y del $-\text{COOH}$ así como los desplazamientos químicos esperados y constantes de acoplamiento características de la sustitución 6,8 del anillo cumarínico. En caso del ligando 4, se observa además el singlete del grupo metoxi a 4,02 ppm y en el ligando 5, se observa la señal característica del protón fenólico a 10,89 ppm (figura 5).

Las sales de sodio de los ligandos cumarínicos también fueron caracterizadas por espectroscopía IR. Los espectros infrarrojos de estas sales fueron utilizados como patrón de comparación con los de sus respectivos complejos y facilitaron la identificación de los grupos funcionales y enlaces susceptibles a modificación por coordinación al metal.

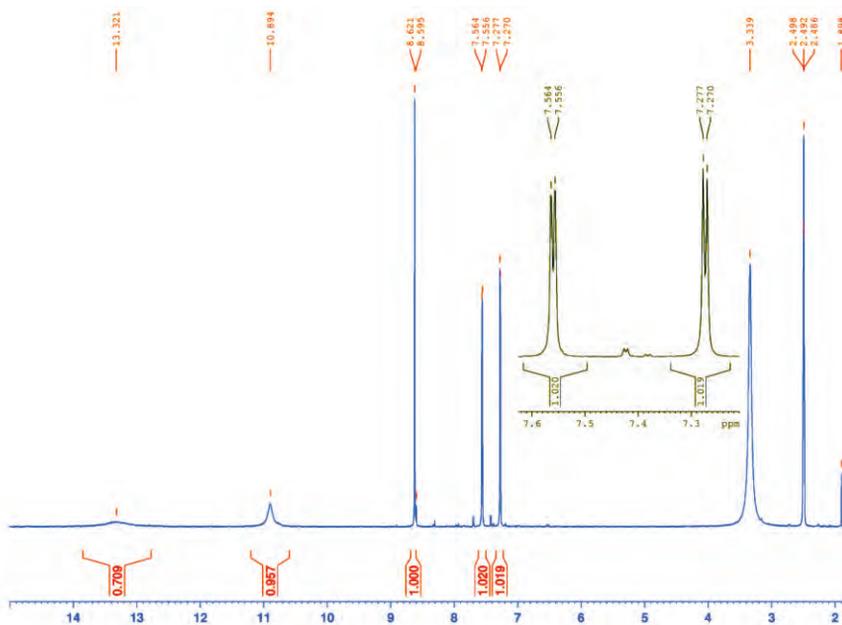


Figura 5. Espectro $^1\text{H-RMN}$ (DMSO-d_6) del ligando (5), 6-bromo-8-hidroxi-cumarina-3-ácido carboxílico.

La diferencia principal de estos espectros con los correspondientes de los ligandos consiste en la ausencia de las bandas de los grupos $-\text{COOH}$ y la aparición de los estiramientos simétrico y asimétrico característicos del grupo carboxilato. Así, en el espectro IR de la sal del ligando (1) desaparecen las bandas características del grupo carboxílico: 1683 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$), 1420 cm^{-1} (δ_{OH} en el plano), $1226/1207\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_{\text{C-O}}$) y 1041 cm^{-1} (δ_{OH} fuera del plano), y se observa, en su lugar, dos intensas bandas a 1590 cm^{-1} y 1388 cm^{-1} , identificadas como los ν_{as} y ν_{s} del grupo carboxilato, $-\text{COO}^-$, respectivamente. La banda ancha a 3436 cm^{-1} se asigna al agua de cristalización o hidratación (figura 6).

Los cuatro complejos de oxovanadio (IV) han sido caracterizados por espectroscopía infrarroja. La baja solubilidad de estos compuestos imposibilitó la medición de sus espectros UV-Visible y RMN; en este último caso la principal dificultad surgió de la naturaleza paramagnética del ion VO^{2+} que disminuye muchísimo la resolución del espectro limitando su utilidad como técnica de caracterización. Sin embargo, en caso del complejo hidroxilo sustituido (5), se logró obtener un espectro $^1\text{H-RMN}$ que, aunque de baja resolución, presenta la señales características de la sal del ligando desplazadas hacia campo bajo por efecto de la coordinación, lo cual respalda la caracterización propuesta a partir del espectro FT-IR discutida a continuación (figura 7).

El espectro IR del complejo bis(cumarina-3-carboxilato) oxovanadio (IV) (1), se muestra en la figura 6. La fuerte absorción a 991 cm^{-1} corresponde a la vibración de estiramiento del enlace V=O del catión vanadilo y demuestra la presencia de este centro metálico en el compuesto.

Las bandas de absorción a 1550 y 1410 cm^{-1} , que han sido asignadas a las vibraciones asimétrica y simétrica del grupo $-\text{COO}^-$, se hallan notablemente desplazadas con respecto a los correspondientes en la sal (ν_{as} 1590 y ν_{s} 1388). Asimismo, la banda de estiramiento del grupo $\text{C}=\text{O}$ lactónico se encuentra desplazada hacia menores frecuencias (1733 cm^{-1}) con respecto a la del ligando cumarínico (1745 cm^{-1}) y la sal correspondiente (1740 cm^{-1}). Estos cambios en la posición de las bandas de los grupos $-\text{COO}^-$ y $\text{C}=\text{O}$ lactónico comprobaría la esperada coordinación de ambos grupos al catión vanadilo. Finalmente, la ausencia de la intensa banda $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ del grupo $-\text{COOH}$ presente en el ligando a 1683 cm^{-1} indica que este se encuentra en su forma desprotonada. Por último, la absorción $\nu_{\text{O-H}}$ a 3507 cm^{-1} se podría asignar a la presencia de agua de coordinación o de hidratación. El resto de bandas presentes en la región de los grupos funcionales corresponden al esqueleto cumarínico.

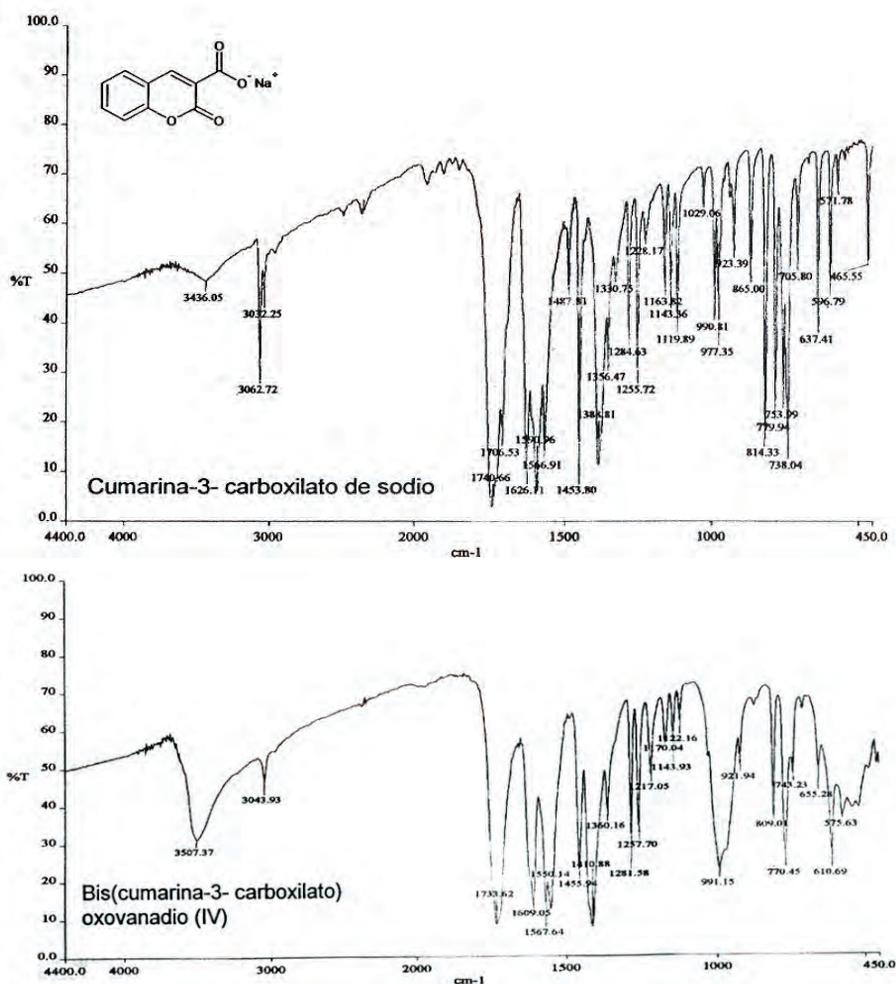


Figura 6. Espectro IR de la sal de sodio del ligando (1) y su correspondiente complejo.

Los espectros IR de los tres complejos análogos presentan también las intensas bandas del grupo VO^{2+} así como similares corrimientos en las bandas ν_{as} y ν_{s} del grupo COO^- y en la $\nu_{\text{C=O}}$ lactónico con respecto a aquéllos observados en las sales de los ligandos correspondientes. En caso de los complejos (3) y (4), la significativa disminución en la $\nu_{\text{=O}}$, con respecto a (1) y (2), se atribuye al efecto donador de electrones de los sustituyente metoxi e hidroxilo respectivamente, que incrementan la basicidad y fuerza del enlace al metal de los grupos coordinantes -COO^- y C=O lactónico. Esto conduce a una disminución del poder aceptor de los orbitales d vacantes del metal hacia los electrones del oxígeno, debilitando así el correspondiente enlace V=O .

En base a esta información espectroscópica y a la relación molar 2:1 ligando-metal utilizada en la síntesis de estos complejos, es posible proponer una geometría pirámide cuadrada u octaédrica para los complejos obtenidos. Ambas son geometrías características para complejos del ion vanadilo con ligandos bidentados y tetradentados como los del presente trabajo.¹⁹ En el arreglo espacial pirámide cuadrada, la posición apical estaría ocupada por el oxígeno del enlace V=O y las cuatro ecuatoriales por los ligandos bidentados cumarina-3-carboxilato, los cuales, de acuerdo a la evidencia proveniente de los espectros IR, se encuentran enlazados vía el grupo C=O lactónico y uno de los oxígenos del grupo carboxilato. En caso del octaédrico, la sexta posición se encontraría ocupada por una molécula del solvente o agua de coordinación. Esta última se encontraría débilmente enlazada debido a la fuerte influencia *trans* ejercida por el grupo V=O .²⁰

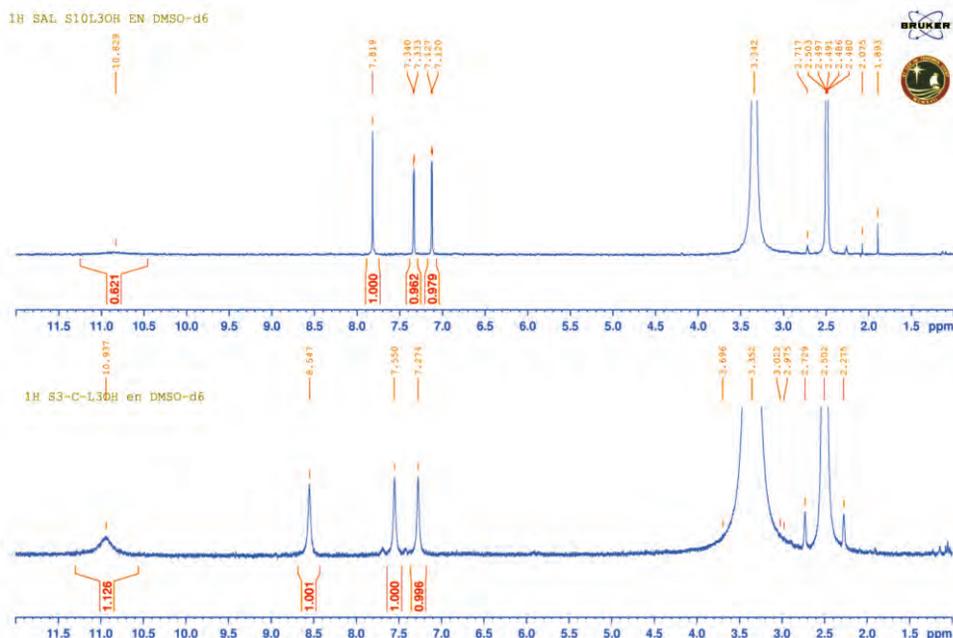


Figura 7. Espectro $^1\text{H-RMN}$ (DMSO-d_6) de la sal de sodio del ligando (5) y su correspondiente complejo, bis(6-bromo-8-hidroxi-cumarina-3-carboxilato) oxovanadio (IV)

En caso del complejo (1a), el análisis elemental indica una considerable desviación por exceso en el contenido de V, O e H, y por defecto en el de C, con respecto a los valores teóricos. Se ha calculado que estos valores resultan consistentes con una contaminación aproximada del 20% del óxido $\text{VO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. Los porcentajes de vanadio de los complejos (2) y (3), determinados por análisis gravimétrico por calcinación, son también superiores a los esperados, e indican, aunque en menor grado, la presencia del óxido contaminante en dichos compuestos. La formación del óxido se comprobó para (1) mediante un ensayo en blanco bajo exactamente las mismas condiciones que las de formación del complejo pero en ausencia del ligando; incluso a un pH final de 4 se observó la precipitación de un sólido fino de color gris oscuro identificado por su espectro IR como $\text{VO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$.

Sin embargo, la apariencia de los espectros IR de los complejos oxovanadio (IV) no se vio afectada por la presencia en forma significativa del óxido contaminante $\text{VO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, razón por la cual este no pudo ser detectado desde el inicio. El espectro IR de esta sustancia presenta muy pocas bandas y sólo dos intensas. La ancha banda a 3500 cm^{-1} corresponde a la ν_{OH} del agua de hidratación del óxido y podría confundirse con o estar encubierta por la banda asignada al agua de coordinación o de hidratación del complejo, mientras que la $\nu_{\text{V=O}}$, a aproximadamente 974 cm^{-1} , estaría a su vez encubierta por la del complejo, notándose solo como un débil hombro en caso de los complejos (1) y (2) (figura 6).

Un grave problema que se presentó durante esta etapa de la investigación fue el de la insolubilidad o muy ligera solubilidad de los complejos obtenidos en el gran número de solventes ensayados, lo que impidió su posterior purificación por recristalización. La presencia de los sustituyentes $-\text{Br}$, $-\text{OCH}_3$ y $-\text{OH}$ en el anillo cumarínico en caso de los complejos (2), (3) y (4) no incrementó significativamente su solubilidad. No obstante, los complejos fueron tratados con varios solventes; sin embargo, a las condiciones de gran dilución presentes se produjo una descomposición de los mismos con recuperación del ligando original según:



Un caso especial se presentó con los solventes alcohólicos metanol, etanol y etilenglicol, en los cuales el cambio de color de las soluciones, de un amarillo verdoso pálido inicial a naranja intenso al cabo de unos días, indicaría la oxidación del vanadio (IV) a vanadio (V). Estos resultados concuerdan con el estudio cinético realizado por Orvig y colaboradores para el complejo bis(maltolato)oxovanadio (IV) (BMOV) en solventes alcohólicos.²¹

En otro intento de purificación, se ensayó la sublimación de los complejos sólidos a $150 \text{ }^\circ\text{C}$ y alto vacío ($0,2 \text{ mmHg}$). El resultado fue la descomposición térmica de los mismos y sublimación del ligando cumarínico por separado. Por otra parte, los intentos de introducir variaciones en el método de síntesis con el fin de impedir la formación del óxido contaminante tampoco dieron resultado: en CH_3CN como solvente no se dio la reacción mientras que la síntesis en medio acuoso a partir de la sal del ligando (1) tuvo un bajo rendimiento.

CONCLUSIONES

La presente investigación ha conducido a la obtención de cuatro nuevos complejos de oxovanadio (IV), metal de comprobada acción insulinoimimética en sus altos estados de oxidación. Asimismo, este trabajo involucró la síntesis de tres nuevos compuestos orgánicos de la familia de la cumarina 3-ácido carboxílico para su uso como ligandos.

Sin embargo, la insolubilidad de los complejos sintetizados ha impedido la purificación de los mismos requerida para los ensayos biológicos *in vivo* inicialmente proyectados. Se espera que la introducción de un mayor número de grupos hidrofílicos en la parte hidrófoba del anillo cumarínico mediante derivatización de la posición 6 bromada, contribuya a mejorar la solubilidad de los complejos de oxovanadio (IV) que se sintetizan a partir de ellos y permita evaluar un potencial efecto asociativo o sinérgico en su actividad antidiabética.

Finalmente, la síntesis de los nuevos complejos constituye en sí misma un aporte al conjunto de compuestos de coordinación de este metal de potencial actividad insulinoimimética para su eventual desarrollo como metalofármaco antidiabético.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos a la Dirección de Gestión de la Investigación (DGI) de la Pontificia Universidad Católica del Perú por la financiación prestada que hizo posible la ejecución de este trabajo de investigación.

Deseamos agradecer también a Peter Lönnecke del Instituto de Química y Mineralogía de la Universidad de Leipzig (Alemania) por la realización del análisis elemental y a la profesora Lic. María S. Conconi del Centro de Tecnología de Recursos Minerales y Cerámica de la Universidad de La Plata (Argentina) por la realización del análisis termogravimétrico y térmico diferencial de uno de los complejos sintetizados.

REFERENCIAS

1. Yoshikawa, Y.; Ueda, E.; Kawabe, K.; Miyake, H.; Takino, T.; Sakurai, H.; Kojima, Y. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2002**; 7:68-73
2. Ueda, E.; Yoshikawa, Y.; Ishino, Y.; Sakurai, H.; Kojima, Y. *Chem. Pharm. Bull.* **2002**; 50:337-340
3. Yoshikawa, Y.; Ueda, E.; Miyake, H.; Sakurai, H.; Kojima, Y. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2001**; 281:1190-1193
4. Galli, C.X.; Salas, P.; Pacheco, J. *Revista de Química* **2006**; 20:3-10
5. A.; Sarada, N.C.; Vijayaraghavan, R. *Medicinal Chemistry Research* **2013**; 22:2929-2937
6. Thompson, K.H.; Orvig, C. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2000**; 2885-2892
7. Leeson, P.; Davis, A.; *J. Med. Chem.* **2004**; 47:6338-6348
8. Thompson, K.H.; Orvig, C. *J. Inorg. Biochem.* **2006**; 1925-1935
9. Thompson, K.H.; Lichter, J.; LeBel, C.; Scaife, M.C.; McNeill, J.H.; Orvig, C. *J. Inorg. Biochem.* **2009**; 103:554-558
10. Negri, G.; *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* **2005**; 41: 121-132
11. ASTM Designation: D 1548-92 Standard Tests Method for Vanadium in Heavy Fuel Oil.
12. Song, A.; Wang, X.; Lam, K. S.; *Tetrah. Lett.*, **2003**; 44:1755-1758.
13. Thompson, K.H.; Orvig, C. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2000**; 2885-2892
14. Thompson, K. H.; McNeill, J. H. ; Orvig, C. *Chem. Rev.*, **1999**; 99:2561-2571.
15. Bora, P.; Yadav, H.S.; *Int. J. Chem. Tech. Res.* **2012**; 4:1428-1432
16. Prasad, K.S.; Kumar, L.S; Shekar, S.C; Prasad, M.; Revanasiddappa, H.D; *Chemical Sciences Journal* **2011**; 12:1-8
17. Sakurai, H.; Katoh, A.; Yoshikawa, Y. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2006**; 79:1645-1664
18. Saatchi, K.; Thompson, K.H; Patrick, V.O.; Pink, M.; Yuen, V.G.; McNeill, J.H; Orvig, C.; *Inorg. Chem.* **2005**; 44:2689-2697
19. Yadava, A.K.; Yadav, H.S.; Yadav, U.S.; Rao, D.P. *Turk J. Chem.* **2012**; 36:624-630
20. Galli, C.X.; Alvino, N.E.; Pacheco, J. *Revista de Química* **2007**; 21:37-48
21. Sun, Y.; James, B. R.; Rettig, S. J.; Orvig, C. *Inorg. Chem.* **1996**; 35:1667-1673.