



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS  
QUÍMICAS**

**ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES ELECTROQUÍMICAS DE  
COMPLEJOS DINUCLEARES DE COBRE CON LIGANTES DERIVADOS  
DE IMIDAZOL EN RELACIÓN CON SU ACTIVIDAD CATALÍTICA.**

TESIS  
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**DOCTOR EN CIENCIAS**

PRESENTA

Q. ANA MARIA SOSA REYES



TUTORA: DRA. LAURA GASQUE SILVA.

2006



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## **AGRADECIMIENTOS**

Al CONACyT por otorgarme la beca 166261 para realizar los estudios de doctorado.

A la DGAPA por el apoyo económico mediante el proyecto PAPIIT IN106003.

A la Doctora Laura Gasque por su confianza, apoyo y comprensión, pero sobre todo por su amistad.

Al Q. Edgar Mijangos por su ayuda incondicional desde que inició esta historia.

Al Doctor Ignacio González y al Doctor Víctor Ugalde por su invaluable ayuda en la elaboración de este trabajo.

Al Dr. Sylvain Bernès por su ayuda en la resolución de las estructuras cristalinas obtenidas.

Este trabajo se desarrolló en el laboratorio 216 de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Química de la UNAM.

A Miguel, Pablo y Santiago con todo mi amor.

A mis padres con todo mi agradecimiento.

# Índice

## Resumen

## Introducción

## Índice de estructuras

<b>1. Antecedentes</b>	1
<b>1.1. El cobre en los sistemas vivos</b>	
1.1.1. Reacciones de oxidación catalizadas por enzimas de cobre	2
1.1.2. Clasificación de los sitios activos en las enzimas de cobre	5
1.1.3. Propiedades rédox de las enzimas de cobre	8
<b>1.2. Modelos sintéticos de los sitios activos de las enzimas de cobre</b>	
1.2.1. Electroquímica de los sistemas modelo	13
1.2.2. Características de los modelos para las enzimas del tipo III	15
1.2.3. Evaluación de la efectividad catalítica de los compuestos modelo	18
1.2.4. Sistemas modelo de interés en el grupo de trabajo	20
<b>1.3. Algunos aspectos de la química de coordinación del cobre</b>	27
<b>2. Objetivos y alcances</b>	29
<b>3. Resultados y discusión</b>	
<b>3.1. Síntesis y caracterización de los ligantes</b>	
3.1.1. Ligante <i>metmeim</i>	32
3.1.1.1. Espectroscopía infrarroja IR	33
3.1.1.2. Espectroscopía de RMN <sup>1</sup> H y experimento COSY	35
3.1.1.3. Espectroscopía de RMN <sup>13</sup> C y experimento HETCOR	39
3.1.1.4. Análisis elemental	42
3.1.1.5. Espectrometría de masas	42
3.1.2. Ligante <i>fenmeim</i>	43
3.1.2.1. Espectroscopía infrarroja IR	44
3.1.2.2. Espectroscopía de RMN <sup>1</sup> H y experimento COSY	45
3.1.2.3. Espectroscopía de RMN <sup>13</sup> C y experimento HETCOR	48
3.1.2.4. Análisis elemental	50

<b>3.2. Síntesis y caracterización de los complejos bimetálicos</b>	
3.2.1. Complejos bimetálicos con <i>metmeim</i>	52
3.2.1.1. Espectroscopía infrarroja	52
3.2.1.2. Susceptibilidad magnética	53
3.2.1.3. Análisis elemental	54
3.2.1.4. Espectroscopía UV-visible	54
3.2.1.5.	
3.2.2. Complejos bimetálicos con <i>fenmeim</i>	56
3.2.2.1. Espectroscopía infrarroja	56
3.2.2.2. Susceptibilidad magnética	57
3.2.2.3. Análisis elemental	57
3.2.2.4. Espectroscopía UV-visible	58
3.2.2.5. Determinación de la estructura cristalina	58
<b>3.3. Estudio electroquímico de los complejos</b>	
3.3.1. Voltamperometría cíclica de los complejos abiertos y cerrados	66
3.3.1.1. Compuestos bimetálicos con ligantes abiertos	66
3.3.1.2. Estudio ampliado del comportamiento electroquímico del complejo $Cu_2fenmeim$	72
3.3.1.2.1. Variación de la relación estequiométrica <i>ligante:metal</i>	72
3.3.1.2.2. Espectroelectroquímica	76
3.3.1.2.3. Efecto del disolvente	78
3.3.1.2.4. Estudio cronoampérométrico	81
3.3.1.3. Compuestos bimetálicos con ligantes cerrados	93
3.3.1.3.1. Voltamperometría del complejo formado con una relación Cu: <i>glimeim</i> 1:1	99
3.3.1.3.2. Estudio cronoamperométrico $Cu_2glimeim$	101
<b>3.4. Estudio comparativo de la actividad catalítica</b>	
3.4.1. Dependencia de la velocidad en la concentración del catalizador	106
3.4.2. Dependencia de la velocidad en la concentración del sustrato	110
3.4.3. Relación entre el comportamiento electroquímico y la actividad catalítica	118

<b>4. Conclusiones globales y perspectivas</b>	120
<b>5. Parte experimental</b>	124
<b>Abreviaturas</b>	133
<b>Índice de figuras</b>	135
<b>Índice de tablas</b>	139
<b>Referencias</b>	140
<b>Artículo</b>	

## Resumen

La complejidad y el gran tamaño de las metaloenzimas de cobre dificultan el estudio de sus sitios activos, por lo que es común abordar esta tarea utilizando compuestos de coordinación que imitan dichos entornos. El comportamiento electroquímico de los compuestos modelo resulta de particular interés porque las propiedades catalíticas de las enzimas generalmente involucran cambios en el estado de oxidación de los iones metálicos presentes en el sitio activo.

En este trabajo, se describe el estudio electroquímico y catalítico de un grupo de complejos dinucleares de cobre que imitan algunas de las características más comunes de las enzimas. Los resultados obtenidos sobre el comportamiento redox de los sistemas, permiten explicar su baja efectividad como catalizadores en la reacción de oxidación de un catecol.

Los compuestos de coordinación analizados incluyen dos iones de cobre coordinados a un ligante simétrico derivado del imidazol y un aminoácido. Se describe, cómo se sintetizaron y caracterizaron dos nuevos complejos de este conjunto. En estado sólido, ambos compuestos presentan una estructura que incluye un puente imidazolato, característica relevante ya que dicho arreglo es el mismo que se encuentra en el sitio activo de algunas enzimas.

También se presenta la caracterización de los sistemas en disolución y el estudio del comportamiento electroquímico mediante las técnicas de voltamperometría cíclica, cronoamperometría y espectroelectroquímica. Los resultados obtenidos apoyan la suposición de que la estructura puenteada mediante el imidazol, se modifica debido a su interacción con el disolvente. Además, dichas técnicas permitieron proponer el mecanismo de dos reacciones homogéneas acopladas a la reducción de los sitios

metálicos: la descoordinación del cobre y la reproporción entre las especies que se forman durante la microelectrólisis.

El estudio comparativo de la capacidad catalítica de los sistemas en la oxidación del 3,5-di-*ter-butil* catecol se realizó espectrometricamente mediante el método de las velocidades iniciales. La discusión sobre el valor de los parámetros catalíticos obtenidos y su relación con el complejo comportamiento redox encontrado, concluye este trabajo.

La metodología planteada en este proyecto amplía el conocimiento que se tenía sobre estos sistemas. También, constituye una herramienta útil tanto para la caracterización de compuestos de coordinación en disolución, como para identificar las coincidencias entre el comportamiento redox y la habilidad catalítica de sistemas biomiméticos. Lo anterior es importante porque permite identificar los factores que intervienen en la eficiencia catalítica y es determinante en el diseño de nuevos sistemas con propiedades más promisorias.

## Abstract

The size and complexity of copper metalloenzymes make the elucidation of their active centers functions very difficult. This is why a vast amount of model copper complexes have been prepared and studied recently. The study of their redox properties is relevant since most copper enzymes functions involve electron transfer reactions.

This work describes the electrochemical and catalytic studies carried out with a set of dinuclear copper complexes mimicking some biomolecules' characteristics. The discussion of how solution redox behavior is related with the low catalytic efficiency found for the systems in a catechol oxidation is also presented.

The studied complexes include two copper ions coordinated to an imidazol derivative ligand within a symmetrical structure. The synthesis and characterization of two new complexes of the set are described. The structure of which includes an imidazolato bridge in solid state. This is important since such an arrangement is found in several enzymes.

Also, the systems' characterization in solution is described as well as the study of their electrochemical behavior by means of cyclic voltammetry, chronoamperometry and spectroelectrochemistry. Therefore cleavage of the imidazolato bridge, due to the dissolvent effect was demonstrated. Furthermore these procedures were applied to elucidate the mechanisms of two coupled homogeneous reactions: the copper ion decoordination and the reproporationation between the species formed during microelectrolysis.

The comparative study of the systems' catalytic efficiency towards the 3,5-di-*tert-butyl* catechol oxidation was carried out spectrophotometrically applying the initial rates method. Discussion about the values obtained for the catalytic parameters and their relation with the complicated electrochemical behavior found for the systems concludes this work.

The operating procedures structured in this thesis led to expand the knowledge of these systems. Also it can be a profitable tool in characterizing coordination compounds in solution as well as to identify coincidences between redox behavior and catalytic ability in biomimetic systems. This is relevant since the comprehension of the redox factors that dictate the catalytic activity must be useful in designing worthwhile models with similar complexes.

## Introducción

La química bioinorgánica ha experimentado un gran crecimiento en las últimas décadas, resultado tanto del progreso de métodos como la espectroscopía, los rayos X y la electroquímica, como del constante descubrimiento y estudio de nuevos sistemas biológicos que dependen de la presencia de iones metálicos. Así, se ha creado un campo que evoluciona para ser cada vez más amplio y detallado. Los avances en bioquímica macromolecular y química inorgánica de modelos han permitido que la bioinorgánica pase de hacer preguntas sobre la estructura y las propiedades electrónicas de los sistemas, a plantear cuestionamientos detallados respecto a los mecanismos de las reacciones catalizadas por metales y de cómo la estructura y las propiedades electrónicas influyen en estos procesos.

El interés común que une a químicos inorgánicos y bioquímicos en este campo es sin duda la habilidad única de los metales de transición para complementar y mediar en los procesos biológicos y las transformaciones químicas de las biomoléculas.

Los elementos más abundantes de la primera serie del bloque *d*: el hierro, el zinc y el cobre son los que se encuentran comúnmente involucrados en funciones biológicas. Los papeles que desempeñan, formando parte de las metaloproteínas, pueden dividirse en *estructurales* y *funcionales*. En los primeros, destaca la posibilidad que tienen los metales de transición para presentar números de coordinación mayores a cuatro lo cual amplía las posibilidades estructurales de los sistemas orgánicos. Mientras que en las funciones biológicas que dependen de la presencia de estos iones metálicos se aprovechan características tales como su capacidad para presentar diferentes estados de oxidación y para unirse a una gran variedad de donadores. La sintonía adecuada entre el número, el tipo de ligantes y el potencial redox del sistema hace posible que procesos como la fijación de nitrógeno o la oxidación del agua se lleven a cabo aparentemente sin ningún esfuerzo en el medio fisiológico.

Las metaloproteínas son moléculas sumamente grandes y complejas, la mayor contribución a su masa molecular corresponde a su parte proteica; para simplificar su estudio y dilucidar la contribución de sus sitios activos, se han preparado y caracterizado un gran número de modelos sintéticos de bajo peso molecular. Cada modelo químico imita alguna o varias de las propiedades físicas o químicas del sitio activo en la proteína. Aunque su síntesis no tiene como objetivo reproducir al original, su análisis contribuye a la discusión de una realidad mucho más complicada. Tomando en cuenta que en la mayoría de las proteínas de cobre, con excepción de las metalotioneínas<sup>1</sup>, el ion metálico se encuentra coordinado a residuos imidazólicos de histidina; la gran mayoría de los sistemas que se han propuesto como modelos, contienen ligantes con átomos de nitrógeno heteroaromáticos. Considerando también, que en un gran número de estas proteínas, la actividad catalítica requiere la presencia de al menos dos átomos de cobre interactuando íntimamente, es que buena parte de los modelos propuestos involucran complejos dinucleares.

La investigación que aquí se presenta incluye en su primera parte, la síntesis y caracterización de los nuevos ligantes dinucleantes *metmeim* y *fenmeim* que resultan de la condensación del 2-metilimidazol con los aminoácidos metionina y fenilalanina respectivamente. También, se describe la síntesis de los complejos dinucleares de cobre correspondientes  $Cu_2metmeim$  y  $Cu_2fenmeim$  con un puente imidazolato en su estructura. Ambos compuestos de coordinación forman parte de un conjunto de sistemas análogos en los que varía el aminoácido utilizado y que han sido clasificados por su estructura, en sistemas “abiertos” y “cerrados”. A continuación, se presenta el estudio del comportamiento electroquímico realizado con los siete sistemas que forman el conjunto mediante las técnicas de voltamperometría cíclica, cronoamperometría de dos pulsos y espectroelectroquímica.

---

<sup>1</sup> Las metalotioneínas son proteínas que pueden enlazar hasta siete átomos metálicos en agregados que se mantienen unidos mediante residuos de cisteína [1].

Dicho estudio evidenció varios aspectos interesantes de la química de los complejos en disolución, tales como: la ruptura del puente imidazolato debido a la interacción con el disolvente, la formación de una especie solvatada cuando el cobre se reduce y se descoordina del ligante, así como la ocurrencia de dos reacciones homogéneas acopladas a las transferencias electrónicas.

En la parte final del trabajo se describe el estudio comparativo de la actividad catalítica de los complejos, que se realizó espectrometricamente en la reacción de oxidación del 3,5-di-tert-butilcatecol. La discusión sobre el tratamiento cinético, así como su relación con el complicado comportamiento redox mostrado por los sistemas concluyen este trabajo.

## 1. Antecedentes

### 1.1 El cobre en los sistemas vivos

Frecuentemente se denomina al cobre como un “bioelemento moderno” [2,3] debido a que evolutivamente, se convirtió en un elemento de importancia biológica después del hierro. Lo anterior se explica ya que antes de la generación fotosintética de un ambiente oxidante predominaban los sulfuros insolubles de Cu(I) biológicamente inaccesibles. Bajo una atmósfera reductora, compuesta principalmente por N<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> abundaban los compuestos ferrosos que eran esenciales en las funciones biológicas. La producción de oxígeno elemental por organismos fotosintéticos hace aproximadamente 2200 millones de años, favoreció la oxidación del Cu(I) al Cu(II) soluble y la del Fe(II) a Fe(III) insoluble. Actualmente el hierro y el cobre desempeñan funciones distintas determinadas por sus propiedades redox y su química de coordinación características. El cobre es un elemento traza en los sistemas biológicos, presente en concentraciones del orden de partes por millón. Generalmente se encuentra formando parte del grupo prostético de enzimas como tirosinasa, catecol oxidasa, lacasa, superóxido dismutasa y galactosa oxidasa (Fig. 1.1.1).

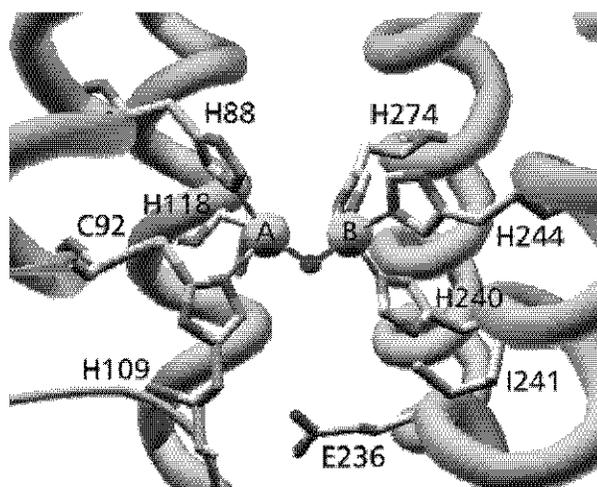


Figura 1.1.1 Representación de la estructura tridimensional del sitio activo en la catecol oxidasa. Los dos átomos de cobre se distinguen con las letras A y B.

El papel de estas proteínas de alto peso molecular, que contienen entre 0.05 y 0.35% en peso de cobre, es fundamental en procesos como la respiración, la pigmentación y algunas funciones endocrinas. En ellos las enzimas desempeñan principalmente tres actividades:

- El transporte de  $O_2$ .
- La metabolización de  $O_2$ .
- La eliminación de radicales libres.

El metabolismo del oxígeno en particular, constituye un área de investigación muy amplia donde predomina el estudio de las interacciones entre los sitios activos de las enzimas, los sustratos orgánicos y el  $O_2$ .

#### 1.1.1. Reacciones de oxidación catalizadas por enzimas de cobre

Aunque la reacción de compuestos orgánicos con el oxígeno está termodinámicamente favorecida, cinéticamente está limitada debido al estado basal triplete del  $O_2$ . De acuerdo a la función que desempeñan las enzimas en estos procesos pueden clasificarse en [4]:

- Oxidasas acarreadoras de electrones (oxididasas).
- Oxidasas de función mixta (mono oxigenasas).
- Acarreadoras de oxígeno (dioxigenasas).

Las oxididasas catalizan la transferencia de electrones al dioxígeno que puede reducirse a superóxido (NADPH oxidasa), peróxido (galactosa oxidasa), o agua (lacasa). Las oxigenasas catalizan reacciones en las que los átomos del dioxígeno son incorporados en sustratos orgánicos. Con las monooxigenasas se inserta un solo átomo de oxígeno, mientras que el otro se reduce formando agua y con las dioxigenasas ambos átomos de oxígeno se incorporan al sustrato. El dioxígeno es cinéticamente inerte y tiene que ser activado generalmente mediante la unión a un centro metálico de bajo estado de oxidación como el Cu(I).

El papel del ion metálico [4] en la catálisis de estos procesos puede llevarse a cabo a través de diversos mecanismos:

- Uniéndose y activando al sustrato orgánico.
- Activando al O<sub>2</sub>.
- Formando complejos ternarios metal-sustrato-oxígeno.
- Participando directamente en el proceso redox (mecanismo de “ping-pong”).
- Mediante una combinación de las anteriores.

Se considera que el mecanismo de “ping-pong” es el más común en numerosas oxidasas. Éste consta de dos pasos: primero la oxidación del sustrato por el complejo cúprico que se reduce y después la reoxidación del ion cuproso con oxígeno. El valor del potencial redox de la mayoría de las enzimas de cobre que está entre 0.25 y 0.75 V resulta adecuado para la oxidación directa de ciertos sustratos, fáciles de oxidar como el superóxido, el ascorbato y algunos catecoles.

### Oxidasas

La plastocianina, presente en plantas superiores y algas verdes, y la azurina, que se encuentra en bacterias desnitrificantes, son ejemplos de enzimas de cobre con actividad oxidasa. Al igual que las polinucleares: lacasa, ceruloplasmina, ascorbato oxidasa y citocromo *c* oxidasa, dichas enzimas catalizan la reacción de reducción del dioxígeno a agua, que se realiza con la correspondiente oxidación del sustrato; el proceso involucra la transferencia de cuatro electrones.

### Mono oxigenasas

La tirosinasa se encuentra ampliamente distribuida entre microorganismos, plantas y animales. Actúa como mono oxigenasa catalizando la reacción de *orto* hidroxilación de monofenoles a *orto*-difenoles.

También actúa como oxidasa catalizando la oxidación de *orto*-difenoles a *orto*-quinonas con la transferencia de dos electrones. Estos dos comportamientos se conocen como actividad cresolasa y actividad catecolasa respectivamente.

Solomon y sus colaboradores [5] han propuesto un mecanismo para la actividad catalítica de la tirosinasa (Fig. 1.1.2).

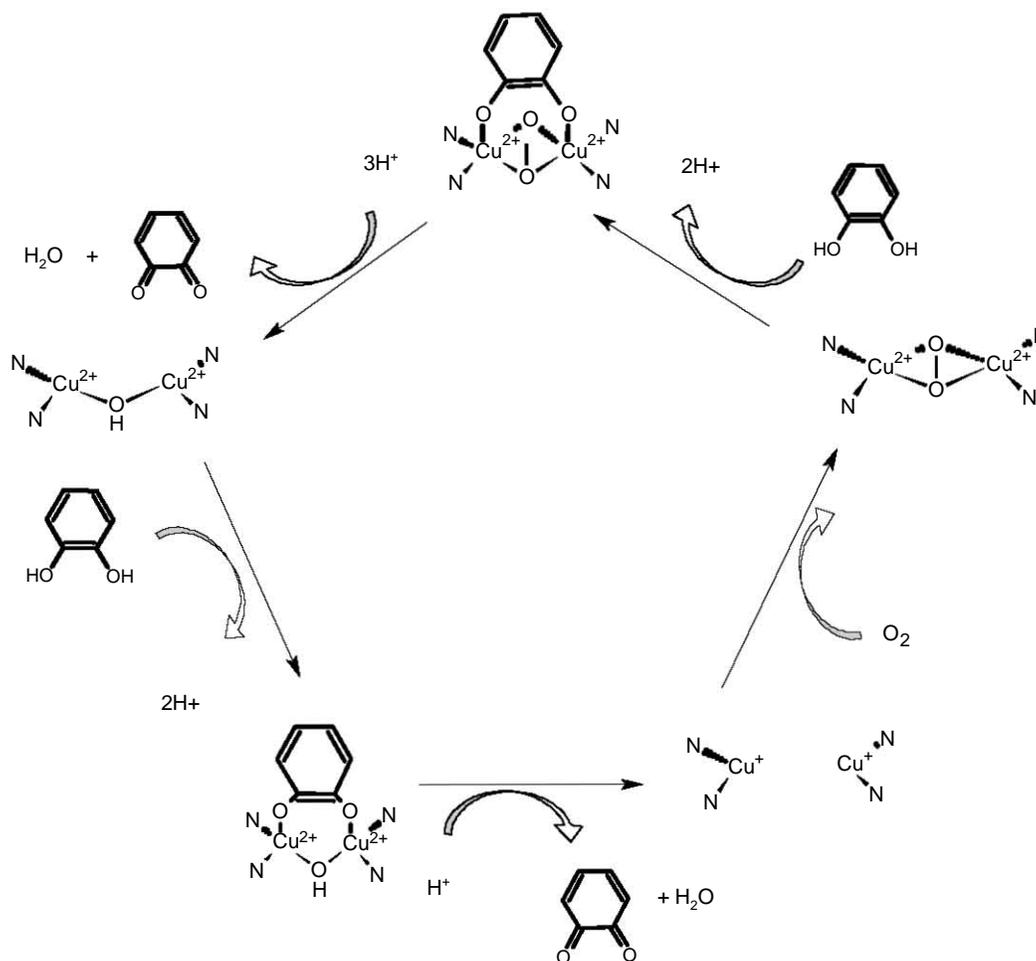
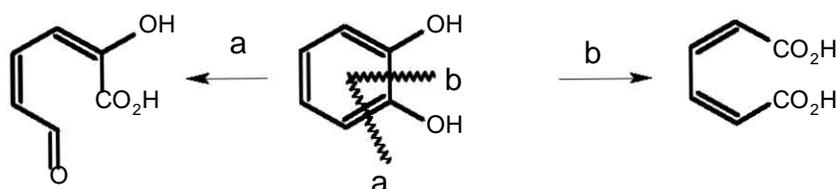


Figura 1.1.2 Ciclo catalítico de la oxidación de *o*-difenoles a *o*-quinonas por la tirosinasa propuesto por Solomon y colaboradores.

## Dioxigenasas

La mayoría de las dioxigenasas contienen hierro en un ambiente no-hemo. Un ejemplo de su actividad es la ruptura oxidativa de 1,2-catecoles. El catecol puede ser oxidado por la vía orto, la cual involucra la ruptura de los enlaces entre los átomos de carbono con los dos grupos hidroxilos o vía meta, la cual involucra la ruptura del enlace entre un átomo de carbono con un grupo hidroxilo y el átomo de carbono vecino.



### 1.1.2. Clasificación de los sitios activos en las enzimas de cobre

Los sitios activos en las metaloenzimas de cobre, por razones históricas se han clasificado [5] en tres clases a partir de sus características espectroscópicas, reflejo de su estructura geométrica y electrónica: tipo I o azules de cobre, tipo II o no azules de cobre y tipo III o centros dinucleares acoplados de cobre. Esta clasificación espectroscópica se basa en el estado oxidado del Cu(II), que con una configuración de capa abierta  $d^9$ , es susceptible de estudiarse por medio de diversas técnicas espectroscópicas.

Los sitios de cobre tipo I se presentan en proteínas acarreadoras de electrones como la plastocianina y la azurina (Fig.1.1.3). Su color azul profundo es causado por una intensa transferencia de carga ( $\epsilon > 2000 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ ) ligante-metal del azufre de la cisteína al Cu(II), alrededor de los 600 nm. La esfera de coordinación del único ion metálico está compuesta por un sistema  $\text{N}_2\text{S}_2$  que incluye dos átomos de nitrógeno de los grupos imidazólicos de dos histidinas, un átomo de azufre del tiolato de una cisteína y otro del tioéter de una metionina. Otra característica de estos sitios es que en el espectro de RPE se da una constante de desdoblamiento hiperfino extraordinariamente pequeña, esto debido a lo corto ( $< 2.3 \text{ \AA}$ ) del enlace Cu-S así como a su elevada covalencia. Las estructuras cristalinas de estas proteínas muestran que sus centros metálicos tienen una esfera de coordinación tetracoordinada fuertemente distorsionada, que se asocia con un estado intermedio entre las geometrías preferidas del Cu(II) (cuadrada) y del Cu(I) (tetraédrica) lo que favorece la transferencia rápida de electrones. Aparentemente la estructura de estos sitios es impuesta por las características de la proteína sobre el ion metálico. Los potenciales redox del par Cu(II)/Cu(I) en estos sitios son más positivos que los generalmente observados en compuestos de coordinación de cobre lo que favorece el estado de oxidación I del cobre. Esta característica se asocia a los enlaces Cu-S presentes así como a la asimetría de la estructura tetraédrica distorsionada [6a].

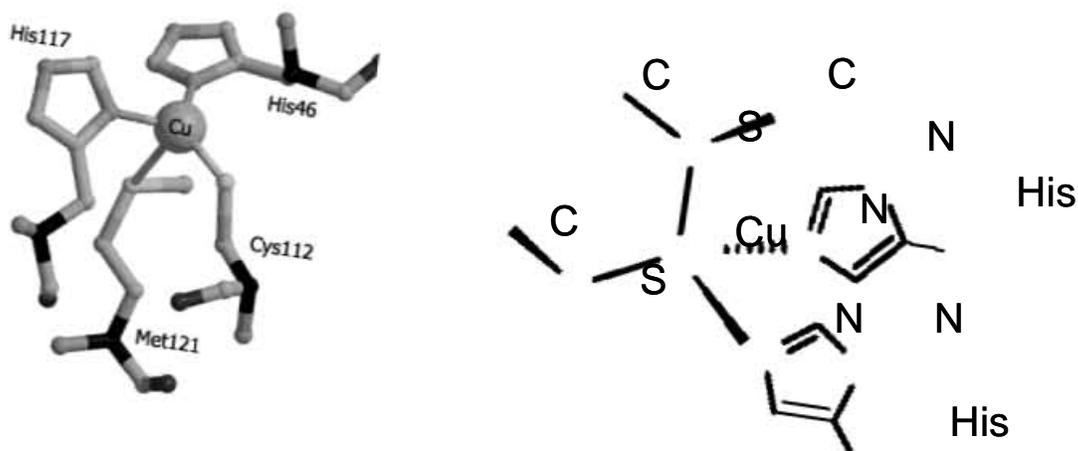


Figura 1.1.3 Representación de la esfera de coordinación del cobre en el sitio activo de la proteína “azul de cobre” plastocianina.

Los sitios “no azules de cobre” o “normales” se encuentran en oxidasas como la galactosa oxidasa (Fig.1.1.4) y en oxigenasas como la dopamina- $\beta$ -monooxigenasa. Estos sitios se caracterizan por una geometría cuadrada; su comportamiento espectroscópico es el mismo que se observa para los compuestos hexaacuo de Cu(II). Generalmente no presentan bandas de transferencia de carga observables en sus espectros de absorción y las señales que presentan sus espectros RPE son similares a las de los complejos tetragonales comunes de Cu(II). Estos sitios presentan un comportamiento redox muy variado.

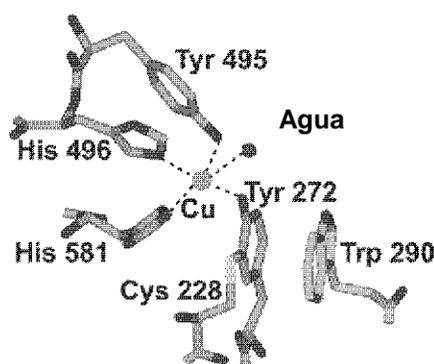


Figura 1.1.4 Estructura del centro monometálico en la enzima “no azul” de cobre galactosa oxidasa.

En contraste con los sitios mononucleares del tipo I y II, los sitios de cobre tipo III que se encuentran en enzimas como la hemocianina y la tirosinasa (Fig. 1.1.5) contienen dos átomos de cobre. Estos sitios son sin duda los más interesantes ya que presentan un fuerte acoplamiento antiferromagnético entre los dos iones metálicos lo que explica que sean silenciosos en RPE ( $-2J > 600 \text{ cm}^{-1}$ ). Este acoplamiento se da porque los dos sitios metálicos se mantienen en contacto a través de un enlace directo Cu-Cu o mediante uno o más ligantes puente. Los dos iones metálicos en estos sitios pueden reducirse de manera simultánea aceptando dos electrones en un solo paso. Sin embargo, la formación de especies con estados de oxidación mixtos no puede descartarse [7].

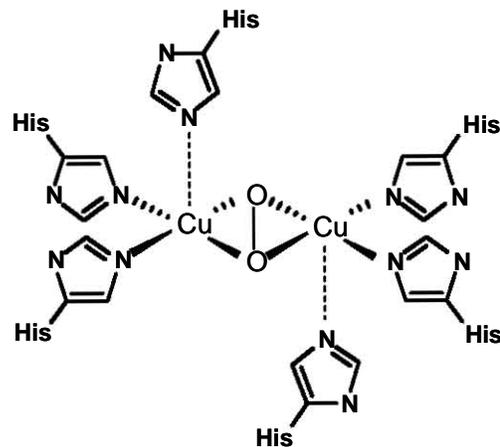


Figura 1.1.5 La hemocianina es un ejemplo de las enzimas tipo III de cobre cuyo sitio activo incluye dos centros metálicos puenteados.

Otras enzimas de cobre como la lacasa, la ascorbato-oxidasa, la superóxido dismutasa y la ceruloplasmina, no pertenecen a ninguna de las clases antes descritas. Sus sitios contienen tres o más iones metálicos que pueden describirse como alguna combinación de los anteriores.

### 1.1.3. Propiedades redox de las enzimas de cobre

La mayoría de las metaloproteínas presentan una gran eficacia en la catálisis de procesos que involucran transferencias de electrones. Esta efectividad se debe en gran medida, a la capacidad que tienen los metales de transición en el sitio activo para estabilizar diferentes estados de oxidación. El interés por identificar las características moleculares que determinan la variación del potencial redox en estos sistemas, ha motivado el desarrollo de una gran cantidad de trabajos [8, 9, 10] a partir de los cuales se han logrado identificar algunos factores determinantes:

- Los efectos hidrofóbicos: un ambiente hidrofóbico eleva el potencial de reducción del par Cu(II)/Cu(I) estabilizando a la especie reducida de menor carga. Las estructuras determinadas por difracción de rayos X y RMN muestran que todos los sitios activos de las enzimas tipo I se encuentran inmersos en una zona altamente hidrofóbica de cadenas laterales no polares. Lo anterior puede asociarse con sus potenciales típicamente elevados, sin embargo, no se ha determinado una correlación cuantitativa entre la hidrofobicidad y el potencial de reducción.
- La interacción metal-ligante: se ha comprobado el efecto que tiene esta interacción en el potencial mediante estudios de mutagénesis<sup>1</sup> con enzimas de cobre, encontrándose que en general una interacción Cu-O fuerte conlleva al abatimiento del potencial.
- Contracción de la proteína: la proteína puede “doblar” para imponer una geometría muy similar a la del estado de transición involucrado en el proceso catalítico específico (estado entático<sup>2</sup>). Este factor es muy importante ya que el potencial del sitio puede modularse al dictarse la posición y la orientación de los ligantes, incluso ajustando la fuerza de los enlaces de coordinación.

Entre los métodos utilizados para dilucidar qué factores están actuando, destaca la voltamperometría cíclica. Esta técnica puede proporcionar información sobre la cinética de las reacciones de transferencia electrónica, cualquier reacción química acoplada, y además, los datos termodinámicos convencionales: potencial redox, constante de equilibrio, etc.

---

<sup>1</sup> Al reemplazar en la esfera de coordinación del cobre al ligante Gln99 por una leucina no coordinante, el potencial de reducción de la stelacianina del pepino aumenta 320 mV.

<sup>2</sup> Del griego *entatis* que significa extender, tensionar o doblar. Se ha señalado que en este estado el metal está peculiarmente dispuesto para la acción y que esto abate la energía del estado de transición [11].

Los potenciales estándar ( $E^\circ$ ) determinados para algunas enzimas de cobre y sus pesos moleculares que evidencian su enorme tamaño se muestran en la tabla 1.1.1 [1, 6a, 7].

Tabla 1.1.1 Pesos moleculares y potenciales redox de algunas proteínas de cobre.

Proteínas de Cu	Peso molecular	$E^\circ$ (mV/ENH)
• Monometálicas T1		
Plastocianina	10,500	+370
Azurina	14,000	+330
Stelacianina	20,000	+184
Umecianina	14,600	+283
Rusticianina	16,800	+680
• Polimetálicas		
Lacasa	62,000	+780
Ascorbato oxidasa	140,000	+580
Ceruloplasmina	130,000	+390

Los estudios voltamperométricos directos de metaloproteínas presentan muchas dificultades: la adsorción y desnaturalización que con frecuencia sufren las proteínas sobre la superficie del electrodo; y el hecho de que los iones metálicos del sitio activo generalmente se encuentran “ocultos” en el interior de la proteína y muchas veces son inaccesibles a esta técnica. Además, debido al gran tamaño de las metaloproteínas la corriente está limitada por los pequeños valores de sus coeficientes de difusión.

Para medir el potencial redox de las enzimas se han utilizado otras técnicas, entre ellas la espectroelectroquímica. En ésta, se establece un equilibrio entre la especie oxidada y la reducida del analito a un potencial determinado dentro de una celda espectroscópica. El potencial se logra mediante la adición de un reactivo redox apropiado o mediante la aplicación directa de un potencial constante en la celda. La concentración, que alcanza cada especie a dicho potencial se mide espectrofotométricamente.

Frecuentemente las transferencias electrónicas en las técnicas descritas no se llevan a cabo de manera directa entre el electrodo y el analito; sino que se realizan a través de pequeñas moléculas llamadas mediadores que transportan a los electrones entre el electrodo y el sitio activo de la enzima. Entre los mediadores más comunes se encuentran las quinonas, el  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$  y el metil viologeno (cloruro de 1,1'-dimetil-4,4'-dipiridinio) [6a].

Otro procedimiento que hace posible el estudio directo de las enzimas es el uso de promotores; sustancias que incluyen en su estructura grupos funcionales adecuados de tal modo que cuando están adsorbidas sobre la superficie del electrodo favorecen la unión de la proteína al electrodo, mediante interacciones electrostáticas, en una orientación que favorece la transferencia electrónica. Aunque el uso de dichas técnicas hace posible la medición directa de los potenciales redox de las enzimas, presenta complicaciones importantes. Por ejemplo usando mediadores, el potencial redox del citocromo  $b_5$  mitocondrial es de -102 mV, mientras que para la misma proteína se obtiene un valor de -78 mV cuando se utiliza un promotor [6a]. Así, dada la complejidad de las proteínas y la gran susceptibilidad que presenta su potencial redox, el método más común para examinar los efectos de las variaciones estructurales en los potenciales redox es el uso de compuestos modelo que imitan algunas de las características del sitio activo de las enzimas.

## 1.2 Modelos sintéticos de los sitios activos de las enzimas de cobre

Aunque la estructura de muchas metaloproteínas se conoce con cierto detalle [12], la complejidad de la mayoría ha dificultado la elucidación completa de la estructura de su sitio activo (Fig.1.2.1). Así, frecuentemente se crea una imagen de estos sitios a través de evidencias espectroscópicas y mediante el estudio de moléculas modelo de bajo peso molecular que emulan alguna o varias de las características de la proteína original.

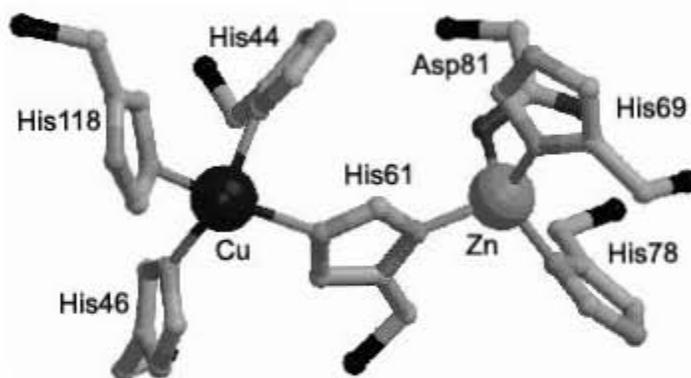


Figura 1.2.1 La estructura cristalina de la superóxido dismutasa contiene en su sitio activo, un átomo de cobre (II) y uno de zinc (II) unidos por un puente imidazolato.

Los modelos se han clasificado en tres tipos [1]:

- *Corroborativos*: se conoce la estructura del sitio activo y se utiliza el modelo para estudiar las propiedades del sitio *in vitro*, para determinar si las propiedades de la metaloproteína están dominadas por la primera esfera de coordinación del metal.

- *Especulativos*: la estructura no se conoce pero se tiene una idea de sus características con base en estudios espectroscópicos y el modelo sirve para imitar dichas propiedades de tal forma que se hace una comparación predictiva.
- *Funcionales*: se puede reproducir fielmente el funcionamiento del sitio activo.

Dado el estado actual de la química puede afirmarse que el desarrollo de modelos funcionales no ha sido posible. Esto puede asociarse con la complejidad del estado entáxico que sólo se adquiere para la acción catalítica y en el que la proteína adopta una estereoquímica cercana a la del estado de transición propio del proceso catalítico.

#### 1.2.1. Electroquímica de los sistemas modelo

La mayoría de los estudios que abordan el comportamiento electroquímico de los compuestos modelo de los sitios activos de las enzimas de cobre se concentran en las enzimas tipo I y III. Su importancia biológica y la peculiaridad de sus propiedades espectroscópicas y electroquímicas hacen de estos modelos un objeto de estudio muy atractivo. Las investigaciones dedicadas al comportamiento de los sitios tipo II son escasas debido a la “normalidad” que caracteriza a estas especies.

#### Modelos de enzimas tipo I

Como se mencionó, el potencial redox para el par Cu(II)/Cu(I) en los sitios activos tipo I se caracteriza por ser alto (desde 184 hasta 680 mV) en comparación con el de los respectivos acuocomplejos (154 mV) [8]. Por lo tanto un modelo razonable debe presentar necesariamente un potencial elevado dentro del intervalo encontrado para este tipo de proteínas.

En este respecto destaca el trabajo de Reedijk [7, 13, 14] y sus colaboradores con al menos una docena de compuestos cuyos potenciales son del mismo orden que los reportados para las enzimas azules (Fig.1.2.2).

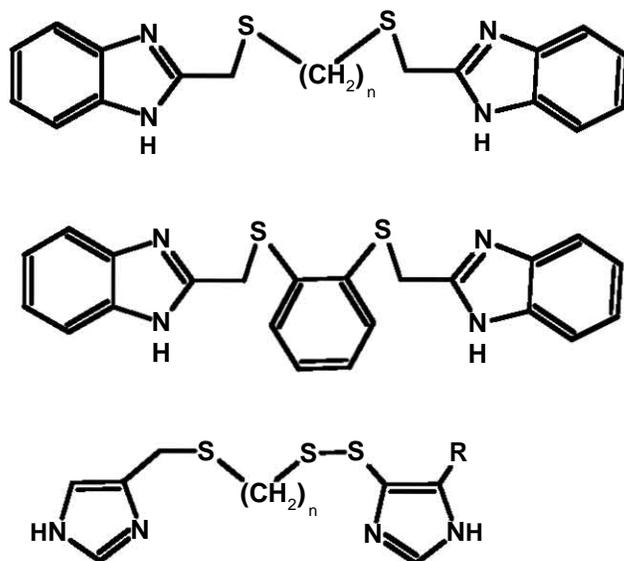


Figura 1.2.2 Estructura de tres ligandos sintetizados por Reedijk y sus colaboradores para modelar a las enzimas tipo I. Todos ellos incluyen el grupo donador  $\text{N}_2\text{S}_2$ .

### Modelos de enzimas tipo III

Los modelos para los sitios tipo III deben tener accesibilidad a los dos estados de oxidación del cobre. Además, es preferible que retengan en disolución a la especie bimetalica puenteada ya que esta estructura coincide con la propuesta en los mecanismos de actividad de las enzimas. La voltamperometría cíclica constituye una herramienta útil para determinar si un modelo cumple con dichos requerimientos. Gracias a la versatilidad de esta metodología se han realizado estudios voltamperométricos que incluyen compuestos bimetalicos de Cu(II) [15, 16, 17], bimetalicos de Cu(I) e incluso complejos bimetalicos mixtos Cu(II)-Cu(I) [18] que se preparan mediante reducciones electroquímicas selectivas.

Así, en general se han identificado dos tipos de comportamientos redox entre los sistemas bimetalicos: un solo proceso de dos electrones, resultado de dos procesos de un electrón que se llevan a cabo prácticamente al mismo valor de potencial, y dos procesos distintos de un electrón cada uno, a diferentes potenciales. Resulta interesante mencionar que algunos autores que han utilizado ligantes muy similares han obtenido resultados distintos en la electroquímica de sus complejos. Por ejemplo Addison reporta una sola señal voltamperométrica de reducción para complejos bimetalicos de cobre con ligantes muy similares a los que utilizan Gagné, Long y Hendrickson [7,19] quienes reportan dos señales. Addison utiliza acetonitrilo como disolvente en su estudio mientras que los demás autores utilizan dimetilformamida. Los estudios electroquímicos en general, tienen la desventaja de tener que realizarse en disolución. Esto implica una gran dependencia de los resultados que se obtienen en el efecto que puede tener el disolvente sobre los complejos. Las especies sólida y disuelta pueden diferir en mayor o menor grado dependiendo de su interacción con el disolvente. Estas diferencias difícilmente pueden detectarse y cuantificarse. Con pocas excepciones, los autores tienden a menospreciar la influencia del disolvente o del electrolito soporte no sólo en los resultados de los estudios electroquímicos sino también en la vida media de los compuestos.

### 1.2.2. Características de los modelos para las enzimas del tipo III

La síntesis y el estudio de complejos dinucleares de cobre gozan de una particular importancia en bioinorgánica por el potencial que éstos tienen como catalizadores redox en procesos que involucran la transferencia de dos electrones. De hecho, la acción de las metaloproteínas de cobre tipo III está asociada con la presencia de los iones metálicos por parejas. Estas enzimas son capaces de llevar a cabo de forma selectiva, reacciones que involucran la transferencia de dos electrones, proceso que en ocasiones no puede realizarse por dos iones de cobre separados.

Las características que debe reunir un ligante orgánico utilizado para modelar los sitios activos del tipo III (Fig. 1.2.3) son [20, 21]:

- Incluir preferentemente átomos de nitrógeno heteroaromático como donadores  $\sigma$  fuertes tales como los que se encuentran en la mayoría de los sitios naturales.
- Ser flexible para estabilizar un ion de cobre en sus dos estados de oxidación, tetraedro distorsionado para Cu(I) y tetragonal para Cu(II).
- Incluir o favorecer la entrada de un grupo que actúe como puente entre los sitios metálicos y los disponga a una distancia de 3 a 5 Å para promover el acoplamiento antiferromagnético que caracteriza estos sitios. Es importante que dicho arreglo se mantenga en disolución.
- Ocupar la mayor parte de la esfera de coordinación del metal dejando por lo menos un sitio libre y estéricamente accesible que permita la entrada de ligantes exógenos como podría ser el sustrato.

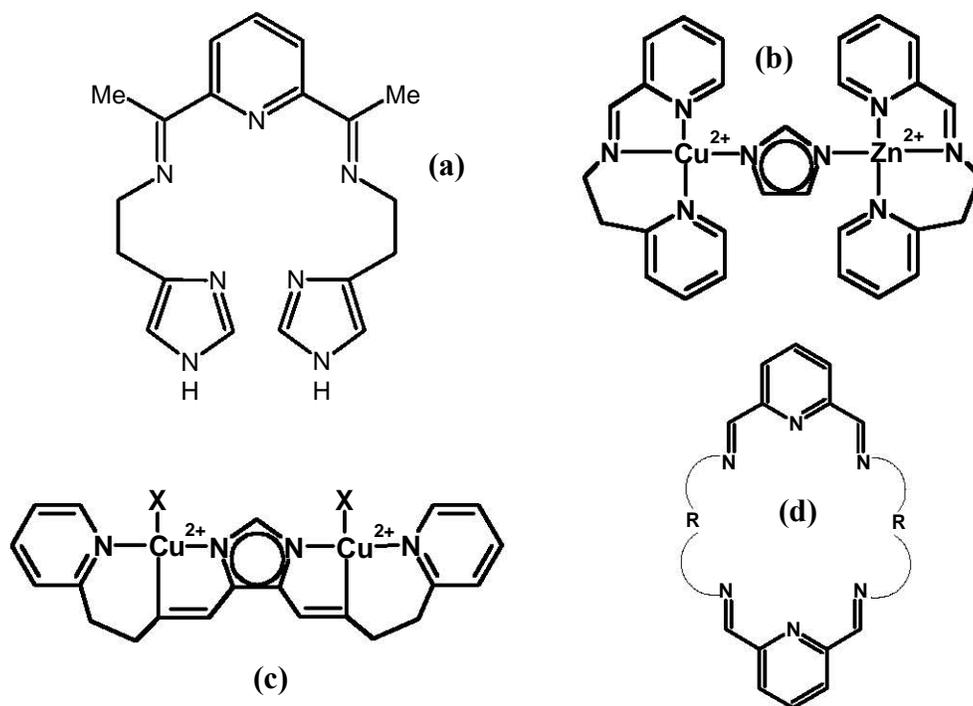
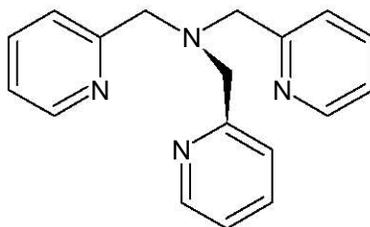


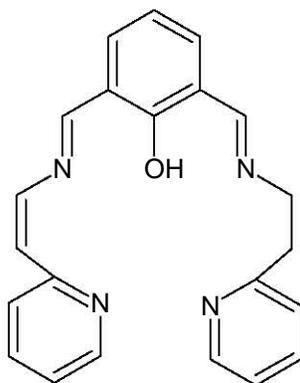
Figura 1.2.3 Ejemplos de ligantes y complejos modelo que incluyen en su estructura anillos heteroaromáticos. Referencias: (a) [7], (b) [22], (c) [22,23] y (d) [7].

Entre los compuestos bimetálicos que se han utilizado como modelos de los sitios tipo III de las enzimas pueden distinguirse tres clases de ligantes: los trípodas, los dinucleantes y los macrocíclos.

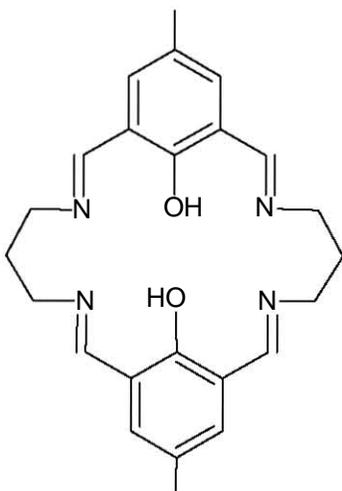
Los ligantes que imponen una estructura trípode al complejo, en general son tri o tetradentados ( $N_3$  o  $N_4$ ) y generan sitios pentacoordinados. La especie activa se forma cuando dos unidades monometálicas de  $Cu(II)$  son puenteadas por dioxígeno ( $O_2$ ).



Por su parte, los ligantes dinucleantes  $N_4$  o  $N_6$  son por mucho los más utilizados [21] en la preparación de modelos tipo III. En general, estos ligantes incluyen un grupo puente o bien un espaciador que pueden posicionar a los dos iones metálicos a una distancia de entre 3 y 5 Å. Dichos sistemas provienen de un anillo aromático o heteroaromático con dos extremidades quelatantes.



La posibilidad que ofrecen los ligantes macrocíclicos de imponer una geometría rígida alrededor de los iones metálicos también ha sido aprovechada en la preparación de modelos. Entre los ligantes empleados destacan las azo-coronas. La principal ventaja que ofrece el uso de ligantes macrocíclicos es el bajo grado de libertad que tiene la estructura en disolución. Lo cual, previene la formación de productos indeseados o inesperados.



### 1.2.3. Evaluación de la efectividad catalítica de los compuestos modelo

Las propiedades catalíticas de un gran número de sistemas bimetálicos de cobre se han evaluado en la reacción de oxidación de catecoles a quinonas en presencia de oxígeno. Esta actividad catecolasa es realizada en los sistemas biológicos por la catecol oxidasa y la tirosinasa, ambas con un centro bimetálico de cobre que es silencioso en RPE debido a que los centros iones se encuentran acoplados antiferromagnéticamente.

Entre los catecoles que se utilizan para evaluar la actividad de los modelos, el 3,5-di-*ter*-butil catecol (DTBC) es el más común, ya que sus sustituyentes voluminosos hacen más lenta cualquier oxidación posterior como la apertura del anillo y tiene un potencial rédox bajo, que facilita su oxidación a la quinona correspondiente (Fig. 1.2.4).

La 3,5-di-*ter*-butil benzoquinona (DTBBQ) que se obtiene es fácil de analizar espectrofotométricamente porque presenta una absorción característica en 400 nm ( $\epsilon_0 = 1300 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  en  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ ). La actividad catecolasa se ha informado tanto en compuestos modelo monometálicos como en aquellos que cuentan con dos sitios, siendo en general éstos los que presentan una actividad superior.

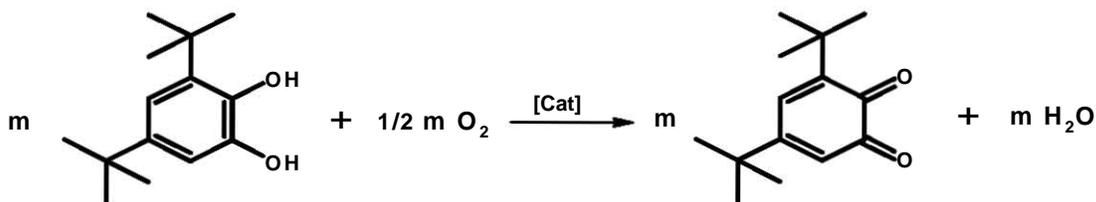
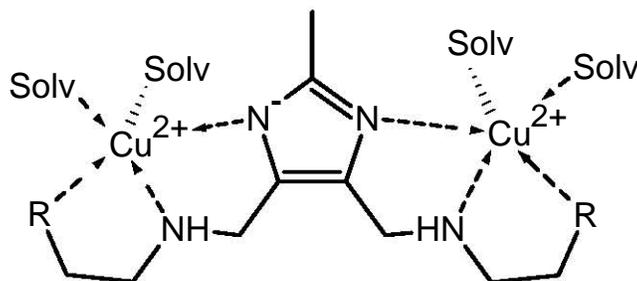


Figura 1.2.4 Reacción de oxidación del 3,5-di-*ter*-butil catecol (DTBC) a la 3,5-di-*ter*-butil benzoquinona (DTBBQ).

#### 1.2.4. Sistemas modelo de interés en el grupo de investigación

Uno de los intereses del grupo de trabajo donde se desarrolló esta investigación es ampliar la comprensión de los factores estructurales que dictan el comportamiento catalítico de una serie de compuestos dinucleares de cobre derivados del imidazol.

Con este fin, en un principio, se intentaron obtener ligantes que incluyeran un grupo imidazol y dos residuos de una amina o un aminoácido. Esto, con la idea de obtener sistemas bimetalícos puenteados por el grupo imidazolato. Dicha estructura es interesante ya que ubica a los dos iones metálicos a una distancia similar a la que se encuentran en los sitios activos de algunas enzimas ( $< 5 \text{ \AA}$ ) [24].

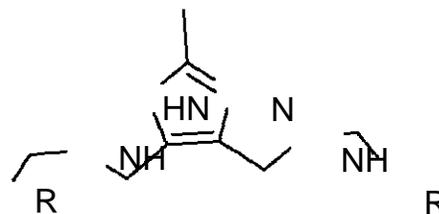


Sin embargo, aún cuando el método de síntesis de los ligantes es el mismo se obtienen estructuras diferentes dependiendo de la amina o el aminoácido que se adicione. La causa de este comportamiento, aunque aparentemente está relacionada con la quiralidad del grupo utilizado, aún no se ha podido explicar. Así, los compuestos obtenidos se han clasificado como “abiertos” o “cerrados” según la estructura que presentan.



*Ligantes "cerrados"*

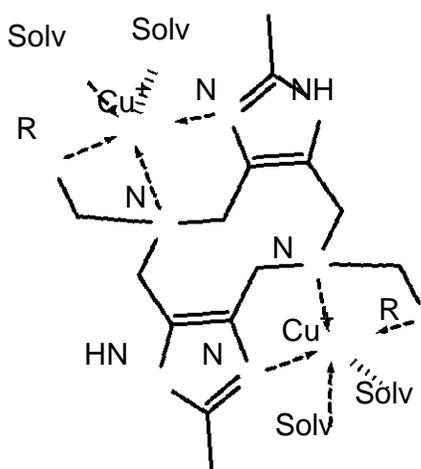
- R=
- n-propilamina
  - glicina
  - N,N'-dimetiletilendiamina



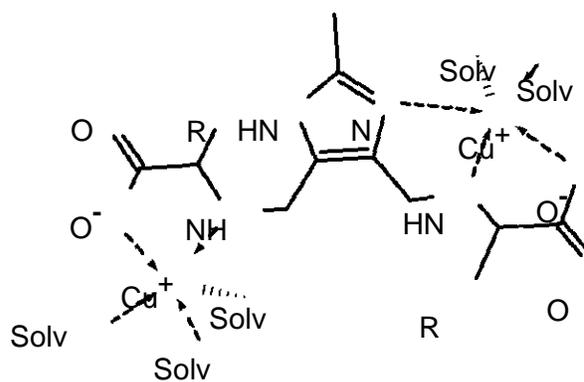
*Ligantes "abiertos"*

- R=
- alanina
  - leucina

Los compuestos bimetalicos que se han obtenido con los ligantes de estructura cerrada, *dimeim*, *glimeim* y *promeim* presentan un arreglo cristalino donde los dos sitios de coordinación son equivalentes pero distantes, debido a que se coordinan a diferente grupo imidazol. En el caso de los compuestos bimetalicos con ligantes abiertos, sólo se ha obtenido una estructura cristalina con el ligante que proviene de leucina. Esta estructura incluye dos sitios de coordinación no equivalentes, uno que está unido a un nitrógeno y un oxígeno del aminoácido y el otro además, coordinado al nitrógeno del imidazol.



*Complejos con estructura cerrada*



*Complejos con estructura abierta*

Para todos los compuestos cerrados y abiertos, se han determinado en estado sólido, momentos magnéticos por debajo de lo esperado para dos átomos de cobre (II) [25, 26, 27]. Lo anterior, sugiere que existe una interacción antiferromagnética entre los iones metálicos que puede ser inter o intramolecular. Esto es relevante, ya que como se mencionó, los sitios activos de las enzimas tipo III presentan esta característica.

La actividad catalítica en la oxidación del 3,5-*ter*butilcatecol determinada de forma preliminar resultó ser inferior a lo esperado. Por lo que se consideró la posibilidad de modificar las estructuras. Sin embargo, con el propósito de optimizar cualquier cambio e incluso sustentar el diseño de nuevos sistemas se decidió enfocar el trabajo en la identificación de los factores que determinan el comportamiento catalítico de estos sistemas. Para ello se estructuró un proyecto (del cual este trabajo forma parte) que considera el estudio de las propiedades magnéticas, espectroscópicas y electroquímicas de los compuestos, así como la relación con su habilidad como catalizadores.

Los resultados del proyecto pueden contribuir por una parte, a un mejor entendimiento del funcionamiento de las biomoléculas y por otra, en la síntesis de mejores modelos e incluso de catalizadores utilizables en reacciones de importancia industrial.

## Método utilizado en la síntesis de los ligantes

### Reacción de Mannich.

Los ligantes de ambas series, “cerrados” y “abiertos”, fueron sintetizados mediante la reacción de condensación de Mannich. En un solo paso, esta reacción permite introducir grupos amino o aminoácido a un anillo imidazólico.

La reacción de Mannich clásica (Fig. 1.2.5), consiste en la reacción de adición nucleofílica entre un compuesto con un hidrógeno  $\alpha$  ácido como una cetona o un éster y una imina o un ion iminio que a su vez resulta de la reacción entre formaldehído y una amina secundaria para formar un producto aminoalquilado.

Aunque Carl Mannich no fue el primero en describir la reacción que lleva su nombre se le acredita por ser el primero en hacer de ella una metodología de síntesis común.

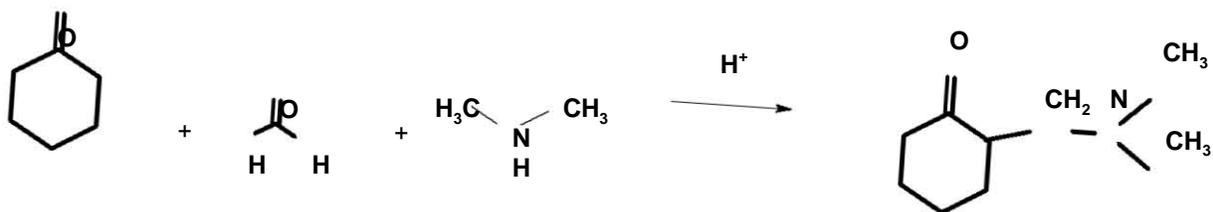
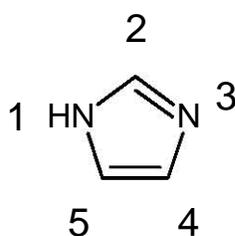


Figura 1.2.5 Reacción general de Mannich para la adición nucleofílica de un compuesto con un hidrógeno  $\alpha$  ácido y una imina.

La efectividad de la reacción de Mannich para condensar aminas o aminoácidos en un anillo imidazólico con formaldehído ha sido reportada en varias ocasiones [25, 29].

El comportamiento del anillo imidazólico en esta reacción es fundamental en el diseño de nuevos ligantes. De los cuatro posibles sitios de reacción en el anillo (**1**, **2**, **4** y **5**) la sustitución en el nitrógeno (**1**) se favorece en medio ácido mientras que en un medio de reacción básico el imidazol es reactivo en cualquiera de los sitios.

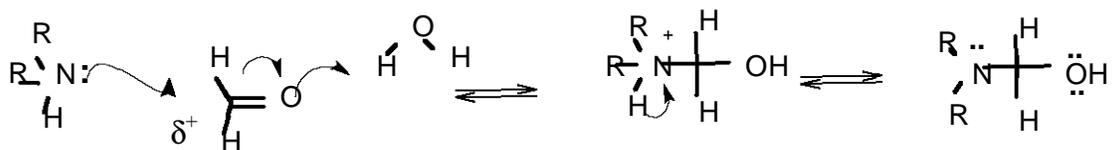


Sin embargo, en condiciones básicas (Fig. 1.2.6) la sustitución en el nitrógeno se hace reversible lo cual favorece la acumulación de productos sustituidos en el carbono al paso del tiempo.

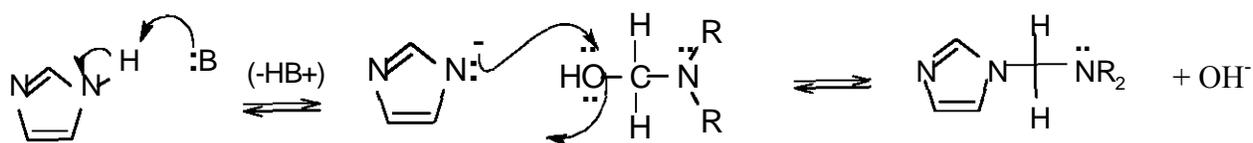
El mecanismo de reacción reportado por Mijangos para este proceso en medio ácido [28], involucra un ion carbonio derivado de la reacción entre el formaldehído y la amina o aminoácido, que reacciona sólo con el nitrógeno básico del imidazol de forma prácticamente irreversible.

En medio básico, se propone [28] que la reacción inicia con la formación del aminometilol que reacciona con el anión imidazolato en el nitrógeno de forma reversible y en cualquiera de los carbonos de forma irreversible.

Formación del *gem*-aminoalcohol.



Ataque reversible a la posición N.



Ataque irreversible a la posición C.

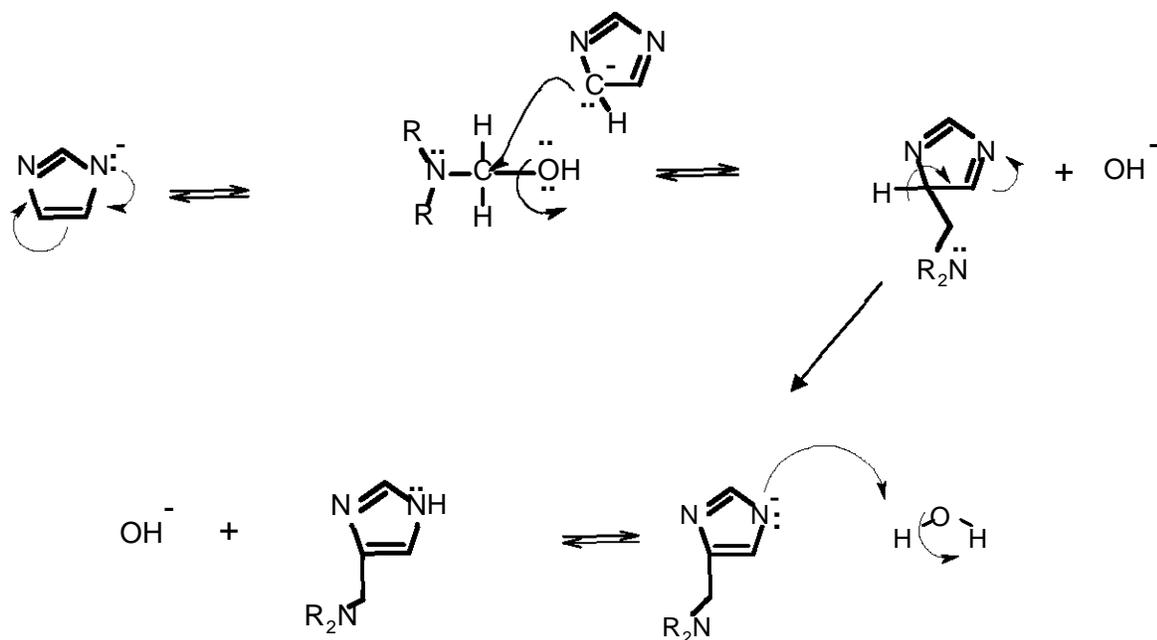


Figura 1.2.6 Mecanismo propuesto para la reacción de Mannich en medio básico en la síntesis de los ligandos abiertos y cerrados.

Cuando la reacción se realiza usando 2-metilimidazol en medio básico, la sustitución en la posición 1 es reversible, mientras que la posición 2 ya está sustituida. Así, sólo las posiciones 4 y 5 reaccionan. Es por ello que se eligió para sintetizar los ligantes de interés en este trabajo (Fig. 1.2.7).

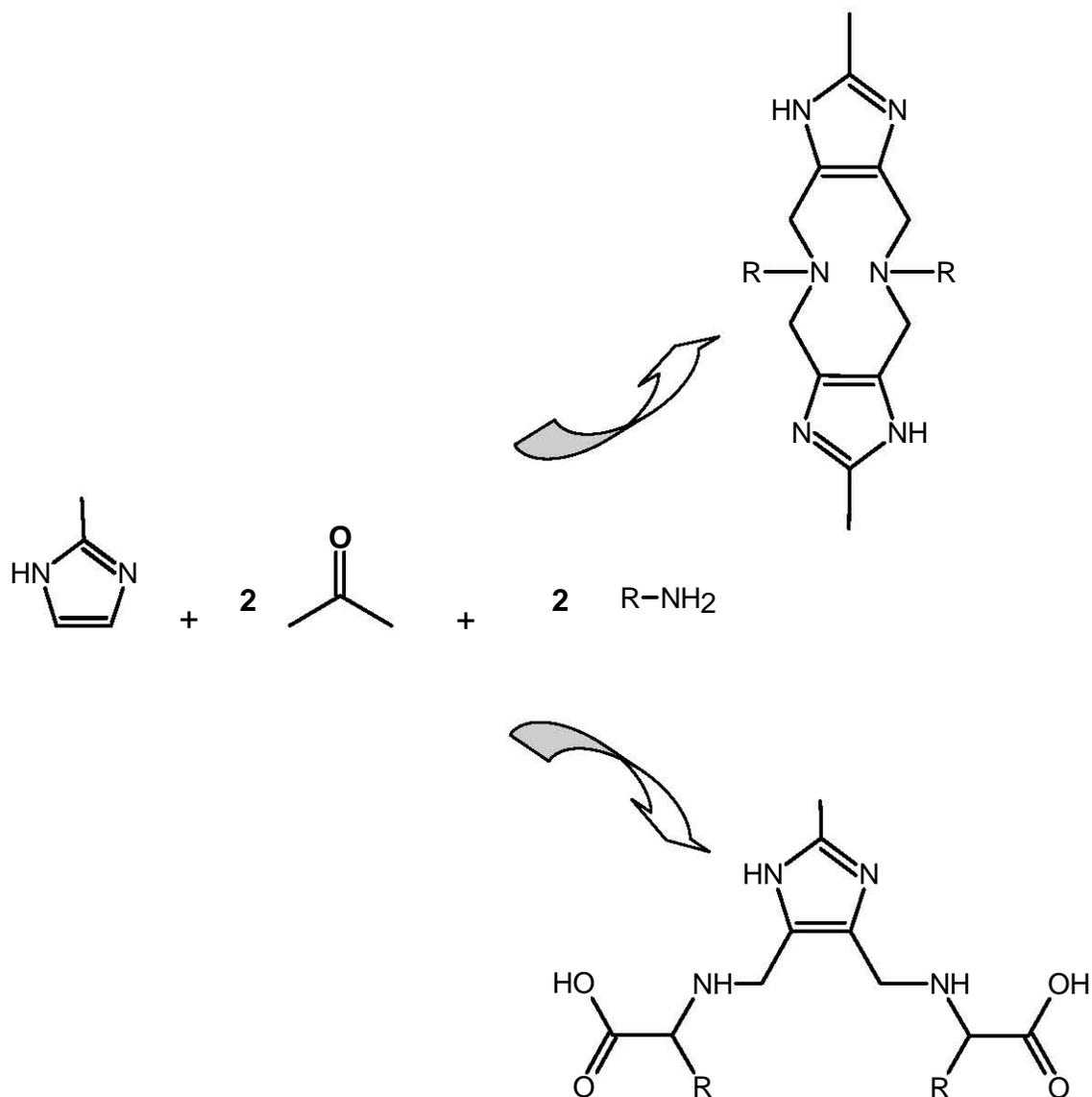


Figura 1.2.7 Reacción general para la síntesis de los ligandos abiertos y cerrados mediante el proceso de Mannich en medio básico.

### 1.3 Algunos aspectos de la química de coordinación del cobre

La configuración de capa llena es la causa de que el Cu(I) sea espectroscópicamente “invisible“, sin embargo este estado diamagnético permite utilizar espectroscopía de RMN para estudiar la parte orgánica de sus compuestos.

Las propiedades redox del ion de cobre dependen mucho del ligante con el que esté unido. Así, los ligantes blandos tienden a elevar el potencial redox del par Cu(II)/Cu(I) en los complejos estabilizando a la especie reducida.

De acuerdo al principio de ácidos y bases duros y blandos (ABDB) el ion Cu(I) es un ácido blando, de tal manera que forma compuestos estables con donadores como ligantes azufrados, compuestos heterocíclicos no saturados y monóxido de carbono.

Su configuración  $d^{10}$ , esféricamente simétrica, no proporciona energía de estabilización del campo de los ligantes. Es por eso que efectos como el estérico y el electrónico del ligante rigen la estructura preferida. En general, sus complejos presentan geometría lineal con número de coordinación dos. También se presentan complejos triangulares, pirámides trigonales y varios compuestos tetraédricos e incluso pirámides tetragonales.

El Cu(II), aunque es un ácido relativamente más duro, prefiere al nitrógeno sobre el oxígeno como donador. Los complejos que forma con moléculas pequeñas generalmente presentan una geometría tetragonal debido al efecto Jahn-Teller, con cuatro ligantes ecuatoriales y ninguno, uno o dos ligantes axiales unidos débilmente.

Este efecto hace que los orbitales  $d$  se desplacen para que el  $d_{x^2-y^2}$  sea el orbital semilleno de más alta energía, abatiendo así la energía del sistema.

En la región de baja energía de los espectros de absorción, predominan las transiciones desde los orbitales  $d$  llenos al  $d_{x^2-y^2}$  semiocupado. Ya que la energía de estos orbitales está determinada por el campo de los ligantes, las transiciones  $d-d$  asociadas son muy sensibles a la geometría y por lo tanto la espectroscopía de absorción constituye una herramienta útil en la caracterización de estos sistemas.

Estas transiciones  $d-d$  están prohibidas por la regla de Laporte por lo que son muy débiles en intensidad,  $\epsilon < 200 \text{ m}^{-1}\text{cm}^{-1}$ .

## 2. Objetivos y alcances

El gran tamaño y complejidad estructural de las metaloenzimas dificulta enormemente el estudio de los sitios activos. Un procedimiento común para abordar esta tarea, es el análisis del comportamiento químico de compuestos de coordinación que imitan el entorno de los sitios activos. El estudio de complejos denominados biomiméticos, con pesos moleculares bajos y estructuras simples, constituye una herramienta muy útil en este campo. El funcionamiento de las metaloenzimas, frecuentemente involucra cambios en el estado de oxidación de los iones metálicos del sitio activo, por lo que el comportamiento electroquímico de los sistemas modelo de las enzimas de cobre y su relación con la actividad catalítica, resultan de particular interés.

Objetivo General:

Comprender algunos de los factores estructurales que influyen sobre el comportamiento electroquímico en una serie de complejos bimetálicos de cobre con ligantes análogos derivados del imidazol y su relación con la actividad catalítica que éstos presentan en una reacción de oxidación.

Hipótesis:

La modificación sistemática de una serie de compuestos similares, puede ser útil para elucidar cómo afecta la estructura de las moléculas en su comportamiento redox y catalítico.

La variación del aminoácido unido al grupo imidazol en los conjuntos de ligantes abiertos o cerrados puede reflejarse en el comportamiento redox de sus compuestos bimetálicos, así como en su eficiencia catalítica.

La estructura, cerrada o abierta, de los compuestos bimetálicos puede determinar su comportamiento electroquímico y catalítico.

Objetivos particulares:

- Obtener los nuevos ligantes *metmeim* y *fenmeim* análogos a los que ya se tenían en el grupo de trabajo, a partir de la condensación del 2-metilimidazol con los aminoácidos metionina y fenilalanina respectivamente.
- Preparar y caracterizar sus correspondientes complejos dinucleares de Cu(II).
- Realizar el estudio electroquímico de todos los sistemas dinucleares del conjunto.
- Evaluar la actividad catalítica de los complejos.
- Proponer una explicación para el comportamiento catalítico de los sistemas con base en las propiedades electroquímicas que se determinen.
- Establecer una metodología que permita identificar los factores redox que determinan la actividad catalítica de sistemas modelo.

Alcances del trabajo:

Desde sus inicios el proyecto principal del cual este trabajo forma parte, tuvo como objetivo identificar efectos electrónicos o estéricos en el comportamiento espectroscópico, electroquímico y catalítico de un grupo de compuestos con algunas características comunes a las enzimas de cobre tipo III.

Con este propósito se sintetizaron dos series de ligantes dinucleantes clasificados por su estructura, como “abiertos” y “cerrados”. Los primeros presentan un arreglo adecuado para albergar dos centros metálicos equivalentes puenteados por un imidazol. Los “cerrados” por su parte, ofrecen dos sitios de coordinación equivalentes más alejados, que podrían favorecer interacciones tanto intra como intermoleculares entre sus iones metálicos.

En la primera parte de este trabajo se describirá la síntesis y la caracterización de dos nuevos ligantes “abiertos”: *metmeim* y *fenmeim*, así como de sus respectivos complejos bimetálicos de cobre, que se realizaron para ampliar el conjunto original de compuestos. Posteriormente se presentará la parte esencial del trabajo: el estudio electroquímico de todos los sistemas cerrados y abiertos. Aunque el objetivo original era estudiar el comportamiento redox de los sistemas, las técnicas de voltamperometría cíclica, cronoamperometría y espectroelectroquímica permitieron además caracterizar a las especies en disolución e identificar las modificaciones estructurales que presentan tras las transferencias electrónicas. Así, se discutirá como los compuestos que incluyen un puente imidazolato modifican su estructura debido a su interacción con el disolvente. Además, se describirá el mecanismo propuesto para dos reacciones homogéneas acopladas a las transferencias electrónicas: la descoordinación del cobre y la reproporción entre las especies que se forman durante la microelectrólisis. Así como la formación de una especie solvatada de Cu(I).

La actividad catalítica de los complejos en la reacción de oxidación del 3,5-di-*ter*-butil catecol se describirá en la parte final del trabajo y sus coincidencias con las características inherentes al comportamiento electroquímico de cada serie serán discutidas para alcanzar el objetivo principal de este trabajo.

### 3 Resultados y discusión

#### 3.1 Síntesis y caracterización de los ligantes

##### 3.1.1. Ligante *metmeim*

La síntesis del nuevo ligante *metmeim* se realizó, al igual que los ligantes ya sintetizados y caracterizados en el grupo de trabajo, mediante la reacción de Mannich en medio básico. Además del 2-metilimidazol y el formaldehído, en esta reacción se empleó el aminoácido metionina. De esta reacción se obtuvo un polvo blanco que se caracterizó a través de las técnicas convencionales: espectroscopías infrarroja (IR) y de resonancia magnética nuclear (RMN) de carbono e hidrógeno, análisis elemental (AE) y espectrometría de masas (EM). Mediante dichas técnicas pudo determinarse que el ligante *metmeim* presenta la estructura abierta que se muestra en la siguiente ecuación (Fig. 3.1.1):

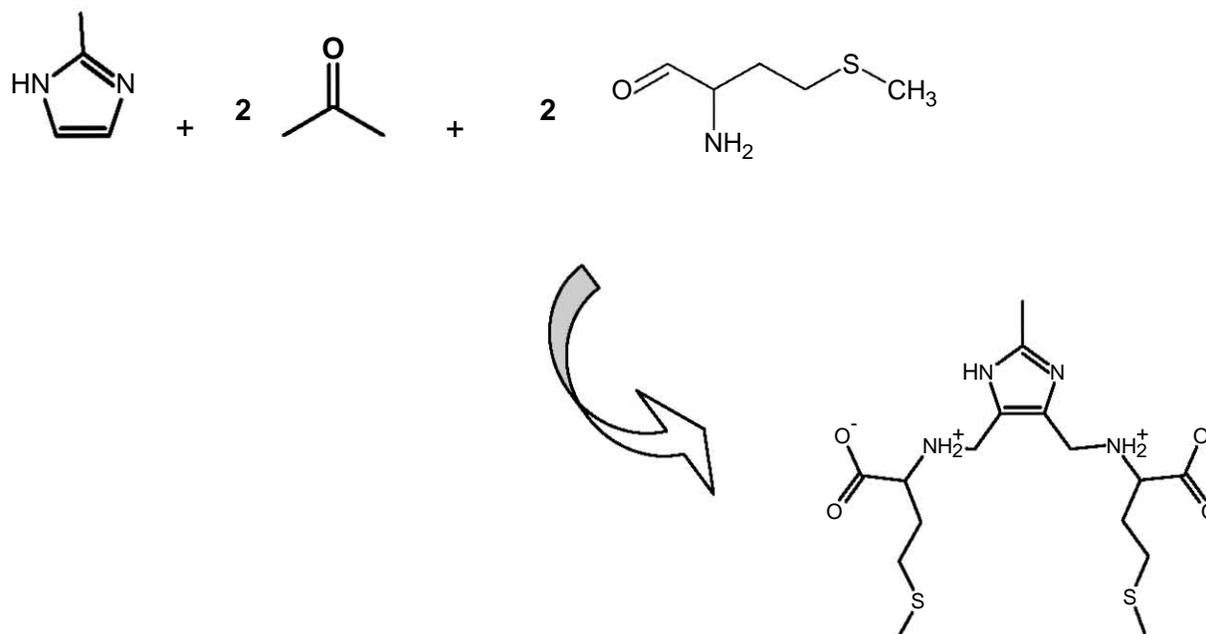


Figura 3.1.1 Reacción para la síntesis del ligante abierto *metmeim* en medio básico.

### 3.1.1.1. Espectroscopía infrarroja IR

La presencia de los grupos que, con base en la estructura de los compuestos previos, se esperaba encontrar en este compuesto se corroboraron haciendo un análisis de su espectro de infrarrojo. Dicho espectro se muestra en la figura 3.1.2 y sus señales se resumen en la tabla 3.1.1.

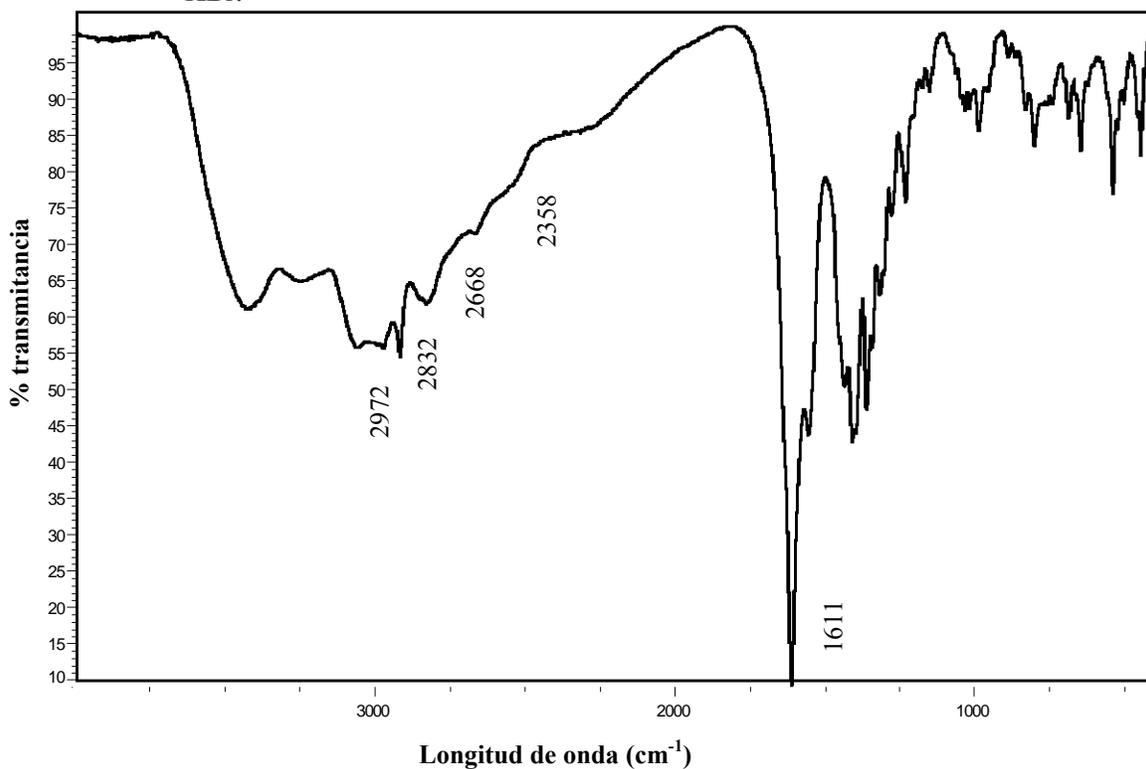
Así, las bandas que se observan entre 2832 y 2975  $\text{cm}^{-1}$  pueden asignarse a las vibraciones de los metilos y metilenos [30] provenientes de cualquiera de los reactivos.

Tabla 3.1.1 Algunas señales destacadas del espectro de IR del ligante *metmeim*.

Frecuencia de absorción ( $\text{cm}^{-1}$ )	asignación
entre 2830 y 2975	$\text{CH}_3\text{-C}$ y $\text{-CH}_2\text{-}$
alrededor de 2500	$\text{-NH}_2^+\text{-}$
1611	COO
entre 1550 y 1400	$\text{N=C}$ y $\text{N-C}$ del imidazol

La presencia del grupo aminoácido en el compuesto, se confirmó mediante la observación de la banda intensa que aparece en 1611  $\text{cm}^{-1}$  y las señales anchas que aparecen alrededor de 2500 $\text{cm}^{-1}$ . La primera, es característica de los estiramientos simétrico y antisimétrico de los grupos carboxilos, mientras que estas últimas son características de aminas protonadas o grupos amonio. La presencia de estas señales, que indican que el grupo amino está protonado y entonces cargado positivamente, sugiere que el producto obtenido es la especie zwitteriónica esperada. Es decir, aquella con dos cargas provenientes de los carboxilos que se anulan con las de dichas aminas. Lo anterior también se sustenta con la ausencia de cualquier señal correspondiente a un contra-ion.

Figura 3.1.2 Espectro de IR del ligante *metmeim* en pastilla de KBr.



Las señales que aparecen alrededor de  $1550\text{ cm}^{-1}$  y que son características de vibraciones de estiramiento de enlaces  $\text{N}=\text{C}$  y  $\text{N}-\text{C}$  en anillos imidazólicos confirmaron la presencia de este grupo.

El análisis del espectro de infrarrojo aunque no aporta mucha información respecto a la estructura del compuesto, es una herramienta útil para identificar los grupos funcionales que contiene el compuesto, para confirmar la obtención de la especie en cada síntesis y además reconocer cualquier cambio generado en los grupos funcionales cuando el ligante se coordina.

### 3.1.1.2. Espectroscopía de RMN<sup>1</sup>H y experimento COSY

De las técnicas usadas para la elucidación de la estructura de los ligantes la resonancia magnética nuclear de hidrógeno fue sin duda la más importante. La información que se obtuvo con esta técnica se complementó con la obtenida mediante un experimento COSY (correlación de desplazamiento químico homonuclear). Dicho procedimiento indica el acoplamiento que se da entre protones vecinos y por lo tanto permite determinar cuáles se encuentran próximos.

Un examen del espectro de RMN<sup>1</sup>H del ligante *metmeim* (Fig. 3.1.3) permite distinguir seis señales, mientras que el COSY (Fig. 3.1.4) indica que tres de estos protones se encuentran acoplados. El desplazamiento químico, el área relativa, la multiplicidad y el acoplamiento de las señales se presentan en la tabla 3.1.2.

Tabla 3.1.2 Señales observadas en el espectro de RMN<sup>1</sup>H del ligante *metmeim*.

Señal	Desplazamiento ( $\delta$ ppm)	Integral	Multiplicidad	COSY
<b>f</b>	1.87	6	singulete	
<b>d</b>	2.10	4	cuadruplete	Acoplamiento con <b>c</b> y <b>e</b>
<b>a</b>	2.45	3	singulete	
<b>e</b>	2.45	4	octuplete	Acoplamiento con <b>d</b>
<b>c</b>	4.16	2	tripleto	Acoplamiento con <b>d</b>
<b>b</b>	4.35	4	singulete	

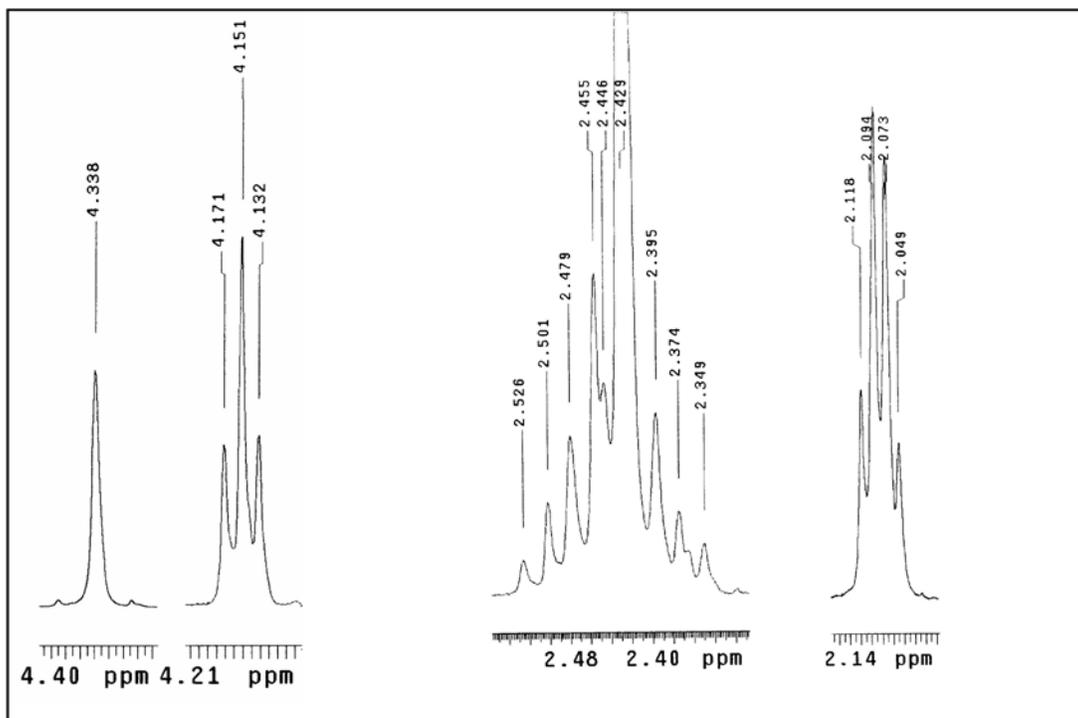
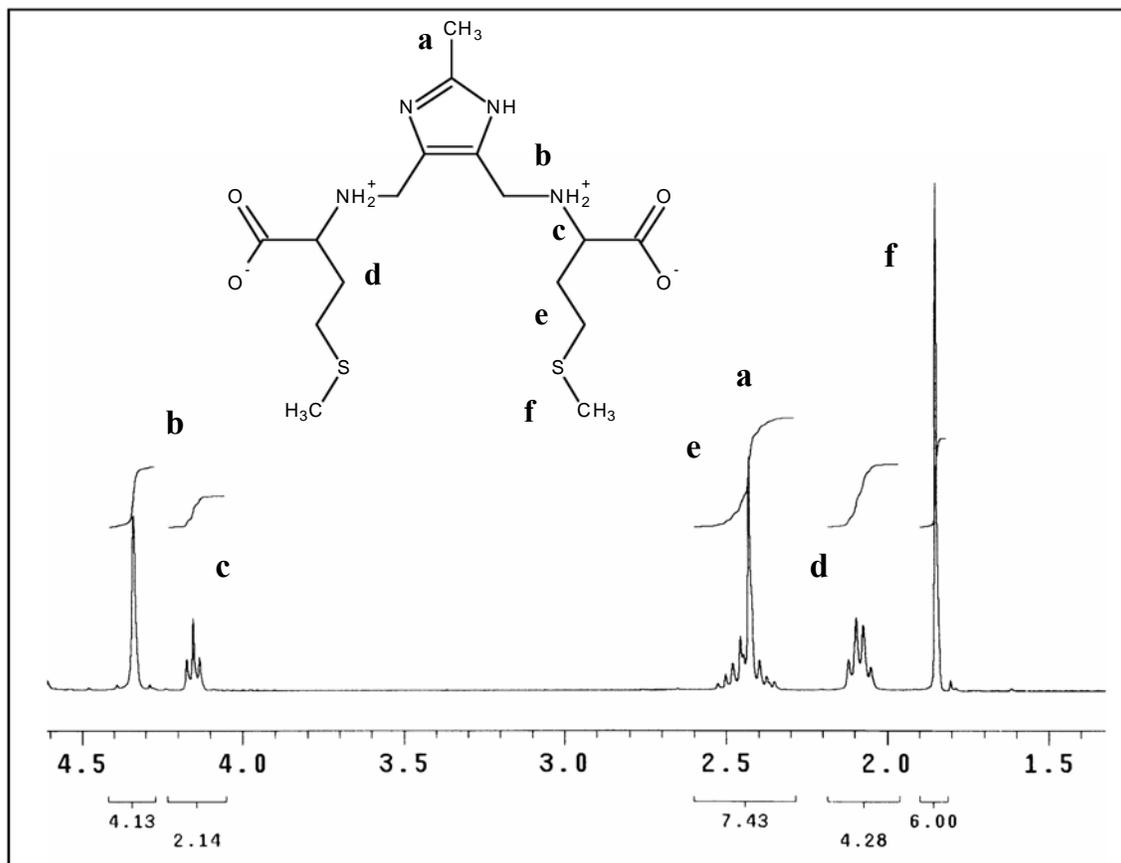


Figura 3.1.3 Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  a 300 MHz del ligante *metmeim* en  $\text{D}_2\text{O}$ .

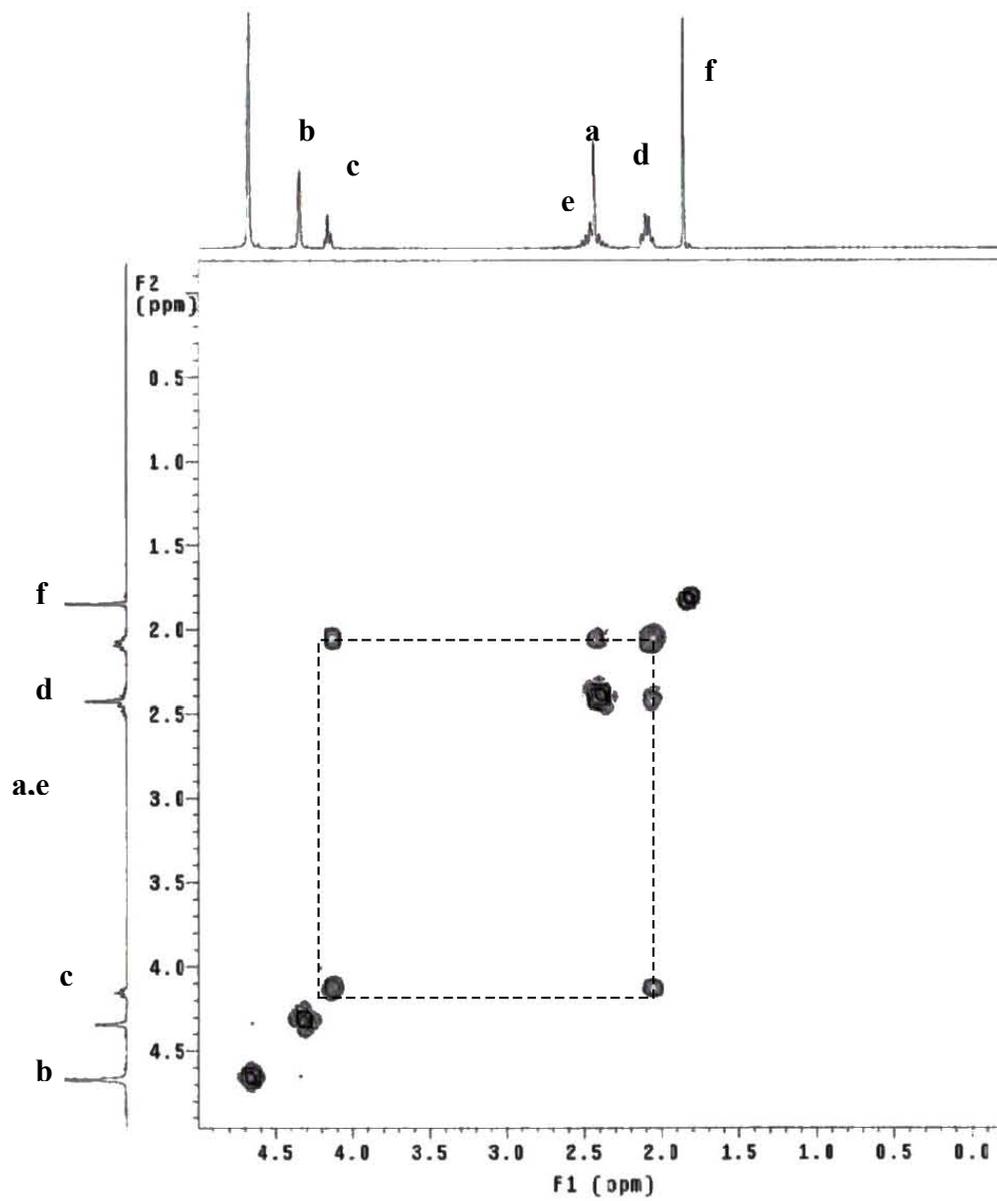


Figura 3.1.4 Espectro de COSY del ligante *metmeim*.

De acuerdo con el análisis del espectro de IR referente a los grupos funcionales presentes, y tomando en cuenta la integración relativa de las señales en la RMN, se determinó que la proporción *imidazol: R de metionina: formaldehído* en el compuesto es **1:2:2**.

La información proporcionada por esta técnica además, permitió proponer la estructura señalada para el compuesto con base en las siguientes asignaciones (Tabla 3.1.3): el singulete (**f**) que integra para seis protones puede asignarse a los grupos metilo ( $-\text{CH}_3$ ) terminales provenientes de dos metioninas, ya que su señal no está acoplada con ninguna otra. La señal (**d**) integra para cuatro protones, que de acuerdo con el COSY, están acoplados con los correspondientes a las señales (**e**) y (**c**), por lo que se asignan a los metilenos ( $-\text{CH}_2-$ ) en posición beta al grupo carboxilo del aminoácido. Su interacción con un metileno y un metino (CH) vecinos explica el desdoblamiento cuadruplete.

Aproximadamente a 2.45 ppm se encuentran dos señales coincidentes: el singulete (**a**) y el octuplete (**e**). La primera, es la única señal que integra para tres hidrógenos por lo que se asocia con el metilo unido al imidazol. Aunque no es posible distinguir a cual de las dos señales corresponde el acoplamiento con la señal (**d**) que se observa en el experimento COSY, se ha supuesto que dicho acoplamiento se da entre el metileno adyacente a un azufre, que se asigna al octuplete y el metileno correspondiente a la señal (**d**).

El triplete (**c**) en 4.16 ppm que integra para dos protones se asigna a los metinos alfa al carbonilo debido a su multiplicidad y su acoplamiento, producto de su cercanía a los hidrógenos del metileno de la señal (**d**). El singulete que se observa a más bajo campo (**b**) y que integra para cuatro hidrógenos se asigna a los dos metilenos que provienen del formaldehído ya que éstos no tienen hidrógenos vecinos. Dicha señal tampoco presenta ningún acoplamiento, lo cual coincide con la asignación propuesta.

El hecho de que no se observen más señales se explica, ya que los protones de las aminas no presentan ninguna señal cuando el espectro se obtiene en agua deuterada, pues los hidrógenos se intercambian con el deuterio del disolvente.

Tabla 3.1.3 Asignación de las señales del espectro de RMN<sup>1</sup>H del ligante *metmeim*.

señal	asignación
<b>f</b>	2 metilos adyacentes a S
<b>d</b>	2 metilenos $\beta$ a carbonilo
<b>a</b>	metilo del imidazol
<b>e</b>	2 metilenos adyacentes a S
<b>c</b>	2 metinos $\alpha$ al carbonilo
<b>b</b>	metileno que proviene del formaldehído

### 3.1.1.3. Espectroscopía de RMN<sup>13</sup>C y experimento HETCOR

La asignación de las señales del espectro RMN<sup>1</sup>H del ligante *metmeim* se complementó con el análisis de su espectro RMN<sup>13</sup>C, así como con un experimento de correlación de desplazamiento químico heteronuclear (HETCOR). En este experimento bidimensional se encuentra el espectro de núcleos, de <sup>13</sup>C en una dimensión y en la otra el espectro de espines acoplados de <sup>1</sup>H. Las señales en el mapa de contornos indican simultáneamente el desplazamiento de los carbonos e hidrógenos que se encuentran acoplados entre sí.

El espectro, que se muestra en la fig. 3.1.5, presenta nueve señales que pueden asignarse a nueve carbonos no equivalentes mientras que el HETCOR en la figura 3.1.6, indica que solamente seis de ellos están acoplados con hidrógenos.

El desplazamiento de cada señal, su acoplamiento con los hidrógenos correspondientes y su consecuente asignación se resumen en la tabla 3.1.4.

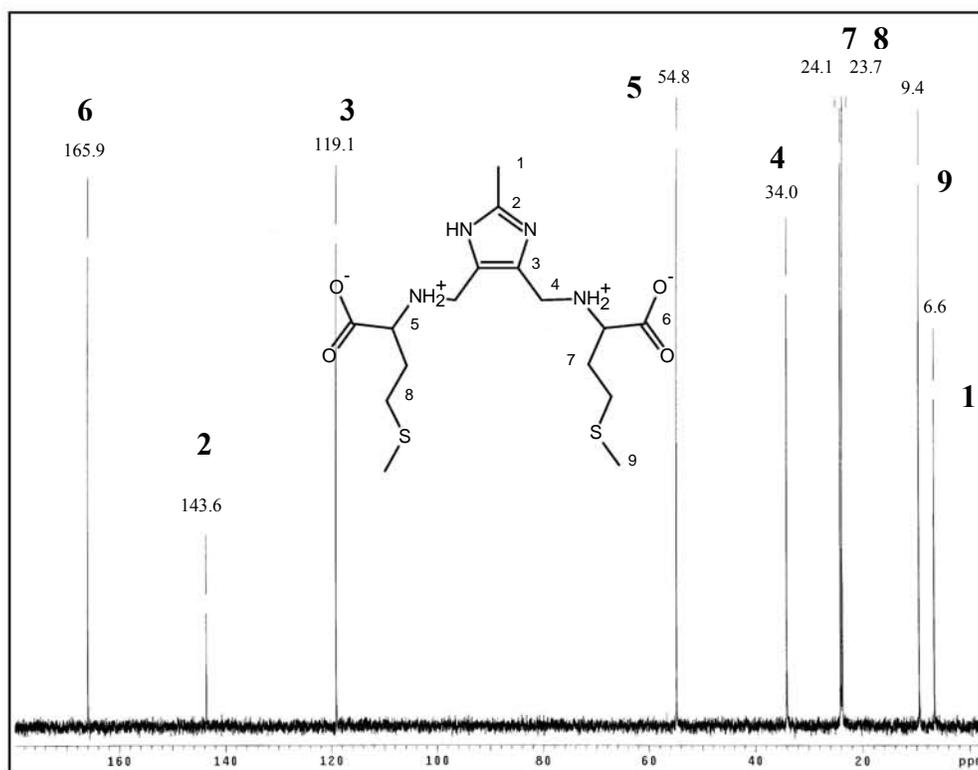


Figura 3.1.5 Espectro de RMN $^{13}\text{C}$  a 75.5 MHz del ligante *metmeim* en  $\text{D}_2\text{O}$ .

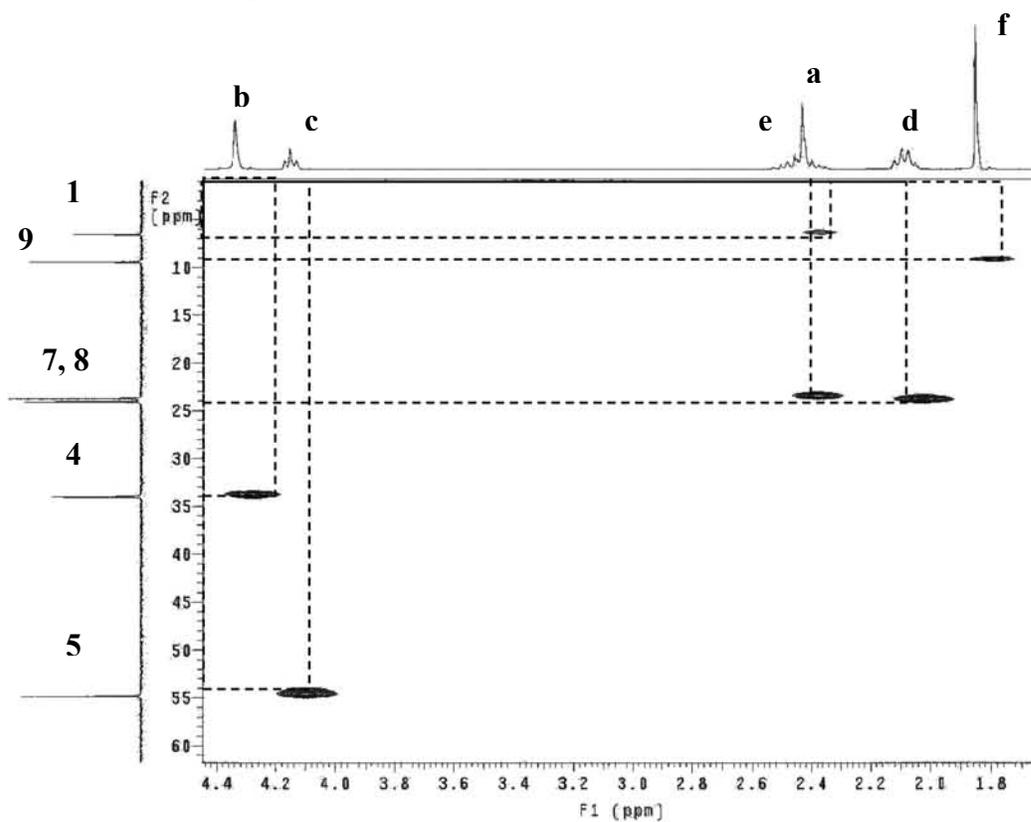


Figura 3.1.6 Experimento HETCOR del ligante *metmeim*.

Tabla 3.1.4 Señales del espectro de RMN<sup>13</sup>C del ligante *metmeim*.

carbono	Desplazamiento ( $\delta$ ppm)	HETCOR	asignación
<b>1</b>	6.55	Acoplado con el singulete ( <b>a</b> )	metilo del imidazol
<b>2</b>	143.62		C2 del imidazol
<b>3</b>	119.07		C4 y C5 del imidazol
<b>4</b>	34.01	Acoplado con el singulete ( <b>b</b> )	C proveniente del formaldehído
<b>5</b>	54.82	Acoplado con el triplete ( <b>c</b> )	C alfa al carbonilo
<b>6</b>	165.93		C carbonílico
<b>7</b>	24.08	Acoplado con el cuadruplete ( <b>d</b> )	C beta al carbonilo
<b>8</b>	23.74	Acoplado con el octuplete ( <b>e</b> )	CH <sub>2</sub> adyacente a S
<b>9</b>	9.42	Acoplado con el singulete ( <b>f</b> )	CH <sub>3</sub> adyacente a S

La señal que aparece en 6.55 ppm (**1**) se asigna al carbono del metilo unido al imidazol ya que se encuentra acoplada con el singulete (**a**) asignado a los hidrógenos del mismo grupo. Mientras que la señal (**9**) en 9.24 ppm, al carbono del metilo terminal que proviene de la metionina pues se encuentra asociado con el singulete (**f**) de esos protones. Así, las señales **7** y **8** se asocian con los carbonos del metilo y metileno de la metionina pues están acoplados con las señales asignadas a estos hidrógenos. De la misma forma, analizando su acoplamiento en el HETCOR, se confirma la asignación de las señales **4** y **5** correspondientes a los carbonos alfa al carbonilo y al metileno que proviene del formaldehído. El hecho de que las señales **3**, **2** y **6** no presenten acoplamiento confirma su asignación a carbonos sin hidrógenos.

#### 3.1.1.4. Análisis elemental

El análisis elemental permitió determinar el porcentaje experimental de C, H y N en la muestra, los valores que resultaron de este análisis se presentan en la tabla 3.1.5 junto con los calculados para la estructura propuesta. Considerando que el error de los valores experimentales respecto a los teóricos es menor al tres por ciento estos resultados confirman la estructura propuesta con base en los resultados espectroscópicos.

Tabla 3.1.5 Análisis elemental del ligante *metmeim*.

	Experimental (teórico)		
	%C	%N	%H
$C_{16}H_{28}N_4S_2O_4$	46.96 (47.5)	13.76 (13.85)	7.18 (6.98)

#### 3.1.1.5. Espectrometría de masas

El espectro de masas obtenido por la técnica FAB (+) con una matriz compuesta por una mezcla de glicerol/agua (Fig. 3.1.7), presenta una señal que coincide con el ion molecular esperado  $(M+1)^+$  de 405 unidades m/z. Esta información constituye una evidencia más para la estructura propuesta

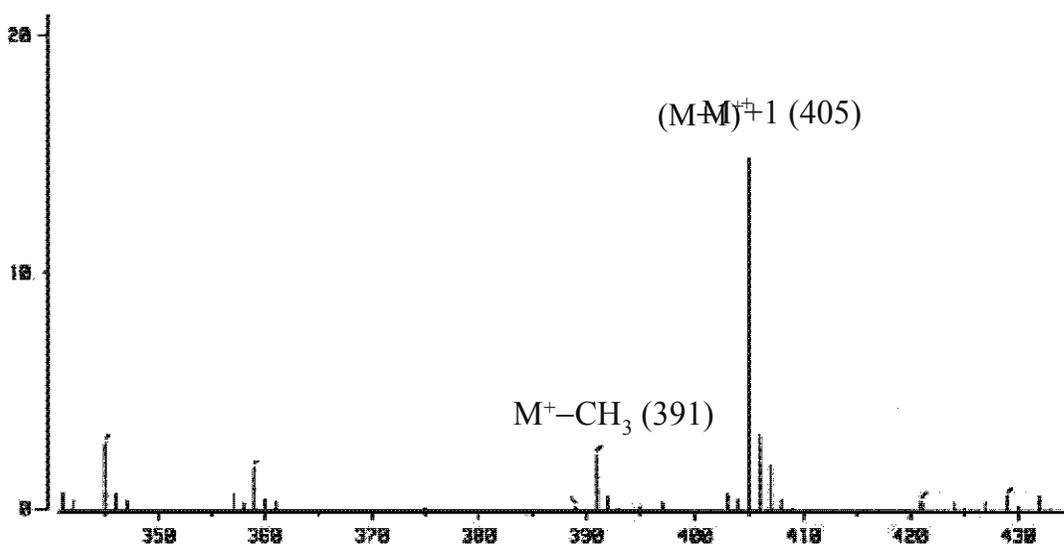


Figura 3.1.7 Espectro de masas del compuesto *metmeim*.

### 3.1.2. Ligante *fenmeim*

La síntesis del ligante *fenmeim* se realizó, al igual que el *metmeim*, mediante la reacción de Mannich en medio básico (Fig. 3.1.8). Además del 2-metilimidazol y el formaldehído, en esta reacción se empleó el aminoácido fenilalanina. De esta reacción se obtuvo un polvo blanco que se caracterizó a través de las técnicas convencionales: espectroscopías infrarroja (IR) y de resonancia magnética nuclear (RMN) de carbono e hidrógeno y análisis elemental (AE).

Mediante dichas técnicas pudo determinarse que el ligante *fenmeim* presenta la estructura abierta que se muestra en la siguiente ecuación:

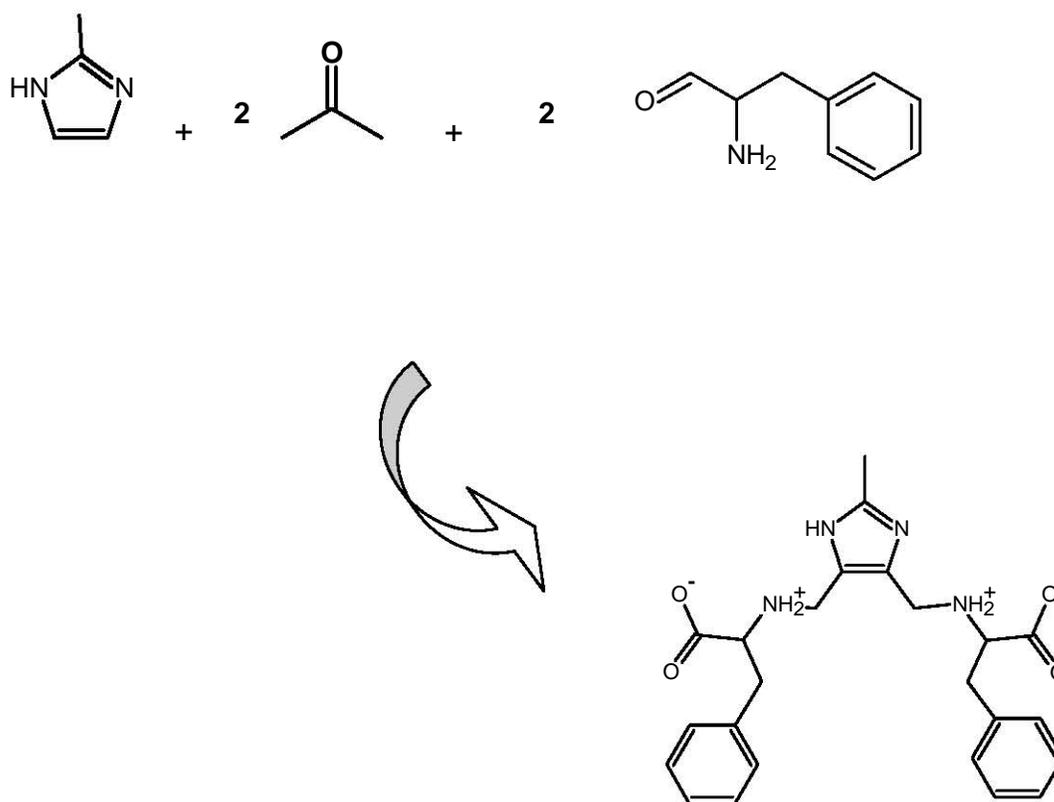


Figura 3.1.8 Reacción para la síntesis del ligante abierto *fenmeim* en medio básico.

### 3.1.2.1. Espectroscopía infrarroja IR

La presencia de los grupos que, de manera análoga al *metmeim*, se esperaba encontrar en este compuesto, se corroboró haciendo un análisis de su espectro de infrarrojo. Las señales observadas se resumen en la tabla 3.1.6

Tabla 3.1.6 Señales observadas en espectro de IR en pastilla de KBr del ligante *fenmeim*.

Frecuencia de absorción (cm <sup>-1</sup> )	asignación
entre 2830 y 3000	CH <sub>3</sub> -C y -CH <sub>2</sub> -
alrededor de 2500	-NH <sub>2</sub> <sup>+</sup> -
1617	COO
alrededor de 1500	N=C y N-C del imidazol
3378 (señal ancha) y 1496 (señal aguda)	Anillos aromáticos
700 y 750	Anillos aromáticos

Las bandas que se observan entre 2830 y 3000 cm<sup>-1</sup> características de vibraciones de metilos y metilenos confirman la presencia de este tipo de grupos que pueden provenir de cualquiera de los reactivos. La presencia del aminoácido pudo confirmarse mediante la observación de las señales anchas alrededor de 2500cm<sup>-1</sup> que son características de aminas protonadas o grupos amonio, así como la banda intensa en 1617 cm<sup>-1</sup> que corresponde al estiramiento del enlace C=O de los carbonilos. Estas señales también sirvieron como evidencia sobre la obtención de la especie switteriónica. La presencia de los anillos aromáticos del aminoácido pudo confirmarse al observar una señal ancha en 3378 cm<sup>-1</sup>, una aguda en 1496 cm<sup>-1</sup> además de dos señales agudas entre 700 y 750 cm<sup>-1</sup> características de la vibración por flexión fuera del plano en un anillo monosustituido. Por su parte, las señales entre 1600 y 1400 cm<sup>-1</sup> que son características de anillos imidazólicos confirmaron la presencia de este grupo en el compuesto.

### 3.1.2.2. Espectroscopía de RMN<sup>1</sup>H y experimento COSY

Un examen del espectro de RMN<sup>1</sup>H del ligante *fenmeim* (Fig. 3.1.9) permite distinguir cinco señales, mientras que el COSY (Fig. 3.1.10) indica que dos de estos protones se encuentran acoplados. El desplazamiento químico, el área relativa, la multiplicidad y el acoplamiento de las señales se presentan en la tabla 3.1.7.

Protón	Desplazamiento (δ)	Integración	Multiplicidad	COSY
<b>a</b>	2.37	3.0	singulete	
<b>d</b>	3.10	4.3	octuplete	Acoplado con <b>b</b>
<b>b</b>	4.23	4.09	singulete	Acoplado con <b>d</b>
<b>c</b>	4.27	2	triplete	
<b>e</b>	7.1	10.2	multiplete	

Tabla 3.1.7 Señales del espectro de RMN<sup>1</sup>H del ligante *fenmeim*.

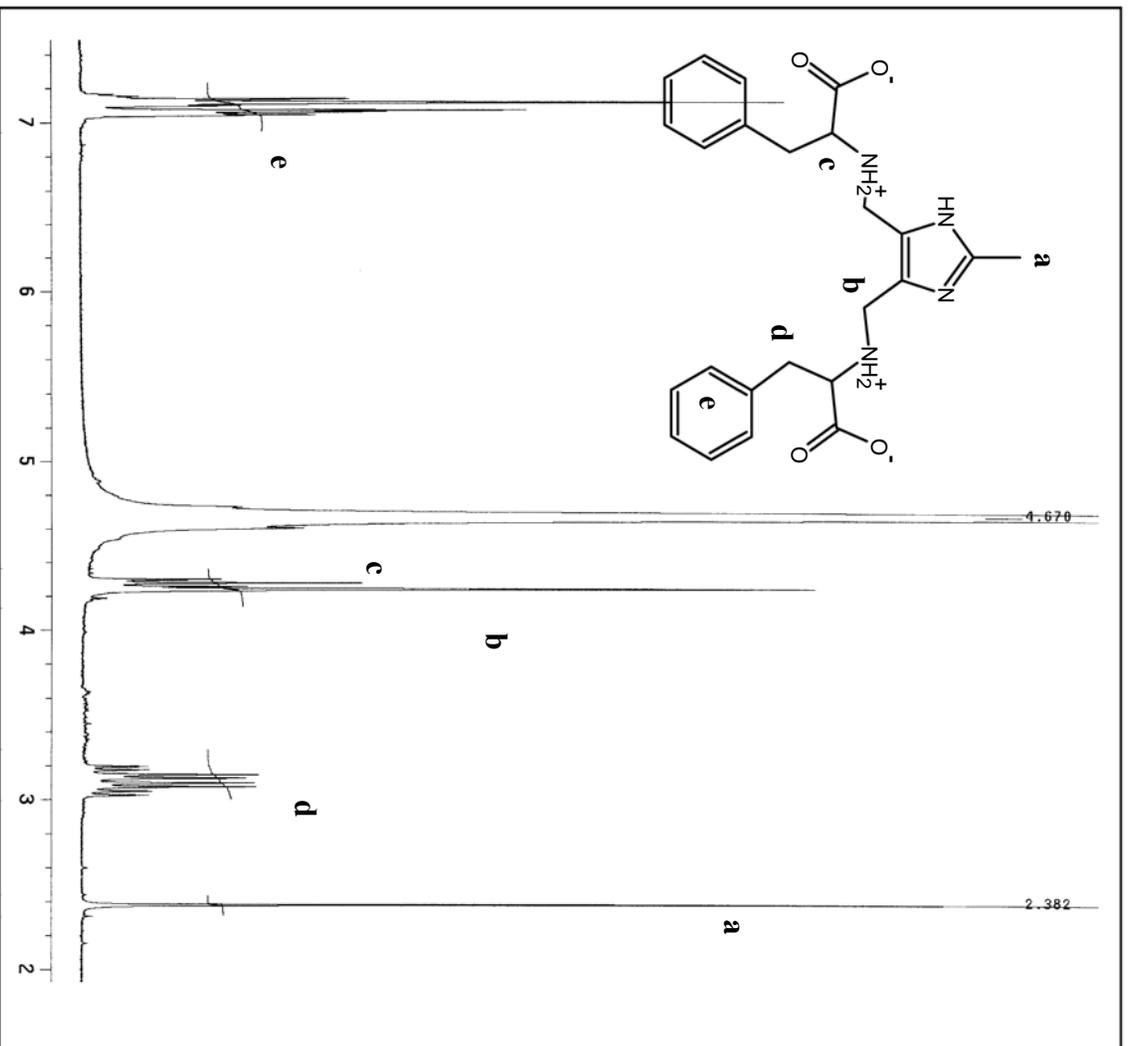
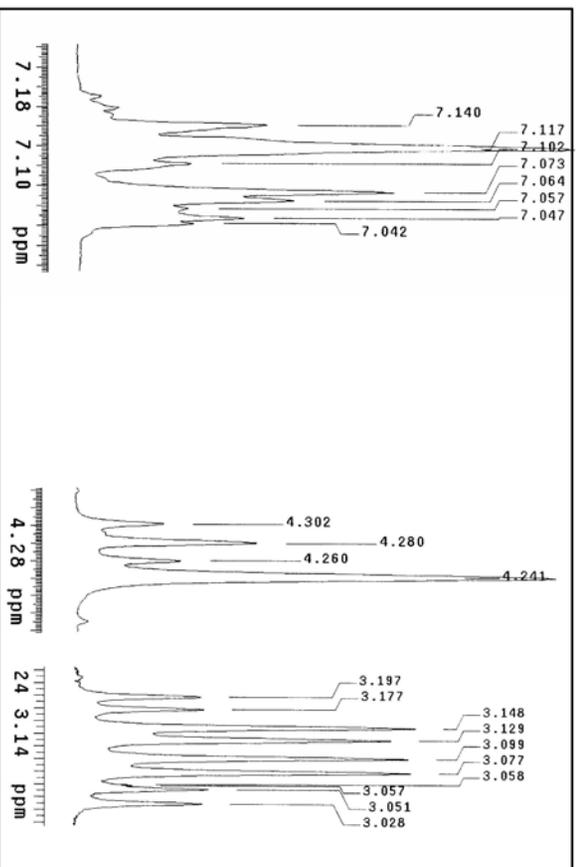


Figura 3.1.9 Espectro de RMN<sup>1</sup>H a 300 MHz del ligante *ferriemin* en D<sub>2</sub>O.



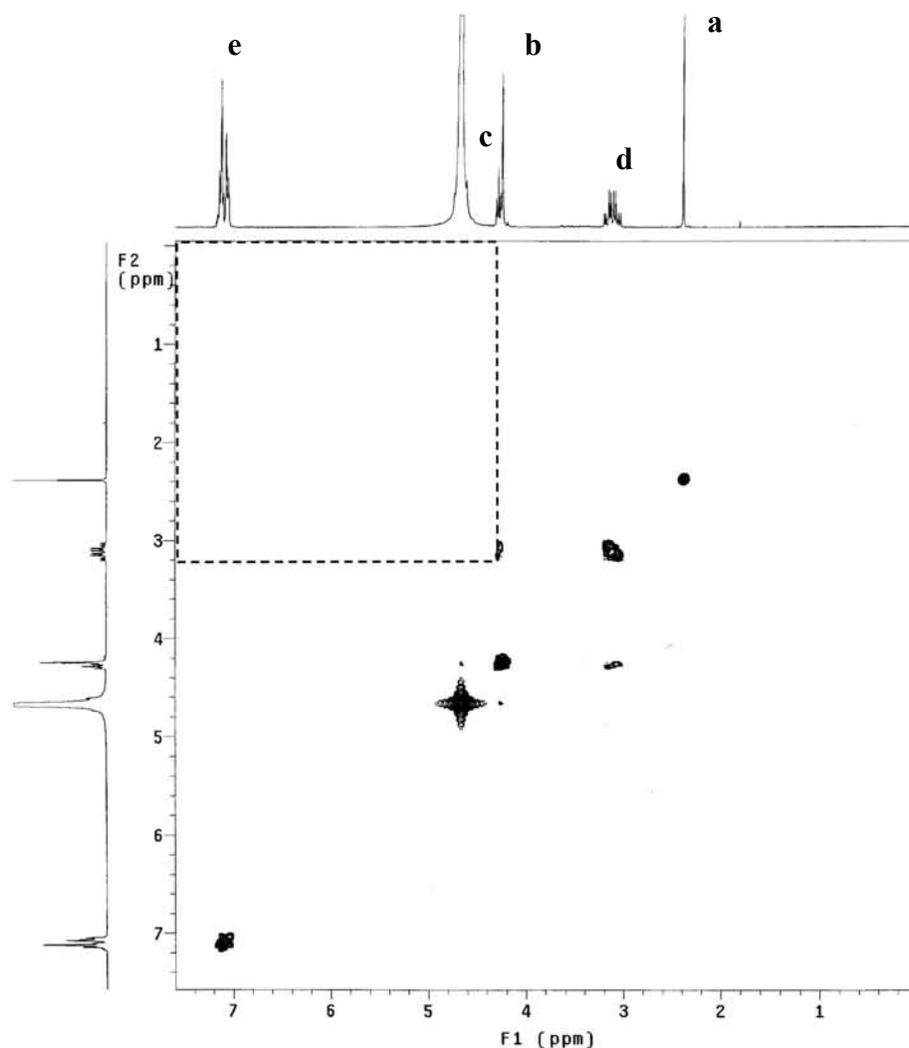


Figura 3.1.10 Experimento COSY del ligante *fenmeim* en  $D_2O$ .

Considerando la multiplicidad, el desplazamiento y el acoplamiento de cada señal se realizó la siguiente asignación (Tabla 3.1.8): a más alto campo se observa un singulete (**a**) que integra para tres protones y que se asigna al metilo del anillo imidazólico ya que no presenta acoplamiento alguno. La presencia de la fenilalanina en el compuesto, se corroboró con la aparición a más bajo campo de un multiplete (**e**) que integra para diez protones y que es característico de anillos aromáticos. Además, con el octuplete (**d**) en 3 ppm que puede asignarse a los cuatro protones en posición beta respecto al carbonilo cuya multiplicidad se explica por el acoplamiento de los núcleos con los protones del carbono  $\alpha$  y con los del anillo aromático.

Alrededor de 4 ppm se observan dos señales que coinciden (**c** y **b**), un triplete asignado a los dos protones equivalentes de los carbonos  $\alpha$  que se acoplan a los dos hidrógenos vecinos y un singlete de los cuatro protones de los metilenos provenientes del formaldehído. La asignación del triplete **c** se confirma con el acoplamiento observado con el octuplete **d** en el COSY. A partir del análisis anterior proponemos la estructura que se muestra en la figura sobre el espectro para el ligante *fenmeim*.

Protón	Asignación
<b>a</b>	metilo del imidazol
<b>d</b>	2 metilenos beta a carbonilo
<b>b</b>	metileno del formaldehído
<b>c</b>	2 metinos alfa al carbonilo
<b>e</b>	protones del anillo

Tabla 3.1.8 Asignación de las señales del espectro de RMN<sup>1</sup>H del ligante *fenmeim*.

### 3.1.2.3. Espectroscopía de RMN<sup>13</sup>C y experimento HETCOR

Las asignaciones propuestas para el espectro RMN<sup>1</sup>H se confirmaron y complementaron analizando el correspondiente de RMN<sup>13</sup>C (Fig. 3.1.11) así como un experimento HETCOR. El primero, presenta once señales que coinciden con once carbonos no equivalentes en la estructura propuesta. De ellos, sólo cuatro presentan acoplamiento con señales del espectro de RMN<sup>1</sup>H en el HETCOR (Fig. 3.1.12).

El desplazamiento químico, el acoplamiento y la consecuente asignación para cada señal se presentan en la tabla 3.1.9.

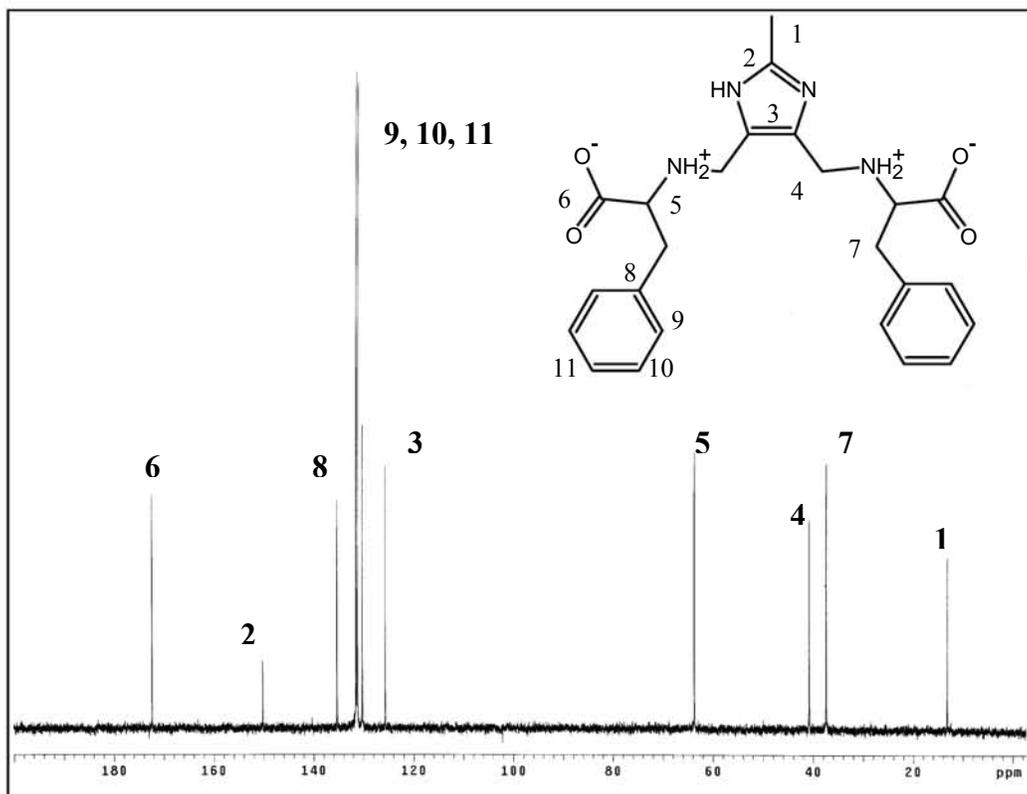


Figura 3.1.11 Espectro de RMN<sup>13</sup>C a 75.5 MHz del ligante *fenmeim*.

Figura 3.1.12 Experimento HETCOR con el ligante *fenmeim*.

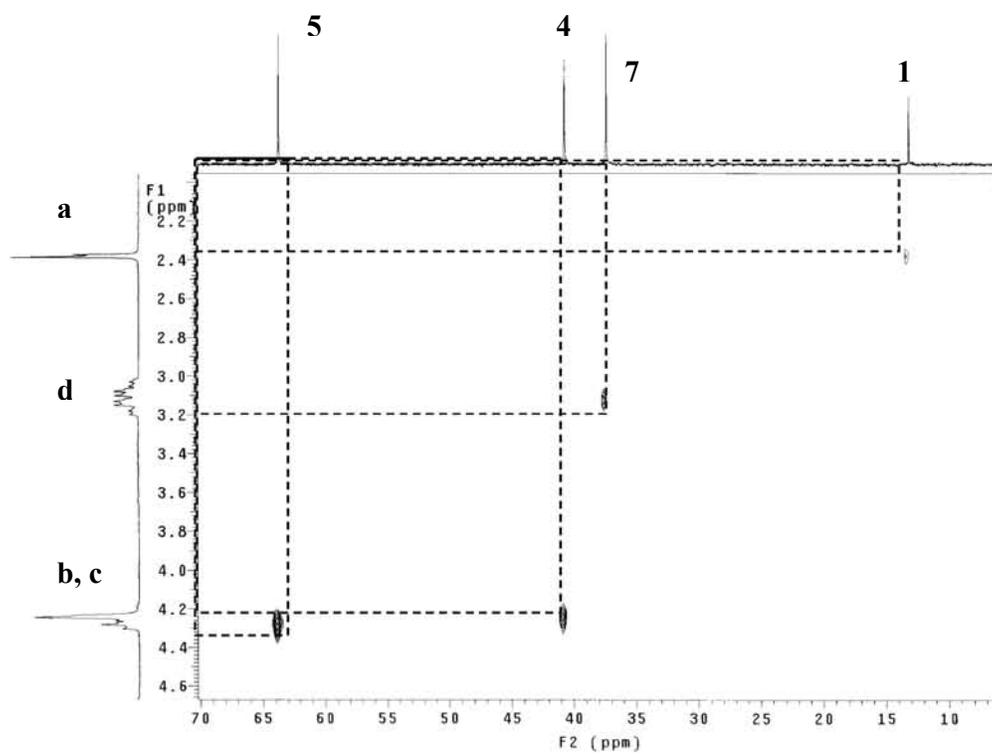


Tabla 3.1.9 Señales observadas en el espectro de RMN<sup>13</sup>C del ligante *fenmeim*.

carbono	Desplazamiento (δ ppm)	asignación
1	12.02	metilo del imidazol
2	149.04	C2 del imidazol
3	124.51	C4 y C5 del imidazol
4	39.62	C proveniente del formaldehído
5	62.59	C alfa al carbonilo
6	171.19	C carbonílico
7	36.25	C beta al carbonilo
8	134.18	C sustituido del anillo
9,10 y11	entre 129 y 130.5	C orto, para y meta al carbono sustituido del anillo

La señal (1) se asigna al carbono del metilo en el imidazol debido a su acoplamiento con los protones del mismo grupo (a). Así mismo la señal (7) debe corresponder al carbono beta al carbonilo, pues está acoplada con el octuplete (d) de estos hidrógenos. La señal (4) se asigna al carbono del formaldehído pues está acoplada con el singulete de los dos protones correspondientes. Se observa también, que la señal (5) y el triplete (c) asignado a los protones del carbono alfa, se encuentran asociadas, por lo que dicha señal debe corresponder a este grupo. Además, la asignación de las señales 9, 10 y 11 se confirmó con base en el acoplamiento que presentan con el multiplete (e), asignado a los hidrógenos del anillo (esta zona no se observa en la figura 3.1.11).

#### 3.1.2.4. Análisis elemental

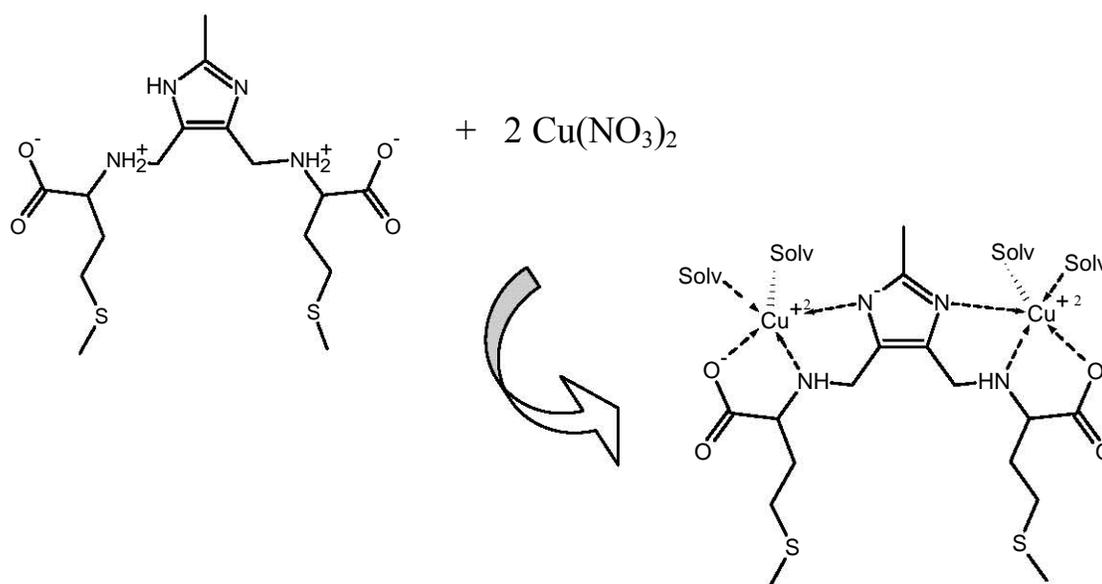
El análisis elemental permitió determinar el porcentaje experimental de C, H y N en la muestra, los valores que resultaron de este análisis se presentan en la tabla 3.1.10 junto con los calculados para la estructura propuesta. Considerando que el error de los valores experimentales respecto a los teóricos es menor al tres por ciento estos resultados confirman la estructura propuesta con base en los resultados espectroscópicos.

Tabla 3.1.10 Análisis elemental del ligante *fenmeim*.

	Experimental (teórico)		
	%C	%N	%H
C <sub>24</sub> H <sub>28</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O	61.00 (61.24)	12.06 (12.33)	6.83 (7.00)

### 3.2. Síntesis y caracterización de los complejos bimetálicos

La síntesis de los complejos de cobre tanto con *fenmeim* como con *metmeim* es sencilla, basta mezclar las cantidades estequiométricas del ligante y la sal del metal en el disolvente elegido.



Sin embargo, aislar los complejos es complicado ya que son sumamente solubles en casi todos los disolventes y mezclas de disolventes probadas. Los medios de reacción probados fueron: agua, etanol y metanol. Finalmente se decidió trabajar en una mezcla acetonitrilo:agua al 50% por tratarse de un medio adecuado para realizar los estudios electroquímicos y cinéticos, además como se verá más adelante, estas condiciones permitieron cristalizar al complejo bimetálico con *fenmeim*. Es importante destacar, para comprender la elección del medio, que de todos los complejos que se habían preparado antes en el grupo de trabajo con compuestos del tipo abierto, solamente uno, con el ligante *leumeim* (proveniente de leucina) había cristalizado en medio acuoso ácido.

Además de probar diferentes disolventes, los complejos se prepararon a partir de diferentes sales de cobre. De acuerdo con la caracterización realizada, el contra-ion de la sal no se coordina al centro metálico, de tal forma que las características de los compuesto obtenidos son las mismas independiente de la sal que se elija.

A continuación se discuten las caracterizaciones de los complejos obtenidos con los dos ligantes sintetizados en este trabajo *metmeim* y *fenmeim* con las sales de cobre nitrato y perclorato.

### 3.2.1. Complejos bimetálicos con *metmeim*

#### 3.2.1.1. Espectroscopía infrarroja

En los espectros de IR de los complejos preparados con *metmeim* ya no se observan las señales anchas alrededor de  $2500\text{cm}^{-1}$  asignadas a las aminas protonadas en el espectro del ligante, lo cual hace suponer que el metal se coordina a las aminas provocando su desprotonación.

La señal en  $1611\text{ cm}^{-1}$ , asignada en el ligante a los estiramientos de los carboxilos se observa ensanchada. Lo anterior, puede asociarse con la coordinación del metal también a este grupo debido a que cuando esto sucede, la frecuencia del estiramiento simétrico en estos grupos disminuye mientras que la frecuencia del asimétrico aumenta provocando su separación [30].

En el espectro del complejo preparado a partir de nitrato de cobre se observa una señal intensa en  $1384\text{ cm}^{-1}$ . Ésta corresponde a las vibraciones de estiramiento degenerado del nitrato no coordinado que debe estar actuando sólo como contra-ion del catión complejo. Por su parte el espectro del complejo preparado con perclorato (Fig. 3.2.1) presenta una señal intensa en  $1108\text{ cm}^{-1}$  y otra menos intensa en  $625\text{cm}^{-1}$  correspondientes a las vibraciones de estiramiento simétrico y antisimétrico del grupo perclorato iónico.

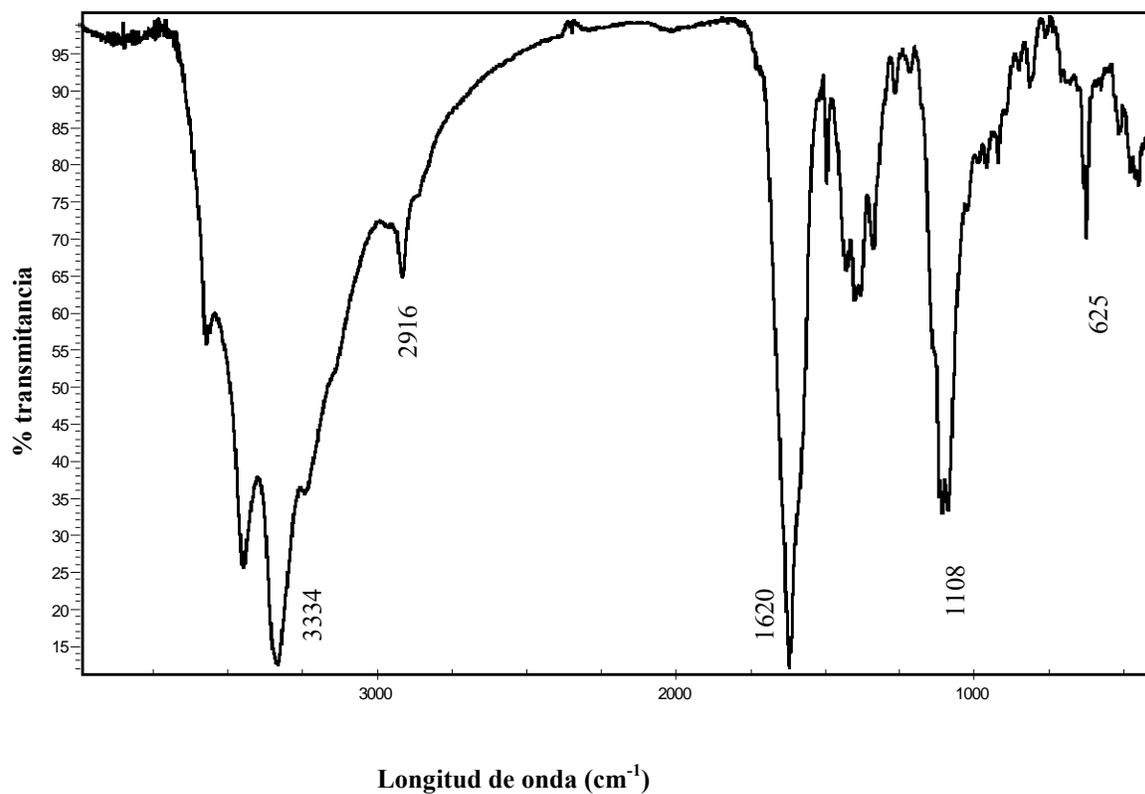


Figura 3.2.1 Espectro de IR del complejo bimetalico  $[\text{Cu}_2\text{metmeim}(\text{H}_2\text{O})_4]\text{ClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ .

### 3.2.1.2. Susceptibilidad magnética.

La susceptibilidad magnética por gramo del compuesto  $[\text{Cu}_2\text{metmeim}(\text{H}_2\text{O})_4]\text{ClO}_4$  se determinó mediante el método de Gouy [31, 32] a temperatura ambiente y se utilizó para calcular el momento magnético efectivo. Este análisis es relevante para determinar si los iones metálicos se encuentran acoplados, pues en estos casos el momento magnético es mucho menor. Para realizar el cálculo hubo que corregir la susceptibilidad molar con las contribuciones diamagnéticas de todos los átomos de la molécula por medio de las constantes de Pascal. Así, se obtuvo un valor de 0.20 MB por molécula que es mucho menor al esperado para dos electrones desapareados (2.6 a 3.9 MB). Lo anterior sugiere el acoplamiento del par de iones cobre (II) y apoya la propuesta sobre la especie bimetalica con un puente imidazolato.

### 3.2.1.3. Análisis elemental

Los valores del porcentaje experimental de C, H y N en la muestra que resultaron del análisis elemental se presentan en la tabla 3.2.1 junto con los calculados para la estructura propuesta, donde los iones metálicos están puenteados por el imidazol.

Tabla 3.2.1 Análisis elemental del complejo  
[Cu<sub>2</sub>metmeim(H<sub>2</sub>O)<sub>4</sub>]ClO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O.

	Experimental (teórico)		
	%C	%N	%H
[Cu <sub>2</sub> metmeim(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ]ClO <sub>4</sub> 3H <sub>2</sub> O C <sub>16</sub> H <sub>25</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub> Cu <sub>2</sub> (5H <sub>2</sub> O) ClO <sub>4</sub>	26.65(26.76)	7.73(7.8)	4.48(4.49)

### 3.2.1.4. Espectroscopía UV-visible

La estructura propuesta para este compuesto se basa en los resultados obtenidos del espectro IR que indican una esfera de coordinación que incluye a los grupos amina y carboxilo del aminoácido. Además, la susceptibilidad magnética medida que muestra un acoplamiento entre los centros metálicos y la coincidencia entre los porcentajes teóricos y experimentales del análisis elemental que apoyan dicha propuesta. La caracterización del compuesto resultó promisorio ya que como se mencionó, el diseño de los ligantes incluidos en este proyecto, tuvo entre sus objetivos iniciales la obtención de estructuras que incluyeran un puente imidazolato, pues una buena cantidad de compuestos con esta característica se han utilizado y reportado como modelos de las enzimas.

Entre las características reportadas [33] para los complejos con puentes imidazolato se encuentra la aparición de una banda alrededor de 380 nm que se utiliza frecuentemente como parámetro sensible a la formación de este puente. Ante esta posibilidad se procedió a obtener el espectro en esta región de una disolución del complejo bimetálico con *metmeim* en la mezcla CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O.

En el espectro sólo se observa una banda muy ancha centrada alrededor de 650 nm que coincide con lo esperado para una especie de cobre en una geometría octaédrica

distorsionada tetragonalmente. Dicho comportamiento es típico de los compuestos de coordinación de Cu(II) cuya geometría es susceptible del efecto Jahn-Teller.

El espectro obtenido no presenta ninguna banda en 375 nm lo cual podría deberse a la ruptura del puente al disolverse el compuesto o bien que la banda se encontrara bajo las transferencias de carga TCLM que son muy anchas e intensas en esa zona. Como la aparición de la banda característica del puente también ha sido identificada en el espectro de reflectancia difusa, se obtuvo el espectro de la especie sólida mediante esta técnica (Fig. 3.2.2). En este espectro puede observarse, además de la banda ancha centrada alrededor de 650 nm, una señal alrededor de 400 nm que confirma la propuesta.

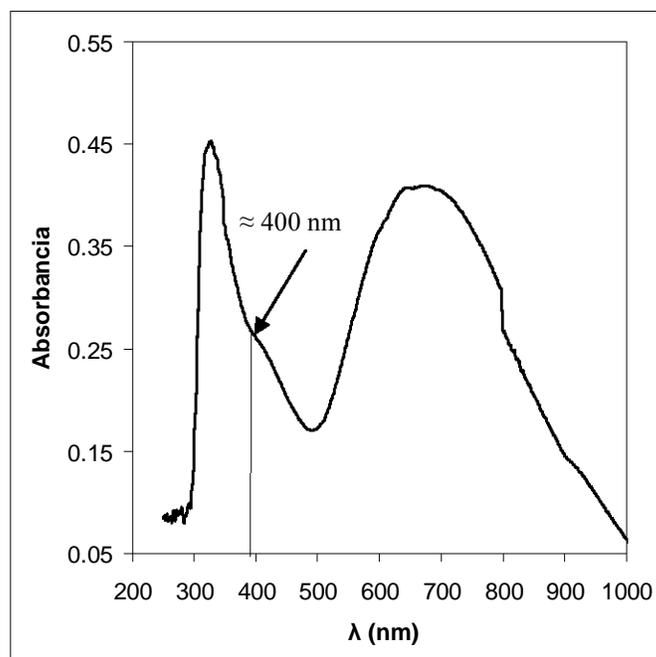


Figura 3.2.2 Espectro de reflectancia difusa en el ultravioleta-visible del compuesto  $[\text{Cu}_2\text{metmeim}(\text{H}_2\text{O})_4]\text{ClO}_4$ . En la figura se señala la señal que caracteriza al puente.

El conjunto de resultados obtenidos mediante las tres técnicas fortalece la propuesta de una estructura que incluya el puente imidazolato para este compuesto. Sin embargo, aunque se intentó en diferentes medios, no fue posible la obtención de cristales.

### 3.2.2. Complejos bimetálicos con *fenmeim*

#### 3.2.2.1. Espectroscopía infrarroja

Al igual que para los complejos con *metmeim* los espectros de los complejos con *fenmeim* (Fig. 3.2.3 y 3.2.4) no presentan las señales anchas alrededor de  $2500\text{cm}^{-1}$  de las aminas protonadas y la señal en  $1628\text{cm}^{-1}$  de los carboxilos también aparece ensanchada. Por ello, se consideró que los sitios de coordinación en los compuestos obtenidos con ambos ligantes eran equivalentes. La intensa señal de estiramiento del nitrato iónico en  $1383\text{cm}^{-1}$  en el primer espectro, al igual que una menos intensa en  $702\text{cm}^{-1}$  característica de las vibraciones de flexión de nitrato no coordinado permiten proponer que en este caso el nitrato también actúa solo como contraion y no se encuentra coordinado al metal.

Figura 3.2.3 Espectro de IR del complejo  $[\text{Cu}_2\text{fenmeim}(\text{H}_2\text{O})_4]\text{NO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ .

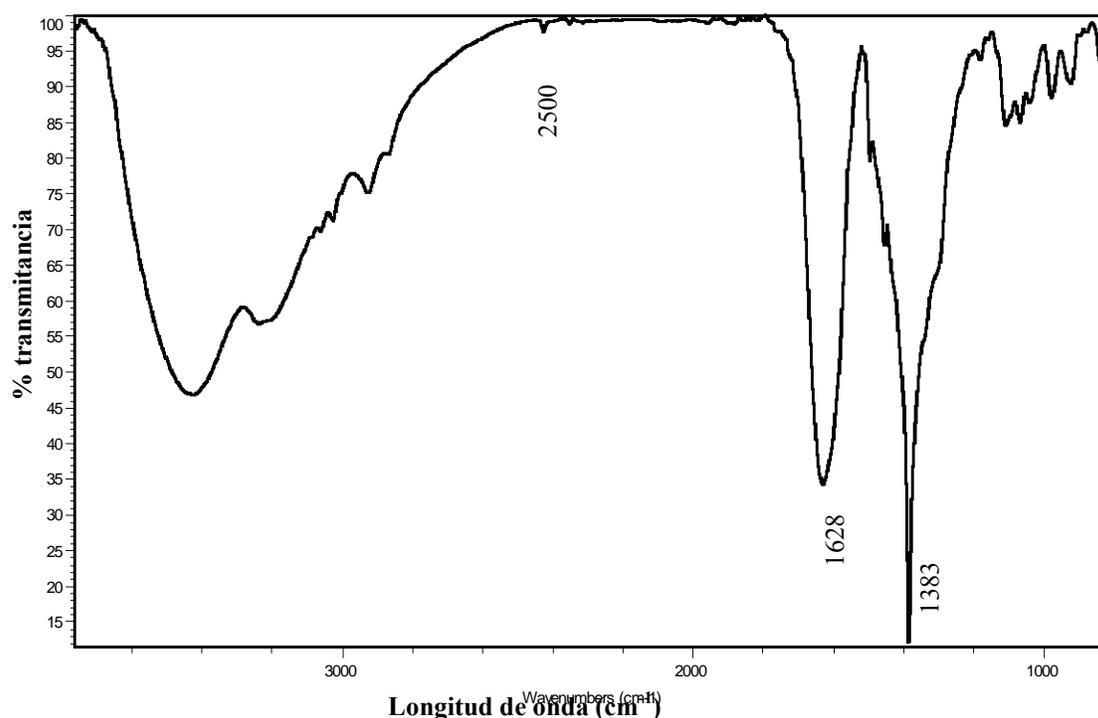
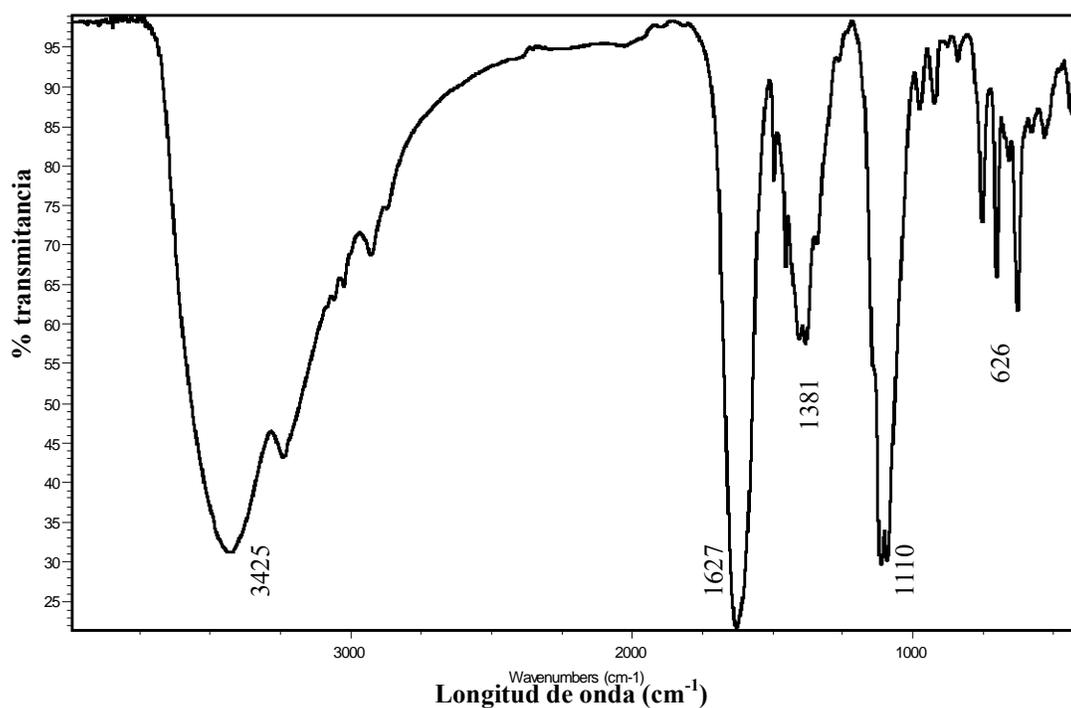


Figura 3.2.4 Espectro de IR del complejo  $[\text{Cu}_2\text{fenmeim}(\text{H}_2\text{O})_4]\text{ClO}_4$ .



### 3.2.2.2. Susceptibilidad magnética.

La susceptibilidad magnética por gramo del compuesto  $[\text{Cu}_2\text{fenmeim}(\text{H}_2\text{O})_4]\text{ClO}_4$  se determinó de la misma forma que para el complejo con *metmeim* mediante el método de Gouy. Así, se obtuvo un valor de 0.35MB por molécula que también es mucho menor al esperado para dos electrones desapareados lo que se asocia con el acoplamiento de los iones de cobre. Esto también apoya la propuesta de las estructuras puenteadas.

### 3.2.2.3. Análisis elemental

Los valores del porcentaje experimental de C, H y N en la muestra que resultaron del análisis elemental se presentan en la tabla 3.2.2 junto con los calculados para la estructura propuesta.

Tabla 3.2.2 Análisis elemental de los complejos  $[Cu_2fenmeim(H_2O)_4]NO_3 \cdot 4H_2O$  y  $[Cu_2fenmeim(H_2O)_4]ClO_4$ .

	Experimental (teórico)		
	%C	%N	%H
$[Cu_2fenmeim(H_2O)_4]NO_3 \cdot 4H_2O$ $C_{24}H_{27}N_5O_7Cu_2 \cdot 8H_2O$	37.93 (37.6)	9.07 (9.13)	5.3 (4.97)
$[Cu_2fenmeim(H_2O)_4]ClO_4$ $C_{24}H_{27}N_4O_8ClCu_2 \cdot 4H_2O$	38.64 (39.37)	7.73 (7.65)	4.64 (4.54)

#### 3.2.2.4. Espectroscopía UV-visible.

El espectro en la región ultravioleta-visible presenta una banda muy ancha centrada alrededor de 650 nm que coincide con lo esperado para una especie de cobre en una geometría octaédrica distorsionada tetragonalmente. El espectro de reflectancia difusa, al igual que para el complejo con *metmeim*, presenta la banda característica del puente (400 nm). En este caso sí fue posible la obtención de cristales y la determinación de la estructura cristalina por difracción de rayos X permitió corroborar la presencia del puente en este complejo.

#### 3.2.2.5. Determinación de la estructura cristalina

El complejo  $[Cu_2(fenmeim)(H_2O)_4]X$ . cristaliza en el sistema cúbico, en el grupo espacial  $P4_132$ , ya sea que se obtenga como nitrato o como perclorato. La resolución de la estructura en ambos casos resultó de una calidad inferior a la deseable, debido a desorden en los cristales. Aquí se presentarán los mejores resultados obtenidos, que fueron con el nitrato.

Como se puede apreciar en la figura 3.2.5, el grupo imidazol se encuentra desprotonado y formando un puente entre los dos átomos de cobre. Éstos se encuentran en posiciones cristalográficamente equivalentes, en entornos de coordinación con geometría de pirámide cuadrada.

La base de cada una de estas pirámides se encuentra formada por un nitrógeno imidazólico, N(2), un nitrógeno alifático, N(5), un oxígeno carboxílico del aminoácido, O(8) y una molécula de agua, O(19). La posición apical se encuentra ocupada por otra molécula de agua, O (18).

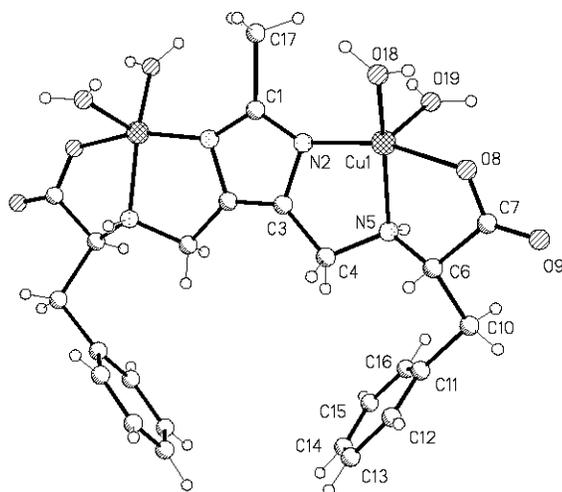


Figura 3.2.5 Estructura de rayos X del compuesto  $[\text{Cu}_2(\text{fenmeim})(\text{H}_2\text{O})_4]\text{NO}_3$ .

En las tablas 3.2.3 y 3.2.4 se muestran los valores de las distancias y ángulos de enlace relevantes en los sitios de coordinación.

Tabla 3.2.3 Distancias de enlace del compuesto  $[\text{Cu}_2(\text{fenmeim})(\text{H}_2\text{O})_4]\text{NO}_3$ .

	Distancias de enlace (Å)
Cu(1)-O(19)	1.77(3)
Cu(1)-O(18)	1.897(14)
Cu(1)-N(5)	1.957(10)
Cu(1)-N(2)	1.886(8)
Cu(1)-O(8)	2.001(13)

Tabla 3.2.4 Ángulos de enlace del compuesto  
 $[\text{Cu}_2(\text{fenmeim})(\text{H}_2\text{O})_4]\text{NO}_3$ .

	Ángulos de enlace (°)		Ángulos de enlace (°)
O(19)-Cu(1)-N(2)	103.0(8)	O(19)-Cu(1)-O(18)	99.1(8)
N(2)-Cu(1)-O(18)	103.9(6)	O(19)-Cu(1)-N(5)	103.9(7)
N(2)-Cu(1)-N(5)	85.9(4)	O(18)-Cu(1)-N(5)	152.2(8)
O(19)-Cu(1)-O(8)	90.2(9)	N(2)-Cu(1)-O(8)	163.2(6)
O(18)-Cu(1)-O(8)	83.9(9)	N(5)-Cu(1)-O(8)	80.8(6)

Es muy notable que en este complejo, aunque las distancias Cu-N(5) y Cu-O(8) están dentro del intervalo típico encontrado para este tipo de distancias en complejos de cobre (II) con aminoácidos [34, 35, 36], las otras tres distancias son marcadamente cortas.

En el grupo de trabajo se han obtenido estructuras cristalinas para otros complejos con ligantes derivados de imidazol y aminoácidos. El primero de ellos, formado con un ligante del tipo cerrado,  $[\text{Cu}_2(\text{glymeim})(\text{H}_2\text{O})_4](\text{ClO}_4)_2$  [25], contiene dos átomos de cobre equivalentes coordinados a un nitrógeno imidazólico, a un nitrógeno y un oxígeno provenientes de un residuo glicina, y dos moléculas de agua. Con este ligante también se aisló el complejo análogo con nitrato (Figura 3.2.6)  $[\text{Cu}_2(\text{glymeim})(\text{H}_2\text{O})_4](\text{NO}_3)_2$ , y se determinó su estructura cristalina. Por otra parte, se ha obtenido el complejo  $[\text{Cu}_2(\text{leumeim})(\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})_3]\text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  [26], (Figura 3.2.7) a partir de un ligante del tipo abierto en medio ácido, que da origen a una estructura polimérica en la que uno de los carboxilatos del ligante forma un puente entre dos átomos de cobre de moléculas vecinas. A diferencia del complejo obtenido en este trabajo, en ninguno de estos tres casos el grupo imidazol se encuentra desprotonado, y el promedio de los valores obtenidos para la distancia Cu-N (imidazol) es 1.969 Å.

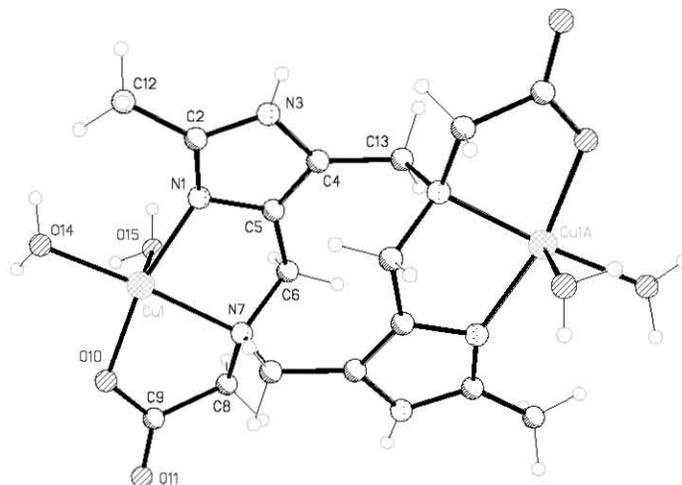


Figura 3.2.6 Estructura de rayos X del compuesto  $[\text{Cu}_2(\text{glimeim})(\text{H}_2\text{O})_4](\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ .

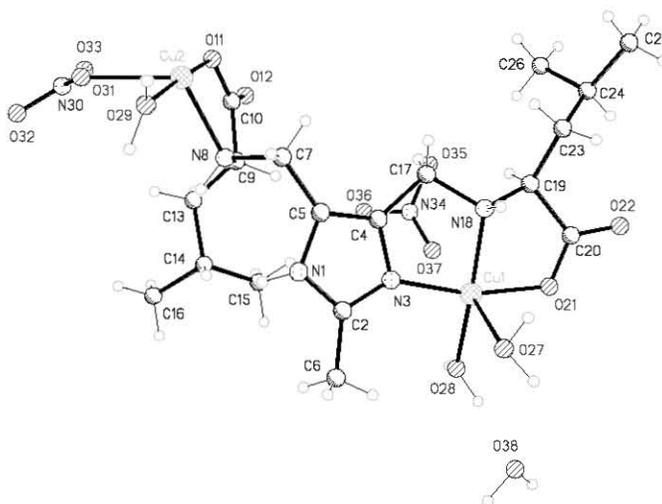


Figura 3.2.7 Estructura de rayos X del compuesto  $[\text{Cu}_2(\text{leumeim})(\text{H}_2\text{O})_3](\text{NO}_3)\text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ .

En la literatura se encuentran numerosos ejemplos de estructuras cristalinas de complejos Cobre-imidazolato, [33,37-48]. En estos ejemplos el promedio de los 22 valores encontrados, para la distancia Cu-Imidazolato, es de 1.9781 Å. En nuestro complejo, el valor obtenido para las distancia Cu-Imidazolato, es de tan sólo 1.886Å. En cuanto a las distancias de enlace Cu-OH<sub>2</sub>, en una búsqueda en la CSD (Cambridge Structural Database) se encontraron en 1757 complejos reportados 2518 valores de distancias Cu---OH<sub>2</sub>, con un promedio de 2.203Å, con la mayor parte de las distancias dentro del intervalo 1.941-1.975Å, muy por arriba de los valores encontrados en este trabajo para la estructura de [Cu<sub>2</sub>(*fenmeim*)(H<sub>2</sub>O)<sub>4</sub>]NO<sub>3</sub>·3H<sub>2</sub>O, que son 1.77(3) Å y 1.897(14).Å.

A pesar de que la baja calidad de la resolución debe tenerse presente al hacer estas consideraciones, los valores son significativamente bajos. Aún más, lo más notable de esta anomalía en las distancias Cu-OH<sub>2</sub>, es que de los dos valores obtenidos para este complejo, la más corta corresponde a la posición apical, mientras que la otra corresponde a un enlace Cu-O en el plano de la pirámide cuadrada.

En todos los complejos de cobre con esta geometría, la distancia más larga siempre corresponde a la posición apical.

Así, aunque podría esbozarse una explicación respecto a la peculiaridad de los enlaces, que considerara la presencia del puente, la resolución de la estructura resulta poco confiable. Sin embargo la confirmación de la especie puenteada es interesante, pues muestra que el comportamiento en estado sólido de los complejos abiertos si depende del aminoácido que contenga el ligante.

### 3.3. Estudio electroquímico de los complejos

Características de los compuestos con ligantes abiertos y cerrados.

La síntesis y caracterización de los ligantes *metmeim* y *fenmeim* se realizó para ampliar el conjunto de ligantes análogos con que se contaba en el grupo de trabajo, teniendo como objetivo estudiar el comportamiento electroquímico y la actividad catalítica de los complejos bimetalicos de cobre correspondientes. Entonces, para analizar los estudios realizados resulta oportuno enumerar las características comunes y las particulares de los complejos que se incluyeron en ambas series. El estudio electroquímico se realizó con los complejos bimetalicos de siete ligantes, cuatro con estructura abierta y tres con estructura cerrada. La caracterización de los complejos *Cu<sub>2</sub>fenmeim* y *Cu<sub>2</sub>metmeim* antes descrita, permitió probar que los complejos con estructura abierta en estado sólido, (Tabla 3.3.1) pueden adoptar un arreglo simétrico, que incluye el puente imidazolato con dos sitios de coordinación equivalentes, además del asimétrico que se había obtenido antes con *leumeim*, donde el ligante actúa de forma bidentada en un sitio y tridentada en el otro.

Tabla 3.3.1 Características estructurales de los complejos con ligantes abiertos.

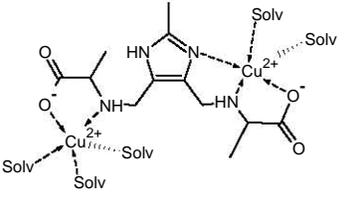
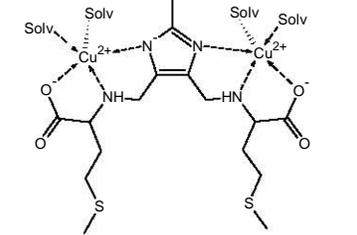
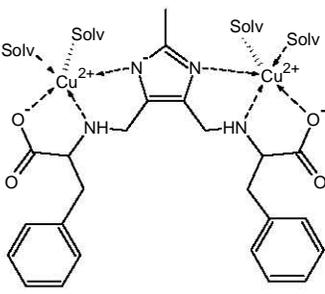
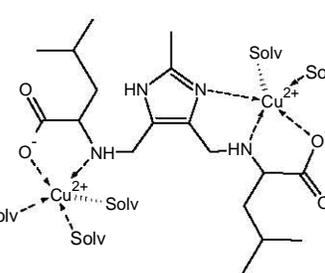
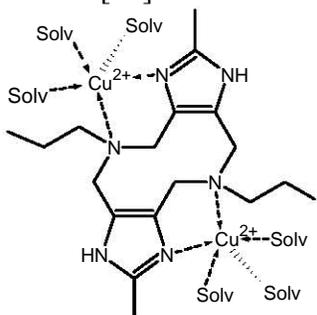
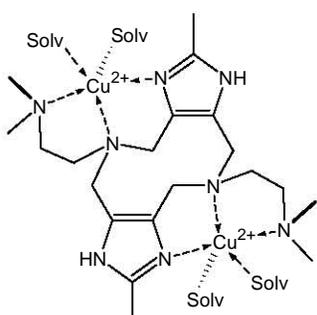
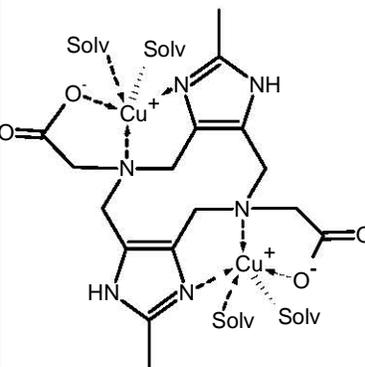
<i>Nombre del ligante</i>	<i>Sitios de coordinación del complejo en estado sólido</i>	<i>Determinación de la estructura</i>	<i>Medio de obtención de los cristales</i>
<p><i>Alameim</i>[28]</p> 	<p>Un sitio tridentado N<sub>imid</sub>,N,O y otro sitio bidentado N,O</p>	<p>Propuesta en base a análisis convencionales</p>	
<p><i>Metmeim</i></p> 	<p>Dos sitios equivalentes tridentados N<sub>imid</sub>,N,O</p>	<p>Propuesta en base a análisis convencionales</p>	

Tabla 3.3.1 Características estructurales de los complejos con ligantes abiertos.

<b>Nombre del ligante</b>	<b>Sitios de coordinación del complejo en estado sólido</b>	<b>Determinación de la estructura</b>	<b>Medio de obtención de los cristales</b>
<p><i>Fenmeim</i></p> 	<p>Dos sitios equivalentes tridentados <math>N_{imid}, N, O</math></p>	<p>Rayos X (<math>ClO_4^-</math>, <math>NO_3^-</math>)</p>	<p>MeCN:H<sub>2</sub>O pH=7.5</p>
<p><i>Leumeim</i>[26]</p> 	<p>Un sitio tridentado <math>N_{imid}, N, O</math> y uno bidentado</p>	<p>Rayos X (<math>NO_3^-</math>)</p>	<p>acuoso ácido</p>

Los tres ligantes cerrados muestran dos sitios de coordinación equivalentes, así como una estructura análoga en sus complejos. Sin embargo, cada ligante es diferente tanto en su denticidad como en el tipo de átomos ligantes tal como se muestra en la tabla 3.3.2. De acuerdo a lo reportado [25,27] la estructura de estos tres compuestos se mantiene en disolución observándose en algunos casos únicamente intercambio de los ligantes exógenos.

Tabla 3.3.2 Características estructurales de los complejos con ligantes cerrados.

<i>Nombre del ligante</i>	<i>Sitios de coordinación del complejo en estado sólido</i>	<i>Determinación de la estructura</i>	<i>Medio de obtención de los cristales</i>
<p>Promeim[27]</p> 	<p>Dos sitios equivalentes bidentados N<sub>imid</sub>,N</p>	<p>Rayos X (Cl<sup>-</sup>)</p>	<p>MeCN:H<sub>2</sub>O pH=4.5</p>
<p>Dimeim[27]</p> 	<p>Dos sitios equivalentes tridentados N<sub>imid</sub>,N,N</p>	<p>Rayos X (Cl<sup>-</sup>, AcO<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>-</sup>, BF<sub>4</sub><sup>-</sup>, especie neutra)</p>	<p>acuoso pH=5 y 7</p>
<p>Glimeim[25]</p> 	<p>Dos sitios equivalentes tridentados N<sub>imid</sub>,N,O</p>	<p>Rayos X (ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)</p>	<p>Acuoso ácido</p>

### 3.3.1. Voltamperometría cíclica de los ligantes abiertos y cerrados

El estudio del comportamiento electroquímico de los complejos formados con ambos conjuntos de ligantes: abiertos y cerrados, se inició mediante la técnica de voltamperometría cíclica (VC). Esta técnica se eligió porque la respuesta de corriente del sistema a las perturbaciones de potencial se representa en forma gráfica. Esto permite una rápida interpretación cualitativa del comportamiento del sistema. Dada la similitud y la complejidad encontrada en los voltamperogramas de los complejos con ligantes abiertos, se procedió al estudio exhaustivo de uno de ellos: el *Cu<sub>2</sub>fenmeim*. Las conclusiones obtenidas de este amplio estudio, se extendieron a los otros complejos del grupo y contribuyeron a la interpretación del comportamiento de los complejos con ligantes cerrados cuya discusión se presenta en la segunda parte de este capítulo.

#### 3.3.1.1. Compuestos bimetálicos con ligantes abiertos

Se describen brevemente las señales observadas en los voltamperogramas de los complejos con ligantes abiertos. En todos ellos se utilizó como referencia un electrodo de Ag/AgCl. En cada caso se obtuvo un conjunto de voltamperogramas con diferentes potenciales de inversión ( $E_{\lambda}$ ) que sustentara las asignaciones propuestas. Tres de ellos: *metmeim*, *alameim* y *fenmeim* presentan un comportamiento electroquímico muy similar. La asignación de las señales se discute y justifica en el estudio ampliado con el complejo *Cu<sub>2</sub>fenmeim*. La explicación a las diferencias observadas en el voltamperograma de *Cu<sub>2</sub>leumeim* se discutirá en la sección 3.3.1.2.3. Es importante destacar que antes de iniciar el estudio se determinó que ninguno de los ligantes empleados es electroactivo, por lo que se considera que el comportamiento electroquímico sólo depende de los centros metálicos en los compuestos de coordinación.

### *Cu<sub>2</sub>alameim*

El voltamperograma típico obtenido de una disolución de *Cu<sub>2</sub>alameim* se muestra en la figura 3.3.1. Se observan dos señales de reducción ( $I_c$  y  $II_c$ ) con potenciales de pico ( $E_{pC}$ ) en -0.4 volts y -0.7 volts respectivamente. Además, dos señales anódicas ( $III_a$  y  $IV_a$ ) con potenciales de pico ( $E_{p_a}$ ) en -0.3 volts y 0.48 volts respectivamente.

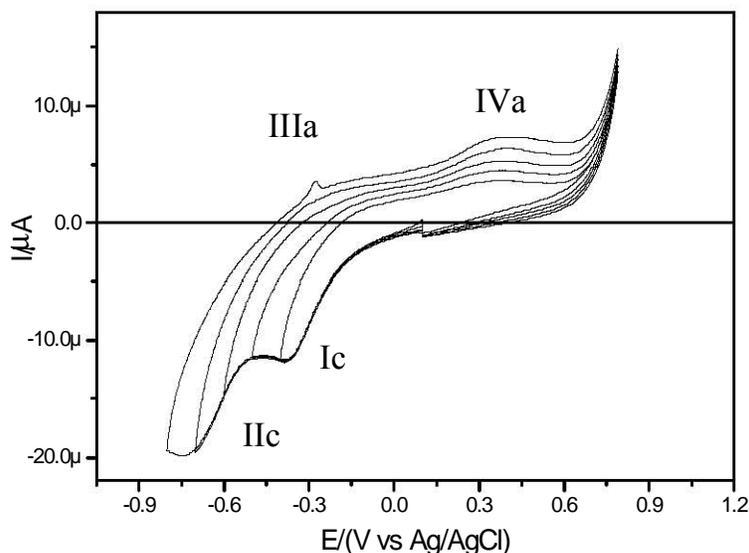


Figura 3.3.1 Voltamperogramas cíclicos obtenidos de una disolución del compuesto. *Cu<sub>2</sub>alameim* sobre un electrodo de carbón vítreo en  $CH_3CN:H_2O_{pH 7.5}$  al 50% a 100 mV/s.

La señal anódica  $III_a$  solamente se observa en el voltamperograma que tiene el potencial de inversión  $E_{\lambda}$  más negativos. Lo anterior se explica, ya que en estos potenciales se empieza a generar la reducción del cobre a cobre metálico que se deposita sobre el electrodo. Tras invertir el sentido del voltamperograma en dirección positiva, el cobre depositado se oxida y re-disuelve generando dicha señal. Su forma fina se debe a la disponibilidad que se tiene de la especie activa, el cobre metálico, que se encuentra adsorbido sobre el electrodo de carbono y que se oxida todo de una vez sin ninguna dependencia difusiva.

Entonces, de acuerdo con los demás voltamperogramas con  $E_{\lambda}$  menos negativos, sin llegar a la reducción a cobre metálico, se tienen dos señales de reducción ( $I_c$  y  $II_c$ ) que deben corresponder al par  $Cu(II)/Cu(I)$  y únicamente una de oxidación ( $IV_a$ ). El potencial de esta señal sugiere que el proceso completo es lento, pues se encuentra a un potencial mucho más positivo que cualquiera de las dos reducciones por lo que debe corresponder a la oxidación de una especie diferente a la que se redujo.

### *Cu<sub>2</sub>metmeim*

El voltamperograma típico de una disolución de *Cu<sub>2</sub>metmeim*, se muestra en la figura 3.3.2. De forma muy similar al comportamiento del complejo con *alameim*, este compuesto produce dos señales catódicas,  $I_c$  y  $II_c$  en -0.35 y -0.6 volts respectivamente y sólo una anódica  $IV_a$ .

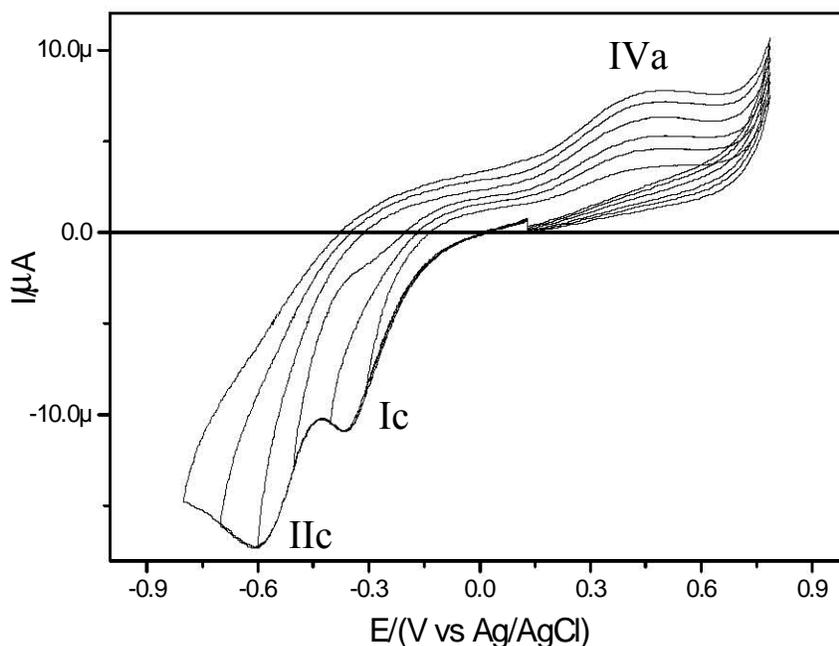


Figura 3.3.2 Voltamperogramas cíclicos obtenidos de una disolución del compuesto. *Cu<sub>2</sub>metmeim* sobre un electrodo de carbón vítreo en  $CH_3CN:H_2O_{pH 7.5}$  al 50% a 100 mV/s.

### *Cu<sub>2</sub>fenmeim*

El voltamperograma típico obtenido para una disolución de *Cu<sub>2</sub>fenmeim* se muestra en la figura 3.3.3. Al igual que los dos anteriores en el voltamperograma de este compuesto se observan dos señales de reducción  $I_c$  y  $II_c$  en -0.42 y -0.65 volts respectivamente y solamente la señal de oxidación  $IV_a$  en 0.48 volts que coincide exactamente con las de los voltamperogramas descritos para los otros dos compuestos.

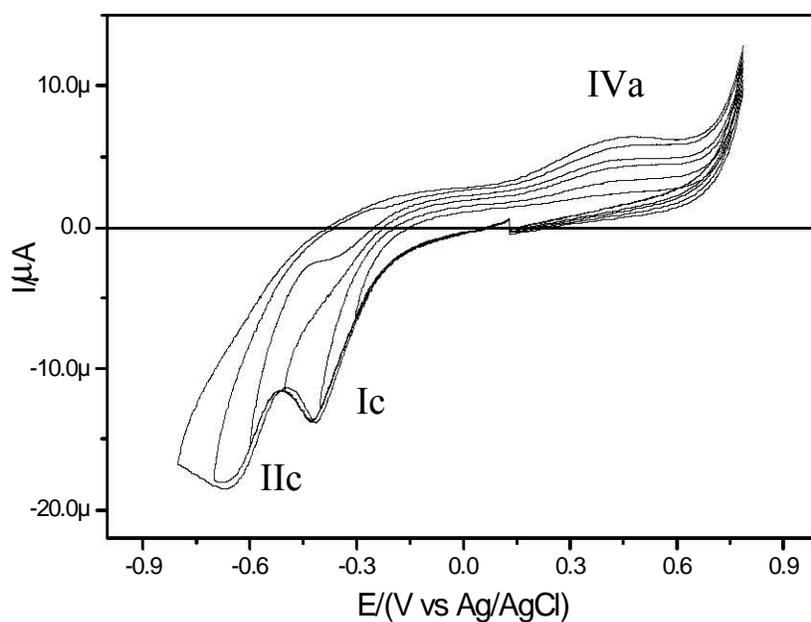


Figura 3.3.3 Voltamperogramas cíclicos obtenidos de una disolución del compuesto. *Cu<sub>2</sub>fenmeim* sobre un electrodo de carbón vítreo en  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}_{\text{pH } 7.5}$  al 50% a 100 mV/s.

### *Cu<sub>2</sub>leumeim*

El voltamperograma típico obtenido para una disolución de *Cu<sub>2</sub>leumeim* se muestra en la figura 3.3.4. A diferencia de los demás complejos con ligantes abiertos el *Cu<sub>2</sub>leumeim* presenta una sola señal catódica ( $I_c$ ) muy ancha entre -0.4 y -0.6 volts que coincide con el intervalo de potenciales en el que aparecen las señales de los demás complejos de este grupo. La señal de oxidación  $IV_a$  en 0.48 volts también se observa en el voltamperograma de este compuesto.

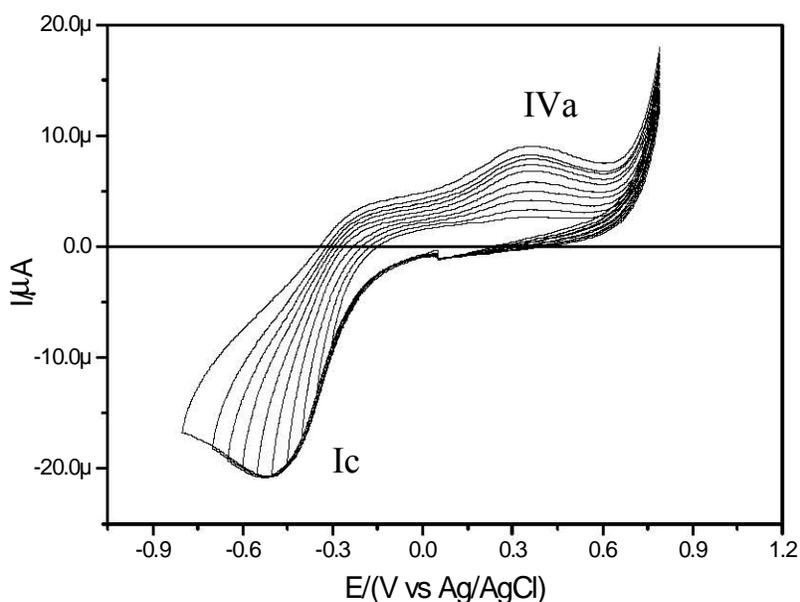


Figura 3.3.4 Voltamperogramas cíclicos obtenidos de una disolución del compuesto.  $\text{Cu}_2\text{leumeim}$  sobre un electrodo de carbón vítreo en  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}_{\text{pH } 7.5}$  al 50% a 100 mV/s.

Los valores de los potenciales de pico observados para cada uno de los complejos abiertos se resumen en la tabla 3.3.3.

Tabla 3.3.3 Potenciales de pico catódicos y anódicos de los complejos bimetálicos de cobre con los ligantes abiertos.

	$E_{pc} \text{ Ic}$	$E_{pc} \text{ IIc}$	$E_{pa} \text{ IVa}$	$\Delta E_{12}=E_{p2}-E_{p1}$
$\text{Cu}_2\text{alameim}$	-0.40	-0.7	0.48	0.3
$\text{Cu}_2\text{metmeim}$	-0.35	-0.60	0.48	0.25
$\text{Cu}_2\text{fenmeim}$	-0.42	-0.65	0.48	0.23
$\text{Cu}_2\text{leumeim}$	-0.45		0.48	

Los valores de potencial del pico Ic son similares para todos los compuestos, sin embargo la diferencia entre los potenciales de los dos picos en cada compuesto es distinta. Al respecto, Neves [6] utiliza el parámetro  $\Delta E_{12}$ , correspondiente a la diferencia entre los potenciales de reducción observados, como medida inversa de la facilidad con la que el par metálico aceptará un par de electrones del sustrato en la reacción de oxidación. Así, con los resultados hasta aquí presentados, podría suponerse que de los compuestos abiertos con comportamiento similar, el  $\text{Cu}_2\text{fenmeim}$  será el mejor catalizador.

Con el propósito de explicar la aparición de dos picos de reducción de  $\text{Cu(II)} \rightarrow \text{Cu(I)}$  para tres de los compuestos estudiados (*alameim*, *metmeim* y *fenmeim*) primero se consultaron algunos trabajos reportados con sistemas similares.

Los estudios sobre el comportamiento electroquímico de sistemas bimetálicos son numerosos y sus resultados muy variados [6, 19, 49]. Algunos, como el de Tabbi [33] y sus colaboradores incluyen sistemas bimetálicos de cobre con estructuras simétricas cuya electroquímica presenta una sola señal para las dos reducciones  $\text{Cu(II)} \rightarrow \text{Cu(I)}$ , que se llevan a cabo de forma simultánea. En contraste, por ejemplo Gagné [18] reporta un sistema bimetálico simétrico con dos procesos de reducción sucesivos distinguibles para el que incluso, es posible aislar la especie mixta  $\text{Cu(II)LCu(I)}$ . Coughlin [23] por su parte, observa ambos comportamientos en una serie de compuestos análogos. La variedad en los comportamientos se atribuye al diferente grado de acoplamiento que puede darse entre los dos sitios metálicos o bien a la estabilidad de las especies con estados de oxidación mixtos.

Como se mencionó previamente, los complejos con ligantes abiertos de este trabajo pueden estabilizar en estado sólido, dos estructuras: la simétrica que incluye el puente imidazolato ( $\text{Cu}_2\text{fenmeim}$  y  $\text{Cu}_2\text{metmeim}$ ) o la asimétrica sin puente ( $\text{Cu}_2\text{alameim}$  y  $\text{Cu}_2\text{leumeim}$ ) con dos sitios de coordinación diferentes. Considerando lo anterior, la aparición de dos señales catódicas bien definidas en los voltamperogramas de los complejos con ligantes abiertos podría asociarse a uno de los siguientes casos:

- El complejo en disolución contiene dos sitios de coordinación equivalentes unidos por un puente imidazolato cuya interacción es tal que los sitios se vuelven no equivalentes frente a la reducción.
- El complejo contiene dos sitios de coordinación totalmente diferentes, cada uno con un potencial de reducción distinto.

Aunque la posibilidad de tener en disolución una especie con puente imidazolato resultaba atractiva, varios estudios reportados para estos sistemas destacan la dificultad que se presenta para mantener los puentes en disolución. Coughlin y Lippard [23] por ejemplo, reportan una serie de compuestos modelo de la enzima BESOD. De ellos sólo uno mantiene el puente al disolverse, y esto en un intervalo muy estrecho de valores de pH. Así mismo, D. Li y S. Li [37] reportan la forma en que lograron la estabilización del puente en un intervalo más amplio de valores de pH sólo mediante el uso de un macrociclo octadentado.

### 3.3.1.2. Estudio ampliado del comportamiento electroquímico del complejo *Cu<sub>2</sub>fenmeim* [50]

#### 3.3.1.2.1. Variación de la relación estequiométrica *ligante:metal*

Con el fin de dilucidar si la especie puenteada se conserva al disolverse y explicar la aparición de las dos señales catódicas a diferente potencial, se procedió a estudiar el voltamperograma típico obtenido de una disolución del complejo con el ligante *fenmeim* usando solamente un equivalente de cobre por cada equivalente de ligante con el fin de preparar *in situ* el complejo monometálico. El voltamperograma obtenido se muestra en la figura 3.3.5 (a), en él se observa una señal de reducción  $\text{Cu(II)} \rightarrow \text{Cu(I)}$  que coincide con la señal  $\text{II}_c$  del correspondiente al complejo bimetalico antes descrito. Además, se observa un sobre-potencial de nucleación [51] alrededor de -0.8 volts, así como la señal  $\text{IV}_a$ . A la misma disolución del compuesto 1:1 se fueron adicionando 0.5, 1 y 1.25 equivalentes de cobre para tener respectivamente disoluciones 1:1.5 (b), 1:2 (c) y 1:2.25 (d) *ligante:metal* cuyos voltamperogramas se muestran en la misma figura.

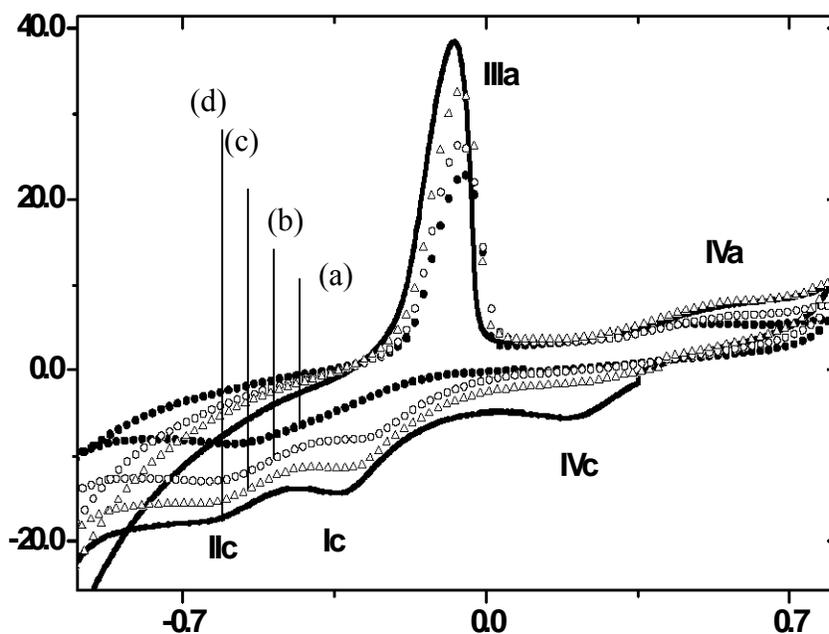


Figura 3.3.5 Voltamperograma cíclico (a) obtenido para una disolución con proporción *fenmeim*:Cu 1:1 y los subsiguientes (b), (c) y (d) al adicionarle 0.5, 1 y 1.25 equivalentes de cobre.

En la comparación puede apreciarse, conforme se hacen las adiciones, primero la aparición de la señal de reducción  $I_c$  descrita para el complejo bimetálico y después, ante la presencia de un exceso de cobre, la aparición de una tercera señal ( $IV_c$ ) que se asigna a la reducción del cobre no coordinado que se encuentra en exceso. Al respecto, es importante mencionar que las dos señales, anódica y catódica del proceso IV coinciden con las que se obtienen para el par  $Cu(II)/Cu(I)$  de una disolución de nitrato de cobre en el mismo medio. De los resultados obtenidos en este experimento puede concluirse que:

- Existe un sitio de coordinación preferido en el ligante lo cual sólo puede suceder en el caso de la especie asimétrica.
- El sitio preferido es aquel con el potencial de reducción más negativo y por lo tanto donde el  $Cu(II)$  es más estable.

- No es evidente ningún acoplamiento entre los dos centros metálicos ya que la coordinación del segundo no modifica el potencial en el que se reduce el primero ( $II_c$ ).
- La señal IVa coincide con la oxidación del Cu(I) cuando éste se encuentra solvatado en el mismo medio de trabajo, lo cual sugiere que el cobre podría estarse descoordinando.

Los resultados del experimento descrito, muy similares a los obtenidos por Monzani [52] permiten probar que la estructura presente en disolución es la asimétrica y por tanto que al disolverse se rompe el puente en el compuesto. Es importante destacar la utilidad de la técnica de VC en la caracterización de las especies en disolución y no sólo en el estudio de su comportamiento electroquímico.

La asignación de las señales de reducción  $I_c$  y  $II_c$  a cada uno de los sitios de coordinación en la estructura se realizó con base en la estabilidad que cada sitio podría conferir al ion metálico (Fig. 3.3.6). Así, de acuerdo a la teoría del campo de los ligantes el sitio tridentado N,N,O que incluye al nitrógeno del imidazol afectará con un campo más fuerte al ion cobre II dándole una mayor estabilidad que el sitio bidentado N,O del aminoácido. Entonces el ion Cu(II) coordinado al sitio tridentado (Fig. 3.3.6), que en lo subsecuente denominaremos  $Cu_B(II)$ , será el más estable y el que requiera más energía para reducirse, por lo tanto se asigna al potencial más negativo ( $II_c$ ). Mientras que el ion coordinado al sitio bidentado que denominaremos  $Cu_A(II)$  siendo el menos estable se reducirá al potencial más positivo  $I_c$ .

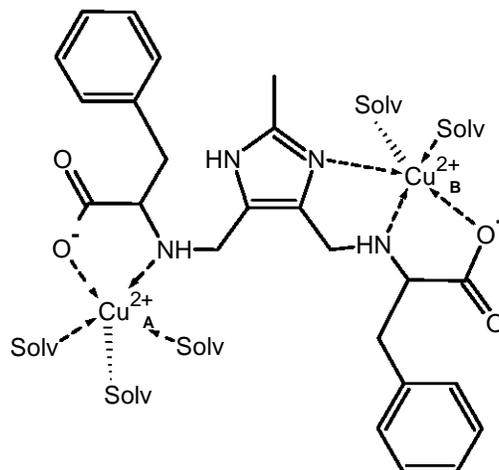


Figura 3.3.6 Estructura propuesta para el complejo  $\text{Cu}_2\text{fenmeim}$  donde se identifica cada uno de los iones  $\text{Cu}_A$  y  $\text{Cu}_B$ .

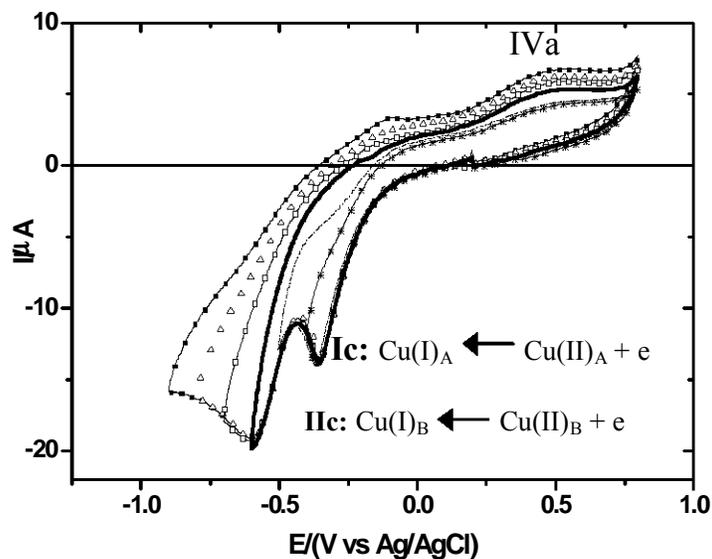


Figura 3.3.7 Voltamperogramas cíclicos obtenidos de una disolución del compuesto  $\text{Cu}_2\text{fenmeim}$  con las asignaciones propuestas para cada una de las señales observadas.

Esta asignación de las señales Ic y IIc a las reducciones de los iones  $\text{Cu}_A(\text{II})$  y  $\text{Cu}_B(\text{II})$  respectivamente (Fig. 3.3.7) se comprobaron mediante la técnica de espectroelectroquímica que se describe a continuación.

### 3.3.1.2.2. Espectroelectroquímica

La técnica combinada de espectroelectroquímica permite identificar *in situ* los productos o los intermediarios generados durante un proceso electrolítico mediante el registro de los cambios de absorbancia que resultan de la formación o el consumo de las especies presentes en una celda electroquímica. Así, con el fin de confirmar la asignación de las señales Ic y IIc de los voltamperogramas se procedió a obtener los espectros UV-visible de las especies generadas en una disolución 1 mM del compuesto *Cu<sub>2</sub>fenmeim* en una celda de cuarzo con un electrodo ópticamente transparente mientras se aplicaba un potencial controlado.

En la primera fase del experimento se aplicó un potencial constante de -0.2 volts, apenas suficiente para reducir al Cu<sub>A</sub>(II) mientras se obtenía un espectro de la disolución cada 30 segundos durante 1.5 horas.

El espectro de la disolución al inicio **(a)** presenta una banda ancha centrada en 650 nm particularmente simétrica. Una vez que se inicia la aplicación del potencial se observa una disminución continua de la absorbancia en esta longitud de onda (Figura 3.3.8). Dicha disminución se atribuye al consumo de la especie Cu<sub>A</sub>(II) que al reducirse a Cu<sub>A</sub>(I) adquiere una configuración  $d^{10}$  sin posibilidad de ninguna transición electrónica  $d-d$  y por lo tanto no absorbe en esta región del espectro. El decremento en la absorbancia continuó durante treinta minutos hasta que ésta se mantuvo constante **(b)** debido a la presencia del ion Cu<sub>B</sub>(II) que a ese valor de potencial no había sufrido ningún cambio. Ahora, con el fin de reducir a este último, se aplicó un potencial suficientemente negativo **(c)**, de -0.6 volts, durante una hora, después de lo cual se consumió todo el Cu<sub>B</sub>(II) presente en la disolución y ya no se observó ninguna absorbancia en esa región **(d)**. Es importante destacar que el último espectro de la primera fase, donde se ha reducido al Cu<sub>A</sub>(II), es idéntico al que se obtiene para una disolución del complejo 1:1 (metal:ligante) en el mismo medio (Figura 3.3.9). Ambos espectros presentan una banda centrada en 630 nm con la típica forma sesgada de los complejos de cobre distorsionados tetragonalmente.

Los resultados obtenidos con esta técnica confirman la asignación propuesta para cada una de las señales catódicas.

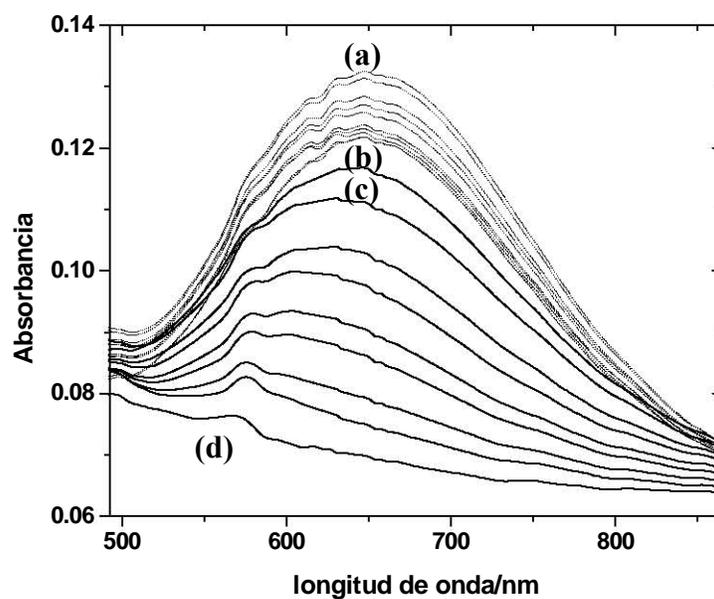


Figura 3.3.8 Espectros electrónicos de una disolución de  $\text{Cu}_2\text{fenmeim}$  obtenidos cuando se aplicaron: (a) un potencial para reducir al  $\text{Cu}_A(\text{II})$ , que se mantuvo hasta que la absorbancia fue constante (b) y un segundo potencial (c) para reducir al  $\text{Cu}_B(\text{II})$  hasta que no se observó ninguna absorbancia en esa región.

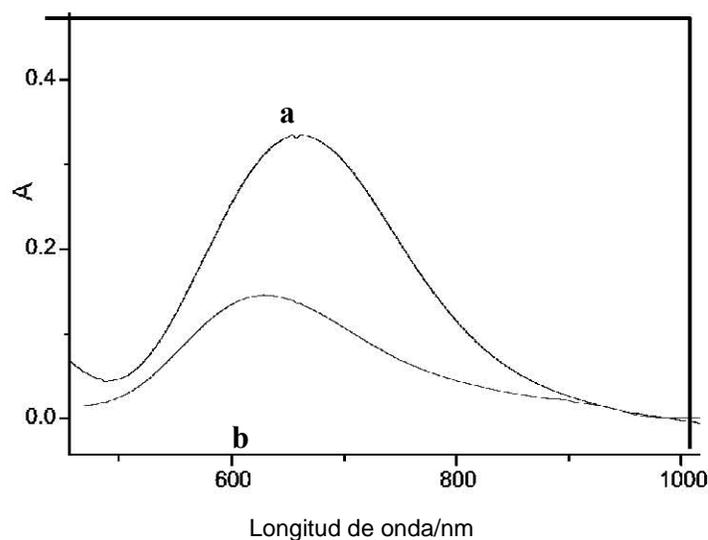


Figura 3.3.9 Espectro electrónico obtenido de una disolución de  $\text{Cu}_2\text{fenmeim}$  (a) y el correspondiente a la disolución del complejo monometálico preparado *in situ* (b).

### 3.3.1.2.3. Efecto del disolvente

En los voltamperogramas obtenidos con todos los complejos con ligantes abiertos se observa que la única señal anódica IVa, aparece a un potencial de pico mucho más positivo que cualquiera de las dos reducciones observadas. Al comparar dicha señal con la correspondiente al proceso reversible  $\text{Cu(I)} \rightarrow \text{Cu(II)}$  para una disolución de  $\text{Cu(NO}_3)_2$  en el mismo medio y en ausencia del ligante éstas resultaron equivalentes.

Así mismo, se determinó que la aparición de IVa depende de la previa reducción del ion  $\text{Cu}_A(\text{II})$  a  $\text{Cu}_A(\text{I})$  ya que cuando el barrido de potencial se inicia en sentido positivo no aparece. Esto indica que al cambiar su estado de oxidación el ion metálico debe estar modificando también su esfera de coordinación. Suponiendo que lo anterior podría estar relacionado con la interacción con el disolvente, se compararon los voltamperogramas obtenidos para el complejo *Cu<sub>2</sub>fenmeim* en  $\text{CH}_3\text{CN:H}_2\text{O}$  variando la proporción de la mezcla.

La figura 3.3.10 muestra los voltamperogramas obtenidos en mezclas  $\text{CH}_3\text{CN:H}_2\text{O}$  con una proporción de acetonitrilo desde 0 hasta 40%. El voltamperograma obtenido en agua (a) no presenta ninguna señal. Esto sugiere, que cualquier reducción en ese medio requiere de más energía, es decir de un potencial más negativo que no se alcanza en la ventana de trabajo. Lo anterior coincide con la baja estabilidad que presentan los sistemas de  $\text{Cu(I)}$  en medios acuosos e indica una gran estabilidad del  $\text{Cu(II)}$  en su estado coordinado.

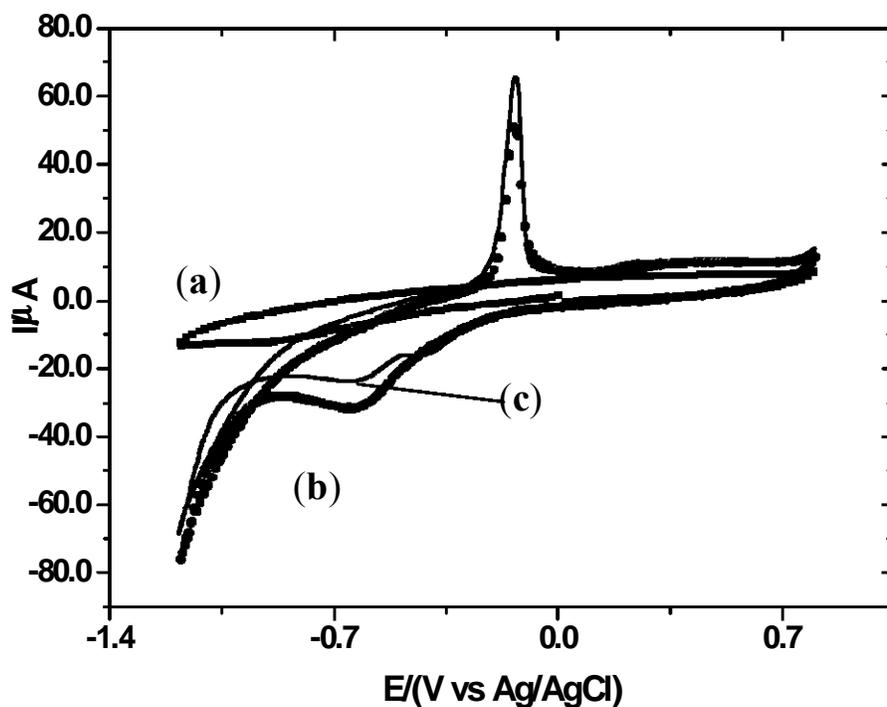


Figura 3.3.10 Voltamperogramas cíclicos obtenidos para disoluciones acuosas de  $\text{Cu}_2\text{fenmeim}$  con porcentajes de  $\text{CH}_3\text{CN}$  variables: (a) 0%, (b) 30% y (c) 40%

Conforme se aumenta la proporción de acetonitrilo en la mezcla es posible distinguir la reducción de los iones de cobre, primero a potenciales muy cercanos uno del otro en una señal ancha (b), y a partir de la mezcla con 40% de acetonitrilo (c) perfectamente distinguibles a potenciales diferentes. La reducción del cobre (II) a un potencial cada vez más positivo indica que conforme aumenta la cantidad de acetonitrilo se requiere menos energía para llevar a cabo este proceso. Lo anterior puede explicarse considerando la sustitución paulatina de las moléculas de agua que completaban la esfera de coordinación del cobre en un medio acuoso por moléculas de acetonitrilo. La estabilidad intrínseca de cada sitio, así como el número de lugares susceptibles de intercambio, mayor para el  $\text{Cu}_A(\text{II})$  que para  $\text{Cu}_B(\text{II})$ , explican la diferencia observada entre ambos potenciales.

Considerando el análisis descrito se propone que la oxidación IVa corresponde a la de una especie solvatada de cobre no coordinado  $solvCu(I)$  que se forma sólo tras la reducción del  $Cu_A(II)$  coordinado. Se propone que en ese estado de oxidación (I), el ion metálico se descoordina del ligante y es estabilizado en su forma libre con acetonitrilo del medio. Esto coincide con la estabilidad presentada por las especies de  $Cu(I)$  en este disolvente [53]. Considerando además, que cuando se barren varios ciclos consecutivos no se observa ninguna reducción hasta el potencial de pico  $I_c$ , también se propone que cuando la especie solvatada se oxida el ion metálico vuelve a coordinarse con el ligante.

En este punto resulta conveniente discutir las características que presenta el voltamperograma del complejo con el ligante *leumeim* (Fig. 3.3.4) debido a su gran similitud con el voltamperograma (b) antes descrito.

El voltamperograma obtenido para el complejo con *leumeim*, a diferencia de los demás con complejos abiertos, presenta una sola señal ancha muy similar a la que se observa en el voltamperograma del complejo  $Cu_2fenmeim$  en un medio con 30% de acetonitrilo.

Así, la forma de la señal ancha del complejo con *leumeim* podría asociarse con la sobreposición de varias señales con potenciales de pico muy similares debido a la presencia de varias especies que difieren entre sí en el tipo de moléculas de disolvente que hay en su esfera de coordinación. Sin embargo se requiere un estudio más amplio con el compuesto para dar una explicación contundente.

#### 3.3.1.2.4. Estudio cronoamperométrico

Los resultados de la voltamperometría evidenciaron un comportamiento electroquímico complejo con dos procesos redox lentos que incluyen la oxidación de una especie nueva. Esto implica que las especies que se reducen en Ic y IIc sufren modificaciones en su estructura de tal forma que no son iguales a la que se oxida en IVa.

La cronoamperometría [54] es una técnica de tiempo ventana más corto, de tal forma que pueden detectarse especies intermediarias con un tiempo de vida relativamente corto, cuya presencia no es evidente en la VC. Así, bajo el supuesto de que tras reducirse a Cu(I) el ion metálico se descoordina, se decidió intentar mediante esta técnica, la detección de la especie reducida del complejo antes de perder al ion. En esta técnica el potencial puede mantenerse constante o variarse con el tiempo de una forma predeterminada mientras la corriente se mide en función del tiempo. En la cronoamperometría de un pulso primero se aplica, por un tiempo, un potencial en donde no ocurre ningún proceso faradáico e inmediatamente después se aplica un potencial (el pulso  $E_1$ ) tal que la concentración de la especie activa en la superficie del electrodo sea prácticamente cero, es decir un potencial en donde el intercambio electrónico sólo esté limitado por difusión. La respuesta en este caso consta de una curva ( $I$  vs  $t$ ) donde inmediatamente después del pulso se registra una corriente muy grande que decrece conforme pasa el tiempo debido a que el flujo de masa disminuye en las proximidades de la superficie del electrodo. En la cronoamperometría de doble pulso se aplica, en seguida del primer pulso, un segundo potencial ( $E_2$ ) (Figura 3.3.11) que favorezca el proceso electrolítico inverso, es decir que transforme a la especie formada en la interfase, sea en la especie inicial o bien en otra diferente. Las curvas cronoamperométricas ( $I$  vs  $t$ ) así obtenidas, constan de un intervalo de corriente positiva (si el primer proceso corresponde a una oxidación) que disminuye y otro de corriente negativa correspondiente a la reducción de la especie oxidada formada en la interfaz (Figura 3.3.12).

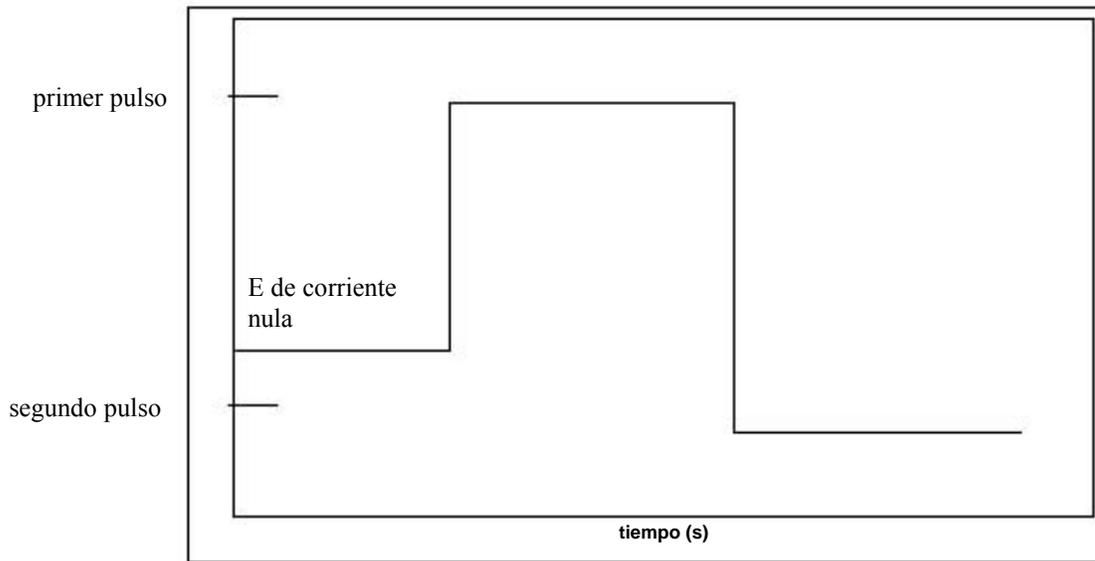


Figura 3.3.11 Variación del potencial aplicado en un experimento de cronoamperometría de doble pulso.

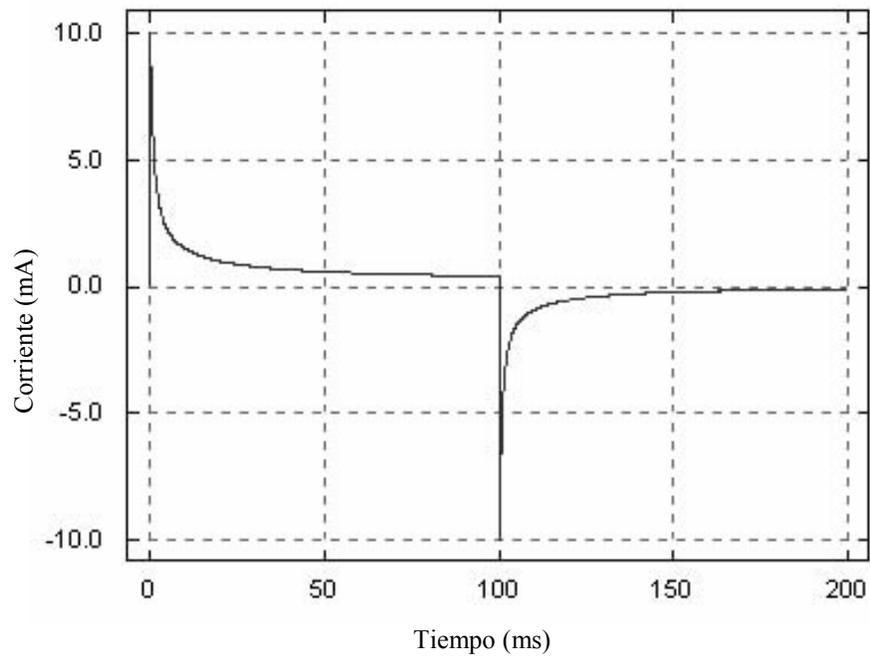


Figura 3.3.12 Gráfica de la respuesta de corriente en una cronoamperometría de doble pulso.

Así, se realizó un estudio cronoamperométrico de doble pulso que incluyó dos series de cronoamperogramas con el primer potencial ( $E_1$ ) constante y el segundo ( $E_2$ ) variable. Estas condiciones se eligieron con el propósito de detectar la oxidación de cualquier especie a cada potencial incluso a tiempos muy cortos.

En la serie A, el primer pulso aplicado ( $E_1$ ) se eligió de -0.4 volts para reducir exclusivamente al  $Cu_A(II)$  del *Cu<sub>2</sub>fenmeim* en un proceso limitado sólo por difusión de acuerdo a los resultados de la VC (Fig. 3.3.13). Este potencial se mantuvo durante 1.5 segundos e inmediatamente después se aplicó el segundo pulso de regreso, diferente para cada cronoamperograma con valores desde -0.35 hasta 0.8 volts.

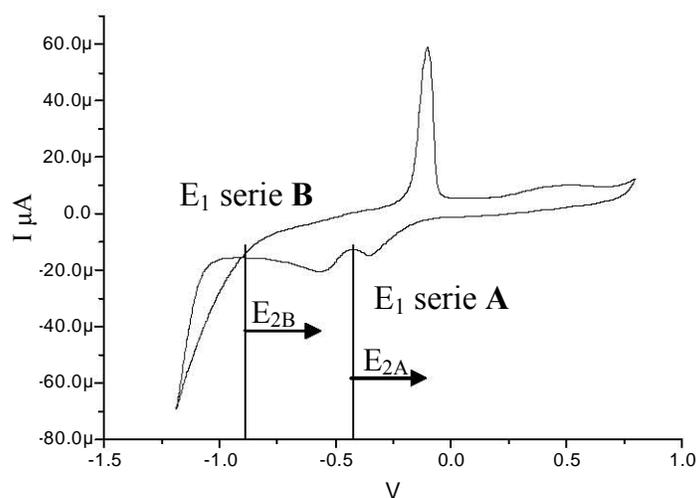
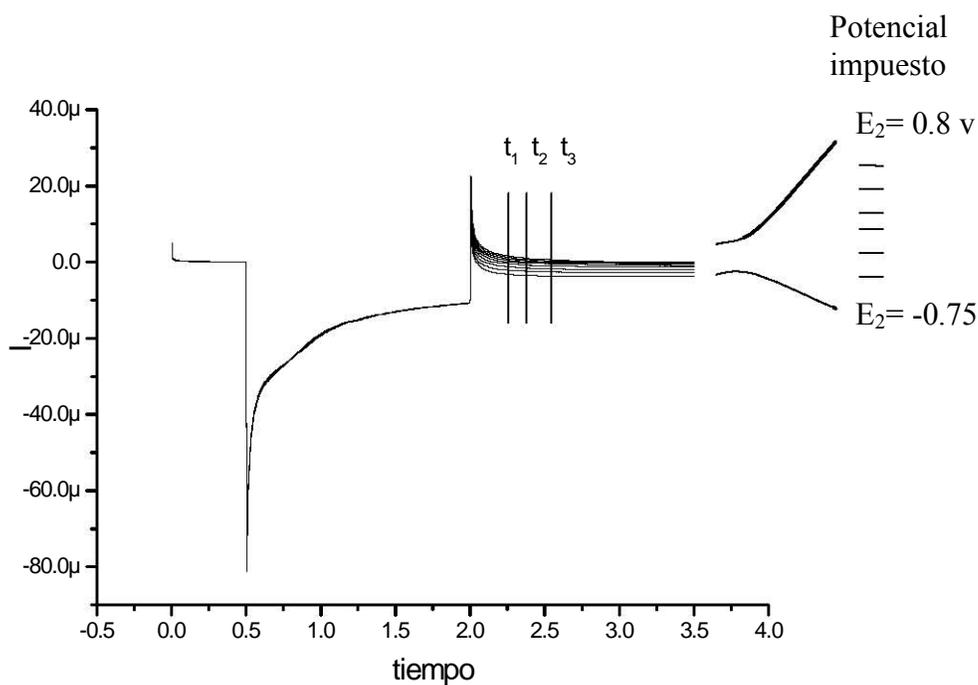


Figura 3.3.13 Potenciales elegidos en el primer pulso de las series **A** (-0.4 volts) y **B** (-0.8 volts).

La serie B se realizó de forma análoga, esta vez con un potencial constante  $E_1$  de -0.8 volts, suficiente para reducir a los dos iones de cobre coordinados y un segundo pulso variable desde -0.75 hasta 0.8 volts. Al comparar los cronoamperogramas de una misma serie la respuesta de corriente durante el primer pulso es idéntica para todos, ya que se está aplicando el mismo potencial, mientras que en el segundo la corriente aumenta con el potencial.

Con los datos de los cronoamperogramas de las series **A** y **B** arriba descritos, se realizó una voltamperometría de corriente muestreada, a partir de los cronoamperogramas del segundo pulso. Para ello, se construyeron dieciséis curvas  $I$  vs  $E$  para cada una de las series. Cada punto de una curva corresponde a la corriente obtenida en cada uno de los diferentes potenciales impuestos y todos los puntos de una curva corresponden a un mismo tiempo de muestreo. (Figura 3.3.14).

Figura 3.3.14 Cronoamperogramas de la serie B, los dieciséis tiempos de muestreo ( $t$ ) se eligieron desde 0.01 hasta 1.5 segundos.



Al comparar en una sola gráfica las dieciséis curvas de corriente muestreada del segundo pulso de la serie **A** (Figura 3.3.15), donde en el primer pulso se redujo solamente al  $\text{Cu}_A(\text{II})$ , pueden distinguirse dos zonas: la zona **A<sub>1</sub>** desde 0 hasta 0.3 volts y la zona **A<sub>2</sub>** a voltajes más positivos. La corriente positiva generada en la zona **A<sub>1</sub>** puede asociarse a la oxidación del ion  $\text{Cu}_A(\text{I})$  coordinado presente sólo momentáneamente después de la aplicación del segundo pulso. Mientras que la

disminución de esta corriente, con el tiempo de muestreo, puede explicarse con el consumo de la especie electroactiva en una reacción química acoplada.

La pérdida de la especie activa  $\text{Cu}_A(\text{I})$  se corroboró al graficar la corriente recuperada, expresada como el cociente entre las corrientes del proceso inverso y directo del doble pulso ( $i_i/i_d$ ), contra el tiempo de muestreo (Figura 3.3.16).

La caída súbita de la recuperación con el tiempo confirma el acoplamiento de una reacción homogénea al proceso electrolítico, dando sustento a la propuesta de la descoordinación del  $\text{Cu}_A(\text{I})$  realizada a partir del estudio voltamperométrico. El mecanismo propuesto para este proceso se presenta en la figura 3.3.17.

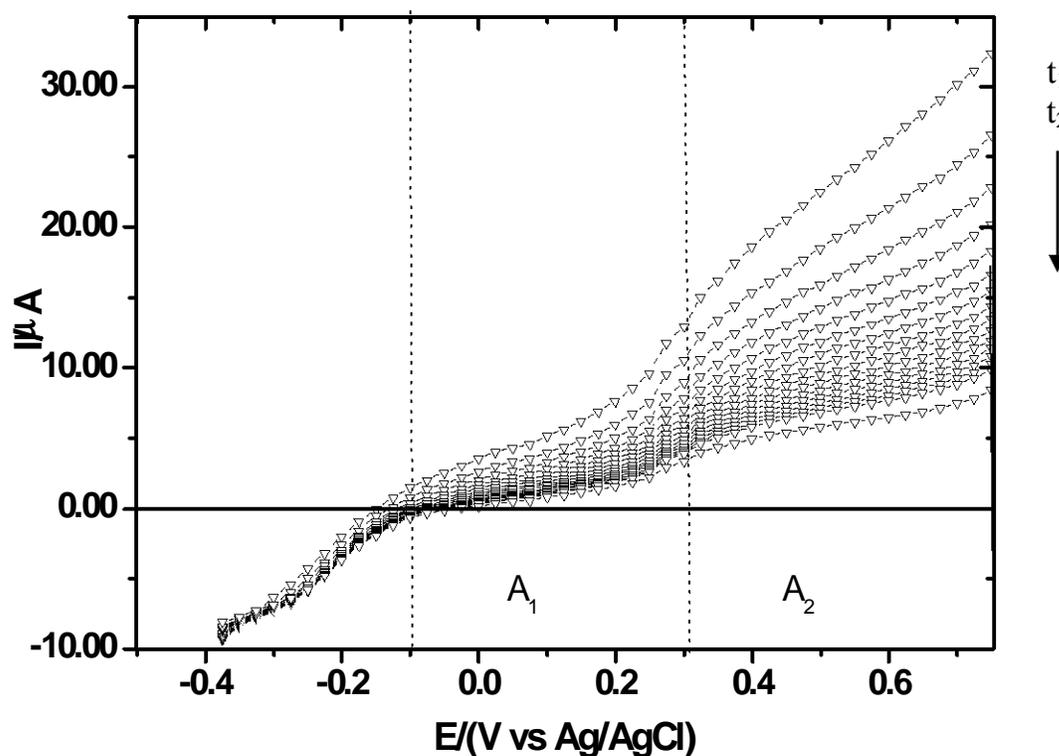


Figura 3.3.15 Gráfica de corriente muestreada construida para el segundo pulso a partir de los cronoamperogramas de la serie A.

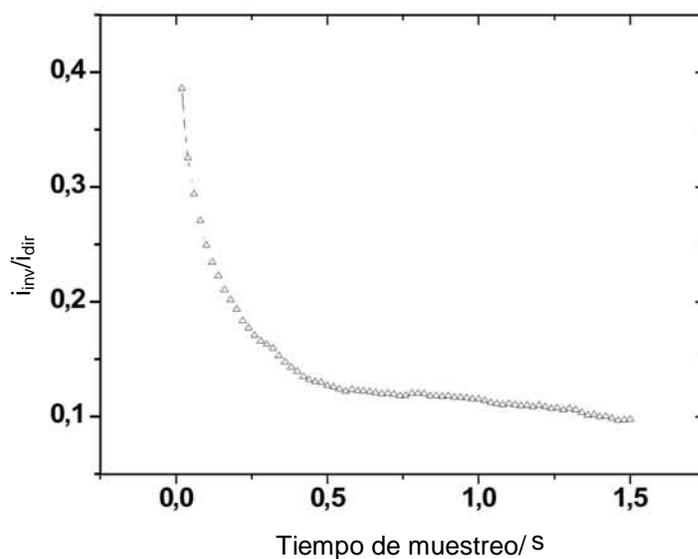


Figura 3.3.16 Corriente recuperada. Gráfica del cociente de la corriente de los procesos inverso y directo ( $i_{inv}/i_{dir}$ ) contra el tiempo de muestreo (t).

En dicha figura se presenta la especie bimetálica oxidada **I**, que al aplicarle el primer pulso  $E_1$  se reduce a la especie mixta **II** con el  $Cu_A$  reducido. De acuerdo con la figura, si el proceso fuera reversible la aplicación del segundo pulso  $E_2$  llevaría a la recuperación de la especie activa original **I**. Sin embargo, el acoplamiento de la reacción química **C**, implica la descoordinación del  $Cu_A I$  y su estabilización con moléculas del disolvente para formar *solvCuI*. Además, se forma la especie **III** electroquímicamente inactiva en este potencial. Lo anterior hace al proceso prácticamente irreversible.

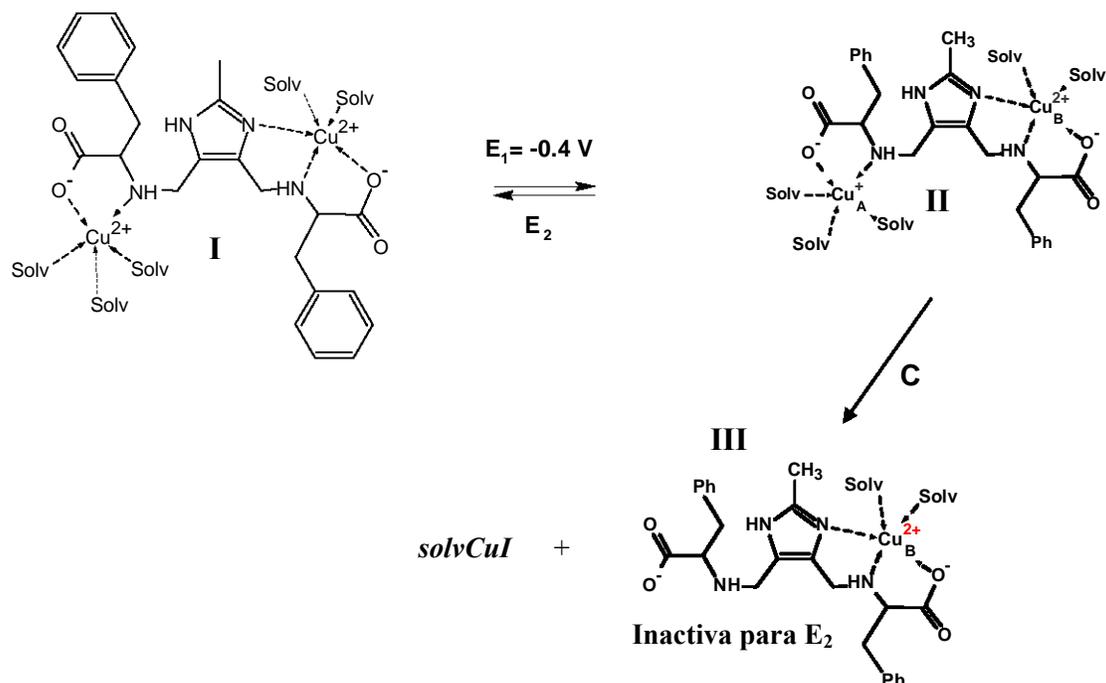


Figura 3.3.17 Mecanismo propuesto para la descoordinación del  $\text{Cu}_A$  tras ser reducido en el primer pulso de la serie A.

Los potenciales en la zona  $\mathbf{A}_2$  son suficientemente positivos para que se lleve a cabo la oxidación de cualquier especie activa presente en el medio, incluso la especie libre  $\text{solvCu(I)}$ .

El conjunto de gráficas de corriente muestreada para la serie **B** donde el pulso  $E_1$  redujo ambos iones de cobre se presentan en la figura 3.3.18. En la gráfica pueden distinguirse tres zonas: la zona  $\mathbf{B}_0$  desde -0.3 hasta -0.1 volts, la zona  $\mathbf{B}_1$  desde -0.1 hasta 0.3 volts y la zona  $\mathbf{B}_2$  a potenciales mayores. La corriente positiva registrada en la zona de potenciales  $\mathbf{B}_0$  confirma la existencia, al menos a tiempos de muestreo muy cortos, de la especie coordinada  $\text{Cu}_B(\text{I})$  por ser ésta la única especie que podría oxidarse en estos valores de potencial.

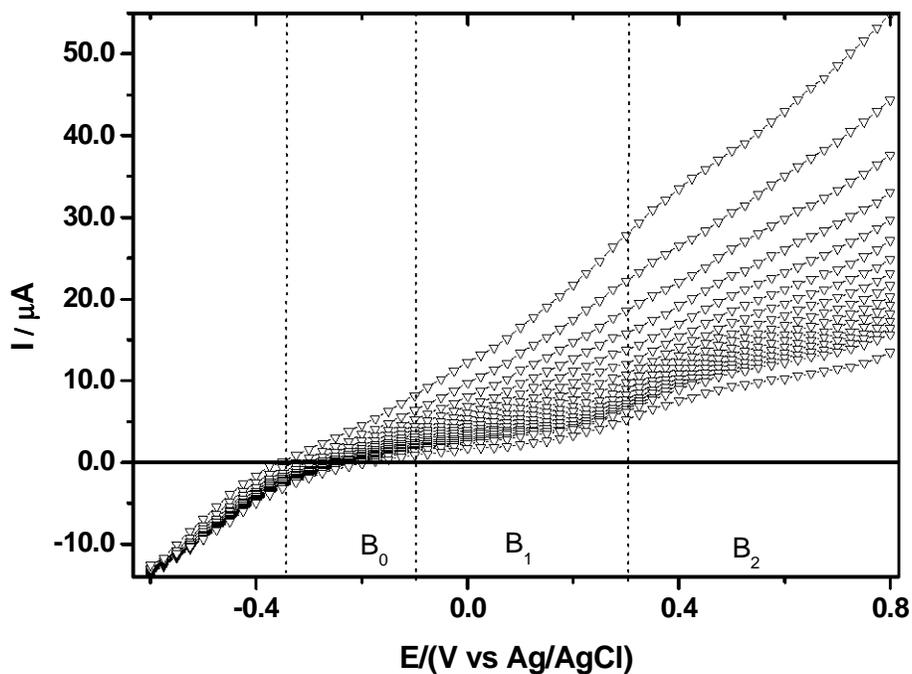
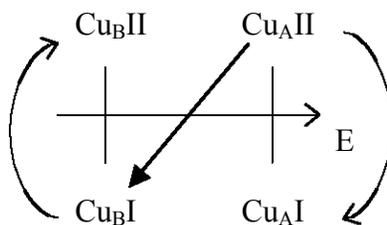


Figura 3.3.18 Gráfica de corriente muestreada construida para el segundo pulso a partir de los cronoamperogramas de la serie **B**.

La caída súbita de la corriente en esta zona puede asociarse con el consumo de dicha especie en el transcurso de una reacción homogénea de óxido-reducción entre el ion  $\text{Cu}_B(\text{I})$  recién producido en la superficie del electrodo y el ion  $\text{Cu}_A(\text{II})$  que difunde desde el seno de la disolución (Fig. 3.3.19 C), esto debido a la diferencia que existe entre los potenciales redox de los pares  $\text{Cu}_B(\text{II})/\text{Cu}_B(\text{I})$  y  $\text{Cu}_A(\text{II})/\text{Cu}_A(\text{I})$ .



Ya que el producto  $\text{Cu}_A(\text{I})\text{LCu}_B(\text{II})$  de esta reacción de reproporciónación no es electroactivo en este intervalo de potenciales, su formación también explica la ausencia de cualquier señal anódica en el voltamperograma del sistema.

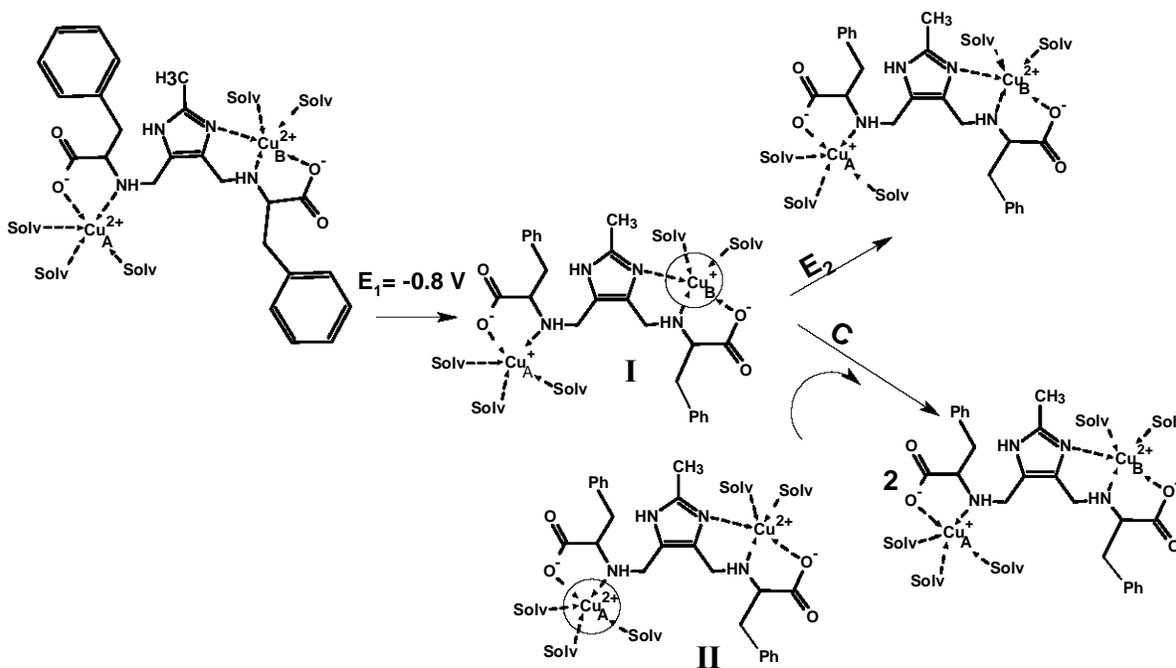


Figura 3.3.19 Mecanismo propuesto para la reacción de reproporciónación entre la especie  $\text{Cu}_A(\text{I})\text{LCu}_B(\text{I})$  **I** recién formada en el electrodo y el complejo oxidado  $\text{Cu}_A(\text{II})\text{LCu}_B(\text{II})$  **II** que difunde desde la disolución.

El comportamiento de la corriente en la zona **B**<sub>1</sub> es mucho más complicado ya que a tiempos muy cortos la corriente se mantiene momentáneamente para posteriormente caer. Lo anterior puede corroborarse en la curva de trabajo **(b)** de la figura 3.3.20, donde se observa una recuperación de la corriente que aumenta a tiempos cortos y después cae.

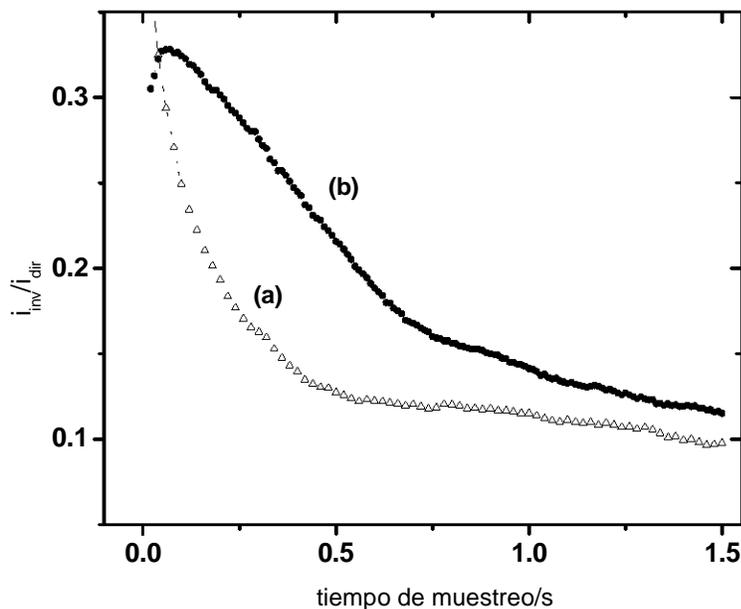


Figura 3.3.20 Corriente recuperada. Gráficas del cociente de la corriente de los procesos inverso y directo ( $i_{inv}/i_{dir}$ ) contra el tiempo de muestreo ( $t$ ) para las series **A** (a) y **B** (b).

Resulta interesante que la recuperación inicial de la especie alcanza un valor cercano a 0.3 que corresponde a lo reportado para sistemas estables [55]. En la misma figura se compara la recuperación obtenida en la serie **A** (a) para la misma zona de potencial, de lo cual puede concluirse que al menos a tiempos de muestreo cortos existe la especie coordinada de Cu(I) que se oxida de forma reversible. La corriente positiva que se registra en la zona **B**<sub>1</sub> de las gráficas de corriente muestreadas, puede asociarse a la oxidación simultánea de las especies coordinadas Cu<sub>A</sub>(I) y Cu<sub>B</sub>(I) que son estables durante un tiempo corto. Mientras que el aumento efímero de la corriente al inicio es consecuencia de la reacción de reproporción antes descrita cuyo producto Cu<sub>A</sub>(I)LCu<sub>B</sub>(II) sí es electroactivo en este intervalo.

La posterior caída de la corriente que se observa puede asociarse con la pérdida de la especie activa debido a la descoordinación del ion  $\text{Cu}_A(\text{I})$  antes descrita. Este mecanismo se presenta en la figura 3.3.21.

El comportamiento de la corriente en la zona  $\text{B}_2$  es análogo al de la zona  $\text{A}_2$  de la serie anterior con una recuperación de corriente cercana a 0.3 de acuerdo a lo reportado para sistemas estables.

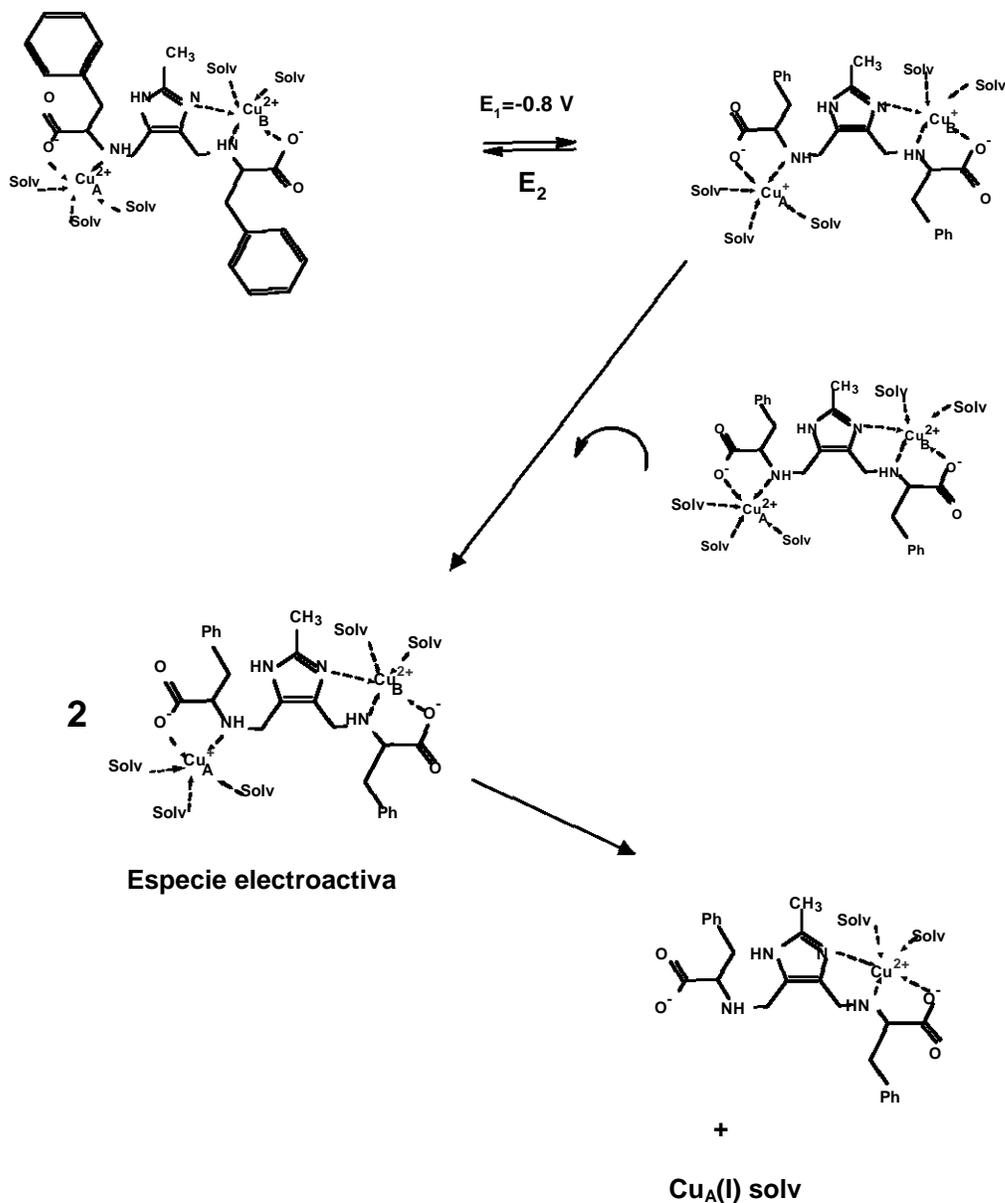


Figura 3.3.21 Mecanismo propuesto para la reacción de reproporción y la posterior descoordinación del  $\text{Cu}_A(\text{I})$ .

El estudio ampliado realizado con el complejo  $Cu_2fenmeim$  descrito permitió llegar a las siguientes conclusiones respecto al comportamiento químico y electroquímico de los complejos que constituyen el grupo de los abiertos:

- Los compuestos abiertos adquieren la estructura asimétrica  $Cu_A(II)LCu_B(II)$  cuando se disuelven en un medio de  $CH_3CN:H_2O$  aún cuando su estructura cristalina sea la simétrica con el puente imidazolato.
- No existe un acoplamiento entre los dos sitios metálicos que sea evidente en los voltamperogramas.
- Cada uno de los iones metálicos no equivalentes se reduce de forma prácticamente irreversible a un potencial distinto debido a las diferencias entre sus esferas de coordinación. Siendo el  $Cu_A$  el que se reduce al potencial más positivo.
- En todos los casos se presenta la formación de una especie de cobre no coordinada que se genera tras la descoordinación del  $Cu_A(I)$  que es estabilizado por el disolvente y cuya oxidación regenera a la especie coordinada.
- Los procesos catódicos  $Cu_A(II) \rightarrow Cu_A(I)$  y  $Cu_B(II) \rightarrow Cu_B(I)$  son seguidos por dos reacciones químicas acopladas: la descoordinación del  $Cu_A(I)$  y la reacción de reproporcionación entre  $Cu_A(II)_L_Cu_B(II)$  presente en el seno de la disolución y  $Cu_A(I)_L_Cu_B(I)$  formado durante la microelectrólisis.

### 3.3.1.3. Compuestos bimetálicos con ligantes cerrados

El análisis de los resultados antes descritos constituyó la base para abordar el comportamiento presentado por los complejos cerrados. A continuación se discuten las características de los voltamperogramas obtenidos no sin antes recordar que la estructura de estos ligantes sólo permite un arreglo posible para la especie bimetálica y que cada uno de los ligantes ofrece una esfera de coordinación distinta.

*Cu<sub>2</sub>dimeim* (dos sitios de coordinación equivalentes NNN)

El voltamperograma típico obtenido de una disolución de *Cu<sub>2</sub>dimeim* en la mezcla de trabajo se muestra en la figura 3.3.22. En él se observa una sola señal de reducción ( $I_c$ ) con potencial de pico ( $E_{pC}$ ) en -0.3 volts.

En contraste con los voltamperogramas de los complejos abiertos, tras invertir el sentido en dirección positiva, en éste no se distingue la señal IVa asignada a la oxidación de la especie solvatada. Lo anterior se aprecia mejor cuando se comparan en la misma gráfica el voltamperograma de este complejo con el de cualquiera de los abiertos (Fig. 3.3.23)

La forma de la única señal en este voltamperograma sugiere la reducción simultánea  $Cu(II) \rightarrow Cu(I)$  de los dos iones de cobre que se encuentran en sitios equivalentes.

El hecho de que en este caso, no haya formación de la especie *solvCu(I)*, se podría explicar con una mayor estabilidad del cobre coordinado debido al campo más fuerte que ofrecen los tres nitrógenos del ligante *dimeim*. A pesar de lo anterior la reducción simultánea de los dos sitios es irreversible.

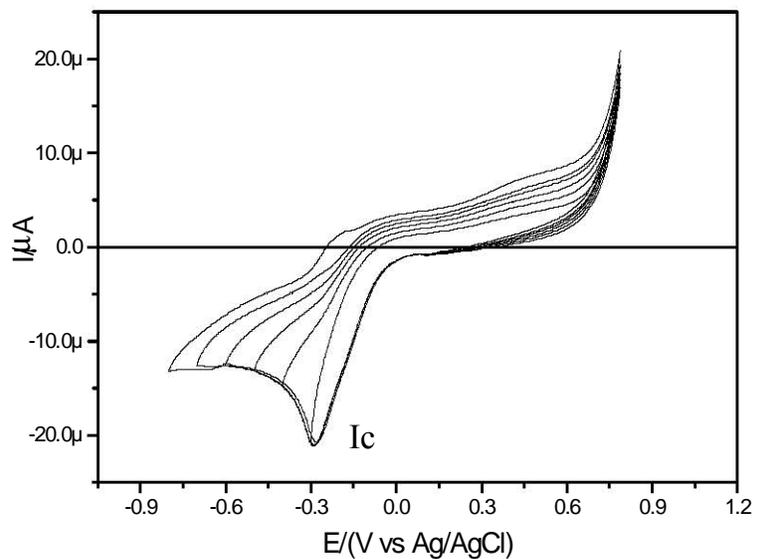


Figura 3.3.22 Voltamperogramas cíclicos obtenidos de una disolución del compuesto  $Cu_2dimeim$ .

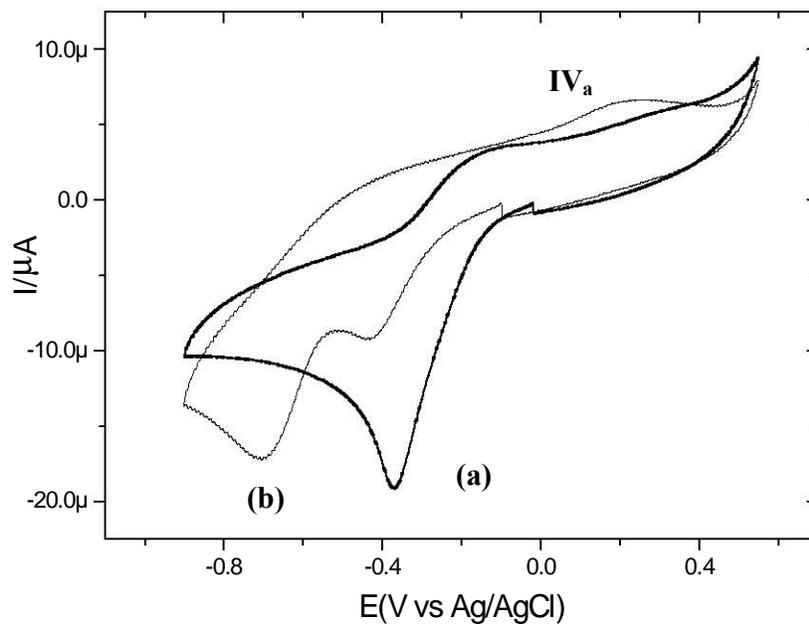


Figura 3.3.23 Comparativo de los voltamperogramas correspondientes a los complejos: (a)  $Cu_2dimeim$  y (b)  $Cu_2metmeim$ . En la figura destaca la presencia de la señal IVa únicamente en el voltamperograma de  $Cu_2metmeim$ .

*Cu<sub>2</sub>promeim* (dos sitios de coordinación equivalentes NN)

El voltamperograma típico obtenido para una disolución de *Cu<sub>2</sub>promeim* se muestra en la figura 3.3.24. Es importante mencionar que la intensidad de los picos que se observan en los voltamperogramas de este compuesto es menor que para los demás de la serie; ya que después de un tiempo de haber preparado la disolución el compuesto precipita. El voltamperograma obtenido presenta, de manera análoga al del compuesto con *dimeim*, solamente una señal de reducción ( $I_c$ ) con potencial de pico ( $E_{pC}$ ) en -0.2 volts.

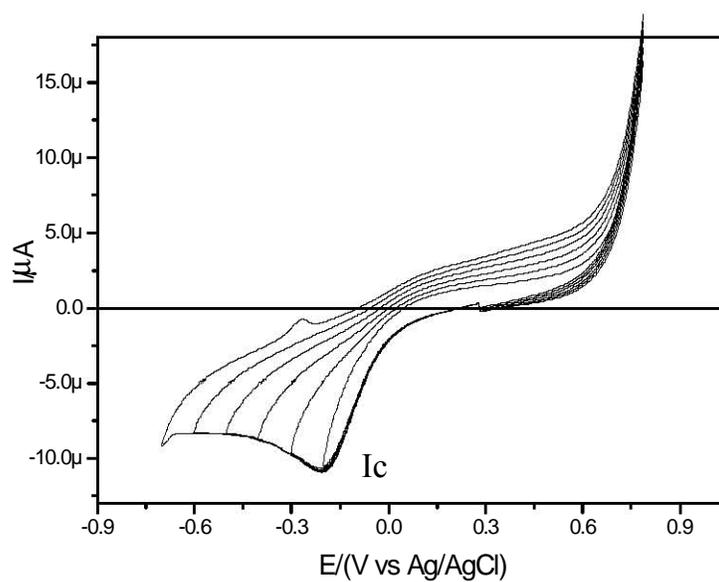


Figura 3.3.24 Voltamperogramas cíclicos obtenidos de una disolución del compuesto *Cu<sub>2</sub>promeim*.

Dicha señal que es más ancha y menos definida que la del *dimeim*, debe corresponde también a la reducción simultánea  $Cu(II) \rightarrow Cu(I)$  de los dos iones de cobre que se encuentran en sitios equivalentes. La insolubilidad del compuesto impide cualquier comparación con los demás por lo que no se le incluye en las discusiones posteriores.

$Cu_2glimeim$  (dos sitios de coordinación equivalentes NNO)

El voltamperograma típico obtenido de una disolución de  $Cu_2glimeim$  se muestra en la figura 3.3.25. Comparativamente con los anteriores el voltamperograma del complejo con  $glimeim$  presenta dos señales de reducción ( $I_c$ , y  $II_c$ ) con potenciales de pico ( $E_{pC}$ ) en -0.2 y -0.4 volts respectivamente.

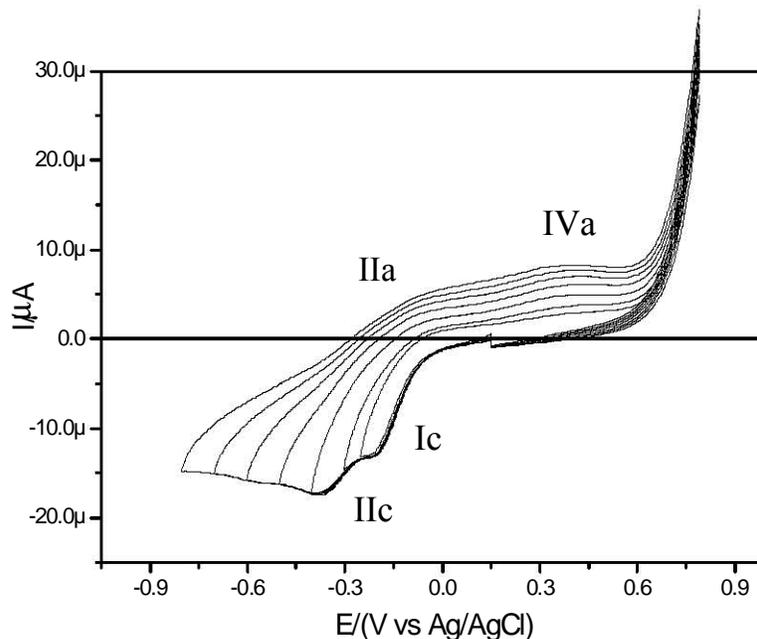


Figura 3.3.25 Voltamperogramas cíclicos obtenidos de una disolución del compuesto  $Cu_2glimeim$ .

Considerando que para los ligantes cerrados sólo se han obtenido especies bimetalicas con dos sitios de coordinación equivalentes y además, que la interacción entre los sitios de coordinación de este compuesto es conocida y ha sido reportada anteriormente [25]; la aparición de las dos señales se asigna a la reducción de los dos iones metálicos equivalentes que se encuentran acoplados antiferromagnéticamente. La aparente inconsistencia al relacionar la aparición de dos señales con la existencia de dos sitios diferentes en el caso de los sistemas abiertos y con dos sitios equivalentes acoplados en los cerrados, se justifica considerando que se trata de sistemas diferentes, esto coincide con lo reportado por Coulingh y Gagné [18, 23] quienes observan comportamientos diversos en sistemas semejantes.

Por otra parte en la zona de corriente anódica se observan: la señal IVa que coincide con la descrita para los complejos abiertos y una respuesta de corriente positiva muy pobre (IIa) en -0.1 volts que podría corresponder a la re-oxidación, en un proceso parcialmente reversible, de la especie coordinada. Dicha corriente es muy superior a la respuesta que se obtiene en la misma zona con el complejo  $Cu_2dimeim$  o con cualquiera de los abiertos (Fig. 3.3.26).

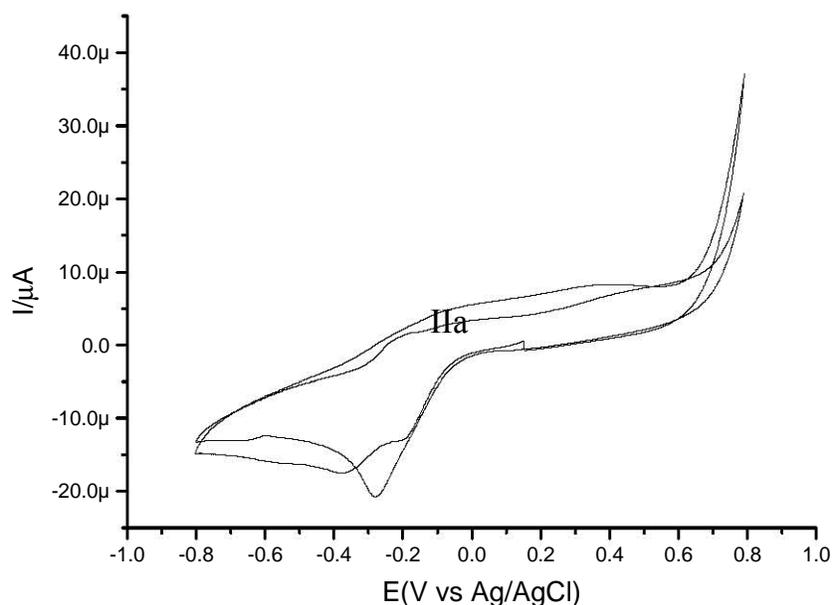


Figura 3.3.26 Comparativo de los voltamperogramas correspondientes a los complejos  $Cu_2glimeim$  y  $Cu_2dimeim$ .

Ahora, es importante destacar que aún cuando los sitios de coordinación sean muy parecidos, en general el potencial de pico de la primera reducción que se observa en los voltamperogramas (en sentido catódico) de los complejos cerrados es más positivo que cualquiera de los complejos abiertos (Tabla 3.3.3). Esto puede observarse al comparar todos los voltamperogramas en una sola gráfica como la que se muestra en la figura 3.3.27.

Tabla 3.3.4 Valores de los potenciales de pico catódico ( $E_{pc}$ ) y anódico ( $E_{pa}$ ) observados en los voltamperogramas de los complejos abiertos y cerrados.

	$E_{pc}$ Ic	$E_{pc}$ IIc	$E_{pa}$ IVa
<b><i>cerrados</i></b>			
Cu <sub>2</sub> dimeim	-0.3	NO	NO
Cu <sub>2</sub> promeim	-0.2	NO	NO
Cu <sub>2</sub> glimeim	-0.2	-0.4	0.48
<b><i>abiertos</i></b>			
Cu <sub>2</sub> alameim	-0.4	-0.7	0.48
Cu <sub>2</sub> metmeim	-0.35	-0.55	0.48
Cu <sub>2</sub> fenmeim	-0.36	-0.54	0.48
Cu <sub>2</sub> leumeim	-0.5		0.48

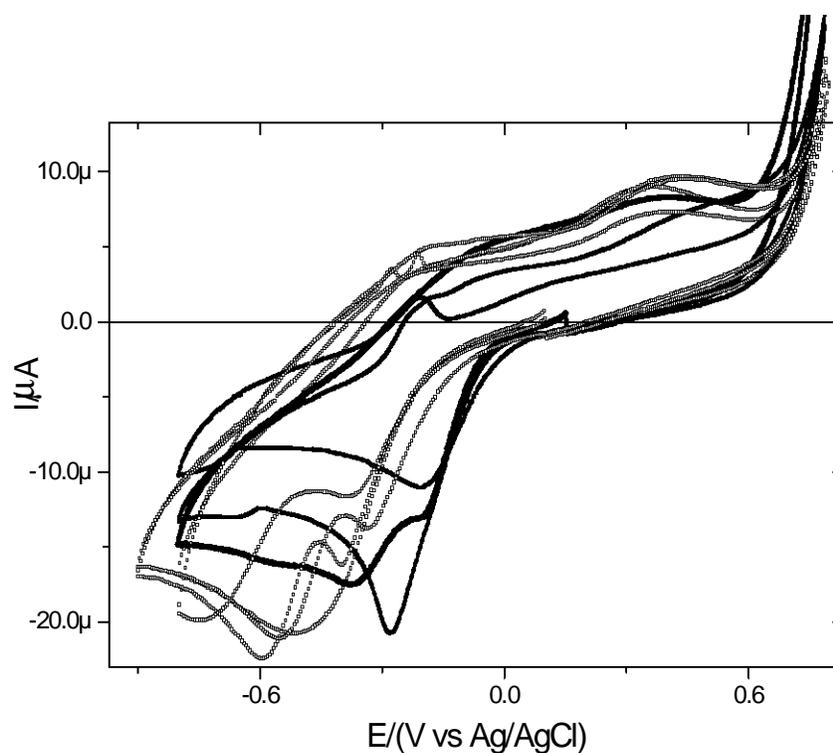
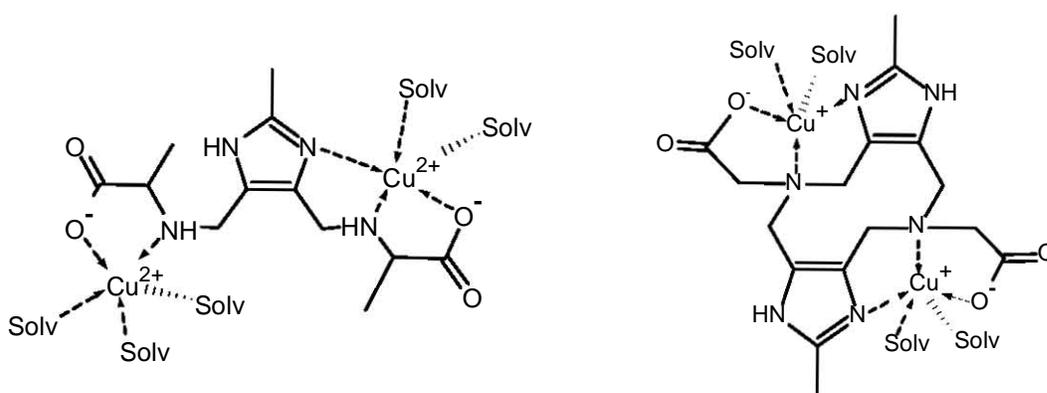


Figura 3.3.27 Comparativo de los voltamperogramas de todos los complejos abiertos (línea punteada) y cerrados (línea continua).

Un potencial de reducción Cu(II)/Cu(I) menos negativo para los complejos cerrados, evidencia una mayor facilidad para reducir a la especie bimetalica Cu(II)LCu(II). Lo anterior puede asociarse al acoplamiento entre los dos cobres, ya que en principio sería la única diferencia entre ambos sitios en los cerrados y el sitio B en los abiertos. Ya que cada uno de los complejos cerrados presenta un comportamiento electroquímico particular se eligió sólo uno para ampliar su estudio. Con el fin de hallar coincidencias entre este estudio ampliado y el de los abiertos, se eligió al *Cu<sub>2</sub>glimeim* ya que sus dos sitios son muy similares al Cu<sub>B</sub>(II) de los abiertos.



Así, se realizó la variación de la relación estequiométrica y el estudio cronoamperométrico correspondiente. Los resultados obtenidos se discuten a continuación.

### 3.3.1.3.1. Voltamperometría del complejo formado con una relación *Cu:glimeim 1:1*

De manera análoga a lo realizado con el complejo *Cu<sub>2</sub>fenmeim* se preparó *in situ* la mezcla del ligante *glimeim* con nitrato de cobre en una proporción 1:1 obteniéndose el voltamperograma que se muestra en la figura 3.3.28 (a). A esta disolución se agregaron 0.5, 1 y 1.25 equivalentes de cobre para tener respectivamente disoluciones 1:1.5, 1:2 y 1:2.25 *ligante:metal* cuyos voltamperogramas se muestran en dicha figura.

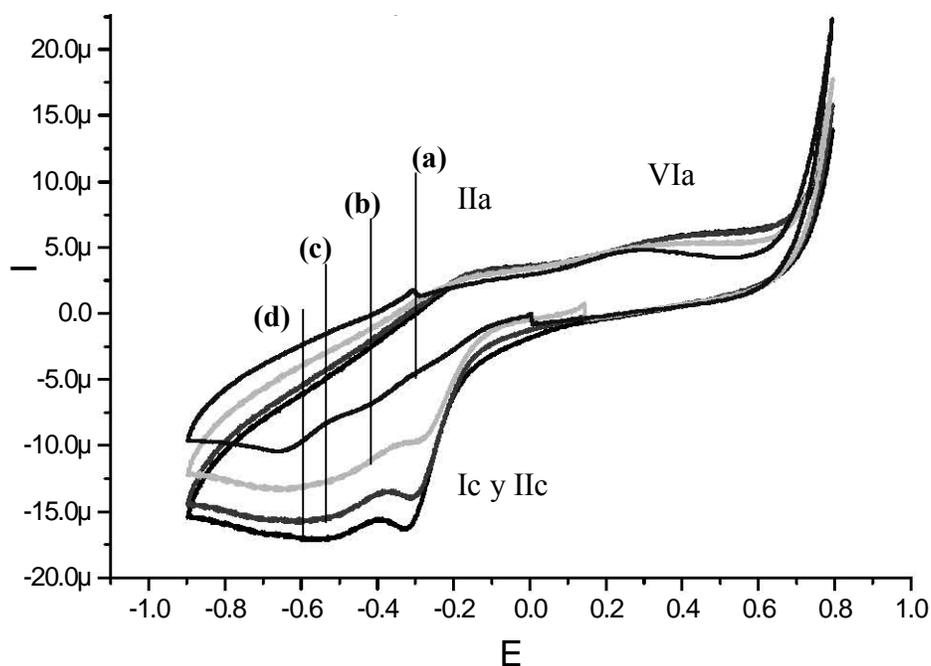


Figura 3.3.28 Voltamperograma cíclico (a) obtenido para una disolución con proporción *glimeim*:Cu 1:1 y los subsecuentes (b), (c) y (d) al adicionarle 0.5, 1 y 1.25 equivalentes de cobre respectivamente.

En este comparativo puede observarse que en todos los voltamperogramas están presentes las dos señales catódicas Ic y IIc que aparecen en el correspondiente a una relación 1:2 *ligante:metal*. Lo anterior corrobora la equivalencia que existe entre los dos sitios, pues independientemente de la relación que se utilice para formar la mezcla predomina la especie bimetálica.

En sentido anódico alrededor de -0.1 volts se observa una respuesta mínima de corriente positiva (IIa) que se asigna a la oxidación del cobre que permanece coordinado. Además, se observa en este sentido la señal de oxidación IVa descrita para los complejos abiertos.

### 3.3.1.3.1. Estudio cronoamperométrico *Cu<sub>2</sub>glimeim*

El estudio cronoamperométrico para este complejo se realizó de la misma forma que para el complejo *Cu<sub>2</sub>fenmeim*, es decir se hicieron dos series de cronoamperogramas con el primer potencial ( $E_1$ ) constante y el segundo ( $E_2$ ) variable.

En la serie  $A_{gli}$  el primer pulso aplicado ( $E_1$ ) se eligió de -0.37 volts, para reducir a uno de los dos iones cobre en un proceso limitado por difusión. Este potencial se mantuvo durante 1.5 segundos e inmediatamente después se aplicó el segundo pulso de regreso, diferente para cada cronoamperograma, con valores desde -0.3 hasta 0.8 volts. La serie  $B_{gli}$  se realizó de forma análoga, con un primer potencial constante  $E_1$  de -0.8 volts, para reducir a los dos cobres y un segundo pulso variable desde -0.75 hasta 0.8 volts para volverlos a oxidar.

Con los datos de los cronoamperogramas de cada serie se construyeron las gráficas de corriente muestreada correspondientes al segundo pulso. En dichas curvas se observa que la respuesta de la corriente anódica en ambas series es muy similar (Figuras 3.3.29 y 3.3.30): a tiempos cortos se detecta corriente positiva en potenciales suficientes ( $\approx$  -0.15 volts) para la oxidación de los dos iones Cu(I), sin embargo al pasar el tiempo esta respuesta se hace nula y el proceso se vuelve completamente irreversible. Es decir, a tiempos muy cortos de las series  $A_{gli}$  y  $B_{gli}$  sí es posible ver respectivamente, la oxidación de las especies Cu(I)\_L\_Cu(II) y Cu(I)\_L\_Cu(I); sin embargo, a tiempos más largos, la concentración de estas especies es muy baja. Este comportamiento, aunado con la aparición de la señal de oxidación  $IV_a$  descrita para los complejos abiertos evidencia que en este caso el ion cobre unido al anillo imidazólico también puede descoordinarse del ligante para formar la especie *solvCu(I)*.

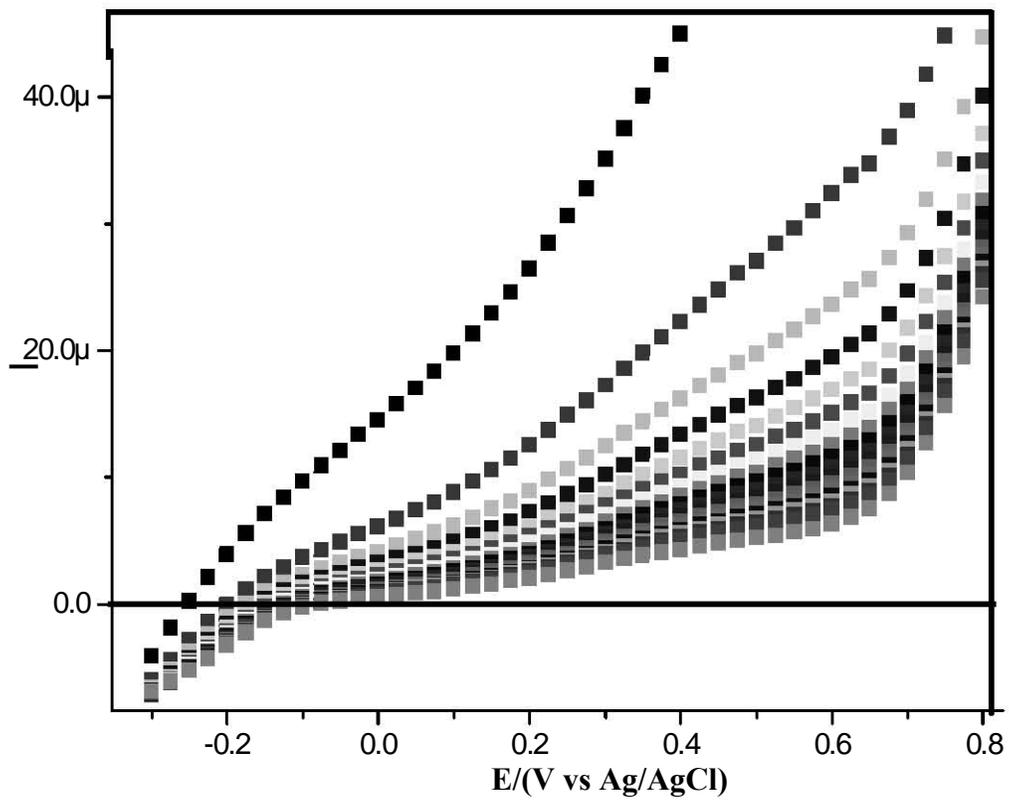


Figura 3.3.29 Gráfica de corriente muestreada construida para el segundo pulso a partir de los cronoamperogramas de la serie  $A_{gli}$ .

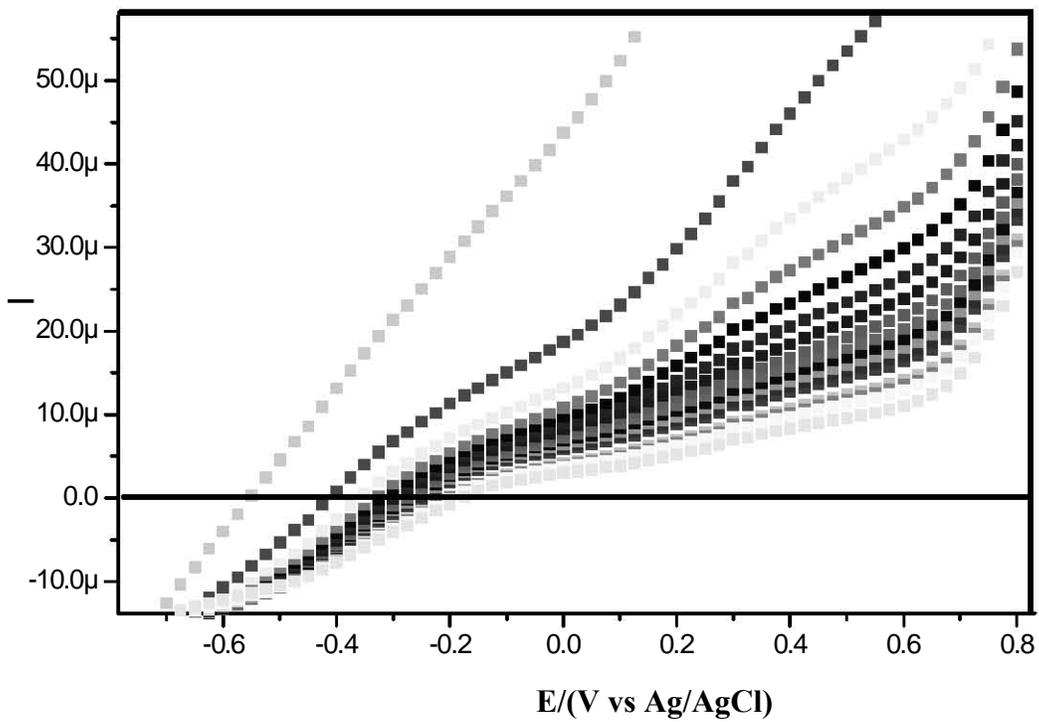


Figura 3.3.30 Gráfica de corriente muestreada construida para el segundo pulso a partir de los cronoamperogramas de la serie  $B_{gli}$ .

Al comparar las gráficas de corriente muestreada para  $Cu_2fenmeim$  y el  $Cu_2glimeim$  (Figura 3.3.31) obtenidas 0.15 (a) y 0.3 (b) segundos después de la aplicación del segundo pulso en las series  $A_{fen}$  y  $A_{gli}$  se observa que la corriente registrada para  $Cu_2fenmeim$  a potenciales entre -0.1 y 0.2 volts es menor en ambos tiempos a la registrada para el complejo cerrado  $Cu_2glimeim$ . Esto puede explicarse proponiendo que la concentración de la especie donde el ion metálico permanece coordinado es mayor para el  $Cu_2glimeim$  que para el abierto  $Cu_2fenmeim$ . Esto indica también, que el cerrado debe tener una vida media más larga y por lo tanto que es más estable. Comparativamente, la corriente registrada en ambos tiempos a potenciales mayores que 0.3 volts, donde se lleva a cabo la oxidación de la especie  $solvCu(I)$ , es mayor para el  $Cu_2fenmeim$ . Por lo que se propone que en este caso, tanto la descoordinación como la estabilización de la especie libre están favorecidas. Lo anterior indica que para el caso de los complejos abiertos además de las reacciones de reproporción y descoordinación del  $Cu_A(I)$ , la ruptura del enlace entre el sitio tridentado del ligante y el ion  $Cu_B(I)$  también puede estar contribuyendo en la irreversibilidad del proceso aunque con menor eficacia.

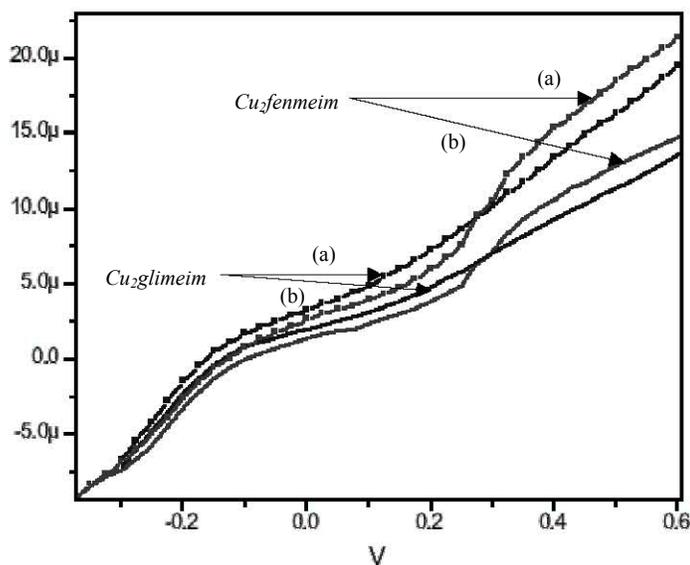


Figura 3.3.31 Comparativo de las gráficas de corriente muestreada de los complejos  $Cu_2fenmeim$  y el  $Cu_2glimeim$  correspondientes al segundo pulso de las series  $A_{fen}$  y  $A_{gli}$ .

Los resultados expuestos, indican que a pesar de la similitud que hay entre los sitios de coordinación del cobre en el *glimeim* y el del Cu<sub>B</sub> en los complejos abiertos, el comportamiento electroquímico es diferente. Así para los complejos cerrados podemos concluir lo siguiente:

- La especie bimetálica con dos sitios equivalentes en disolución, es la misma que en estado sólido.
- A pesar de la similitud entre el sitio del Cu<sub>B</sub> en los abiertos y los dos sitios de los cerrados, éstos presentan potenciales de reducción considerablemente más positivos que aquellos.
- La reducción de los dos iones de cobre en el complejo con *dimeim* se realiza de forma simultánea y sin acoplamiento aparente entre los dos sitios.
- No obstante la equivalencia de los dos sitios en el complejo con *glimeim* se distinguen dos señales de reducción. Esto podría explicarse con el acoplamiento antiferromagnético entre los dos iones de cobre.
- La lentitud del proceso redox completo del par Cu(II)/Cu(I) en el complejo *Cu<sub>2</sub>glimeim* está asociada con la descoordinación de sus iones metálicos. Este proceso conlleva a la formación de la especie de cobre libre *solvCu(I)* descrita para los complejos abiertos.

La irreversibilidad de la reducción simultánea de los cobres en *Cu<sub>2</sub>dimeim* debe estar determinada por factores diferentes a los que se identificaron en el caso de los complejos con los ligantes provenientes de aminoácidos (todos los abiertos y el *glimeim*). Sin embargo es posible proponer que la especie Cu(II)<sub>coord</sub> que se reduce tiene en su esfera de coordinación moléculas de agua mientras que la especie reducida que se trata de re-oxidar en el sentido anódico, ha modificado su entorno rodeándose de acetonitrilo. Esto debe estabilizar al sistema que probablemente se reoxida a un potencial más positivo que el límite anódico del voltamperograma y por lo tanto no se observa.

No se amplió el estudio de este compuesto ya que consideramos que la elucidación de su comportamiento sale del alcance de este trabajo y las características del sistema sólo se han utilizado comparativamente para corroborar las conclusiones expuestas.

### 3.4. Estudio comparativo de la actividad catalítica

#### Ligantes abiertos y cerrados

Al sintetizar y estudiar sistemas de bajo peso molecular que simulan los sitios activos de las enzimas, se pretende reproducir algunas de las propiedades estructurales, redox y/o de reactividad catalítica. Aunque se han encontrado algunas correlaciones generales entre la estructura y la reactividad en varios modelos, aún no se comprenden por completo los parámetros que determinan la gran habilidad y especificidad catalítica que presentan estos biocompuestos.

Ya que se han discutido las propiedades estructurales y electroquímicas de los complejos de interés en este trabajo, corresponde describir su habilidad catalítica en la reacción de oxidación del DTBC. La velocidad de la reacción de oxidación en presencia de cada uno de los complejos se determinó mediante el método de las velocidades iniciales, siguiendo la aparición de la DTBBQ en función del tiempo en los primeros instantes de la reacción. La pendiente de esta curva de avance corresponde a la velocidad inicial ( $v_0$ ). La ventaja que ofrece este método es que, durante las primeras fases del proceso, la cantidad de producto formado es muy pequeña y la reacción inversa puede considerarse insignificante, lo cual permite el uso de ecuaciones sencillas para determinar los parámetros cinéticos.

#### 3.4.1. Dependencia de la velocidad en la concentración del catalizador

La dependencia de la velocidad de la reacción ( $v_0$ ) con la concentración del catalizador se determinó manteniendo constante y en mayor proporción la concentración del sustrato ( $[DTBC]=5$  mM), mientras se variaba la del complejo desde 50 hasta 300  $\mu$ M. Bajo estas condiciones puede garantizarse que la formación de cualquier intermediario no altera la concentración del sustrato, permitiendo que en los cálculos, ésta pueda considerarse constante.

Para todos los compuestos, abiertos y cerrados se encontró una relación  $v_0$  vs  $[Cat]$  lineal (Fig. 3.4.1), lo cual indica que el orden de reacción respecto al catalizador es en todos los casos de pseudo-primer orden.

Al comparar las gráficas obtenidas para todos los complejos se observa que la velocidad de reacción con los cerrados es superior a la que se obtiene en presencia de los abiertos (Fig. 3.4.2).

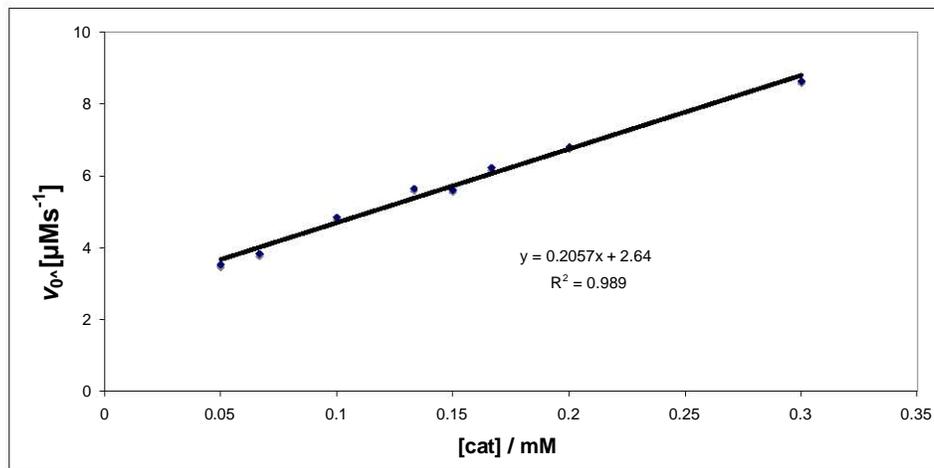
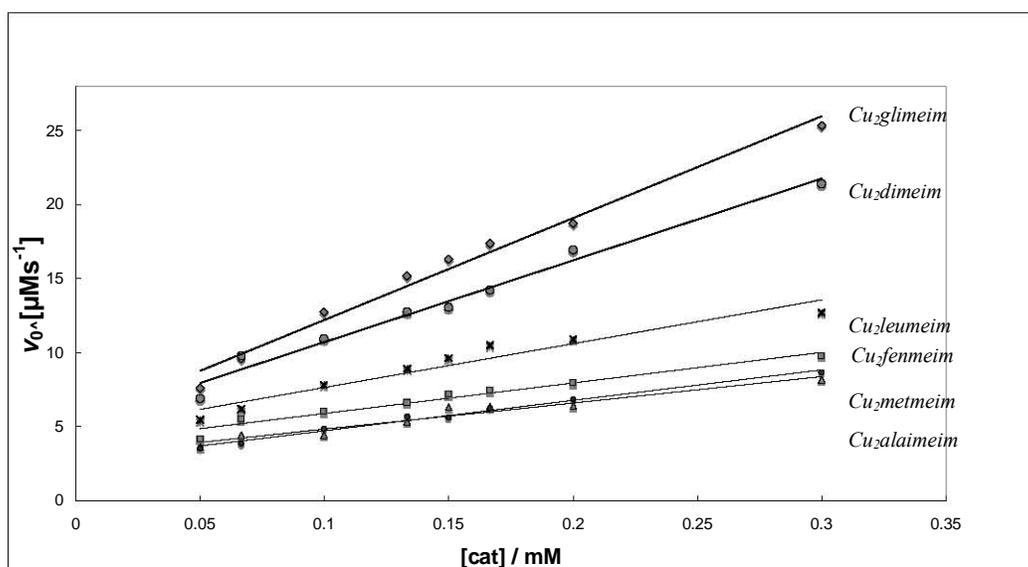


Figura 3.4.1 Variación de la velocidad inicial ( $v_0$ ) respecto a la concentración de catalizador. Curva típica obtenida en  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  a pH 7.5.

Figura 3.4.2 Comparativo de las gráficas de velocidad inicial ( $v_0$ ) contra concentración de catalizador de todos los complejos empleados en  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  a pH 7.5.



La linealidad encontrada además confirma que efectivamente se están midiendo velocidades iniciales y que el modelo de Michaelis-Menten es adecuado para el análisis cinético [56]. Este modelo considera que el proceso de catálisis se lleva a cabo mediante la formación del complejo catalizador-sustrato (CatS) que a su vez da lugar a la formación del producto (P) liberando al catalizador de acuerdo al siguiente equilibrio:



y se basa en la hipótesis del estado estacionario según la cual las velocidades de formación y descomposición del complejo CatS son iguales:

$$v_1 = v_2 + v_3$$

donde:

$$v_1 = k_1[\text{Cat}][\text{S}] ; v_2 = k_2[\text{CatS}] \text{ y } v_3 = k_3[\text{CatS}] \text{ siendo } k_3 \ll k_2$$

por lo que la concentración del complejo [CatS] puede considerarse constante a lo largo de la reacción. Bajo estos supuestos la velocidad de formación del producto puede representarse en términos de la concentración de sustrato con la expresión más conocida de la ecuación de Michaelis-Menten:

$$v_0 = \frac{v_{\text{máx}} \cdot [\text{S}]}{K_m + [\text{S}]}$$

donde  $K_m$ , la constante de Michaelis-Menten, corresponde a la relación de las constantes cinéticas:

$$K_m = (k_2 + k_3)/k_1$$

y  $v_{\max}$  es la velocidad que se alcanza cuando todo el catalizador se encuentra unido al sustrato:

$$v_{\max} = k_3[\text{Cat}_T]$$

La gráfica de la variación de velocidad frente a la concentración de sustrato, para las cinéticas que obedecen el modelo Michaelis-Menten, es una hipérbola debido a una dependencia de primer orden para concentraciones bajas y un comportamiento de saturación para concentraciones mayores, donde la velocidad es prácticamente independiente del sustrato presente. En la gráfica  $v_{\max}$  corresponde al valor máximo al que tiende la curva y  $K_m$  corresponde a la concentración del sustrato, a la cual la velocidad de reacción es la mitad de la velocidad máxima.

Entre las razones que hacen de la  $K_m$  un parámetro cinético importante está su interpretación como una medida inversa de la afinidad del catalizador por el sustrato. Lo anterior puede explicarse con base en la definición de  $K_m$  donde  $k_2$  y  $k_3$  corresponden a las reacciones de destrucción del complejo CatS mientras que  $k_1$  está relacionada con su formación. Así un valor de  $K_m$  grande implica un complejo CatS inestable mientras que un valor pequeño indica una gran afinidad entre el catalizador y el sustrato.

Por otra parte la determinación de  $v_{\max}$  permite calcular el valor de la constante de velocidad  $k_3$  conocida como número de recambio o constante catalítica ( $k_{cat}$ ). Este parámetro representa el máximo número de moles de producto que puede formarse por cada mol de catalizador disponible por segundo.

Dado que los parámetros catalíticos  $K_m$  y  $k_{cat}$  se refieren a características diferentes del proceso, el cociente entre ambos  $k_{cat}/K_m$  se ha definido como una medida de la eficiencia catalítica para cualquier par catalizador-sustrato.

Así la eficiencia catalítica  $k_{cat}/K_m$  constituye el parámetro adecuado para comparar la actividad de diferentes catalizadores frente a un mismo sustrato.

### 3.4.2. Dependencia de la velocidad en la concentración del sustrato

La dependencia de la velocidad con la concentración del sustrato  $[S_0]$  se determinó para todos los complejos de este trabajo en condiciones de saturación, variando la concentración del DTBC desde 6 mM hasta 20 mM mientras se mantuvo constante y en mucho menor proporción la concentración del catalizador a 0.3 mM. Las gráficas  $v_0$  vs  $[DTBC_0]$  obtenidas para todos los complejos son típicas del comportamiento Michaelis- Menten y al compararse (Fig. 3.4.3), cada gráfica ocupa la misma posición relativa que la gráfica  $v_0$  vs  $[Cat]$  correspondiente.

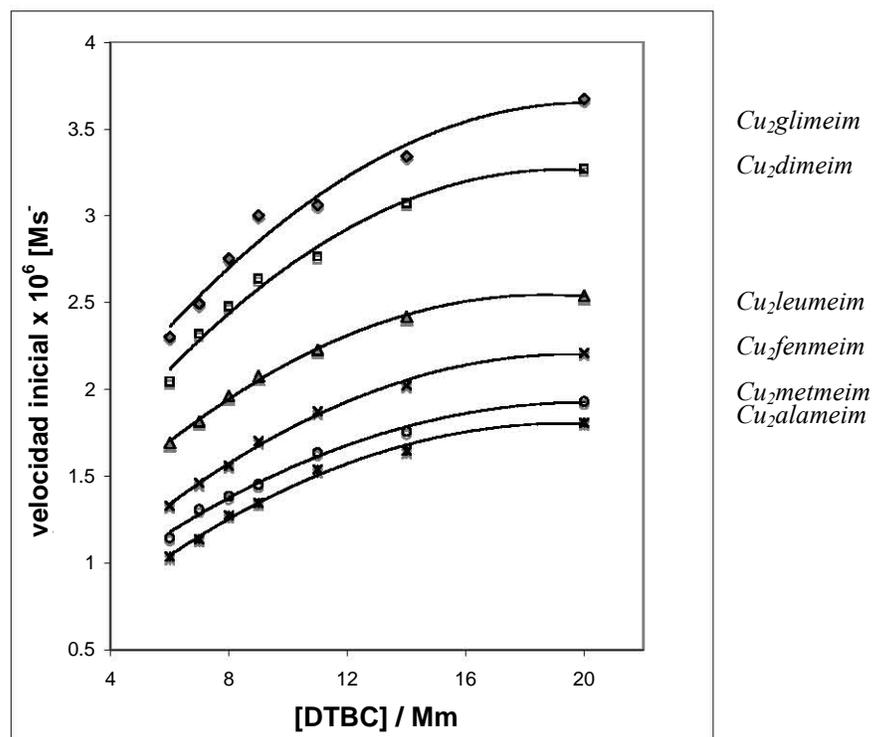


Figura 3.4.3 Comparativo de las gráficas de velocidad inicial ( $v_0$ ) contra concentración del sustrato para todos los complejos empleados.

La dependencia observada de la velocidad en la concentración del DTBC permite suponer que el sustrato DTBC debe participar en el paso que determina la velocidad de la reacción. Al respecto Monzani [52] agrupó en un esquema (Figura 3.4.4.) los mecanismos de la actividad catecolasa propuestos para algunos complejos modelo. En todos los ciclos que se presentan, el paso inicial corresponde a la coordinación del catecol al centro metálico. Este paso, que en general se considera rápido y que es seguido por una transferencia de dos electrones, produce un equivalente de la quinona y el complejo reducido. Para cerrar el ciclo, la vía (a) en dicho esquema, no implica ninguna dependencia en la concentración del DTBC en los pasos posteriores a la reducción del complejo. Mientras que, las vías (b) y (c) sí dependen del sustrato para cerrar el ciclo.

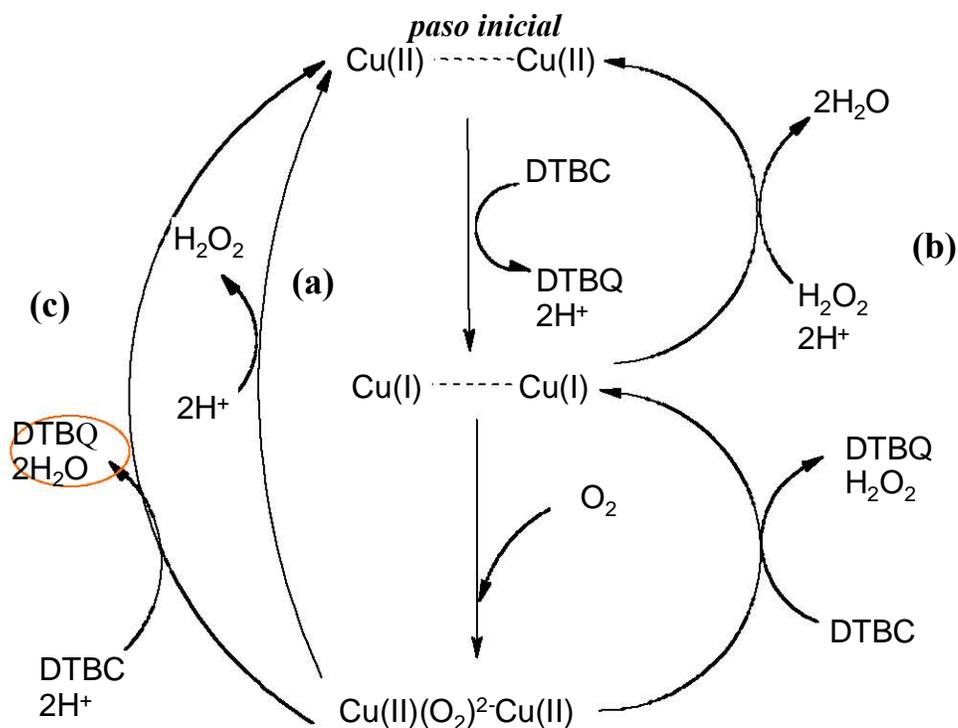
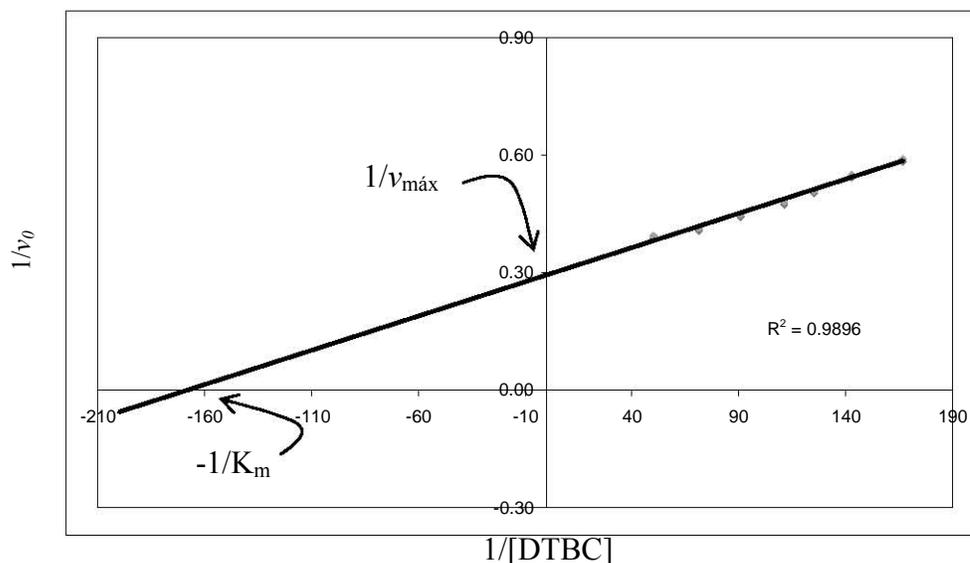


Figura 3.4.4 Diferentes mecanismos propuestos para la oxidación del DTBC agrupados en un solo esquema por Monzani.

La diferencia entre estas dos vías es que en la **(b)** se considera la formación de peróxido de hidrógeno mientras que la **(c)** es similar al ciclo propuesto para la tirosinasa. Esta diferencia a veces, puede no ser percibida ya que el peróxido se consume en la reoxidación de la especie reducida. De acuerdo con lo expuesto, el mecanismo de la actividad de los complejos analizados en este trabajo podría coincidir con alguna de la vía **(b)** o **(c)** por lo que un estudio más amplio en este sentido resultaría de gran interés para determinar un medio de trabajo más adecuado que potenciara la actividad de los compuestos.

La determinación gráfica de los valores de  $K_m$  y  $v_{max}$  se realizó mediante la representación doble recíproca ( $1/v_0$  frente a  $1/[S_0]$ ) conocida como representación Lineweaver Burk, esta representación es más sencilla ya que se obtiene una recta



en ella:

- La pendiente es igual a  $K_m/v_{max}$
- la abscisa en el origen es igual a  $-1/K_m$
- la ordenada en el origen es  $1/v_{max}$

A partir de las ecuaciones de las rectas obtenidas para cada complejo, se calcularon los valores que se resumen en la tabla 3.4.1.

Tabla 3.4.1 Valores de los parámetros cinéticos  $v_{\text{máx}}$ ,  $K_m$  y  $k_{\text{cat}}$  obtenidos para todos los complejos incluidos en el estudio. \*Valor de discrepancia del gráfico de Lineweaver Burk

Complejo	Tipo	$v_{\text{máx}}$ ( $\text{Ms}^{-1}$ )	$K_m$ (M)	$k_{\text{cat}}$ ( $\text{s}^{-1}$ )	$k_{\text{cat}}/K_m$ ( $\text{s}^{-1}\text{M}^{-1}$ )	R*
<i>glimeimCu<sub>2</sub></i>	cerrado	5.04E-06	6.94E-03	0.0168	2.421	0.99
<i>dimeimCu<sub>2</sub></i>	cerrado	4.47E-06	6.70E-03	0.0149	2.222	0.98
<i>leumeimCu<sub>2</sub></i>	abierto	3.39E-06	5.93E-03	0.0113	1.904	0.99
<i>fenmeimCu<sub>2</sub></i>	abierto	3.23E-06	8.46E-03	0.0107	1.275	0.99
<i>alameimCu<sub>2</sub></i>	abierto	2.87E-06	10.37E-03	0.0095	0.922	0.99
<i>metmeimCu<sub>2</sub></i>	abierto	2.81E-06	8.36E-03	0.0093	1.121	0.99

Interpretación de los valores de la constante de Michaelis-Menten  $K_m$

Al comparar gráficamente los valores de  $K_m$  (Fig.3.4.5) se observa que los dos complejos con ligantes cerrados presentan valores menores que la mayoría de los abiertos. Esto implica que en general, la estabilidad del intermediario complejo-DTBC es menor para los complejos abiertos que para los cerrados.

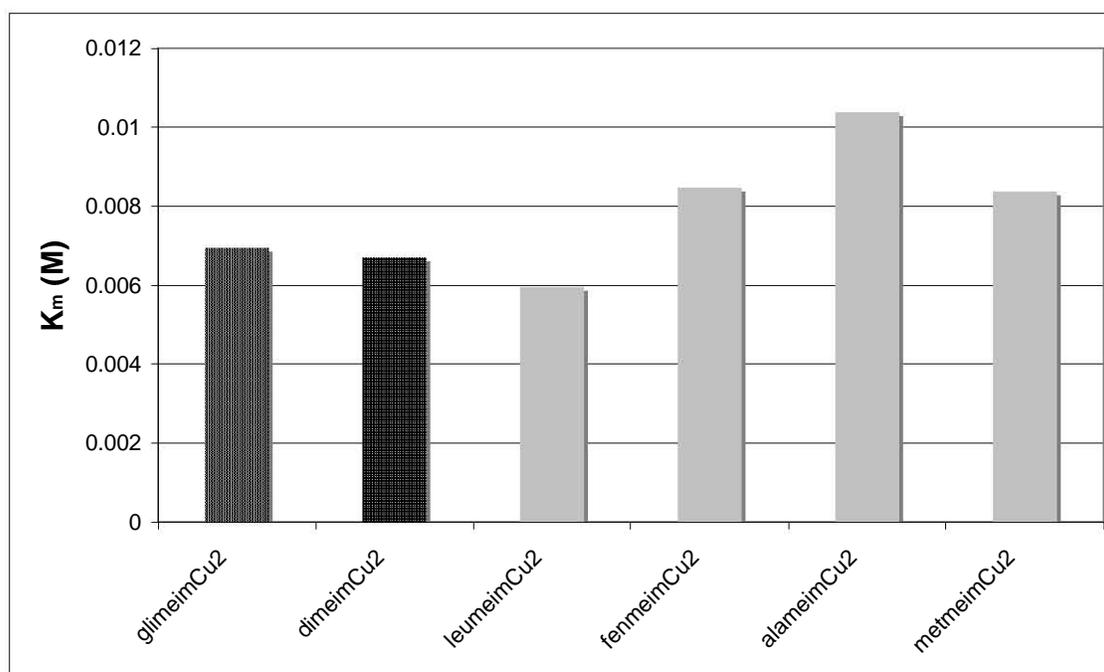


Figura 3.4.5 Comparación gráfica de los valores de  $K_m$  obtenidos para todos los complejos estudiados.

Lo anterior puede entenderse mediante las investigaciones de Sigel [57] respecto a la reacción entre un ligante donador de oxígeno y un ion coordinado a un quelato aceptor  $\pi$ , cuya constante de equilibrio presenta valores particularmente elevados. Sigel explica lo anterior haciendo uso del Principio de Ácidos y Bases Duros y Blandos, donde se considera al ion  $\text{Cu}^{2+}$  un ácido de naturaleza intermedia que en principio no presentaría gran tendencia a coordinarse con un donador de oxígeno (duro). Sin embargo, si entre el ácido y la base se forman enlaces  $\pi$ , con retrodonación de densidad electrónica del ion metálico hacia el quelato, la ocupación electrónica de los orbitales  $d$  del metal disminuye, causando un incremento en la dureza del ácido que favorece la entrada del donador de oxígeno.

Así la mayor afinidad por el sustrato que presentan los complejos cerrados puede atribuirse a que sus dos sitios metálicos incluyen en su esfera de coordinación al imidazol (aceptor  $\pi$ ), mientras que los complejos con ligantes abiertos sólo presentan esta característica en uno de sus dos sitios.

El comportamiento anómalo respecto a los demás complejos abiertos, del complejo con *leumeim* cuyo valor de  $K_m$  corresponde a un enlace más efectivo con el DTBC, puede relacionarse con varios factores:

- Un ambiente igualmente hidrofóbico que el de *Cu<sub>2</sub>fenmeim* pero con menor impedimento estérico, lo que podría favorecer la interacción con el sustrato.
- Un comportamiento electroquímico también anómalo, donde la presencia de una única señal catódica ancha puede atribuirse a una mayor facilidad para intercambiar sus ligantes exógenos. La posible relación entre esta facilidad para intercambiar ligantes exógenos y la interacción con el sustrato ya ha sido reportada por Mukherjee [58] para otros sistemas.

La discusión necesaria para relacionar los factores anteriores con la actividad del compuesto conduce incluso a la siguiente propuesta:

- De forma particular, el  $\text{Cu}_A$  del complejo con *leumeim* podría estar interactuando con el nitrógeno del imidazol.

Lo anterior explicaría la aparición de una sola señal ancha debida a la reducción simultánea de los dos iones acoplados. Así como una interacción con el sustrato favorecida por dos sitios metálicos unidos a un grupo imidazolato.

Interpretación de los valores de la constante catalítica  $k_{cat}$

Los valores de las constantes catalíticas  $k_{cat}$  obtenidos para todos los complejos se comparan en la gráfica de la figura 3.4.6. Ahí puede observarse que los complejos cerrados presentan una mayor eficiencia que los abiertos en la generación de producto a partir del complejo catalizador-sustrato. Lo anterior debe estar relacionado con el potencial redox de estos complejos, menos negativo que el de cualquiera de los abiertos, lo que implica que su reducción requiere menos energía.

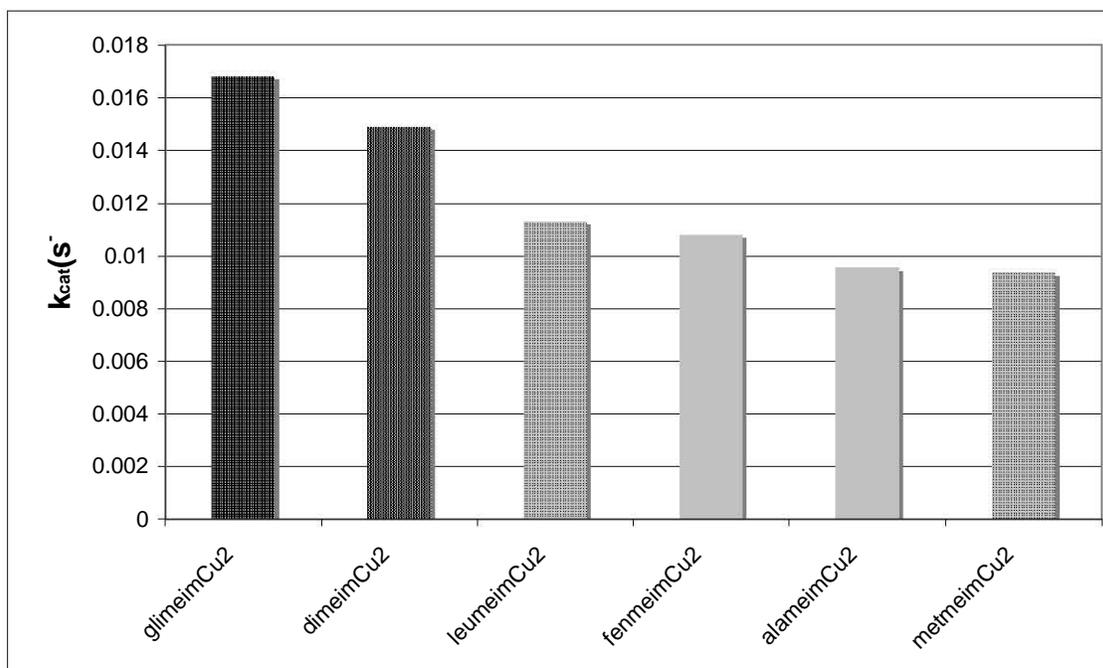


Figura 3.4.6 Comparación gráfica de los valores de  $k_{cat}$  obtenidos para todos los complejos estudiados.

El valor de la  $k_{cat}$  obtenida para *Cu<sub>2</sub>leumeim* es del mismo orden que el de los demás complejos abiertos (al igual que su potencial redox), lo cual fortalece la idea de que su superioridad como catalizador respecto a los demás abiertos, radica en su afinidad extraordinaria por el sustrato. Este hecho pone nuevamente de manifiesto lo sutiles que pueden ser los efectos estéricos y electroquímicos en las propiedades de estos sistemas.

#### Eficiencia catalítica $k_{cat}/K_m$

Los valores del cociente  $k_{cat}/K_m$  de los parámetros cinéticos obtenidos para nuestros complejos son en general, mucho menores que los reportados con otros sistemas por Monzani [52], pero comparables con los de Neves [15] como puede apreciarse en la tabla 3.4.2. En la misma tabla destaca el valor reportado por Olguin [27] (colaborador del grupo de investigación donde se realizó este trabajo) para el complejo *Cu<sub>2</sub>dimeim* cuando el estudio se realizó en un medio diferente.

Tabla 3.4.2 Algunos valores del cociente  $k_{cat}/K_m$  de compuestos con actividad catecolasa reportados en la literatura.

referencia	Medio de reacción	$k_{cat}/K_m$ ( $s^{-1}M^{-1}$ )
Neves, A. [6]	MeOH/H <sub>2</sub> O	desde 3.3 hasta 10
Neves, A. [15]	MeOH/H <sub>2</sub> O	6.7
Murherjee [58]	CH <sub>3</sub> CN	136
Monzani [52]	MeOH/H <sub>2</sub> O	Desde 60 hasta 140
Olguin [47]	<i>dimeimCu<sub>2</sub></i> en MeOH/H <sub>2</sub> O	32
Compuestos de este trabajo	CH <sub>3</sub> CN: H <sub>2</sub> O	Alrededor de 1 para los abiertos y 2 para los cerrados

En relación con la eficiencia catalítica  $k_{cat}/K_m$  relativa observada entre los complejos abiertos resulta oportuno mencionar al parámetro electroquímico  $\Delta E_{12}$  que como se mencionó, corresponde a la diferencia entre los potenciales de reducción observados para sitios bimetalicos ( $\Delta E_{12} = E_{(red1)} - E_{(red2)}$ ) [6]. Su valor se considera una medida inversa de la facilidad con la que el par metálico aceptará un par de electrones del sustrato en la reacción de oxidación. Esto es razonable si se piensa que entre más cercanos son los potenciales de reducción de los dos Cu(II) más fácil será la transferencia casi simultánea de dos electrones. La correlación encontrada entre  $k_{cat}/K_m$  y  $\Delta E_{12}$  para algunos sistemas [6] se ha interpretado como prueba para los mecanismos de reacción propuestos que involucran una actividad cooperativa de los dos cobres donde la estabilidad de la especie mixta resulta desfavorable al proceso. Así, al graficar  $\Delta E_{12}$  que se obtuvo a partir de los resultados electroquímicos, frente a la eficiencia catalítica ( $k_{cat}/K_m$ ) de los sistemas abiertos (Fig. 3.4.6), se observa una clara correlación lineal. Esto indica que la actividad catalítica de los sitios se lleva a cabo de forma cooperativa, independientemente de que se encuentren o no acoplados antiferromagnéticamente.

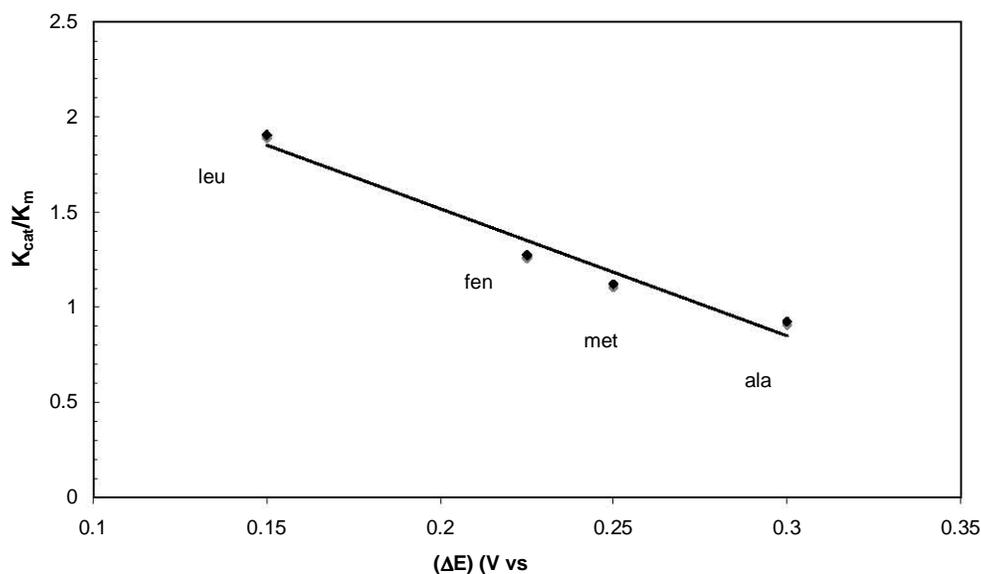


Figura 3.4.7 Correlación obtenida entre el parámetro electroquímico  $\Delta E_{12}$  y la eficiencia catalítica  $k_{cat}/K_m$  para el conjunto de los complejos abiertos.

### 3.4.3. Relación entre el comportamiento electroquímico y la actividad catalítica

Para poder establecer cualquier relación entre el comportamiento electroquímico y la actividad catalítica de los complejos estudiados en este trabajo resulta conveniente resumir brevemente las características encontradas para cada grupo.

#### Propiedades electroquímicas

El estudio realizado indicó un comportamiento electroquímico característico para cada uno de los grupos. En el caso de los abiertos, se identificaron dos sitios de coordinación no equivalentes que se reducen a potenciales diferentes y sin evidencia de cualquier acoplamiento entre ellos. Para los complejos cerrados se determinó un comportamiento diferente debido a la presencia de dos sitios equivalentes con potenciales de reducción considerablemente menos negativos que los abiertos. La reducción de los dos sitios equivalentes en los cerrados se realiza al mismo potencial o a potenciales muy cercanos como en el caso del *Cu<sub>2</sub>glimeim*. Para todos los complejos derivados de un aminoácido el proceso de reoxidación es lento debido a la formación de la especie *CuI<sub>solv</sub>* que se obtiene cuando el cobre de la especie reducida se descoordina y es estabilizado por moléculas del disolvente. Este proceso aparentemente es más eficiente para los complejos abiertos que para el de *glimeim*. Esto se propone con base en la respuesta de corriente anódica (IIa), que aunque mínima, se asigna a la oxidación del complejo reducido que sólo para este compuesto se alcanza a observar en la VC. La oxidación de dicha especie solvatada regenera a la especie coordinada.

#### Actividad catalítica

La dependencia de la velocidad de formación de la quinona en la concentración del sustrato para todos los complejos, evidenció la participación del DTBC en el paso determinante de la reacción de oxidación. La actividad catalítica presentada por los complejos cerrados fue superior a la de los abiertos debido a su gran afinidad por el

sustrato y a su mayor eficiencia al formar el producto. Para los complejos abiertos se encontró una correlación entre su eficiencia como catalizadores y la diferencia entre los potenciales de reducción de los dos cobres que se interpretó como una prueba sobre su actividad cooperativa.

De lo anterior pueden establecerse las siguientes coincidencias entre la estructura, el comportamiento electroquímico y la habilidad catalítica de los compuestos estudiados:

- Los compuestos con estructura cerrada presentan potenciales redox menos negativos y son mejores catalizadores. Esto implica que el proceso de transferencia electrónica del DTBC al complejo debe ser uno de los factores que determinan la velocidad de la reacción.
- La lentitud del proceso redox, debida a la formación de la especie solvatada que se oxida a un potencial mucho más positivo, debe complicar la recuperación del catalizador. Esto explica la baja eficiencia que en general presentan los sistemas estudiados comparativamente con otros.
- La correlación encontrada entre la eficiencia catalítica y la separación de los picos catódicos en los sistemas abiertos (*fenmeim*, *metmeim*, y *alameim*) indica que el aminoácido empleado en cada uno de los ligantes si tiene efecto sobre el comportamiento electroquímico y por ende en la habilidad catalítica de los sistemas.
- La coincidencia de una eficiencia catalítica superior y un comportamiento electroquímico anómalo en su grupo, para el compuesto *Cu<sub>2</sub>leumeim*, confirmó que existe una relación entre estas dos facetas. Además, que una modificación sutil en la estructura de las moléculas puede modificar de forma importante sus propiedades.

#### 4. Conclusiones globales y perspectivas

##### Conclusiones

Se realizó el estudio del comportamiento electroquímico de una serie de siete complejos bimetálicos de cobre. Dos de los siete complejos  $Cu_2fenmeim$  y  $Cu_2metmeim$ , con estructura abierta fueron sintetizados y caracterizados en este trabajo. También, se evaluó la actividad catalítica de todos los complejos en la reacción de oxidación del DTBC. El propósito de ambos estudios fue encontrar la relación entre ambos comportamientos. Los resultados obtenidos permiten concluir de forma general que:

La estructura de los compuestos estudiados si está relacionada con su comportamiento electroquímico y éste a su vez afecta la actividad catalítica de los sistemas.

Lo anterior se puntualiza en las siguientes conclusiones particulares:

- Los complejos abiertos y cerrados, a pesar de contar con sitios de coordinación similares, muestran un comportamiento electroquímico y una actividad catalítica que caracteriza a cada uno de los grupos. Los cerrados son los que presentan un comportamiento más promisorio como modelos de los sitios activos en las enzimas de cobre.
- Los resultados del estudio voltamperométrico indican que tres de los complejos abiertos adquieren, al disolverse, una estructura asimétrica tras romperse el puente imidazolato. En dicha estructura el ligante se coordina a uno de los iones metálicos de forma bidentada y al otro mediante tres átomos donadores, siendo uno de éstos el nitrógeno del imidazol. Dicha estructura puede estar relacionada con su bajo rendimiento como catalizadores, pues se sabe que el puente imidazolato mantiene a los dos iones en una posición adecuada y similar a la de los sitios activos de algunas enzimas.

- La reducción de cada uno de los iones metálicos  $\text{Cu}_A$  y  $\text{Cu}_B$  en los complejos abiertos se lleva a cabo a diferente potencial. Su valor señala que el proceso  $\text{Cu}_A(\text{II}) \rightarrow \text{Cu}_A(\text{I})$  requiere menos energía que el correspondiente para el  $\text{Cu}_B$ . Esta característica es también un factor que debe considerarse para explicar la baja actividad de estos sistemas ya que dicha diferencia entre los potenciales implica una cierta estabilidad para la especie mixta  $\text{Cu}(\text{II})\text{LCu}(\text{I})$ . Lo anterior no es deseable para un sistema modelo ya que un buen número de los mecanismos propuestos para la actividad de las enzimas, considera la transferencia simultánea de dos electrones.
- El estudio del comportamiento electroquímico de los complejos cerrados señala que éstos conservan su estructura bimetálica simétrica al disolverse.
- A pesar de la similitud entre el sitio de coordinación del  $\text{Cu}_B$  de los sistemas abiertos y los centros metálicos en los cerrados, éstos se reducen a un potencial más positivo que cualquiera de los dos cobres en los abiertos. Esto sugiere que existe alguna interconexión entre los iones metálicos de los cerrados que favorece su reducción. Se propone que dicha interconexión se debe a un acoplamiento antiferromagnético entre los dos metales.
- Los resultados indican que los sistemas cerrados tienen más coincidencias con los sitios de las enzimas de cobre que los abiertos: una estructura estable en disolución, un potencial redox menos negativo y un acoplamiento entre sus iones de cobre que no fue evidente en el estudio de los abiertos.

- Para todos los complejos abiertos se comprobó la formación de la especie *CuIsolv* que se forma tras la descoordinación del Cu(I). La generación de dicha especie no inhabilitaría en principio, la actividad catalítica de los complejos pues al oxidarse se recupera la especie coordinada. Sin embargo, este proceso sí puede retardar su acción disminuyendo así su eficiencia.
- Los estudios voltamperométrico y de cronoamperometría del sistema cerrado *Cu<sub>2</sub>glimeim* demostraron que al igual que los abiertos, la irreversibilidad de su reducción, está relacionada con la descoordinación del cobre. En este caso el proceso es menos eficiente por lo que dicha irreversibilidad es parcial, lo que favorece la eficiencia catalítica del complejo.
- La técnica de cronoamperometría permitió identificar otra reacción química acoplada al proceso catódico de los sistemas abiertos: la reproporciónación entre  $Cu_A(II)_L_Cu_B(II)$  presente en el seno de la disolución y  $Cu_A(I)_L_Cu_B(I)$  formado durante la electrólisis. La ocurrencia de dicha reacción no debe ser relevante en el proceso catalítico ya que se detectó a una concentración superior a la empleada en la catálisis.
- Los valores de los parámetros cinéticos  $K_m$ ,  $k_{cat}$  y  $k_{cat}/K_m$  permiten explicar la superioridad de los sistemas cerrados como catalizadores con base en una mayor afinidad por el sustrato y una liberación más rápida del producto comparativamente con los abiertos.

## Perspectivas

Con base en los resultados obtenidos, se tienen las siguientes sugerencias para la continuación del trabajo y el desarrollo de otros trabajos paralelos:

- Continuar la investigación enfocándose en los sistemas cerrados ya que sus características son más prometedoras como sistemas modelo.
- Realizar los estudios de actividad catalítica con sistemas mononucleares con sitios metálicos análogos a los de los compuestos dinucleares estudiados hasta el momento, que evidencien el efecto que tiene el acoplamiento de los metales en los sistemas bimetálicos.
- Trabajar en un medio que interactúe menos con los complejos como MeOH o EtOH (de hecho esta investigación se está desarrollando actualmente de forma paralela a este trabajo).
- Respecto al diseño de otros ligantes se recomienda agregar en su cadena terminal otro grupo derivado del imidazol que pudiera estabilizar la especie con el puente.

## 5. Parte experimental

A continuación se presenta una descripción de los materiales, los equipos y las metodologías utilizados en la parte experimental de este trabajo.

### Reactivos

Los reactivos, empleados tal y como fueron adquiridos, se presentan en la siguiente tabla:

Nombre	Pureza (%)	Marca
2-metilimidazol	99	Aldrich
Fenilalanina	99	Aldrich
Metionina	99	Aldrich
Solución de formaldehído	37.5	Mallinckrodt
Hidróxido de sodio	98.6	J.T.Baker
Hidróxido de potasio	85	Aldrich
Ácido acético glacial	98	J.T.Baker
Ácido clorhídrico	36.5-38	J.T.Baker
Acetonitrilo	99.8	Merck
Nitrato de cobre $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$	99	Sigma
Perclorato de cobre	98	Aldrich
3,5-di-ter-butil catecol	99	Aldrich
HEPES ácido (N-[2-hidroxietil]piperazina-N'[2-etanosulfónico])	99.5	Sigma

## **Equipos:**

### Espectroscopía de infrarrojo

Los espectros de infrarrojo se obtuvieron en un espectrofotómetro Perkin Elmer FTIR 1600 de la Unidad de Servicios y Apoyo a la Investigación (USAI) de la facultad de Química de la UNAM.

### Resonancia magnética nuclear

Los espectros de RMN se obtuvieron también en la USAI en un espectrómetro de resonancia magnética nuclear de alta resolución Varian Unity Inova operado a 300.2 MHz para  $H^1$  y a 75 MHz para  $^{13}C$ .

### Espectrometría de masas

El espectro de masas correspondiente al ligante *metmeim* se obtuvo por la técnica de FAB<sup>+</sup> con un espectrómetro de masas de alta resolución Jeol JMS-5X 102 A acoplado a un cromatógrafo de gases de la misma USAI.

### Susceptibilidad magnética

La susceptibilidad magnética de los compuestos se determinó por medio del método de Gouy, en una balanza magnética Johnson Matthey-Auto para muestra sólida.

### Análisis elementales

Los análisis elementales presentados se obtuvieron en un analizador elemental Fisions EA modelo 1108.

## Difracción de rayos X

La difracción de rayos X del cristal, se realizó en un equipo Broker P4 en la IC-UAP, de Puebla con los siguientes parámetros:

### Datos del cristal.

Fórmula empírica	$[(C_{24} H_{25} N_4 O_4)(OH_2)_4 Cu_2] NO_3 (OH_2)_{2.93}$
Color, hábito	Prisma verde
Tamaño del cristal	$0.60 \times 0.60 \times 0.60 \text{ mm}^3$
Sistema cristalino	cúbico
Grupo espacial	$P4_132$
Dimension de la celda	
Unitaria	$a = 21.530(2) \text{ \AA}$
Volumen	$9980.5(17) \text{ \AA}^3$
$Z, Z'$	12, 1/2
Peso molecular	747.42
Densidad (calc.)	$1.492 \text{ g.cm}^{-3}$
Coefficiente de Absorción	$1.348 \text{ mm}^{-1}$
$F(000)$	4647.6

### Recolección de los datos

Diffractómetro usado	Bruker P4
Sistema usado	XSCAnS, release 2.21
Radiación	Mo- $K_\alpha$ ( $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ )
Temperatura	296(1) K
Intervalo de $2\theta$	3.28 - 45.02 °
Reflexiones colectadas	9387
Reflexiones independientes	2189 ( $R_{int} = 15.16 \%$ )
Completez	99.8 % to $2\theta = 45.02^\circ$
Reflexiones con $F_o > 4 \sigma(F_o)$	1249
$\langle I / \sigma(I) \rangle$ (todos los datos)	11.46
Factores de transmisión	min = 0.449, max = 0.565

### Solución y Refinamiento

Parámetros refinados	174
Índices finales $R$	
$[I > 2 \sigma(I)]^{(a)}$	$R_1 = 10.14 \%$ , $wR_2 = 25.43 \%$
Índices finales $R$	
[todos los datos] $^{(a)}$	$R_1 = 13.19 \%$ , $wR_2 = 27.18 \%$
Certeza del ajuste en $F^2$ $^{(a)}$	$S = 1.430$
Relación datos-parámetros	2189 / 174
Solución y refinamiento	Sylvain Bernès, IC-UAP, Puebla.

$$(a) \quad R_{int} = \frac{\sum |F_o^2 - \langle F_o^2 \rangle|}{\sum F_o^2}, R_1 = \frac{\sum ||F_o| - |F_c||}{\sum |F_o|}, wR_2 = \sqrt{\frac{\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2}{\sum w(F_o^2)^2}}, S = \sqrt{\frac{\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2}{m - n}}$$

## Determinaciones electroquímicas

La voltamperometría cíclica así como la cronoamperometría de doble pulso se llevaron a cabo con un potencióstato/galvanostato AUTOLAB PGSTAT 100. La espectroelectroquímica se realizó con el mismo equipo, acoplado con un espectrofotómetro HP Agilent modelo 8453 de arreglo de diodos.

## Pruebas catalíticas.

La determinación de la actividad catalítica de los complejos se realizó con un espectrofotómetro HP Agilent modelo 8453 de arreglo de diodos en celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico.

## Metodología

### Síntesis del ligante *metmeim*

El ligante 4,5-bis(metionil-N-metil)-2-metilimidazol *metmeim*, se sintetizó mediante la reacción de Mannich como se describe a continuación. Una mezcla de 8.2 g (0.1 mol) de 2-metilimidazol y (0.2 mol) de metionina se disolvió en la mínima cantidad de agua. A la mezcla se agregaron, gota a gota, 9 g (0.3 mol) de formaldehído en una disolución al 37% y se ajustó el pH a 12.5 con hidróxido de potasio. Todo se mantuvo en agitación durante 24 horas a 55°C después de lo cual se obtuvo una disolución amarilla que se acidificó con ácido acético glacial hasta que se alcanzó un pH neutro. La disolución se evaporó en el rotavapor hasta que se obtuvo un polvo blanco cristalino.

### Síntesis del ligante *fenemeim*

El ligante 4,5-bis(fenilalanil-N-metil)-2-metilimidazol *fenmeim*, se sintetizó de forma análoga al *metmeim*. 8.2 g (0.1 mol) de 2-metilimidazol y 33 g (0.2 mol) de fenilalanina se mezclaron y disolvieron en una cantidad mínima de agua. A esta disolución se agregaron 9 g (0.3 mol) de formaldehído en una disolución al 37% y con hidróxido de potasio se ajustó el pH a 12.5. La mezcla se mantuvo en agitación por 24 horas a 55°C y posteriormente se acidificó con ácido acético. Antes de alcanzarse la neutralidad de la disolución ésta forma un gel amarillo que al lavarse con etanol se deshidrata y solidifica en forma de un polvo blanco cristalino.

### Síntesis de los complejos bimetálicos de cobre con *metmeim*

Se pesaron 4.0 g (0.01 mol) de *metmeim* y se depositaron en una mínima cantidad de agua. A esta mezcla se adicionaron lo equivalente a 0.02 mol de nitrato de cobre, disueltos en el mismo medio. La reacción, que favorece la disolución del ligante, se llevó a cabo de forma inmediata observándose un cambio de color a un azul mucho más intenso. La disolución se dejó en agitación hasta que precipitó un polvo azul que se lavó con agua fría.

Esta síntesis se realizó en diferentes medios: H<sub>2</sub>O, EtOH, MeOH y CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O al 50%, en este último fijando un pH de 7.5 en la parte acuosa. Asimismo se utilizó también perclorato de cobre obteniéndose en todos los casos compuestos análogos.

### Síntesis de los complejos bimetálicos de cobre con *fenmeim*

Se pesaron 4.7 g de *fenmeim* y se disolvieron en la mínima cantidad de una mezcla CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O al 50% con pH de 7.5 en la parte acuosa. A esta mezcla se agregaron 0.02 mol de nitrato de cobre disueltos también en el mismo medio. Después de agitar por un momento la mezcla se dejó a temperatura ambiente permitiendo que se evaporara parte del disolvente durante toda la noche. Después de este tiempo se observó la aparición de cristales de color azul intenso.

### Determinaciones electroquímicas

#### Voltamperometría cíclica

Todos los experimentos de voltamperometría cíclica se realizaron en una celda convencional de tres electrodos:

- Un electrodo de Ag/AgCl como referencia.
- Un alambre de platino enrollado dentro de un compartimiento separado que se puso en contacto con la disolución a través de una punta Vicor como electrodo auxiliar.
- Un electrodo de carbón vítreo con un área superficial de 0.071 cm<sup>2</sup> como electrodo de trabajo.

Los voltamperogramas se obtuvieron en un intervalo de potencial desde 1.4 hasta -1.0 volts respecto al de Ag/AgCl a una velocidad de 100 mV/s y se iniciaron desde el potencial de corriente nula ( $E_{i=0}$ ). Antes de trabajar con los complejos se realizó un estudio del medio para determinar el dominio de electroactividad, y verificar que no existieran señales que interfirieran. Para cada compuesto se obtuvieron varios voltamperogramas variando el potencial de inversión ( $E_{\lambda}$ ) con el fin de facilitar la asignación de las señales. Las disoluciones de los complejos se prepararon *in situ* a una concentración  $1 \times 10^{-3}$  M mezclando las cantidades necesarias de ligante y nitrato de cobre en una mezcla  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  al 50% con pH de 7.5. El HEPES utilizado para regular el pH sirvió también como electrolito soporte en todos los experimentos.

La presencia de oxígeno en las disoluciones se evitó haciendo pasar una corriente de nitrógeno, misma que se mantuvo sobre la celda durante el transcurso de cada procedimiento.

#### Cronoamperometría

Los estudios cronoamperométricos se realizaron en condiciones análogas a las de la voltamperometría. Se hicieron varios experimentos de doble pulso manteniendo primero el sistema a un potencial constante suficientemente negativo para reducir al ion de cobre elegido y posteriormente aplicando un segundo pulso más positivo que se variaba en cada experimento para reoxidarlo. Cada pulso se mantuvo durante 1.5 s. Los resultados obtenidos se utilizaron para construir las curvas de corriente muestreada que se describen en la sección de resultados.

#### Espectroelectroquímica

La espectroelectroquímica se realizó con un electrodo ópticamente transparente de capa delgada (optically transparent thin layer electrode OTTLE) dentro de una celda de cuarzo de 3mm de ancho con un paso óptico de 10 mm. Los electrodos de referencia y auxiliar fueron los mismos que se usaron en la VC. El sistema OTTLE fue adaptado con una malla de alambre de platino. Una vez instalado el sistema se obtuvo un espectro UV-vis entre 200 y 1000 nm cada 30 s mientras se aplicaba un

potencial constante. Durante este experimento se aplicaron dos pulsos consecutivos de -0.2 y -0.6 volts. El proceso completo se llevó a cabo en tres horas y se obtuvo un voltamperograma antes y después de la electrólisis.

#### Determinación de la actividad catalítica

La actividad catalítica de cada uno de los complejos se determinó midiendo la concentración de la 3,5-di-*terbutil*-o-benzoquinona que se generaba durante la oxidación del 3,5-di-*terbutil*-catecol. El seguimiento se realizó en una celda con paso óptico de 1 cm en un espectrofotómetro Agilent de arreglo de diodos. La temperatura se mantuvo constante durante las determinaciones a 20 °C. La conversión de las unidades de velocidad  $\Delta A/s$  a M/s se realizó usando  $\epsilon = 1300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  para la DTBQ en el medio de trabajo.

El efecto de la concentración del catalizador sobre la velocidad de la reacción se determinó para cada uno de los complejos de interés manteniendo la concentración del sustrato constante y en mayor proporción. Para ello, se mezclaron primero, 1  $\text{cm}^3$  del buffer HEPES acuoso 0.3 M a pH=7.5 con 1  $\text{cm}^3$  de la disolución del complejo correspondiente disuelto en la mezcla  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  sin HEPES y se agregó 1  $\text{cm}^3$  de catecol 15 mM disuelto en  $\text{CH}_3\text{CN}$  justo antes de iniciar cada experimento. La concentración final (en la celda) de cada uno de los reactivos se presenta en la siguiente tabla.

Concentración del catalizador en la celda ( $\mu\text{M}$ )	Concentración del sustrato (3,5-di- <i>terbutil</i> -catecol) en celda (mM)	Concentración del buffer HEPES en celda (M)	Relación catalizador/sustrato
50	5	0.1	0.0100
66	5	0.1	0.0132
100	5	0.1	0.0200
133	5	0.1	0.0266
150	5	0.1	0.0300
166	5	0.1	0.0332
200	5	0.1	0.0400
300	5	0.1	0.06

El efecto de la concentración de sustrato en la actividad catalítica se determinó también para cada uno de los complejos manteniendo ahora constante la concentración de cada complejo. Las disoluciones se prepararon de la misma forma que en el experimento anterior y las concentraciones de cada reactivo se presentan en la siguiente tabla.

Concentración del catalizador en la celda ( $\mu\text{M}$ )	Concentración del sustrato (3,5-di- <i>terbutil</i> -catecol) en celda (mM)	Concentración del buffer HEPES en celda (M)	Relación catalizador/sustrato
300	6	0.1	0.05
300	7	0.1	0.042
300	8	0.1	0.037
300	9	0.1	0.033
300	11	0.1	0.027
300	14	0.1	0.0214
300	20	0.1	0.015

## Abreviaturas

NADPH	Fosfato del dinucleótido reducido de nicotinamida-adenina
BESOD	Superoxido dismutasa de eritrocito de bovino
V	Voltios
RPE	Resonancia paramagnética electrónica
RMN	Resonancia magnética nuclear
ABDB	Ácidos y bases duros y blandos
IR	Infrarroja
EM	Espectroscopia de masas
AE	Análisis elemental
COSY	Siglas en inglés de espectroscopia de correlación de desplazamiento químico homonuclear
HETCOR	Siglas en inglés de espectroscopia de correlación de desplazamiento químico heteronuclear
FAB	Siglas en inglés para bombardeo por átomos rápidos
UV	Ultra violeta
MB	Magnetones de Bohr
TCLM	Transferencia de carga metal-ligante
MeCN	Acetonitrilo
E°	Potencial estándar de electrodo

$E_{-\lambda}$	Potencial de inversión
VC	Voltamperometría cíclica
$I_c$	Primera señal catódica
$I_a$	Primera señal anódica
$E_{pc}$	Potencial de pico catódico
$E_{pa}$	Potencial de pico anódico
DTBC	3,5-di- <i>ter</i> -butil catecol
DTBBQ	3,5-di- <i>ter</i> -butil benzoquinona
$v_0$	Velocidad inicial
Cat	Catalizador
$K_m$	Constante de Michaelis-Menten
$k_{cat}$	Número de recambio o constante catalítica

## Índice de figuras

### 1.1. El cobre en los sistemas vivos

1.1.1 Representación de la estructura tridimensional del sitio activo en la catecol oxidasa.	1
1.1.2 Ciclo catalítico de la oxidación de o-difenoles a o-quinonas por la tirosinasa propuesto por Solomon y sus colaboradores.	4
1.1.3 Representación de la esfera de coordinación del cobre en el sitio activo de la proteína “azul de cobre” plastocianina.	6
1.1.4 Estructura del centro monometálico en la enzima “no azul” de cobre galactosa oxidasa.	7
1.1.5 La hemocianina es un ejemplo de las enzimas tipo III de cobre cuyo sitio activo incluye dos centros metálicos puenteados.	8

### 1.2. Modelos sintéticos de los sitios activos de las enzimas de cobre

1.2.1 La estructura cristalina de la superóxido dismutasa contiene en su sitio activo, un átomo de cobre (II) y uno de zinc (II) unidos por un puente imidazolato.	12
1.2.2 Estructura de tres ligantes sintetizados por Reedijk y sus colaboradores para modelar a las enzimas tipo I.	14
1.2.3 Ejemplos de ligantes y complejos modelo que incluyen en su estructura anillos heteroaromáticos.	16
1.2.4 Reacción de oxidación del 3,5-di-ter-butil catecol (DTBC) a la 3,5-di-ter-butil benzoquinona (DTBBQ).	19
1.2.5 Reacción general de Mannich para la adición nucleofílica de un compuesto con un hidrógeno $\alpha$ ácido y una imina.	23
1.2.6 Mecanismo propuesto para la reacción de Mannich en medio básico en la síntesis de los ligantes abiertos y cerrados.	25
1.2.7 Reacción general para la síntesis de los ligantes abiertos y cerrados mediante el proceso de Mannich en medio básico.	26

### 3.1. Síntesis y caracterización de los ligantes

3.1.1 Reacción para la síntesis del ligante abierto <i>metmeim</i> en medio básico.	32
3.1.2 Espectro de IR del ligante <i>metmeim</i> .	34
3.1.3 Espectro de RMN <sup>1</sup> H del ligante <i>metmeim</i> en D <sub>2</sub> O.	36
3.1.4 Experimento COSY del ligante <i>metmeim</i> en D <sub>2</sub> O.	37
3.1.5 Espectro de RMN <sup>13</sup> C del ligante <i>metmeim</i> en D <sub>2</sub> O.	40

3.1.6 Experimento HETCOR del ligante <i>metmeim</i> .	40
3.1.7 Espectro de masas del compuesto <i>metmeim</i> .	42
3.1.8 Reacción para la síntesis del ligante abierto <i>fenmeim</i> en medio básico.	43
3.1.9 Espectro de RMN <sup>1</sup> H del ligante <i>fenmeim</i> en D <sub>2</sub> O.	46
3.1.10 Experimento COSY del ligante <i>fenmeim</i> en D <sub>2</sub> O.	47
3.1.11 Espectro de RMN <sup>13</sup> C del ligante <i>fenmeim</i> .	49
3.1.12 Experimento HETCOR con el ligante <i>fenmeim</i> .	49

### 3.2. Síntesis y caracterización de los complejos

3.2.1 Espectro de IR del complejo bimetálico [Cu <sub>2</sub> <i>metmeim</i> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ]ClO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O.	53
3.2.2 Espectro de ultravioleta-visible del compuesto [Cu <sub>2</sub> <i>metmeim</i> (H <sub>2</sub> O) <sub>4</sub> ]ClO <sub>4</sub> .	55
3.2.3 Espectro de IR del complejo [Cu <sub>2</sub> <i>fenmeim</i> (H <sub>2</sub> O) <sub>4</sub> ]NO <sub>3</sub> ·4H <sub>2</sub> O.	56
3.2.4 Espectro de IR del complejo [Cu <sub>2</sub> <i>fenmeim</i> (H <sub>2</sub> O) <sub>4</sub> ]ClO <sub>4</sub> .	57
3.2.5 Estructura de rayos X del compuesto [Cu <sub>2</sub> ( <i>fenmeim</i> )(H <sub>2</sub> O) <sub>4</sub> ]NO <sub>3</sub> .	59
3.2.6 Estructura de rayos X del compuesto [Cu <sub>2</sub> ( <i>glimeim</i> )(H <sub>2</sub> O) <sub>4</sub> ](NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·3H <sub>2</sub> O.	61
3.2.7 Estructura de rayos X del compuesto [Cu <sub>2</sub> ( <i>leumeim</i> )(H <sub>2</sub> O) <sub>3</sub> (NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> ·H <sub>2</sub> O.	61

### 3.3. Estudio electroquímico de los complejos

3.3.1 Voltamperogramas cíclicos obtenidos de una disolución del compuesto Cu <sub>2</sub> <i>alameim</i> .	67
3.3.2 Voltamperogramas cíclicos obtenidos de una disolución del compuesto. Cu <sub>2</sub> <i>metmeim</i> .	68
3.3.3 Voltamperogramas cíclicos obtenidos de una disolución del compuesto. Cu <sub>2</sub> <i>fenmeim</i> .	69
3.3.4 Voltamperogramas cíclicos obtenidos de una disolución del compuesto. Cu <sub>2</sub> <i>leumeim</i> .	70
3.3.5 Voltamperograma cíclico (a) obtenido para una disolución con proporción <i>fenmeim</i> :Cu 1:1 y los subsecuentes (b), (c) y (d) al adicionarle 0.5, 1 y 1.25 equivalentes de cobre.	73
3.3.6 Estructura propuesta para el complejo Cu <sub>2</sub> <i>fenmeim</i> donde se identifica cada uno de los iones Cu <sub>A</sub> y Cu <sub>B</sub> .	75
3.3.7 Voltamperogramas cíclicos obtenidos de una disolución del compuesto Cu <sub>2</sub> <i>fenmeim</i> con las asignaciones propuestas para cada una de las señales observadas.	75
3.3.8 Espectros electrónicos de una disolución de Cu <sub>2</sub> <i>fenmeim</i> obtenidos cuando se aplicaron: (a) un potencial para reducir al Cu <sub>A</sub> (II), que se mantuvo hasta que la absorbancia fue constante (b) y un segundo potencial (c) para reducir al Cu <sub>B</sub> (II) hasta que no se observó ninguna absorbancia en esa	77

región.	
3.3.9 Espectro electrónico obtenido de una disolución de $Cu_2fenmeim$ ( <b>a</b> ) y el correspondiente a la disolución del complejo monometálico preparado <i>in situ</i> ( <b>b</b> ).	77
3.3.10 Voltamperogramas cíclicos obtenidos para disoluciones acuosas de $Cu_2fenmeim$ con porcentajes de $CH_3CN$ : ( <b>a</b> ) 0%, ( <b>b</b> ) 30% y ( <b>c</b> ) 40%	79
3.3.11 Variación del potencial aplicado en un experimento de cronoamperometría de doble pulso.	82
3.3.12 Gráfica de la respuesta de corriente en una cronoamperometría de doble pulso.	82
3.3.13 Potenciales elegidos en el primer pulso de las series <b>A</b> (-0.4 volts) y <b>B</b> (-0.8 volts).	83
3.3.14 Cronoamperogramas de la serie B, los dieciséis tiempos de muestre (t) se eligieron desde 0.01 hasta 1.5 segundos.	84
3.3.15 Gráfica de corriente muestreada construida para el segundo pulso a partir de los cronoamperogramas de la serie <b>A</b> .	85
3.3.16 Corriente recuperada. Gráfica del cociente de la corriente de los procesos inverso y directo ( $i_{inv}/i_{dir}$ ) contra el tiempo de muestreo (t).	86
3.3.17 Mecanismo propuesto para la descoordinación del $Cu_A$ tras ser reducido en el primer pulso de la serie <b>A</b> .	87
3.3.18 Gráfica de corriente muestreada construida para el segundo pulso a partir de los cronoamperogramas de la serie <b>B</b> .	88
3.3.19 Mecanismo propuesto para la reacción de reproporciónación entre la especie $Cu_A(I)LCu_B(I)$ <b>I</b> recién formada en el electrodo y el complejo oxidado $Cu_A(II)LCu_B(II)$ <b>II</b> que difunde desde la disolución.	89
3.3.20 Corriente recuperada. Gráficas del cociente de la corriente de los procesos inverso y directo ( $i_{inv}/i_{dir}$ ) contra el tiempo de muestreo (t) para las series <b>A</b> (a) y <b>B</b> (b).	90
3.3.21 Mecanismo propuesto para la reacción de reproporciónación y la posterior descoordinación del $Cu_A(I)$ .	91
3.3.22 Voltamperogramas cíclicos obtenidos de una disolución del compuesto $Cu_2dimeim$ .	94
3.3.23 Comparativo de los voltamperogramas correspondientes a los complejos: ( <b>a</b> ) $Cu_2dimeim$ y ( <b>b</b> ) $Cu_2metmeim$ . En la figura destaca la presencia de la señal $IV_a$ unicamente en el voltamperograma de $Cu_2metmeim$ .	94
3.3.24 Voltamperogramas cíclicos obtenidos de una disolución del compuesto $Cu_2promeim$ .	95
3.3.25 Voltamperogramas cíclicos obtenidos de una disolución del compuesto $Cu_2glimeim$ .	96
3.3.26 Comparativo de los voltamperogramas correspondientes a los complejos $Cu_2dimeim$ ( <b>a</b> ) y $Cu_2glimeim$ ( <b>b</b> ). En la figura destaca la respuesta de corriente superior para $Cu_2glimeim$ alrededor de -0.1 volts.	97
3.3.27 Comparativo de los voltamperogramas de todos los complejos abiertos y cerrados.	98
3.3.28 Voltamperograma cíclico (a) obtenido para una disolución con proporción $glimeim:Cu$ 1:1 y los subsecuentes (b), (c) y (d) al adicionarle 0.5, 1 y 1.25 equivalentes de cobre.	100

3.3.29 Gráfica de corriente muestreada construida para el segundo pulso a partir de los cronoamperogramas de la serie <b>A<sub>gli</sub></b> .	102
3.3.30 Gráfica de corriente muestreada construida para el segundo pulso a partir de los cronoamperogramas de la serie <b>B<sub>gli</sub></b> .	102
3.3.31 Comparativo de las gráficas de corriente muestreada de los complejos <i>Cu<sub>2</sub>fenmeim</i> y el <i>Cu<sub>2</sub>glimeim</i> correspondientes al segundo pulso de las series <b>A<sub>fen</sub></b> y <b>A<sub>gli</sub></b> .	103

### 3.4. Estudio comparativo de la actividad catalítica

Figura 3.4.1 Gráfica de velocidad inicial ( $v_0$ ) contra concentración de catalizador	107
Figura 3.4.2 Comparativo de las gráficas de velocidad inicial ( $v_0$ ) contra concentración de catalizador de todos los complejos empleados.	107
Figura 3.4.3 Comparativo de las gráficas de velocidad inicial ( $v_0$ ) contra concentración del sustrato para todos los complejos empleados.	110
Figura 3.4.4 Diferentes mecanismos propuestos para la oxidación del DTBC agrupados en un solo esquema por Monzani.	111
Figura 3.4.5 Comparación gráfica de los valores de $K_m$ obtenidos para todos los complejos estudiados	113
Figura 3.4.6 Comparación gráfica de los valores de $k_{cat}$ obtenidos para todos los complejos estudiados	115
Figura 3.4.7 Correlación obtenida entre el parámetro electroquímico $\Delta E_{12}$ y la eficiencia catalítica $k_{cat}/K_m$ para el conjunto de los complejos abiertos.	117

## Índice de tablas

1.1.1 Pesos moleculares y potenciales redox de algunas proteínas de cobre.	10
3.1.1 Algunas señales destacadas del espectro de IR del ligante <i>metmeim</i> .	33
3.1.2 Señales observadas en el espectro de RMN <sup>1</sup> H del ligante <i>metmeim</i> .	35
3.1.3 Asignación de las señales del espectro de RMN <sup>1</sup> H del ligante <i>metmeim</i> .	39
3.1.4 Señales del espectro de RMN <sup>13</sup> C del ligante <i>metmeim</i> .	41
3.1.5 Análisis elemental del ligante <i>metmeim</i> .	42
3.1.6 Señales observadas en espectro de IR del ligante <i>fenmeim</i> .	44
3.1.7 Señales del espectro de RMN <sup>1</sup> H del ligante <i>fenmeim</i> .	45
3.1.8 Asignación de las señales del espectro de RMN <sup>1</sup> H del ligante <i>fenmeim</i> .	48
3.1.9 Señales observadas en el espectro de RMN <sup>13</sup> C del ligante <i>fenmeim</i> .	50
3.1.10 Análisis elemental del ligante <i>fenmeim</i> .	51
3.2.1 Análisis elemental de los complejos [Cu <sub>2</sub> <i>metmeim</i> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> NO <sub>3</sub> y [Cu <sub>2</sub> <i>metmeim</i> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> ClO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O.	54
3.2.2 Análisis elemental de los complejos [Cu <sub>2</sub> <i>fenmeim</i> (H <sub>2</sub> O) <sub>4</sub> ] <sub>2</sub> NO <sub>3</sub> ·4H <sub>2</sub> O y [Cu <sub>2</sub> <i>fenmeim</i> (H <sub>2</sub> O) <sub>4</sub> ] <sub>2</sub> ClO <sub>4</sub> .	58
3.2.3 Distancias de enlace del compuesto [Cu <sub>2</sub> ( <i>fenmeim</i> )(H <sub>2</sub> O) <sub>4</sub> ] <sub>2</sub> NO <sub>3</sub>	59
3.2.4 Ángulos de enlace del compuesto [Cu <sub>2</sub> ( <i>fenmeim</i> )(H <sub>2</sub> O) <sub>4</sub> ] <sub>2</sub> NO <sub>3</sub> .	60
3.3.1 Características estructurales de los ligantes abiertos.	63
3.3.2 Características estructurales de los ligantes cerrados.	65
3.3.3 Potenciales de pico catódicos y anódicos de los complejos bimetálicos con los ligantes abiertos.	70
3.3.4 Potenciales de pico catódicos y anódicos de los complejos bimetálicos con los ligantes abiertos y cerrados.	98
3.4.1 Valores de los parámetros cinéticos $v_{\text{máx}}$ , $K_m$ y $k_{\text{cat}}$ obtenidos para todos los complejos incluidos en el estudio.	113
3.4.2 Algunos valores del cociente $k_{\text{cat}}/K_m$ de compuestos con actividad catecolasa reportados en la literatura.	116

## Referencias

1. Fenton, D.E., “*Biocoordination Chemistry*”, Oxford Chemistry Primers, **1995**, 96 pp.
2. Fontecave, M.; Pierre, J.L.; *Coord. Chem. Rev.*, **1998**, 170, 125.
3. Ochiai, E-I. *J.Chem. Educ.* **1986**, 63, 942.
4. Gampp, H. y Zuberbühler, A.D., en “*Metal ions in Biological Systems*”, A. Siegel y H. Siegel (Eds.), Marcell Dekker, Nueva York, EUA, **1996**, 37, 157.
5. Solomon, E.I.; Sundaraman, U.M.; Mackonkin, T.E., *Chem.Rev.* **1996**, 96, 2563.
6. Neves, A.; Rossi, L. M.; Bortoluzzi, A.J.; Szpoganicz, B.; Wiezbicki, C.; Schwingel, E., *Inorg. Chem.*, **2002**, 41, 1788.
- 6(a) Bott, A., *Current Separation*, **1999**, 18, 47.
7. Cabral, J.O. en “*Molecular Electrochemistry of Inorganic, Bioinorganic and Organometallic Compounds*”, Pombeiro, A.J.L. y McCleverty, J.A. (Eds.), NATO ASI Series, Kluwer, Holanda, **1993**, 667p.
8. Li H.; Webb S.P.; Ivanic J.; Jensen J.H., *J Am Chem Soc.* **2004**, 126, 8010.
9. Armstrong, F.A.; Hill, H.A.O.; Walton, N.J., *Acc. Chem. Res.*, **1988**, 21, 407.
10. Armstrong, F.A. en “*Bioinorganic Chemistry, Structure and Bonding*”, SpringerVerlag, Berlin **1990**, 72, 137–236.
11. Huheey, J.E.; Keiter, E.A. Keiter, R.L., “*Inorganic Chemistry. Principles of Structure and Reactivity*” 4<sup>a</sup> ed., HarperCollins, Nueva York, EUA, **1993**.
12. Gerdemann, C.; Eicken, C.; Krebs, B., *Acc.Chem.Res.* **2002**, 35, 183.
13. Birker, P.J.M.W.L.; Helder, J.; Henkel, G.; Krebs, B.; Reedijk, J., *Inorg. Chem.*, **1982**, 21, 357.
14. Schilstra, M.J.; Birker, P.J.W.L.; Verschoor, G.C.; Reedijk, J., *Inorg. Chem.*, **1982**, 21, 2637.
15. Neves, A.; Rossi, L.M.; Bortoluzzi, A.J.; Mangrich, A.S.; Haase, W.; Werner, R., *J. Braz. Chem. Soc.* **2001**, 12, 747.
16. Belle, C.; Beguin, C.; Gautier-Luneau, I.; Hamman, S.; Philouze, C.; Pierre, J.L.; Thomas, F. y Torelli, S., *Inorg. Chem.*, **2002**, 41, 479.
17. Kannappan, R.; Mahalakshmy, R.; Rajendiran, T.M.; Venkatesan, R. y Samvasiva Rao, P., *Proc. Indian Acad. Sci. (Chem. Sci.)*, **2003**, 115, 1.
18. Gagné, R.R.; Koval, C.A.; Smith, T.J.; Cimolino, M.C., *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, 101, 4571.
19. Long R.C.; Hendrickson D.N., *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105, 1513.
20. Mani, F., *Coord. Chem. Rev.* **1992**, 120, 325.
21. Evert, J., “*Copper coordination compounds with macrocyclic pyrazolyl ligands*”, Tesis de doctorado, Collage Van Dekanen, Leiden Holanda, **1997**.
22. O’Young, Ch-L.; Dewan, J.C., Lilienthal, H.R.; Lippard, S.J. *J.Am.Chem.Soc.* **1978**, 100, 7291.
23. Coughlin, P.; Lippard, S.J., *Inorg. Chem.* **1984**, 23, 1446.

24. Gentshev, P.; Moller, N.; Krebs, B., *Inorg. Chim. Acta*, **2000**, 300-302, 442.
25. Mendoza-Díaz, G.; Driessen, W.L.; Reedijk, J.; Gorter, S.; Gasque, L.; Thompson, K.R., *Inorg. Chim. Acta*, **2002**, 339, 51.
26. Luna Ramírez, K., “*Compuestos dinucleares de cobre con ligantes derivados de imidazol y aminoácidos*”, Tesis de licenciatura. Facultad de Química, UNAM, **2003**.
27. Olguin, J.L., “*Compuestos dinucleares de cobre con ligantes derivados de imidazol y aminos*”, Tesis de licenciatura. Facultad de Química, UNAM, **2003**.
28. Mijangos, E.E., “*Interacción de cobre (II) con el ligante 2-metil-bis-4,5-(metil-n-alanil)-imidazol*”. Tesis de licenciatura. Facultad de Química, UNAM, **2001**.
29. Stocker, F. B.; Kurtz, J. L.; Gilman, B. L. y Forsyth, D. A., *J. Org. Chem.* **1970**, 35, 883.
30. Nakamoto, K., “*Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*”, 4<sup>a</sup> ed., John Wiley & Sons, Canada, **1986**.
31. Chamizo-Guerrero, J.A., “*Susceptibilidad magnética*”, Tesis de licenciatura. Facultad de Química, UNAM, **1976**.
32. Skoog, D.A.; Learly, J.J., “*Análisis Instrumental*”, Mc Graw-Hill, Madrid, **1997**.
33. Tabbi, G.; Driessen, W.L.; Reedijk, J.; Bonomo, R.P.; Veldman, N. y Spek, A.L., *Inorg. Chem.* **1997**, 36, 1168.
34. Solans, X.; Ruiz-Ramírez, L.; Martínez, A.; Gasque, L., *Acta Cryst.* **1988**, C44, 628.
35. Solans, X.; Ruiz-Ramírez, L.; Martínez, A.; Gasque, L.; Moreno-Esparza, R., *Acta Cryst.* **1992**, C48, 1785.
36. Solans, X.; Ruiz-Ramírez, L.; Martínez, A.; Gasque, L.; Moreno-Esparza, R., *Acta Cryst.* **1993**, C49, 890.
37. Li, D.; Li, S.; Yang, D.; Yu, J.; Huang, J.; Li, Y.; Tang, W., *Inorg. Chem.* **2003**, 42, 6071.
38. Pajunen, A.; Cámara, F.; Dominiques-Vera, J.M.; Colacio, E., *Acta Cryst.* **2000**, C56, e49.
39. Song, Y.; Gamez, P.; Stassen, A.F.; Lutz, M.; Spek, A.L. y Reedijk, J., *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, 4073.
40. Kolks, G. y Lippard, S. *Acta Cryst.* **1984**, C40, 261.
41. Dong, C.; Zhijun, L.; Wenxia, T.; Anbang, D.; Wangxi, L.; Boyi, W.; Ming, W.; Peiju, Z., *Acta Cryst.* **1990**, C46, 1426.
42. Morehouse, S.M., *Inorg. Chim. Acta* **1996**, 243, 327.
43. Anthony, G.J.; Koolhaas, A.; Driessen, W.L.; van Koningsbruggen, P.J.; Reedijk, J.; Speck, A.L., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1993**, 3803.
44. Mukherjee, S.; Weyhermüller, T.; Bill, E.; Chaudhuri, P., *Eur. J. Inorg. Chem.* **2004**, 4209.

45. Zhu, H.-L.; Zheng, L.-M.; Fu, D.-G.; Huang, P.; Bu, W.-M.; Tang, W.X., *Inorg. Chim. Acta* **1999**, 287, 52.
46. Mimura, M.; Matsuo, T.; Nakashima, T.; Matsumoto, N., *Inorg. Chem.* **1998**, 37, 3553.
47. Hu, M.L.; Cai, X.Q.; Shi, Q.; Cheng, Y.Q., *Acta Cryst.* **2004**, C60, m575.
48. Matsumoto, N.; Motoda, Y.; Matsuo, T.; Nakashima, T.; Re, N.; Dahan, F.; Tuchagues, J.P., *Inorg. Chem.* **1999**, 38, 1165.
49. Feng, C.-J.; Luo, Q.-H.; Wang, Z.-L.; Shen, M.-C.; Wang, H.-W.; Zhao, M.-H., *J. Inorg. Biochem.* **1999**, 75, 1.
50. Sosa, A.M.; Ugalde-Saldívar, V.M.; González, I.; Gasque, L., *J. Electroanal. Chem.* **2005**, 579, 103.
51. Nila, C.; González, I., *J. Electroanal. Chem.* **1996**, 401, 171.
52. Monzani, E.; Quinti, L.; Perotti, A.; Casella, L.; Gulloti, M.; Randaccio, L.; Geremia, S.; Nardin, G.; Faleschini, P.; Tabbi, G., *Inorg. Chem.* **1998**, 37, 553.
53. Sawyer, D.T.; Roberts Jr., J.L., “*Experimental Electrochemistry for Chemists*”, Wiley, Nueva York, **1974**.
54. Schwartz, W.M.; Shain, I., *J. Phys. Chem.* **1965**, 69, 30.
55. Bard, A.J.; Faulkner, L.R., “*Electrochemical Methods*”, Wiley, Nueva York, **2001**.
56. Siegel, I.H., *Enzyme Kinetics*, John Wiley and Sons, Nueva York, **1975**.
57. Griesser, R.; Sigel, H. *Inorg. Chem.* **1970**, 9, 1238.
58. Mukherjee, M.; Mukherjee, R., *Inorg. Chim. Acta*, **2002**, 337, 429.