



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN CINÉTICA Y ELECTROQUÍMICA
DE COMPLEJOS MONONUCLEARES DE COBRE (II)
ANÁLOGOS A SISTEMAS DINUCLEARES**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. INGRID AMARANTA MEMBRILLO SOLIS



TUTOR: Dra. Laura Ma. Gasque Silva

AÑO: 2008



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

A la Universidad Nacional Autónoma de México.

A la Facultad de Química y a la División de Estudios de Posgrado.

Al CONACYT por la beca otorgada para la realización de los estudios de maestría.

Al PAPIIT por el apoyo otorgado al proyecto IN106003.

A los miembros del jurado por sus valiosos comentarios y sugerencias durante la revisión de este escrito.

A la USAI, en particular a la M. en C. Rosa I. del Villar, al M. en C. Víctor M. Arroyo, a la M en C. Nayeli López, a la QFB. Margarita Guzmán; con especial agradecimiento al QFB. Víctor H. Lemus Neri.

A la Dra. Laura M. Gasque Silva, por su asesoría, apoyo y amistad, que han traspasado todo tipo de contratiempos.

Al Dr. Víctor M. Ugalde Saldívar, por el apoyo, la amistad y la confianza, en todo momento.

Al Dr. Gerardo Ferrer Sueta, por el apoyo y la asesoría brindados durante su estancia en el laboratorio 216. Y sobretodo, gracias por la amistad.

A los compañeros del laboratorio 216, Edgar, Inés, Rosita, y con especial agradecimiento y afecto, a Lucero.

LUGAR DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA

Laboratorio 216 del Departamento de Química Inorgánica y Nuclear en la División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química, UNAM.

Este trabajo fue presentado en:

- 210th. Electrochemical Society Meeting, Cancún, México. Octubre 29-Noviembre 3, 2006.
- III Encuentro de Química Inorgánica, Guanajuato, Guanajuato. Agosto 15-17, 2007.

Parte de este trabajo se publicó en “*A dicopper complex with distant metal centers. Structure, magnetic properties, electrochemistry and catecholase activity*”, L. Gasque, V.M. Ugalde-Saldívar, I. Membrillo, J. Olguín, E. Mijangos, S. Bernès, I. González, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2007. In press.

Con infinito cariño

*A Marlene, Greta y Margarita
A Daniel y Monserrat*

ÍNDICE

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

INTRODUCCIÓN

Capítulo 1. ANTECEDENTES	1
1.1 Cobre en los seres vivos	1
1.1.1 Aspectos generales	1
1.1.2 Clasificación de los sitios de cobre en las metaloproteínas	3
1.1.3 La catecol oxidasa: estructura y función	4
1.2 Los sistemas modelo de la catecol oxidasa	8
1.2.1 Aspectos generales	8
1.2.2 Estudios catalíticos de sistemas modelo de la catecol oxidasa	10
1.2.3 Relación estructura-actividad	12
1.3 Estudios sistemáticos de complejos de cobre con ligantes derivados de imidazol	17
1.3.1 Aspectos generales	17
1.3.2 Evaluación de la actividad catalítica de los complejos de Cu(II)	21
1.3.3 Evaluación del comportamiento electroquímico de los complejos de Cu(II)	24
Capítulo 2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	28
Capítulo 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
3.1 Síntesis y caracterización de ligantes derivados de 2-etil-4-metil-imidazol	30
3.1.1 Síntesis del ligante <i>Emitrim</i>	30
3.1.2 Caracterización del ligante <i>Emitrim</i>	31
3.1.2.1 Espectroscopia de Infrarrojo (IR)	31
3.1.2.2 Análisis elemental	33
3.1.2.3 Espectrometría de masas	33
3.1.2.4 Resonancia Magnética Nuclear (RMN)	34
3.1.2.4.1 RMN de ¹ H	34
3.1.2.4.2 RMN de ¹³ C y experimento HETCOR	36
3.1.3 Síntesis del ligante <i>Emisar</i>	38
3.1.4 Caracterización del ligante <i>Emisar</i>	38
3.1.4.1 Espectroscopia de Infrarrojo	38

3.1.4.2	Espectrometría de masas	40
3.1.3.3	Análisis elemental	40
3.1.4.4	Resonancia Magnética Nuclear (RMN)	41
3.1.4.4.1	RMN de ^1H	41
3.1.4.4.2	RMN de ^{13}C y experimento HETCOR	42
3.2	Complejos mononucleares con los ligantes <i>Emitrim</i> y <i>Emisar</i>	45
3.2.1	Síntesis del complejo $[\text{CuEmitrim}(\text{MeOH})(\text{NO}_3)]\text{NO}_3$	45
3.2.2	Caracterización del ligante <i>Emitrim</i>	45
3.2.2.1	Análisis elemental	46
3.2.2.2	Espectrometría de masas	46
3.2.2.3	Espectroscopia de Infrarrojo (IR)	47
3.2.2.4	Momento magnético efectivo	48
3.2.2.5	Conductividad	48
3.2.2.6	Espectroscopia UV-visible	49
3.2.3	Síntesis de complejos de cobre (II) con el ligante <i>Emisar</i>	50
3.2.4	Caracterización complejos mononucleares de cobre (II) con el ligante <i>Emisar</i>	50
3.2.4.1	Análisis elemental	50
3.2.4.2	Espectrometría de masas	51
3.2.4.3	Espectroscopia de Infrarrojo (IR)	53
3.2.4.4	Conductividad	55
3.2.4.5	Espectroscopia UV-visible	55
3.2.2.6	Difracción de rayos X	56
3.2.2.7	Momento magnético efectivo	57
3.3	Constantes de formación de los complejos mononucleares de Cu(II)	58
3.3.1	Determinación de las constantes de acidez de los ligantes	58
3.3.1.1	Constantes de formación del complejo CuEmitrim	59
3.3.1.2	Constantes de formación del complejo CuEmisar	61
3.3.2	Determinación de las constantes de formación de los complejos de cobre (II)	63
3.3.2.1	Constantes de acidez del ligante <i>Emitrim</i>	64
3.3.2.2	Constantes de acidez del ligante <i>Emisar</i>	66
3.4	Estudio electroquímico de complejos de Cu(II)	69
3.4.1	Estudios electroquímicos de los complejos mononucleares en ausencia de O_2	75
3.4.1.1	Estudio electroquímico de CuEmitrim	76
3.4.1.2	Estudio electroquímico de CuEmisar	81
3.4.1.3	Parámetros electroquímicos de los complejos mononucleares de Cu(II)	85
3.4.2	Estudios electroquímicos de los complejos mononucleares en presencia de O_2	87
3.4.2.1	Estudios del complejo CuEmitrim en presencia de O_2	87

3.4.2.2 Estudio electroquímico de Cu <i>Emisar</i> en presencia de O ₂	89
3.4.3 Comportamiento electroquímico de los complejos dinucleares de Cu(II)	92
3.4.3.1 Estudio electroquímico de Cu ₂ <i>Dimeim</i> en comparación con Cu <i>Emitrim</i>	93
3.4.3.2 Estudio electroquímico de Cu ₂ <i>Glimeim</i> en comparación con Cu <i>Emisar</i>	95
3.4.4. Comparación de los parámetros electroquímicos de los complejos de Cu(II)	98
3.5 Estudios de la actividad catalítica de los complejos mononucleares de Cu(II)	100
3.5.1 Estudio de la variación de la concentración del catalizador	102
3.5.2 Estudio de la variación de la concentración del sustrato	104
3.5.3 Estudios de la actividad catalítica en función del pH	109
3.6 Relación entre el comportamiento electroquímico y la actividad catalítica	113
Capítulo 4. CONCLUSIONES	119
Capítulo 5. PARTE EXPERIMENTAL	121
5.1 Reactivos y equipo	121
5.1.1 Reactivos	121
5.1.2 Equipo	122
5.2 Síntesis y caracterización de ligantes y complejos	123
5.2.1 Síntesis del ligante <i>Emitrim</i>	123
5.2.2 Síntesis del ligante <i>Emisar</i>	123
5.2.3 Síntesis del complejo [Cu <i>Emitrim</i> (NO ₃)MeOH]NO ₃	123
5.2.4 Síntesis del complejo Cu <i>Emisar</i> NO ₃	124
5.2.5 Síntesis del complejo Cu <i>Emisar</i> NO ₃	124
5.2.6 Determinación de la conductividad de los complejos	124
5.2.7 Obtención de los espectros UV-visibles	124
5.3 Titulaciones potenciométricas	125
5.3.1 Determinación de las constantes de acidez	125
5.3.2 Determinación de las constantes de formación de los complejos	126
5.4 Estudios electroquímicos	126
5.5 Estudios cinéticos	128
5.5.1 Variación de pH en la mezcla MeOH/H ₂ O _{pH}	128
5.5.2 Variación de la concentración del catalizador	129
5.5.3 Variación de la concentración del sustrato	130
REFERENCIAS	131

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

<i>Emitrim</i>	N'-(2-etil-5-metilimidazo-4-il)metil}(N'N"N"-trimetil)etilendiamina
<i>Emisar</i>	Ácido 2-[N-{(2-etil-5-metilimidazo-4-il)metil}(N-metil)amino] etanoico
<i>Dimeim</i>	2,8-dimetil-5,11-di-(dimetiletilendiamina)-1,4,5,6,7,10,11,12-octahidroimidazo[4,5-h]imidazo[4,5-c][1,6]diazecina]
<i>Glimeim</i>	2,8-dimetil-1,4,5,6,7,10,11,12-octahidroimidazo[4,5-h]imidazo[4,5-c][1,6]diazecina-5,11-dietanoato
<i>CuEmitrim</i>	Complejo mononuclear con el ligante <i>Emitrim</i>
<i>CuEmisar</i>	Complejo mononuclear con el ligante <i>Emisar</i>
<i>Cu₂Dimeim</i>	Complejo dinuclear de cobre con el ligante <i>Dimeim</i>
<i>Cu₂Glimeim</i>	Complejo dinuclear de cobre con el ligante <i>Glimeim</i>
DTBC	3,5-di- <i>ter</i> -butilcatecol
DTBQ	3,5-di- <i>ter</i> -butilquinona
MeOH	Metanol
H ₂ O _{pH}	Disolución amortiguadora de pH
v/v	Mezcla volumen-volumen
MeOH/H ₂ O	Mezcla metanol-agua 1:1 (v/v)
MeOH/H ₂ O _{pH}	Mezcla 1:1 (v/v) de metanol y disolución amortiguadora de pH
Mes	Ácido (N-[2-morfolino]etansulfónico)
Hepes	Ácido N-[2-hidroxietil]piperazina-N'-[2-etansulfónico]
NaHepes	Sal sódica del Ácido N-[2-hidroxietil]piperazina-N'-[2-etansulfónico]
Ches	Ácido-2-(N-ciclohexilamino)etansulfónico
v _o	Velocidad inicial
v _{max}	Velocidad máxima

K_M	Constante de Michaelis-Menten
k_{cat}	Constante catalítica o número de recambio
Cat	Catalizador
VC	Voltamperograma cíclico
$E_{i=0}$	Potencial de corriente nula
E_{pa}	Potencial de pico anódico
E_{pc}	Potencial de pico catódico
i_{pa}	Corriente de pico anódico
i_{pc}	Corriente de pico catódico
$E_{p/2}$	Potencial de pico medio
$E_{-\lambda}$	Potencial de inversión catódico
v	Velocidad de barrido de potencial
Fc^+/Fc	Sistema ferricinio-ferroceno

INTRODUCCIÓN

Las metaloproteínas de cobre han atraído la atención de varios grupos de investigación debido a su importancia en el metabolismo de los seres vivos, y en el desarrollo de nuevos catalizadores biomiméticos. Aunque la estructura de un gran número de proteínas de cobre se conoce con cierto detalle, es un hecho que su tamaño y la dificultad que implica su manipulación experimental han obstaculizado la obtención de un estudio más completo de estas moléculas.

Para alcanzar un conocimiento más amplio y detallado sobre la estructura y el funcionamiento de las metaloproteínas, surgió como una opción estudiar compuestos de bajo peso molecular que simularan el ambiente local de los sitios activos de dichas proteínas. Así aparecieron los sistemas modelo, los cuales son compuestos de coordinación que imitan algunas características del sitio activo, como la geometría alrededor del metal, el tipo de ligantes o la reactividad.

Durante las últimas décadas se han publicado distintos trabajos enfocados en el estudio de sistemas modelo de enzimas de cobre de tipo III⁽¹⁾ como la tirosinasa o la catecol oxidasa⁽²⁾, cuya función involucra la oxidación de catecoles; estas enzimas se caracterizan por tener en su sitio activo dos iones de Cu(II) cercanos entre sí. A partir del estudio de varios sistemas modelo, algunos autores han sugerido que, como en el caso de las enzimas de cobre de tipo III, es necesaria la presencia de dos sitios de cobre cercanos para que los sistemas modelo puedan presentar una actividad catalítica significativa⁽³⁻⁸⁾. De acuerdo con estos autores, dicha cercanía es necesaria para que los sitios de cobre actúen sinérgicamente, y entonces la actividad catalítica se favorezca. A pesar de ello, se han reportado sistemas modelo que presentan actividad catalítica, en los cuales las distancias Cu–Cu son bastante mayores a las observadas en las metaloenzimas^(9,10); más aún, los primeros complejos reportados con actividad catalítica en la oxidación de catecoles son sistemas mononucleares^(11,12).

Nuestro grupo de trabajo ha reportado la síntesis de los complejos dinucleares $Cu_2Dimeim$, $Cu_2Glimeim$ y Cu_2Dimp ⁽¹³⁻¹⁷⁾ los cuales tienen, en estado sólido, distancias Cu–Cu marcadamente superiores a las distancias reportadas para la mayoría de los sistemas modelo de enzimas de tipo III. La eficiencia catalítica que muestra este particular

grupo de compuestos es similar, e inclusive superior en algunos casos^(16,17), a la que presentan complejos dinucleares con distancias menores entre los centros de cobre.

Así, este trabajo de investigación surge con el propósito de determinar si en los complejos dinucleares Cu_2Dimeim y $\text{Cu}_2\text{Glimeim}$ los sitios de cobre actúan sinérgicamente en la oxidación de catecoles. Para ello se propuso llevar cabo un estudio de la reactividad de complejos mononucleares con estructuras análogas a los complejos dinucleares. De este modo, una comparación entre la reactividad de los complejos mononucleares frente a la que presentan los dinucleares podría proporcionar información relevante acerca de la importancia que tiene para la reactividad de estos sistemas, la presencia de dos sitios metálicos en el complejo, aunque estos sitios no se encuentren cerca.

A continuación se hará una breve descripción del contenido de los capítulos que conforman este escrito.

En el **Capítulo 1** se presentan los antecedentes en los cuales se sustenta este trabajo de investigación. En este capítulo se muestran algunas características de los sitios de cobre en las proteínas, así como la discusión de los sistemas utilizados para modelar dichos sitios. En el **Capítulo 2** se presenta la hipótesis y los objetivos de este trabajo. En el **Capítulo 3** se muestran los resultados obtenidos así como la discusión y el análisis de los mismos. Este capítulo inicia con la discusión de la síntesis de los ligantes *Emitrim* y *Emisar*. Posteriormente se discute la síntesis de los complejos mononucleares de cobre (II) CuEmisar^+ y CuEmitrim^{2+} , tanto en estado sólido como en disolución. Enseguida se presenta el estudio del comportamiento electroquímico de los complejos mononucleares en comparación con el comportamiento de los complejos dinucleares $\text{Cu}_2\text{Dimeim}^{4+}$ y $\text{Cu}_2\text{Glimeim}^{2+}$; posteriormente se discuten los resultados obtenidos en el estudio de la actividad catalítica de los complejos mononucleares en la oxidación de 3,5-di-*ter*-butilcatecol, y se compara con el comportamiento catalítico que ha sido observado en los complejos dinucleares. Para finalizar la discusión, se hace una relación entre la caracterización de electroquímica y cinética con el fin de determinar algunos de los factores que afectan la actividad catalítica de estos sistema modelo. En el **Capítulo 4** se presentan las conclusiones de este trabajo, y finalmente en el **Capítulo 5** se muestran las metodologías empleadas durante el desarrollo experimental del mismo.

Capítulo 1

ANTECEDENTES

1.1 Cobre en los seres vivos

1.1.1 Aspectos generales

El cobre es el tercer elemento más abundante del bloque *d* en los seres vivos, sin embargo, se le considera un elemento traza ya que su concentración en los organismos es del orden de partes por millón. Este metal se encuentra ampliamente distribuido en animales y plantas formando parte de diversas proteínas como galactosa oxidasa, plastocianina, tirosinasa, catecol oxidasa y superóxido dismutasa, entre otras (figura 1.1.1).

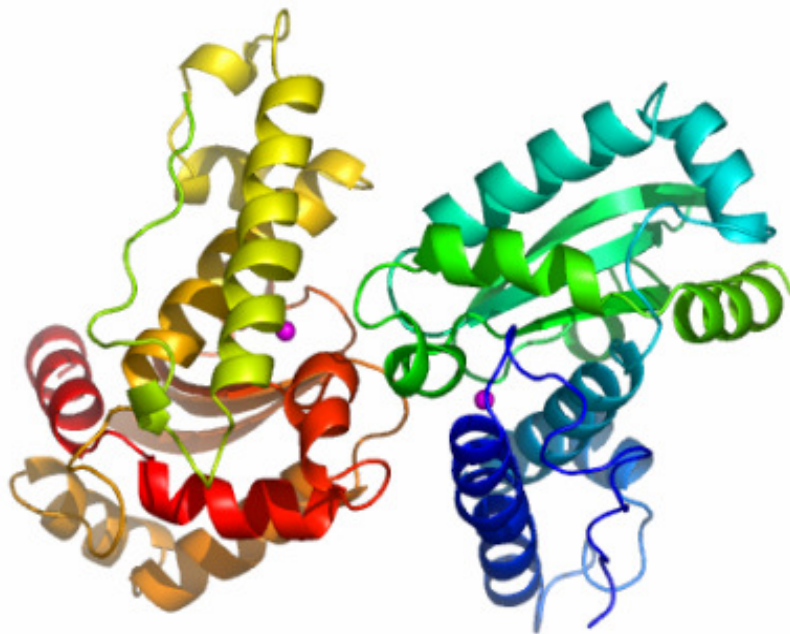


Figura 1.1.1. Estructura de la metaloenzima superóxido dismutasa

Evolutivamente el cobre es considerado como un bioelemento moderno⁽¹⁸⁾ ya que se convirtió en un elemento biológicamente activo después del hierro. Antes de que

existiera una atmósfera oxidante prevalecían los compuestos insolubles de Cu(I) que evitaban la disponibilidad biológica de este metal; en contraste, los compuestos solubles de Fe(II) predominaban sobre las especies insolubles de Fe(III) permitiendo así que el hierro fuera aprovechado por los organismos para realizar diversas funciones biológicas. El cobre comenzó a integrarse al metabolismo de los organismos sólo hasta que el O₂ producido por organismos fotosintéticos provocó la oxidación de los compuestos de Cu(I) para generar las especies solubles de Cu(II).

Las funciones biológicas que llevan a cabo las metaloproteínas de cobre están relacionadas principalmente con procesos que involucran transferencia electrónica, transporte de oxígeno y funciones catalíticas en reacciones de oxidación (tabla 1.1.1). En las metaloproteínas de cobre pueden encontrarse sitios mononucleares, es decir con un solo ion de cobre, o sitios polinucleares, con más de un centro metálico.

Proteína o enzima	Función
Citocromo oxidasa	Reducción de O ₂ → H ₂ O
Lacasa, tirosinasa	Oxidación de fenoles
Galactosa oxidasa	Oxidación de alcoholes primarios
Ceruloplasmina	Oxidación de Fe(II) → Fe(III)
Hemocianina	Transporte de O ₂
Metalotioneína	Almacenamiento de Cu(I)
Superóxido dismutasa	Dismutación del ion superóxido 2O ₂ + 2H ₂ O → O ₂ + H ₂ O ₂ + 2OH
Proteínas azules	Transferencia electrónica

Tabla 1.1.1. Algunas metaloproteínas de cobre y sus funciones

En los sistemas biológicos el cobre se puede encontrar como Cu¹⁺ (d¹⁰) o Cu²⁺ (d⁹). En el estado de oxidación 1+, el cobre presenta frecuentemente una geometría tetraédrica con ligantes donadores de azufre como tiolatos o tioéteres, y ligantes donadores de nitrógeno como imidazoles. El Cu²⁺ presenta generalmente las geometrías cuadrada y tetragonal, con ligantes donadores de oxígeno como carboxilatos, y donadores de nitrógeno como imidazoles.

1.1.2 Clasificación de los sitios de cobre en las metaloproteínas

A menudo los sitios de cobre en las proteínas se clasifican como tipo I, II, III y IV de acuerdo con sus propiedades espectroscópicas⁽¹⁹⁾.

Tipo I. También llamadas proteínas azules de cobre debido a su inusual color azul intenso. Este color proviene de una intensa banda de absorción alrededor de 600 nm, la cual puede ser originada por una transferencia de carga ligante-metal del enlace $\text{Cu}^{2+}\text{-S}$ (cisteína). La esfera de coordinación del cobre en estos sitios está constituida por átomos donadores de nitrógeno provenientes de residuos de histidina, un azufre donador proveniente de un residuo de cisteína, y un azufre débilmente coordinado proveniente generalmente de un residuo de metionina (figura 1.1.2). Estos sitios no intervienen en procesos catalíticos pues participan como sitios de transferencia electrónica en proteínas móviles acarreadoras de electrones como la azurina, la amicianina y la plastocianina.

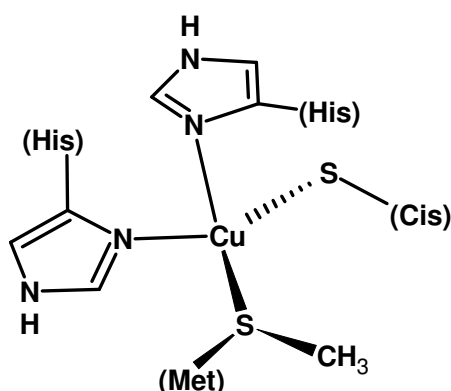


Figura 1.1.2. Estructura del sitio activo de enzimas de cobre de tipo I

Tipo II. Las proteínas que contienen sitios de cobre tipo II son conocidas como proteínas “normales” pues muestran un comportamiento en resonancia paramagnética electrónica (RPE) similar al de complejos comunes de Cu(II) con ligantes donadores de N, O y con geometría tetragonal. Estas proteínas tienen un color azul claro proveniente de transiciones $d-d$. En estos sitios el cobre presenta 4 ligantes donadores de N y donadores de O, en una geometría cuadrada o tetraédrica distorsionada. Estas proteínas participan en procesos catalíticos; algunos ejemplos son la galactosa oxidasa, la dopamina β -monooxigenasa y la superóxido dismutasa.

Tipo III. Estos sitios son particularmente interesantes porque a pesar de que existen dos iones Cu^{2+} , estos centros son silenciosos en RPE. Este fenómeno es provocado por la disposición espacial entre los dos centros, cuya cercanía (alrededor de 3 Å) genera que los electrones desapareados de cada ion se acoplen antiferromagnéticamente haciéndolos diamagnéticos. En estos sitios, cada ion de cobre está coordinado a tres átomos donadores de nitrógeno provenientes de residuos de histidina. Una característica importante de estos sitios es su capacidad para unirse reversiblemente al O_2 (figura 1.1.3). Las proteínas que representan a estos sitios son la hemocianina, la tirosinasa y la catecol oxidasa.

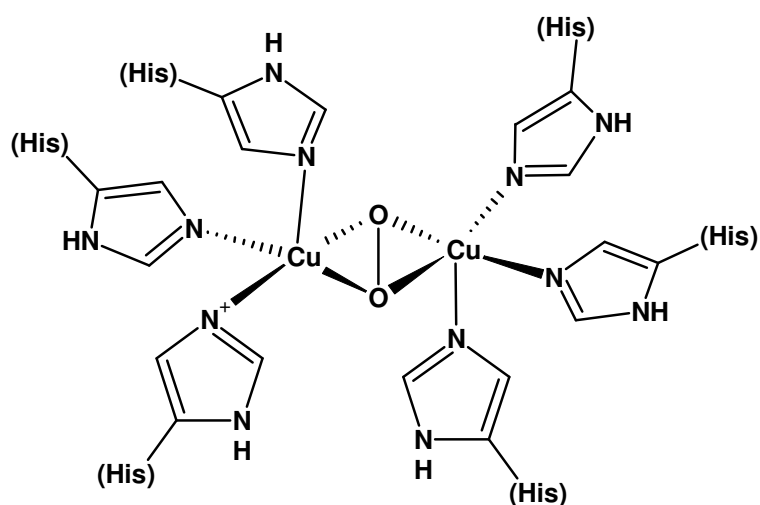


Figura 1.1.3. Representación del sitio activo de la oxyhemocianina ⁽¹⁾

Tipo IV. Estas proteínas presentan sitios que no pueden clasificarse en alguno de los grupos anteriores. Normalmente presentan iones de Cu(I) o varios iones de cobre de distintos tipos. Ejemplos de estas proteínas son la lacasa, la ascorbato oxidasa y la ceruloplasmina. Estos sitios participan en la catálisis de una amplia gama de reacciones orgánicas.

1.1.3. La catecol oxidasa: estructura y función

La catecol oxidasa es una proteína de cobre de tipo III que cataliza la oxidación de una gran variedad de *o*-difenoles (catecoles), tales como el ácido caféico y sus derivados, a la *o*-quinona correspondiente, a través de un proceso conocido como actividad catecolasa. Esta enzima se encuentra en el tejido de diversas plantas y en crustáceos; en

1937 fue aislada por primera vez, y a partir de entonces se le ha aislado de diversas plantas y vegetales⁽²⁰⁾.

En 1998 se reportó la estructura cristalina de la catecol oxidasa (figura 1.1.4), obtenida de *ipomoea batatas*⁽⁸⁾, en tres estados catalíticos: en el estado nativo *met* (Cu(II)Cu(II)), en el estado reducido *deoxy* (Cu(I)Cu(I)), y en un complejo con el inhibidor feniltiourea. La estructura cristalina muestra que la enzima es un monómero con una masa molecular de 39 kDa en donde cada cobre se encuentra unido a imidazoles provenientes de residuos de histidina.

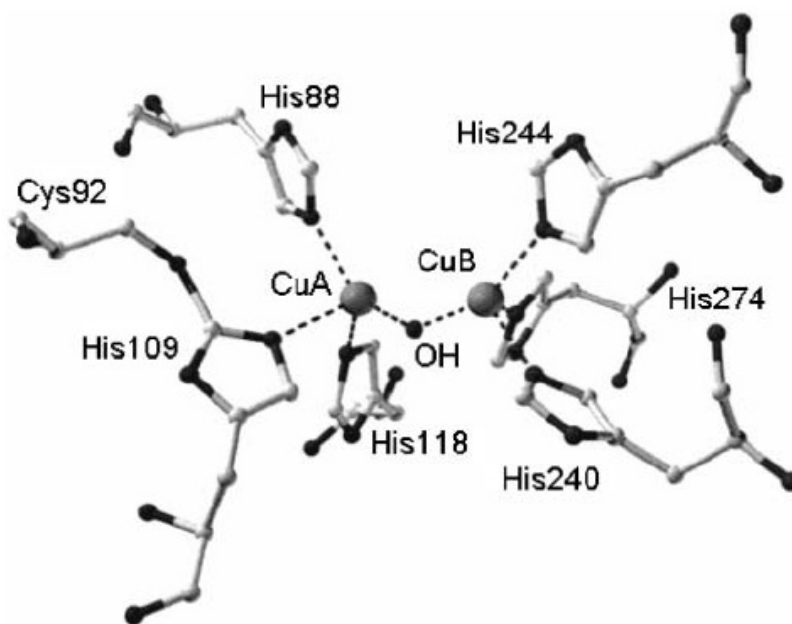


Figura 1.1.4. Representación del sitio activo de la catecol oxidasa

En el estado nativo *met* (Cu(II)Cu(II)) los dos iones de cobre se encuentran a una distancia de 2.9 Å entre sí. Además de coordinarse a tres anillos de imidazol respectivamente, los sitios de cobre se encuentran unidos entre sí a través de un grupo hidroxilo. La geometría alrededor de ambos iones de cobre es de una pirámide trigonal. Los estudios de RPE muestran que los sitios de cobre presentan un acoplamiento antiferromagnético, comportamiento típico de los sitios de tipo III de las enzimas de cobre.

En el estado *deoxy* (Cu(I)Cu(I)) la distancia entre los átomos de cobre se incrementa a 4.4 Å. Basados en mapas de densidad electrónica residual, se propuso que una molécula de agua se encuentra a una distancia de 2.2 Å de uno de los sitios de cobre, por lo que la geometría alrededor de dicho sitio es una pirámide trigonal

distorsionada. La geometría alrededor del segundo sitio de cobre puede ser descrita como un cuadrado con un sitio de coordinación vacante⁽¹⁾.

El estado *oxy* ($\text{Cu(I)O}_2\text{(I)Cu}$) de la catecol oxidasa se obtuvo por tratamiento del estado *met* de la enzima con peróxido de hidrógeno⁽²¹⁾. Estudios espectroscópicos revelaron que después del tratamiento de la enzima con H_2O_2 aparecen bandas de absorción en la región UV-visible características para especies $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-peroxo-dicobre (II)}$

Finalmente la estructura cristalina del aducto entre catecol oxidasa y la feniltiourea (figura 1.1.5) reveló que el átomo de azufre de este inhibidor se coordina a ambos sitios de cobre, reemplazando al puente hidroxilo presente en el estado *met* e incrementando la distancia Cu–Cu (4.2 Å). El nitrógeno de la amida interactúa débilmente con uno de los sitios de cobre, completando la esfera de coordinación para adoptar la geometría de pirámide de base cuadrada.

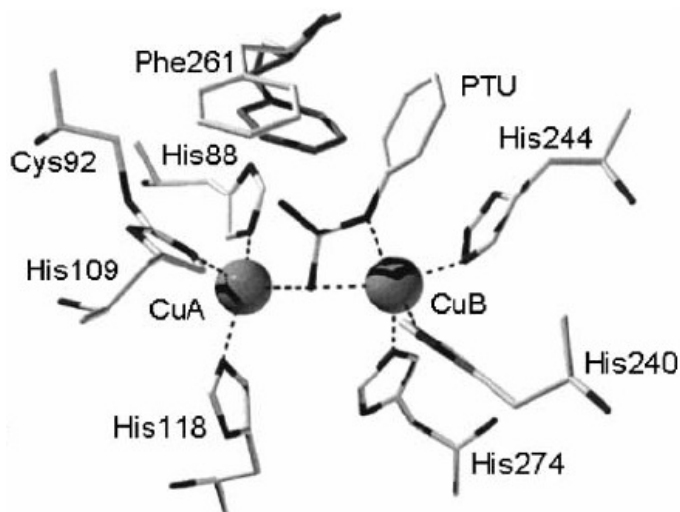


Figura 1.1.5. Aducto de la catecol oxidasa con el inhibidor feniltiourea

A partir de datos estructurales, bioquímicos y espectroscópicos, se han propuesto diversos mecanismos para la actividad enzimática de la catecol oxidasa. Así, Krebs y colaboradores⁽²²⁾ propusieron un mecanismo que comienza con la forma nativa *met* de la catecol oxidasa (figura 1.1.6). En el primer paso la enzima reacciona con un equivalente del catecol, provocando la formación de quinona y del estado reducido *deoxy*; basados en la estructura de la catecol oxidasa con el inhibidor feniltiourea, se propone la unión monodentada del sustrato a uno de los sitios de cobre. Posteriormente el oxígeno molecular desplaza a la molécula de agua presente en la forma *deoxy*, uniéndose así a los dos sitios de cobre, (estado *oxy*).

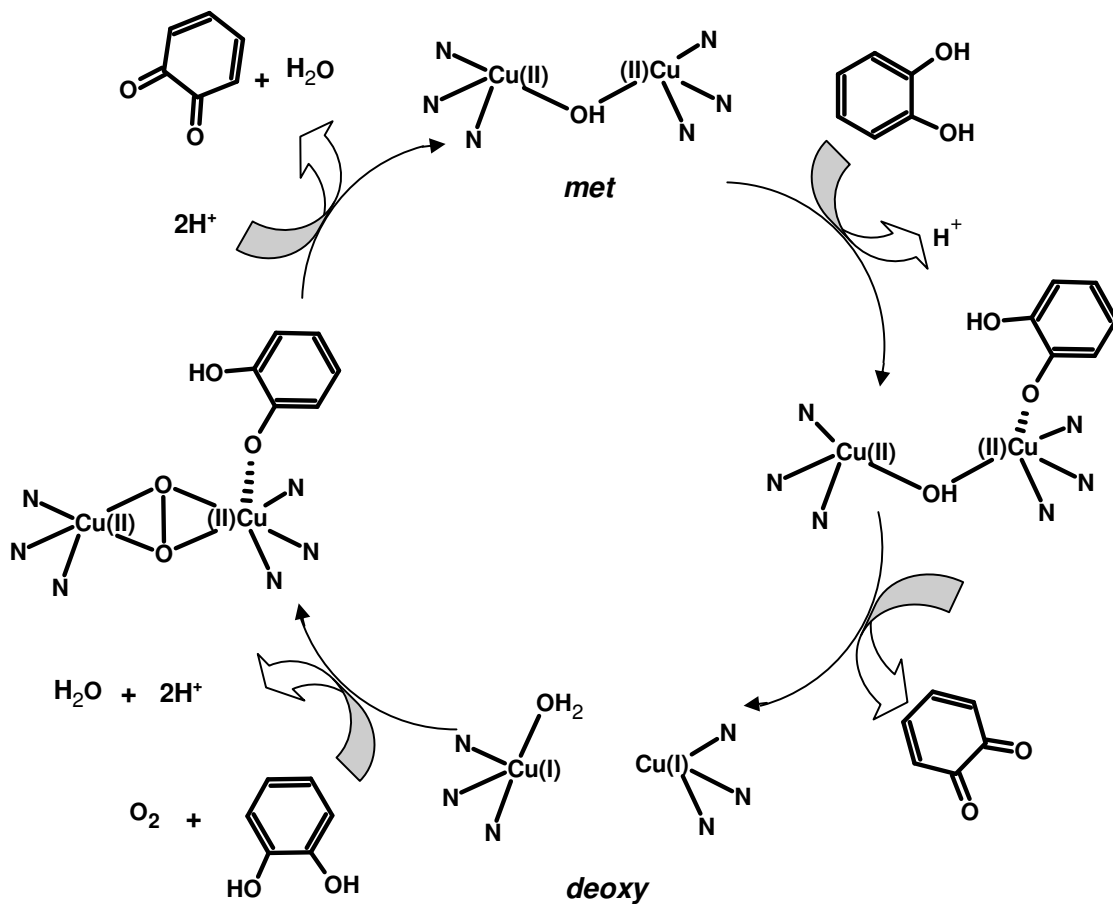


Figura 1.1.6. Mecanismo de la actividad catalítica de la catecol oxidasa propuesto por Krebs⁽²²⁾.

Una segunda molécula de sustrato se une al estado *oxy* a través de uno de los dos cobres. En el paso final ocurre una transferencia de dos electrones del sustrato al peróxido, seguida por el rompimiento del enlace O–O, la pérdida de agua y la formación de la segunda molécula de quinona, junto con la recuperación del estado *met* de la enzima.

Solomon⁽²³⁾ y colaboradores propusieron un mecanismo muy parecido para la actividad catecolasa. La principal diferencia entre ambos mecanismos radica en la forma en la que se une el sustrato a la enzima: mientras el grupo de Krebs propuso una coordinación asimétrica monodentada, el grupo de Solomon propone que el sustrato se une de forma bidentada y simultáneamente a ambos sitios de cobre.

1.2 Los sistemas modelo del sitio activo de la catecol oxidasa

1.2.1. Aspectos generales

Las metaloproteínas han atraído la atención de diferentes grupos de investigación debido a la importancia que tienen para los sistemas biológicos y para la obtención de nuevos catalizadores biomiméticos. Aunque la estructura de diversas metaloproteínas es conocida, es un hecho que su gran tamaño y la dificultad que implica su manipulación experimental han obstaculizado la obtención de un estudio más completo de estas moléculas.

Para conseguir un mayor conocimiento sobre la estructura y el funcionamiento de las metaloproteínas surgió como una opción estudiar compuestos de coordinación de bajo peso molecular que simularan el ambiente local de los sitios activos de dichas proteínas. Así aparecieron los sistemas modelo, los cuales han sido clasificados en tres tipos⁽²⁴⁾:

- *Especulativo*: este tipo de sistemas ayuda a deducir la estructura del sitio activo, cuando éste no se conoce, comparando las propiedades espectroscópicas de la proteína con las del sistema modelo análogo.
- *Corroborativo*: cuando se conoce el sitio activo, este tipo de sistemas contribuye a una mejor comprensión de las propiedades *in vitro* de las metaloproteínas.
- *Funcional*: este tipo de sistema modelo sirve para aplicar el conocimiento de la estructura y propiedades del sitio activo, es decir, reproducir la función biológica del sitio activo.

Con la obtención de la estructura cristalina de la catecol oxidasa, el estudio de esta enzima se redujo prácticamente a la elucidación y comprensión del mecanismo por el cual se lleva a cabo su actividad catalítica. En esta labor los sistemas modelo han jugado un papel muy importante, pues a través de la modulación sistemática en la estructura de los complejos y en las variables externas que afectan la actividad catalítica de estos sistemas, se ha intentado comprender con mayor detalle el funcionamiento biológico de esta enzima .

Durante los últimos 20 años se ha publicado un gran número de trabajos sobre sistemas modelo de la catecol oxidasa⁽¹⁾, los cuales incluyen estudios estructurales y de reactividad de complejos mononucleares y polinucleares. De los sistemas reportados, los dinucleares han sido objeto de un estudio más amplio y detallado dada la similitud de estos sistemas con el sitio activo de la catecol oxidasa.

El complejo $[\text{Cu}_2\text{L}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})(\text{EtOH})]^{2+}$ ($\text{L} = 4\text{-bromo-2,6-bis(4-metilpiperazin-1-ilmetil)fenóxido}$), obtenido por Reim y Krebs⁽³⁰⁾ (Figura 1.2.1) es un ejemplo claro de un sistema modelo de la catecol oxidasa. Este complejo, al igual que en el sitio activo de la catecol oxidasa, presenta dos sitios de cobre a una distancia alrededor de 3 Å. En el caso de la enzima de cobre, la distancia entre los centros metálicos en el estado *met* es de 2.9 Å. Los iones Cu(II) están unidos a través de un grupo OH^- , así como ocurre en el sitio activo de la enzima. En el complejo, ambos sitios de cobre presentan una geometría de pirámide de base cuadrada, en donde la base de la pirámide la conforman los átomos donadores del ligante así como el grupo OH^- une a los iones de Cu(II) . A diferencia de la enzima, este complejo presenta dos sitios de tipo N,N,O, en donde los nitrógenos son alifáticos.

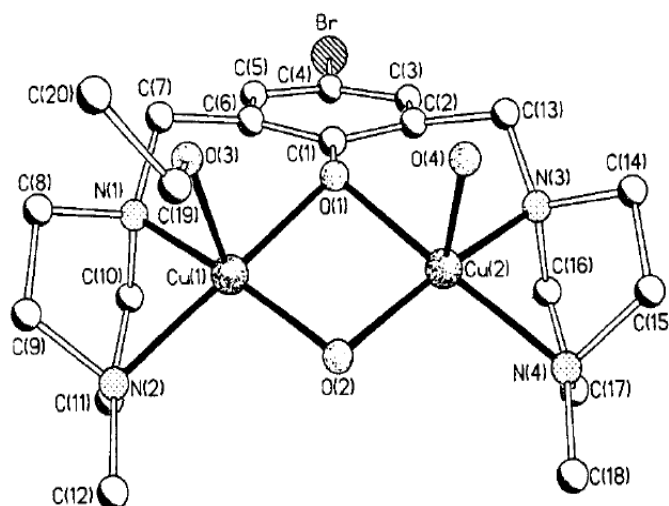


Figura 1.2.1. Sistema modelo de la catecol oxidasa obtenido por Reim y Krebs⁽³⁰⁾.

Así, mediante la modulación del sitio activo de la catecol oxidasa a través de diversos sistemas modelo, se ha sugerido que las características que debe reunir un ligante orgánico utilizado para modelar los sitios activos de enzimas como la catecol oxidasa son las siguientes⁽²⁵⁾:

- Incluir preferentemente átomos de nitrógeno aromáticos como los que se encuentran en las metaloenzimas.
- Flexibilidad para estabilizar un ion de cobre en sus dos estados de oxidación, tetraedro para Cu(I) y tetragonal para Cu(II) .

- Ocupar la mayor parte de la esfera de coordinación del metal dejando por lo menos un sitio libre estéricamente accesible que permita la entrada de ligandos exógenos, como por ejemplo el sustrato.

Los ligandos que se han utilizado en la síntesis de los complejos de cobre son de tres tipos: macrociclos, trípodes y dinucleantes. Los ligandos que confieren una estructura trípode (figura 1.2.2. (c)) son por lo general tri o tetra dentados, y generan sitios pentacoordinados. Los ligandos dinucleantes (figura 1.2.2. (b)) incluyen un grupo puente que puede posicionar a los dos iones metálicos a una distancia de entre 3 y 5 Å. Los macrociclos (figura 1.2.2. (a)) confieren una geometría rígida alrededor de los sitios de cobre.

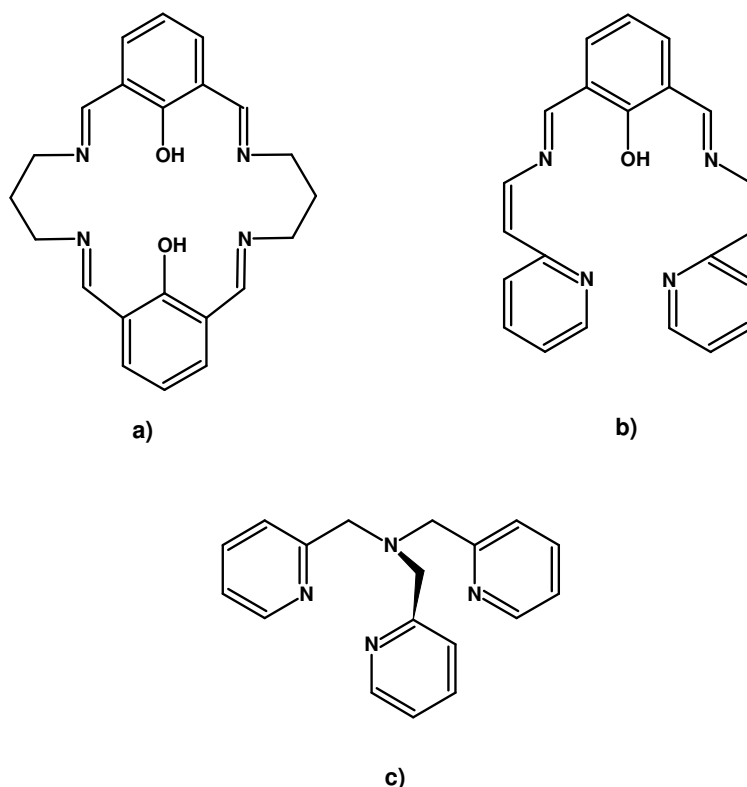


Figura 1.2.2. Estructuras típicas de ligandos empleados en la síntesis de nuevos sistemas modelo enzimas de cobre (II): a) ligante macrocíclico; b) dinucleante; c) trípode

1.2.2. Estudios catalíticos de los sistemas modelo de la catecol oxidasa

Uno de los primeros estudios mecanísticos sobre la oxidación de catecoles por complejos de cobre (II) lo realizaron Lintvedt y Thuraya⁽¹⁾. En estudios cinéticos de la reacción de oxidación del 3,5-di-*ter*-butilcatecol (3,5-DTBC) en presencia del oxígeno molecular y un catalizador de cobre, encontraron que la reacción global es de primer

orden respecto al sustrato y de segundo orden respecto a Cu(II), sugiriendo de esta forma que en el paso limitante de la reacción interviene una especie dicobre–catecolato.

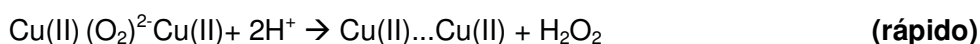
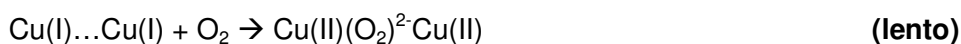
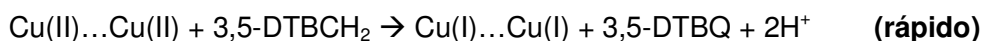
Posteriormente Nishida⁽²⁾ y colaboradores reportaron la oxidación estequiométrica de 3,5-DTBC en presencia de complejos dinucleares y mononucleares, en condiciones anaeróbicas, encontrando que las especies mononucleares con geometría plana cuadrada no eran reducidas por el 3,5-DTBC, y mostraban menor actividad catalítica en comparación con los complejos que se reducían con mayor facilidad.

Otra interesante conclusión de Nishida y colaboradores fue que la actividad catalítica de los complejos dinucleares podría depender también de la distancia Cu-Cu; así, para complejos con una separación Cu-Cu mayor a 5 Å, la actividad catalítica era muy pequeña. De este modo, los autores sugirieron que la actividad catalítica podría estar regulada por factores estéricos entre el centro dinuclear de cobre y el sustrato. Malachowski⁽²⁶⁾ reportó una mayor actividad catalítica de complejos dinucleares de Cu(II) en comparación con los complejos mononucleares.

A principio de la década de los 90, algunos grupos de investigación reportaron la formación de peróxido de hidrógeno en lugar de agua, como producto de la reducción de O₂ en la oxidación catalítica de 3,5-DTBC por complejos de cobre (II)^(27,28).

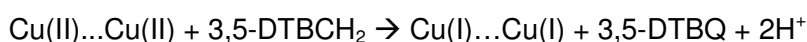
Con el fin de explicar sus resultados experimentales, Chyn y Urbach⁽⁵⁵⁾ propusieron dos diferentes mecanismos para el ciclo catalítico (figura 1.2.3).

(1)



(2)

Paso inicial



Ciclo redox

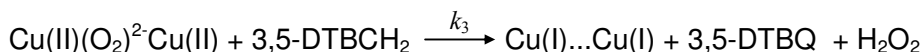
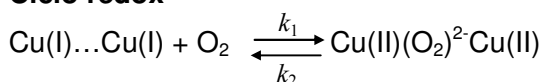


Figura 1.2.3. Mecanismos de la actividad catalítica de sistemas modelo

En el esquema (1) se propone un mecanismo *ping-pong*, el cual cicla entre la rápida oxidación de DTBC y la lenta reoxidación del catalizador por el oxígeno molecular. En el esquema (2) se involucra a la especie μ -peroxo-dicobre(II) como el oxidante directo de DTBC en el ciclo catalítico. En este mecanismo ocurre inicialmente la reducción de la especie dicobre (II) por el DTBC, y posteriormente inicia el ciclo catalítico redox.

Asimismo, en varios trabajos coincide la propuesta mecanística sobre la presencia de una primera reacción rápida y estequiométrica entre el centro dicobre y el sustrato catecol, seguida por una reacción catalítica lenta. Sin embargo, a pesar de la especial atención que ha recibido el estudio sobre el mecanismo de la actividad catecolasa, la información obtenida es muy escasa; además, al parecer cada sistema es explorado a través de un método particular, dificultándose así la posible comparación entre los resultados obtenidos por cada grupo de investigación.

1.2.3 Relación estructura-actividad en sistemas modelo de la catecol oxidasa

En el estudio mecanístico de la actividad catalítica de los sistemas modelo de la catecol oxidasa, se han identificado varios factores que podrían influir en la eficiencia con la que los complejos llevan a cabo la oxidación de catecoles⁽³⁶⁾. A continuación se mencionan algunos de estos factores:

1) Estructura del ligante

Aunque varios autores se refieren a las propiedades del ligante para explicar los resultados de la actividad catecolasa de complejos de cobre, solo se han publicado algunos estudios detallados al respecto. Así, por ejemplo Kandaswamy y colaboradores⁽²⁹⁾ han estudiado la actividad catalítica de complejos de cobre con ligantes macrocíclicos compartimentalizados, encontrando que el aumento en el tamaño del anillo favorece la catálisis. El incremento en el tamaño del anillo hace al sistema más flexible, favoreciéndose de esta forma la catálisis. Por otro lado, Reim y Krebs⁽³⁰⁾ encontraron que en complejos dinucleares de cobre (II) con ligantes compartimentalizados derivados de fenol, únicamente aquellos derivados de piperazina mostraban actividad catalítica. Esto se atribuyó a la gran distorsión de los sitios de cobre (II) con geometría de pirámide de base cuadrada debido a la coordinación con el anillo de piperazina.

2) Influencia del pH:

La enzima catecol oxidasa muestra actividad catalítica en el intervalo de pH de 5 a 10, con un valor de pH óptimo de 8 y muestra una pérdida total de la actividad en valores de pH menores a 4 y mayores a 10⁽²⁰⁾. Es por ello que algunos autores han llevado a cabo estudios acerca de la influencia del pH sobre la actividad catalítica de complejos de cobre. Resulta importante mencionar que a menudo los cambios en el pH están acompañados con cambios en la estructura de un complejo, lo que origina diferentes comportamientos catalíticos (Figura 1.2.4). Así algunos autores han encontrado que la actividad catecolasa de los complejos de cobre se favorece cuando se encuentran presentes en disolución especies que contienen grupos hidroxilo⁽³¹⁻³³⁾. De acuerdo con lo que se ha reportado, el pH de actividad catalítica óptima se encuentra en valores entre 7 y 8.

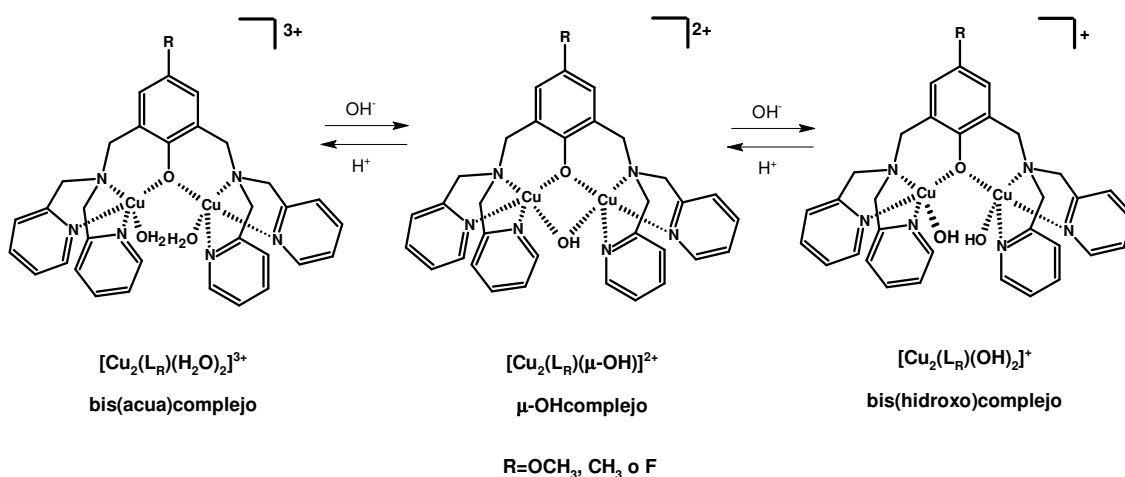


Figura 1.2.4. Cambios en la estructura de un complejo dinuclear de cobre con un ligante derivado de fenol ocasionados por cambios en pH del medio, reportado por Belle y colaboradores⁽³¹⁾,

3) Influencia de las propiedades electroquímicas

La evaluación de las propiedades redox de enzimas y complejos de cobre se ha realizado mediante diversas técnicas electroquímicas, de entre las que destaca la voltamperometría cíclica. A partir de esta técnica se pueden evaluar de manera cualitativa y cuantitativa los sistemas estudiados; mediante estudios de voltamperometría cíclica es posible obtener información cinética y termodinámica de un sistema en estudio como por ejemplo el potencial redox, constantes de transferencia electrónica o información sobre reacciones químicas acopladas.

En varios grupos de trabajo se ha intentado hacer una correlación entre las propiedades redox de los complejos y su actividad catalítica, sin embargo, una relación entre ambos no ha sido establecida por completo. Cabe destacar que en diversas ocasiones, los estudios electroquímicos no se realizan en las mismas condiciones en las que se efectúan los estudios de la actividad catalítica.

Así por ejemplo Reim y Krebs⁽³⁰⁾ estudiaron el comportamiento electroquímico en acetonitrilo de una serie de complejos dinucleares de Cu(II) con ligantes derivados de benzimidazol, observando únicamente procesos irreversibles de reducción; a pesar de este comportamiento, varios complejos de cobre mostraron actividad catalítica en la oxidación de catecoles.

Casella⁽³⁴⁾ y colaboradores lograron calcular la velocidad de la reacción para dos pasos sucesivos de la reacción catalítica (una rápida reacción estequiométrica entre el complejo dinuclear y el catecol, y una reacción catalítica más lenta, y encontraron que la velocidad del primer paso dependía del potencial redox $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}$.

Por otra parte, Ackerman hizo un estudio sistemático en complejos dinucleares de Cu(II) encontrando una relación entre la actividad catalítica y el potencial de pico catódico: los complejos con potenciales de pico superiores a -0.8 V vs. Fc^+/Fc mostraban actividad catalítica importante, por debajo de este valor los complejos mostraban una nula actividad.

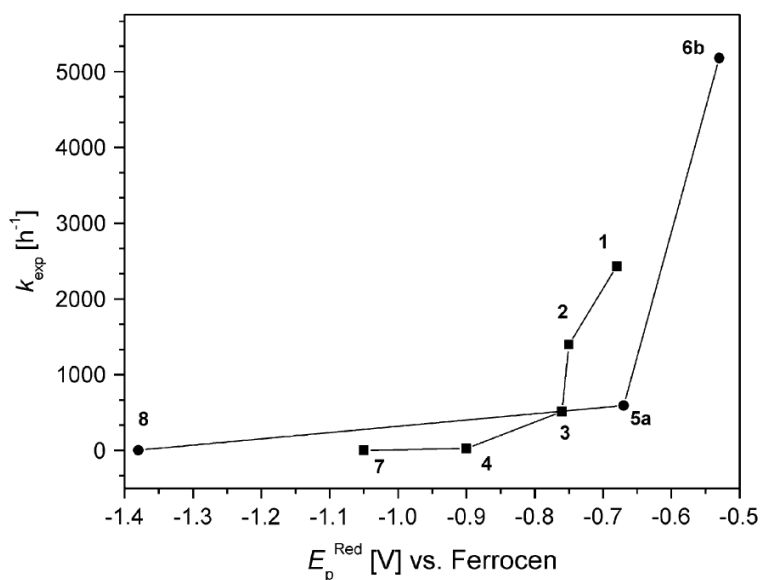


Figura 1.2.5. Relación entre el potencial de pico catódico y la actividad catalítica en complejos dinucleares de Cu(II) estudiados por Ackerman y colaboradores⁽⁶⁰⁾,

4) Distancia Cu-Cu; sistemas modelo mononucleares vs. dinucleares

Como se discutirá más adelante, en este trabajo de investigación resulta de sumo interés estudiar la importancia de la distancia Cu–Cu en la actividad catalítica de los sistemas modelo de la catecol oxidasa.

Mucho se ha especulado acerca de la importancia de una distancia cobre-cobre pequeña para que se pueda presentar actividad catalítica en los complejos que modelan el sitio activo de la catecol oxidasa. En los primeros estudios sistemáticos sobre sistemas modelo de la catecol oxidasa, Nishida⁽²⁾ y colaboradores reportaron una mayor actividad catalítica de los complejos dinucleares de Cu(II) en la oxidación de 3,5-DTBC en comparación con sus análogos mononucleares. Esta misma observación fue realizada por Malakowski⁽²⁶⁾ y Casellato⁽⁵⁶⁾ al estudiar una serie de complejos dinucleares y mononucleares con estructuras análogas.

Desde que Krebs y colaboradores en 1998 describieron la estructura cristalina de la catecol oxidasa, la mayor parte de los grupos de investigación que se dedica al estudio de sistemas modelo de dicha enzima se ha enfocado preferentemente en la síntesis de complejos dinucleares en lugar de complejos mononucleares.

Así, tomando en cuenta la distancia Cu–Cu en la forma *met* de la catecol oxidasa y los estudios sobre complejos dinucleares y mononucleares de cobre, algunos autores han concluido que para que exista una actividad catalítica significativa es necesario que un complejo presente dos átomos de cobre en los complejos y que la distancia entre dichos átomos se encuentre en el intervalo de 2.9 a 3.2 Å⁽³⁻⁵⁾. Dicha característica supone así un efecto sinérgico en la catálisis, favorecido por factores estéricos⁽²⁶⁾, el cual no estaría presente en los complejos mononucleares; de esta forma se podrían explicar las diferencias observadas en cuanto a la reactividad de los sistemas dinucleares y mononucleares.

A pesar de lo anterior, se ha visto que una distancia Cu–Cu grande no prohíbe necesariamente la actividad catalítica. Así, se han informado estudios de la actividad catalítica de complejos dinucleares con distancias Cu-Cu entre 4.0 y 7.8 Å aproximadamente^(9,10). Spier y colaboradores obtuvieron un complejo (figura 1.2.6) en el cual la distancia Cu-Cu es de aproximadamente 7.8 Å, y el cual muestra actividad catalítica en la oxidación de 3,5-di-*ter*-butilcatecol.

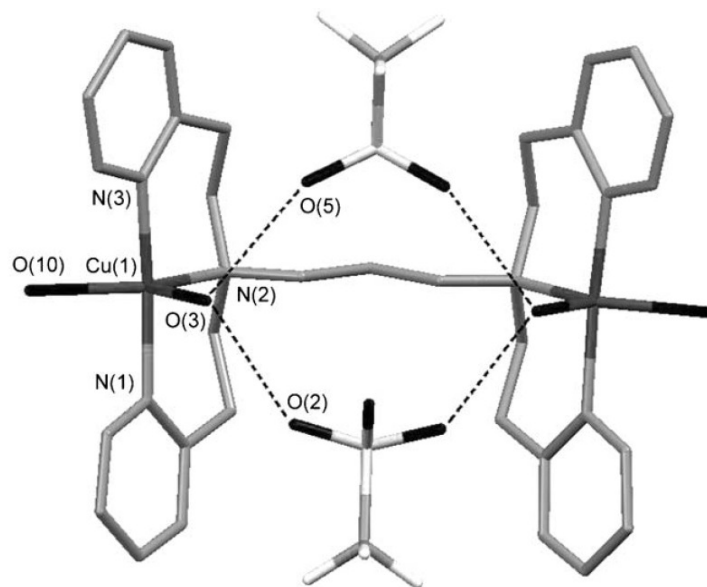


Figura 1.2.6. Estructura del complejo $[Cu_2(L)(CF_3SO_3)_2(H_2O)_4]^{2+}$ preparado por Speier y colaboradores⁽⁹⁾

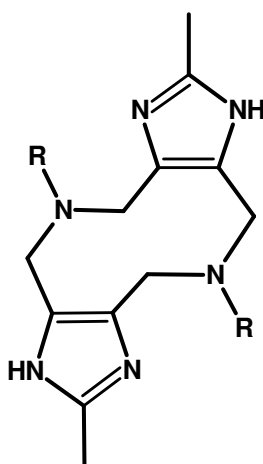
En nuestro grupo de investigación se ha reportado la síntesis de varios complejos dinucleares de cobre (II)⁽¹³⁻¹⁵⁾; dentro de este grupo destacan los complejos $Cu_2Dimeim$, $Cu_2Glimeim$ y Cu_2Dimp , pues a pesar de presentar distancias Cu–Cu mayores a 7 Å, presentan una actividad catalítica comparable con la actividad reportada en varios sistemas modelo⁽⁵⁷⁾. Por tal motivo, en nuestro grupo ha resultado de sumo interés intentar obtener complejos mononucleares de Cu(II) con estructuras análogas a los complejos mencionadas para comparar la actividad catalítica de estos complejos y determinar, a través de esta comparación, la importancia de los dos sitios de cobre en la reactividad los sistema modelo aunque éstos no se encuentren relativamente cerca.

A continuación se hará una breve discusión del trabajo realizado en nuestro grupo de investigación, así como los resultados obtenidos en el mismo, para que a partir de ellos pueda comprenderse de mejor forma los resultados del presente trabajo.

1.3 Estudios sistemáticos de complejos de cobre con ligantes derivados de imidazol obtenidos en el grupo de investigación

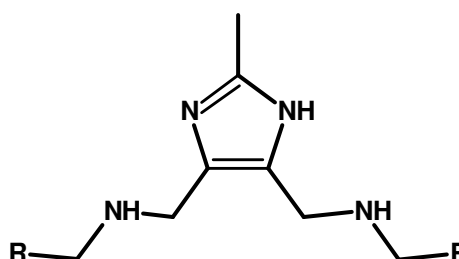
1.3.1 Aspectos generales

Los ligantes utilizados en la síntesis de complejos dinucleares, se han obtenido a través de una reacción de Mannich en medio básico⁽³⁷⁾ ; de este modo se han obtenido ligantes “cerrados” y ligantes “abiertos”, según la estructura que presentan (figura 1.3.1).



ligante tipo "cerrado"

R= N,N, trimetiletilendiamina;
glicina;
2-aminometilpiridina



ligante tipo "abierto"

R= alanina;
leucina;
fenilalanina;
metionina

Figura 1.3.1. Ligantes obtenidos en el grupo de investigación

La característica común en los ligante de tipo “cerrado” es la presencia de un heterociclo de 10 miembros denominado anillo hexahidro diazecino. Este anillo presenta dos sitios tridentados capaces de coordinarse con los iones de Cu^{2+} . A partir de los ligantes de tipo “cerrado” se han obtenido los complejos $\text{Cu}_2\text{Glimeim}$ (figura 1.3.2), Cu_2Dimeim (figura 1.3.3.) y Cu_2Dimp (figura 1.3.4). La estructura obtenida mediante difracción de rayos X, muestra que estos complejos presentan una gran similitud en la esfera de coordinación del los sitios de cobre. Los dos primeros complejos muestran en su estructura dos sitios de cobre equivalentes, con una geometría de pirámide de base

cuadrada. El complejo Cu_2Dimp presenta una geometría tetragonal con interacciones axiales débiles.

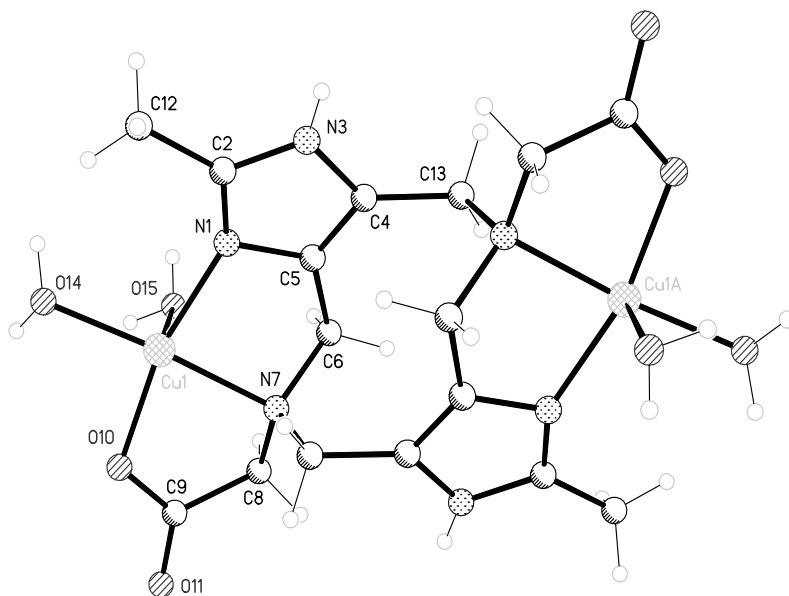


Figura 1.3.2. Estructura cristalina del complejo $[\text{Cu}_2\text{Glimeim}(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$

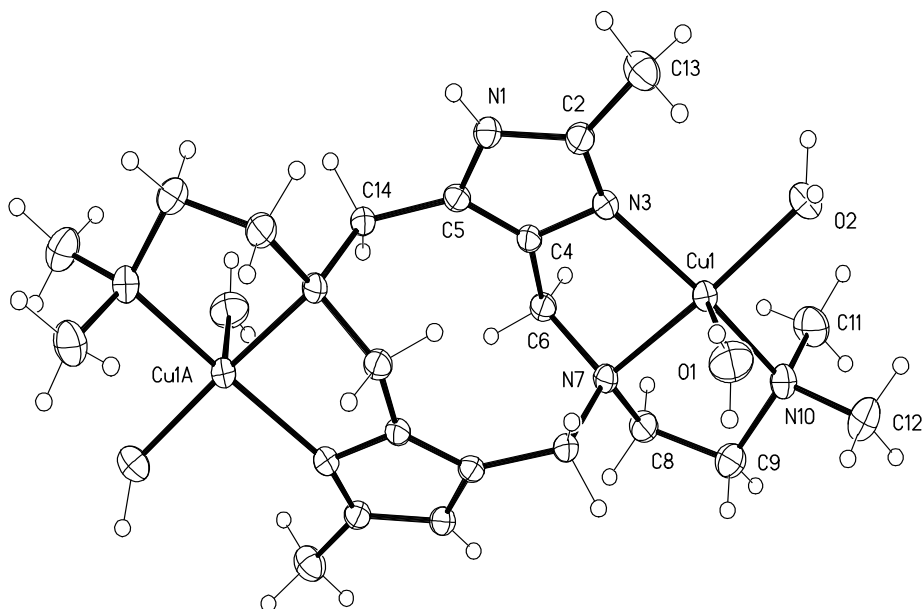


Figura 1.3.3. Estructura cristalina del complejo $[\text{Cu}_2\text{Dimeim}(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$

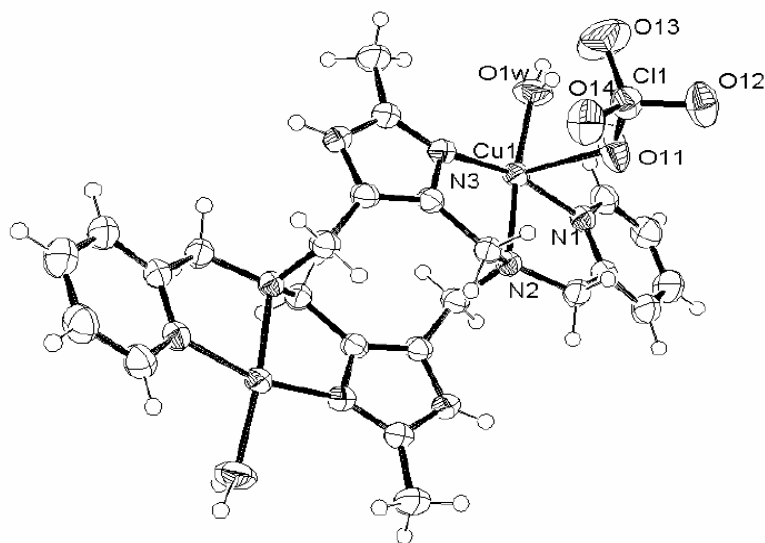


Figura 1.3.4. Estructura cristalina del complejo $[Cu_2Dimp(H_2O)_2](ClO_4)_4$

Asimismo, este grupo de compuestos se distingue de la gran mayoría de los sistemas modelo reportados de la catecol oxidasa por los valores tan grandes en las distancias intramoleculares Cu–Cu, los cuales no varían demasiado entre un complejo y otro (tabla 1.3.1).

Complejo	Distancia intramolecular Cu–Cu (Å)
$[Cu_2Dimeim(H_2O)_4](BF_4)_4$	7.44
$[Cu_2Glimeim(H_2O)_4](NO_3)_2$	7.36
$[Cu_2Dimp(H_2O)_2](ClO_4)_4$	7.37

Tabla 1.3.1. Distancias Cu–Cu en los complejos dinucleares de cobre (II)

A pesar de la alejada disposición entre los átomos de Cu(II), estos sistemas presentan valores de momento magnético bajos en estado sólido, lo cual sugiere la existencia de un acoplamiento antiferromagnético en los complejos; dicho acoplamiento provoca una disminución en el paramagnetismo de estos sistemas. Cabe mencionar que en estado sólido, el momento magnético puede verse abatido por acoplamientos antiferromagnéticos intermoleculares.

Asimismo se realizaron estudios de RPE en disolución congelada (77 K, MeOH/H₂O) de los complejos dinucleares de cobre^(15,57); los tres complejos mostraron un espectro axial con un patrón de siete líneas en la región de g paralelo (g_{||}). Este espectro tiene una constante de acoplamiento promedio de A₂=78 G lo que sugiere la existencia de un acoplamiento, aunque débil, entre los sitios de cobre en los complejos. De esta forma, a pesar de la alejada disposición de los sitios de Cu(II) los complejos dinucleares muestran una interacción magnética Cu-Cu, semejante a la observada en un gran número de sistemas modelo de la catecol oxidasa.

La característica de los ligantes de tipo “abierto” es la capacidad de formar un puente imidazolato una vez que se coordina con el ion de cobre. A partir de un ligante de tipo “abierto” se obtuvo el complejo Cu₂Fenmeim⁽⁴⁹⁾, cuya estructura cristalina se presenta en la figura 1.3.5. En la estructura se observa que los átomos de cobre se encuentran en entornos de coordinación semejantes debido a la formación del puente imidazolato. La geometría alrededor del cobre es de pirámide de base cuadrada distorsionada tetragonalmente. Otros sistemas modelo que presentan estructuras similares a las del Cu₂Fenmeim son los complejos Cu₂Metmeim, Cu₂Leumeim y Cu₂Alameim^(43,49).

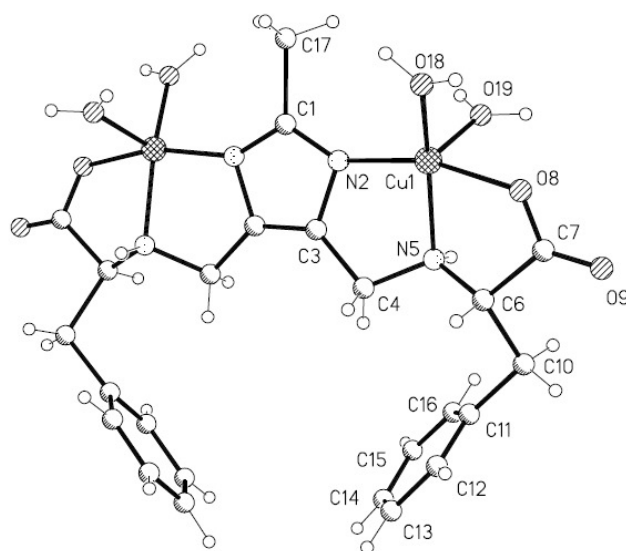


Figura 1.3.5. Estructura cristalina del complejo [Cu₂Fenmeim(H₂O)₄]¹⁺

En la literatura se encuentran reportados solamente algunos estudios de sistemas modelo de la catecol oxidasa en los que se relaciona la estructura y la actividad catalítica en la oxidación de catecoles, así como los factores que afectan dicha actividad. Por tal

motivo nuestro grupo de trabajo decidió llevar a cabo un estudio más sistemático de complejos dinucleares de cobre con ligantes derivados de imidazol en relación con su actividad catalítica.

1.3.2. Evaluación de la actividad catalítica de los complejos de Cu(II)

La mayor parte de los estudios de la actividad catalítica de sistemas modelo de la catecol oxidasa se han realizado siguiendo la reacción de oxidación del 3,5-DTBC en presencia de O₂. Este compuesto ha sido muy utilizado debido a su bajo potencial redox quinona/catecol, a la intensa banda de absorción que presenta la 3,5-DTBQ, y a que el impedimento estérico de los grupos sustituyentes evitan la aparición de reacciones subsecuentes como la ruptura del anillo⁽¹²⁾. Los medios de reacción que se han empleado en estos estudios son variados, utilizándose comúnmente agua, metanol, etanol, acetonitrilo o una mezcla de estos disolventes. Los estudios se han llevado a cabo en condiciones de pH muy variadas. La actividad catalítica de los complejos obtenidos en nuestro grupo de investigación también se ha determinado siguiendo la reacción de oxidación del 3,5-DTBC^(16,17,49).

En nuestro grupo de trabajo se ha determinado la actividad catalítica de complejos con ligantes tipo “abierto” y tipo “cerrado”. Así, Sosa⁽⁴⁹⁾ mostró que en la mezcla MeCN/H₂O 1:1 a pH=7.5, los complejos con ligantes de tipo “cerrado” Cu₂*Dimeim* y Cu₂*Glimeim* mostraban una actividad catalítica mayor que complejos con ligantes de tipo “abierto” como Cu₂*Fenmeim*. La evaluación de la eficiencia catalítica de estos sistemas se ha realizado utilizando el modelo de Michaelis-Menten. Este mismo modelo también ha sido utilizado en el estudio de un otros sistemas modelo de enzimas de cobre.

Por otra parte, los complejos Cu₂*Dimeim*, Cu₂*Glimeim* y Cu₂*Dimp* han sido objeto de un estudio cinético más extenso comparado con los complejos con ligantes de tipo “abierto”. Los estudios de estos compuestos se han realizado en mezclas al 50% MeOH/H₂O y MeCN/H₂O a diferentes valores de pH. Los resultados del estudio de estos complejos han mostrado que la actividad catalítica se favorece en la mezcla MeOH/H₂O y en condiciones de pH alcalino^(16,17).

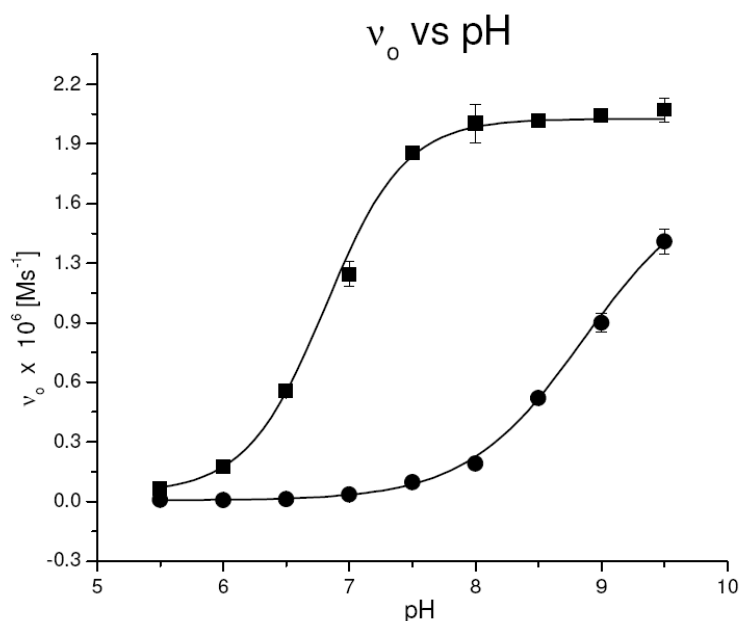
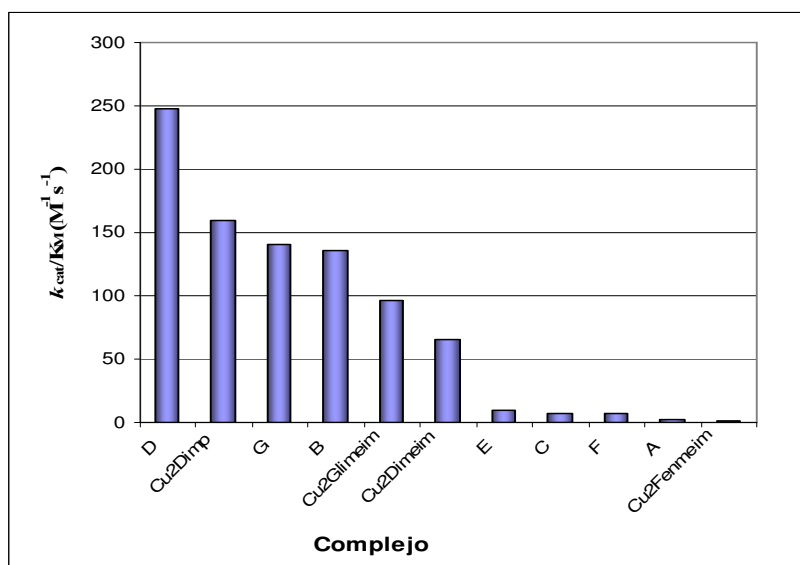


Figura 1.3.4. Velocidad inicial de la oxidación de 3,5-DTBC en función del pH: (a) en presencia de Cu₂Dimp, (b) sin el catalizador de cobre

Una comparación de la actividad catalítica de estos complejos con respecto a otros sistemas modelo de la catecol oxidasa (figura 1.3.5) muestra que los complejos dinucleares Cu₂Dimeim, Cu₂Glimeim y Cu₂Dimp presentan valores de eficiencia catalítica intermedios a los valores de la eficiencia catalítica de diversos sistemas modelo reportados, y cuyos sitios de cobre se encuentran relativamente más cercanos^(5,7,30,32,35).



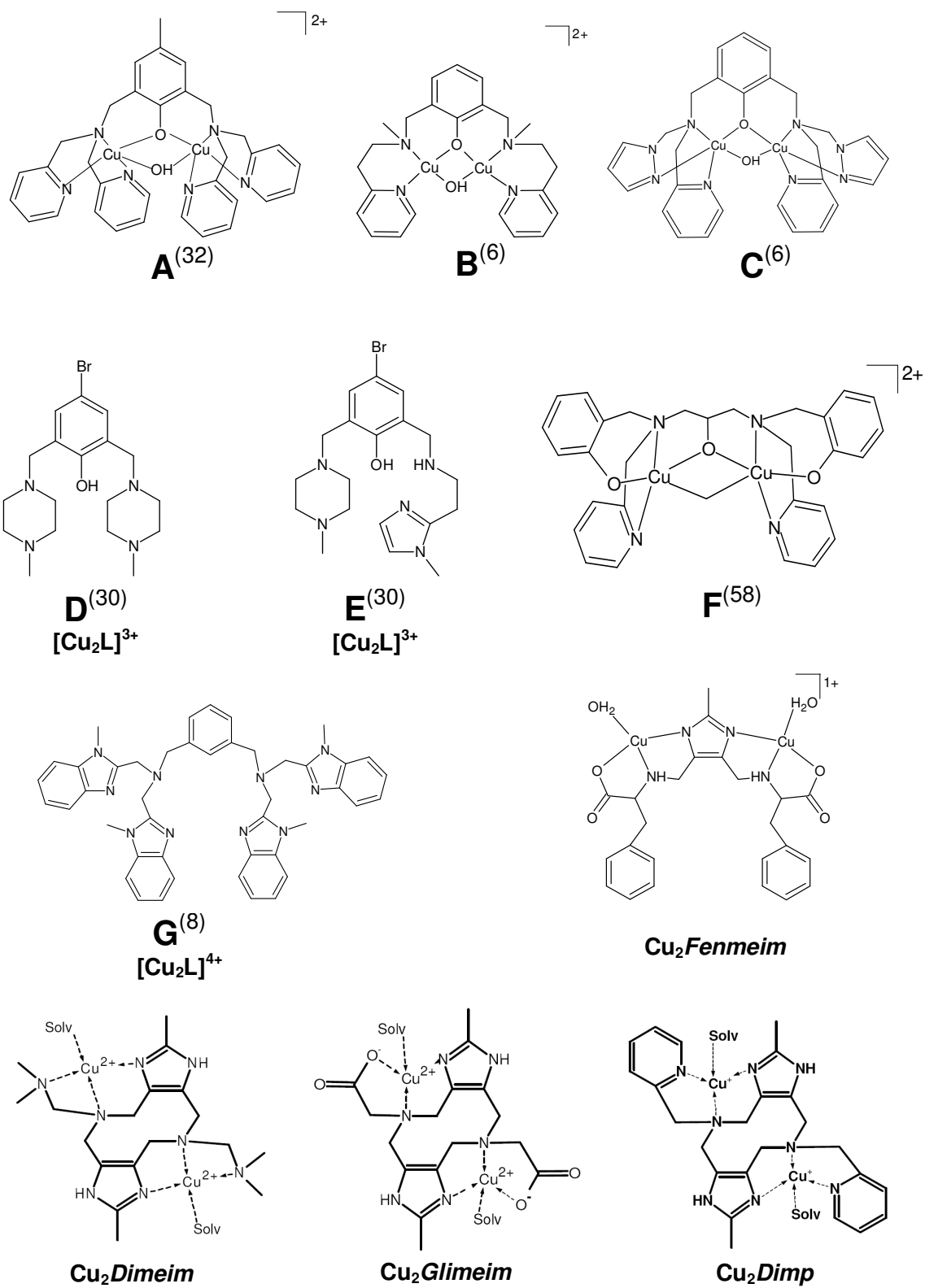


Figura 1.3.5. Actividad catalítica de sistemas modelo de la catecol oxidasa reportados por algunos grupos de investigación^(6,8,30,32,58).

La eficiencia catalítica de estos sistemas se denota por medio del cociente k_{cat}/K_M , en donde k_{cat} es la constante catalítica y K_M es la constante de Michaelis-Menten. Estos parámetros han sido obtenidos en estudios cinéticos en condiciones de concentración constante del catalizador y variando la concentración de 3,5-DTBC.

Con los resultados de la actividad catalítica de estos compuestos, en nuestro grupo se ha despertado el interés en conocer si en estos sistemas, los sitios de Cu(II), muestran algún tipo de cooperatividad o sinergia para llevar a cabo la catálisis, o bien si los sitios de cobre actúan de manera independiente tal y como es esperado en sistemas mononucleares.

1.3.3 Evaluación del comportamiento electroquímico de los complejos de cobre (II)

Con el fin de comprender la relación estructura-actividad en los complejos dinucleares de cobre, en el grupo de trabajo se han realizado estudios electroquímicos en los medios en los cuales se ha determinado la actividad catalítica de los sistemas modelo de cobre. Con estos trabajos se ha buscado por una parte entender la relación entre las propiedades electroquímicas de los complejos y su actividad catalítica, y por otra, se ha buscado emplear la electroquímica como una herramienta para estudiar algunos otros factores, tales como el pH y el disolvente, los cuales podrían afectar la actividad catalítica de estos sistemas.

En este sentido, Sosa^(35,49) realizó un estudio electroquímico completo del complejo de tipo “abierto” $\text{Cu}_2\text{Fenmeim}$ empleando para ello las técnicas de voltamperometría cíclica, cronoamperometría y espectroelectroquímica en el medio MeCN/H₂O a pH=7.5. A partir de dichos estudios Sosa propuso algunos mecanismos respecto a los procesos que sufre el complejo $\text{Cu}_2\text{Fenmeim}$ una vez que es reducido electroquímicamente (figura 1.3.5).

En estos mecanismos se ha propuesto, por ejemplo, reacciones de desproporción y de disociación de una especie reducida del complejo mencionado. Este trabajo ha permitido hacer una generalización respecto a las propiedades electroquímicas de los complejos de tipo “abierto” y encontrar una relación con la actividad catalítica mostrada por este grupo de compuestos.

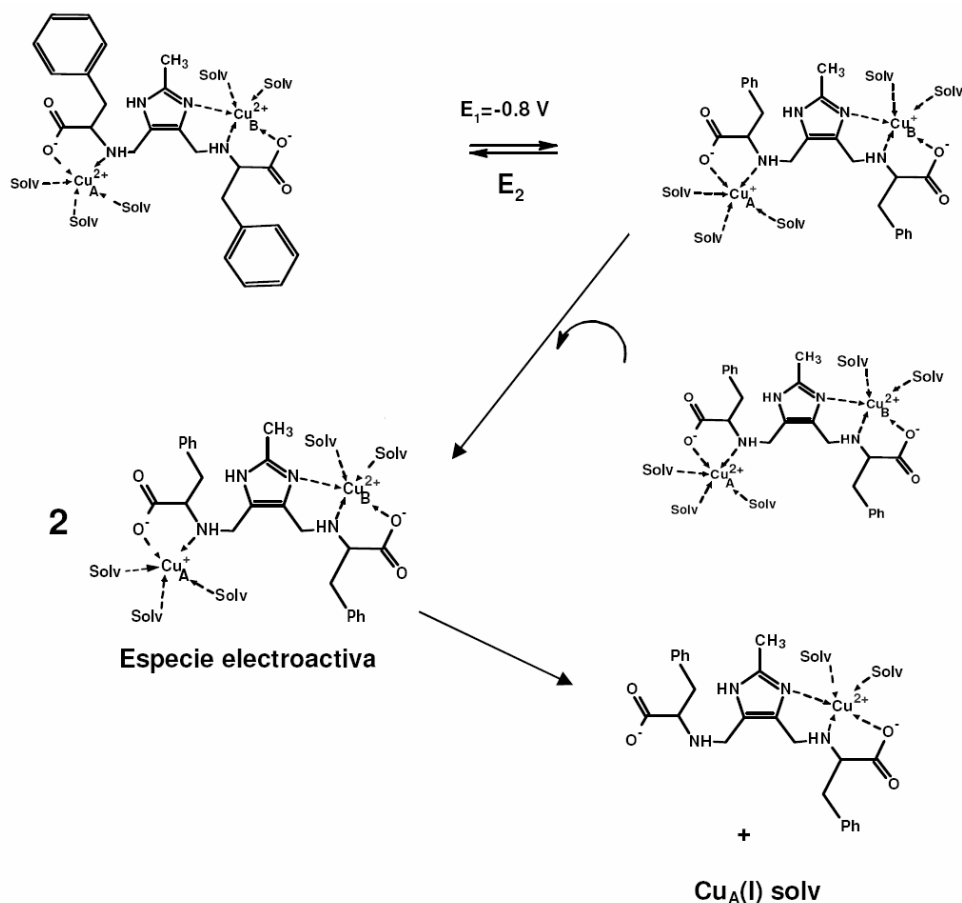


Figura 1.3.6. Mecanismo de desproporción y posterior descoordinación de uno de los sitios de Cu(II) en el complejo $\text{Cu}_2\text{Fenmeim}$, propuesto por Sosa^(35,49)

En lo que respecta a los sistemas de tipo “cerrado”, se han llevado a cabo estudios electroquímicos de los complejos Cu_2Dimeim y $\text{Cu}_2\text{Glimeim}$ en las mezclas $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ y $\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}$ 1:1 a diferentes valores de pH con el fin de evaluar la influencia del medio de reacción en la actividad catalítica de los complejos^(17,57). También se han llevado a cabo estudios de la sal $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ en los mismos medios con el fin de explicar algunas de las señales obtenidas en los voltamperogramas de los complejos de cobre(II).

El estudio electroquímico en el medio $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ resulta ahora de particular interés ya que en este medio los complejos han mostrado una capacidad catalítica significativa. Los voltamperogramas de la sal $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ en $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ a $\text{pH}=7.5$ y $\text{pH}=8.0$ sugieren un comportamiento rápido en el proceso $\text{Cu}(\text{II}) \rightarrow \text{Cu}(\text{I})$. Sin embargo, la estabilidad de la especie $\text{Cu}(\text{I})$ depende del pH del medio (figura 1.3.7).

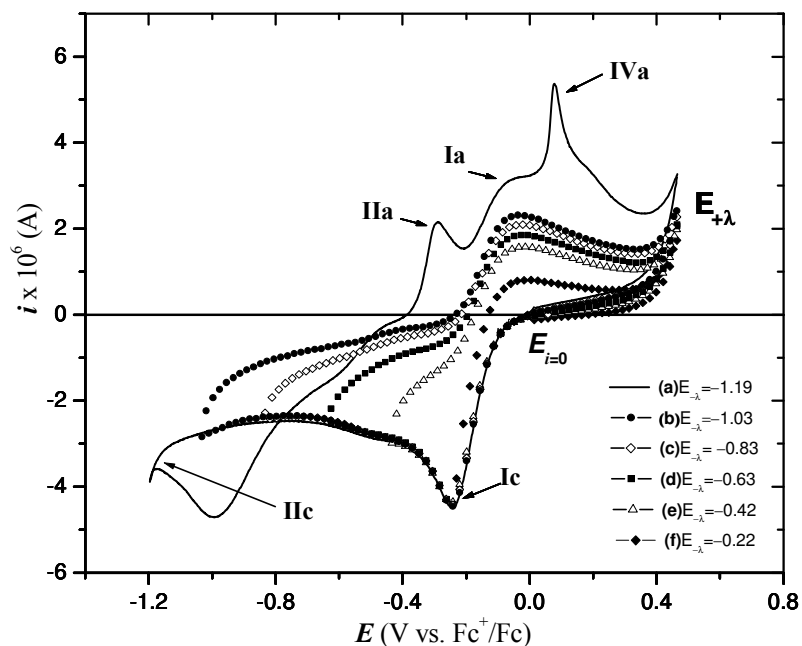


Figura 1.3.7. VC con potenciales de inversión variables de la sal $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ en $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}_{\text{pH}=7.5}$ a una concentración menor a 1 mM en presencia de Hepes 0.1M. Electrodo de trabajo: carbón vítreo; Velocidad de barrido: 0.1 V/s⁽¹⁷⁾.

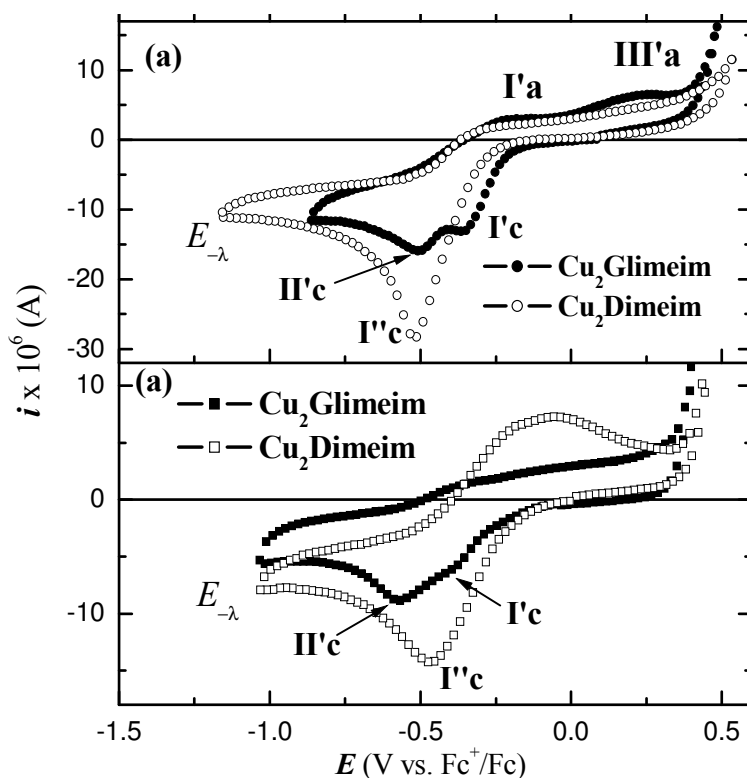


Figura 1.3.8. VC de los complejos Cu_2Dimeim y $\text{Cu}_2\text{Glimeim}$ en (a) $\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}_{\text{pH}=8.5}$ y (b) $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}_{\text{pH}=8.0}$. Electrolito soporte: Hepes 0.1 M; velocidad de barrido: 100 mV/s; electrodo de trabajo: carbón vítreo⁽¹⁷⁾.

Los complejos Cu_2Dimeim y $\text{Cu}_2\text{Glimeim}$ presentan reacciones acopladas para los procesos de reducción $\text{Cu(II)} \rightarrow \text{Cu(I)}$ en los medios $\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}$ y $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (figura 1.3.8 (a) y (b)). En el caso del complejo $\text{Cu}_2\text{Glimeim}$, a pesar de que se propone la presencia de dos sitios de coordinación equivalentes en el complejo, se distinguen dos procesos de transferencia monoeléctrica. El complejo Cu_2Dimeim presenta una sola señal de reducción, sin embargo esta señal es muy ancha, por lo que con estos resultados aún no se ha determinado con certeza si en la reducción del complejo Cu_2Dimeim ocurre una transferencia de dos electrones al mismo valor de potencial, o bien, si ocurre la transferencia de dos electrones en dos valores de potencial muy parecidos. El comportamiento “irreversible” que muestran estos complejos puede estar asociado con la presencia de reacciones acopladas, que como en el caso de los complejos de tipo “abierto”, podrían ocasionarse por una gran estabilización de especies de Cu(I) mediante la coordinación de moléculas de acetonitrilo. La presencia de dos señales de reducción de los iones de Cu(II) podría estar relacionado con una interacción entre los sitios de Cu(II) , tal y como se ha visto mediante los estudios magnéticos que se han realizado a estos compuestos.

Capítulo 2

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis

A pesar de tener estructuras análogas, los complejos mononucleares *CuEmitrim* y *CuEmisar* son catalizadores menos eficientes que los complejos dinucleares análogos *Cu₂Dimeim* y *Cu₂Glimeim* en la reacción de oxidación de 3,5-*di-ter*-butilcatecol en el medio MeOH/H₂O.

Objetivo general

Obtener y caracterizar, mediante estudios electroquímicos y cinéticos, dos complejos mononucleares de Cu(II), cuyas estructuras sean análogas a los complejos dinucleares $Cu_2Dimeim$ y $Cu_2Glimeim$, para identificar algunos de los factores que determinan la actividad catalítica de sistemas modelo de la catecol oxidasa.

Objetivos particulares

- Sintetizar los ligantes *Emitrim* y *Emisar*, derivados de 2-etil-4-metil-imidazol mediante una reacción de Mannich en medio alcalino y caracterizarlos mediante técnicas analíticas como resonancia magnética nuclear, espectroscopía infrarroja, análisis elemental y espectrometría de masas.
- A partir de los ligantes *Emitrim* y *Emisar*, sintetizar los correspondientes complejos mononucleares de Cu(II) y caracterizarlos mediante análisis elemental, espectrometría de masas, difracción de rayos X, espectroscopía infrarroja y UV-visible, conductividad, susceptibilidad magnética y potenciometría.
- Estudiar el comportamiento electroquímico de los complejos mononucleares de Cu(II), y determinar el efecto de la presencia de oxígeno en dicho comportamiento, empleando para ello la técnica de voltamperometría cíclica.
- Estudiar, mediante espectrofotometría UV-visible, la actividad catalítica de los complejos de cobre en la reacción de oxidación de 3,5-di-*ter*-butilcatecol.
- Comparar el comportamiento electroquímico y cinético de los complejos mononucleares con el observado por los complejos dinucleares análogos $Cu_2Dimeim$ y $Cu_2Glimeim$.

Capítulo 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Síntesis y caracterización de ligantes derivados de 2-etil-4-metilimidazol

A continuación se discute la síntesis de dos nuevos ligantes, *Emitrim* y *Emisar*, cuyas estructuras son análogas a las que presentan los ligantes dinucleantes *Dimeim* y *Glimeim*^(13,15). Así, estos ligantes serán capaces de formar complejos mononucleares de Cu(II).

3.1.1 Síntesis del ligante *Emitrim*

La síntesis del ligante *Emitrim* se llevó a cabo a través de una reacción de Mannich en medio básico (Figura 3.1.1). Esta reacción permite introducir grupos aminometil a un anillo de imidazol.

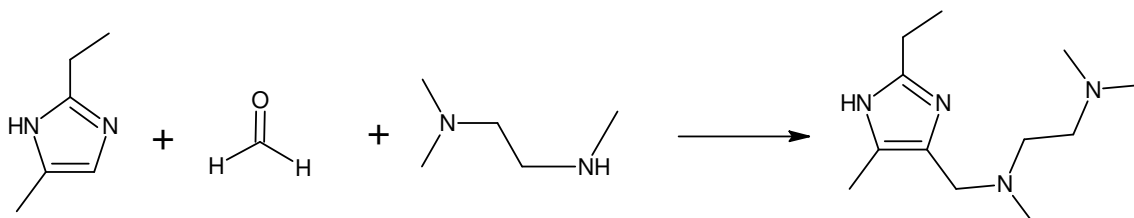


Figura 3.1.1 Esquema de reacción de la síntesis del ligante *Emitrim*

Para llevar a cabo la síntesis del ligante *Emitrim* se hizo reaccionar 1 equivalente de 2-etil-4-metilimidazol con 1 equivalente de N,N,N'-trimetiletildiamina; posteriormente se agrega un equivalente de formaldehído. Esta mezcla tenía un pH de 11.6, por lo que no fue necesario incrementar la basicidad en el medio de reacción. La mezcla se mantuvo en agitación constante a temperatura ambiente durante 10 días. El producto de la reacción es un líquido viscoso de color amarillo. Mediante cromatografía en capa fina se determinó la obtención de un producto de la reacción de Mannich.

La reacción de Mannich ha sido utilizada para condensar grupos aminometil en anillos imidazólicos⁽³⁷⁾. El anillo de imidazol presenta cuatro sitios posibles de reacción (1, 2, 4 y 5); la N-sustitución en la posición 1 se favorece en medio ácido, mientras que en medio básico se favorece la C-sustitución en las posiciones 2, 4 y 5; debido a que en medio básico la sustitución en el nitrógeno es una reacción reversible, se favorece la acumulación de productos sustituidos en el carbono.

En medio básico, se propone que la reacción inicia con la formación del aminometilol. Este intermediario puede reaccionar de forma reversible con el anión imidazolato en el nitrógeno, o en cualquiera de los carbonos de forma prácticamente irreversible.

3.1.2. Caracterización del ligante *Emitrim*

3.1.2.1. Espectroscopia de Infrarrojo (IR)

El espectro de infrarrojo del ligante *Emitrim* se muestra en la figura 3.1.2. Este espectro se obtuvo utilizando pastillas de KBr. En el espectro se observan señales que coinciden con los grupos funcionales de la estructura propuesta para el ligante. El análisis del espectro de infrarrojo, aunque no aporta mucha información respecto a la estructura de un ligante, es útil para identificar los grupos funcionales contiene y para detectar cambios cuando este ligante se coordina. Las señales, así como su asignación, se resumen en la tabla 3.1.1.

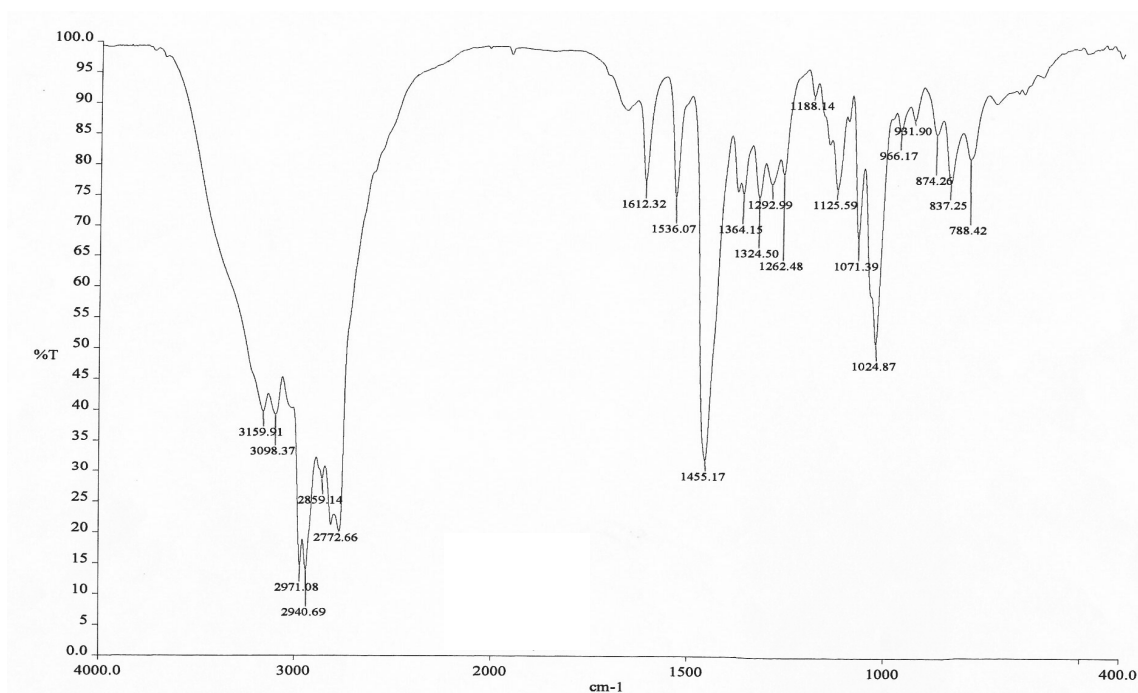


Figura 3.1.2 Espectro de infrarrojo del ligante Emitrim

Las bandas que se observan entre 2971 y 2859 cm^{-1} corresponden a las vibraciones de metilos y metilenos. Las señales que aparecen alrededor de 3100, 1600 y 1400 cm^{-1} confirmaron la presencia del anillo de imidazol.

Frecuencia (cm^{-1})	Asignación
3160 y 3098	N-H del anillo de imidazol
entre 2971 y 2859	$-\text{CH}_3$ y $-\text{CH}_2-$
1612	N=C del imidazol
1533	C=C del imidazol
1455	N-C del imidazol
1125	N-C amina alifática

Tabla 3.1.1. Señales de vibración observadas en el espectro de IR del ligante Emitrim

3.1.2.2. Análisis elemental

Mediante el análisis elemental se determinó el porcentaje de C, H y N en una muestra del ligante *Emitrim*. En la tabla 3.1.2 se presentan los resultados obtenidos a través de este análisis así como los porcentajes calculados de los elementos analizados.

Elemento	% Experimental	% Calculado*	% Error
C	54.95	55.35	0.73
H	10.85	10.84	0.09
N	22.09	21.52	2.6

* Porcentaje calculado para *Emitrim*•2H₂O (C₁₂H₂₈N₄O₂)

Tabla 3.1.2 Análisis elemental del ligante *Emitrim*

3.1.2.3 Espectrometría de masas

El espectro de masas del ligante *Emitrim* (Figura 3.1.3) se obtuvo mediante la técnica FAB+; la matriz empleada fue alcohol *p*-nitrobencílico. En el espectro se puede apreciar que el ion molecular (M+1) del ligante *Emitrim* aparece en 225 m/Z que coincide con el peso molecular esperado para este ligante.

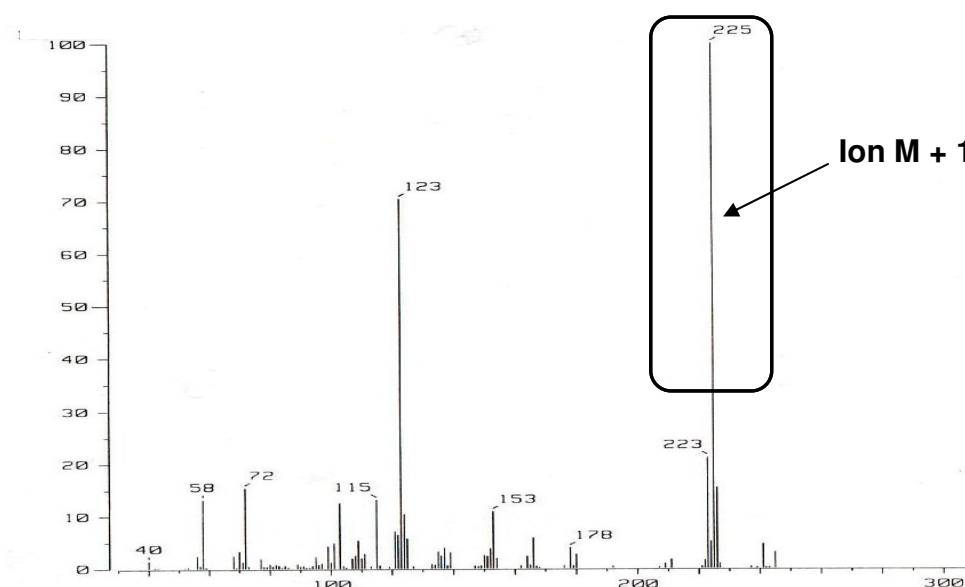


Figura 3.1.3 Espectro de masas del ligante *Emitrim*

3.1.2.4. Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Para la caracterización del ligante mediante RMN se utilizó como disolvente D₂O en todos los experimentos. Se realizaron estudios de resonancia en una dimensión (¹H y ¹³C) y en dos dimensiones (experimento HETCOR).

3.1.2.4.1. RMN de ¹H

El estudio de RMN de ¹H resultó de gran importancia en la caracterización de los nuevos ligantes sintetizados. En la figura 3.1.4 se muestra el espectro del ligante *Emitrim*. A continuación se detallan las asignaciones correspondientes para cada una de las señales del espectro; las asignaciones se realizaron con base en la multiplicidad, el desplazamiento y la integración de cada señal.

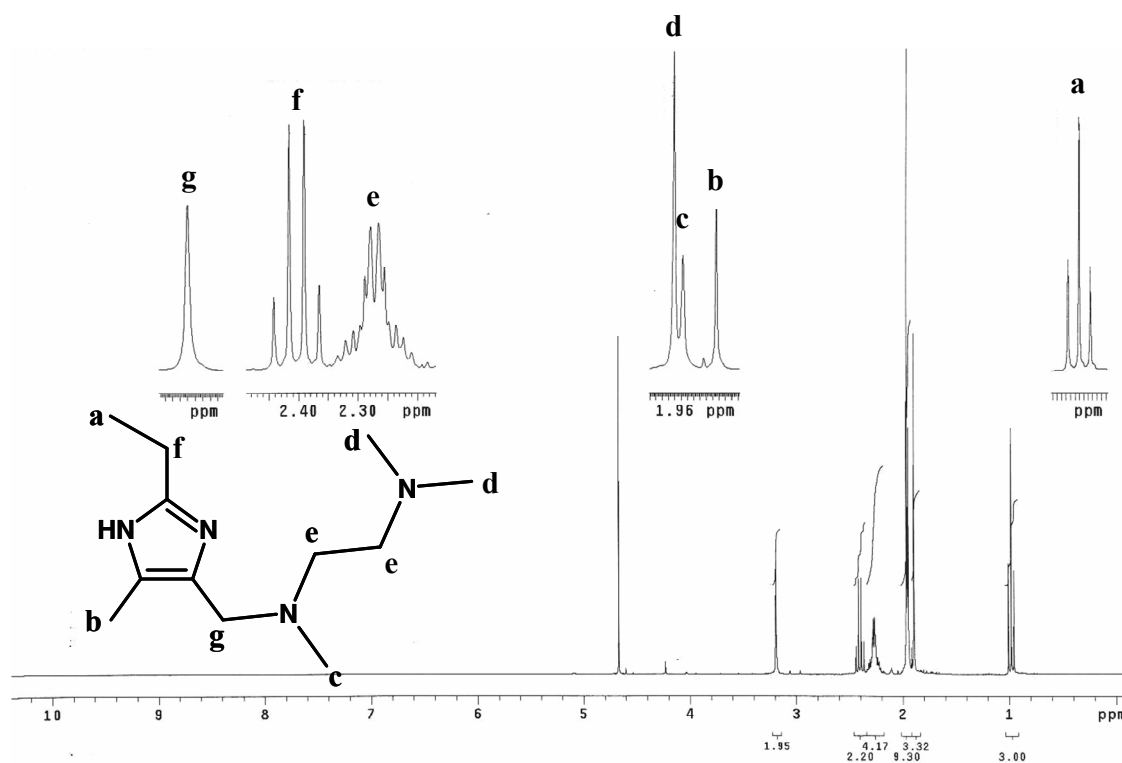


Figura 3.1.4 Espectro de RMN de ¹H del ligante *Emitrim*

El triplete **a** que aparece a más alto campo y que integra para 3 protones corresponde al metilo terminal del grupo etilo que se encuentra en la posición 2 del anillo de imidazol, en tanto que el cuadruplete **f** se asigna a los protones del metileno sobre la misma posición del anillo. El singulete **d** que integra para 6 protones se asigna a los dos metilos que yacen sobre un nitrógeno de la amina, mientras que el singulete **c** se asocia al metilo que se encuentra sustituido sobre el otro nitrógeno de la amina. Por su integración y desplazamiento hacia bajo campo, el singulete **g** se asocia a los protones del metileno provenientes de la condensación del formaldehído al anillo de imidazol. El singulete **b** corresponde al metilo que se encuentra directamente unido al anillo de imidazol. Finalmente, la señal **e** corresponde a la superposición de las señales de dos pares de protones químicamente equivalentes, que están acoplados y que presentan un desplazamiento químico muy parecido. Dichas señales corresponden a los metilenos provenientes de la amina.

El desplazamiento, la multiplicidad, las constantes de acoplamiento (*J*) y la integración para cada una de las señales del espectro se resumen en la tabla 3.1.3.

Señal	δ (ppm)	Multiplicidad	<i>J</i> (Hz)	Integración
a	0.98	Triplete	7.8	3 H
b	1.89	Singulete	---	3 H
c	1.95	Singulete	---	3 H
d	1.96	Singulete	---	6H
e	2.27	Sin resolver	---	4H
f	2.38	cuadruplete	7.8	2 H
g	3.19	Singulete	---	2 H

Tabla 3.1.3 Señales de en el espectro de RMN de ^1H del ligante Emitrim

3.1.2.4.2. RMN de ^{13}C y experimento HETCOR

Para complementar la información obtenida a partir de los espectros de ^1H se llevaron a cabo estudios de RMN de ^{13}C . Asimismo se llevó a cabo el experimento en dos dimensiones HETCOR (correlación heteronuclear). A partir de dicho experimento es posible observar el acoplamiento heteronuclear a un enlace de distancia, de modo que a partir de este estudio se pretendía observar la correlación entre protones y carbonos no cuaternarios.

En el espectro de ^{13}C (Figura 3.1.5) se observan 11 señales que corresponden a carbonos no equivalentes, mientras que en el espectro bidimensional HETCOR (Figura 3.1.6) se observa que 8 de los 11 carbonos, presentan acoplamiento con protón. Esta información coincide con lo esperado para la estructura del ligante *Emitrim*, que presenta 3 carbonos cuaternarios. La asignación de los carbonos cuaternarios, se realizó mediante cálculos del desplazamiento esperado para cada carbono; esta información se completó con la simulación del espectro de ^{13}C de este compuesto mediante el programa ChemSketch.

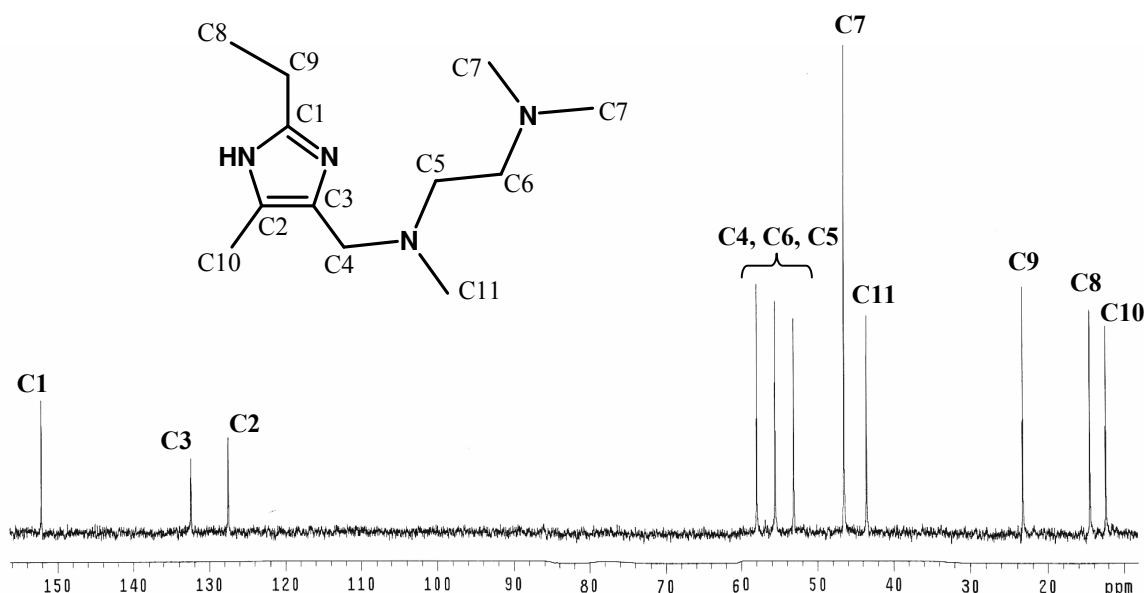


Figura 3.1.5 Espectro de ^{13}C del ligante *Emitrim*

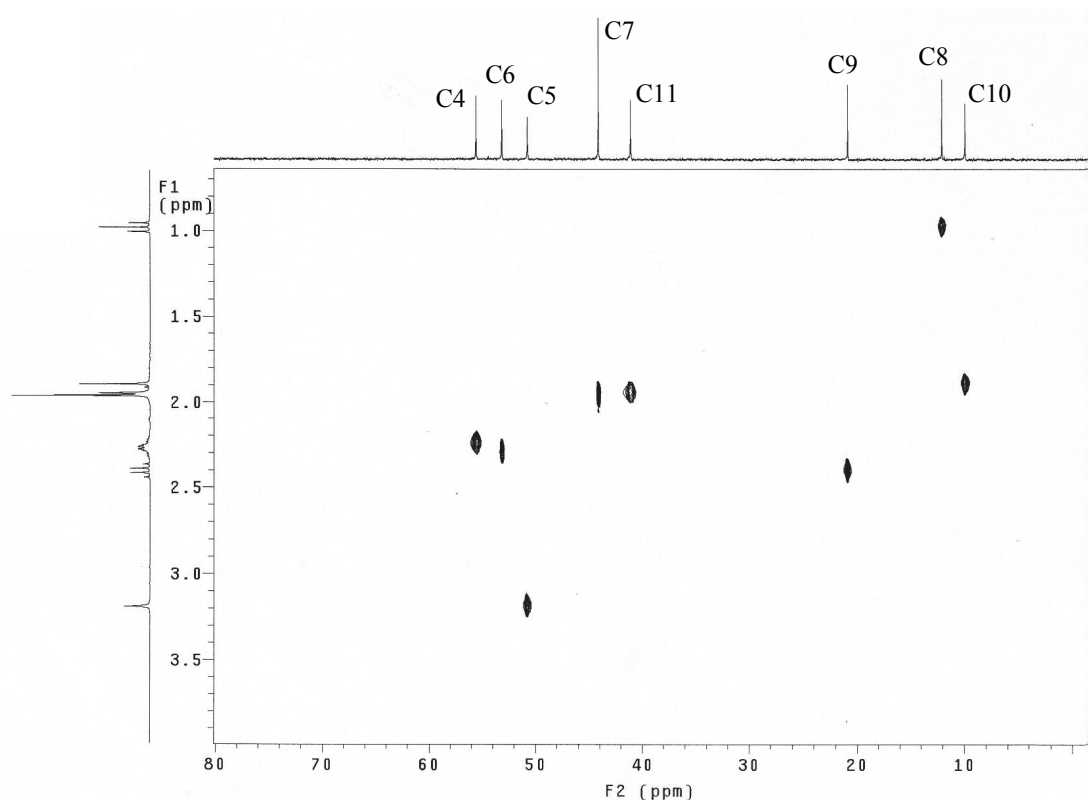


Tabla 3.1.6 Espectro HETCOR del ligante Emitrim

En la tabla 3.1.4 se resume la información obtenida a partir de estos dos experimentos.

Señal	δ (ppm)	HETCOR	Asignación
C1	152.10		C en la posición 2 del anillo
C2	127.52		C en la posición 4 del anillo de imidazol
C3	132.43		C en la posición 5 del anillo de imidazol
C4	57.65	Correlación con g	C del metileno proveniente de la condensación sobre el anillo
C5	53.86	Correlación con e	C del metileno unido al N sustituido con un metilo
C6	55.24	Correlación con e	C del metileno unido al N sustituido con 2 metilos
C7	46.57	Correlación con d	C de los dos metilos sobre uno del N de la amina
C8	14.47	Correlación con a	C del metilo terminal en la posición 2 del anillo
C9	23.30	Correlación con f	C del metileno en la posición 2 del anillo
C10	12.34	Correlación con b	C del metilo en la posición 4 del anillo
C11	43.56	Correlación con c	C del metilo sobre uno de los N de la amina

Tabla 3.1.4 Asignación de señales de RMN de ^{13}C del ligante Emitrim

3.1.3. Síntesis del ligante *Emisar*

Para llevar a cabo la síntesis del ligante *Emisar* se hace reaccionar en medio acuoso 1 equivalente de 2-etil-4-metilimidazol con 1 equivalente de ácido 2-(metilamino) acético (sarcosina). Posteriormente se agrega 1 equivalente de formaldehído; el pH de la mezcla de reacción se ajusta con trietilamina a un valor de 10.8. La mezcla de reacción se mantiene en agitación constante a temperatura ambiente durante 10 días. Transcurrido ese tiempo se evapora el disolvente. Se realizó una cromatografía en capa fina (hexano–acetato de etilo–metanol 70:20:10), observándose la presencia de un nuevo compuesto como producto de la reacción. Este producto es un líquido muy viscoso de color amarillo. El esquema de reacción se muestra en la figura 3.1.7.

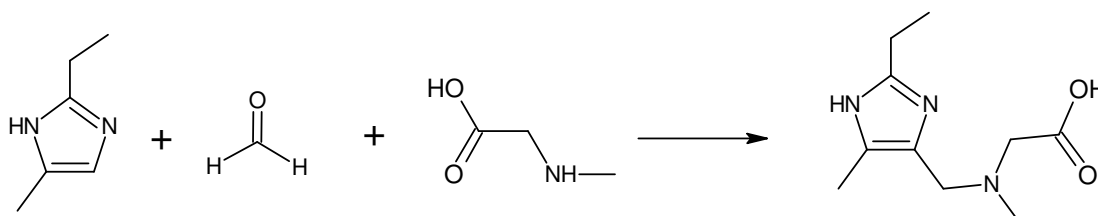


Figura 3.1.7 Síntesis del ligante *Emisar* a través de una reacción de Mannich

3.1.4. Caracterización del ligante *Emisar*

3.1.4.1 Espectroscopia de Infrarrojo

El espectro de infrarrojo del ligante *Emisar* se muestra en la figura 3.1.8. Las señales observadas en el espectro coinciden con los grupos funcionales en la estructura propuesta del ligante *Emisar*. En la tabla 3.1.5 se resumen las señales así como sus correspondientes asignaciones.

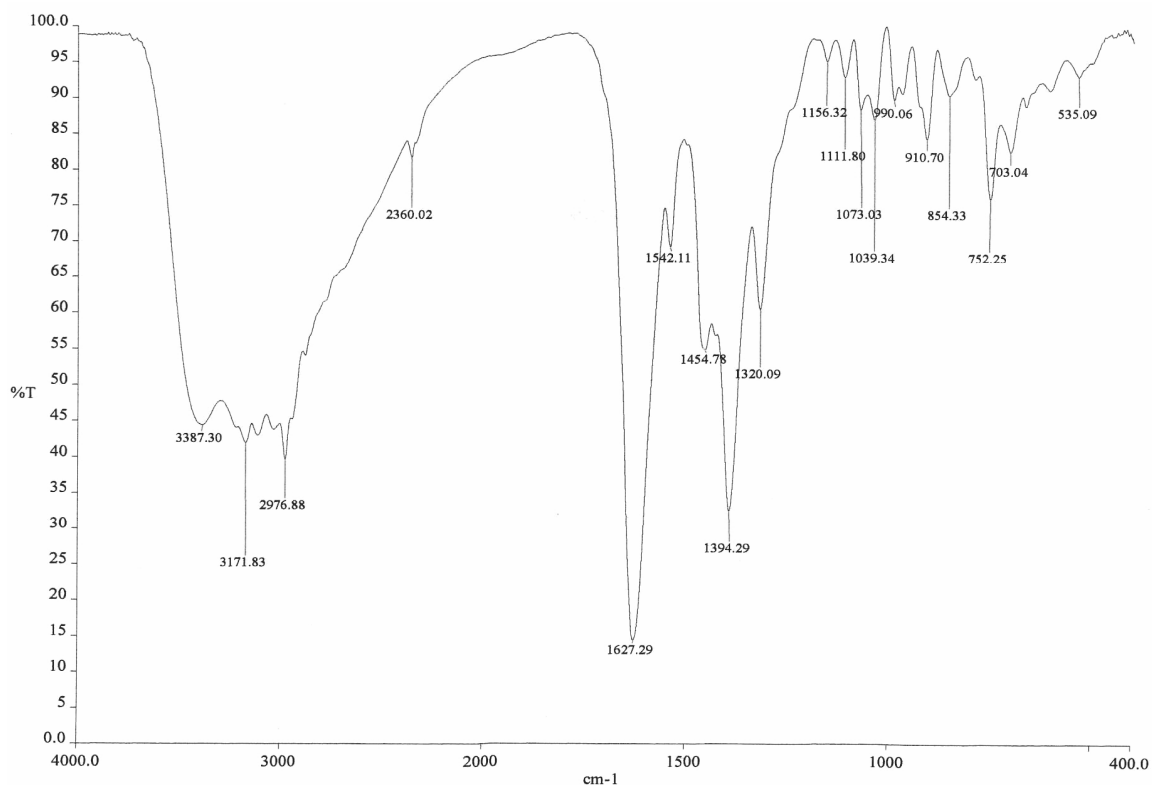


Figura 3.1.8 Espectro de infrarrojo del ligante Emisar

Las bandas de estiramiento C-H de metilos y metilenos se observan alrededor de 3000 cm^{-1} . La banda que aparece en 3387 cm^{-1} así como la intensa banda que se observa en 1627 cm^{-1} , confirman la presencia del grupo carboxilo en la molécula. Alrededor de 1550 y 1450 cm^{-1} aparecen las bandas características del anillo imidazólico. Las bandas de estiramiento C-N de amina alifática se observan alrededor de 1000 cm^{-1} .

Frecuencia (cm^{-1})	Asignación
3387	O-H del grupo carboxilo
3171	N-H del anillo de imidazol
entre 3000 y 2977	$-\text{CH}_3$ y $-\text{CH}_2-$
1627 y 1394	C=O y $\tilde{\text{C}}\text{O}$ del grupo carboxilo
1542	C=C del imidazol
1455	N-C del imidazol
Alrededor de 1000	N-C amina alifática

Tabla 3.1.5 Señales observadas en el espectro de IR del ligante Emisar

3.1.4.2. Espectrometría de masas

El espectro de masas del ligante *Emisar* (Figura 3.1.9) se obtuvo mediante la técnica FAB⁺. La matriz empleada fue alcohol *p*-nitrobencílico. En el espectro se puede apreciar que el ion molecular (M+1) del ligante *Emisar* aparece en 212 m/z que coincide con el peso molecular esperado para este ligante.

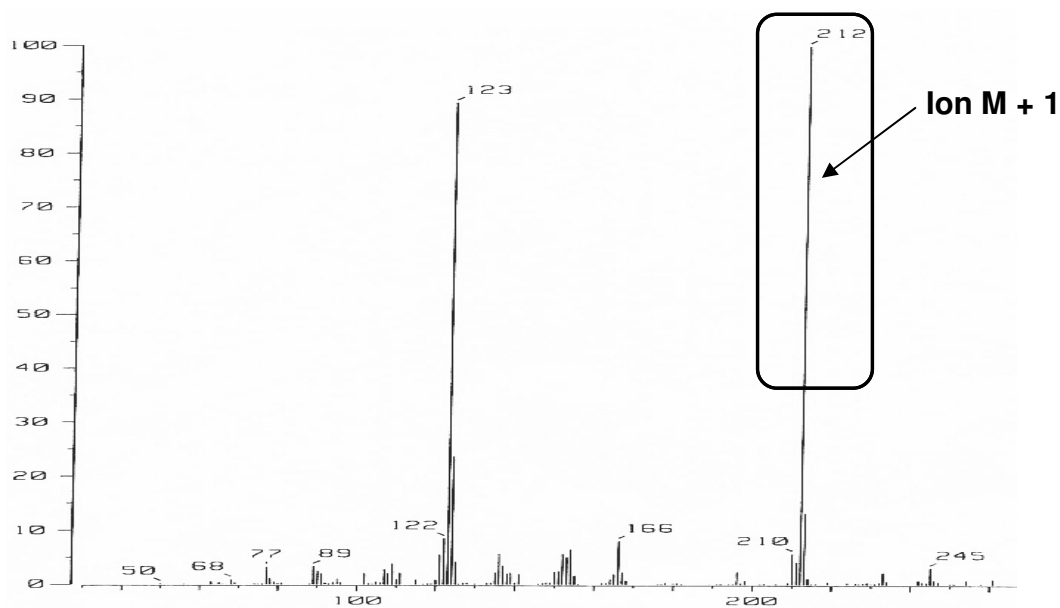


Figura 3.1.9 Espectro de masas del ligante *Emisar*

3.1.4.3. Análisis elemental

Mediante el análisis elemental se determinó el porcentaje de C, H y N en una muestra del ligante *Emisar*. En la tabla 3.1.6 se muestran los resultados obtenidos a través de este análisis así como los porcentajes calculados. Resulta importante destacar que en comparación al ligante *Emirim*, los porcentajes de error para cada elemento en este ligante son mayores, lo cual puede atribuirse a la presencia de residuos de trietilamina en la muestra; hay que recordar que en la reacción de Mannich se utilizó dicha amina para aumentar el pH del medio.

Elemento	% Experimental	% Calculado*	% Error
C	49.73	48.57	2.33
H	8.89	8.56	3.71
N	17.67	16.99	3.80

* Porcentaje calculado para *Emisar*•2H₂O (C₁₀H₂₁N₃O₄)

Tabla 3.1.6 Análisis elemental del ligante *Emisar*

3.1.4.4. Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

En la caracterización del ligante *Emisar* mediante RMN se utilizó D₂O como disolvente. Se realizaron estudios en una dimensión (¹H y ¹³C) y en dos dimensiones (experimento HETCOR).

3.1.4.4.1. RMN de ¹H

En la figura 3.1.10 se muestra el espectro de ¹H del ligante *Emisar*. En este espectro se observan 6 señales, las cuales coinciden con las señales esperadas para este ligante. En la tabla 3.1.6 se resumen el desplazamiento, la multiplicidad y la integración de las señales.

Así, el triplete **a** que integra para 3 protones y presenta el menor desplazamiento químico corresponde al metilo del grupo sustituyente en la posición 2 del anillo imidazólico; dicha señal presenta un acoplamiento con el cuadruplete **c** que corresponde entonces al metileno que yace en la misma posición sobre el anillo. El singulete **b** que aparece a más alto campo corresponde al metilo que se encuentra en la posición 4 del anillo de imidazol. Por su desplazamiento químico e integración, el singulete **e** corresponde a los protones del metileno proveniente de la condensación del formaldehído en el anillo de imidazol. La señal **f** corresponde a los protones del metileno proveniente de la sarcosina. Finalmente, la señal **d** se asigna al metilo sustituyente en el nitrógeno de la sarcosina.

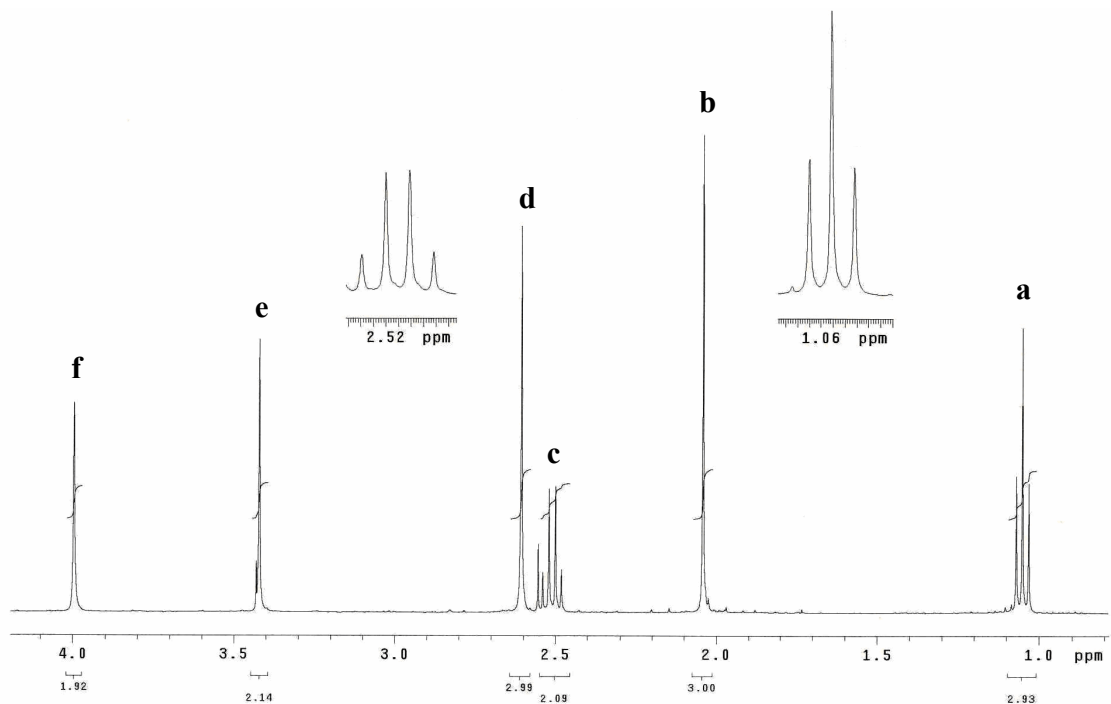
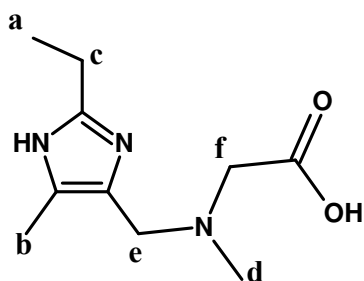


Figura 3.1.10 Espectro de RMN de ^1H del ligante *Emisar*



Señal	δ (ppm)	Multiplicidad	$J_{\text{H-H}}$	Integración
a	1.05	Triplete	7.6	3 H
b	2.04	Singulete	---	3 H
c	2.51	Cuadruplete	7.6	2 H
d	2.61	Singulete	---	3H
e	3.42	Singulete	---	2 H
f	4.00	Singulete	---	2 H

Tabla 3.1.7 Señales observadas en el espectro de RMN de ^1H del ligante *Emisar*

3.1.4.4.2. RMN de ^{13}C y experimento HETCOR

Para complementar la información obtenida a partir del espectro de ^1H , se obtuvo un espectro de carbono (figura 3.1.11). Este espectro muestra 10 señales que corresponden a las señales que se esperaban para la estructura del ligante *Emisar*. Por otra parte, el espectro del experimento HETCOR (figura 3.1.12) muestra que 6 de estas señales presentan una correlación con las señales observadas en el espectro de protón.

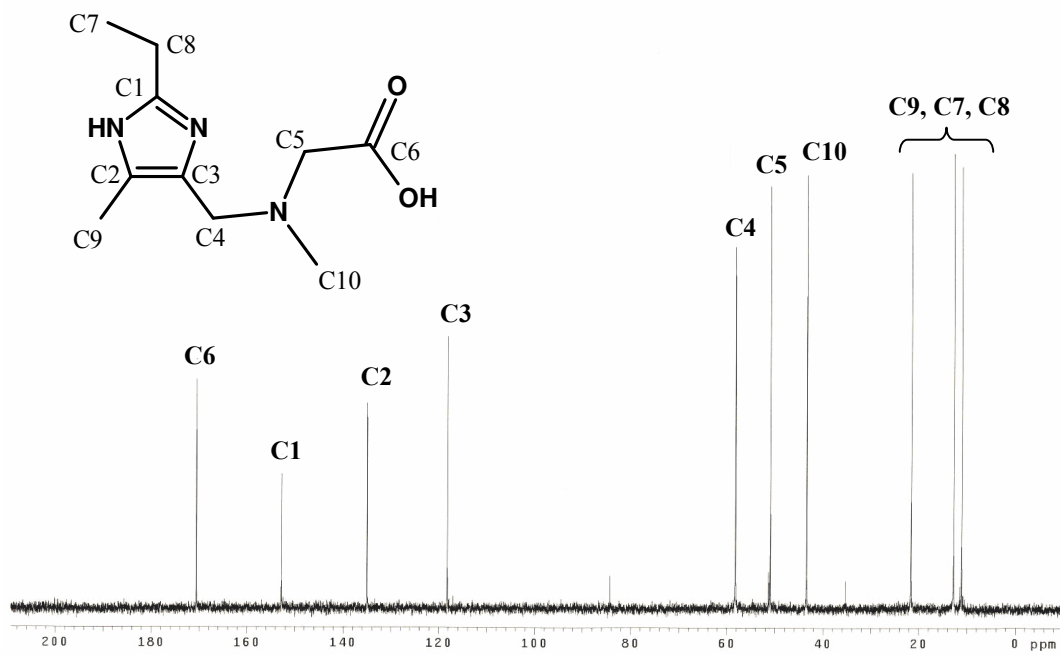


Figura 3.1.11 Espectro de RMN de ^{13}C del ligante Emisar

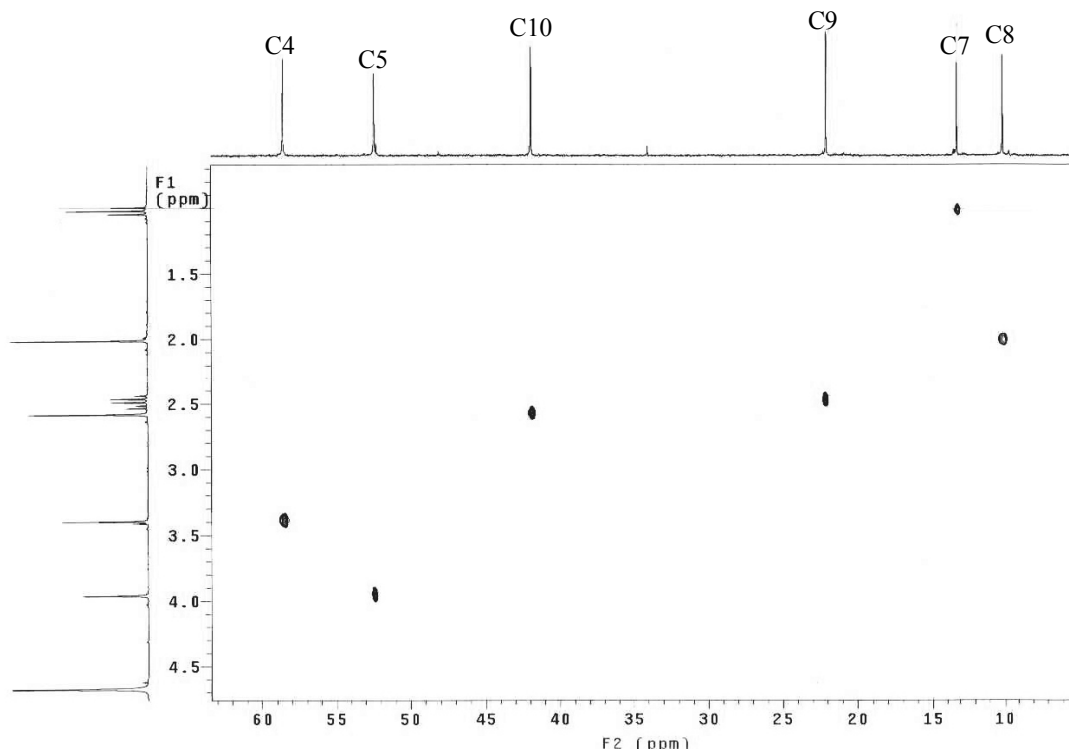


Figura 3.1.12 Espectro HETCOR del ligante Emisar

En la estructura del ligante *Emisar* existen 4 carbonos cuaternarios que, como se observan en el experimento HETCOR, no presentan acoplamiento a un enlace de distancia con protón. La asignación de cada señal de los carbonos cuaternarios se realizó con base en los cálculos del desplazamiento esperado para cada carbono y con la simulación del espectro de ^{13}C . A partir de la información obtenida mediante estos dos experimentos se realizó la asignación correspondiente (Tabla 3.1.8).

Señal	δ (ppm)	HETCOR	Asignación
C1	152.80		C de la posición 2 del anillo
C2	135.02		C de la posición 4 del anillo
C3	118.28		C de la posición 5 del anillo
C4	58.25	Correlación con d	C del metileno proveniente de la condensación sobre el anillo
C5	50.99	Correlación con e	C del metileno proveniente de la sarcosina
C6	170.58		C del carboxilo
C7	12.76	Correlación con b	C del metilo terminal en la posición 2 del anillo
C8	11.06	Correlación con a	C del metileno del grupo etilo en la posición 2 del anillo
C9	21.61	Correlación con c	C del metilo en la posición 4 del anillo
C10	43.46	Correlación con f	C del metilo sustituido en N de la sarcosina

Tabla 3.1.8 Señales observadas en los espectros de RMN, ^{13}C y HETCOR, del ligante *Emisar*

3.2. Complejos monucleares de cobre (II) con los ligantes *Emitrim* y *Emisar*

3.2.1 Síntesis del complejo $[\text{CuEmitrim}(\text{MeOH})(\text{NO}_3)]\text{NO}_3$

Se disuelve un equivalente del ligante *Emitrim* · 2H₂O en metanol anhidro. A esta disolución se le agrega un equivalente de Cu(NO₃)₂ · 2.5H₂O, observándose un incremento en la coloración; cuando la disolución se deja en calentamiento se forma un líquido viscoso de color azul rey. Posteriormente se añade trimetilortoformiato (TMOF) para eliminar el agua presente en la disolución, ya que la solubilidad del complejo en este disolvente es muy alta. El TMOF reacciona con agua para formar metanol, eliminándose de esta forma el agua presente en la disolución. Finalmente, para favorecer la precipitación del complejo, se añade éter etílico obteniéndose así un precipitado de color azul rey muy higroscópico. El precipitado se filtra y se lava con metanol anhidro frío. En la figura 3.2.1 se muestra el esquema de la síntesis del complejo $[\text{CuEmitrim}(\text{MeOH})(\text{NO}_3)]\text{NO}_3$. La estructura que se propuso para este complejo se realizó con base en los resultados obtenidos de la caracterización, así como en la información que se tiene de los complejos dinucleares análogos obtenidos con el ligante *Dimeim*.

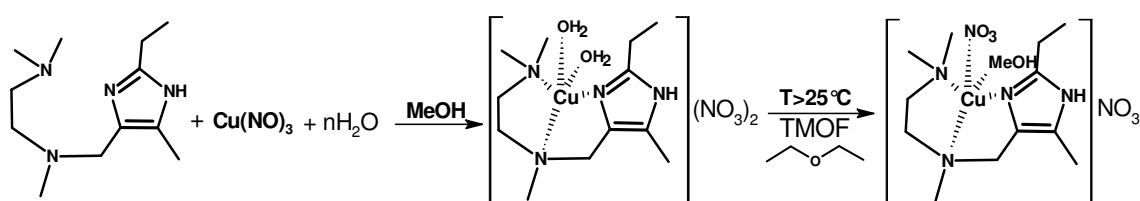


Figura 3.2.1 Esquema de la síntesis del complejo $[\text{CuEmitrim}(\text{MeOH})(\text{NO}_3)]\text{NO}_3$

3.2.2. Caracterización del complejo mononuclear de cobre (II) con el ligante *Emitrim*

La caracterización del complejo se llevó a cabo mediante diversas técnicas de análisis: espectrometría de masas, análisis elemental, espectroscopia de infrarrojo, susceptibilidad magnética y conductividad. A continuación se detallan los resultados obtenidos a través de estas técnicas.

3.2.2.1. Análisis elemental

En la tabla 3.2.1 se muestran los resultados obtenidos del análisis elemental de C, H y N en una muestra del complejo. De acuerdo con los resultados arrojados por este análisis, se propuso la fórmula $[\text{CuEmitrim}(\text{MeOH})(\text{NO}_3)]\text{NO}_3$; en esta fórmula el ion Cu(II) presenta un número de coordinación de 5. Lo anterior se propone con base en la estructura del complejo dinuclear análogo $\text{Cu}_2\text{Dimeim}^{(40)}$, en la cual los dos iones de cobre presentan un número de coordinación de 5, y una geometría de pirámide de base cuadrada. El porcentaje de error para C y H es mayor comparado con N; este hecho puede atribuirse a la presencia de TMOF en la muestra. Puesto que este complejo es muy higroscópico, no fue posible realizar una recristalización, de manera que un exceso de TMOF pudo quedarse en la muestra, generando con ello un mayor porcentaje de C y H respecto a lo esperado para la muestra pura.

Elemento	%Experimental	% Calculado*	% Error
C	36.68	35.17	4.11
H	6.24	6.36	1.92
N	18.80	18.93	0.69

*Porcentaje calculado para el complejo $[\text{CuEmitrim}(\text{MeOH})(\text{NO}_3)]\text{NO}_3$ ($\text{C}_{13}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_7\text{Cu}$)

Tabla 3.2.1 Análisis elemental del complejo $[\text{CuEmitrim}(\text{MeOH})(\text{NO}_3)]\text{NO}_3$

3.2.2.2. Espectrometría de masas

El espectro de masas que se muestra en la figura 3.2.2 se obtuvo mediante la técnica FAB⁺, utilizando alcohol nitrobenílico como matriz (ion molecular 154 m/z). En el espectro se observa en 349 m/z al fragmento $[\text{CuEmitrimNO}_3]^+$. Cabe destacar que este fragmento es muy estable, siendo además éste el pico base del espectro. Asimismo se observa el fragmento correspondiente al ion CuEmitrim^{2+} , el cual aparece en 287 m/z. Los fragmentos presentan el patrón isotópico esperado.

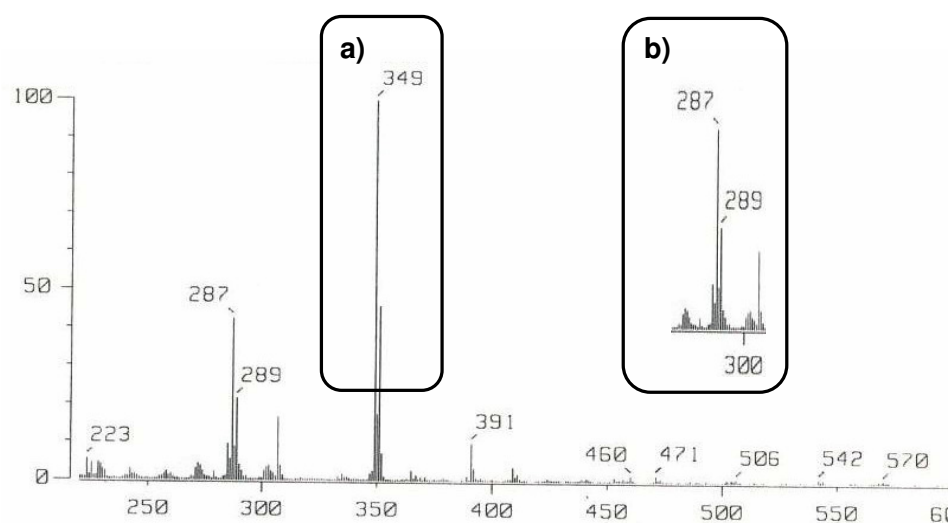


Figura 3.2.2 Espectro de masas del complejo $\text{CuEmitrim}(\text{MeOH})(\text{NO}_3)\text{NO}_3$. Las señales encerradas en los rectángulos corresponden a los fragmentos a) $\text{CuEmitrimNO}_3^{1+}$ y b) $\text{CuEmitrim}^{2+} (M-1)$

3.2.2.3. Espectroscopia infrarroja

En el espectro de IR del complejo (figura 3.2.3) se observa alrededor de 3400 cm^{-1} una señal que no aparece en el espectro del ligante. Tal señal se asigna a la vibración del enlace O-H de la molécula de metanol coordinada al centro metálico. La señal que aparece en 1384 cm^{-1} corresponde a los nitratos no coordinados, mientras que las señales que aparecen alrededor de dicha señal se podrían atribuir a los nitratos coordinados.

Por otra parte, la señal de estiramiento N=C del anillo de imidazol en el complejo (1644 cm^{-1}) aparece desplazada respecto a la señal en el ligante libre (1612 cm^{-1}). Asimismo las señales de estiramiento C=C y C-N del anillo de imidazol (1546 cm^{-1} y 1469 cm^{-1} respectivamente) presentan un desplazamiento respecto a la frecuencia en la que aparecen en el ligante libre, lo que confirma que el anillo de imidazol se encuentra coordinado al cobre. Las señales alrededor de 1000 cm^{-1} asociadas al estiramiento del enlace C-N aparecen desplazadas respecto a lo observado en el espectro del ligante, mostrando que los nitrógenos alifáticos también se encuentran coordinados al metal.

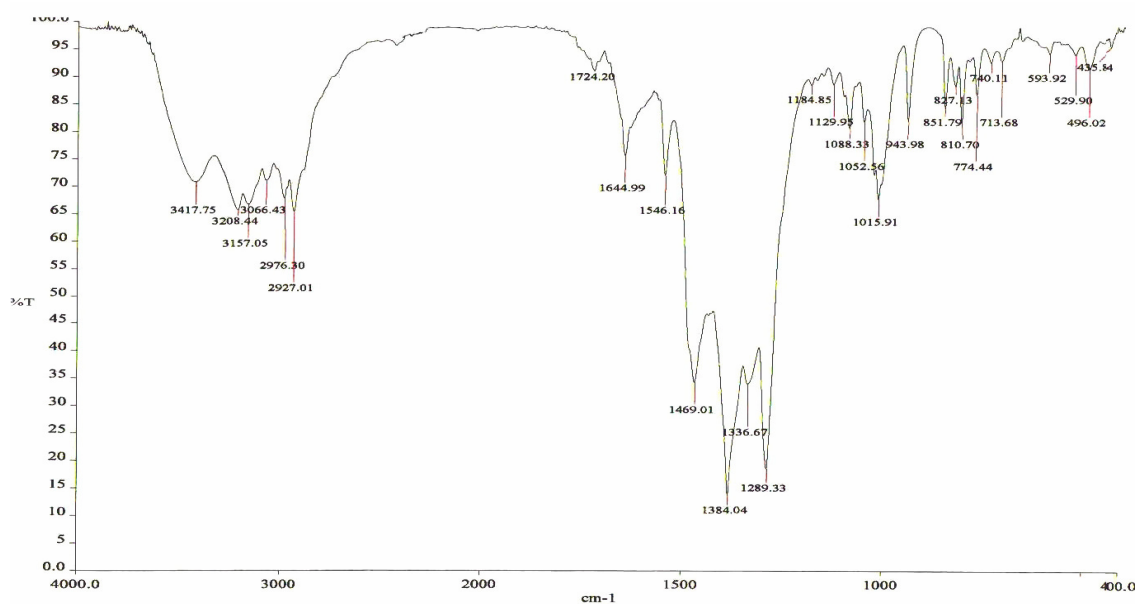


Figura 3.2.3 Espectro de infrarrojo del complejo $CuEmitrim(MeOH)(NO_3)NO_3$

3.2.2.4. Momento Magnético efectivo

El momento magnético efectivo se determinó empleando el método de Gouy⁽⁴⁰⁾. Para ello se obtuvo la susceptibilidad magnética por gramo a temperatura ambiente. Con este dato y el peso molecular del compuesto se obtuvo la susceptibilidad magnética molar; utilizando las constantes de Pascal⁽⁴¹⁾ se corrigió este valor por las contribuciones diamagnéticas en la molécula. Estas correcciones se hacen tomando en cuenta los grupos funcionales y los iones diamagnéticos presentes en la molécula. Así, el valor del momento magnético efectivo del complejo $[CuEmitrim(MeOH)(NO_3)]NO_3$ es de 2.16 MB. El intervalo de valores esperado para un ion de Cu(II) es de 1.7 a 2.2 MB, de modo que el valor del momento magnético efectivo se encuentra dentro de dicho intervalo.

3.2.2.5. Conductividad

Se determinó la conductividad de una disolución 10^{-3} M del complejo $[CuEmitrim(MeOH)NO_3]NO_3$ en agua a 25°C, obteniéndose inicialmente un valor de 173.7 μ S. Este valor se encuentra intermedio entre el valor esperado para un electrolito 1:1 (120 μ S) y un electrolito 1:2 (240 μ S) a esta concentración⁽⁴⁰⁾. De acuerdo con la estructura propuesta para el complejo en estado sólido se esperaba un electrolito 1:1, si uno de los

nitratos continuara coordinado al cobre; sin embargo en disolución, puesto que los nitratos no son especies demasiado coordinantes, podría ocurrir que una parte del complejo no esté coordinado con el nitrato. Este hecho explicaría que el valor de conductividad del complejo no esté exactamente dentro de los valores esperados para los electrolitos antes mencionados.

3.2.2.6. Espectroscopía UV-visible

En la figura 3.2.4.(a) se presenta el espectro UV-visible de una disolución 5 mM del complejo $[CuEmitrimNO_3MeOH]NO_3$ en MeOH/H₂O. En este espectro se observa una banda de absorción en 650 nm. Esta banda se observa a la misma longitud de onda cuando el espectro se obtiene en H₂O. El valor al cual aparece la banda de absorción de este complejo coincide con lo esperado para una especie de cobre con geometría de pirámide de base cuadrada. A manera de comparación, en la figura 3.2.4. (b) se muestra el espectro electrónico de una disolución 5 mM del complejo $Cu_2Dimeim(ClO_4)_4$ en la misma mezcla de disolventes, el cual muestra una banda de absorción en 672 nm.

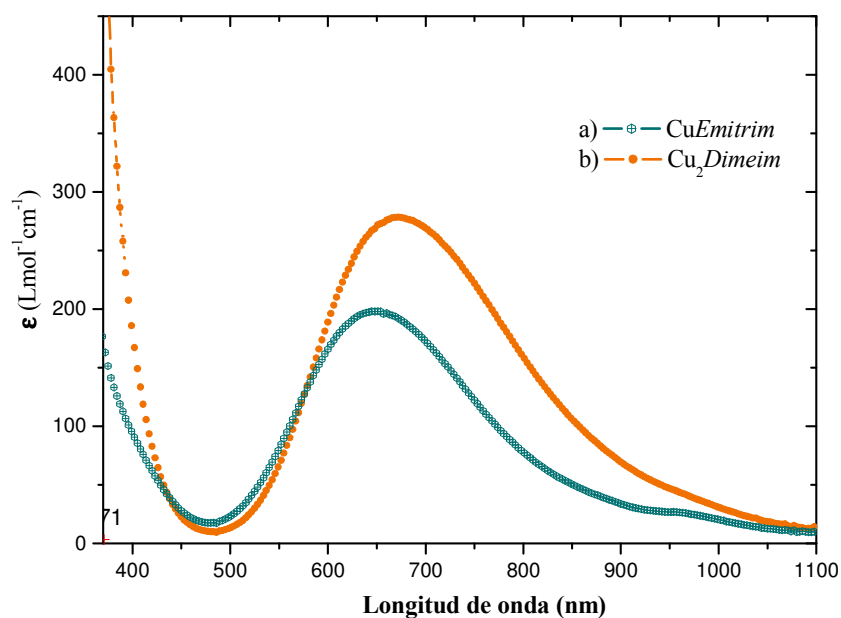


Figura 3.2.4 Espectro UV-visible en MeOH/H₂O de (a) $CuEmitrim(MeOH)(NO_3)NO_3$ y (b) $Cu_2Dimeim(ClO_4)_4$

3.2.3. Síntesis de complejos mononucleares de cobre (II) con el ligante *Emisar*

Para obtener los complejos mononucleares de Cu(II) con el ligante *Emisar* (figura 3.2.5) se disolvió un equivalente del ligante *Emisar* en la mínima cantidad de agua, añadiendo posteriormente un equivalente de una sal de cobre, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ o $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$. Posteriormente se evapora el disolvente obteniéndose así el complejo mononuclear de cobre en estado sólido; posteriormente los productos de estas reacciones se lavan con agua fría. En el caso de utilizar nitrato de cobre, el producto es un sólido cristalino verde azulado, mientras que al utilizar acetato de cobre el producto es un sólido cristalino de color azul rey.

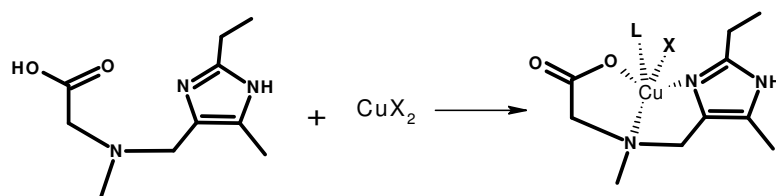


Figura 3.2.5 Síntesis de los complejos CuEmisarX_2 , $\text{X}=\text{NO}_3$, CH_3COO

3.2.4. Caracterización de los complejos mononucleares de cobre (II) con el ligante *Emisar*

La caracterización del complejo fue similar a la que se realizó para el complejo de cobre con el ligante *Emtirim*. Además se logró obtener una estructura cristalina preliminar de uno de los complejos de cobre con *Emisar*; sin embargo, cabe destacar que debido a las dificultades que se presentaron durante la manipulación experimental de los cristales, aún no se cuenta con una caracterización completa del complejo mediante difracción de rayos X. A continuación se detallan los resultados obtenidos mediante las diversas técnicas de análisis empleadas.

3.2.4.1. Análisis elemental

En las tablas 3.2.2 y 3.2.3 se presentan los resultados obtenidos del análisis de C, H y N de una muestra de los complejos. Puesto que en el ligante *Emisar* hay un grupo carboxilo, se sugiere que en el complejo el ligante se encuentra desprotonado, favoreciendo de este modo la coordinación con el metal. Así, con base en los resultados

del análisis elemental se proponen las fórmulas $CuEmisarNO_3$ y $CuEmisarCH_3COO$. Si bien el ligante *Emisar* presenta únicamente tres sitios de coordinación, el metal podría completar su esfera de coordinación con nitratos o acetatos. De esta forma, de acuerdo con las fórmulas propuestas existen dos números de coordinación posibles para el ion $Cu(II)$: cuatro, si el contraion actúa como ligante monodentado (coordinación a través de un solo átomo), o cinco, si actúa como ligante bidentado (coordinación mediante dos átomos). La coordinación bidentada de nitrato y acetato es observada comúnmente⁽³⁹⁾. Por otra parte, en la estructura del complejo dinuclear análogo $Cu_2Glimeim$ ⁽¹⁵⁾ los dos iones de cobre presentan una geometría de pirámide de base cuadrada, lo que hace suponer que en el complejo mononuclear presente una geometría similar.

Por otra parte, también se debe recordar que es común encontrar compuestos de coordinación en los cuales haya grupos carboxilos formando puentes; de manera que en estos compuesto podría presentarse un situación de este tipo, ya a que el ligante *Emisar* tiene un grupo carboxilo, y en el caso particular del complejo obtenido con acetato de cobre, el contraion podría también formar algún puente entre dos moléculas del complejo.

Elemento	%Experimental	% Calculado*	% Error
C	36.16	35.77	1.10
H	4.85	4.80	1.03
N	16.53	16.68	0.91

*Porcentaje calculado para el complejo $CuEmisarNO_3$ ($C_{10}H_{16}N_4O_5Cu$)

Tabla 3.2.2 Análisis elemental del complejo $CuEmisarNO_3$

Elemento	%Experimental	% Calculado*	% Error
C	43.23	43.30	0.16
H	5.89	5.75	2.38
N	12.39	12.62	1.86

*Porcentaje calculado para $CuEmisarCH_3COO$ ($C_{12}H_{19}N_3O_4$)

Tabla 3.2.3 Análisis elemental del complejo $CuEmisarCH_3COO$

3.2.4.2 Espectrometría de masas

Los espectros de masas que se muestran en las figuras 3.2.6 y 3.2.7 de $CuEmisarNO_3$ y $CuEmisarCH_3COO$ respectivamente, se obtuvieron mediante la técnica

FAB⁺, utilizando alcohol p-nitrobenzílico como matriz (ion molecular 154 m/z). En el complejo CuEmisarNO₃ se utilizó como disolvente dimetilsulfóxido.

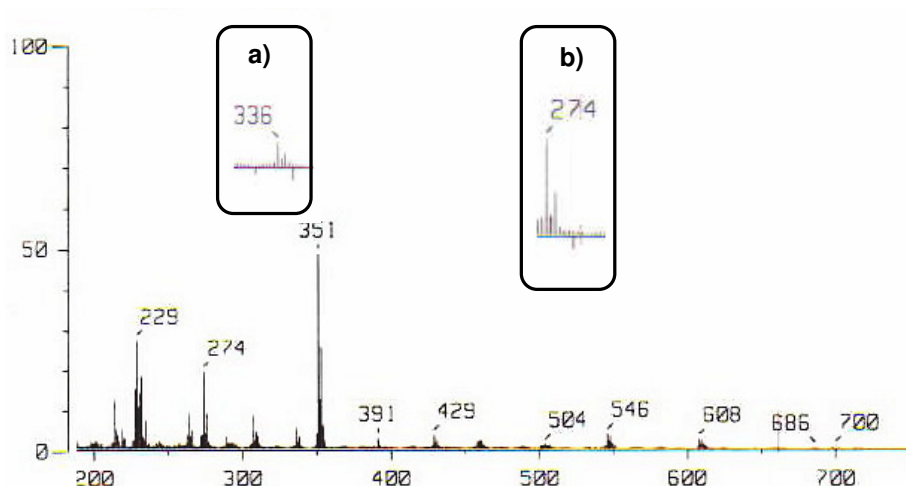


Figura 3.2.6 Espectro de masas del complejo CuEmisarNO₃; en los rectángulos se se marcan los fragmentos a) CuEmisarNO₃ y b) CuEmisar, en M-1

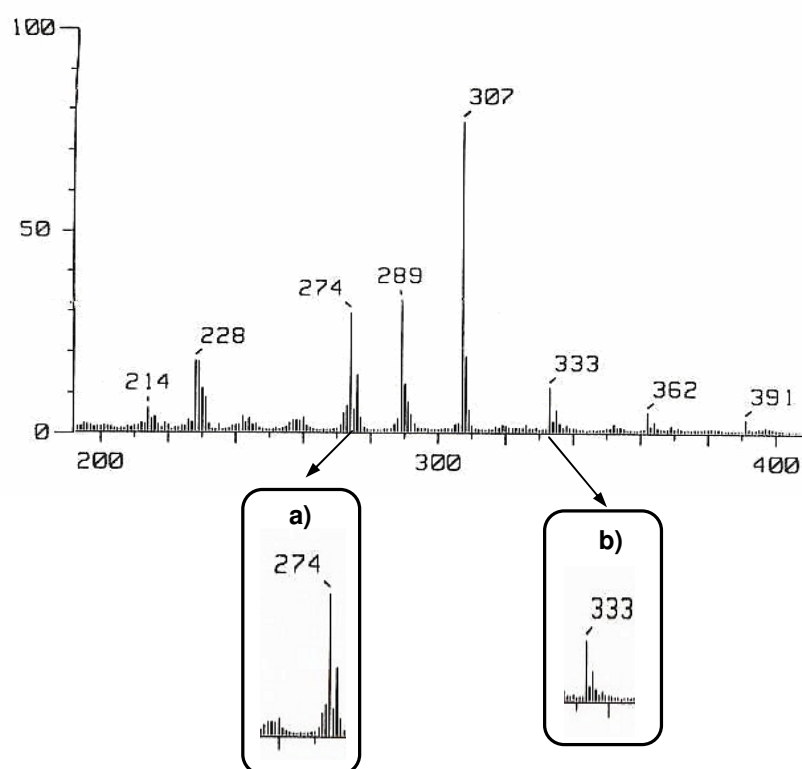


Figura 3.2.7 Espectro de masas del complejo CuEmisarCH₃COO en donde se marcan los fragmentos a) CuEmisar y b) CuEmisarCH₃COO en M+1

En el espectro del complejo CuEmisarNO_3 se observa el fragmento 274 m/z que corresponde al fragmento (M+1) CuEmisar . También se observa el fragmento 336 m/z que corresponde al ion molecular CuEmisarNO_3 (M+1). Los fragmentos cumplen con el patrón isotópico esperado. Sin embargo cabe destacar que la abundancia realtiva del ion CuEmisarNO_3 es muy pequeña respecto a la abundancia de CuEmisar . Por otro lado, hay que recordar que el espectro de masas del complejo de cobre con el ligante *Emitrim* mostró que el ion CuEmitrimNO_3^+ es muy estable, lo cual contrasta con la estabilidad del ion CuEmisarNO_3^+ , detectada a través de esta técnica. En el espectro mostrado en la figura 3.2.7, se observa el ion molecular (M+1) $\text{CuEmisarCH}_3\text{COO}$ en 333 m/z. El fragmento CuEmisar aparece en 274 m/z. Estos fragmentos también cumplen con el patrón isotópico esperado.

3.2.4.3 Espectroscopia infrarroja

En la obtención de los espectros de IR de los complejos CuEmisarNO_3 y $\text{CuEmisarCH}_3\text{COO}$, la técnica utilizada fue pastilla de KBr. El espectro de IR del complejo CuEmisarNO_3 se muestra en la figura 3.2.8. A pesar de que se propone que en estado sólido el nitrato se encuentra coordinado al cobre, en 1384 cm^{-1} aparece una señal que corresponde a nitratos no coordinados; sin embargo si la interacción cobre-nitrato es débil, como se mostró mediante el espectro de masas, el nitrato podría descoordinarse del centro metálico, e intercambiarse por Br^- cuando se obtiene la pastilla. Esto explicaría la aparición de la señal en 1384 cm^{-1} .

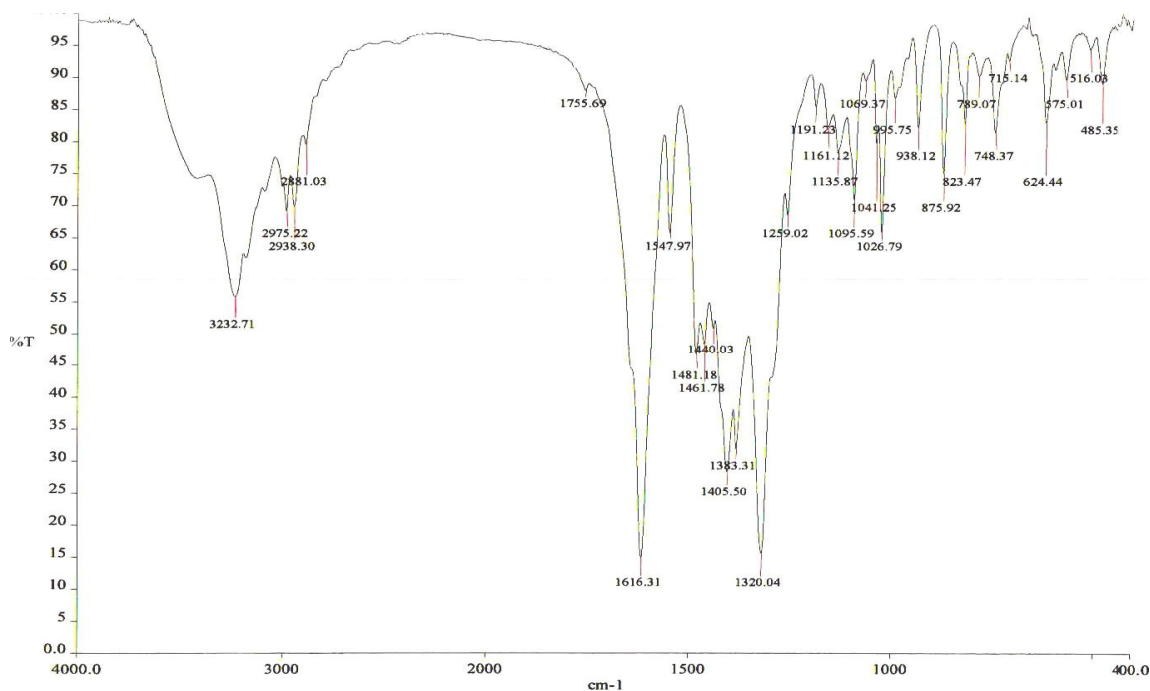


Figura 3.2.8 Espectro de infrarrojo del complejo CuEmisarNO_3

Por otra parte, la señal de estiramiento C-O del grupo carboxilo, que en el ligante libre aparecía en 1627 cm^{-1} , en el espectro del complejo se observa en 1616 cm^{-1} ; en esta señal se observa además un hombro, que puede ser originado por la separación de las bandas de estiramiento simétrico y asimétrico debido a la coordinación del grupo carboxilo al metal⁽³⁹⁾. Las señales de estiramiento C=C y C-N del anillo de imidazol (1547 cm^{-1} y 1460 cm^{-1} respectivamente) presentan un desplazamiento respecto a la frecuencia en la que aparecen en el ligante libre, lo que confirma que el anillo de imidazol se encuentra coordinado al cobre.

El espectro de IR del complejo $\text{CuEmisarCH}_3\text{COO}$ se presenta en la figura 3.2.9. En 1579.37 cm^{-1} aparece una señal que podría corresponder a acetatos no coordinados. A pesar de que se propone la coordinación de los acetatos al cobre, si la interacción es débil podría ocurrir una descoordinación del acetato. La señal de estiramiento C=C del anillo de imidazol aparece en 1537.86 cm^{-1} , que se encuentra desplazada respecto a la frecuencia observada en el ligante libre. Por otra parte se observa un desplazamiento de la señal de estiramiento del grupo carbonilo (1642 cm^{-1}) respecto al ligante libre (1627 cm^{-1}) debido a la coordinación con el metal.

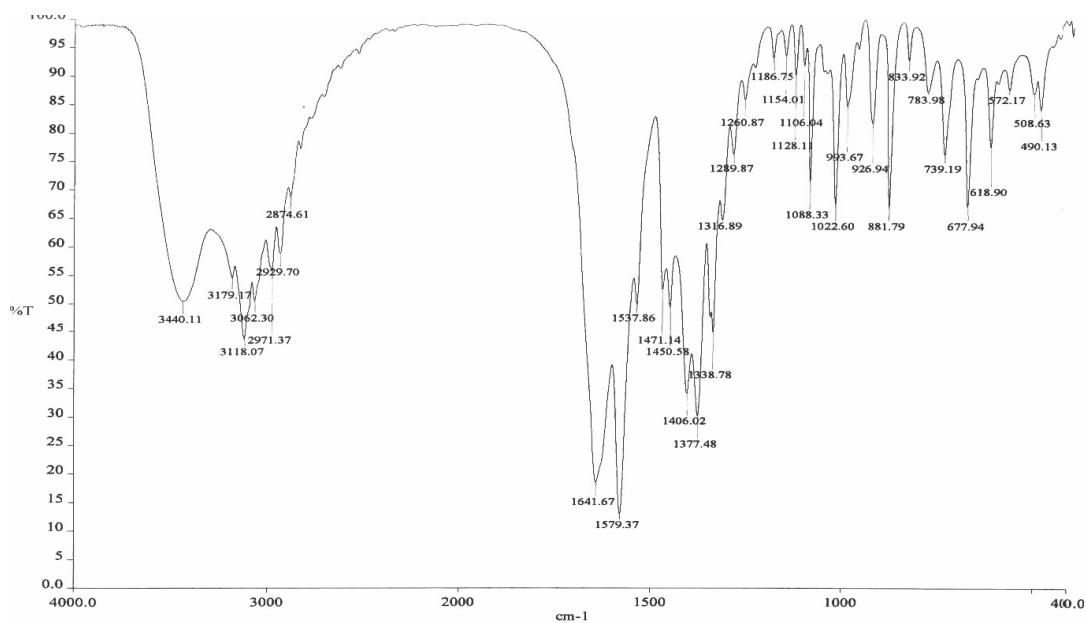


Figura 3.2.9 Espectro de infrarrojo del complejo $CuEmisarCH_3COO$

3.2.4.4. Conductividad

Se determinó la conductividad de una disolución 10^{-3} M de los complejos $CuEmisarNO_3$ y $CuEmisarCH_3COO$ en agua a $25^\circ C$, obteniéndose valores de 83.7 y 49.7 μS respectivamente. Estos resultados muestran que a pesar de que en estado sólido se propone que los iones acetato y nitrato se encuentran coordinados con el cobre, en disolución están disociados. Por otra parte, la conductividad del ion nitrato en agua es mayor que la del acetato, lo cual explicaría la diferencia observada en los valores de conductividad de los dos complejos.

3.2.4.5 Espectroscopia UV-visible

En la figura 3.2.10.(a) y (b) se presentan los espectros UV-visible de una disolución 5 mM de los complejos $CuEmisarNO_3$ y $CuEmisarAcO$ en $MeOH/H_2O$. En estos espectros se observa una banda de absorción en 684 y 687 nm respectivamente. Por otra parte, en la figura 3.2.10. (c) se muestra el espectro UV-visible de una disolución 5 mM del complejo $Cu_2Glimeim(NO_3)_2$ en la misma mezcla de disolventes, observándose una banda

de absorción en 715 nm. Las bandas de absorción coinciden con lo esperado para una geometría de pirámide de base cuadrada. Estas bandas de absorción se encuentran desplazadas hacia menores energías respecto a los complejos *CuEmiTrim* y *Cu₂Dimeim* lo cual es consistente con las diferencias en el ambiente electrónico (NNN vs. NNO). del ion *Cu(II)*. Asimismo se observa que el ligante *Emisar* induce un desdoblamiento mayor del campo respecto al ligante *Glimeim*, a pesar de que ambos tienen un ambiente de coordinación muy parecido.

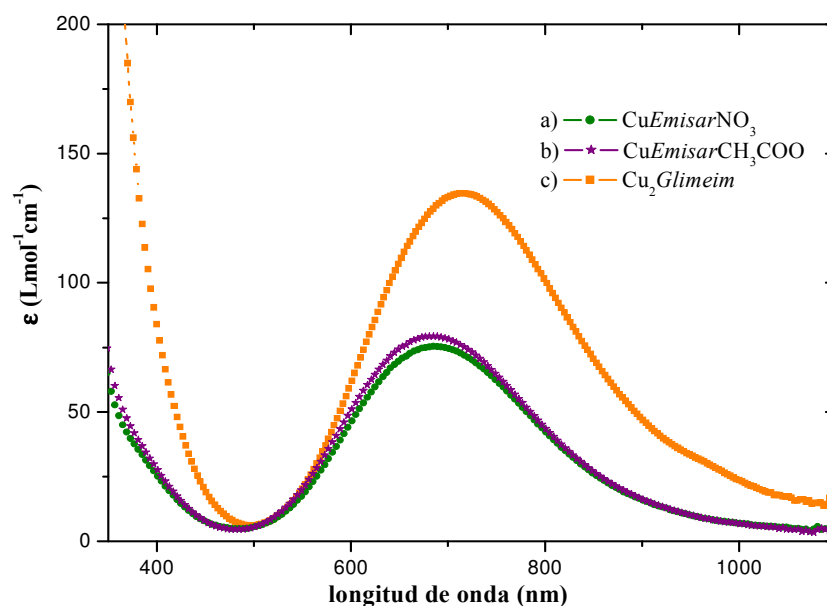


Figura 3.2.10 Espectro de UV-visble de los complejos en MeOH/H₂O de los complejos a) *Cu₂Glimeim(NO₃)₂*, b) *CuEmisarNO₃* y c) *CuEmisar CH₃COO*

3.2.4.6. Difracción de rayos X

Como se describió previamente, se lograron obtener cristales del complejo *CuEmisarNO₃*; estos cristales fueron analizados mediante la técnica de difracción de rayos X; sin embargo, durante el transcurso de la colección de datos, el cristal se descompuso. Por tal motivo únicamente se tiene una estructura preliminar del complejo, la cual se muestra en la figura 3.2.11. Esta estructura muestra que el complejo se encuentra en una ambiente pentacoordinado, en el cual el ion nitrato se encuentra coordinado al centro metálico de manera monodentada, a través de un átomo de oxígeno (O2). Además, el complejo completa su esfera de coordinación a través de la coordinación con el carboxilo del ligante de una molécula vecina (O5).

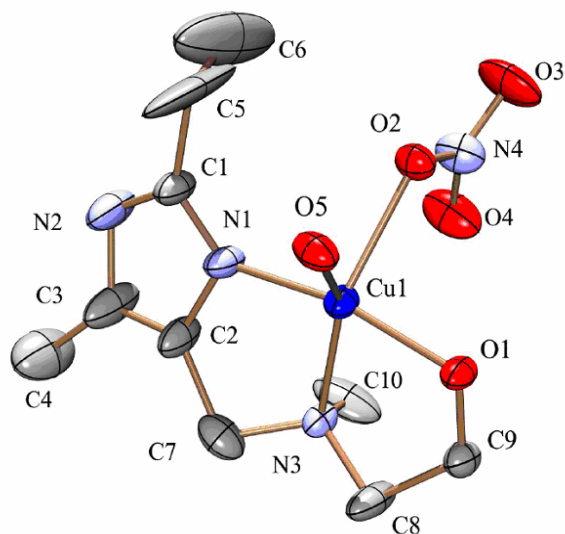


Figura 3.2.11 Estructura preliminar de rayos X del complejo CuEmisarNO_3

Esta estructura es congruente con los estudios realizados previamente, en los cuales se propuso la coordinación del nitrato al sitio de Cu(II) , además de que no se observa que exista una molécula de disolvente que complete la esfera de coordinación del complejo, tal y como en los estudios de análisis elemental se había observado.

3.2.4.7. Momento magnético efectivo

El momento magnético efectivo de los complejos CuEmisarNO_3 y $\text{CuEmisarCH}_3\text{COO}$ se determinó empleando también el método de Gouy⁽⁴⁰⁾, obteniéndose valores de 1.72 y 1.85 MB respectivamente. Estos valores se encuentran también dentro del intervalo esperado para un ion de Cu(II) .

3.3 Constantes de formación de los complejos mononucleares de Cu(II)

Al obtener las constantes de formación de los complejos se complementa la caracterización de éstos en disolución. En este trabajo resulta de particular interés este tipo de caracterización ya que ésta podría ayudar a explicar los resultados del estudio de la reactividad en disolución de los complejos. Como se sabe, en muchos casos los complejos no presentan las mismas características en estado sólido y en disolución, por lo que es necesario tener un conocimiento más amplio acerca de las características de los complejos en estas condiciones. De esta forma se pueden planear más exitosamente las etapas posteriores de estudio, y se pueden comprender mejor los resultados obtenidos en las mismas.

Como se presentará más adelante, los estudios de la actividad catalítica se llevaron a cabo en el medio MeOH/H₂O 1:1. Por tal motivo, sería altamente recomendable que la caracterización de los complejos en disolución se realizara en este mismo medio. Sin embargo, como se ha mencionado, en este trabajo se pretende hacer un estudio comparativo de la química de complejos dinucleares y mononucleares de cobre(II). Así, dado que en nuestro grupo de trabajo se contaba únicamente con información en disolución acuosa de los complejos dinucleares, se optó por iniciar la caracterización de los nuevos ligantes y complejos en las mismas condiciones en las que ha sido descrita la química de los sistemas dinucleares, y continuar posteriormente con la caracterización electroquímica y catalítica de los mismos. Sin embargo, es importante destacar que no se soslaya la importancia de la caracterización en MeOH/H₂O tanto de los complejos dinucleares como mononucleares, siendo el estudio en disolución acuosa una primera aproximación hacia una descripción más detallada de la química en disolución de estos compuestos.

3.3.1 Determinación de las constantes de acidez de los ligantes

Este estudio se realizó con el propósito de utilizar los valores de las constantes de acidez de los ligantes en la determinación de las constantes de formación de los complejos mononucleares de cobre. Las constantes de acidez de los ligantes *Emitrim* y

Emisar que se presentan a continuación fueron determinadas manteniendo la fuerza iónica y la temperatura constantes (0.1 M y 25°C respectivamente).

Para determinar las constantes de acidez de los ligantes *Emitrim* y *Emisar* se realizaron titulaciones potenciométricas de disoluciones acuosas que contenían un equivalente de ligante y 4 equivalentes de HNO₃. El titulante empleado fue una disolución estandarizada de NaOH 0.1 M (con un concentración de carbonatos menor al 2%). La concentración del ligante en la disolución fue 5 mM, mientras que la concentración de HNO₃ fue 20 mM. La alícuota utilizada para la valoración fue de 25 mL. La titulación se realizó por triplicado.

Los datos obtenidos de las titulaciones se procesaron en el programa Hyperquad; este programa compara las curvas de titulación experimentales con las curvas de titulación teóricas generadas a partir de un modelo propuesto; este modelo, que se introduce al programa, incluye las especies presentes en disolución a lo largo de la valoración, así como valores aproximados de las constantes de acidez que se desean conocer; en el refinamiento de los datos el parámetro estadístico χ^2 debe ser menor a 12.5 para tener un 95% de confiabilidad en los resultados arrojados por el programa.

3.3.1.1 Constantes de acidez del ligante *Emitrim*

En la figura 3.3.1 se muestran las curvas de valoración experimental (cuadros) y teórica (línea) graficadas mediante el programa Hyperquad; la curva de valoración teórica es generada por el programa a partir del modelo que se propone inicialmente. Asimismo en esta figura se observa el predominio de las especie relativas al ligante *Emtrim* a lo largo la valoración; este diagrama es generado automáticamente por el programa. Como puede observarse, al inicio de la valoración predomina la especie más protonada del ligante, disminuyendo conforme transcurre la valoración, el grado de protonación de éste.

El valor de χ^2 fue de 8.55. Los resultados obtenidos muestran que existen tres sitios de protonación en el ligante; tales sitios corresponden al nitrógeno en el anillo de imidazol y a los dos nitrógenos provenientes de la NNN'-trimetiletildiamina. Las constantes de acidez refinadas en el programa se muestran en la tabla 3.3.1.

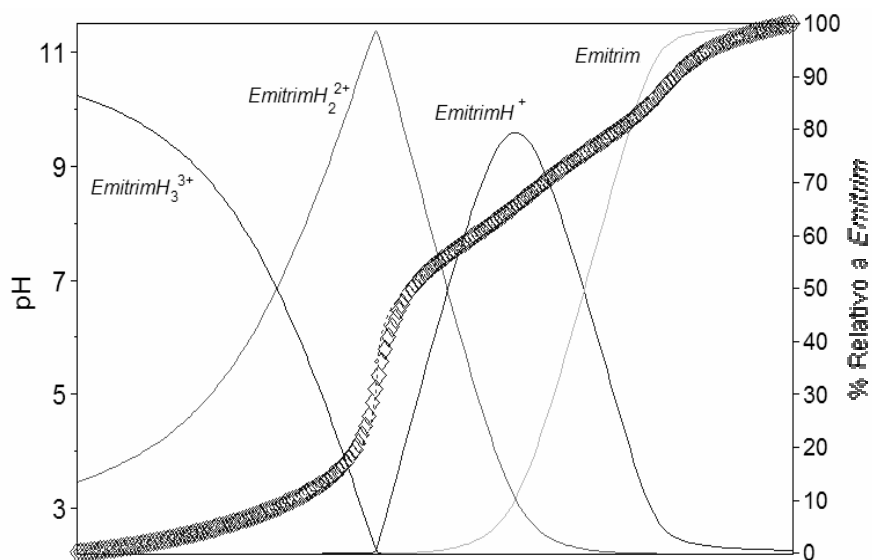


Figura 3.3.1 Curva de titulación potenciométrica de una disolución del ligante 5mM del ligante Emitrim y 4 equivalentes de ácido a fuerza iónica 0.1 M.

Equilibrio	Log β	pKa	Desviación estándar
$Emitrim + H^+ \rightarrow EmitrimH^+$	9.21	9.21	0.0113
$Emitrim + 2H^+ \rightarrow EmitrimH_2^{2+}$	16.64	7.43	0.0158
$Emitrim + 3H^+ \rightarrow EmitrimH_3^{3+}$	19.65	3.01	0.0178

Tabla 4.3.1 Constantes de acidez del ligante Emitrim obtenidas mediante el programa Hyperquad

Para trazar el diagrama de abundancia relativa en función del pH (Figura 3.3.2) se introducen al programa MEDUSA las constantes de acidez obtenidas mediante el programa Hyperquad. De acuerdo con los estudios realizados al ligante análogo *Dimeim*⁽⁴²⁾ los sitios de protonación podrían corresponder a los dos nitrógenos provenientes de la N,N,N'-trimetiletildiamina y al nitrógeno del anillo de imidazol. Cabe destacar que estos experimentos no permiten asociar a cada sitio de protonación la correspondiente constante de acidez; para ello sería necesaria llevar a cabo experimentos adicionales.

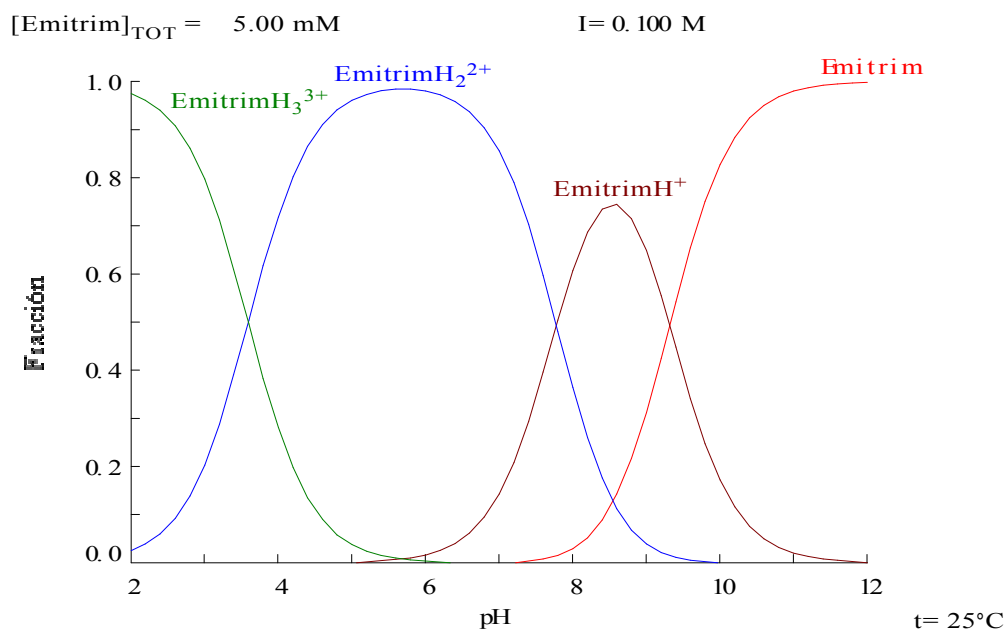


Figura 3.3.2 Diagrama de abundancia relativa de especies del ligante *Emitrim* en función del pH

3.3.1.2 Constantes de acidez del ligante *Emisar*

En la figura 3.3.3 se muestran las curvas de valoración experimental (cuadros) y teórica (línea) graficadas mediante el programa Hyperquad. El valor de χ^2 fue de 10.85. Los resultados obtenidos muestran que existen dos sitios de protonación en el ligante; tales sitios corresponden al nitrógeno en el anillo de imidazol y al nitrógeno que proviene de la sarcosina. Hay que recordar que este ligante es zwitteriónico. La constante de acidez del grupo carboxilo al parecer es muy baja; por lo que no pudo ser determinada mediante este experimento. Las constantes de acidez refinadas se muestran en la tabla 3.3.2.

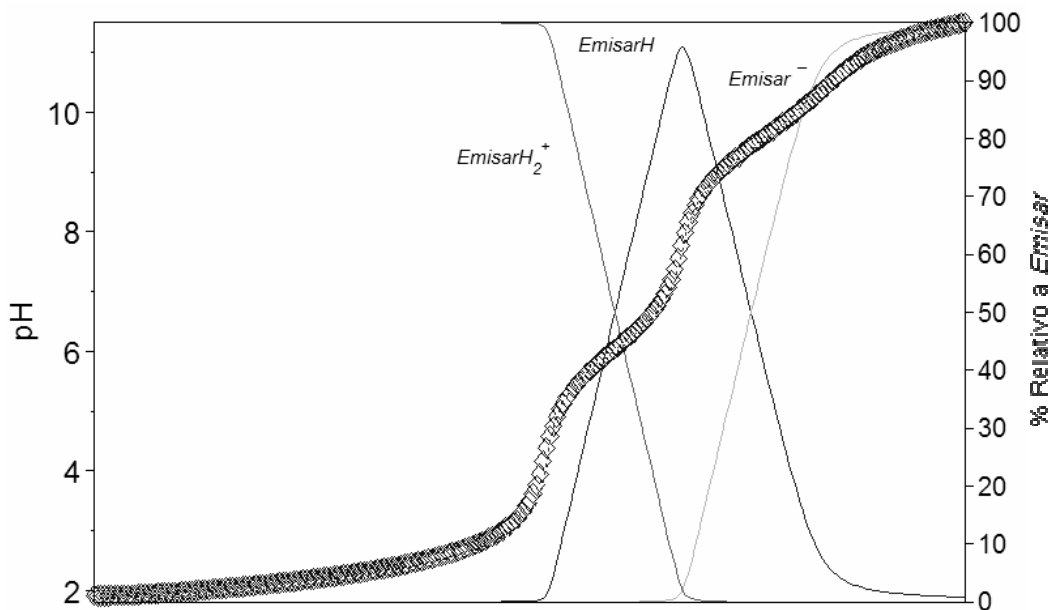


Figura 4.3.3 Curva de titulación potenciométrica del ligante *Emisar* graficada en *Hyperquad*

Equilibrio	Log β	pKa	Desviación estándar
$Emisar^- + H^+ \rightarrow EmisarH$	9.41	9.41	0.0163
$Emisar^- + 2H^+ \rightarrow EmisarH_2^+$	15.42	6.01	0.0252

Tabla 3.3.2 Constantes de formación del ligante *Emisar* obtenidas mediante *Hyperquad*

A partir de estos valores se trazó el diagrama de abundancias relativas en función del pH utilizando el programa MEDUSA, el cual se muestra en la figura 3.3.4. Los sitios de protonación en el ligante corresponden al nitrógeno del anillo de imidazol y al nitrógeno proveniente de la sarcosina. Los valores constantes de acidez de este ligante son semejantes a dos de las constantes de acidez del complejo *CuEmitrim*.

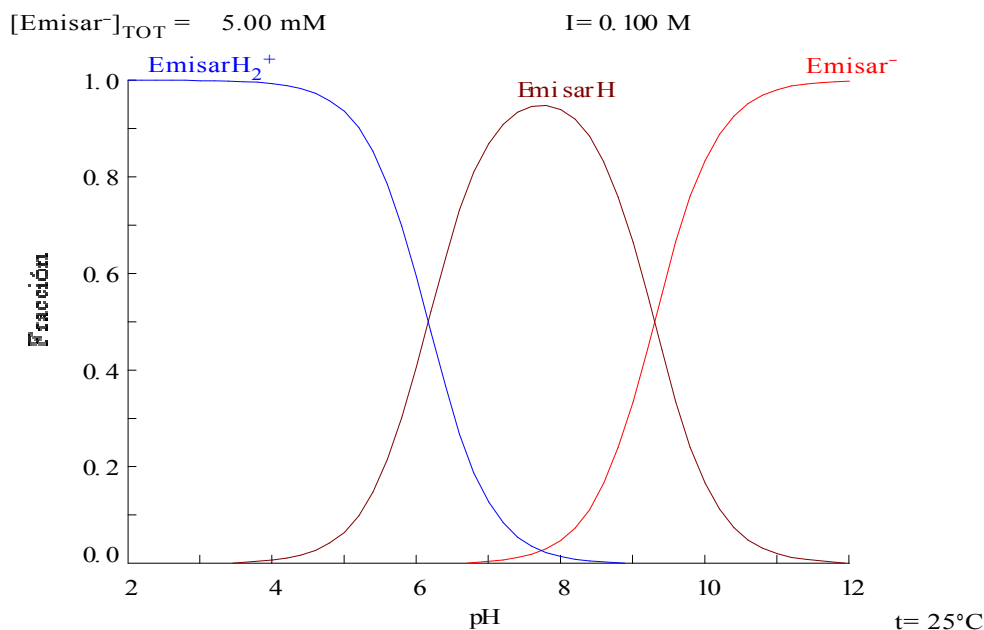


Figura 3.3.4 Diagrama de abundancia relativa de especies del ligante *Emisar* en función del pH

3.3.2. Determinación de las constantes de formación de los complejos mononucleares de cobre (II)

Para obtener las constantes de formación se realizaron titulaciones potenciométricas de disoluciones de los complejos; los complejos fueron preparados *in situ* agregando 1 equivalente de ligante, 1 equivalente $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ y 4 equivalentes de HNO_3 . La concentración del ligante y $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ en la disolución fue 5mM mientras que la concentración de HNO_3 fue 20 mM. El titulante empleado fue una disolución estandarizada de NaOH 0.1 M aproximadamente, con un porcentaje de carbonatos menor al 2%. Durante las titulaciones se mantuvieron la fuerza iónica y la temperatura constantes (0.1 M y 25°C respectivamente). Las titulaciones se realizaron por triplicado. Los resultados obtenidos de las titulaciones fueron procesados mediante el programa Hyperquad. Cabe mencionar que en el modelo que se introdujo al programa para calcular las constantes de formación no se tomó en cuenta el ion nitrato; en este modelo se considera que las características estructurales de los ligantes *Emisar* y *Emitrim* son las que determinan principalmente el comportamiento en disolución de los complejos, y que el ion nitrato tiene

poco efecto sobre tal comportamiento. Modelos similares fueron utilizados en la determinación de las constantes de formación de los complejos dinucleares análogos Cu_2Dimeim y $\text{Cu}_2\text{Glimeim}$ ^(42,43), y de complejos similares^(16,38).

3.3.2.1 Constantes de formación del complejo CuEmitrim^{2+}

En la figura 3.3.5 se presentan las curvas de titulación experimental y teórica graficadas por el programa Hyperquad. El valor de χ^2 es menor a 12.5 por lo que se tiene una confiabilidad superior al 95%. En la tabla 3.3.3 se presentan las constantes de formación del complejo obtenidas mediante el programa Hyperquad, así como la constante de formación del hidroxocomplejo que se calculó a partir de los datos obtenidos de dicho programa.

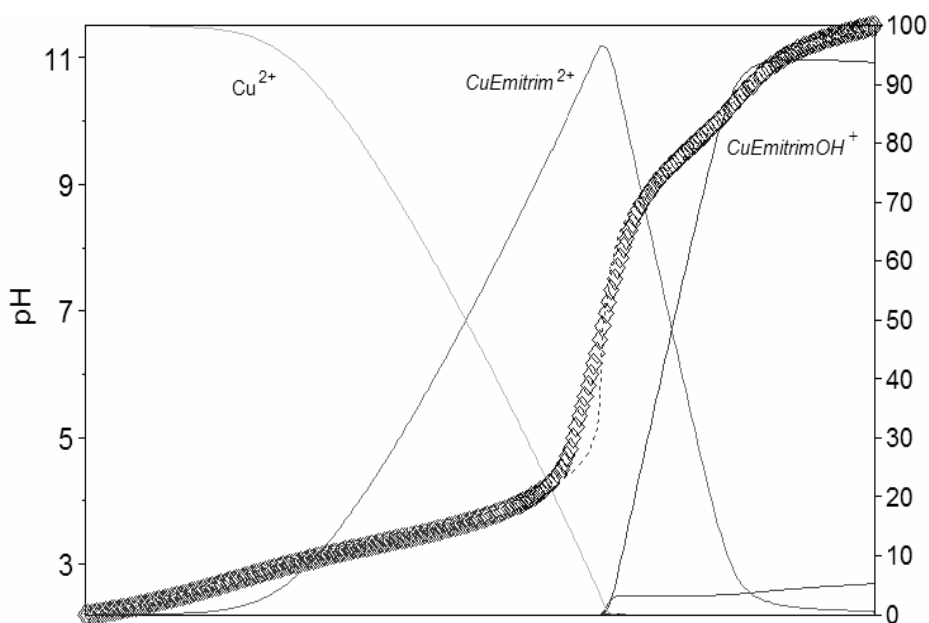


Figura 3.3.5 Curva de titulación potenciométrica del complejo CuEmitrim^{2+} graficada en Hyperquad

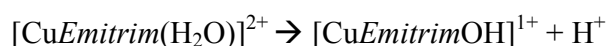
Equilibrio	Log β	Desviación estándar	pKa
$\text{Emitrim} + \text{Cu}^{2+} \rightarrow \text{CuEmitrim}^{2+}$	11.89	0.036	
$\text{Cu}^{2+} + \text{H}_2\text{O} + \text{Emitrim} \rightarrow [\text{CuEmitrim}(\text{OH})]^+ + \text{H}^+$	2.63	0.042	9.26
$\text{CuEmitrim}^{2+} + \text{OH}^- \rightarrow [\text{CuEmitrim}(\text{OH})]^{1+}$	4.74		

Tabla 3.3.3 Constantes de formación y de hidrólisis del complejo CuEmitrim

El valor de la constante de formación del complejo $CuEmitrim^{2+}$ ($\log\beta=11.89$) está dentro de los valores reportados para complejos mononucleares con ligantes tridentados donadores por nitrógeno, como los complejos $[Cu(\text{tris}(\text{aminometil})\text{metano})]$ con $\log\beta=9.9$ y $[Cu(\text{dietilentriamina})]^{2+}$ con $\log\beta=15.9^{(44)}$.

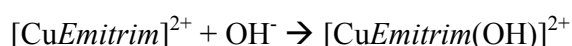
En el caso del complejo análogo dinuclear $Cu_2Dimeim$, este tiene un valor de $\log\beta=20.78$, que se refiere a la formación global de la especie con dos sitios de cobre. Si se divide ese valor entre el número de sitios de $Cu(II)$ en el complejo, se tendría que a la formación de una especie $CuDimeim$ le corresponde un valor de $\log\beta=10.39$. Este valor es un poco más pequeño que el valor de $\log\beta$ del complejo $CuEmitrim$. Esta diferencia podría deberse a flexibilidad del ligante monucleante comparada con la del dinucleante, cuya flexibilidad está restringida por el anillo diacequina. Así, la flexibilidad del ligante *Emitrim* permite una mejor interacción con metal, incrementando el valor de la constante de formación.

En lo que se refiere a la formación del hidroxocomplejo de cobre, la segunda constante mostrada en la tabla 3.3.3, y que fue arrojada por el programa, es una constante de formación global que incluye la hidrólisis del complejo más la constante de formación de $CuEmitrim^{2+}$. Si se desea conocer el valor de la constante de hidrólisis (K_a), es necesario restar a la constante de hidrólisis global el valor de la constante de formación del complejo mononuclear de cobre. Lo anterior sólo es válido en el caso de la primera hidrólisis, para hidrólisis subsecuentes, se resta a la constante de hidrólisis global la hidrólisis anterior. A partir del pK_a del complejo de cobre se puede conocer también la constante de formación del hidroxocomplejo (β_{OH}):



$$K_a = \frac{|[CuEmitrim(OH)]^{1+}||H^+|}{|[CuEmitrim(H_2O)]^{2+}|}$$

El equilibrio de formación del complejo hidroxido es:



$$\beta_{OH} = \frac{|[CuEmitrim(OH)]^{1+}|}{|[CuEmitrim]^{2+}||OH^-|}$$

Si el segundo equilibrio se multiplica y se divide por H^+ se obtiene $\beta_{OH}=K_a/K_w$, por lo que $Log\beta_{OH}=pK_w - pK_a$. Así, se obtuvo el valor de pK_a y $log\beta$ del hidroxocomplejo mononuclear. Con los datos de estas constantes se trazó el diagrama de abundancia relativa en función del pH (figura 3.3.8) utilizando el programa MEDUSA. En el diagrama se puede observar que el complejo $CuEmitrim^{2+}$ es estable en un amplio intervalo de pH, tomando importancia el equilibrio de hidrólisis a valores de pH superiores a 8.

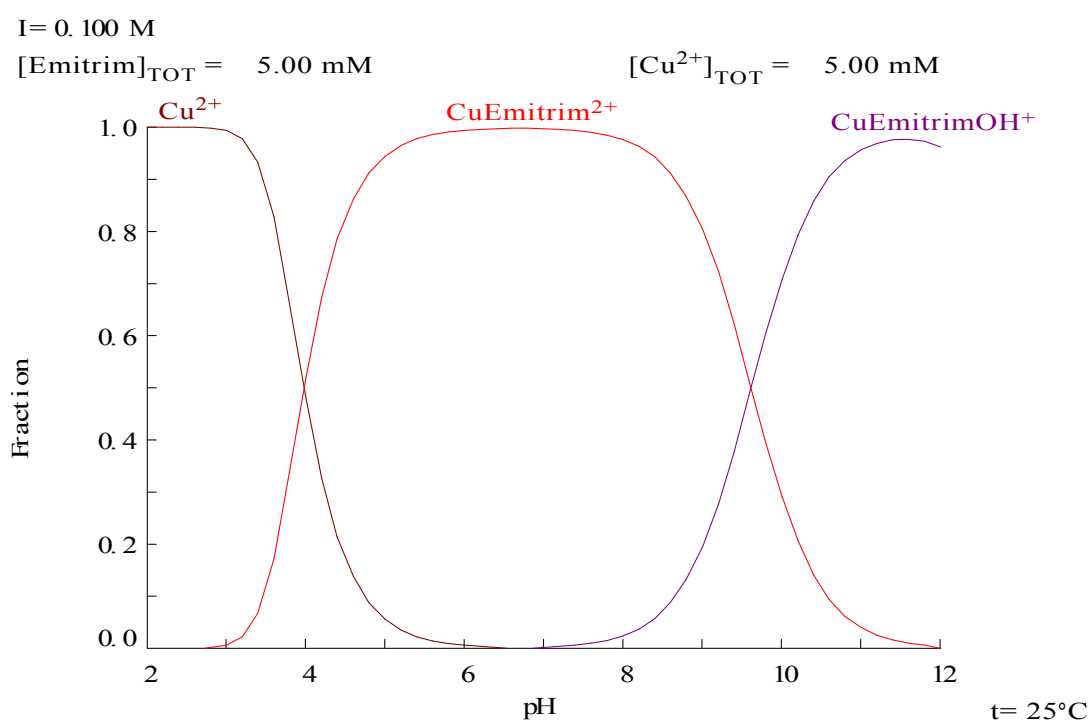


Figura 3.3.6 Diagrama de abundancia relativa de especies de Cu^{2+} en función del pH

3.3.2.2 Constantes de formación del complejo $CuEmissar^{1+}$

En la figura 3.3.7 se presentan las curvas de titulación experimental y teórica graficadas por el programa Hyperquad. El valor de χ^2 es menor a 12.5 por lo que se tiene una confiabilidad superior al 95% en los valores obtenidos. En la tabla 3.3.5 se presentan las constantes de formación de los complejos de Cu(II).

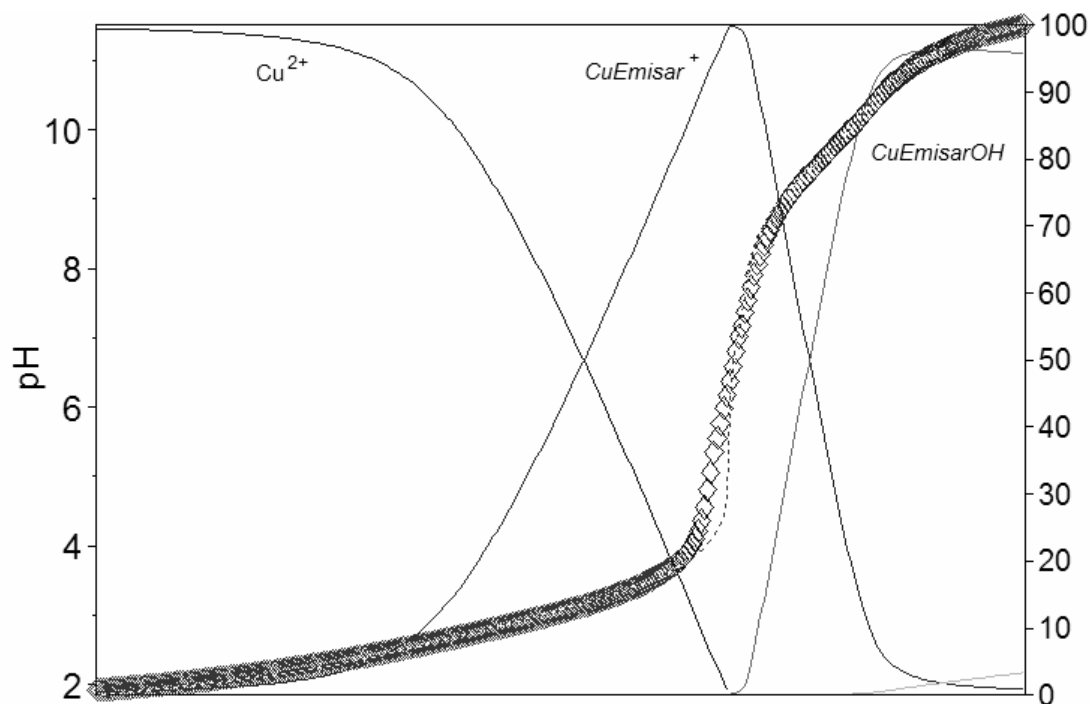


Figura 3.3.7 Curvas de titulación potenciométricas experimental y teórica del complejo CuEmisar^+ graficadas en Hyperquad

Equilibrio	Log β	Desviación estándar	pKa
$\text{Emisar}^- + \text{Cu}^{2+} \rightarrow \text{CuEmisar}^+$	11.20	0.0959	
$\text{Cu}^{2+} + \text{H}_2\text{O} + \text{Emisar}^- \rightarrow [\text{CuEmisar}(\text{OH})] + \text{H}^+$	1.85	0.1015	9.35
$\text{CuEmisar}^+ + \text{OH}^- \rightarrow [\text{CuEmisar}(\text{OH})]$	4.65		

Tabla 3.3.5 Constantes de formación del complejo CuEmisar^{1+}

El valor de la constante de formación del complejo CuEmisar^+ ($\log\beta=11.20$) es semejante al obtenido para el complejo CuEmitrim^{2+} , sin embargo la constante de formación del primer complejo es ligeramente menor. Lo anterior podría explicarse en términos de los donadores que hay en el ligante. Así, mientras que en el ligante *Emitrim* hay tres donadores de nitrógeno, en el ligante *Emisar* existen 2 donadores de nitrógeno y uno de oxígeno; al incrementarse el número de donadores de nitrógenos respecto a los donadores de oxígeno, aumenta la estabilización del complejo de Cu(II). Además, estos resultados coinciden con lo reportado para los complejos dinucleares análogos, pues la constante de formación del complejo dinuclear Cu_2Dimeim (que tiene únicamente

donadores de nitrógeno) es mayor que la constante de formación del complejo $\text{Cu}_2\text{Glimeim}$ (que tiene donadores de nitrógeno y oxígeno).

En la figura 3.3.8 se presenta el diagrama de abundancia relativa de CuEmisar en función del pH; en este diagrama se observa que al igual que el complejo CuEmitrim^{2+} , la especie CuEmisar^+ es estable en un amplio intervalo de pH, tomando importancia el equilibrio de hidrólisis a valores de pH superiores a 8.

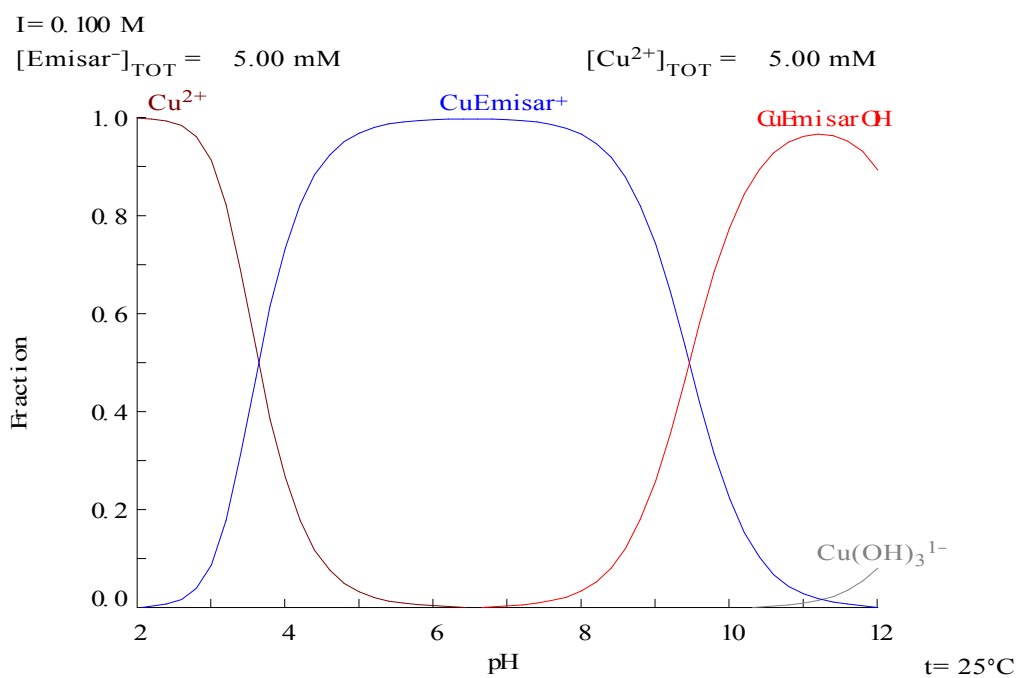


Figura 3.3.8 Diagrama de abundancia relativa de especies de Cu^{2+} en función del pH

3.4. Estudio electroquímico de complejos mononucleares y dinucleares de Cu(II)

En el estudio de sistemas modelo de la catecol oxidasa se han realizado trabajos sobre la actividad catalítica de complejos de cobre mononucleares y dinucleares en la oxidación de catecoles; la gran mayoría de los complejos dinucleares que han sido reportados presentan una distancia Cu-Cu entre 2.5 y 3.5 Å, distancia que es similar a la que presentan los iones de Cu(II) en el sitio activo de la catecol oxidasa. En estos trabajos se ha observado que los complejos dinucleares son más activos que los mononucleares; por tal motivo, algunos autores han mencionado que es necesaria la presencia de dos átomos de cobre cercanos para que éstos actúen sinérgicamente y entonces la actividad catalítica sea significativa.

Este trabajo de investigación surge a partir del estudio de los sistemas dinucleares $Cu_2Dimeim$, $Cu_2Glimeim$ y Cu_2Dimp ^(16,17,57). La actividad catecolasa que se ha observado en estos complejos difiere del comportamiento esperado dadas sus características estructurales: a pesar de que los complejos presentan distancias Cu-Cu relativamente grandes (mayores a 7 Å), éstos muestran una actividad catalítica significativa en la reacción de oxidación del 3,5-di-*ter*-butilcatecol que es inclusive superior en algunos casos, a la actividad que presentan sistemas modelo con distancias menores entre los centros de cobre^(16,17,57). Estos resultados despertaron interés en nuestro grupo de trabajo, por lo que se decidió indagar respecto a la sinergia que podría existir entre los sitios de cobre en estos complejos para llevar a cabo la oxidación de catecoles. Así, se propuso que una comparación entre la actividad catalítica de complejos mononucleares de Cu(II) con estructuras análogas a los complejos $Cu_2Dimeim$, $Cu_2Glimeim$ y Cu_2Dimp podría proporcionar información relevante que nos permitiera analizar el efecto de la presencia de dos sitios de cobre en la reactividad de estos sistemas.

El estudio electroquímico de los sistemas modelo de nuestro grupo de trabajo ha sido un herramienta muy útil para describir algunas características físicas y químicas de estos sistemas, y comprender los resultados sobre la actividad catalítica de los mismos^(17,35,49,57). Por tal motivo, en este trabajo se decidió llevar a cabo un estudio mediante voltamperometría cíclica de los complejos de cobre, buscando con ello ampliar la información respecto al comportamiento electroquímico de los complejos del grupo de trabajo y relacionar tal comportamiento con su reactividad.

Dentro de las técnicas electroquímicas que existen actualmente, la voltamperometría cíclica es sin duda una de las técnicas más utilizada en el análisis de los sistemas químicos, ya que las perturbaciones que se aplican a estos sistemas mediante dicha técnica, generan respuestas que permiten examinar de manera rápida y cualitativa su comportamiento electroquímico, y al mismo tiempo pueden proporcionar información mecanística de los sistemas estudiados. Antes de comenzar con la discusión del estudio electroquímico de los complejos, será necesario discutir algunos fundamentos de esta técnica analítica.

La *voltamperometría cíclica* es una técnica electroquímica en donde la información sobre una especie química se deduce a partir de la medida de la intensidad de corriente en función del potencial aplicado; a partir de esta técnica es posible obtener datos termodinámicos, como los potenciales redox, información de la cinética de transferencia electrónica y de reacciones químicas acopladas a estos procesos. En esta técnica se utilizan microelectrodos que tienen áreas superficiales como máximo de unos pocos milímetros, por lo que el consumo de la especie química analizada es mínimo.

En voltamperometría cíclica o de barrido triangular se realiza un barrido de potencial en forma cíclica entre dos valores: primero, el potencial se varía linealmente en función del tiempo hasta un valor máximo; cuando se alcanza este valor, el sentido del barrido del potencial se invierte, y entonces el potencial regresa hasta su valor original (figura 3.4.1). Los potenciales a los cuales ocurre la inversión del barrido del potencial se denominan potenciales de inversión (E_{λ}). La dirección del barrido del potencial puede ser en sentido negativo (barrido catódico) o en sentido positivo (barrido anódico).

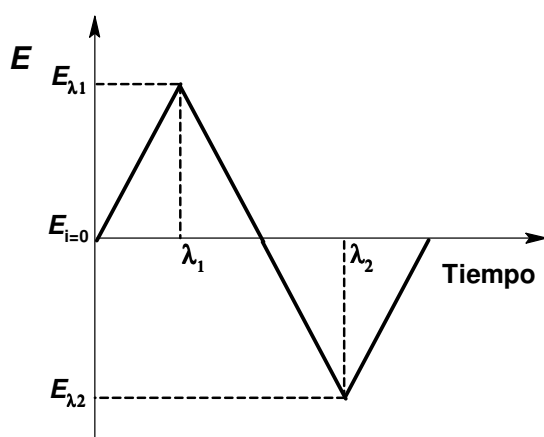
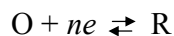


Figura 3.4.1. Variación del potencial aplicado en función del tiempo en la técnica de voltamperometría cíclica

Para discutir la técnica de voltamperometría cíclica se tomará como ejemplo el estudio inicial de una especie oxidante con potencial de reducción E^0 . Si el potencial de trabajo cambia respecto al tiempo desde el potencial de corriente nula ($E_{i=0}$) hacia valores más negativos cercanos a E^0 , comenzará a aparecer una corriente de reducción, que dependerá principalmente de la transferencia de electrones, hasta llegar a un máximo de corriente o pico; posteriormente la corriente no dependerá sólo de los procesos faradaicos, sino también de la difusión de la especie electroactiva al electrodo. Finalmente, se observará la total dependencia de la corriente de reducción con la difusión de la especie al electrodo. Cuando se alcanzan valores de potencial en donde la corriente se encuentra limitada por la difusión, en la cercanías del electrodo sólo se encontrará a la especie que es producto de la electrólisis; si al llegar a esos valores de potencial, el sentido del barrido se invierte, es posible detectar a dicha especie, obteniéndose así un pico de características similares a las del primero.

En la figura 3.4.2 se muestra un voltamperograma típico para sistemas cuya transferencia de carga al electrodo es muy rápida y que no presentan reacciones químicas acopladas. Para los sistemas que presentan transferencia de carga rápida, la relación intensidad de corriente-potencial ($i-E$) generalmente puede ser descrita por la ecuación de Nernst o una ecuación derivada de ella:



$$E = E^{0'} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{C_O(0,t)}{C_R(0,t)}$$

donde: $E^{0'}$ es el potencial redox condicionado, n es el número de electrones intercambiados por el sistema, R es la constante de los gases, F es la constante de Faraday, T es la temperatura y C_O y C_R son las concentraciones de oxidante y reductor respectivamente. Para un sistema que presenta una reacción al electrodo que sigue la ecuación de Nernst, se dice que es termodinámicamente o electroquímicamente reversible.

Algunos parámetros electroquímicos importantes que se obtienen en los voltamperogramas cíclicos son el potencial de pico catódico (E_{pc}), el potencial de pico anódico (E_{pa}), la corriente de pico catódica (i_{pc}) y la corriente de pico anódica (i_{pa}). En sistemas reversibles los estudios electroquímicos permiten determinar un parámetro termodinámico importante, el potencial redox; en voltamperometría cíclica, la semisuma de los potenciales de pico anódico y catódico es el potencial de media onda ($E_{1/2}$). Este parámetro electroquímico es fundamental, ya que de acuerdo con las ecuaciones que

rigen los fenómenos electroquímicos, $E_{1/2}$ es prácticamente igual al potencial redox del sistema^(46,47).

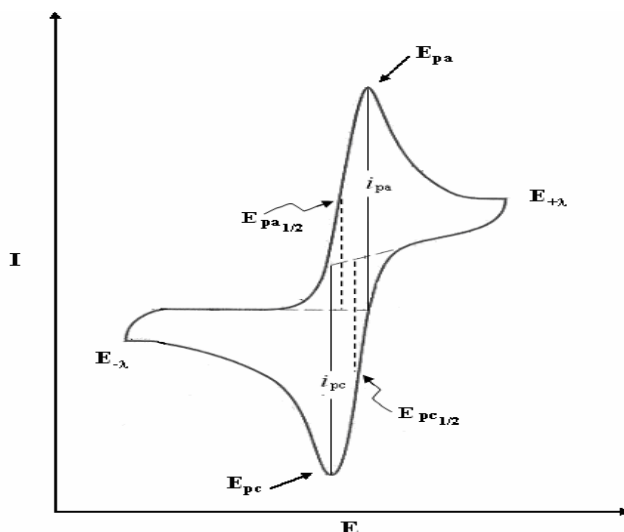


Figura 3.4.2. Voltamperograma cíclico típico de un sistema reversible y algunos parámetros electroquímicos de relevancia en el análisis químico

Para un proceso de transferencia de carga rápido (o reversible), en donde no hay reacciones químicas acopladas, las corrientes de pico deben ser iguales pero de signo opuesto, por lo que la relación entre las intensidades de corriente (i_{pa}/i_{pc}) es igual a 1; asimismo, la diferencia entre los potenciales de pico $\Delta E_p = E_{pc} - E_{pa} = 0.059/n$ V a 25°C, los valores de E_p no varían con la velocidad de barrido del potencial. En ocasiones las señales en los VC son anchas, de manera que la determinación de los potenciales de pico resulta poco precisa; por tal motivo se lleva a cabo el análisis de otro parámetro electroquímico, el potencial de medio pico, $E_{p/2}$, que es el potencial al cual la corriente es la mitad de la corriente de pico (Figura 3.4.7). En un sistema reversible ideal $E_{p/2} = E_{1/2} + 28$ mV y $|E_p - E_{p/2}| = 56.5/n$ mV a 25°C.

De las ecuaciones derivadas en voltamperometría cíclica para explicar las curvas $i-E$, surge una función que relaciona la intensidad de corriente de pico con la velocidad de barrido de potencial. A ésta se le conoce como función voltamperométrica:

$$i_p = (2.69 \times 10^5) n^{3/2} A D_O^{1/2} C_O^* v^{1/2}$$

donde n es el número de electrones intercambiados por el sistema, A es el área superficial del electrodo, D_O es el coeficiente de difusión de la especie química, C_O^* es la concentración inicial de la especie y v es la velocidad de barrido.

Discutidos algunos de los detalles de la técnica electroquímica empleada y de los parámetros más utilizados para evaluar el comportamiento de los sistemas químicos, ahora se continuará con la discusión de los resultados obtenidos en el estudio de los complejos de cobre.

En la tabla 3.4.1 se presentan las posibles estructuras en disolución de los iones complejos de cobre que serán estudiados.

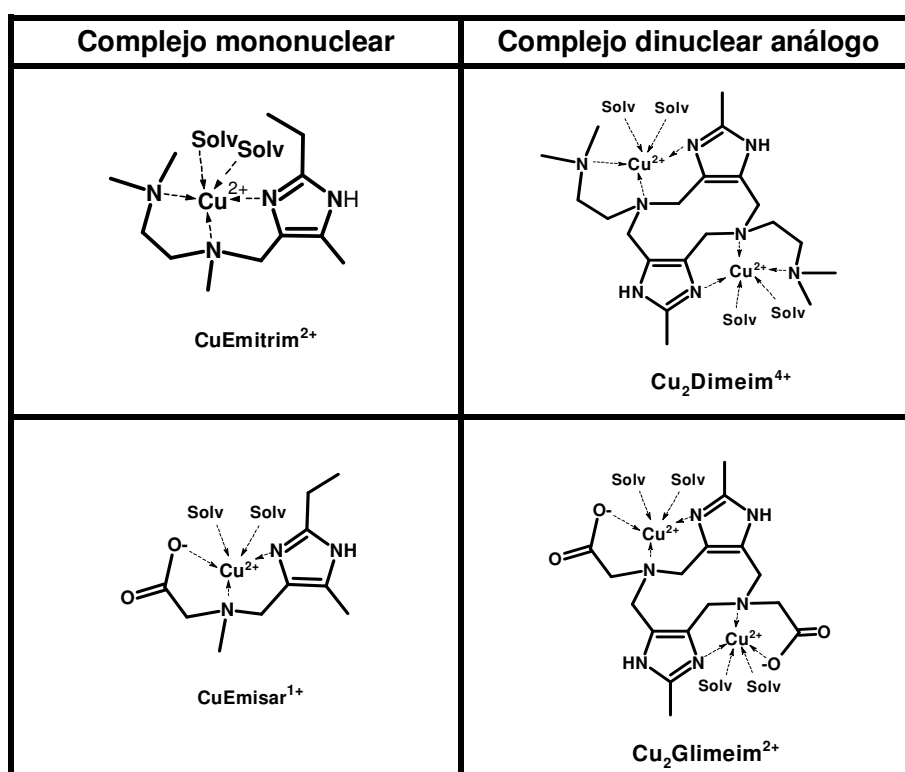


Tabla 3.4.1. Estructura de los complejos dinucleares y mononucleares

Al comparar las estructuras entre los complejos dinucleares y mononucleares se puede observar una gran similitud en los sitios de coordinación de dichos sistemas; los complejos CuEmitrim^{2+} y $\text{Cu}_2\text{Dimeim}^{4+}$ presentan sitios de tipo N,N,N, mientras que los sitios de coordinación de los complejos CuEmisar^{1+} y $\text{Cu}_2\text{Glimeim}^{2+}$ son de tipo N,N,O; por otra parte, los complejos dinucleares presentan un grupo metilo en la posición 2 del anillo de imidazol, mientras que los mononucleares presentan un grupo etilo en esa misma posición.

Resulta importante mencionar que en estos estudios, los complejos fueron obtenidos a partir de la sal $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, de manera que todos los complejos tienen el mismo contraión. Puesto que los experimentos se realizaron en el medio $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 1:1 (v/v), se

ha considerado que las moléculas de los disolventes completan la esfera de coordinación del metal.

Como se mencionó al inicio de la sección 3.4, el estudio electroquímico de los complejos de cobre se realizó empleando la técnica de voltamperometría cíclica; se llevaron a cabo estudios variando el potencial catódico de inversión y estudios a diferentes velocidades de barrido. Con este procedimiento se obtuvieron los voltamperogramas cíclicos (VC) de disoluciones de los complejos en presencia y en ausencia de oxígeno.

Antes de obtener los voltamperogramas se realizó una compensación de la caída óhmica mediante retroalimentación positiva⁽⁴⁶⁾, determinando el valor de la resistencia en el medio electrolítico seleccionado. Para comprobar que se llevara a cabo adecuadamente dicha compensación, se obtuvieron voltamperogramas a diferentes velocidades de barrido de una disolución aproximadamente 1 mM de ferroceno en la mezcla MeOH/H₂O 1:1 (Figura 3.4.3). En estos experimentos, la variación de los potenciales de pico anódico y catódico tuvieron una variación menor o igual a ± 6 mV .

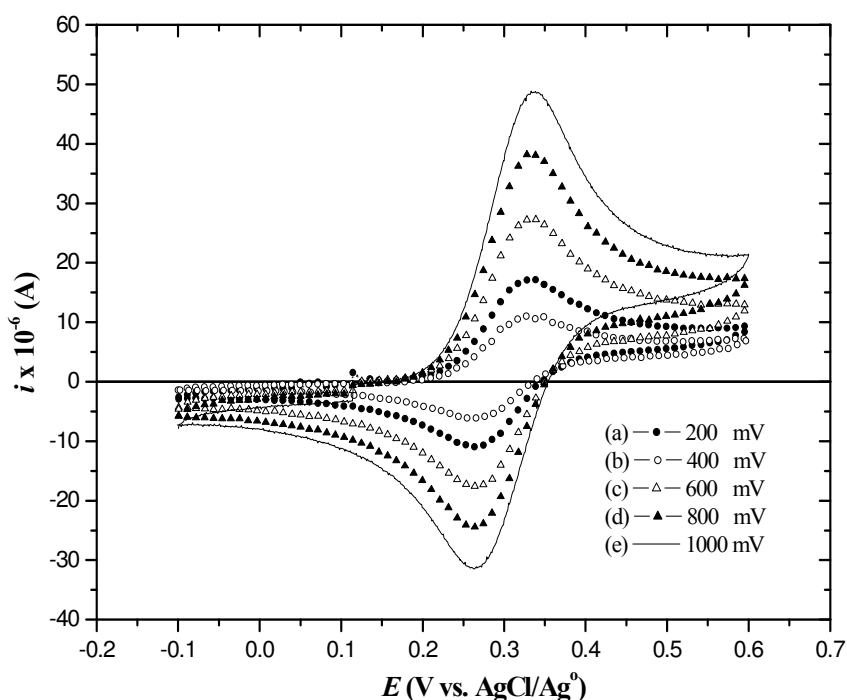


Figura 3.4.3. VC de una disolución aproximadamente 1 mM de ferroceno en la mezcla MeOH/H₂O_{pH=7.5}, obtenidos variando la velocidad de barrido. Electrodo de trabajo: carbón vítreo, electrolito soporte: NaHepes 0.1 M

3.4.1 Estudio electroquímico de los complejos mononucleares en ausencia de O₂

El estudio electroquímico inicial de los complejos mononucleares se llevó a cabo en el medio MeOH/H₂O 1:1 (v/v) a dos diferentes valores de pH, 7.5 y 8.0 empleando como amortiguador de pH y electrolito soporte la sal sódica del ácido N-[2-hidroxietil]piperazina-N'-[2-etansulfónico] (NaHepes). Se obtuvieron VC de disoluciones 1 mM de los complejos CuEmitrim y CuEmisar¹ en la mezcla MeOH/H₂O_{Hepes} 1:1 (v/v). Cabe mencionar que el pH informado en los estudios es el que se fijó en las disoluciones acuosas de NaHepes, sin tomar en cuenta el efecto que presenta el metanol sobre el pH de la mezcla MeOH/H₂O 1:1. Bates⁽⁵⁰⁾ propone una corrección de 0.13 unidades sobre el valor del pH de disoluciones acuosas de los amortiguadores para obtener el valor real del pH en una mezcla MeOH/H₂O_(amortiguador) 1:1. De este modo, si se desea conocer el valor exacto del pH en este medio, es necesario restar 0.13 unidades al valor de pH fijado en la disolución del amortiguador.

Cuando se obtiene el VC del medio electrolítico (MeOH/H₂O_(Hepes)), se observa una señal de reducción en $E = -0.850$ V vs. Fc⁺/Fc que se atribuye a la reducción electroquímica de O₂ (figura 3.4.4(a)).

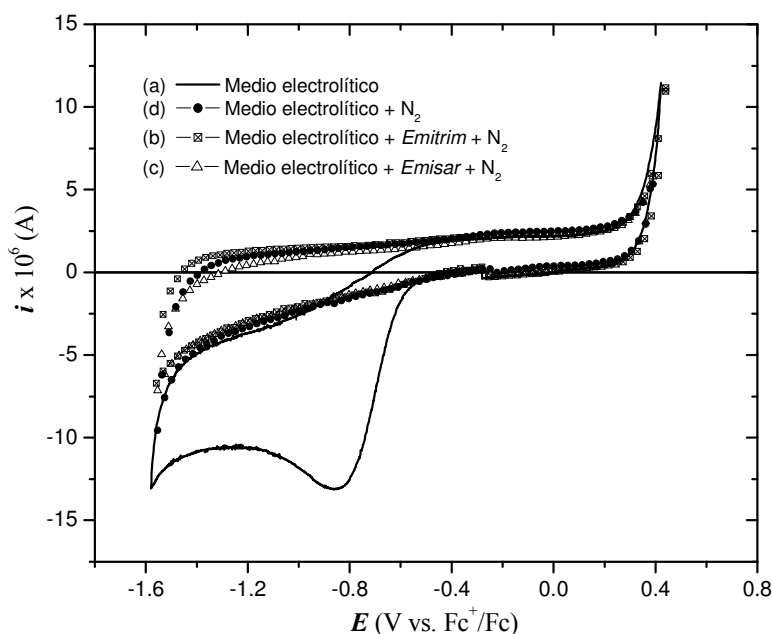


Figura 3.4.4. VC de (a) medio electrolítico MeOH/H₂O_{pH Hepes 0.1M} sin burbujeo de N₂ (b) disolución 1mM del ligante Emitrim y (c) disolución 1mM del ligante Emisar. Electrodo de trabajo: carbón vítreo, electrolito soporte: Hepes 0.1 M

¹En la discusión del trabajo electroquímico y cinético se referirá a los iones complejos de cobre como CuEmisar, CuEmitrim, Cu₂Dimeim y Cu₂Glimeim, omitiendo la carga que cada ion presenta.

Para eliminar el oxígeno presente en la disolución, se hizo pasar nitrógeno a la celda, observando que en el VC obtenido después de dicho tratamiento no mostraba ya la señal de reducción de O_2 (figura 3.4.4(b)). Posteriormente se obtuvieron los VC de una disolución 1 mM de los ligantes *Emitrim* (figura 3.4.4 (c)) y *Emisar* (figura 3.4.4 (d)); dado que en estos VC no se observaron señales correspondientes a procesos electroquímicos, se concluyó que estos compuestos no son especies electroactivas en estas condiciones de trabajo; por lo tanto, las señales que se observan en los VC de los complejos de cobre se atribuyen a procesos electroquímicos del cobre.

Los VC se obtuvieron a una velocidad de barrido de 100 mV/s, empleando un electrodo de carbón vítreo como electrodo de trabajo. A continuación se describirán las características de los VC de los complejos mononucleares. La referencia empleada fue el sistema ferricinio/ferroceno (Fc^+/Fc). El estudio electroquímico de los complejos se inició obteniendo un VC en sentido anódico y después un VC en sentido catódico; posteriormente se obtuvo un conjunto de voltamperogramas variando el potencial catódico de inversión ($E_{-λ}$) y finalmente se obtuvieron VC variando la velocidad de barrido.

3.4.1.1. Estudio electroquímico de *CuEmitrim*

En la figura 3.4.5 se muestran los VC obtenidos de una disolución 1 mM del complejo $CuEmitrim^{2+}$ en $MeOH/H_2O_{pH=7.5}$ obtenidos variando el potencial de inversión ($E_{-λ}$). Cabe mencionar que para preparar las disoluciones que se utilizaron en todos los estudios electroquímicos se mezcló un equivalente de ligante y un equivalente de $Cu(NO_3)_2$ en disolución, obteniendo *in situ* a los complejos. Los VC de estas disoluciones son iguales a los VC obtenidos de disoluciones preparadas disolviendo el sólido del complejo correspondiente (figura 3.4.6 (a)).

En el conjunto de VC cíclicos de este complejo se observa una sola señal de reducción, **1c**, con potencial de pico catódico (E_{pc}) en -0.503 V vs. Fc^+/Fc . Además se observan tres señales de oxidación, **1a**, **1la**, y **1lla**, con potenciales de pico anódico (E_{pa}) en -0.368 , 0.04 y -0.260 V/ Fc^+-Fc respectivamente. Por el análisis de los VC, se sugiere una dependencia de la señal **1a** con respecto a la señal **1c**. La señal **1c** corresponde al proceso de reducción $Cu(II)Emitrim \rightarrow Cu(I)Emitrim$, por lo que la señal **1a** corresponde a la oxidación $Cu(I)Emitrim \rightarrow Cu(II)Emitrim$. Esta asignación se realizó por comparación con los estudios electroquímicos realizados a complejos de Cu (II) del grupo de trabajo^(17, 35).

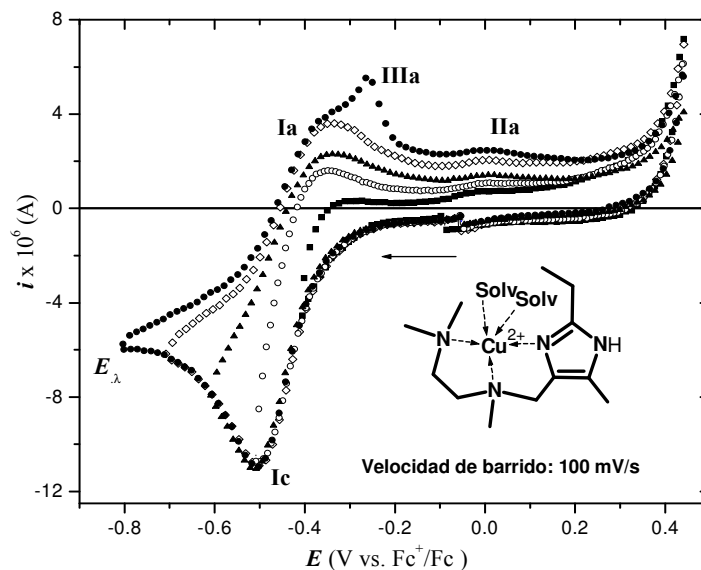


Figura 3.4.5. Estudio de la variación del potencial de inversión E_{λ} de una disolución 1 mM del complejo CuEmitrim^{2+} en el medio $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$. Electrodo de trabajo: carbón vítreo; electrolito soporte: Hepes 0.1 M

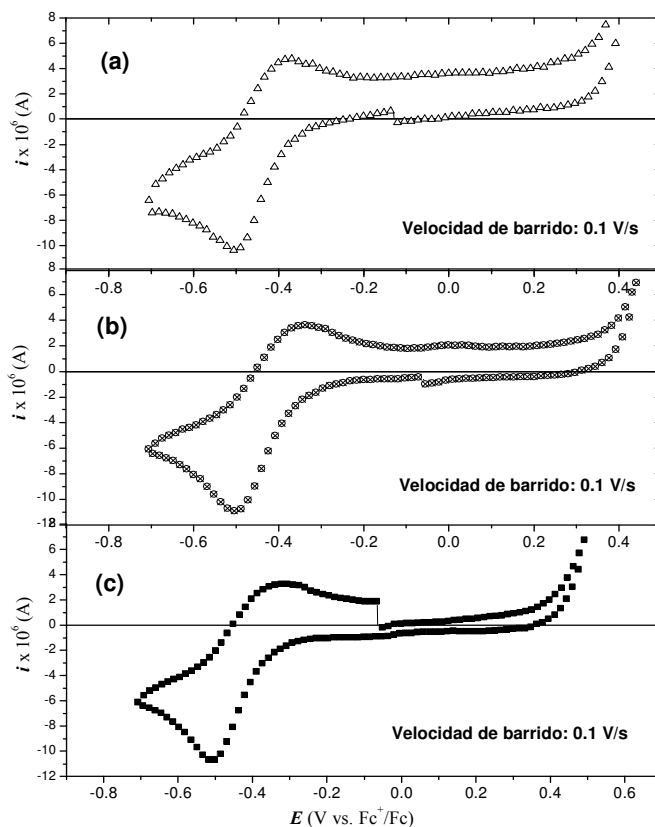


Figura 3.4.6 VC de disoluciones 1mM en $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ de (a) $[\text{CuEmitrim}(\text{MeOH})(\text{NO}_3)]\text{NO}_3$ y (b) $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 + \text{Emitrim}$ obtenidos mediante un barrido en sentido catódico; (c) VC de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 + \text{Emitrim}$ obtenido mediante un barrido en sentido anódico. Electrolito soporte: Hepes 0.1 M. Electrodo de trabajo: carbón vítreo

Las señales finas y alargadas, como la señal **IIa**, son características de la redisolución de especies adheridas a la superficie del electrodo; así, la señal **IIa** se puede asignar a la oxidación de una especie muy estable de Cu(I) adherida al electrodo.

Con respecto a la señal **IIa**, durante el estudio voltamperométrico se realizaron las siguientes observaciones:

- i) La señal **IIa** no aparece en el VC obtenido mediante un barrido en sentido anódico (figura 3.4.4 (c)), de manera que esta señal únicamente se observa si antes ocurre la reducción de la especie Cu(II)*Emitrim*.
- ii) Al hacer adiciones de Cu(NO₃)₂ a la disolución del complejo se observa un incremento en la corriente de la señal **IIa**, cuando el VC se obtiene en sentido catódico.

Lo que se propone entonces es que al formarse la especie Cu(I)*Emitrim* al electrodo, parte de este complejo se disocia, teniendo como producto al ligante y al metal libres. Posteriormente la especie Cu¹⁺ no coordinada al ligante se oxida al electrodo, originando así la señal **IIa**.

Esta propuesta se puede confirmar al comparar el voltamperograma del complejo con el VC que se ha reportado de la sal Cu(NO₃)₂ en el medio electrolítico estudiado⁽¹⁷⁾. La señal de oxidación del ion Cu(I) (figura 3.4.7 (b)) aparece en un potencial muy similar en el cual se observa la señal **IIa** en el VC del complejo Cu*Emitrim*²⁺ (figura 3.4.7 (b)).

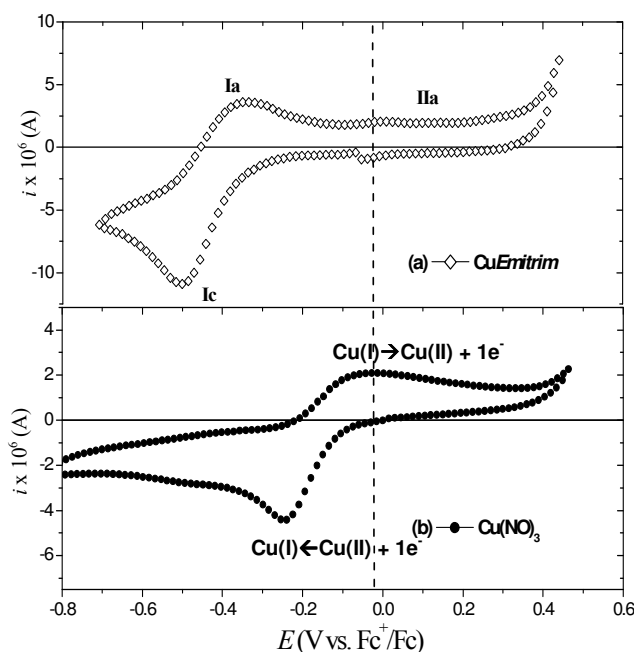


Figura 3.4.7. (a) VC de una disolución 1 mM del complejo Cu*Emitrim*²⁺. y (b) VC de una disolución <1 mM de la sal Cu(NO₃)₂ en el medio MeOH/H₂O. Velocidad de barrido: 100 mV/s; electrodo de trabajo: carbón vítreo; electrolito soporte: Hepes 0.1 M

El VC del complejo CuEmitrim en la mezcla MeOH/H₂O_{pH=8.0} presenta las mismas señales que se observaron en el conjunto de voltamperogramas en MeOH/H₂O_{pH=7.5}. El análisis de los parámetros electroquímicos obtenidos en estos dos experimentos se llevará a cabo en la sección 3.4.1.3

Nicholson y Shain⁽⁶⁰⁾ publicaron un extenso trabajo sobre métodos de diagnóstico que ayudan a caracterizar a los sistemas químicos mediante voltamperometría cíclica. Estos métodos se basan en el análisis de los VC obtenidos variando la velocidad de barrido; con un análisis adecuado a partir de este estudio se puede determinar si un sistema presenta transferencias de carga rápidas o lentas, y si existen reacciones químicas acoplada a tales procesos.

De este modo, para complementar la información obtenida acerca de los complejos, se decidió llevar a cabo un estudio variando la velocidad de barrido del potencial. En la figura 3.4.2 se muestran los VC del complejo a diferentes velocidades de barrido. En estos VC se observa una dependencia de E_{pc} con respecto a la velocidad de barrido (v).

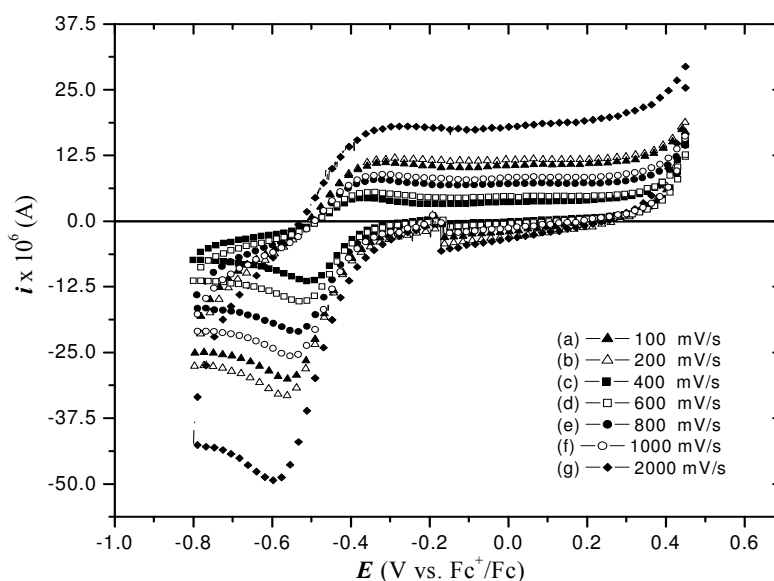


Figura 3.4.8. Estudio voltamperométrico de la variación de la velocidad de barrido del complejo CuEmitrim²⁺ en MeOH/H₂O_{pH=8.0}. Electrodo de trabajo: carbón vítreo; electrolito soporte: Hepes 0.1 M

Dentro de los métodos de diagnóstico propuestos por Nicholson y Shain se encuentra el análisis de la función voltamperométrica con respecto a la velocidad de barrido. Para un sistema que presenta una transferencia de carga rápida y que no presenta reacciones acopladas, el cociente $i_p/C_O^*v^{1/2}$ es constante e independiente de la

velocidad de barrido para un sistema dado. De acuerdo con estos autores, una variación de este cociente con la velocidad de barrido puede asociarse a una transferencia de carga lenta, así como a la presencia de reacciones químicas acoplada. Estos autores hicieron simulaciones del cociente $i_p/v^{1/2}$ en diferentes casos donde se pueden presentar transferencias de carga lentas, rápidas y reacciones acopladas que anteceden o preceden a las transferencias de carga. Para cada caso el comportamiento de $i_p/v^{1/2}$ respecto a la velocidad de barrido será distinto.

De los VC del complejo variando la velocidad de barrido se obtuvieron los valores de i_{pc} , y a partir de estos valores se obtuvo la relación $i_p/v^{1/2}C^*$. De acuerdo con las simulaciones hechas por Nicholson y Shain⁽⁶⁰⁾ el comportamiento del gráfico de $i_p/v^{1/2}C^*$ vs. $\log v$ del complejo CuEmitrim (figura 3.4.9(a)) es típico de sistemas que presentan una transferencia de carga rápida seguida por una reacción química acoplada reversible, estos sistemas son del tipo electroquímico-químico o EC⁽⁴⁶⁾.

Otro método de diagnóstico consiste en graficar la relación de corrientes i_{pa}/i_{pc} en función de la velocidad de barrido (figura 3.4.9(b)). La forma mostrada por la gráfica indica nuevamente que el sistema es de tipo EC.

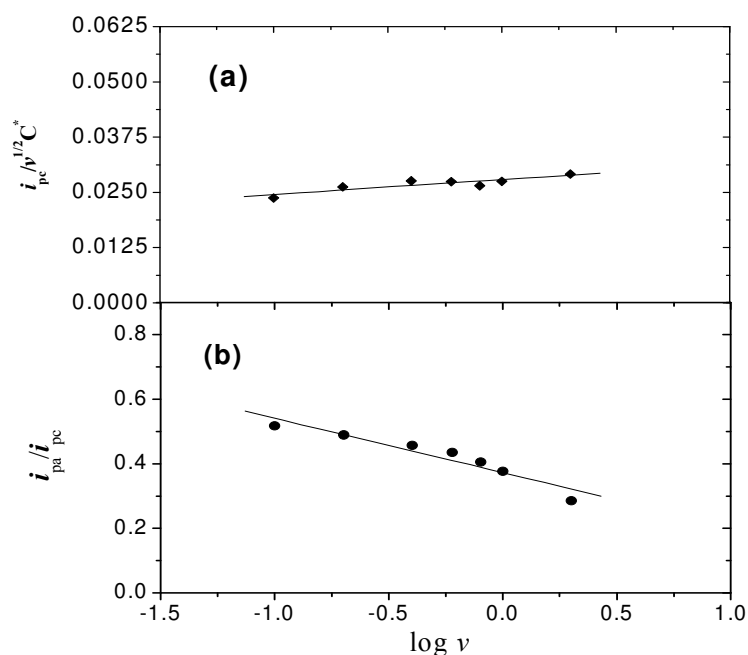


Figura 3.4.9. Gráficos de (a) $i_p/v^{1/2}C^*$ y (b) i_{pa}/i_{pc} en función de logaritmo de la velocidad de barrido ($\log v$)

Un método adicional para determinar el tipo de mecanismo que sigue un sistema químico consiste en observar la variación de E_{pc} en función de la velocidad de barrido. En un sistema de tipo EC en donde la transferencia de carga es rápida y la reacción acoplada

es reversibles se observará un desplazamiento catódico en el valor de E_{pc} de aproximadamente 60 mV por cada 10 veces que se aumente la velocidad de barrido. En la figura 3.4.10 se muestra la gráfica correspondiente de E_{pc} vs. $\log v$ del complejo CuEmitrim. La pendiente de la gráfica es de 62.5 mV, lo cual nuevamente prueba que el complejo Cu(II)*Emitrim* presenta una transferencia de carga rápida seguida de una reacción química reversible.

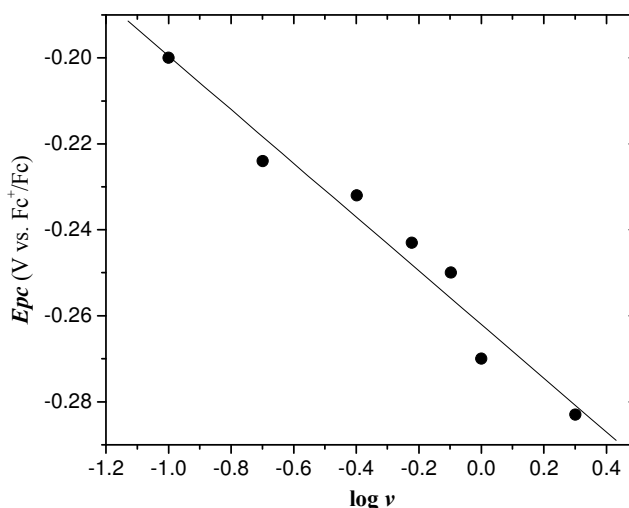


Figura 3.4.10. Gráfica de E_{pc} en función de $\log v$ para el complejo CuEmitrim

3.4.1.2. Estudio electroquímico de CuEmisar

En la figura 3.4.11 se muestra el conjunto de voltamperogramas de una disolución 1 mM del complejo CuEmisar, obtenidos en la mezcla MeOH/H₂O_{pH=7.5}. En los VC se observa una sola señal de reducción, **1c**, con $E_{pc} = -0.528$ V vs. Fc^+/Fc ; asimismo se observa una señal de oxidación, **1la**, con E_{pa} en -0.091 V vs. Fc^+/Fc -0.384 . La señal **1c** se asigna a la reducción $Cu(II)Emisar \rightarrow Cu(I)Emisar$. Por otro lado, solamente se observa un hombro, señal **1a**, en la región donde debería observarse el pico de oxidación de la especie Cu(I)Emisar; este hecho podría estar relacionado con la presencia de una reacción acoplada, una transferencia de carga lenta, o a ambas situaciones. La señal **1la** sugiere la aparición de por lo menos una reacción química acoplada.

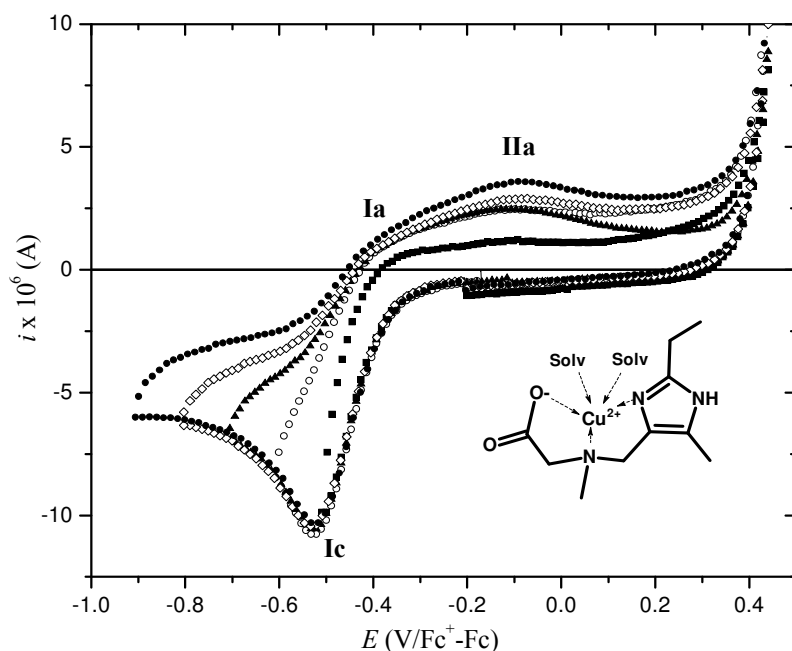


Figura 3.4.11. Estudio de la variación del potencial de inversión E_i de una disolución 1 mM del complejo CuEmisar^{1+} en el medio MeOH/H₂O. Velocidad de barrido: 100 mV/s; electrodo de trabajo: carbón vítreo; electrolito soporte: NaHepes 0.1 M

La señal **IIa** se asigna a la oxidación de Cu^{1+} no coordinado con el ligante por razones similares a las descritas para el complejo CuEmitrim en la sección anterior. Si se obtiene el VC en sentido anódico, no aparece la señal **IIa** (figura 3.4.12(b)); además, cuando se compara el VC de este complejo con el correspondiente VC de la sal $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ se observa que la señal **IIa** aparece en un potencial semejante al potencial de oxidación del ion $\text{Cu}(\text{I})$ (figura 3.4.12(c)).

El VC del complejo CuEmisar en la mezcla MeOH/H₂O_{pH=8.0} presenta las mismas señales que se observaron en el medio MeOH/H₂O_{pH=7.5}. La discusión de los parámetros electroquímicos obtenidos en estos dos experimentos se llevará a cabo en la sección 3.4.1.3.

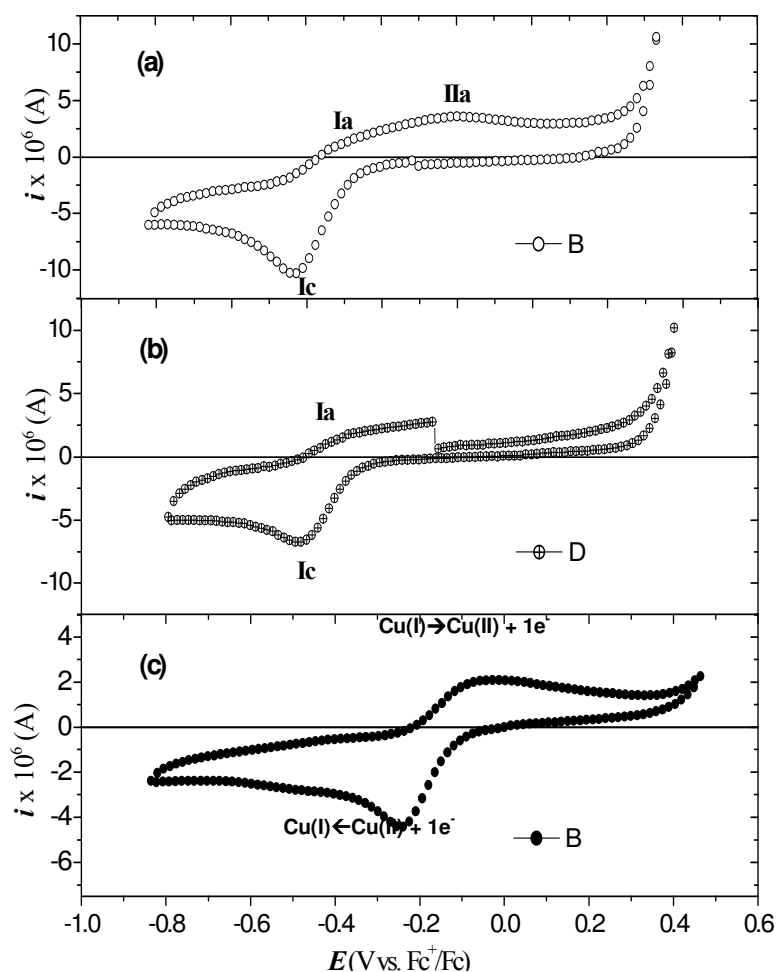


Figura 3.4.12 VC de una disolución 1 mM del complejo CuEmisar^{1+} obtenido mediante un barrido en sentido (a) catódico y (b) anódico; (c) VC de una disolución $<1\text{ mM}</math> de la sal $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ en el medio $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}^{(17)}$. Velocidad de barrido: 100 mV/s; electrodo de trabajo: carbón vítreo; electrolito soporte: NaHepes 0.1 M.$

En la figura 3.4.13 se muestran los VC del complejo CuEmisar en $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}_{\text{pH}=8.0}$ variando la velocidad de barrido. En estos voltamperogramas se puede observar que el valor de E_{pc} depende de la velocidad de barrido. Obteniendo la gráfica correspondiente de $i_p/v^{1/2}C^*$ en función de $\log v$ (figura 3.4.14), y comparando con las simulaciones hechas por Nicholson y Shain, se concluyó que este sistema también presenta una transferencia de carga rápida la cual es seguida por una reacción acoplada reversible. Asimismo para este complejo se obtuvo la gráfica de E_{pc} en función del logaritmo de la velocidad de barrido (figura 3.4.15); la pendiente de esta gráfica es de -52 mV , que nuevamente puede asociarse a la presencia de una transferencia de de carga rápida seguida por una reacción química reversible.

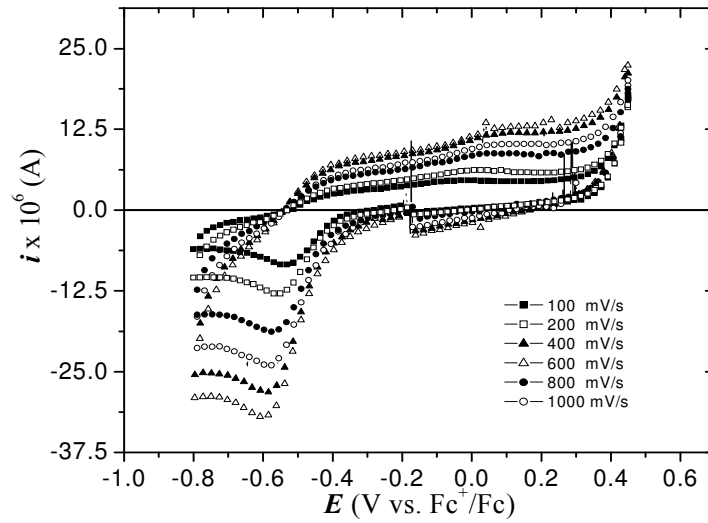


Figura 3.4.13. Estudio de la variación de la velocidad del barrido del complejo CuEmisar^{2+}

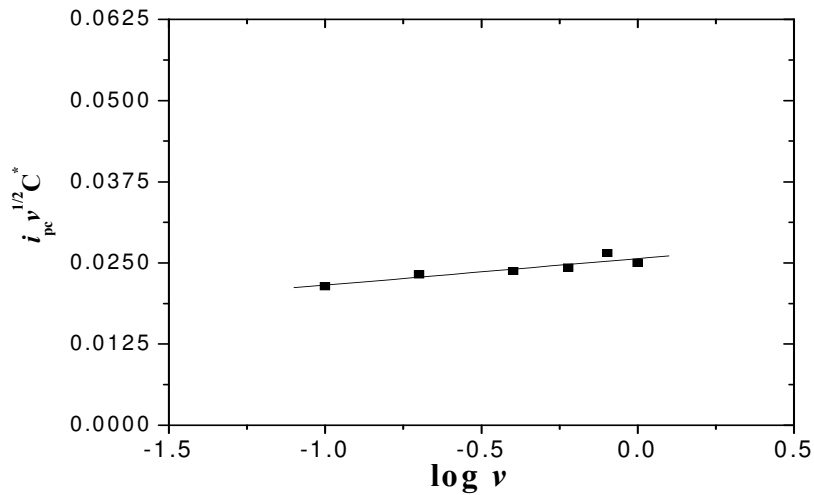


Figura 3.4.14. Gráfica de $i_p/v^{1/2} C^*$ en función del logaritmo de la velocidad de barrido

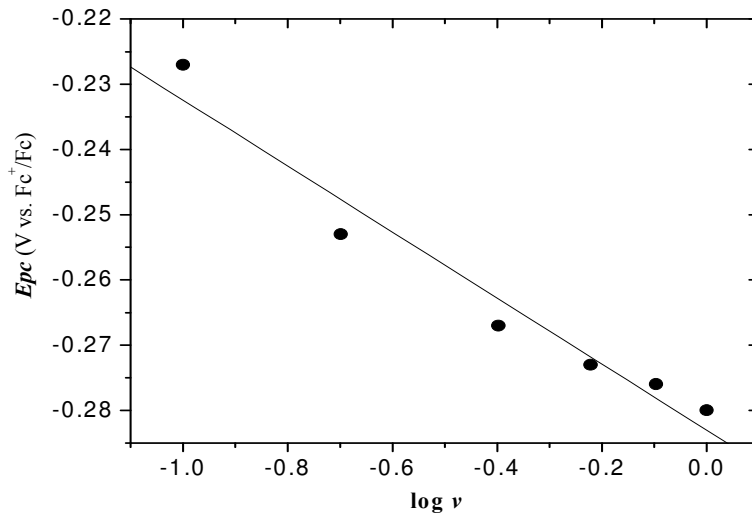


Figura 3.4.15. Gráfica de E_{pc} en función del logaritmo de la velocidad barrido para el complejo CuEmisar^{2+}

3.4.1.3 Parámetros electroquímicos de los complejos mononucleares de Cu(II)

Para comparar el comportamiento electroquímico de los complejos *CuEmitrim* y *CuEmisar*, en la tabla 3.4.2 se presentan algunos parámetros electroquímicos de los sistemas mononucleares. Dado que estos complejos son sistemas EC cuya reacción acoplada es reversible, se utilizaron los parámetros electroquímicos obtenidos a la velocidad de 100 mV/s. A continuación se realizará una breve discusión sobre los datos mostrados en esta tabla.

Compuesto	E_{pc} (V vs Fc^+/Fc) Señal I_c $Cu(II)L \rightarrow Cu(I)L$	Señales I_a y I_c i_{pa}/i_{pc}	$E_{pc}-E_{pc}/2$ (V vs. Fc^+/Fc)
<i>CuEmitrim</i> pH=7.5	-0.503	0.52	-0.083
<i>CuEmitrim</i> pH=8.0	-0.496	0.56	-0.071
<i>CuEmisar</i> pH=7.5	-0.528	---	-0.088
<i>CuEmisar</i> pH=8.0	-0.514	0.22	-0.078

Tabla 3.4.2. Parámetros electroquímicos de los complejos *CuEmitrim* y *CuEmisar*. Velocidad de barrido 100 mV/s

Al analizar los datos de la tabla 3.4.2 se puede observar que el cociente de corrientes i_{pa}/i_{pc} es menor a uno en todos los casos; a partir del estudio variando la velocidad de barrido se pudo determinar que esto es resultado de la disociación de la forma reducida de los complejos, que es la reacción acoplada a la transferencia de carga.

El complejo *CuEmitrim* presenta valores de i_{pa}/i_{pc} más grandes que *CuEmisar*. El valor de i_{pa}/i_{pc} debe ser más pequeño para el complejo cuya especie reducida sea menos estable, es decir que se disocie más. Así, puesto que la intensidad de corriente de la señal **Ia** es más pequeña para el complejo *CuEmisar*, y la señal de la oxidación de Cu^{1+} no coordinado con el ligante tiene una intensidad de corriente mayor para este complejo, se puede sugerir que la especie *Cu(I)Emisar* es menos estable que la especie *Cu(I)Emitrim*.

Al comparar los valores de E_{pc} de ambos sistemas, puede observarse también que el complejo *CuEmitrim* es más oxidante que el complejo *CuEmisar* ($E_{pc(CuEmitrim)} > E_{pc(CuEmisar)}$).

En la figura 3.3.16 se muestra un esquema con algunos de los procesos químicos y electroquímicos más importantes que fueron detectados en el estudio voltamperométrico. Primero, la especie Cu(II)L (L se refiere a los ligantes *Emitrim* o *Emisar*) se reduce reversiblemente a Cu(I)L, en un valor de potencial E_1 ; al formarse la especie Cu(I)L al electrodo se presenta un equilibrio de disociación; al invertir el sentido del barrido de potencial, ocurre la oxidación del complejo Cu(I)L a Cu(II)L; al llegar a un potencial E_2 la especie Cu^{1+} , que proviene de la disociación del complejo Cu(I)L, es oxidada al electrodo.

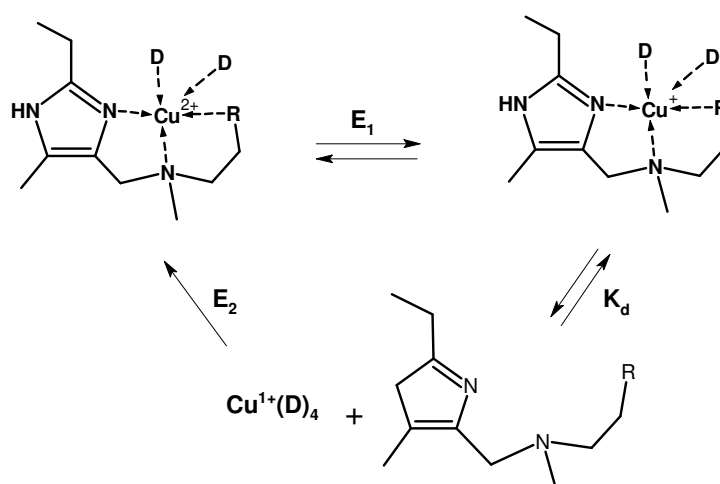


Figura 3.4.16. Esquema general de algunos procesos electroquímicos y químicos de los complejos CuEmitrim y CuEmisar ($R = O$ o N ; $L = \text{Disolvente}$; $K_d = \text{constante de disociación del complejo}$).

Por otra parte, cuando se analiza la influencia del pH en los parámetros electroquímicos, puede observarse que para ambos complejos el valor de i_{pa}/i_{pc} aumenta al incrementarse el pH del medio. Este mismo comportamiento ha sido observado para sus análogos dinucleares y para el complejo Cu_2Dimp . Asimismo puede observarse que el incremento en el pH del medio desplaza ligeramente el E_{pc} hacia valores más positivos, y en consecuencia los complejos de cobre son mejores oxidantes a pH más básicos. Sin embargo, debe tomarse en cuenta que el desplazamiento de E_{pc} con respecto al pH es muy pequeño.

3.4.2. Estudios electroquímicos de los complejos mononucleares de Cu(II) en presencia de oxígeno

El estudio de la actividad catalítica de complejos de cobre en la oxidación de catecoles se realiza en condiciones aerobias. La función del oxígeno en el ciclo catalítico, según se ha propuesto en distintos trabajos⁽¹⁾, es la regeneración del catalizador de cobre. Es por este motivo que resulta de gran interés observar el comportamiento electroquímico de los complejos de cobre en presencia de dicha especie. Para llevar a cabo este estudio se obtuvieron VC de disoluciones 1 mM de los complejos mononucleares de cobre en la mezcla MeOH/H₂O_{pH=8.0}. A diferencia de los estudios anteriores, a estas disoluciones no se les hace pasar nitrógeno.

3.4.2.1 Estudio del complejo CuEmitrim en presencia de O₂

En la figura 3.4.17 (a) se muestran los VC del complejo CuEmitrim en presencia y en ausencia de oxígeno (b), los cuales fueron obtenidos a una velocidad de barrido de 100 mV/s. El VC de la figura 3.4.9 (a) presenta una señal de reducción **lc** con $E_{pc} = -0.530$ V vs. Fc⁺/Fc. Esta señal es similar a la que se observa en el VC del complejo en ausencia de oxígeno. Por lo tanto, la señal **lc** corresponde a la reducción Cu(II)Emitrim → Cu(I)Emitrim; sin embargo puede observarse que la señal de reducción **lc** de la figura 3.4.9 (b) tiene una intensidad de corriente mucho mayor. El comportamiento mostrado por el complejo CuEmitrim en presencia de oxígeno es típico de procesos electrocatalíticos^(46, 59).

Por otra parte, en el VC de la figura 3.4.17 (a), a pesar de que existe oxígeno en la disolución, no aparece la señal correspondiente a la reducción de esta especie que de acuerdo con el VC de la figura 3.4.17 (c), debería observarse en -0.850 V vs. Fc⁺/Fc aproximadamente. Este comportamiento sugiere una reacción redox en disolución entre el complejo de Cu(I) y el O₂ disuelto. A pesar de que los potenciales de pico de reducción de O₂ y el complejo Cu(I)Emitrim indican que la reacción entre estas dos especies no está favorecida termodinámicamente, se debe recordar que la reducción del oxígeno molecular presenta altos valores de sobretensión; este hecho origina que la reducción de

esta especie al electrodo ocurra a valores más negativos con respecto a su potencial termodinámico.

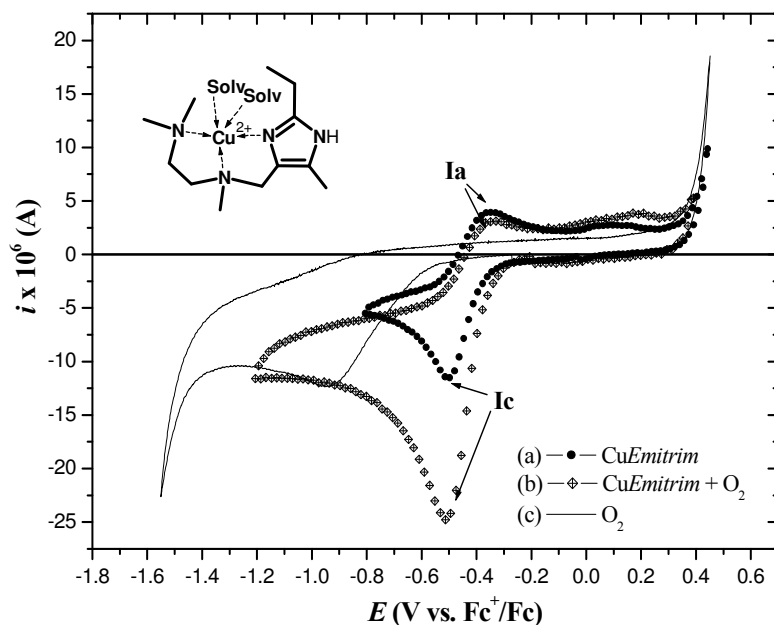


Figura 3.4.17. VC del complejo CuEmitrim en presencia (a) y en ausencia (b) de O_2 obtenido a una velocidad de barrido de 0.1 V/s. Electrodo de trabajo: carbón vítreo; electrolito soporte NaHepes 0.1 M.

De acuerdo con estos resultados y con las consideraciones hechas anteriormente, el comportamiento electroquímico mostrado por el complejo CuEmitrim podría estar relacionado con un efecto catalítico de la especie O_2 (figura 3.4.18).

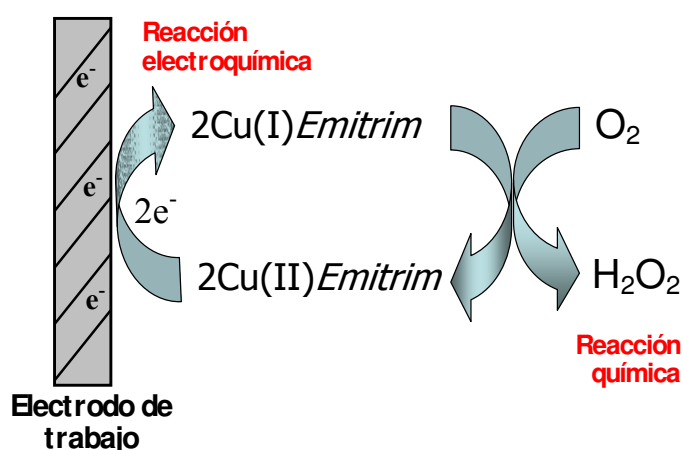


Figura 3.4.18. Reacción electrocatalítica inducida por la presencia de O_2 en una disolución del complejo CuEmitrim

Los pasos involucrados en la reacción electrocatalítica pueden ser descritos de la siguiente forma:

1. En valores inferiores al potencial de pico de la reducción de Cu(II)Emitrim , en la interfase del electrodo predomina la especie Cu(I)Emitrim que proviene de la reacción electroquímica; de acuerdo con las consideraciones mencionadas en los párrafos anteriores, la especie Cu(I)Emitrim reacciona químicamente con el oxígeno disuelto, regenerando la especie Cu(II)Emitrim en la interfase del electrodo.
2. Como resultado del proceso anterior, la concentración de Cu(II)Emitrim cercana al electrodo se incrementa. El aumento en la concentración de Cu(II)Emitrim cerca del electrodo, origina que la corriente de reducción se incremente
3. Considerando que la especie Cu(I)Emitrim predomina en la interfase del electrodo y que la reacción catalítica entre Cu(I)Emitrim y O_2 es suficientemente rápida, se espera una disminución significativa de la concentración de O_2 cerca del electrodo; es por ello que al llegar al potencial de reducción de oxígeno, la señal correspondiente a este proceso prácticamente no se observa.

Los procesos electroquímicos catalizados por la presencia de alguna especie química han sido reportados en diversos trabajos⁽⁴⁸⁾.

3.4.2.2 Estudio del complejo CuEmisar en presencia de O_2

En la figura 3.4.19 (a) y 3.4.19 (b) se muestra el VC del complejo CuEmisar en presencia y en ausencia de oxígeno respectivamente; en el voltamperograma de la figura 3.4.19 (a) aparece la señal de reducción **Ic** con $E_{pc} = -0.547$ V vs. Fc^+/Fc ; la señal **Ic** se asocia a la reducción $\text{Cu(II)Emisar} \rightarrow \text{Cu(I)Emisar}$. También se observa un incremento en la corriente de la señal **Ic** cuando el oxígeno está presente; al igual que en el VC del complejo CuEmitrim , la señal de reducción de O_2 tampoco se observa. Estos resultados muestran que en este sistema la reducción al electrodo de Cu(II)Emisar también es catalizada por el oxígeno.

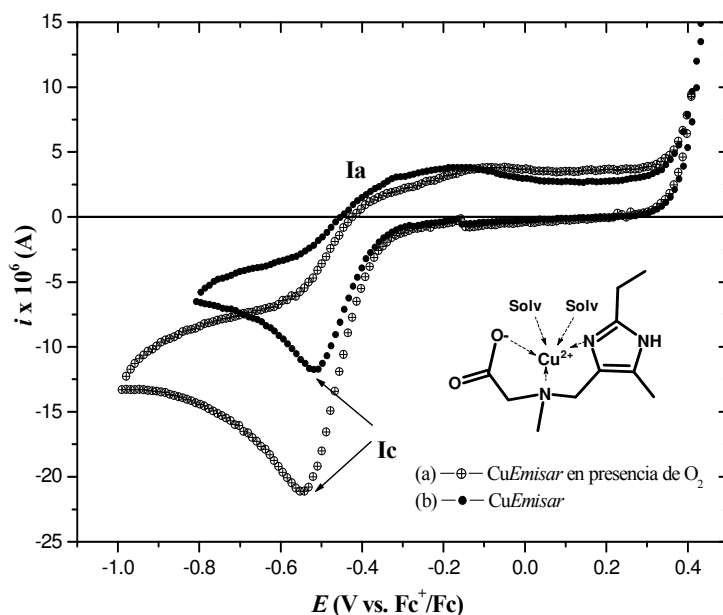


Figura 3.4.19. VC de una disolución 1mM del complejo CuEmisar en presencia (a) y en ausencia (b) de O_2 . Velocidad de barrido: 100 mV/s; electrodo de trabajo: carbón vítreo; electrolito soporte: NaHepes

Cuando se obtiene el VC del complejo Cu(II)Emisar a una velocidad de barrido de 1000 mV/s (Figura 3.4.20(a)), se observa una segunda señal de reducción en aproximadamente $-0.9 \text{ V vs. Fc}^+/\text{Fc}$. Tal señal aparece en un E_{pc} similar al potencial de reducción del oxígeno, por lo que se puede sugerir que la señal **Ic** corresponde a la reducción de esta especie. Sin embargo para el complejo Cu(II)Emitrim cuando el VC se obtiene a una velocidad de barrido de 1000 mV/s (figura 3.4.20 (b)), se sigue observando una sola señal de reducción (**Ic**), que se debe a la reducción del complejo Cu(II)Emitrim. Este hecho puede sugerir que la velocidad de la reacción entre la especie Cu(I)Emisar y el oxígeno disuelto es menos cuantitativa que la reacción entre Cu(I)Emitrim y O_2 .

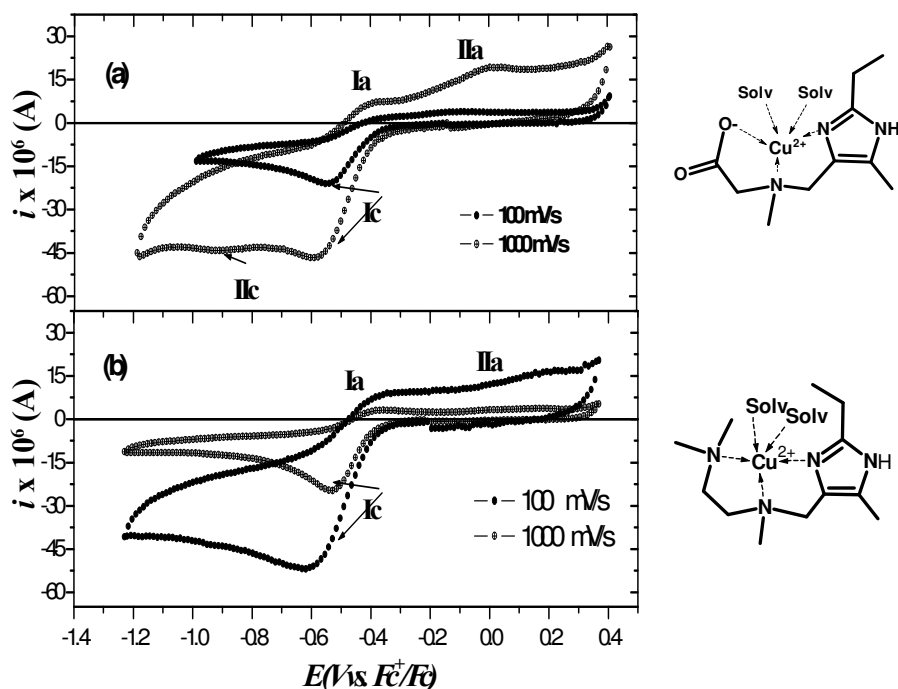


Figura 3.4.20. VC de una disolución de 1 mM del complejo (a)CuEmisar y (b)CuEmitrim en presencia de oxígeno a diferentes velocidades de barrido: Electrodo de trabajo: carbón vítreo; electrolito soporte: NaHepes 0.1 M

Las comparaciones entre las corrientes de reducción de los VC de los complejos en presencia y en ausencia de O_2 pueden utilizarse como un parámetro para evaluar la reactividad entre los complejos de cobre y el oxígeno. En la tabla 3.4.3 se muestran los valores de las intensidades de la corriente de reducción a 100 mV/s.

Complejo	Ic sin oxígeno (μA)	Ic con oxígeno (μA)	ΔIc (μA)
CuEmitrim	9.7	21.0	11.3
CuEmisar	9.7	18.0	8.3

Tabla 3.4.3. Valores de la corriente de reducción de los complejos de cobre en presencia de O_2 a 100 mV/s

En la tabla 3.4.3 se puede ver que el complejo CuEmitrim es el que presenta una mayor diferencia entre los valores de corriente. Una diferencia más grande entre los valores de la corriente sugiere una reacción más cuantitativa entre el complejo reducido y el oxígeno.

En el caso del complejo *CuEmisar*, cuando se aumenta la velocidad de barrido, efectivamente se logran distinguir dos señales que se asocian a dos procesos electroquímicos, la reducción de O_2 y la reducción de *CuEmisar*. En el caso del complejo *CuEmitrim*, se observa un ensanchamiento significativo de la señal **lc** cuando se incrementa la velocidad de barrido, sin embargo, la señal de reducción del oxígeno no se logra distinguir, como en el VC del complejo *CuEmisar*. Entonces, al parecer la oxidación del complejo *Cu(I)Emisar* por O_2 es menos cuantitativa que la reacción que presenta el complejo *Cu(I)Emitrim* con esta misma especie.

Antes de continuar con la discusión del comportamiento electroquímico de los complejos mononucleares frente a los dinucleares se hará un pequeño resumen de las características observadas en los estudios discutidos anteriormente:

- Los complejos mononucleares de cobre (II) presentan un proceso de transferencia de carga rápido, el cual es seguido por una reacción química acoplada, la disociación de la forma reducida de los complejos.
- Los estudios electroquímicos sugieren que la especie reducida *Cu(I)Emitrim* es más estable que *Cu(I)Emisar*.
- El aumento en el pH del medio genera una mayor recuperación de la especie reducida de los complejos. Asimismo al aumentar pH del medio se incrementa la capacidad oxidante de los complejos, puesto que se hacen menos negativos los valores de E_{pc} .
- Las especies reducidas de los complejos presentan una reacción química con el oxígeno. La reacción química entre O_2 y *CuEmitrim* es más cuantitativa que la reacción entre *CuEmisar* y O_2 .

Así, el comportamiento electroquímico mostrado por el complejo *CuEmitrim* sugiere que tal sistema podría presentar una mayor eficiencia catalítica en la oxidación de catecoles que el complejo *CuEmisar*.

3.4.3. Comportamiento electroquímico de los complejos dinucleares

Puesto que ya se ha descrito el comportamiento electroquímico de los complejos mononucleares, ahora corresponde retomar la discusión del comportamiento electroquímico de los complejos dinucleares, y posteriormente hacer una comparación entre ambos sistemas. El comportamiento electroquímico de los complejos dinucleares de cobre *Cu₂Dimeim* y *Cu₂Glimeim* ha sido descrito con mayor detalle en trabajos

previos^(17,35,49). Por tal motivo únicamente se realizará una breve discusión del comportamiento de estos dos sistemas.

Los complejos dinucleares Cu_2Dimeim y $\text{Cu}_2\text{Glimeim}$ presentan dos sitios de coordinación equivalentes, los cuales son similares a los que presentan los complejos mononucleares CuEmitrim y CuEmisar ; así, los complejos CuEmitrim y Cu_2Dimeim presentan sitios de coordinación de tipo N,N,N, mientras que los complejos CuEmisar y $\text{Cu}_2\text{Glimeim}$ presentan sitios de coordinación de tipo N,N,O.

Los VC de los complejos Cu_2Dimeim y $\text{Cu}_2\text{Glimeim}$ fueron obtenidos a partir de disoluciones 0.5 mM en el medio $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}_{\text{pH}=8.0}$; así, la concentración total de Cu^{2+} en estas disoluciones fue 1 mM, pues hay dos equivalentes de Cu^{2+} por cada mol de complejo. Para llevar a cabo el estudio electroquímico de los complejos dinucleares en ausencia de oxígeno, antes de obtener los VC, a todas las disoluciones de los complejos se les hace pasar nitrógeno durante 10 minutos. Puesto que los ligantes *Dimeim* y *Glimeim* no son especies electroactivas en el medio de trabajo empleado, las señales que aparecen dentro del dominio de electroactividad se atribuyen a procesos de oxidación y reducción del cobre.

3.4.3.1 Estudio electroquímico de Cu_2Dimeim en comparación con CuEmitrim

En la figura 3.4.21 (a) se muestra el VC típico del complejo Cu_2Dimeim en el medio $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}_{\text{pH}=8.0}$. La señal reducción **1c** con $E_{\text{pc}} = -0.464 \text{ V vs. Fc}^+/\text{Fc}$ se asignó al proceso de reducción $\text{Cu(II)DimeimCu(II)} \rightarrow \text{Cu(I)DimeimCu(I)}$. Al comparar este VC con el correspondiente del complejo CuEmitrim (Figura 3.4.21 (b)), se observa que la señal de reducción de los sitios de cobre de Cu_2Dimeim es más ancha que la señal de reducción del sitio de cobre del complejo mononuclear.

En estudios previos sobre el comportamiento electroquímico de este complejo^(17,49) se propuso que los sitios de coordinación de cobre, o bien se reducían simultáneamente a un mismo valor de potencial, o bien se reducían en potenciales diferentes pero muy cercanos. A partir de la comparación del comportamiento electroquímico de Cu_2Dimeim con CuEmitrim , se propone que los dos sitios de cobre en el complejo dinuclear se reducen en potenciales distintos, pero muy cercanos. Así, la señal de reducción que se observa en el VC del complejo dinuclear correspondería a la suma de dos señales, y este

hecho podría explicar la diferencia observada en el ancho de la señal de reducción de Cu_2Dimeim respecto a la señal de reducción de CuEmitrim .

La señal anódica **Ia** entonces corresponde a los procesos de oxidación de los dos sitios de cobre de la especie Cu(I)DimeimCu(I) , y la señal **IIa** corresponde a la oxidación de Cu^{1+} no coordinado con el ligante. Por comparación con el complejo CuEmitrim , se puede proponer que en el complejo dinuclear ocurre una reacción de transferencia de carga rápida seguida por una reacción química acoplada, la disociación parcial del complejo.

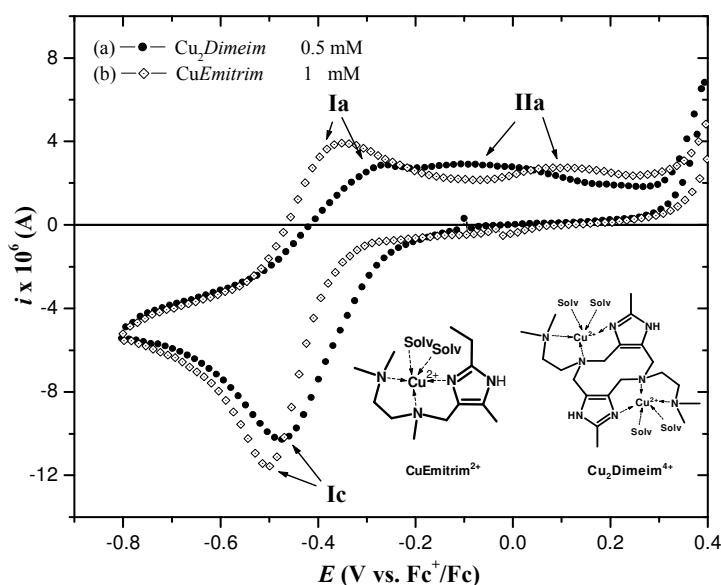


Figura 3.4.21. VC de disoluciones de los complejos de cobre (II) (a) 0.5 mM de Cu_2Dimeim y (c) 1 mM de CuEmitrim en $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}_{\text{pH}=8.0}$. Velocidad de barrido: 100 mV/s. Electrolito soporte; Na HEPES 0.1 M. Electrodo de trabajo carbón vítreo

En los VC de ambos complejos se puede ver que las señales asignadas a la oxidación de Cu(I) no coordinado al ligante presentan diferentes valores de E_{pa} . La diferencia en estos valores radica en que una vez que se oxida la especie Cu^{1+} , los iones Cu^{2+} formados al electrodo se coordinan inmediatamente con el ligante libre; este hecho genera que el potencial del par $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{1+}$ se modifique por la presencia del ligante que se encuentra en disolución, y en consecuencia, el E_{pa} del proceso $\text{Cu}^{1+} \rightarrow \text{Cu}^{2+}$ es diferente para cada complejo.

Los valores de E_{pc} indican que el complejo Cu_2Dimeim ($E_{\text{pc}} = -0.464$ V vs. Fc^+/Fc) se reduce más fácilmente que el complejo CuEmitrim ($E_{\text{pc}} = -0.496$ V vs. Fc^+/Fc), de modo

que el complejo dinuclear es una especie más oxidante que el complejo mononuclear. Este hecho está relacionado con los valores de las constantes de formación de los complejos de Cu(II) y Cu(I) de cada ligante. El estudio electroquímico del complejo Cu_2Dimeim en presencia de oxígeno revela que este complejo también muestra una reacción electrocatalítica debido a la presencia del oxígeno (figura 3.3.22). Al aumentar la velocidad de barrido a 1000 mV/s no se observa un cambio significativo con respecto al VC obtenido a 0.1 V/s, a excepción del incremento en la intensidad de corriente.

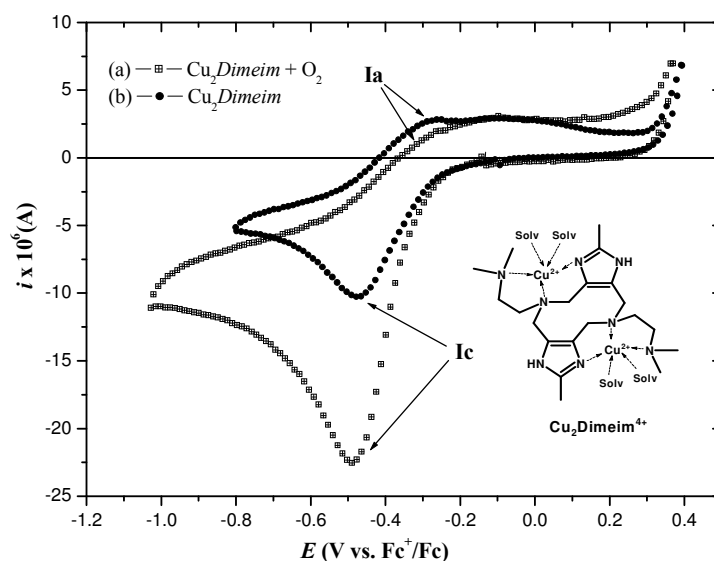


Figura 3.4.22. VC de una disolución 0.5 mM del complejo Cu_2Dimeim (a) en presencia y (b) ausencia de O_2 . Velocidad de barrido: 100 mV/s. Electrolito soporte: NaHepes 0.1M. Electrodo de trabajo: carbón vítreo.

3.4.3.2. Estudio electroquímico de $\text{Cu}_2\text{Glimeim}$ en comparación con CuEmisar

En el VC del complejo $\text{Cu}_2\text{Glimeim}$ (Figura 3.4.23 (a)) se observan dos señales de reducción, **Ic** y **IIc**, que corresponden a los procesos $\text{Cu(II)LCu(II)} \rightarrow \text{Cu(I)LCu(II)}$ y $\text{Cu(I)LCu(II)} \rightarrow \text{Cu(I)LCu(I)}$. Esto muestra que, de manera análoga al complejo Cu_2Dimeim , los sitios de Cu(II) en este complejo se reducen a potenciales distintos, a pesar de tener la misma esfera de coordinación; sin embargo, en este sistema es más evidente que la reducción de los sitios de cobre ocurre a diferentes valores de potencial, que en el complejo Cu_2Dimeim .

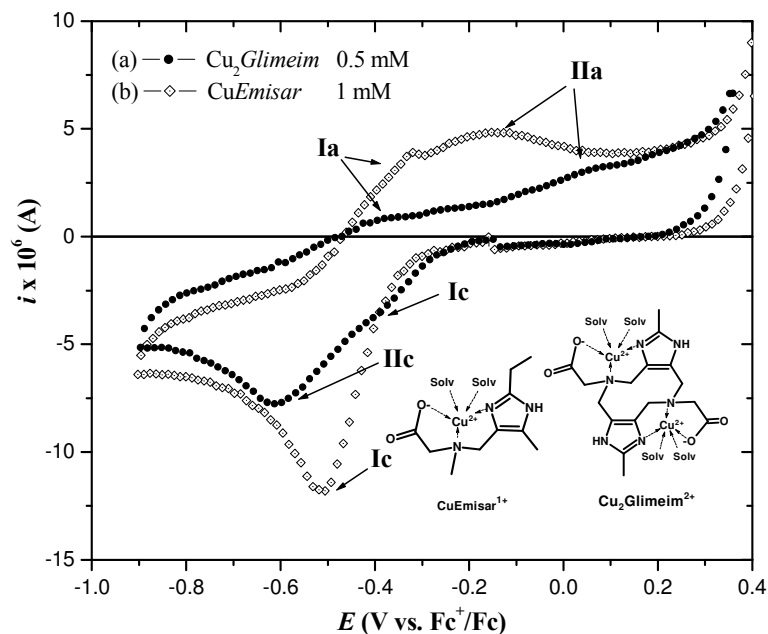
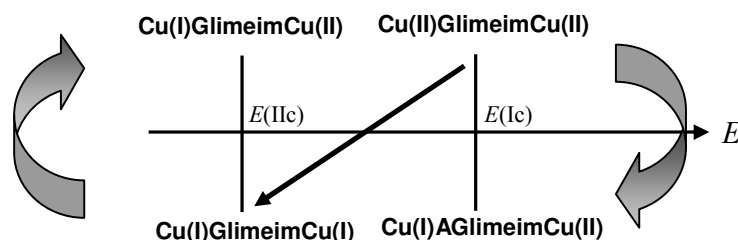


Figura 3.4.23. VC de una disolución (a) 0.5 mM del complejo $\text{Cu}_2\text{Glimeim}$ y (b) 1mM de CuEmisar . Velocidad de barrido: 100 mV/s. Electrolito soporte: NaHepes 0.1M. Electrodo de trabajo: carbón vítreo.

La señal ancha **Ia** podría corresponder a la oxidación de uno de los dos sitios de Cu(I) en el complejo. La baja intensidad de corriente de la señal de oxidación se debe a que una vez que se reduce el complejo, éste enseguida presenta reacciones químicas. Así por ejemplo, la señal **IIa** corresponde a la oxidación de una especie de Cu(I) no coordinada al ligante, que podría provenir de la disociación de la especie reducida. Sin embargo también se puede proponer que existe una reacción química entre los sitios de cobre del complejo. Puesto que los valores de E_{pc} de los sitios de cobre están bastante alejados, se puede proponer que se lleve a cabo una reacción homogénea de óxido reducción como la que se muestra en el siguiente esquema:



Es decir, cuando se forma la especie reducida Cu(I)GlimeimCu(I) , ésta podría reaccionar con la especie oxidada $\text{Cu(II)GliemeimCu(II)}$ que difunde desde el seno de la disolución al

electrodo; por lo tanto, si ocurriera esta reacción, únicamente se podría observar una sola señal de oxidación, como ocurre al analizar el VC del complejo. Procesos similares en complejos dinucleares de cobre ya han sido reportados para complejos del grupo de trabajo^(35,49).

Al comparar los potenciales de pico de los complejos *CuEmisar* y *Cu₂Glimeim* (figuras 3.4.23(a) y 3.4.23 (b)) se puede observar que el *E_pc* del complejo *CuEmisar* presenta un valor casi intermedio a los valores de *E_pc* de *Cu₂Glimeim*, ligeramente desplazado hacia potenciales más negativos. Un hecho notable es que la señal **I_{la}** del complejo dinuclear, relacionada con la oxidación de Cu¹⁺ no coordinado al ligante, presenta un bajo valor de corriente respecto a la señal análoga en el VC de *CuEmisar*. Así, la baja reversibilidad del complejo dinuclear podría relacionarse con reacciones químicas como la que se discutió anteriormente. Este complejo muestra también una reacción catalítica con el oxígeno (figura 3.4.24).

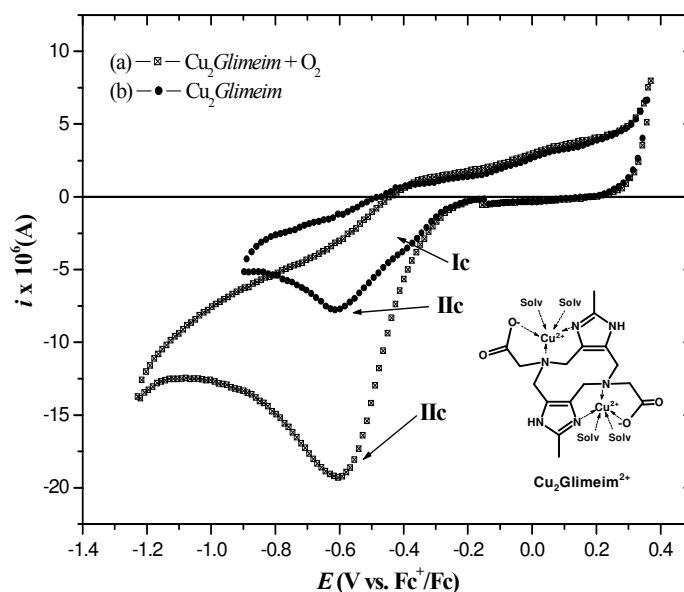


Figura 3.4.24. VC de una disolución 0.1 M del complejo *Cu₂Glimeim* y (a) en presencia y (b) en ausencia de oxígeno. Velocidad de barrido: 100 mV/s. Electrodo de trabajo: carbón vítreo. Electrolito soporte: NaHepes 0.1 M

Al aumentar la velocidad de barrido hasta 1000 mV/s no se observa la aparición de la señal de reducción de oxígeno. A continuación se realizará un breve resumen acerca del comportamiento electroquímico de los complejos dinucleares:

- A pesar de que los dos sitios de cobre de los complejos *Cu₂Dimeim* y *Cu₂Glimeim* son equivalentes, a partir de estos estudios se sugiere que ambos complejos

presentan dos procesos de reducción a diferentes valores de potencial. Para el caso del complejo Cu_2Dimeim , tales procesos ocurren a valores de potencial muy cercanos.

- Por comparación con los complejos mononucleares, se propone que los complejos dinucleares presentan transferencias de carga rápidas seguidas por reacciones químicas acopladas. En estos complejos también se propone la disociación de las especies reducidas Cu(I)LCu(I) una vez que éstas se forman al electrodo.
- Además, en el complejo $\text{Cu}_2\text{Glimeim}$, debido a la diferencia entre los potenciales de reducción de los sitios e cobre, podría ocurrir una reacción química entre la especie totalmente oxidada $\text{Cu(II)Glimeim Cu(II)}$ y la especie parcialmente reducida $\text{Cu(I)GlimeimCu(II)}$.
- Los sistemas dinucleares también presentan una reacción catalítica con el oxígeno.

3.4.4. Comparación de los parámetros electroquímicos de los complejos de Cu(II)

En la tabla 3.4.4 se presentan algunos parámetros electroquímicos de los complejos de cobre en ausencia de oxígeno. En el caso de los complejos dinucleares, algunos valores fueron tomados de trabajos previos⁽¹⁷⁾.

Complejo	E_{pc} Señal Ic (V vs. Fc^+/Fc)	Señales Ia y Ic i_{pa}/i_{pc}
$\text{CuEmitrim}_{\text{pH}=7.5}$	-0.503	0.52
$\text{CuEmitrim}_{\text{pH}=8.0}$	-0.496	0.56
$\text{CuEmisar}_{\text{pH}=7.5}$	-0.528	0.22
$\text{CuEmisar}_{\text{pH}=8.0}$	-0.514	0.32
$\text{Cu}_2\text{Dimeim}_{\text{pH}=7.5}$	-0.489	0.45
$\text{Cu}_2\text{Dimeim}_{\text{pH}=8.0}$	-0.464	0.50
$\text{Cu}_2\text{Glimeim}_{\text{pH}=7.5}$	-0.437	---
$\text{Cu}_2\text{Glimeim}_{\text{pH}=8.0}$	-0.390	0.19

Tabla 3.4.4. Parámetros electroquímicos de los complejos mononucleares y dinucleares en $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}_{\text{pH}}$ en ausencias de oxígeno

Del análisis de la tabla anterior, así como de la discusión del comportamiento de los complejos se puede concluir lo siguiente:

- En los medios estudiados, los complejos Cu_2Dimeim y $\text{Cu}_2\text{Glimeim}$ presentan valores de E_{pc} más altos que los complejos mononucleares. Esto significa que los complejos dinucleares son más oxidantes que sus análogos mononucleares.
- Al aumentar el pH, aumenta la estabilidad de la especie reducida de los complejos, ya que aumenta el valor de i_{pa}/i_{pc} . Además, al incrementarse el pH, el valor de E_{pc} se desplaza a valores más positivo para todos los complejos, es decir, aumenta la capacidad oxidante de estos sistemas.
- Como se ha mencionado, la comparación entre las señales de reducción de los complejos dinucleares respecto a los mononucleares podrían indicar la existencia de dos procesos de reducción a potenciales distintos de los sitios de Cu(II) de Cu_2Dimeim y $\text{Cu}_2\text{Glimeim}$.
- La especie reducida de los complejos estudiados presentan una reacción química con el oxígeno molecular. De los complejos estudiados, al parecer el complejo mononuclear CuEmisar presenta la reacción menos cuantitativa con el oxígeno, Este comportamiento podría generar una menor eficiencia catalítica en la oxidación de catecoles.

De manera general se puede ver que la comparación cualitativa acerca del comportamiento electroquímico de los complejos dinucleares frente a los mononucleares, ha proporcionado información relevante que podría utilizarse para explicar el comportamiento catalítico de estos sistemas.

3.5. Estudios de la actividad catalítica de los complejos mononucleares de cobre (II)

La discusión de los resultados que serán presentados a continuación es parte fundamental de este trabajo. Como se ha venido mencionando a lo largo de este escrito, a partir de los estudios de la actividad catalítica de sistemas modelo de la catecol oxidasa, varios grupos de investigación han sugerido que es necesaria la presencia de dos sitios de cobre cercanos para que éstos actúen sinérgicamente en el ciclo catalítico. Sin embargo los complejos $Cu_2Dimeim$ y $Cu_2Glimeim$ no presentan esta característica, y aún así muestran una actividad catalítica significativa.

Puesto que ya se han analizado y comparado los estudios electroquímicos de los sistemas mononucleares y dinucleares, y se han encontrado algunas diferencias interesantes entre estos sistemas, se continuará con la discusión de los resultados de la evaluación catalítica de los complejos $CuEmitrim$ y $CuEmisar$, con ello se pretende concluir respecto a la existencia de un efecto sinérgico en los complejos dinucleares en la oxidación de catecoles, aunque los sitios de Cu(II) en estos sistemas no se encuentren cerca; asimismo se pretende concluir respecto algunos otros factores que podrían influir en la actividad catalítica de estos sistemas.

Con el fin de comparar la actividad catalítica de estos complejos con los sistemas dinucleares, se propuso llevar a cabo el estudio de los complejos mononucleares en las mismas condiciones en las que ha sido evaluada la actividad catalítica de $Cu_2Dimeim$ y $Cu_2Glimeim$ ⁽¹⁷⁾.

La actividad catecolasa de un gran número de sistemas modelo, incluyendo los complejos $Cu_2Dimeim$ y $Cu_2Glimeim$, se ha evaluado a través de la reacción de oxidación del 3,5-di-*ter*-butilcatecol (DTBC) a la 3,5-di-*ter*-butil-*o*-quinona (DTBQ), en presencia de oxígeno (Figura 3.5.1). Esta reacción es muy apropiada para el estudio de los sistemas modelo ya que el par DTBQ/DTBC presenta un bajo potencial redox, además de que la DTBQ es considerablemente estable, y presenta una intensa banda de absorción en la región UV–visible que facilita el seguimiento de la reacción por espectrofotometría.

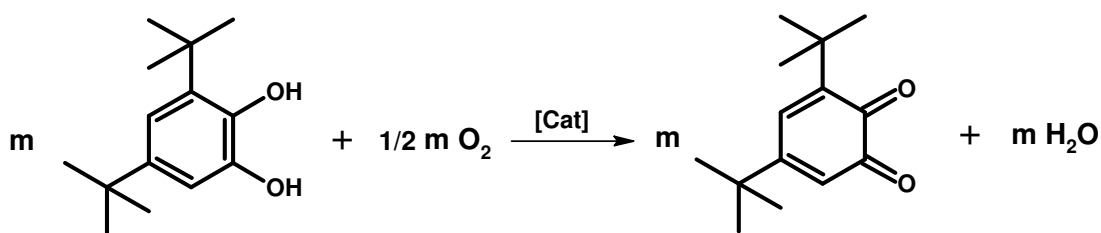


Fig. 3.5.1. Reacción de la oxidación del 3,5-di-*ter*-butilcatecol (Cat= catalizador de cobre)

La velocidad de la reacción de oxidación del DTBC en presencia de los catalizadores en MeOH/H₂O_{pH} 1:1 se determinó mediante el método de velocidades iniciales; para ello se siguió la aparición de la DTBQ en una longitud de onda de 400 nm ($\epsilon=1624.39 \text{ mol}^{-1}\text{Lcm}^{-1}$ en MeOH/H₂O 1:1) con respecto al tiempo, al inicio de la reacción. La ventaja que presenta este método es que considera insignificante la reacción inversa, ya que en los primeros instantes, la concentración del producto es pequeña. Esta consideración resulta muy práctica pues permite utilizar ecuaciones sencillas para determinar diversos parámetros cinéticos.

Cuando se grafica la velocidad de la reacción en función del tiempo, se logra distinguir dos pasos en la reacción catalítica. De acuerdo con diversos autores, el primero de estos pasos se debe a una rápida reacción estequiométrica entre el complejo de cobre y el DTBC. Dadas las características del equipo en el que se realizaron los estudios cinéticos, la velocidad de esta reacción no pudo ser determinada; el seguimiento de tal reacción podría llevarse a cabo empleando la técnica de *stopped-flow*. Por otra parte, el segundo paso de la reacción, el cual es más lento que el primero, fue seguido durante 40 segundos aproximadamente. En este paso se observa una relación lineal de la concentración de DTBQ en función del tiempo. A partir de la pendiente de esta gráfica se determinó la velocidad inicial de la reacción.

En los experimentos realizados se trabajó en condiciones de presión atmosférica; la planeación de los experimentos como la discusión de resultados, se centraron en el estudio de la variación de la concentración de los complejos de cobre y de DTBC. Cabe mencionar que en todos los experimentos, las concentraciones de los complejos mononucleares fueron el doble de las concentraciones utilizadas en los estudios de los complejos dinucleares; de este modo, la concentración total de Cu²⁺ en el estudio de ambos sistemas fue la misma.

3.5.1. Estudios de la variación de la concentración del catalizador

Para determinar el orden de reacción respecto a la concentración de los complejos de cobre, se realizó un estudio cinético manteniendo constante, y en mayor proporción, la concentración del DTBC respecto a la concentración del catalizador. Para comparar la actividad catalítica de los complejos mononucleares y dinucleares, se decidió llevar a cabo el estudio al pH de actividad óptima de los complejos $Cu_2Dimeim$ y $Cu_2Glimeim$ en el medio MeOH/H₂O 1:1 (v/v)⁽¹⁷⁾. Así, los estudios de la variación de la concentración del catalizador de $CuEmitrim$ y $CuEmisar$ se realizaron a pH=8.

La concentración de DTBC fue 2×10^{-3} M. Para mantener constante el pH de la reacción, se utilizó Hepes 0.1 M. La concentración de los catalizadores se varió de 0 a 6×10^{-5} M. Todos los experimentos cinéticos se realizaron al menos por triplicado. En la figura 3.5.2 se muestran las gráficas obtenidas en este estudio. En ellas se observa que la velocidad de la reacción presenta un comportamiento lineal con respecto a la variación de la concentración de ambos catalizadores; el coeficiente de correlación en ambas gráficas es igual o mayor a 0.99.

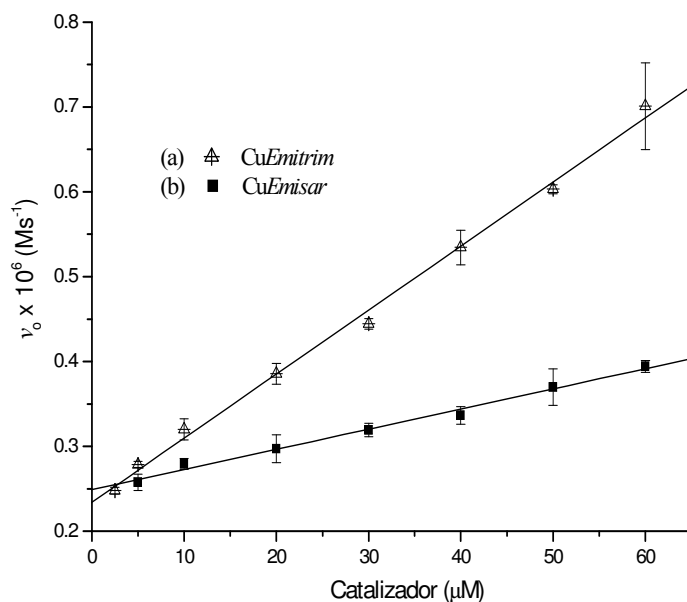


Fig. 3.5.2. Velocidad inicial de la oxidación de DTBC en función de (a) $CuEmitrim$ y (b) $CuEmisar$

Estos resultados indican que la reacción es de *pseudo*-primer orden con respecto a la concentración de los complejos mononucleares de cobre; así, la ley de velocidad que define este comportamiento es:

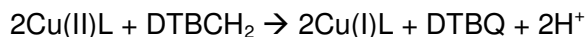
$$v_o = k_{obs}[Cat]$$

donde k_{obs} es la constante catalítica observada, y $[Cat]$ es la concentración del catalizador de cobre. Por otra parte, resulta evidente que el complejo *CuEmitrim* presenta una actividad catalítica superior a la del complejo *CuEmisar*, estos resultados coinciden con las observaciones en los estudios electroquímicos. En tales estudios se propuso que, dado el comportamiento electroquímico del complejo *CuEmisar*, este complejo podría presentar una menor actividad catalítica que *CuEmitrim*.

De acuerdo con los resultados que se han publicado^(17,57) los complejos dinucleares también muestran una cinética de *pseudo*-primer orden respecto a la concentración del catalizador; de este modo la especie intermediaria en el paso determinante de la reacción podría ser muy parecida en ambos sistemas.

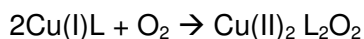
Lo que se sugiere para explicar el comportamiento mostrado por los complejos mononucleares es lo siguiente:

(a) En un primer paso de la catálisis, ocurre una reacción estequiométrica rápida 1 a 2 entre el complejo y el catecol, como se muestra a continuación:

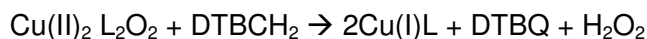


Este paso se refiere a la primera etapa detectada en la catálisis; sin embargo, como se mencionó al inicio de este capítulo, la velocidad de esta reacción no pudo ser determinada dada la velocidad con la que se lleva a cabo.

(b) Posteriormente, en un segundo paso, el oxígeno presente en la disolución podría reaccionar con las especies reducidas de los catalizadores, tal y como se observó en los estudios electroquímicos. En el estudio de la oxigenación de fenoles a catecoles, por un complejo mononuclear de cobre de tipo $[Cu(L)]^+$ (L= N,N-bis(2-N-metilbencimidazol-2-il)-etil-bencilamina) Battaini y colaboradores⁽⁵²⁾ sugirieron la formación de un aducto dinuclear del tipo $[Cu_2(L)_2O_2]^{2+}$; de manera similar, en este trabajo podría proponerse la formación de un aducto dinuclear, poco estable, entre el oxígeno y las especies reducidas:



(c) En un tercer paso, en presencia del catecol, antes de romperse el aducto podría reaccionar para producir la quinona correspondiente:



Así, el tercer paso de la catálisis implica una estequiometría uno a uno entre una especie dinuclear de cobre y el catecol. Esta propuesta explicaría la dependencia de primer orden respecto a la concentración del catalizador observada en estos estudios.

De acuerdo con los resultados electroquímicos, la especie reducida de cobre efectivamente reacciona con el oxígeno presente en disolución, sin embargo, no resulta evidente la formación de un aducto dinuclear de cobre con el oxígeno. De manera que, para corroborar estas propuestas, sería necesario llevar a cabo experimentos adicionales como realizar la síntesis de complejos de Cu(I) con los ligantes y estudiar su reactividad con el oxígeno.

3.5.2 Estudio de la variación de la concentración del sustrato

En el estudio anterior se encontró que la cinética era de *pseudo*-primer orden con respecto al catalizador, de modo que puede aplicarse el modelo de Michaelis–Menten para evaluar la actividad catalítica de estos sistemas.

El modelo enzimático de Michaelis-Menten considera que la reacción catalítica global está constituida por dos etapas. En la primera etapa se forma un complejo entre el catalizador (Cat) y el sustrato (S); en la segunda etapa de la reacción, el complejo (CatS) se descompone al producto (P) y al catalizador:



También este modelo considera que la velocidad de la reacción está limitada por la segunda etapa de la reacción catalítica, es decir por el rompimiento del complejo CatS para obtener el catalizador libre y el producto:

$$\text{velocidad de la reacción} = k_2[\text{CatS}]$$

Para utilizar el modelo de Michaelis-Menten, la velocidad de la reacción debe ser evaluada en los primeros instantes (velocidad inicial), cuando la concentración del producto es pequeña, y por lo tanto la reacción inversa puede considerarse insignificante. Si se aplica el *principio del estado estacionario* al complejo CatS^(53,54), entonces se puede considerar que la concentración de este complejo se mantiene constante durante la reacción, por lo que las velocidades de formación y destrucción del complejo son iguales:

velocidad de formación de CatS = velocidad de destrucción de CatS

$$k_1[\text{Cat}][\text{S}] = (k_{-1} + k_2)[\text{CatS}]$$

Si se despeja [CatS] de la expresión anterior, y se asume que en la reacción catalítica la concentración del catalizador libre es igual a la concentración inicial del catalizador menos la concentración del catalizador complejado con el sustrato, $[\text{Cat}] = [\text{Cat}]_0 - [\text{CatS}]$, es posible llegar a una expresión para la velocidad inicial de la reacción (v_o), en términos de las concentraciones iniciales de sustrato y de catalizador:

$$v_o = k_2[\text{CatS}] = k_2 \left[\frac{[\text{Cat}]_0 [\text{S}]}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + [\text{S}]} \right]$$

La relación entre las constantes cinéticas se define como la constante de Michaelis-Menten, K_M :

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

La velocidad máxima a la que puede llegar la reacción (v_{\max}) ocurre cuando todo el catalizador se encuentra unido al sustrato, $[\text{Cat}]_0 = [\text{CatS}]$:

$$v_{\max} = k_2[\text{Cat}]_0$$

Así, finalmente se obtiene la expresión más conocida de la ecuación de Michaelis-Menten:

$$v_o = \frac{v_{\max}[\text{S}]}{K_M + [\text{S}]}$$

La constante de velocidad k_2 también es conocida como constante catalítica k_{cat} o número de recambio, es decir el número de moléculas de sustrato transformadas en producto por unidad de tiempo por molécula de catalizador.

La constante K_M , puede utilizarse como un indicador de la afinidad de la enzima por el sustrato. Dado que K_M relaciona las constantes cinéticas del proceso catalítico global, si $k_2 \ll k_{-1}$ entonces la constante de Michaelis-Menten se convierte en $K_M = k_{-1}/k_1$, siendo esta relación equivalente a una constante de disociación del complejo CatS; así, un valor pequeño de K_M indica una gran afinidad del catalizador por el sustrato.

Puesto que K_M y k_{cat} son características diferentes del proceso catalítico, el cociente k_{cat}/K_M es utilizado como una medida de la eficiencia catalítica, de modo que este parámetro resulta muy adecuado para comparar las actividades de diferentes catalizadores frente a un mismo sustrato, o bien, las actividades catalíticas de un mismo catalizador frente a diferentes sustratos. Así, entre mayor sea el valor del cociente k_{cat}/K_M , mayor será la eficiencia catalítica.

Habiendo discutido el modelo de Michaelis-Menten, ahora se comenzará con el análisis de los resultados obtenidos en la evaluación de la actividad catalítica de los complejos.

El estudio de la variación de la concentración de sustrato se llevó a cabo manteniendo constante la concentración de los complejos. Los estudios se llevaron a cabo a pH=8.0, utilizando Hepes 0.1 M. Para el complejo *CuEmitrim*, la concentración de DTBC se varió de 0 a 8×10^{-3} mM. Para el complejo *CuEmisar* se utilizaron concentraciones adicionales de DTBC ya que en concentraciones por debajo de 8 mM sólo se observaba una relación lineal de la velocidad inicial en función de [DTBC]; así la concentración de DTBC se varió de 0 a 3.2×10^{-2} M. La concentración de los catalizadores en ambos experimentos fue 60 μ M.

En las figuras 3.5.3 y 3.5.4 se muestran las gráficas obtenidas en este estudio; en ellas se observa que a bajas concentraciones de DTBC existe una dependencia lineal de la velocidad de la reacción con respecto a la concentración de DTBC; sin embargo, en altas concentraciones del catecol, la velocidad de la reacción comienza a presentar un aumento menor, lo que sugiere que el catalizador se comienza a saturar. La forma de estas gráficas muestra un comportamiento tipo Michaelis-Menten, sin embargo puede verse que en ninguno de los dos estudios se logró alcanzar la completa saturación del catalizador. En el caso del complejo *CuEmitrim*, al aumentar la concentración del DTBC por arriba de 8 mM, en la mezcla de reacción se formaba un precipitado, por tal motivo no

se pudo determinar la velocidad de la reacción en concentraciones mayores de DTBC. En el estudio del complejo *CuEmisar*, si se logró determinar la velocidad de la reacción en concentraciones superiores a 8 mM sin embargo, como puede observarse en la figura 3.5.4, para saturar al complejo *CuEmisar* era necesario utilizar concentraciones de DTBC mucho mayores a 8 mM; en este caso tampoco se logró obtener la saturación del complejo puesto que para ello fue necesario utilizar concentraciones de DTBC por arriba de la solubilidad del mismo en la mezcla de reacción.

El modelo de Michaelis-Menten se utilizó para determinar algunos parámetros cinéticos y comparar el comportamiento entre los complejos dinucleares y mononucleares; sin embargo, hay que tomar en cuenta que los datos obtenidos en el estudio de los mononucleares no son suficientes para ajustar al Modelo, puesto que no se alcanzó la saturación total del catalizador.

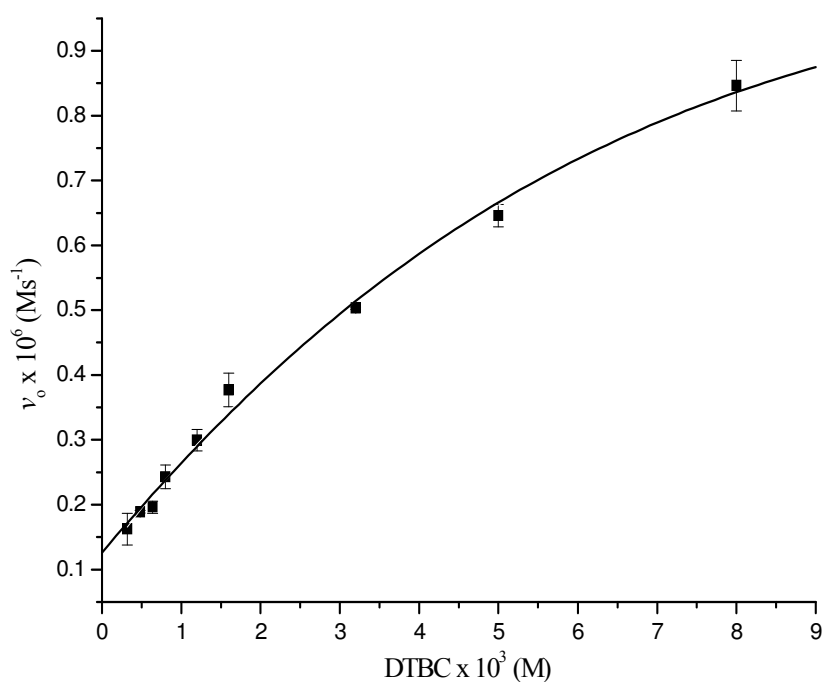


Fig. 3.5.3. Velocidad inicial de la oxidación de DTBC en función de la concentración de DTBC, en el estudio del complejo *CuEmitrim*

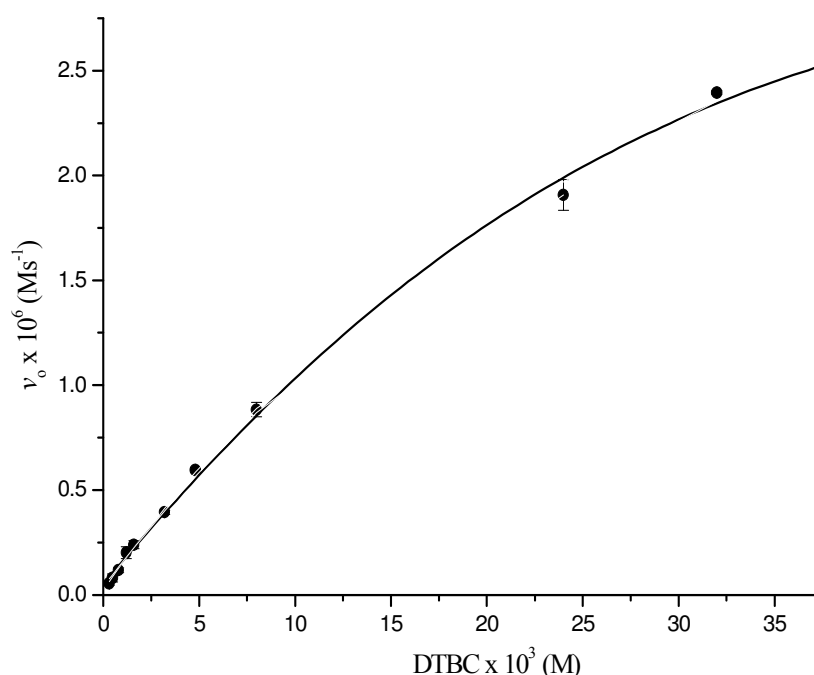


Fig. 3.5.4. Velocidad inicial de la oxidación de DTBC en función de la concentración de DTBC, en el estudio del complejo CuEmisar

Para determinar los parámetros cinéticos, se realizó un ajuste hiperbólico en el programa Origin; para ello se introdujo al programa la ecuación cinética de Michaelis-Menten, se definieron las variables experimentales, y se propusieron valores para los parámetros cinéticos k_{cat} y K_M ; el programa hace un refinamiento estos parámetros, y de esta forma realiza el ajuste. Así, finalmente se obtienen los parámetros cinéticos refinados k_{cat} y K_M . En las dos gráficas mostradas, el valor del parámetro estadístico r^2 es mayor a 0.99. En la tabla 3.5.1 se muestran los valores refinados de los parámetros cinéticos de los complejos dinucleares y mononucleares a pH=8.0.

Complejo	$K_M \times 10^3$ [M]	$k_{cat} \times 10^2$ [s ⁻¹]	k_{cat}/K_M [M ⁻¹ s ⁻¹]	k_{cat}/K_M [M ⁻¹ s ⁻¹] Por ion de Cu ²⁺
CuEmitrim	9.02	6.16	6.83	6.83
CuEmisar	47.24	18.54	3.93	3.93
Cu ₂ Dimeim ⁽¹⁷⁾	1.81	11.93	65.91	32.95
Cu ₂ Glimeim ⁽¹⁷⁾	0.76	7.399	97.36	48.68

Tabla. 3.5.1. Parámetros cinéticos de los complejos mononucleares y dinucleares ⁽¹⁷⁾ en la reacción de oxidación de DTBC

El parámetro cinético K_M , indica que los complejos dinucleares de cobre son más afines al DTBC que los complejos mononucleares; sin embargo, los complejos mononucleares presentan valores mayores que los dinucleares respecto a la constante catalítica k_{cat} ; puesto que k_{cat} y K_M se refieren a distintos procesos en el ciclo catalítico, el cociente k_{cat}/K_M hace un balance de la influencia de estos dos parámetros en el proceso catalítico global. Como se mencionó, a menudo este parámetro se utiliza como un indicador de la eficiencia catalítica. Por tanto, si se evalúa la eficiencia de los complejos dinucleares en la oxidación de DTBC por cada sitio de cobre, se puede ver que estos complejos son catalizadores mucho más eficientes que sus análogos mononucleares. Estos resultados son congruentes con los resultados obtenidos en los estudios de la variación de la concentración del catalizador.

Ahora bien, de los datos mostrados en la tabla 3.5.2 se pueden analizar diversas situaciones. En los complejos mononucleares el complejo *CuEmisar* mostró la eficiencia catalítica menor; por otro lado en los complejos dinucleares, el sistema *Cu₂Dimeim* mostró una eficiencia catalítica aproximadamente 5 veces mayor que su análogo mononuclear, sin embargo, la diferencia observada en la eficiencia de los complejos *Cu₂Glimeim* y *CuEmisar* es de aproximadamente 12 veces. Estos resultados podrían sugerir la existencia de un efecto sobre la actividad catalítica de los dinucleares que favorece la catálisis respecto a los mononucleares; tal efecto también deberá reflejarse en el comportamiento electroquímico de los propios sistemas. Para entender y discutir más ampliamente los resultados obtenidos en los estudios cinéticos, se retomará la discusión de los resultados del comportamiento electroquímico.

3.5.3. Estudios de la actividad catalítica en función del pH

Los estudios de la variación del pH en la oxidación de DTBC se realizaron con el propósito de determinar la dependencia de la actividad catalítica de los complejos respecto al pH, manteniendo constantes las concentraciones del catalizador y del sustrato (DTBC).

La concentración de los complejos *CuEmitrim* y *CuEmisar* en los experimentos fue 6×10^{-5} M, mientras que la concentración de DTBC fue 2×10^{-3} M. El pH del medio se mantuvo constante utilizando los amortiguadores de pH Mes (ácido (N-[2-morfolino)etansulfónico]), Hepes (ácido N-[2-hidroxietil]piperazina-N'-[2-etansulfónico]) y Ches (ácido-2-(N-ciclohexilamino)etansulfónico), a una concentración de 0.1 M.

Los valores de pKa en agua de los amortiguadores empleados en estos experimentos se presentan en la tabla 3.5.2⁽⁵¹⁾.

Amortiguador	pK_a	Intervalo de pH útil
Mes	6.15	5.2-7.0
Hepes	7.55	6.5-8.5
Ches	9.30	8.5-10.5

Figura. 3.5.2. Valores de pKa de cada amortiguador empleado

Cabe mencionar que el pH informado, al igual que en los estudios electroquímicos, es el que se fijó en las disoluciones acuosas de las disoluciones tampón, sin tomar en cuenta el efecto que presenta el metanol sobre el pH de la mezcla.

En las figuras 3.5.5 (a) y 3.56 (a) se presentan las gráficas de la velocidad inicial de la reacción en función del pH en presencia de los complejos de cobre, mientras que en las figuras 3.5.5 (b) y 3.5.6 (b) se muestra la gráfica de la velocidad inicial de la reacción en ausencia de los complejos mononucleares. El análisis de estas gráficas indica que a valores bajos de pH, la actividad catalítica de los complejos mononucleares es muy pequeña, pero se incrementa al aumentar el pH del medio; asimismo se observa que a valores cercanos a pH=10, la velocidad de la reacción comienza a decrecer. Esto coincide con lo esperado para sistemas modelo de la catecol oxidasa, puesto que dicha enzima presenta una actividad catalítica óptima a pH=8.0, y muestra inhibición a valores de pH inferiores a 4.0 y superiores a 10.

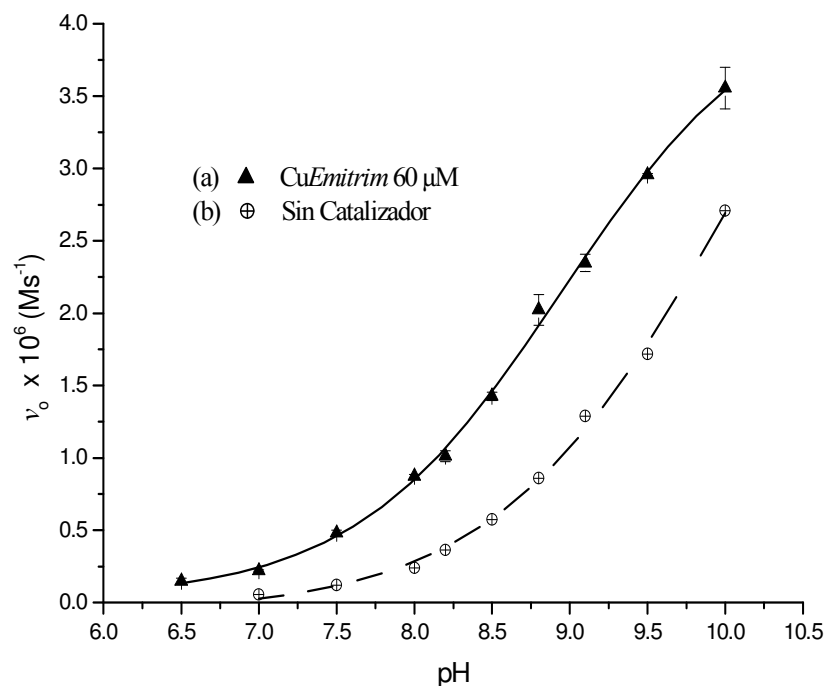


Figura 3.5.5. Velocidad inicial de la oxidación de DTBC en función del pH en a) ausencia de catalizador y b) en presencia de CuEmitrim a una concentración de 60 μM

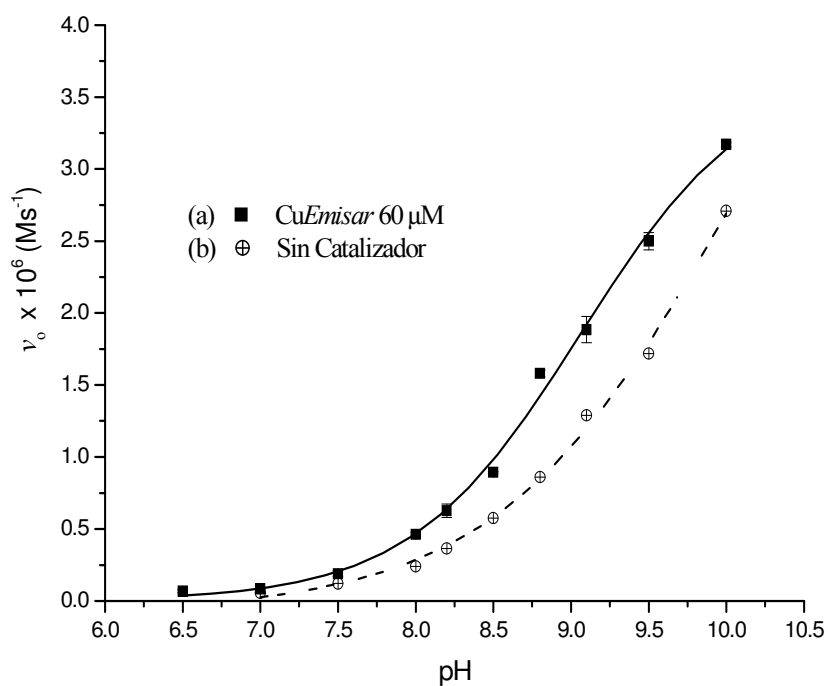


Figura 3.5.6. Velocidad inicial de la oxidación de DTBC en función del pH en (a) presencia y (b) ausencia de CuEmisar. Concentración del complejo: 60 μM

En el estudio cinético realizado en ausencia de los catalizadores (Figura 3.5.2 (b) y 3.5.3 (b)) revela que aún sin la presencia de los complejos se lleva a cabo la oxidación del DTBC; asimismo puede observarse que la reacción catalítica se favorece significativamente en valores altos de pH. Estos resultados indican que existe un efecto catalítico originado por el incremento en la concentración de iones OH^- .

La diferencia entre la velocidad inicial de la reacción en presencia de los complejos y la velocidad inicial sin éstos, puede tomarse como referencia para determinar qué tan importante es el efecto catalítico de los complejos respecto a la catálisis alcalina del medio y con ello obtener un pH de actividad óptima catalítica para los complejos⁽⁵⁷⁾. Al comparar los valores de las velocidades iniciales de los estudios a pH variable, puede observarse que, en prácticamente todos los valores de pH estudiados, la velocidad inicial de la reacción cuando se encuentran presentes los complejos de cobre (figuras 3.5.5 (a) y 3.5.6 (a)) es muy parecida a la velocidad de la reacción cuando éstos no se encuentran presentes (figuras 3.5.5 (b) y 3.5.6 (b)). Estos resultados indican que no existe ningún valor de pH en el cual la catálisis de los complejos predomine sobre la catálisis alcalina. Lo anterior es aún más evidente en el caso del complejo *CuEmisar*, pues en las gráficas 3.5.6 (a) y (b) puede apreciarse que en la mayoría de los valores de pH estudiados, la catálisis alcalina del medio predomina sobre la catálisis del complejo.

Los resultados anteriores difieren del comportamiento observado en los complejos dinucleares *Cu₂Dimeim* y *Cu₂Glimeim* en $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1)⁽¹⁷⁾; en el estudio de la actividad catalítica de estos complejos se propuso que el pH de óptima actividad catalítica de los complejos de cobre fuera aquel en el que existiera una mayor diferencia entre la velocidad inicial de la oxidación de DTBC en presencia de los complejos y la velocidad inicial en ausencia de éstos⁽¹⁷⁾. En dichos estudios se encontró que en cierto intervalo de pH la catálisis de los complejos predominaba sobre la catálisis alcalina, ya que había una diferencia significativa en la velocidad inicial de la reacción cuando estaban presentes los complejos de cobre. Así, se determinó que el pH de actividad óptima era de 8 (figura 3.5.7); además, los estudios potenciométricos del complejo *Cu₂Dimeim* han mostrado que el primer pKa de hidólisis del complejo es alrededor de 8.. Los resultados observados en los complejos dinucleares coinciden con las propuestas de diversos grupos de investigación, que sugieren que las especies hidrolizadas de los complejos favorecen la catálisis⁽³¹⁻³³⁾.

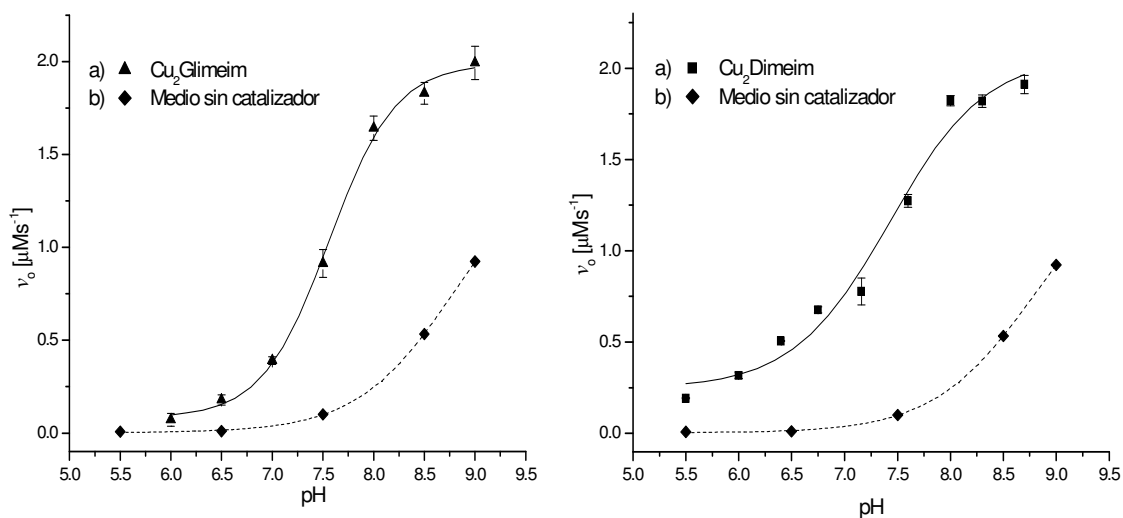


Figura 3.5.7. Izquierda: velocidad inicial de la oxidación de DTBC en función del pH en presencia de $\text{Cu}_2\text{Glimeim}$ en $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 1:1. Derecha: velocidad inicial de la oxidación de DTBC en función del pH en presencia de Cu_2Dimeim ⁽¹⁷⁾

En lo que respecta a los sistemas mononucleares, hay que recordar que el pKa de hidrólisis de los complejos es alrededor de 9. De esta manera, aunque la actividad catalítica de los complejos mononucleares se incrementa con el aumento en el pH del medio por la aparición de especies hidrolizadas, este incremento es muy poco significativo respecto al observado en sus análogos dinucleares.

3.6 Comparación de la reactividad de complejos dinucleares y mononucleares.

Finalmente para concluir acerca de la reactividad de los complejos de Cu(II) mononucleares en comparación con la reactividad mostrada por los dinucleares será necesario retomar la discusión de los resultados electroquímicos y cinéticos en su conjunto. Para ello se buscará establecer una relación entre el comportamiento electroquímico y cinético de los complejos de cobre haciendo un breve resumen de las variables encontradas en ambos estudios que podrían influir en la eficiencia catalítica de estos sistemas.

❖ **Efecto del pH**

En el estudio cinético de *CuEmisar* y *CuEmitirm* no se pudo determinar un pH de actividad catalítica óptima puesto que la actividad de los complejos era muy similar a la catálisis alcalina del medio; sin embargo, como se discutió en la sección 3.5.3, sí se observó un ligero incremento en la actividad catalítica de estos sistemas al aumentar el pH del medio. Este resultado es congruente con el comportamiento observado en el estudio de *Cu₂Dimeim*, *Cu₂Glimeim*, así como en los estudios realizados al complejo *Cu₂Dimp*⁽¹⁶⁾, cuya estructura es similar a los complejos dinucleares mencionados. Hay que destacar que en los sistemas dinucleares el incremento en la actividad catalítica debido al aumento del pH es mucho más significativa que en los mononucleares. Por otra parte, en lo que respecta al comportamiento electroquímico, tanto en los mononucleares como en los dinucleares se pudo observar un ligero aumento en el potencial de reducción de los sitios de cobre así como una mayor estabilidad de la especie reducida de los complejos. De esta forma, se puede sugerir que el incremento en la alcalinidad del medio favorece la actividad catalítica de los sistemas, pues aumenta la capacidad oxidante de los sistemas (potenciales de reducción menos negativos) y la reversibilidad en los procesos redox de los sitios de cobre.

❖ **Influencia del potencial redox**

En la gráfica de la figura 3.5.8. se observa que conforme aumenta el potencial de reducción de los sitios de cobre, se incrementa la eficiencia catalítica de los complejos de cobre; por otra parte, los complejos dinucleares, además de presentar la mayor actividad catalítica también mostraron los potenciales de reducción menos negativos; de este modo se puede ver que la capacidad oxidante de los dinucleares es mayor que la de los mononucleares, lo que en consecuencia podría estar relacionado con una mayor eficiencia catalítica. Estos resultados coinciden con lo reportado por Ackerman y colaboradores⁽⁵⁹⁾. Sin embargo, hay que tomar en cuenta que en la literatura se han informado comportamientos muy diversos de los sistemas modelo de cobre respecto al potencial redox. Así, mientras existen complejos de cobre con potenciales de reducción positivos que presentan actividad catalítica significativa en la oxidación de DTBC, también

se ha informado sobre complejos que presentan potenciales de reducción muy positivos pero que muestran una actividad catalítica nula^(31,33,36).

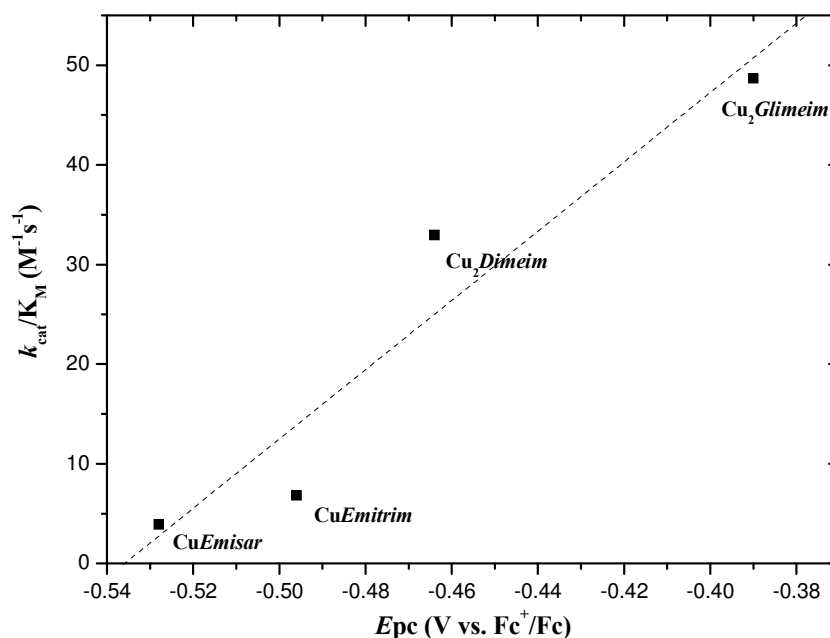


Figura. 3.5.8. Relación entre el potencial de reducción de los sitios de cobre y la eficiencia catalítica

❖ **Influencia del ligante: sitio NNN vs. NNO**

Para analizar el efecto en la actividad catalítica debido al tipo de ligante se realizará un análisis de los complejos mononucleares. El complejo CuEmitrim, que tiene un sitio de coordinación tipo NNN presenta una actividad catalítica mayor que el complejo CuEmisar, que presenta un sitio de coordinación tipo NNO; como se discutió en el estudio electroquímico, la forma reducida del complejo CuEmisar al parecer es menos estable que la forma reducida del complejo CuEmitrim; este hecho puede entenderse en términos de la naturaleza de los átomos donadores. Puesto que Cu(I) es un ácido blando, la estabilización de la forma reducida del complejo de cobre se verá favorecida con ligandos blandos, o bien con ligandos relativamente menos duros. Por tanto, dado que N es menos duro que O, el complejo Cu(I)Emitrim sería más estable que Cu(I)Emisar. Así, una mayor estabilidad de la forma reducida de los complejos incrementa la eficiencia catalítica de los complejos.

En el caso de los complejos dinucleares, se observa un comportamiento distinto; el complejo $\text{Cu}_2\text{Glimeim}$ que presenta dos sitios de coordinación de tipo NNO, presenta una mayor actividad catalítica que Cu_2Dimeim . Para comprender este comportamiento será necesario recurrir a la discusión sobre el efecto de la interacción entre los dos sitios de cobre en los complejos dinucleares.

❖ Efecto de la “interacción Cu–Cu”

En la figura 3.5.9 se muestra una comparación de la eficiencia catalítica, por sitio de Cu(II), entre los complejos dinucleares y los complejos mononucleares. En esta tabla se incluye al complejo Cu_2Dimp , que presenta la eficiencia catalítica más grande con respecto a los sistemas dinucleares del grupo de trabajo.

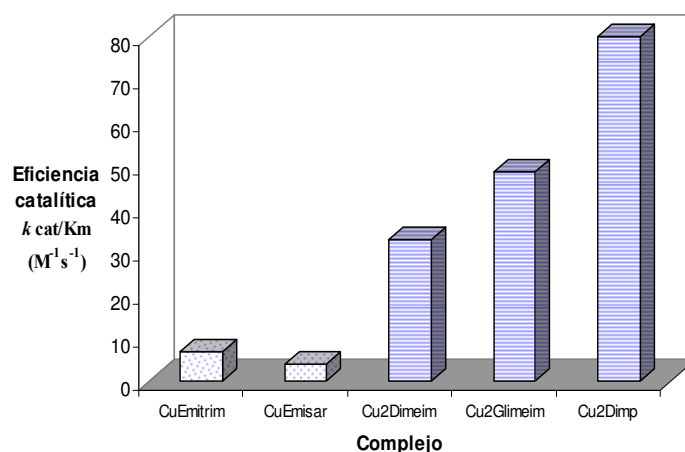


Fig. 3.5.9. Comparación de la eficiencia catalítica de los sistemas mononucleares y dinucleares en la oxidación de DTBC en $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ a $\text{pH}=8.0$

De acuerdo con los resultados de los estudios catalíticos, los complejos dinucleares son, por mucho, catalizadores más eficientes que los complejos mononucleares. Para analizar los resultados de los estudios catalíticos hay que recordar que los complejos Cu_2Dimeim y $\text{Cu}_2\text{Glimeim}$ presentan dos sitios de cobre equivalentes, en los cuales las distancias Cu–Cu son de aproximadamente 7 Å; como se mencionó en la discusión de los estudios electroquímicos, en diversos trabajos se ha sugerido que la actividad catecolasa se favorece en complejos dinucleares que presentan distancias Cu–Cu pequeñas, ya que esto permitiría que los sitios de cobre actuaran sinérgicamente en la catálisis; además, se ha sugerido que los sistemas dinucleares con distancias

grandes entre los sitios de cobre (mayores a 4 Å) podrían comportarse como sistemas mononucleares en la oxidación de catecoles.

Como se ha mencionado, en los complejos dinucleares y mononucleares que han sido estudiados en este trabajo, los iones Cu(II) presentan sitios de coordinación iguales. En los estudios catalíticos que se han presentado en este trabajo puede observarse que los complejos dinucleares $Cu_2Dimeim$ y $Cu_2Glimeim$ no se comportan como sistemas mononucleares, ya que cada sitio de cobre en el complejo dinuclear presenta una eficiencia catalítica mucho mayor que la eficiencia mostrada por su análogo mononuclear. Si bien en varios trabajos se ha sugerido que los complejos dinucleares de cobre con distancias Cu–Cu pequeñas presentan una eficiencia catalítica mayor que la de sus análogos mononucleares, los resultados de este trabajo sugieren que aún los complejos dinucleares con distancias Cu–Cu grandes son catalizadores más eficientes que los complejos mononucleares análogos. Con estos resultados se puede proponer la existencia de un efecto intrínseco en la reactividad de los complejos debido a la presencia de dos sitios de cobre, aunque dichos sitios no se encuentren cerca. Los estudios de susceptibilidad magnética y de RPE, que se han realizado a los sistemas dinucleares $Cu_2Dimeim$ y $Cu_2Glimeim$ han mostrado que estos complejos presentan acoplamiento antiferromagnético tanto en estado sólido como en disolución^(14,57). Este hecho podría explicar el efecto de los dos sitios de cobre sobre la reactividad de estos sistemas. Así, aunque en un complejo dinuclear los sitios de cobre se encuentren alejados, podría observarse una actividad catalítica significativa si en el complejo existiera una interacción Cu–Cu.

Asimismo, como se indicó en la discusión del comportamiento electroquímico de los sistemas, la presencia de dos señales de reducción en los complejos, a pesar de tener dos sitios de coordinación equivalentes, podría también estar relacionada con el acoplamiento antiferromagnético de los sitios de cobre en los complejos. El complejo $Cu_2Glimeim$ presentó dos señales de reducción en potenciales alejados, mientras que en el complejo $Cu_2Dimeim$ los potenciales de reducción de Cu(II) se encuentran muy cerca. Así, sería posible proponer que una mayor diferencia entre los potenciales de reducción en los complejos está relacionada con un mayor acoplamiento entre los sitios de cobre; de esta forma, un mayor acoplamiento entre los sitios de cobre conduciría a un mayor efecto sobre la reactividad del complejo, y en consecuencia, a una mayor eficiencia catalítica. Con estas propuestas podría la mayor eficiencia catalítica del complejo $Cu_2Glimeim$ resepecto a $Cu_2Dimeim$.

❖ ***El oxígeno como intermediario en el ciclo catalítico***

En el estudio cinético de los complejos mononucleares se observó una cinética de *pseudo*-primer orden con respecto a la concentración de catalizador. Puesto que una cinética de este tipo implica un estequiometría 1:1 catalizador-sustrato, se propuso la existencia de un intermediario dinuclear; este intermediario podría ser un aducto entre dos moléculas de complejo y una molécula de O₂. De esta forma, el análisis de la reactividad entre los complejos de cobre y el oxígeno resulta de gran interés para entender los resultados de la actividad catalítica de los sistemas modelo.

La evaluación del comportamiento electroquímico de los complejos mononucleares con oxígeno mostró que el complejo Cu(I)*Emisar* presenta una reacción más lenta con dicha especie que el complejo Cu(I)*Emitrim*; por otro lado, el complejo Cu*Emitrim* mostró una mayor eficiencia catalítica que Cu*Emisar*. Así, a partir de estos resultados puede sugerirse que la reactividad de los complejos de cobre con O₂ es un paso que influye de manera significativa en la velocidad con la que se lleva a cabo la oxidación de DTBC. Por otro lado, es necesario llevar a cabo experimentos adicionales para verificar si los complejos dinucleares muestran una mayor reactividad con el oxígeno que los mononucleares.

Así, finalmente, a partir de este análisis se puede ver que existen diversos factores que afectan la actividad catalítica de los complejos de cobre; sin embargo el estudio sistemático de los complejos, tanto cinético como electroquímico, ha sido de gran utilidad para tratar evaluar la importancia que tienen estos factores en su reactividad.

Capítulo 4

CONCLUSIONES

- La reacción de Mannich en medio básico permitió obtener dos nuevos ligantes, derivados de 2-etil-4-metil-imidazol, los cuales pudieron ser caracterizados mediante diversas técnicas analíticas.
- Los ligantes *Emitrim* y *Emisar* forman complejos mononucleares con Cu(II). Los valores de las constantes de formación de *CuEmitrim* y *CuEmisar* muestran que estos complejos son estables en solución acuosa, volviéndose importantes los equilibrios de hidrólisis a valores de pH superiores a 8 en H₂O.
- De acuerdo con la caracterización de los complejos y la estructura preliminar de rayos X del complejo *CuEmisar*NO₃, se propone que en estado sólido, ambos complejos presentan una geometría de pirámide de base cuadrada. En disolución, los estudios de UV-visble de los complejos indica que estos complejos conservan la misma geometría que en estado sólido.
- Los complejos mononucleares presentan al electrodo una transferencia electrónica rápida, seguida por una reacción química acoplada, la disociación de la forma reducida de los complejos. El comportamiento electroquímico de los complejos indica que la forma reducida del complejo *CuEmitrim* es más estable que la forma reducida de *CuEmisar*.
- El análisis comparativo de los VC de los complejos dinucleares y mononucleares sugiere que a pesar de que los complejos *Cu₂Glimeim* y *Cu₂Dimeim* presentan dos sitios de coordinación equivalentes, los iones Cu(II) en estos complejos presentan dos procesos de reducción monoeléctricos Cu(II)→Cu(I).
- En presencia de O₂, los complejos mononucleares y dinucleares de Cu(I), formados al electrodo, reaccionan con dicha especie. La velocidad de la reacción entre el oxígeno y el complejo *CuEmtrim* es más cuantitativa que la correspondiente reacción con el complejo *CuEmisar*.

- Los complejos mononucleares presentan actividad catalítica en la oxidación de DTBC, la cual se incrementa ligeramente con el aumento en la alcalinidad del medio.
- El potencial de reducción de los sitios de cobre de los complejos dinucleares y mononucleares aumenta al incrementarse el pH del medio. Asimismo, al aumentar el potencial de reducción de los complejos se incrementa la capacidad oxidante de los complejos de cobre, y en consecuencia la actividad catalítica de los complejos se favorece.
- El complejo *CuEmitrim* es más activo que *CuEmisar* lo que se atribuye a la mayor estabilidad de Cu(I) en un ambiente de coordinación de tipo NNN, impuesta por el ligante *Emitrim*, respecto al ambiente de tipo NNO impuesta por el ligante *Emisar*.
- A pesar de que son sistemas análogos, cada sitio de cobre en los complejos dinucleares presenta una eficiencia catalítica superior a la mostrada por los complejos mononucleares
- Una interacción electrónica Cu-Cu en los complejos dinucleares es la responsable de la mayor reactividad de estos sistemas respecto a los mononucleares. Tal interacción puede además explicar la existencia de un acoplamiento antiferromagnético de los sitios de cobre de los complejos dinucleares, así como la aparición de dos señales de reducción en el proceso $\text{Cu(II)} \rightarrow \text{Cu(I)}$.

Capítulo 5

PARTE EXPERIMENTAL

A continuación se presenta una descripción de las metodologías empleadas y el equipo utilizado durante el desarrollo experimental del presente trabajo.

5.1. Reactivos y Equipos

5.1.1. Reactivos

2-etil-4-metilimidazol, 95%, Aldrich

N,N,N'-trimetiletilendiamina, 97%, Aldrich

Sarcosina, 98%, Aldrich

Solución de Formaldehído al 37%, Mallinckrodt

Hidróxido de Sodio, 98.6% J.T. Baker

Ácido acético glacial, 98%, J.T. Baker

Ácido Nítrico, 62.5% J.T. Baker

D₂O, 99.9%, Aldrich

Nitrato de Cobre, Cu(NO₃)₂·2.5H₂O

Acetato de cobre, Cu(CH₃CO₂)₂·H₂O

Trimetilortoformiato, 98%, Aldrich

Nitrato de potasio, KNO₃, 99% Aldrich

3,5-diterbutilcatecol, 99% Aldrich

Hepes, sal sódica del ácido N-[2-hidroxietil]piperazin-N'-[2-etanosulfónico], 99.5% Sigma

Mes, ácido 2-(N-morfolino)etansulfónico 99.5% Aldrich

Ches, ácido 2-(ciclohexilamin)etansulfónico 99% Aldrich

Metanol, 99.9% grado espectrofotométrico, Aldrich

5.1.2. Equipo

Espectroscopia de Infrarrojo. Los espectros 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 también se obtuvieron en la USAI en un espectrómetro de resonancia magnética nuclear de alta resolución Varian Unity Inova operado a 300 MHz para ^1H y 75 MHz para ^{13}C .

Espectrometría de Masas. Los espectros de masas se obtuvieron en la USAI mediante la técnica de FAB⁺ con un espectrómetro de masas de alta resolución Jeol JMS-5X 102 A acoplado a un cromatógrafo de gases.

Análisis Elemental. El análisis elemental de los compuestos se realizó en la USAI utilizando un analizador elemental Fisions EA modelo 1108.

Difracción de Rayos X. Los estudios de difracción de rayos X se realizaron en un equipo Siemens P4, en la USAI.

Conductividad. La conductancia se determinó mediante un conductímetro YSI modelo 3100, y una celda platino platinado que presentaba una constante de 1 cm^{-1} .

Susceptibilidad magnética. Se determinó la susceptibilidad magnética de los compuestos de cobre por medio del método de Gouy, en una balanza magnética Jonson-Matthey-Auto para muestra sólida

Titulaciones potenciométricas. Las titulaciones se realizaron en un titulador automático Metrohm SM Titrino 702.

Voltamperometría cíclica. Los estudios de voltamperometría cíclica se realizaron utilizando un potenciostato-galvanostato AUTOLAB PGSTAT 100.

Espectroscopia UV- visible y catálisis. El equipo utilizado para realizar los estudios catalíticos fue un espectrofotómetro de arreglo de diodos HP Agilent modelo 8453.

5.2. Síntesis y caracterización de ligantes y complejos

5.2.1. Síntesis del ligante *Emitrim*

En un vaso de precipitados se disuelve 2.2048 g (20 mmol) de 2-etil-4metilimidazol en aproximadamente 20 mL de H₂O. Se agregan lentamente 2.65 mL de N,N,N'-trimetiletilendiamina disueltos en 5 mL de agua. Se agrega gota a gota al vaso de precipitados con agitación, 1.5 mL (20mmol) de formaldehído al 36.6 %. Esta mezcla se pone en agitación a temperatura ambiente durante 10 días. Transcurrido este tiempo, se elimina el agua en exceso utilizando un rotavapor. El producto de la reacción es un líquido viscoso de color amarillo.

5.2.2. Síntesis del ligante *Emisar*

En un vaso de precipitados, se disuelve 2.2048 g (20 mmol) de 2-etil-4metilimidazol. Se agregan 1.7806 g (20 mmol) de sarcosina disueltos en 5 mL de agua. A esta mezcla se añaden muy lentamente y con agitación 1.5 mL (20 mmol) de formaldehído al 36.6 %. El pH de la disolución se ajusta con trietilamina hasta pH=10.8; la mezcla de reacción se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 10 días. El producto de la reacción es un líquido muy viscoso de color amarillo.

5.2.3. Síntesis del complejo [Cu*Emitrim*(NO₃)(MeOH)]NO₃

En MeOH anhidro se disuelve 0.1312 g de *Emitrim*·2H₂O (0.5mmol); por otra parte se disuelven 0.1171 g de Cu(NO₃)·2.5H₂O (0.5 mmol) en metanol. Posteriormente se agrega gota a gota la disolución de nitrato de cobre (II) al vaso que contiene al ligante *Emitrim*, manteniendo una agitación constante en el vaso de precipitados. Esta disolución se calienta para favorecer la evaporación del disolvente. A continuación se añaden 0.5 mL de trimetilortoformiato para eliminar el agua. Para inducir la precipitación se agrega éter

etílico. Así finalmente se obtiene un sólido semicristalino de color azul, el cual se filtra y se lava con metanol anhidro frío.

5.2.4. Síntesis del complejo CuEmisarNO_3

Se disuelven en agua 0.1248 g del ligante $\text{Emisar} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.5 mmol); por otra parte se disuelven 0.1167 g de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ en agua. Posteriormente se agrega gota a gota la disolución de nitrato de cobre (II) al vaso que contenía al ligante *Emisar*, manteniendo una agitación constante en el vaso de precipitados. Finalmente se deja evaporando el disolvente obteniéndose un sólido de color azul-verde.

5.2.5. Síntesis del complejo $\text{CuEmisarCH}_3\text{COO}$

Se disuelve en agua 0.1246 g del ligante $\text{Emisar} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.5 mmol); por otra parte se disuelve 0.1006 g (50 μmol) de $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en metanol. Posteriormente se agrega gota a gota la disolución de acetato de cobre (II) al vaso que contenía al ligante *Emisar*, manteniendo una agitación constante en el vaso de precipitados. Finalmente se deja evaporando el disolvente obteniéndose un sólido de color azul rey.

5.2.6 Determinación de la conductividad los complejos

Se prepararon disoluciones acuosas de concentración 1 mM de los complejos $[\text{CuEmitrimNO}_3(\text{MeOH})]\text{NO}_3$, CuEmisarNO_3 y $\text{CuEmisarCH}_3\text{COO}$ disolviendo la cantidad necesaria del sólido del complejo correspondiente en agua. Una vez que las disoluciones fueron preparadas, se procedió a llevar a cabo las determinaciones conductimétricas colocando parte de la disolución de cada complejo en la celda de conductividad.

5.2.7 Obtención de los espectros UV-visible

Se prepararon disoluciones 5 mM de los complejos $[\text{CuEmitrimNO}_3(\text{MeOH})]\text{NO}_3$, CuEmisarNO_3 , $\text{CuEmisarCH}_3\text{COO}$, $\text{Cu}_2\text{Dimeim}(\text{ClO}_4)_4$ y $\text{Cu}_2\text{Glimeim}(\text{NO}_3)_2$ en la mezcla $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 1:1 (v/v). Para ello se disolvió el sólido del complejo correspondiente en la mezcla de disolventes antes mencionada. Los espectros se obtuvieron empleando una celda de 1 cm de paso óptico.

5.3 Titulaciones potenciométricas

5.3.1. Determinación de las constantes de acidez

En la determinación de las constantes de acidez de los ligantes se utilizaron NaOH y HNO₃ estandarizados. Para la estandarización de la disolución de NaOH se empleó como patrón primario biftalato de potasio. Se realizaron tres titulaciones potenciométricas de una disolución de NaOH, determinándose una concentración de 0.1229 M; para conocer la cantidad de carbonatos presentes en esta disolución se utilizó el Método de Gran⁽⁴⁵⁾, obteniéndose un valor de 0.82 % de CO₃²⁻. El HNO₃ utilizado para preparar las disoluciones 5 mM de los ligantes fue una disolución 0.1012 M, valorada con NaOH 0.1229 M. Todas las titulaciones se realizaron por triplicado.

Para realizar los estudios potenciométricos se prepararon disoluciones acuosas aproximadamente 0.2 M de los ligantes *Emisar* y *Emitrim*. Resulta importante mencionar que debido a las características de los ligantes, no era posible tener una certeza sobre la cantidad de agua presente en los mismos. De modo que a partir de las titulaciones potenciométricas, además de obtener las constantes de acidez, la concentración de estas disoluciones podría conocerse con mayor exactitud, y éstas se utilizarían como estándar para preparar otras disoluciones.

Así, de las disoluciones aproximadamente 0.2 M se tomaron alícuotas para preparar una disolución 5 mM del ligante correspondiente; se añadió HNO₃ valorado al matraz que contenía al ligante para tener una concentración 20 mM de ácido. Esta mezcla se llevó al aforo con KNO₃ 0.1 M para mantener la fuerza iónica constante. Empleando la disolución 5 mM del ligante, la alícuota utilizada en el titulador automático fue de 25 mL. Antes de iniciar la titulación se hizo pasar nitrógeno a través de la disolución durante 10 minutos; la temperatura se mantuvo constante a 25°C. El reactivo titulante fue la disolución de NaOH valorada. Todas las titulaciones se realizaron por triplicado. Las concentraciones de las disoluciones iniciales de *Emitrim* y *Emisar* fueron 0.162 y 0.194 M, respectivamente.

5.3.2. Determinación de las constantes de formación de los complejos

Para llevar a cabo la determinación de las constantes de formación de los complejos se empleó una disolución 5 mM del complejo correspondiente. Para preparar esta disolución se agrega el volumen necesario de una disolución $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 0.155 M, cuya concentración fue determinada mediante absorción atómica, y de una disolución valorada del ligante correspondiente. A esta mezcla se añade una alícuota de HNO_3 valorado para tener en la disolución una concentración 20 mM de ácido. La mezcla final se lleva al aforo con KNO_3 0.1 M. Esta disolución es empleada para llevar a cabo la titulación, usando una alícuota de 25 mL. Antes de llevar a cabo la titulación, se hace pasar nitrógeno a la disolución durante 10 minutos. La temperatura se mantuvo constante a 25°C durante toda la titulación. Las titulaciones se realizaron por triplicado.

5.4. Estudios electroquímicos

Los estudios electroquímicos fueron realizados empleando la técnica de voltamperometría cíclica. Se realizaron estudios de los complejos mononucleares CuEmitrim y CuEmisar , y algunos estudios de los complejos dinucleares Cu_2Dimeim y $\text{Cu}_2\text{Glimeim}$. Los experimentos se llevaron a cabo en una celda convencional de tres electrodos como la que se muestra en la figura 5.4.1. Como electrodo de trabajo se utilizó un disco de carbón vítreo de 0.071 cm^2 de área superficial, se utilizó un electrodo de Ag/AgCl como referencia y un alambre de platino como electrodo auxiliar, ambos electrodos fueron introducidos en compartimientos separados. El electrodo de carbón vítreo se limpió empleando sílica gel y agua. Los voltameprogramas cíclicos (VC) se obtuvieron en un intervalo de potenciales de -1.2 a 0.8 V , y fueron iniciados en el potencial de corriente nula ($E_{i=0}$).

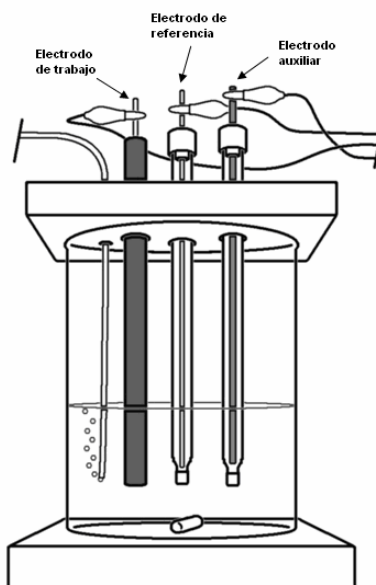


Figura 5.4.1. Esquema de la celda electroquímica empleada en los estudios de voltamperometría cíclica

Los complejos se prepararon *in situ* añadiendo, a la mezcla MeOH/H₂O 1:1, las cantidades necesarias de Cu(NO₃)₂ y ligante para tener en la celda una concentración 1 mM, en el caso de los complejos mononucleares, y 0.5 mM, en el caso de los complejo dinucleares. En la celda electroquímica se mantuvo la relación de disolventes 1:1. En la celda se utilizó la sal sódica de Hepes como amortiguador y electrolito soporte.

En el estudio de los complejos sin presencia de oxígeno se hizo pasar N₂ durante 10 minutos a través de las disoluciones contenidas en la celda antes de obtener los VC. En los experimentos que incluían el estudio de los complejos en presencia de oxígeno, se obtuvieron los VC de las disoluciones sin el burbujeo de nitrógeno.

También se realizaron estudios del comportamiento electroquímico del oxígeno en el medio MeOH/H₂O (1:1). Los estudios electroquímicos iniciales se realizaron a una velocidad de barrido de 100 mV/s. Estudios posteriores incluyeron la variación de la velocidad de barrido desde 0.1 V hasta 1 V. Pevio a la obtención de los VC de los sistemas químicos mencionados, se obtuvieron los VC del sistema ferricinio-ferroceno (Fc⁺-Fc) en MeOH/H₂O con el fin de utilizarlo como referencia.

5.5. Estudios cinéticos

La actividad catalítica de los complejos *CuEmitrim* y *CuEmisar* fue evaluada mediante el seguimiento espectrofotométrico de la reacción de oxidación del 3,5-diterbutilcatecol (DTBC). Para ello se siguió a diferentes tiempos la aparición del producto de la oxidación, la 3,5-diterbutilquinona (DTBQ).

La DTBQ presenta una banda de absorción en 400 nm, cuya absorptividad molar en la mezcla MeOH/H₂O (1:1) es $\epsilon=1624.39 \text{ mol}^{-1}\text{Lcm}^{-1(42)}$. En todos los experimentos catalíticos se utilizó el método de velocidades iniciales para evaluar la velocidad de la reacción. Así, una vez iniciada la reacción, durante 40 segundos se obtuvo un espectro de absorción en cada segundo transcurrido. La pendiente de la recta que se obtiene al graficar la concentración de DTBQ en los primeros instantes de la reacción es la velocidad inicial.

Todos los experimentos se realizaron de la siguiente forma: en una celda de cuarzo de 1 cm de paso óptico se agrega 1 mL de la disolución de complejo en la mezcla MeOH/H₂O 1:1; posteriormente se agrega 1 mL de la disolución amortiguadora acuosa (Mes, Hepes o Ches), y finalmente 1 mL de la disolución de DTBC en MeOH. La mezcla de reacción se agita y en seguida se realizan las mediciones espectrofotométricas. El volumen de la disolución final en la celda es de 3 mL. Los experimentos cinéticos se realizaron por triplicado y en todos se mantuvo la proporción MeOH/H₂O 1:1.

Para preparar las disoluciones de los complejos en todos los estudios cinéticos, se utilizaron disoluciones 10 mM de éstos. Para ello se partió de una disolución estándar de Cu(NO₃)₂ 0.155 M en agua y de disoluciones 0.163 M y 0.195 M de *Emitrim* y *Emisar* respectivamente. Los complejos se prepararon *in situ* mezclando alícuotas que contenían 1 equivalente de Cu²⁺ y 1 equivalente del ligante.

5.5.1. Variación de pH en la mezcla MeOH/H₂O_{pH}

El efecto del pH sobre la actividad catalítica de los complejos se estudió manteniendo constante la concentración de catalizador y sustrato, y variando el valor del pH en la mezcla MeOH/H₂O_{pH}.

En este estudio se prepararon disoluciones acuosas 0.3 M de los amortiguadores Mes, Hepes y Ches a diferentes valores de pH. En la tabla 6.5.1 se muestran las disoluciones preparadas de cada amortiguador.

Amortiguador	pH
Mes	6.5
	7.0
Hepes	7.5
	8.0
	8.2
Ches	8.5
	8.8
	9.0
	9.5
	10.0

Tabla 5.5.1. Amortiguadores de pH utilizados en el estudio de la variación de pH

A partir de las disoluciones 10 mM de los complejos se tomaron alícuotas para preparar disoluciones 180 μ M de los complejos CuEmitrim y CuEmisar en la mezcla MeOH/H₂O conservando la proporción de los disolventes 1:1. Además se preparó una disolución de DTBC 6 mM en MeOH. Se realizaron dos estudios catalíticos: en uno de los estudios se agregó a la celda 1 mL de la disolución del complejo, y en el otro estudio se substituyó esta disolución por 1 mL de la mezcla MeOH/H₂O 1:1 sin el complejo.

5.5.2. Variación de la concentración del catalizador

En este estudio se buscaba observar el efecto sobre la actividad catalítica de los complejos al variar la concentración de los mismos. Para ello se prepararon disoluciones de los complejos de diversas concentraciones. En la tabla 5.5.2 se resumen las concentraciones de amortiguador, catalizador y catecol en este estudio.

En estos experimentos tanto el pH del amortiguador (Hepes pH=8.0) como la concentración de catecol se mantuvieron constantes; para ello se prepararon una disolución de Hepes 0.3 M en agua y una disolución de DTBC 6 mM en MeOH.

[Complejo] en la disolución (μM)	[Complejo] en celda (μM)	[DTBC] en celda (mM)	[Hepes] en celda (M)
30	10	2	0.1
60	20	2	0.1
90	30	2	0.1
120	40	2	0.1
150	50	2	0.1
180	60	2	0.1

Tabla 5.5.2. Concentraciones de DTBC, complejo y HEPES en el estudio de la variación de la concentración de catalizador

5.5.3. Variación de la concentración de sustrato

Para observar el efecto de la variación del sustrato sobre la actividad catalítica de los complejos mononucleares se prepararon diversas disoluciones de DTBC. En estos estudios se mantuvieron constantes el pH del amortiguador y la concentración de los complejos.

En este estudio se prepararon disoluciones 0.3 M de Hepes a pH=8.0 y 180 μM de los complejos *CuEmisar* y *CuEmitrim*. En la tabla 6.5.3 se resumen las concentraciones empleadas de catalizador, amortiguador y sustrato en los experimentos de cada complejo.

[DTBC] en celda en el estudio de <i>CuEmitrim</i> (mM)	[DTBC] en celda en el estudio de <i>CuEmisar</i> (mM)	[Catalizador] en celda (μM)	[Hepes] en celda (M)
0.32	0.32	60	0.1
0.48	0.48	60	0.1
0.64	0.64	60	0.1
1.2	1.2	60	0.1
1.6	1.6	60	0.1
3.2	3.2	60	0.1
5	5	60	0.1
8	8	60	0.1
	24	60	0.1
	32	60	0.1

Tabla 5.5.3. Concentraciones de DTBC, complejo y HEPES en el estudio de la variación de la concentración de sustrato

REFERENCIAS

1. I.A. Koval, P. Gamez, C. Belle, K. Selmecezi, J. Reedijk, *Chem. Soc. Rev.* **2006**, 35, 814.
2. T. Klabunde, C. Eicken, J., C. Sacchettini, B. Krebs, *Nat. Struct. Biol.*, **1998**, 5, 1084.
3. N. Oishi, Y. Nishida, K. Ida, S. Kida. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1980**, 54, 2847
4. J. Ackermann, F. Meyer, E. Kaifer, H. Pritzkow, *Chem-Eur. J.*, **2002**, 8, 247H.
5. C.H. Kao, H.H. Wei, Y.H. Liu, G.H. Lee, Y. Wang, C.J. Lee, *J. Inorg. Biochem*, **2001**, 84, 171.
6. J. Mukherjee, R. Mukherjee, *Inorg. Chim. Acta*, **2002**, 337, 429.
7. Monzani, E., Quinti, L., Perotti, A., Casella, L., Guilloti, M., Randaccio, L., Geremia, S., Nardin, G., Fakschini, P., Tabbi, G. *Inorg. Chem.* **1998**, 37, 553.
8. Monzani, E., Battaini, G., Perotti, A., Casella, L., Gullotti, M., Santagostini, L., Nardin, G., Randaccio, L., Geremia, S., Zanello, P., Opromolla, G. *Inorg. Chem.* **1999**, 38, 5359.
9. K. Selmecezi, M. Reglier, M. Giorgi, G. Speier, *Coord. Chem. Rev.* **2003**, 245, 191.
10. K. Selmecezi, M. Reglier, G. Speier, G. Pintler, *React. Kinet. Catal. Lett.*, **2004**, 81, 143.
11. J. Thuji, H. Takayanagi, *J. Am. Chem. Soc.*, **1974**, 96, 7349.
12. M.M. Rogic, T.R. Demmin, *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, 98, 7441.
13. L. Gasque, J. Olguín, S. Bernés, *Acta Cryst.* **2005**, E61 m274-m276
14. L. Gasque, E. Mijangos, L. Ortiz –Frade, *Acta Cryst.* **2005**, E61 m673-m676
15. G. Mendoza-Díaz, W. Driessen, J. Reedijk, S. Gorter, L. Gasque, K. Thompson, *Inorg. Chim. Acta*, **2002**, 339, 51.
16. L. González, Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, **2006**.
17. I. Membrillo, Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, **2006**.
18. M. Fontecave, J.L. Pierre, *Coord. Chem. Rev.*, **1998**, 170, 125.
19. H., Gampp y A.A. Zuberbühler en *Metal ions in biological systems*, A. Siegel y H. Siegel (Eds.), Marcell Dekker, Nueva York, EUA, **1996**, 37, 157.
20. A. Rompel, H. Fischer, D. Meiwes, K. Büldt- Karentzopoulos, R. Dillinger, F. Tuczek, H. Witzel, B. Krebs, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **1999**, 4, 56.
21. C. Eicken, F. Zippel, K. Büldt- Karentzopoulos, B. Krebs, *FEBS Lett.*, **1998**, 436, 293.

22. C. Eicken, B. Krebs, J.C. Sacchettini, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **1999**, 9, 677.
23. Solomon, E.I., Sundaram, U.M., Machonkin, T.E., *Chem. Rev.*, **1996**, 96, 2563.
24. D.E. Fenton, *Biocoordination Chemistry*, Oxford Chemistry Primers, **1995**, 96.
25. F. Mani, *Coord. Chem. Rev.*, **1992**, 120, 325.
26. M.R. Malachowski, *Inorg. Chim. Acta*, **1989**, 162, 199.
27. J.P. Chyn, F.L. Urbach, *Inorg. Chim. Acta*, **1991**, 189, 157.
28. J. Balla, T. Kiss, R.F. Jameson, *Inorg. Chem.*, **1992**, 31, 58.
29. M. Thirumavalavan, P. Akilan, M. Kandaswamy, K. Chinnakali, G. Senthil Kumar, H.K. Fun, *Inorg. Chem.*, **2003**, 42, 3308.
30. J. Reim, B.J. Krebs, *Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1997**, 3793.
31. S. Torelli, C. Belle, I. Gautier-Luneau, J.L. Pierre, E. Saint-Aman, J.M. Latour, L. Le Pape, D. Luneau, *Inorg. Chem.* **2000**, 39, 3526-3536.
32. C. Belle, C. Beguin, I. Gautier-Luneau, S. Hamman, C. Philouze, J.L. Pierre, F. Thomas, S. Torelli, E. Saint-Aman, M. Bonin, *Inorg. Chem.* **2002**, 41, 479.
33. A. Fernandes, A. Neves, A. J. Bortoluzzi, A.S. Mangrich, E. Rentschler, B. Szpoganicz, E. Schwingel, *Inorg. Chem. Acta*, **2001**, 320, 12.
34. E. Monzani, L. Casella, G. Zoppellaro, M. Gullotti, R. Pagliarin, R. Bonomo, G. Tabbi, G. Nardin, L. Randaccio, *Inorg. Chim. Acta*, **1998**, 37, 553.
35. A.M. Sosa, V.M. Ugalde-Saldívar, I. González, L. Gasque, *J. Electroanal. Chem.* **2005**, 579, 103.
36. M.R. Malachowski, H.B. Huynh, L.J. Tomlinson, R.S. Kelly, J.W. Furbee, *J. Chem. Soc. Dalton Trans*, **1995**, 31.
37. F.B. Stocker, J.L. Kurtz, B.L. Gilman, D.A. Forsyth, *J. Org. Chem.*, **1970**, 35, 883.
38. E.E. Mijangos, *Interacción de cobre (II) con el ligante 2-metil-bis-4,5-(metal-n-alanil)-imidazol*, Tesis de licenciatura, Facultad de Química, UNAM, **2001**.
39. K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, 4a. ed. John Wiley & Sons, Canada, **1989**.
40. R.J. Angelici, *Synthesis and Technique in inorganic chemistry*, University Science Book, California, **1986**.
41. J.A. Chamizo-Guerrero, *Susceptibilidad magnética*, Tesis de licenciatura, Facultad de Química, UNAM, **1976**.

42. J.L. Olgúin-Talavera, *Compuestos dinucleares de cobre con ligantes derivados de imidazol y aminos*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, **2003**.
43. K.S. Luna-Ramírez, *Compuestos dinucleares de cobre con ligantes derivados de imidazol y aminoácidos*, Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, **2003**.
44. R.M. Smith, A.E. Martell, *Critical stability constants*, Vol. 2, Plenum Press, Nueva York, EUA, **1975**.
45. F.J. Rossoti, H. Rossoti, *J. Chem. Educ.* **1965**,42,7.
46. A.J. Bard; L.R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, Wiley, Nueva York, **2001**.
47. D.T. Sawyer, J.L. Roberts Jr., *Experimental Electrochemistry for Chemists*, Wiley, Nueva York, EUA, **1974**.
48. A. Ramos, M. Miranda-Hernandez, I. Gonzalez, *J. Electrochem. Soc.*, **2001**, 148, 315
49. A. Sosa, *Estudio de las propiedades electroquímicas de complejos dinucleares de cobre con ligantes derivados de imidazol en relación con su actividad catalítica*, Tesis de Doctorado, Facultad de Química, UNAM, **2006**.
50. R.G. Bates, *Determination of pH, theory and practice*, 2^a. Ed., John Wiley & Sons, EUA, **1973**.
51. D.D. Perrin, *Buffers for pH and metal ion control*, Chapman and Hall, Londres, **1974**.
52. G. Battaini, M. De Carolis, E. Monzani, F. Tucek, L. Casella, *Chem. Comm.* **2003**, 726.
53. J.H. Spenson, *Chemical reactions and reaction mechanisms*, McGraw-Hill, Nueva York, **1995**.
54. I.H. Segel, *Enzymes Kinetics*. John Wiley & Sons. Nueva York, **1975**
55. J.P. Chyn y F.L. Urbach, *Inorg. Chim. Acta*, **1991**, 189, 157.
56. U. Casellato, S. Tamburini, P. A. Vigato, A. De Stefani, M. Vidali y D.E. Fenton, *Inorg. Chim. Acta*, **1983**, 69, 45.
57. L. Gasque, V.M. Ugalde-Saldívar, I. Membrillo, J. Olgúin, E. Mijangos, S. Bernès, I. González, *J. Inorg. Biochem.*, **2007**. Aceptado para su publicación.
58. A. Neves, M. Liane, A. Rossi, J. Bortoluzzi, C. Wiezbicki, E. Schwingel, *Inorg. Chem.*, **2002**, 41.
59. J. Ackerman, S. Buchler, F. Meyer, *C.R. Chimie*, **2007**, 10, 421.
60. R.S. Nicholson e I. Shain. *Anal. Chem.*, **1964**, 36, 706