



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO**

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

**EFFECTO DE LA ESTABILIDAD DE COMPLEJOS METAL-OXIMATO ALIFÁTICOS  
EN SU REACTIVIDAD ESTEROLÍTICA**

**TESIS**

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS**

PRESENTA

Q. ELIZABETH ALPIZAR JUÁREZ

DRA. CLAUDIA PAOLA GÓMEZ-TAGLE CHÁVEZ  
FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, JUNIO 2019



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## **MIEMBROS DEL JURADO**

**PRESIDENTE:** DRA. SILVIA ELENA CASTILLO BLUM

**VOCAL:** DR. RAFAEL MORENO ESPARZA

**VOCAL:** DRA. LAURA MARÍA GASQUE SILVA

**VOCAL:** DR. HUGO MORALES ROJAS

**SECRETARIO:** DR. DAVID MORALES MORALES

### **SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TRABAJO:**

LABORATORIO 213, DEPARTAMENTO DE QUÍMICA INORGÁNICA Y NUCLEAR

ESTUDIOS DE POSGRADO

FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

---

ASESORA

DRA. CLAUDIA PAOLA GÓMEZ-TAGLE CHÁVEZ

---

SUSTENTANTE

Q. ELIZABETH ALPIZAR JUÁREZ

## **Agradecimientos**

Agradezco a Conacyt por la beca otorgada en el periodo 2017-1 a 2019-1, con el número de becario 620958.

Agradezco el apoyo recibido de DGAPA-UNAM-PAPIIT a través del Proyecto IN 214514

Agradezco el apoyo de la Facultad de Química de la UNAM a través de recursos PAIP 5000-9161

Al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas por permitir el desarrollo de este proyecto.

A la Unidad de Servicios y Apoyo a la Investigación y la Industria (USAI) por los servicios de caracterización otorgados.

## Índice

### Abreviaturas y símbolos

Resumen.....	1
1. Introducción.....	2
2. Antecedentes.....	5
3. Hipótesis.....	12
4. Objetivos.....	13
4.1. Objetivo principal.....	13
4.2. Objetivos particulares.....	13
5. Metodología.....	14
5.1. Reactivos y disolventes.....	14
5.2. Instrumentación.....	18
5.3. Síntesis del ligante H <sub>2</sub> OxIm (L1).....	18
5.4. Síntesis del ligante H <sub>2</sub> OxDien (L2).....	20
5.5. Síntesis del ligante H <sub>4</sub> OxP (L3).....	24
5.6. Programas.....	30
5.7. Condiciones generales de las disoluciones.....	30
6. Resultados.....	32
6.1. El ligante H <sub>2</sub> OxIm.....	32
6.1.1. Determinación de las constantes de acidez para el ligante H <sub>2</sub> OxIm.....	32
6.1.2. Determinación de las constantes de formación del ligante H <sub>2</sub> OxIm con cationes metálicos.....	34
6.2. El ligante H <sub>2</sub> OxDien.....	43
6.2.1. Determinación de las constantes de acidez para el ligante H <sub>2</sub> OxDien.....	43
6.2.2. Determinación de las constantes de formación del ligante H <sub>2</sub> OxDien con cationes metálicos.....	46
6.3. El ligante H <sub>4</sub> OxP.....	51
6.3.1. Determinación de las constantes de acidez para el ligante H <sub>4</sub> OxP.....	51
6.3.2. Determinación de las constantes de formación del ligante H <sub>4</sub> OxP con Zn <sup>2+</sup> y Cd <sup>2+</sup> .....	55
6.4. Reactividad esterolítica de los ligantes en función del pH y de sus concentraciones.....	57
6.5. Reactividad esterolítica de los ligantes en presencias de cationes metálicos divalentes.....	68
6.6. Especies reactivas con cationes metálicos.....	70
6.6.1. H <sub>2</sub> OxIm y Cd <sup>2+</sup> .....	70
6.6.2. H <sub>2</sub> OxIm y Zn <sup>2+</sup> .....	73

6.6.3. H <sub>2</sub> OxIm y Cu <sup>2+</sup> .....	75
6.6.4. H <sub>2</sub> OxDien y Cd <sup>2+</sup> .....	77
6.6.5. H <sub>2</sub> OxDien y Zn <sup>2+</sup> .....	78
6.6.6. H <sub>4</sub> OxP y Zn <sup>2+</sup> .....	79
7. Análisis general y comparación con sistemas reportado.....	82
8. Conclusiones.....	90
Bibliografía.....	92
Anexo I.....	95
Anexo II.....	99
Anexo III .....	103

## Abreviaturas y símbolos

Abs	Absorbancia
$A_{ini}$	Absorbancia inicial
$A_{fin}$	Absorbancia final
$\epsilon$	Coefficiente de absorptividad molar
$k_{obs}$	Constante de rapidez observada
$k_{OH^-}$	Constante de rapidez de hidrólisis básica
$k'$	$k_{obs}-k_{OH^-}$
$k'_{obs}$	Constante de rapidez observada corregida por el medio y por la contribución del ligante
$k_2$	Constante de rapidez de segundo orden
$k_{Ox}$	Constante de oximólisis
$pK_a$	Logaritmo de la constante de disociación ácida
4-NFA	4-nitrofenil acetato
4-NFH	4-nitrofenol
4-NF <sup>-</sup>	4-nitrofenolato
nm	Nanómetro
MES	Ácido 2-(N-morfolino) etanosulfónico
EPFS	Ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazina propanosulfónico
CHES	Ácido 2-(ciclohexilamino) etanosulfónico
CAPS	Ácido 3-(ciclohexilamino)-1-propanosulfónico
MOPS	Ácido 3-(N-morfolino) propanosulfónico
PAMAM	Poliaminoamina
ppm	Partes por millón
exp	Experimental
DMSO-d <sub>6</sub>	Dimetil sulfóxido deuterado
D <sub>2</sub> O	Agua deuterada
$\delta$	Desplazamiento químico, ppm
ds	Desviación estándar
BDMO	2,3-butanodiona monoxima
Ec.	Ecuación

## Resumen

En este trabajo se reporta la reactividad esterolítica de tres ligantes no aromáticos, H<sub>2</sub>OxIm, H<sub>2</sub>OxDien y H<sub>4</sub>OxP, con diferente denticidad que poseen en su estructura grupos funcionales oxima, así como la reactividad de sus complejos metal-oximato con algunos cationes metálicos divalentes, Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> y Cd<sup>2+</sup> empleando como sustrato modelo el éster carboxílico 4-nitrofenil acetato, en agua a 25°C. Los ligantes se sintetizaron y caracterizaron mediante las técnicas espectroscópicas convencionales (RMN-<sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup>C, EM, FTIR y AE) y se estudió su reactividad en función del pH y de su concentración. Se determinaron las especies cinéticamente activas, así como sus respectivas constantes de velocidad de segundo orden, mediante la especiación en disolución y análisis de la reactividad en función de la concentración de las especies presentes. Para esto fue necesario determinar las constantes de acidez de los ligantes y de formación de los complejos en disolución acuosa mediante titulaciones potenciométricas y espectrofotométricas con las que se calcularon los diagramas de distribución de especies. Las especies presentes se correlacionaron cualitativa y cuantitativamente con las constantes de rapidez obtenidas en función del pH. A través de estos estudios encontramos que la amidoxima H<sub>2</sub>OxIm muestra reactividad esterolítica tanto en su forma neutra como en su forma desprotonada, con constantes de velocidad de segundo orden de 0.14, 0.2 y 15 M<sup>1</sup>s<sup>-1</sup> respectivamente para las especies [LH<sub>3</sub>], [LH<sub>2</sub>] y [LH], lo cual no observamos con las otras oximas. Las especies oxima monodesprotonada y doblemente desprotonada del ligante H<sub>2</sub>OxDien tienen constantes de segundo orden de 2.8 y 38 M<sup>1</sup>s<sup>-1</sup> respectivamente, y las especies cinéticamente reactivas del ligante H<sub>4</sub>OxP fueron H<sub>3</sub>OxP y H<sub>2</sub>OxP con constantes de segundo orden de 5.8 y 44.5 M<sup>1</sup>s<sup>-1</sup> respectivamente. Se observó que para H<sub>2</sub>OxIm y H<sub>4</sub>OxP la protonación de las aminas periféricas ocurre antes que para las aminas centrales, pero las constantes macroscópicas difieren de las microscópicas.

El efecto catalítico de los cationes metálicos se midió en disolución acuosa permitiendo que los iones complejos se formaran *in situ*, ya que hay especies complejas involucradas en la reactividad que contienen al ion hidróxido. En presencia de cationes metálicos, la reactividad de las oximas H<sub>2</sub>OxIm, H<sub>2</sub>OxDien y H<sub>4</sub>OxP aumenta hasta 3 órdenes de magnitud, si se comparan las especies en el mismo estado de protonación con y sin catión metálico. Una parte de este efecto se debe al incremento en la acidez del ligante al coordinarse con cationes metálicos, sin embargo, debe haber un efecto adicional, posiblemente relacionado con la solvatación del nucleófilo, ya que la reactividad de los complejos metal-oximato sobrepasa notablemente la reactividad de los aniones oximato libres. En todos los casos, los complejos metal-oximato más reactivos son los de Zn<sup>2+</sup> y Cd<sup>2+</sup> entre los cationes metálicos probados.



# 1. Introducción

En la naturaleza la ruptura de ésteres carboxílicos, ésteres fosfato y péptidos está catalizado por metaloenzimas hidrolíticas como carboxipeptidasa A y fosfotriesterasa (Figura 1.1). Aunque en general, los ésteres fosfato son más resistentes a la hidrólisis que los ésteres carboxílicos ambas hidrólisis proceden por un mecanismo clásico de adición-eliminación, por lo cual es posible que un buen catalizador de ésteres carboxílicos sea capaz de hidrolizar ésteres fosfato.

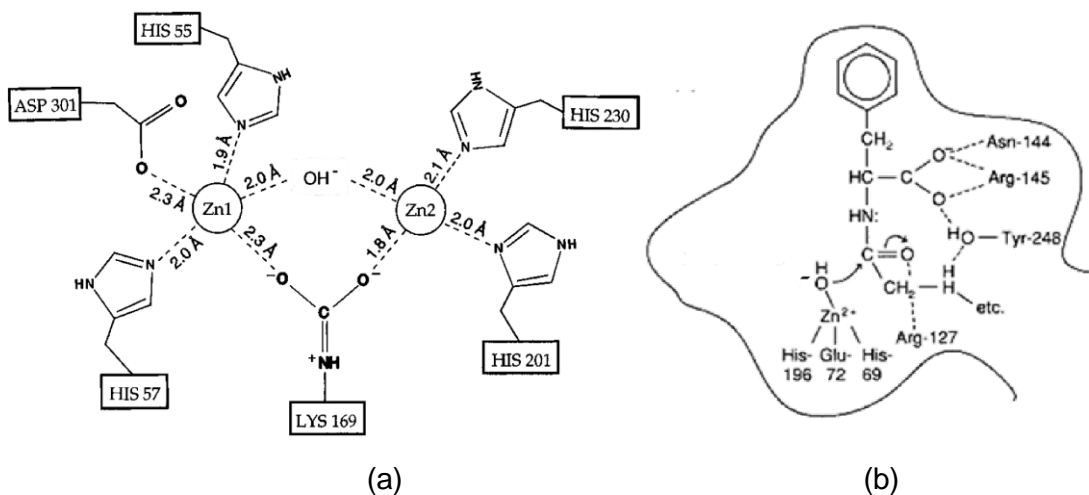


Figura 1.1. Sitio activo de la metaloenzima fosfotriesterasa (a) y carboxipeptidasa A (b)

Estas metaloenzimas tienen como característica poseer un sitio activo en donde los iones metálicos tienen varias funciones importantes como: activar los grupos nucleofílicos presentes en los aminoácidos (OH<sup>-</sup> de agua, RO<sup>-</sup> de serina o RS<sup>-</sup> de cisteína), dar asistencia electrofílica en el estado de transición y facilitar la protonación del grupo saliente [Bertini 1994, Breslow 1972].

Al degradar compuestos organofosforados como son los pesticidas (Figura 1.2) es interesante imitar estos sitios activos de las metaloenzimas hidrolíticas a través de una rama de la química que se conoce como *química biomimética*, empleando sistemas químicos menos complejos [Breslow 1972].

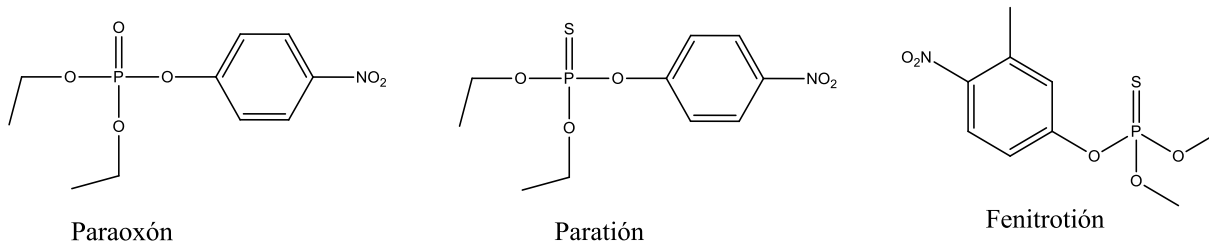


Figura 1.2. Estructuras de compuestos organofosforados (pesticidas).

La degradación de estos pesticidas se lleva a cabo mediante su hidrólisis, sin embargo la hidrólisis alcalina es muy lenta, por ejemplo para el paratión la constante de segundo orden alcalina es de  $0.00075 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  y para el paraoxón es de  $0.0085 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ , por lo tanto sería necesario emplear tiempos de reacción muy largos o concentraciones de hidróxido muy grandes lo cual resulta impráctico, lo más recomendable es diseñar catalizadores adecuados para hacer una hidrólisis catalítica en agua y a temperatura ambiente.

En el transcurso de los últimos años en nuestro grupo de trabajo se han desarrollado nuevos catalizadores para la ruptura de ésteres carboxílicos y fosfatos con base en complejos metálicos de oximas [Gómez-Tagle 2013, Lugo-González 2017] y se ha encontrado que se pueden lograr efectos catalíticos muy relevantes y cercanos a los de las enzimas naturales. Recientemente encontramos que con un ligante tetradentado derivado de la etilendiamina que tiene dos grupos oxima,  $\text{H}_2\text{Ox}$ , y al coordinarlo con varios cationes metálicos, es posible lograr efectos catalíticos importantes en la hidrólisis del éster 4-nitrofenil acetato y los triésteres fosfato que se emplean como pesticidas (paraoxón y paratión). A diferencia de los complejos hasta ahora publicados, este sistema no tiene un grupo heterocíclico aromático en su estructura (como piridina), tiene la ventaja de formar complejos muy estables con un mayor número de cationes metálicos y en un amplio intervalo de pH, y varios de estos complejos forman especies cinéticamente activas [Alpizar 2017]. Al concluir que no es necesaria la presencia de un anillo de piridina en la estructura de la “metaloenzima artificial” para el rompimiento de ésteres, se propone introducir una variante del grupo oxima, una amidoxima, que es un nucleófilo más básico y más fuerte, que puede dar mayores efectos catalíticos y puede permitir comparar y analizar las diferencias en reactividad de los grupos amino y amido en oximas de estructura equivalente, y por lo tanto dar información respecto a la relación entre la estructura del ligante y la reactividad de los complejos, lo cual hasta ahora no es claro.

Por otro lado, el principal inconveniente que se ha encontrado para la utilización práctica de este tipo de “metaloenzimas artificiales” en la ruptura de ésteres fosfato de interés biológico y ambiental es que este tipo de sustratos tiene baja solubilidad en agua. Así, lograr su ruptura en medios acuosos sería ideal en términos de costo y sustentabilidad, por lo que la solubilidad en agua puede mejorarse significativamente al incorporar tanto los sustratos como los complejos que catalizan su hidrólisis en un ambiente supramolecular como son los dendrímeros.

Los dendrímeros son macromoléculas sintéticas con estructuras globulares arborescentes bien definidas de tamaño nanoscópico con varias cavidades en donde pueden albergar diferentes especies químicas y un arreglo repetitivo de ramas con determinados grupos funcionales en la periferia. Por sus características se han empleado como modelos de enzimas y para catálisis a nanoescala [Hetch 2001, Astruc 2010]. Los dendrímeros de tipo PAMAM (Figura 1.3) con grupos

amino terminales pueden considerarse como micelas monomoleculares, que por efecto hidrofóbico permiten la incorporación no-covalente de sustratos poco solubles en agua. Una ventaja de emplear dendrímeros y no tensoactivos, los cuales ya se han empleado en la hidrólisis catalítica de ésteres fosfato, [Popov 2008] es que su estructura en disolución y, por lo tanto, la incorporación de otras especies no depende de la concentración que se emplee. Además, los grupos amino terminales en dendrímeros tipo PAMAM pueden ser modificados mediante su condensación con derivados carbonílicos que contengan el grupo funcional oxima.

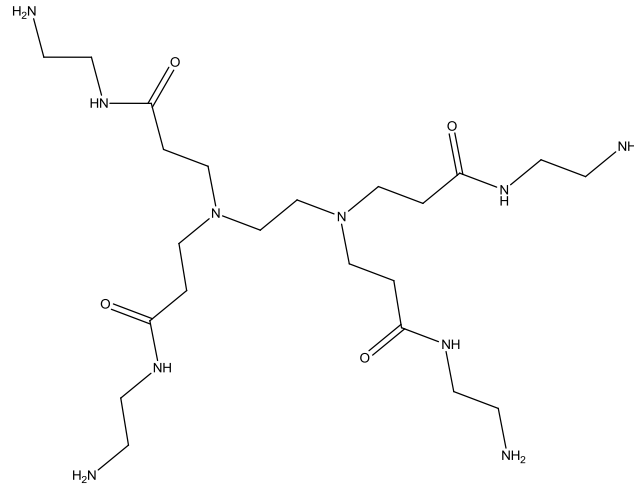


Figura 1.3. Dendrímero PAMAM generación 0.

## 2. Antecedentes

El grupo oxima, como ligante, tiene posibilidades de coordinación a través de los átomos de nitrógeno y oxígeno (Figura 2.1). En la gran mayoría de los compuestos de coordinación estudiados con oximas la coordinación con cationes metálicos ocurre a través del átomo de nitrógeno [Chakravorty 1974].

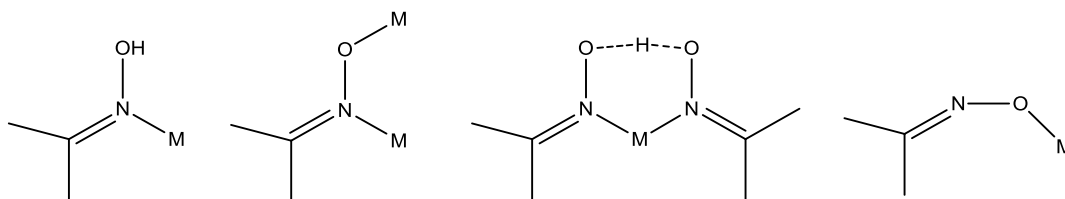


Figura 2.1. Diferentes modos de coordinación de las oximas.

La estructura que poseen las oximas, al tener un átomo donador de electrones adyacente al átomo nucleofílico principal, o en posición alfa, conlleva a que sean nombrados como  $\alpha$ -nucleófilos. Este tipo de nucleófilos han sido estudiados anteriormente y han mostrado reactividad como catalizadores para el rompimiento de ésteres [Gómez-Tagle 2013, Edwards 1962, Singh 2015, Tiwari 2009].

Dentro de este tipo de nucleófilos se encuentran también las amidoximas, cuya estructura es similar a la de las oximas pero con un grupo amino en vez de un grupo metilo o alquilo (Figura 2.2). Sin embargo, su comportamiento cinético en reacciones con ésteres fosfato y carboxílicos difieren sustancialmente del comportamiento cinético de las oximas. Mientras el aceptor del grupo acilo en el caso de las oximas es el anión oximato, en las amidoximas actúan como nucleófilos tanto las formas neutras como las aniónicas, [Simanenko 2001] y se ha observado que presentan reactividad incluso en valores de pH ácidos [Aubort 1969]. A manera de ilustración, en la figura 2.3 se muestra la correlación del logaritmo de las constantes de segundo orden de la hidrólisis de 4-nitrofenil acetato utilizando amidoximas como nucleófilos en función del pH, en la cual se observa entre pH 6-9 una región plana en la que la especie predominante es la amidoxima neutra con constantes de segundo orden entre 5 y 50  $M^{-1}s^{-1}$ .

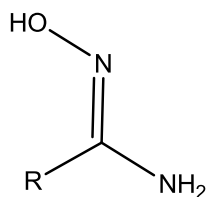


Figura 2.2. Estructura de las amidoximas

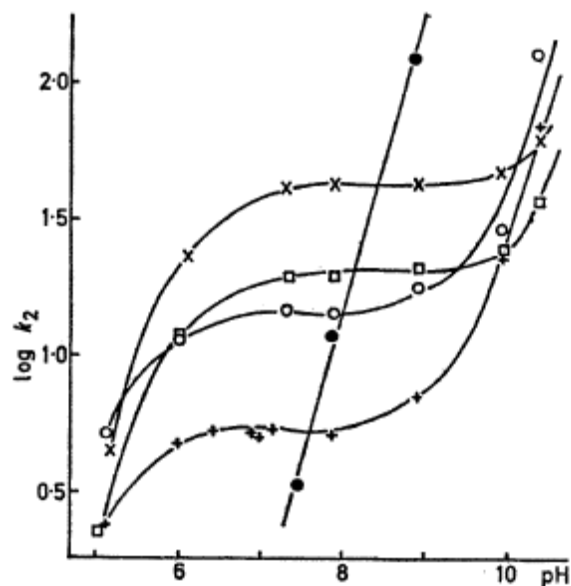


Figura 2.3. Perfil de la dependencia del logaritmo de la constante de segundo orden en función del pH, para las reacciones de 4-nitrofenil acetato en agua a 25°C con (+) benzamidoxima; (x) acetamidoxima; (o) formamidoxima; (□) N N-dietilbenzamidoxima; y (●) benzaldoxima [Simanenko 2001]

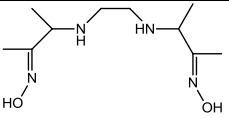
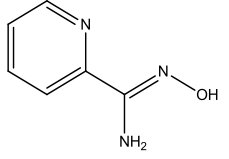
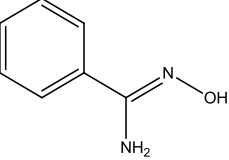
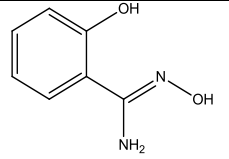
La mayoría de los estudios reportados de reactividad esterolítica emplean como modelo el éster 4-nitrofenil acetato debido a que la base conjugada del producto de la ruptura, 4-nitrofenol, presenta una absorción característica en 400 nm por lo que se puede medir fácilmente con espectrofotometría UV-vis, y además es un buen grupo saliente con un valor de  $pK_a$  reportado de 7.0 [Perrin 1981].

Al analizar la reactividad de aniones oximato a través de un gráfico de Brønsted que permite correlacionar la basicidad y la reactividad para un nucleófilo, diversos investigadores han observado un comportamiento de “nivelación” para oximas muy básicas, es decir, ya no se aprecia un aumento en la reactividad de aniones oximato a valores de  $pK_a$  mayores a 8 [Terrier 2003, Courderc 2001, Yatsimirsky 1992]. Esto ha sido explicado por un efecto de desincronización entre la desolvatación del nucleófilo previa al ataque nucleofílico, lo cual quiere decir que cuando el nucleófilo es muy básico es muy difícil desolvatarlo para que pueda funcionar como nucleófilo y por ello, aunque se busque hacer reaccionar nucleófilos muy básicos en agua, no se observa que éstos tengan mayor reactividad en un amplio intervalo de valores de  $pK_a$ , aproximadamente entre 8.5 y 12.5. Para ejemplificar esto, en la tabla 2.1, se presentan algunos de los aniones oximato que han sido estudiados en los últimos años empleando 4-NFA como sustrato y en la figura 2.4 se representa esta nivelación en forma gráfica.

Tabla 2.1. Aniones oximato utilizados para la gráfica de Brønsted (figura 2.4).

Número	Estructura	Compuesto	$pK_a$	$k_{Nu}$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	Referencia
1		[3-(Hidroximino)-2-oxopropil] dimetilsulfonio	6.54	2.4	Degorre 1998
2		HI-6	7.13	11.8	Terrier 1991
3		2-PAM	7.75	25	Terrier 1991
4		4-PAM	8.27	61	Terrier 1991
5		6-[(Metilamino)metil]-2- [(hidroximino)metil]-piridina	9.9	71	Mancin 2000
6		2-[(hidroximino)metil]- piridina	10	45	Mancin 2000
7		6-[(Metilamino)metil]-2-[1- hidroximino)etil]-piridina	11.1	45	Mancin 2000
8		H <sub>2</sub> dapd	11.3	130	Yatsimirsky 1998
9		Acetofenona oxima	11.45	42.3	Yatsimirsky 1992
10		HOxAPy	11.74	60	Gómez- Tagle 2013
11		Acetoxima	12.4	61.7	Jencks 1960

Continuación Tabla 2.1. Aniones oximato utilizados para la gráfica de Brønsted (Figura 2.4).

Número	Estructura	Compuesto	$pK_a$	$k_{Nu}$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	Referencia
12		H <sub>2</sub> Oxen HOxen <sup>-</sup>	10.84 12.13	22 37.8	Alpizar 2017
13		2-Piridinamidoxima	12.18	57	López 2017
14		Benzamidoxima	12.44	10.1	López 2017
15		Salicilamidoxima	8.90	34.2	López 2017

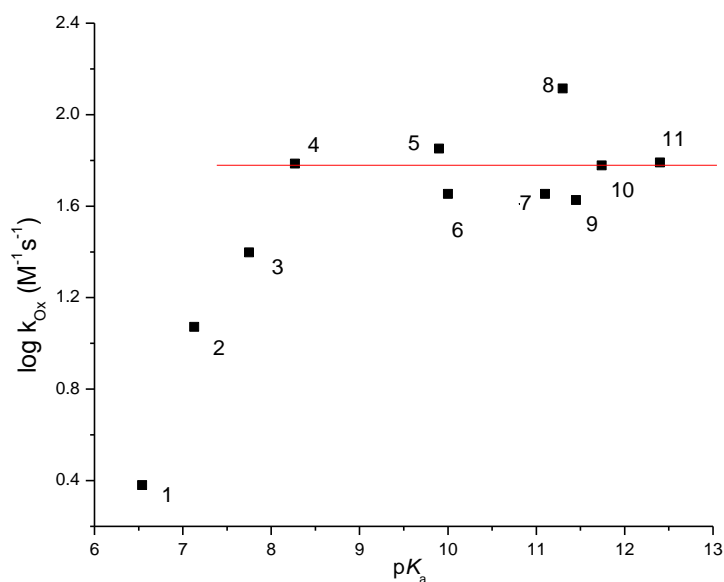


Figura 2.4. Gráfico de Brønsted para el comportamiento de  $\alpha$ -nucleófilos enlistados en la tabla 2.1.

El mecanismo de hidrólisis para el 4-NFA en presencia de complejos metálicos de oximas (figura 2.5) incluye: primero, la desprotonación del grupo oxima para dar lugar al ion oximato, segundo, el ataque nucleofílico del oximato al grupo carbonilo del éster y finalmente este intermediario acilado

es hidrolizado posteriormente con agua liberando un equivalente de acetato a la disolución (Breslow 1965, Grekov 1978, Yatsimirsky 1998, Mancin 2000).

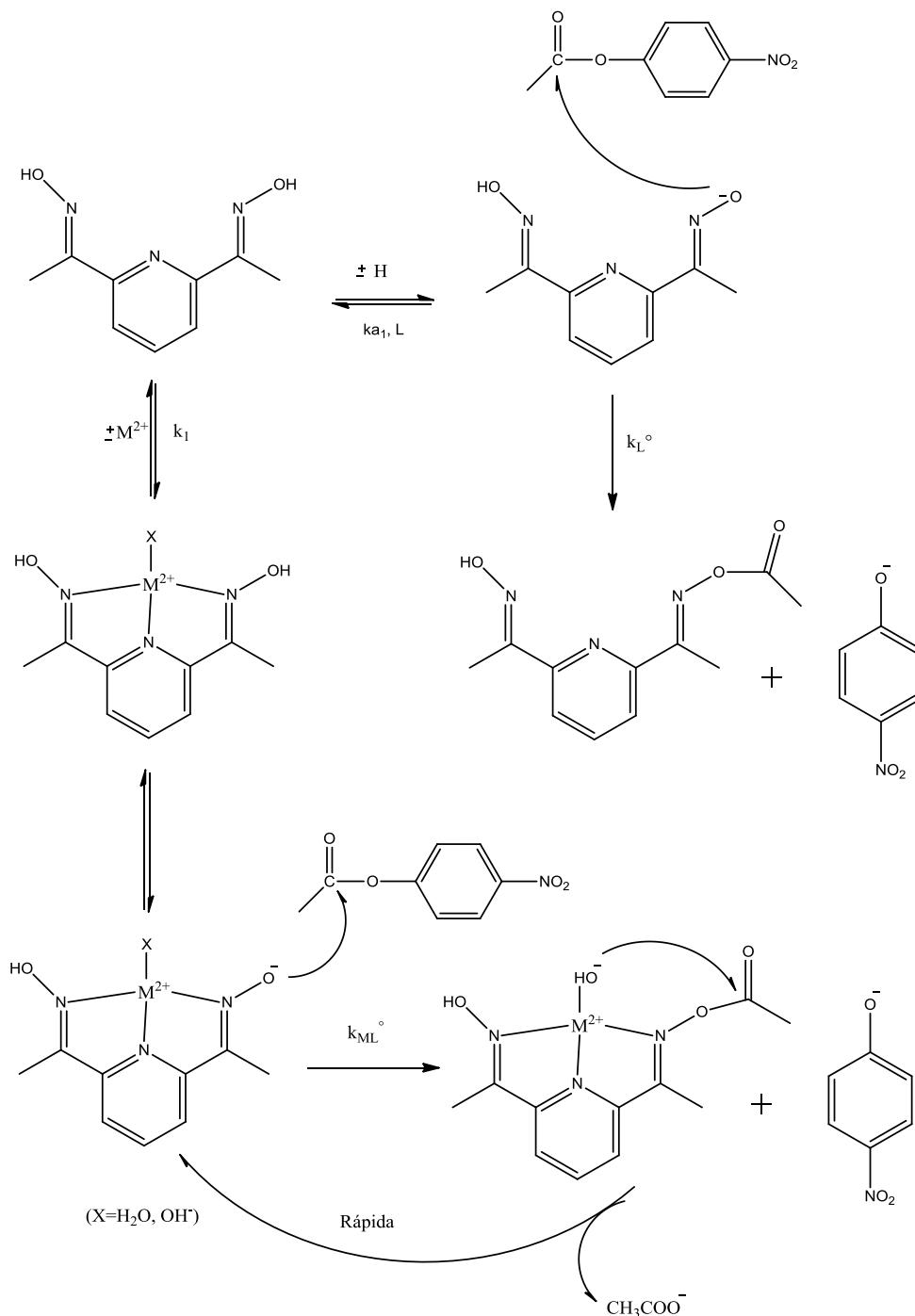


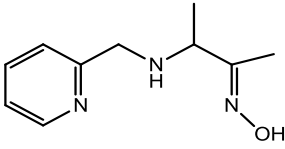
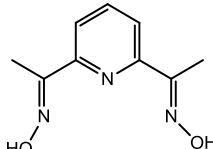
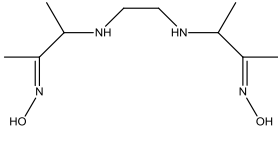
Figura 2.5. Mecanismo de reacción de la esterólisis del sustrato 4-nitrofenil acetato por la oxima H<sub>2</sub>dapd (Yatsimirsky 1998).

En la tabla 2.2, se presentan los valores de pK<sub>a</sub> y las constantes de oximólisis obtenidas para piridín oximas estudiadas por Gómez-Tagle y colaboradores (HOxAPy), Yatsimirsky y colaboradores (H<sub>2</sub>dapd), y H<sub>2</sub>Oxen [Alpizar 2017]. De estos valores podemos observar que las



constantes de oximólisis obtenidas con complejos metálicos de piridín oximas son mucho más grandes que la constante de segundo orden del ion  $\text{OH}^-$ , la cual tiene una constante nucleofílica de  $14.8 \text{ M}^1\text{s}^{-1}$  (Breslow 1965) o  $14.5 \text{ M}^1\text{s}^{-1}$  (medida por nosotros) hacia 4-NFA, con valores para las constantes de velocidad de segundo orden entre 50 y  $100 \text{ M}^1\text{s}^{-1}$ . Al coordinar estas oximas con cationes metálicos, se esperaría que el efecto de acidificación sobre el grupo oxima por coordinación permitiera menores valores de  $\text{p}K_a$  pero constantes de velocidad del mismo orden de magnitud. Sin embargo, como se muestra en la tabla 2.2, hay algunos casos en los que las constantes de velocidad de los complejos pueden ser hasta 200 veces mayores que las de los aniones oximato y su reactividad es equiparable con la reactividad de algunas enzimas presentes en la naturaleza [Gómez-Tagle 2017], como en el caso de HOxAPy con Cd(II).

Tabla 2.2. Valores de  $\text{p}K_a$  y constantes de oximólisis,  $k_{\text{Ox}}$   $\text{M}^1\text{s}^{-1}$ , hacia 4-NFA, en medio acuoso a  $25^\circ\text{C}$  de aminoximas y sus complejos metálicos.

	 HOxAPy (Gómez-Tagle 2013)	 H <sub>2</sub> dapd (Yatsimirsky 1998)	 H <sub>2</sub> Oxen (Alpizar 2017)
$\text{p}K_a \text{H}_2\text{L}$		11.3	12.13
$\text{p}K_a \text{HL}$	11.74	11.5	10.84
$\text{p}K_a \text{ZnH}_2\text{L}$		6.0	6.4
$\text{p}K_a \text{ZnHL}$	8.17		8.7
$\text{p}K_a \text{CdH}_2\text{L}$		7.1	9.27
$\text{p}K_a \text{CuH}_2\text{L}$			4.15
$\text{p}K_a \text{CuHL}$			5.93
$k_{\text{Ox}, \text{HL}} (\text{M}^1\text{s}^{-1})$			22
$k_{\text{Ox}, \text{L}} (\text{M}^1\text{s}^{-1})$	60	130	37.8
$k_{\text{Ox}, \text{ZnHL}} (\text{M}^1\text{s}^{-1})$			1250
$k_{\text{Ox}, \text{ZnL}} (\text{M}^1\text{s}^{-1})$		53.5	2030
$k_{\text{Ox}, \text{ZnL(OH)}} (\text{M}^1\text{s}^{-1})$	8700		2340
$k_{\text{Ox}, \text{CdHL}} (\text{M}^1\text{s}^{-1})$			680
$k_{\text{Ox}, \text{CdL}} (\text{M}^1\text{s}^{-1})$	10,900	518	750
$k_{\text{Ox}, \text{CdL(OH)}} (\text{M}^1\text{s}^{-1})$			700
$k_{\text{Ox}, \text{CuL(OH)}} (\text{M}^1\text{s}^{-1})$			325

Existen pocos reportes del estudio cristalográfico de compuestos de coordinación que contienen en su estructura amidoximas [Cullen 1970, Solans 1980]. En estos estudios se muestra que forman complejos pentacoordinados con  $\text{Cu}^{2+}$  y hexacoordinados con  $\text{Ni}^{2+}$  en el estado sólido, figura 2.6, sin embargo no hay información de la reactividad de estos compuestos.

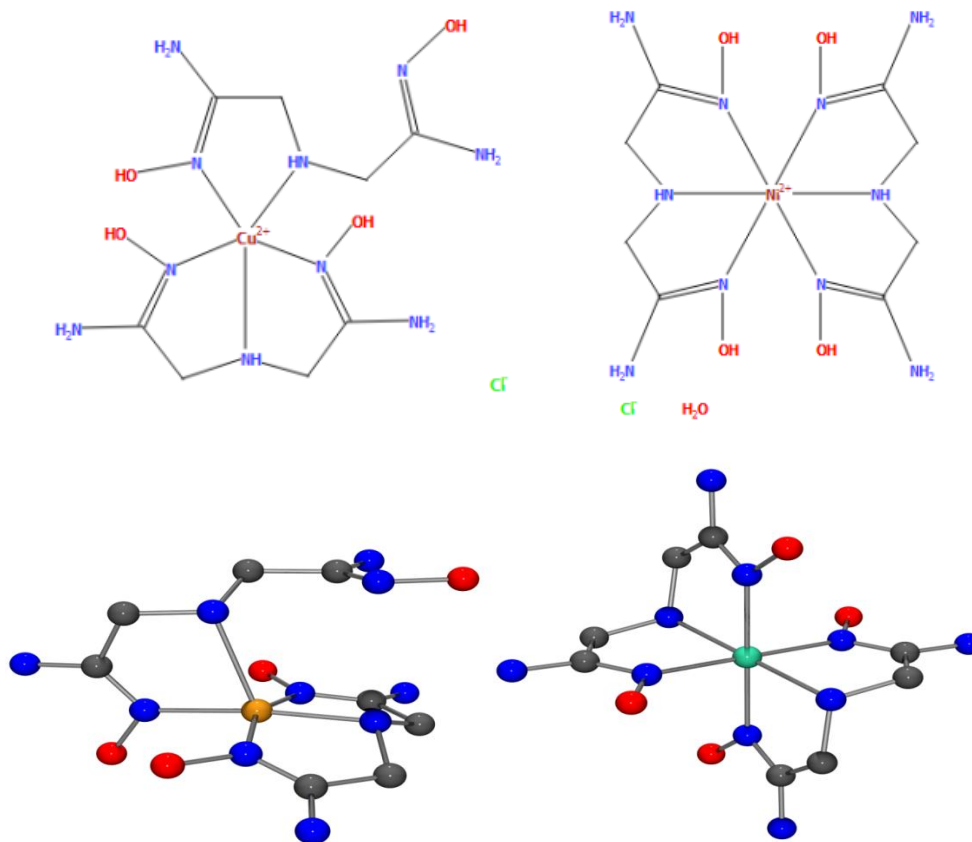


Figura 2.5. Estructuras cristalinas de los compuestos de coordinación de una amidoxima con  $\text{Ni}^{2+}$  y  $\text{Cu}^{2+}$  [Cullen 1970, Solans 1980].

Además, en los pocos estudios de reactividad de oximas coordinadas, el ligante generalmente contiene al donador piridina, pero anteriormente demostramos empleando una aminoxima no aromática que éstas también son catalizadores eficientes en la hidrólisis de 4-NFA. Los estudios de reactividad de amidoximas son escasos, aunque son especies más básicas y pudieran ser mejores nucleófilos y a la fecha no hay reportes de reactividad de amidoximas coordinadas excepto los realizados en nuestro grupo [López Pacheco 2017] en los que se usaron ligantes bidentados, por lo que resulta interesante estudiar ligantes polidentados que tengan el grupo funcional amidoxima esperando se incremente la estabilidad de sus complejos metálicos y se puedan medir efectos en la hidrólisis de ésteres carboxílicos a valores de pH básicos sin la precipitación de los hidróxidos metálicos.

Así, en este trabajo se estudiaron tres sistemas ( $H_2OxIm$ ,  $H_2OxDien$ ,  $H_4OxP$ ) basados en ligantes con oximas como grupos funcionales. En los sistemas  $H_2OxIm$  y  $H_2OxDien$  se derivan de iminodiacetonitrilo y dietilentriamina con el objetivo de tener oximas como parte de ligantes pentadentados que sean sumamente estables al coordinarlos con cationes metálicos y solubles en agua. En el sistema  $H_4OxP$  se modificó el dendrímero PAMAM generación cero con 2,3-butanodiona monoxima, para estudiar si este tipo de ligantes, al tener en la estructura de un dendrímero y oximas como grupos nucleofílicos, interaccionan favorablemente con sustratos poco solubles y presentan mayor reactividad.

### 3. Hipótesis

Se espera que los ligantes amino y amidoxima propuestos sea comporten como  $\alpha$ -nucleófilos en la hidrólisis de 4-nitrofenil acetato en disolución acuosa. Se espera que en presencia de cationes metálicos divalentes formen iones complejos en disolución coordinándose a los grupos amina y a los grupos oxima por el átomo de N, acidifiquen al grupo oxima por coordinación y éste no pierda su reactividad nucleofílica. Se espera que las especies en disolución que son activas cinéticamente tengan una estructura del tipo de las mostradas en la figura 3.1.

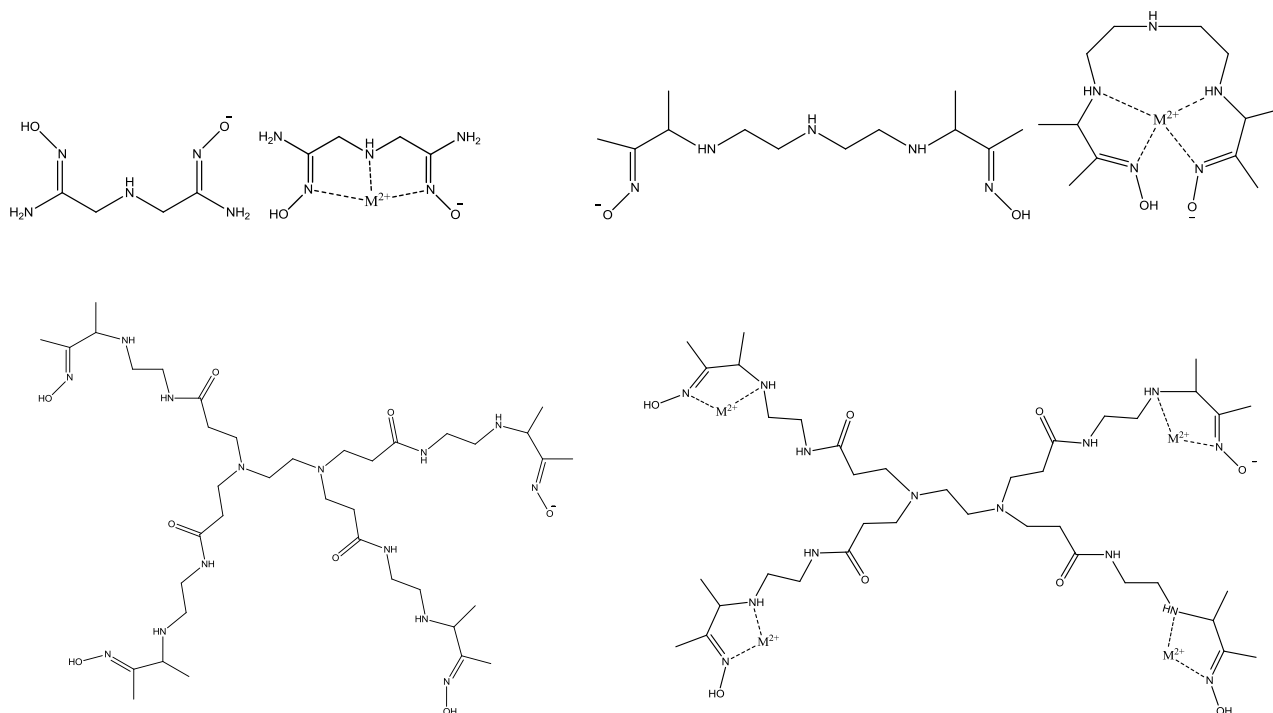


Figura 3.1 Estructuras propuestas de las especies que se esperan sean activas cinéticamente en la hidrólisis de 4-nitrofenil acetato en presencia y ausencia de cationes metálicos.

## 4. Objetivos

### 4.1. Objetivo principal

El objetivo central de este trabajo es lograr complejos metal-oximato con cationes metálicos divalentes ( $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  y  $\text{Cd}^{2+}$ ) que sean estables en disolución acuosa en un intervalo amplio de pH, 5-12, y posean gran reactividad esterolítica empleando ligantes polidentados derivados de poliaminas alifáticas que contengan uno o varios grupos oxima como nucleófilos.

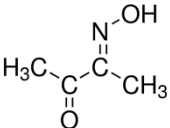
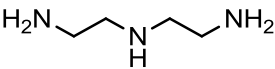
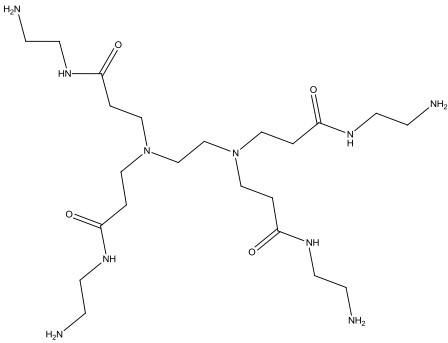
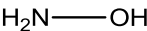
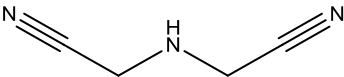
### 4.2. Objetivos particulares

- Sintetizar los ligantes a partir de la condensación de 2,3-butanodiona monoxima con dietilentriamina, iminodiacetonitrilo o hidroxilamina, así como la modificación de un dendrímero PAMAM generación 0 y caracterizarlos mediante técnicas espectroscópicas convencionales (RMN- $^1\text{H}$ , RMN- $^{13}\text{C}$ , IR, espectrometría de masas y análisis elemental).
- Realizar un estudio cinético de la reactividad esterolítica de los ligantes libres en función del pH frente al sustrato 4-nitrofenil acetato.
- Determinar las constantes de velocidad de segundo orden para cada forma protonada de los ligantes. Para ello se hará una variación de la concentración de cada ligante a varios valores fijos de pH fijo y, si la reacción es de primer orden respecto al ligante, de la pendiente de la recta se calculan las constantes de velocidad de segundo orden aparentes. El análisis de estas constantes aparentes en función del pH nos permite calcular las constantes de oximólisis.
- Estudiar la reactividad esterolítica de los ligantes en presencia de diferentes cationes metálicos divalentes:  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  y  $\text{Ni}^{2+}$ , a valores fijos de pH. Para los cationes metálicos con mayor reactividad esterolítica se harán estudios de la dependencia de la rapidez en función del pH lo cual permitirá indagar sobre las especies que participan en la ruptura catalítica de 4-NFA.
- Determinar los valores de  $\text{p}K_a$  tanto de los ligantes libres como sus complejos con los cationes metálicos que hayan presentado una mayor reactividad frente al sustrato 4-NFA, mediante titulaciones potenciométricas
- Analizar la reactividad observada en función de las especies presentes en disolución y separar las contribuciones individuales.
- Comparar las constantes de reactividad individuales con diferentes cationes metálicos y con la de otros complejos metal-oximato en disolución acuosa.

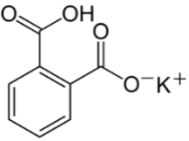
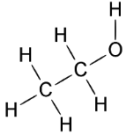
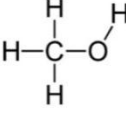
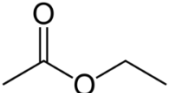
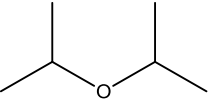
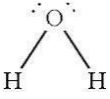
## 5. Metodología

### 5.1 Reactivos y disolventes

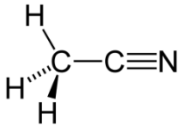
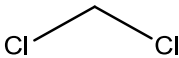
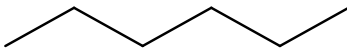
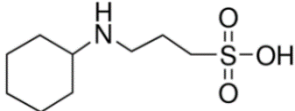
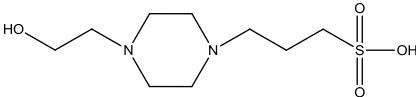
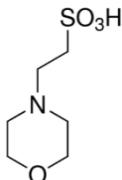
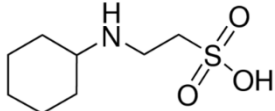
Tabla 5.1. Estructuras y algunas propiedades de los reactivos utilizados.

Nombre	Estructura	Propiedades
2,3-Butanodiona monoxima		Masa molar: 101.1 g/mol Sigma Aldrich ≥ 98%
Dietilentriamina		Masa molar: 103.17 g/mol Sigma Aldrich δ : 0.955 g/mL ≥ 98 %
Dendrímero PAMAM generación 0.0		Masa molar: 516.69 g/mol Sigma Aldrich 20% wt. en metanol δ : 0.854 g/mL
Hidroxilamina		Masa molar: 33.03 g/mol Sigma Aldrich δ : 1.078 g/mL 50 wt. en H <sub>2</sub> O
Iminodiacetonitrilo		Masa molar: 95.11 g/mol Alfa Aesar 95 %

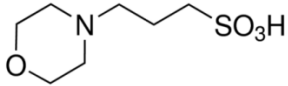
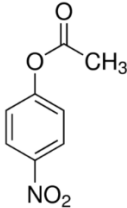
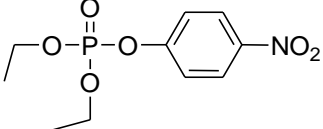
**Continuación Tabla 5.1.**

Nombre	Estructura	Propiedades
Ácido clorhídrico	$\text{H}-\text{Cl}$	Masa molar: 36.46 g/mol J.T.Baker
Hidróxido de sodio	$\text{NaOH}$	Masa molar: 40.00 g/mol J.T.Meyer
Cloruro de sodio	$\text{NaCl}$	Masa molar: 58.44 g/mol J.T.Baker
Biftalato de potasio		Masa molar 204.22 g/mol Sigma Aldrich 99.5%
<b>Disolventes</b>		
Etanol		Masa molar: 46.07 g/mol J.T.Baker 96%
Metanol		Masa molar: 32.04 g/mol J.T.Baker
Acetato de etilo		Masa molar: 88.11 g/mol J.T.Baker
Diisopropil éter		Masa molar: 102.17 g/mol Sigma Aldrich
Agua		Masa molar: 18 g/mol

**Continuación Tabla 5.1.**

Nombre	Estructura	Propiedades
Acetonitrilo		Masa molar: 41.05 g/mol J.T.Baker
Diclorometano		Masa molar: 84.93 g/mol J.T.Baker
Hexano		Masa molar: 84.18 g/mol J.T.Baker
<b>Amortiguadores</b>		
Ácido 3-(ciclohexilamino)-1-propanosulfónico, CAPS		Masa molar: 221.32 g/mol $pK_a$ (25°C): 10.4 Intervalo de pH: 9.7 – 11.1 Sigma Aldrich ≥ 98%
Ácido 3-(4-(2-hidroxietil)piperazina-1-il) propano sulfónico		Masa molar: 252.33 g/mol $pK_a$ (25°C): Intervalo de pH: Sigma Aldrich ≥ 95.5 %
Ácido 2-(N-morfolino) etanosulfónico MES		Masa molar: 195.24 g/mol $pK_a$ (25°C): 6.1 Intervalo de pH: 5.5 - 6.7 Sigma Aldrich ≥ 99%
Ácido 2-(ciclohexilamino) etanosulfónico CHES		Masa molar: 207.29 g/mol $pK_a$ (25°C): 9.3 Intervalo de pH: 8.6 -10.0 Sigma Aldrich ≥ 99.0%

**Continuación Tabla 5.1.**

Nombre	Estructura	Propiedades
<p>Ácido 3-(N-morfolino) propanosulfónico MOPS</p>		<p>Masa molar: 209.26 g/mol <math>pK_a</math> (25°C): 7.2 Intervalo de pH: 6.5 -7.9 Sigma Aldrich <math>\geq</math> 99.5%</p>
<b>Cationes metálicos</b>		
<p>Perclorato de zinc (II) hexahidratado</p>	<p><math>Zn(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O</math></p>	<p>Masa molar: 372.38 g/mol Sigma Aldrich</p>
<p>Perclorato de níquel (II) hexahidratado</p>	<p><math>Ni(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O</math></p>	<p>Masa molar: 365.70 g/mol Alfa Aesar</p>
<p>Nitrato de cadmio (II)</p>	<p><math>Cd(NO_3)_2 \cdot 6H_2O</math></p>	<p>Masa molar: 344.42 g/mol Alfa Aesar</p>
<p>Perclorato de manganeso (II) hexahidratado</p>	<p><math>Mn(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O</math></p>	<p>Masa molar: 361.93 g/mol Alfa Aesar</p>
<p>Perclorato de cobalto (II) hexahidratado</p>	<p><math>Co(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O</math></p>	<p>Masa molar: 366.74 g/mol Alfa Aesar</p>
<b>Sustratos</b>		
<p>4-nitrofenil acetato</p>		<p>Masa molar: 181.15 g/mol Sigma Aldrich <math>\geq</math>99.0%</p>
<p>Dietil 4-nitrofenil fosfato (Paraoxón)</p>		<p>Masa molar: 275.20 g/mol Sigma Aldrich Grado analítico</p>



## 5.2. Instrumentación

La caracterización (RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C, IR, espectrometría de masas y análisis elemental) de los ligantes se llevó a cabo en la Unidad de Apoyo de Servicio a la Investigación y la Industria (USAI) de la Facultad de Química.

Se utilizó para el estudio de la reactividad un espectrofotómetro UV-vis Hewlett Packard 8453 (ventana espectral de 190-1100 nm, resolución de 1 nm, precisión de longitud de onda  $< 1 \pm 0.5$ ), el cual cuenta con un transportador multicelda con temperatura regulada gracias a un recirculador marca Fischer Scientifics Isotemp 1016S ( $\pm 0.1^\circ\text{C}$ ), se utilizaron celdas de polimetilmetacrilato con una longitud de paso óptico de 1 cm y con una capacidad de 3 mL.

Se utilizaron micropipetas Eppendorf Research de 1000, 100 y 10  $\mu\text{L}$  para las adiciones en cada disolución. Para la medición de pH se utilizó un electrodo de vidrio Orion 8103BN con un potenciómetro Orion modelo 710A con una precisión de  $\pm 0.005$  unidades de pH, antes de cada medición se calibró con amortiguadores estándar de referencia de pH 4.00, 7.00 y 10.00 (Aldrich, precisión de  $\pm 0.01$  a  $25^\circ\text{C}$ ). Para las titulaciones potenciométricas se utilizó una celda de vidrio regulada a  $25^\circ\text{C}$ , con capacidad de 10 mL y 25 mL. En el proceso de síntesis de los ligantes se utilizó un rotavapor con control digital y bomba de vacío Buchi.

## 5.3. Síntesis del ligante H<sub>2</sub>OxIm (L1)

Se realizó una condensación entre hidroxilamina e iminodiacetonitrilo [Barot 1972] con exceso de hidroxilamina. En la condensación se emplearon 0.82 g de iminodiacetonitrilo (8.63 mmol) y 2.12 mL de hidroxilamina en disolución (34.5 mmol), en una mezcla de metanol/agua 1:1, se dejó agitando por 48 horas a temperatura ambiente, posteriormente el disolvente se eliminó en el rotavapor y al líquido resultante se agregó etanol absoluto donde precipitó un sólido blanco el cual se filtró. En la figura 5.3.1 se muestra el esquema de reacción. La caracterización se realizó con técnicas espectroscópicas convencionales.

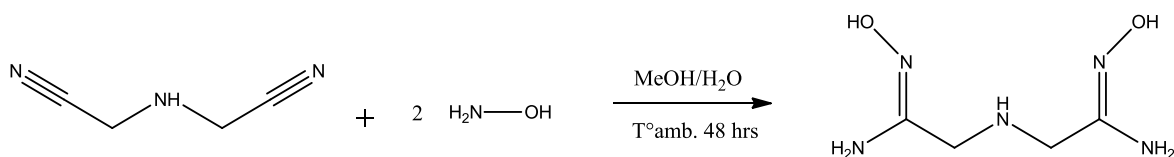


Figura 5.3.1. Esquema de reacción para la obtención de H<sub>2</sub>OxIm.

Se obtuvo un sólido blanco con un rendimiento del 78.2 %. En la figura 5.3.2 se muestran los espectros de RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C de la amidoxima H<sub>2</sub>OxIm obtenidos en D<sub>2</sub>O. El singulete en 3.25 ppm corresponde a los protones metilénicos 3 y 5 de la figura 5.3.2 que se desplazan a campo alto comparados con los de iminodiacetonitrilo que están en 3.7 ppm, mientras que los otros protones se intercambian en agua. Al ser una molécula simétrica sólo presenta dos señales en <sup>13</sup>C que corresponden al carbono del grupo metileno en 46.54 ppm y al carbono del grupo oxima en 154.61 ppm, que son los carbonos 5 y 6 respectivamente.

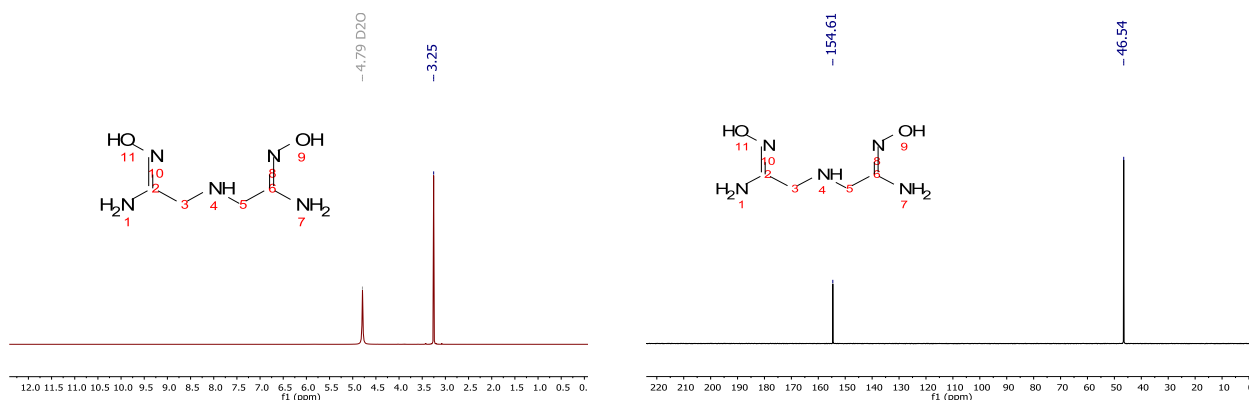


Figura 5.3.2. Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C de la amidoxima H<sub>2</sub>OxIm, en D<sub>2</sub>O.

En el espectro de IR, la señal de 2100 cm<sup>-1</sup> correspondiente a los grupos nitrilo desaparece y en su lugar aparece una señal en 1680 cm<sup>-1</sup> correspondiente al alargamiento del enlace C=N de la amidoxima H<sub>2</sub>OxIm (ver Anexo I), y si bien las señales para las oximas alifáticas usualmente se encuentran en 1685-1650 cm<sup>-1</sup> [Pretsch 2009] en este caso se encuentra desplazada debido a la presencia del grupo amina. En la tabla 5.3.1 se enlistan los principales grupos funcionales presentes en H<sub>2</sub>OxIm y sus respectivas frecuencias de vibración (en número de onda,  $\bar{\nu}$ , cm<sup>-1</sup>).

Tabla 5.3.1. Grupos funcionales importantes de la amidoxima H<sub>2</sub>OxIm.

Grupo funcional	$\bar{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) e intensidad	Enlace
Amina secundaria	3226, s	N-H
	1663, vs	N-H def.
Amina primaria	3403, vs y 3316, s	N-H
Oxima	1680, s	-C=N-OH
	2980-2700, m	OH st
	922, m	N-O st

Para este ligante  $H_2OxIm$ ,  $C_4H_8N_5O_2$ , el análisis elemental da porcentajes calculados de C 29.81, H 6.88 y N 43.46% que son muy cercanos a los porcentajes experimentales que fueron C 29.59, H 6.98 y N 42.07% y el espectro de masas obtenido mediante la técnica APCI en donde se obtiene la molécula más un protón (Anexo I) es congruente con una masa molar 161.16 g/mol, EM (APCI<sup>+</sup>) [m/z] 162.0986. De estos resultados podemos decir que efectivamente sintetizamos el ligante  $H_2OxIm$ .

#### 5.4. Síntesis del ligante $H_2OxDien$ (L2)

Se llevó a cabo una condensación entre 2,3-butanodiona monoxima (BDMO) y dietilentriamina [Serbest 2001] para obtener la imina correspondiente, haciendo reaccionar 2.7359 g de BDMO (27.1 mmol) y 1.167 mL de dietilentriamina (10.8 mmol) en 3 mL de etanol, se dejó agitando a temperatura ambiente y después de una hora precipitó un sólido de color blanco, este precipitado se lavó con éter etílico y se filtró. Posteriormente este sólido se redujo utilizando borohidruro de sodio. Para ello se pesaron 0.4986 g de imina (1.85 mmol) y se adicionaron 5 mL de metanol seco, se agregaron 0.1402 g de borohidruro de sodio (3.71 mmol) y la disolución se agitó a temperatura ambiente durante cuatro horas y media, al final de la reacción se adicionó agua y se ajustó el valor de pH para poder extraer la mayor cantidad de ligante neutro. Finalmente, éste se extrae con una mezcla de diclorometano-metanol 20:80, que al evaporarse deja un aceite ligeramente amarillo. En la figura 5.4.1 se muestra el esquema de reacción.

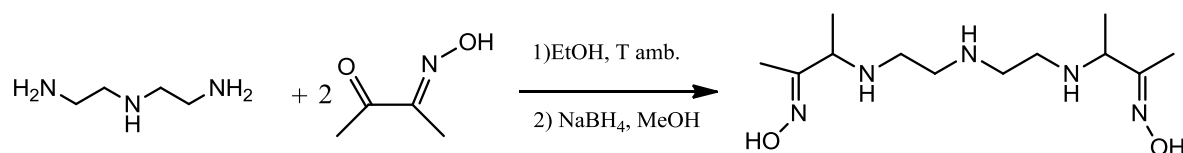


Figura 5.4.1. Esquema de reacción para la obtención de  $H_2OxDien$ .

La síntesis del ligante  $H_2OxDien$  involucró primero la obtención de la imina al condensar dietilentriamina con BDMO, la cual se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 75.14%. Al reducir la imina con borohidruro de sodio, se obtuvo la aminoxima  $H_2OxDien$  como un aceite amarillo pálido con un rendimiento del 94.8%. En la figura 5.4.2 se muestra el espectro de RMN-<sup>1</sup>H de la imina y en la figura 5.4.3 el espectro de RMN-<sup>1</sup>H de  $H_2OxDien$ ; sus desplazamientos químicos se enlistan en la tabla 5.4.1

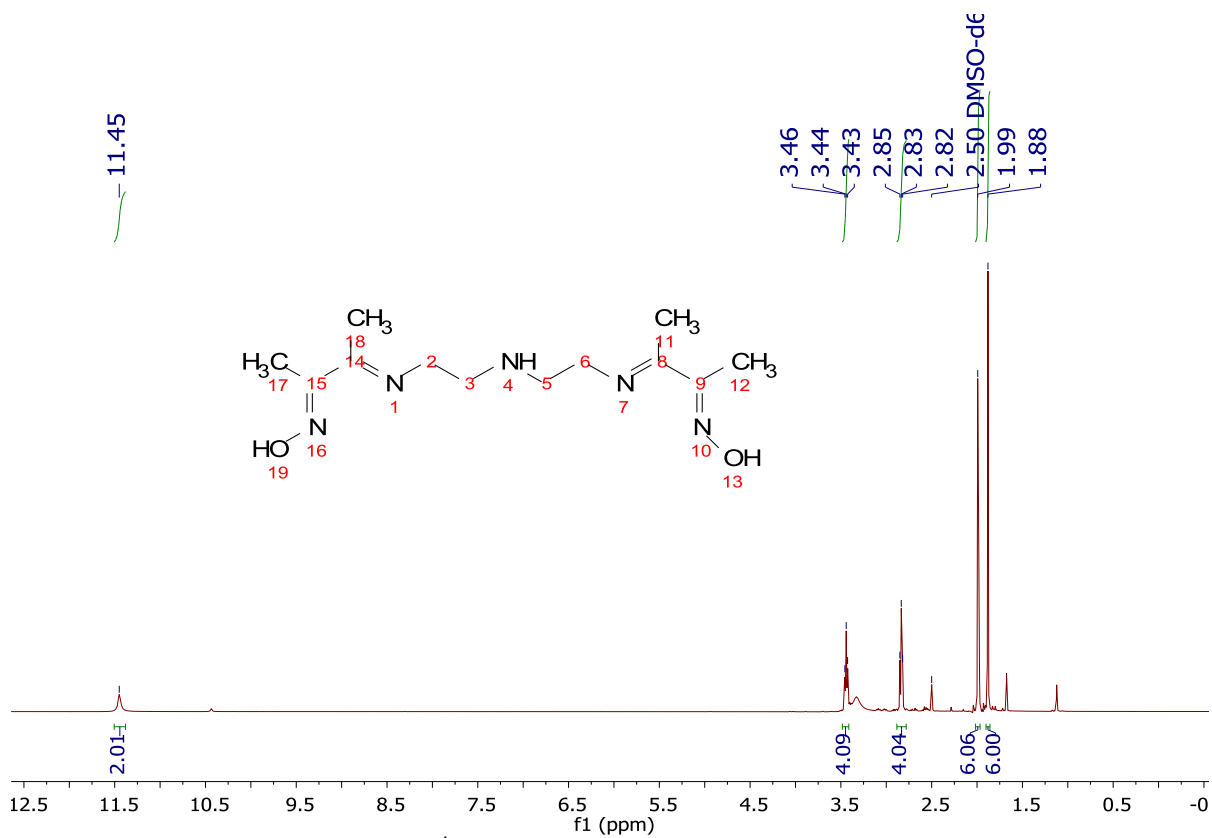


Figura 5.4.2. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de la imina precursora del ligante H<sub>2</sub>OxDien en DMSO-d<sub>6</sub>

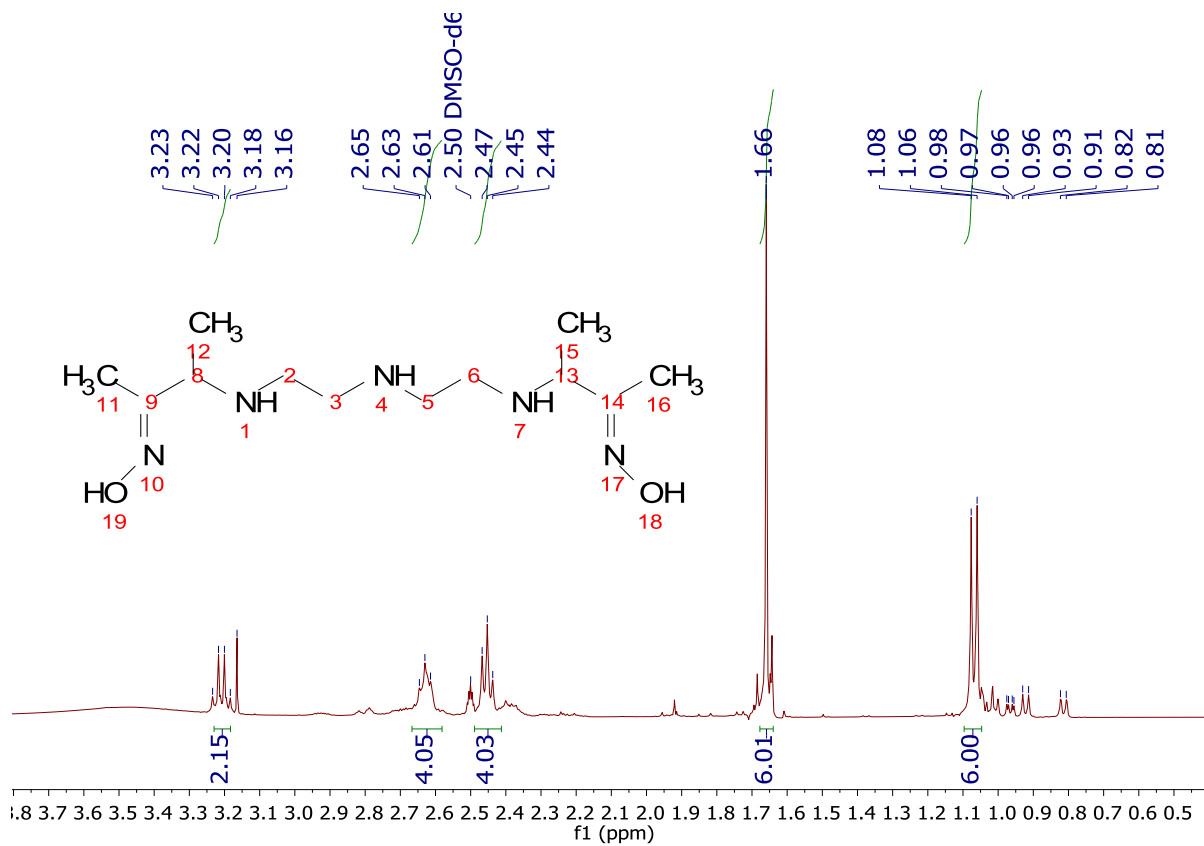


Figura 5.4.3. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del ligante H<sub>2</sub>OxDien en DMSO-d<sub>6</sub>

Tabla 5.4.1. Desplazamientos químicos del ligante H<sub>2</sub>OxDien.

No. de Protón Imina	<sup>1</sup> H δ (ppm) Imina	Multiplicidad	Integración	No. de Protón H <sub>2</sub> OxDien	<sup>1</sup> H δ (ppm) H <sub>2</sub> Dien	Multiplicidad	Integración
11,18	1.88	Singulete	6	12, 15	1.07	Doblete	6
12,17	1.99	Singulete	6	11, 16	1.66	Singulete	6
3,5	2.83	Triplete	4	2, 6	2.45	Triplete	4
2,6	3.44	Triplete	4	3, 5	2.63	Triplete	4
13,19	11.45	Singulete	2	8, 13	3.21	Cuadruplete	2

Al hacer la reducción para obtener H<sub>2</sub>OxDien observamos en el espectro de RMN-<sup>1</sup>H que la señal en 1.88 ppm para la imina desaparece y en su lugar aparece un doblete en 1.07 ppm correspondiente a los protones de los metilos 12 y 15 de la figura 5.3.3 y que los protones 8 y 13 se acoplan a los protones de estos metilos dando un cuadruplete en 3.21 ppm que integra para dos protones. Al analizar los espectros de RMN-<sup>13</sup>C de la imina y H<sub>2</sub>OxDien se observa que la señal en 164.20 ppm correspondiente los grupos imina (carbonos 8 y 13) se desplaza hacia campo alto apareciendo en 56.42 ppm y la señal de 8.74 ppm de los carbonos 12 y 15 se desplaza a 19.11 ppm. El resumen de los desplazamientos químicos de RMN-<sup>13</sup>C para la imina y para el ligante H<sub>2</sub>OxDien se enlistan en la tabla 5.4.2, y en las figuras 5.4.4 y 5.4.5 se muestran los espectros de la imina y del ligante.

Tabla 5.4.2. Desplazamientos químicos del ligante H<sub>2</sub>OxDien en RMN-<sup>13</sup>C.

No. de Protón Imina	<sup>1</sup> H δ (ppm) Imina	Multiplicidad	Integración	No. de Protón H <sub>2</sub> OxDien	<sup>1</sup> H δ (ppm) H <sub>2</sub> Dien	Multiplicidad	Integración
11,18	1.88	Singulete	6	12, 15	1.07	Doblete	6
12,17	1.99	Singulete	6	11, 16	1.66	Singulete	6
3,5	2.83	Triplete	4	2, 6	2.45	Triplete	4
2,6	3.44	Triplete	4	3, 5	2.63	Triplete	4
13,19	11.45	Singulete	2	8, 13	3.21	Cuadruplete	2

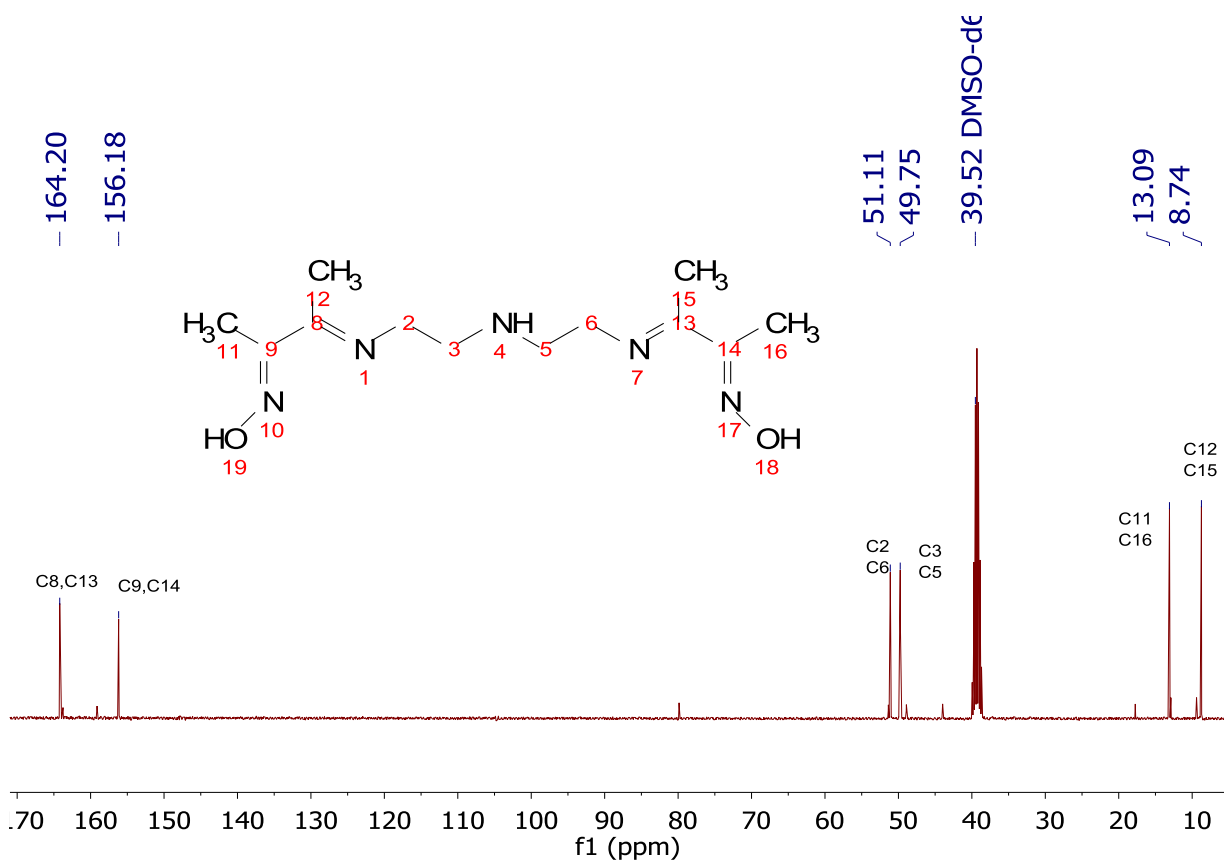


Figura.5.4.4. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de la imina en DMSO-d<sub>6</sub>

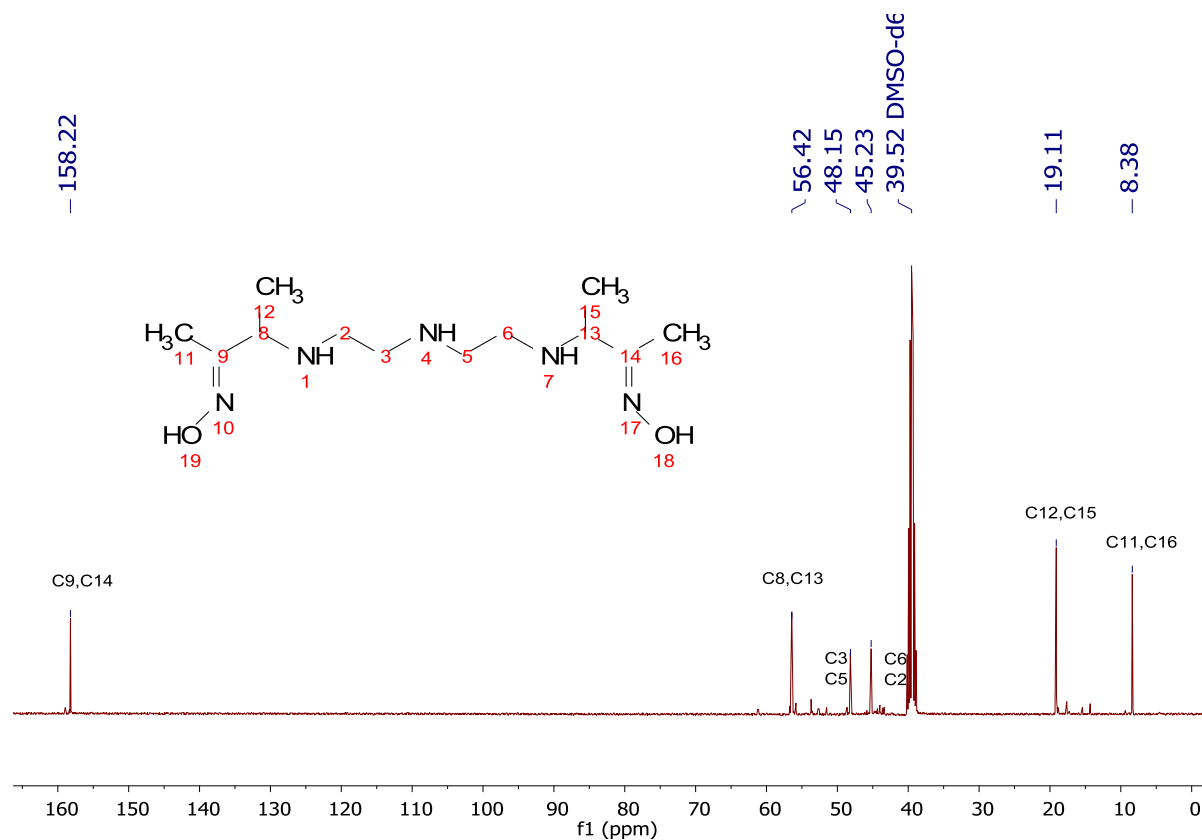


Figura.5.4.5. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de H<sub>2</sub>OxDien en DMSO-d<sub>6</sub>

En los espectros de infrarrojo de la imina precursora y del ligante H<sub>2</sub>OxDien (Anexo I), observamos que la banda de intensidad fuerte de la imina en 1630 cm<sup>-1</sup> ya no se observa después de la reducción y ahora en la región de 1600 cm<sup>-1</sup> se encuentra una banda de intensidad media correspondiente a las oximas alifáticas simétricas presentes en el ligante, y se observan señales de aminas secundarias en la región de 2964-2842 cm<sup>-1</sup>. En la tabla 5.4.3 se enlistan los grupos funcionales presentes en la imina y en H<sub>2</sub>OxDien con sus respectivas frecuencias de vibración (en número de onda,  $\bar{\nu}$ , cm<sup>-1</sup>).

Tabla 5.4.3. Grupos funcionales importantes del ligante H<sub>2</sub>OxDien.

Grupo funcional	Enlace	Señal $\bar{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) e intensidad Imina	Señal $\bar{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) e intensidad H <sub>2</sub> OxDien.
Imina	C=N st	1630, vs	-
Amina secundaria	N-H N-H <sup>+</sup>	3278 y 2932, m -	- 2964, 2923, 2842, s
Oxima	-C=N-OH OH st N-O st	1630, vs 2492, w 957, s	1648, m 3246-2842, s 942, m

Para la imina precursora del ligante H<sub>2</sub>OxDien, C<sub>12</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>, el análisis elemental da porcentajes teóricos de C 53.51, H 8.61 y N 26.00% y obtuvimos porcentajes experimentales de C 53.14, H 8.46 y N 25.57%, mientras que para el ligante H<sub>2</sub>OxDien, C<sub>12</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>•H<sub>2</sub>O, el análisis elemental da porcentajes teóricos de C 49.46, H 10.03 y N 24.03% y los porcentajes experimentales fueron C 49.24, H 9.47 y N 21.73% y los resultados de espectrometría de masas, EM (APCI<sup>+</sup>) [m/z] 274.2205, son congruentes con una molécula de masa molar 273.38 g/mol más un protón, por lo que podemos decir que efectivamente sintetizamos el ligante H<sub>2</sub>OxDien.

## 5.5. Síntesis del ligante H<sub>4</sub>OxP (L3)

Se hizo una condensación para obtener la imina correspondiente pesando 0.3232 g de BDMO (3.2 mmol) que se hicieron reaccionar con 800  $\mu$ L (0.26 mmol) de PAMAM generación cero en 2 mL de metanol, la condensación se llevó a cabo durante cuatro horas, en donde se formó un precipitado blanco el cual se lavó con metanol y se filtró. Posteriormente se redujo con borohidruro de sodio, a 0.1432 g de imina (0.16 mmol), se le adicionaron 7 mL de metanol seco y 0.0471 g de NaBH<sub>4</sub> (1.26 mmol) disueltos en otros 7 mL de metanol seco, después de 5 horas agitando a temperatura

ambiente, el disolvente se eliminó en el rotavapor y se agregaron 10 mL de agua, se ajustó el valor de pH y finalmente se evaporó a sequedad. Una vez que se evaporó toda el agua, la mezcla se extrajo con una mezcla de diclorometano-metanol, se evaporó completamente y secó al vacío. El ligante se obtuvo como un sólido blanco. En la figura 5.5.1 se muestra el esquema de reacción.

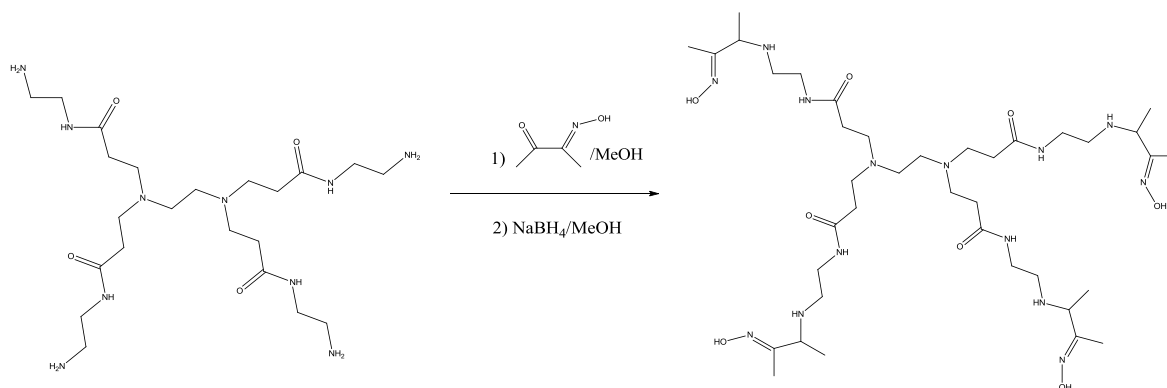


Figura 5.5.1. Esquema de reacción para la obtención de H<sub>4</sub>OxP.

Para obtener el ligante primeramente se obtuvo la imina al condensar el dendrímero PAMAM generación cero con BDMO, la cual se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 50.93%. Al reducir la imina se obtuvo la aminoxima H<sub>4</sub>OxP como un sólido blanco con un rendimiento del 77.28%. En la figura 5.5.2 se muestra el espectro de RMN-<sup>1</sup>H de la imina y en la figura 5.5.3 el espectro de RMN-<sup>1</sup>H de H<sub>4</sub>OxP. Sus desplazamientos químicos se enlistan en la tabla 5.5.1.



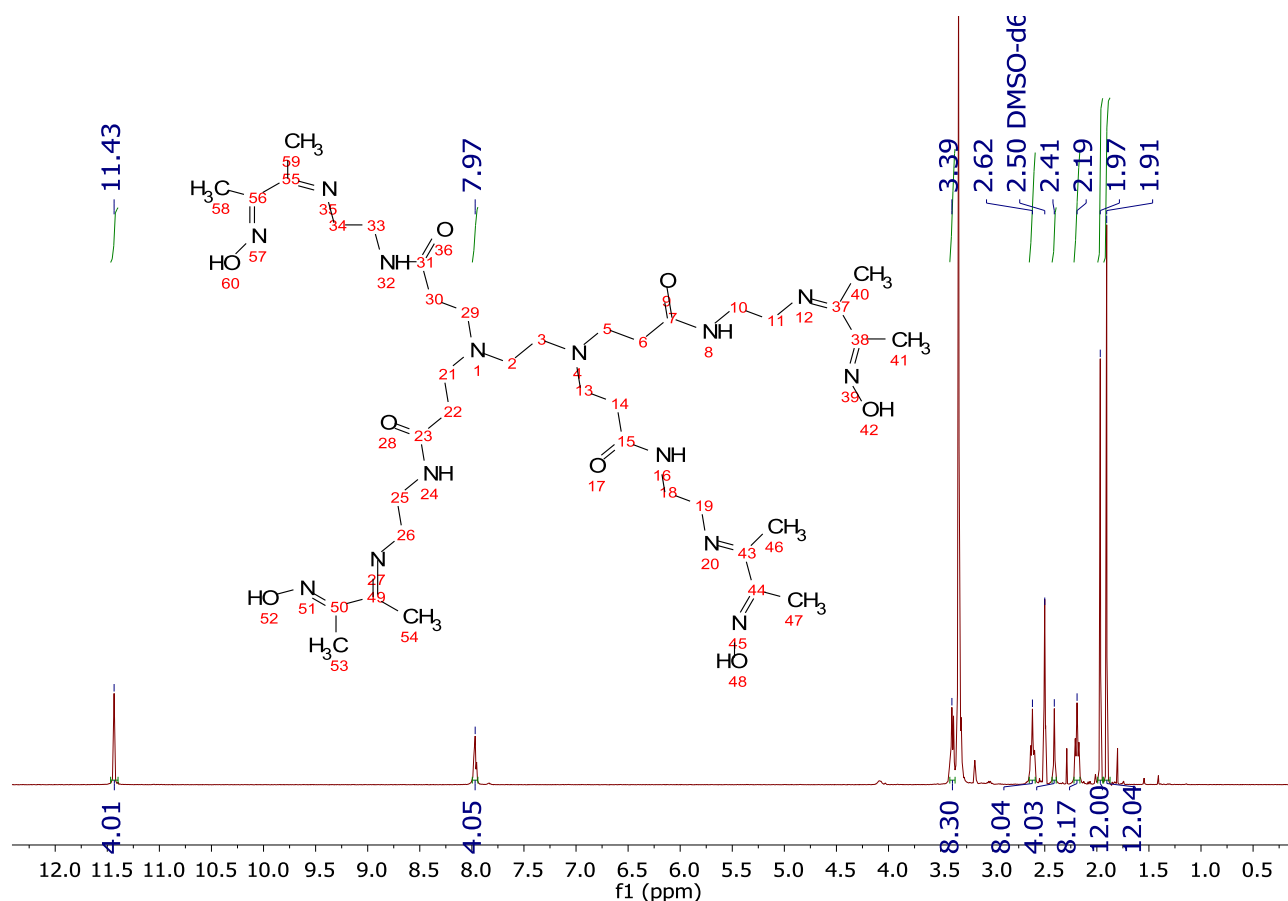


Figura 5.5.2. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de la imina precursora del ligante H<sub>4</sub>OxP en DMSO-d<sub>6</sub>

En el espectro de RMN-<sup>1</sup>H observamos que la señal en 1.91 ppm para la imina desaparece y en su lugar se tiene un doblete en 1.04 ppm al reducirse y obtener H<sub>4</sub>OxP, cuya señal corresponde a los protones de los metilos 40, 46, 54, y 59 de la figura 5.5.2; también al reducirse la imina los protones 37, 43, 49 y 55 se acoplan a los protones de los metilos, por lo tanto se puede observar un cuadruplete en 3.20 ppm que integra para cuatro protones. Al analizar los espectros de RMN-<sup>13</sup>C de la imina (figura 5.5.4) y H<sub>4</sub>OxP (figura 5.5.5) se observa que una de las señales a campo bajo, 156.57 ppm, correspondiente a los grupos imina (carbonos 38, 44, 50 y 56) se desplaza hacia campos más altos como consecuencia de la reducción, dando así una señal en 56.31 ppm. Los desplazamientos químicos de RMN-<sup>13</sup>C para la imina y para el ligante H<sub>4</sub>OxP se enlistan en la tabla 5.5.2.

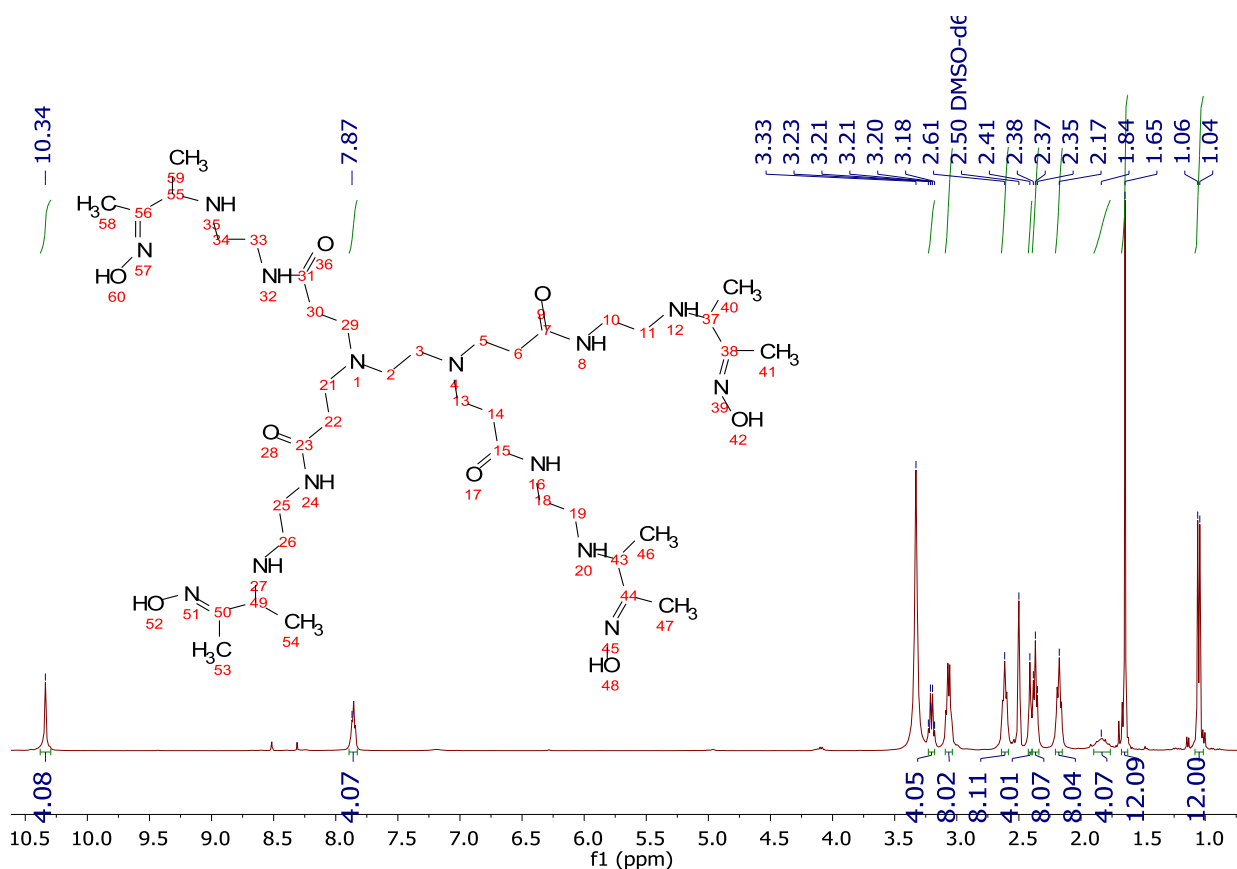


Figura 5.5.3. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del ligante H<sub>4</sub>OxP en DMSO-d<sub>6</sub>

Tabla 5.5.1. Desplazamientos químicos de H<sub>4</sub>OxP.

Número de protón Imina	<sup>1</sup> H δ (ppm) Imina	Integración y multiplicidad	Número de protón H <sub>4</sub> OxP	<sup>1</sup> H δ (ppm) H <sub>4</sub> OxP	Integración y multiplicidad
40 , 46 , 54 , 59	1.91	12, singulete	40 , 46 , 54 , 59	1.05	12, Doblete
41 , 47 , 53 , 58	1.97	12, singulete	41 , 47 , 53 , 58	1.65	12, Singulete
6 , 14 , 22 , 30	2.19	8, triplete	27 , 35 , 12 , 20	1.84	4, Singulete
5 , 13 , 21 , 29	2.62	8, triplete	6 , 14 , 22 , 30	2.17	8, Triplete
3 , 2	2.41	4, singulete	5 , 13 , 21 , 29	2.37	8, Triplete
11 , 19 , 26 , 34	3.39	8, multiplete	2 , 3	2.41	4, Singulete
8 , 16 , 24 , 32	7.97	4, triplete	11 , 19 , 26 , 34	2.61	8, Triplete
42 , 48 , 52 , 60	11.43	4, singulete	10 , 18 , 25 , 33	3.06	8, Cuadruplete
			37 , 43 , 49 , 55	3.20	4, Cuadruplete
			8 , 16 , 24 , 32	7.87	4, Triplete
			42 , 48 , 52 , 60	10.34	4, Singulete

Tabla 5.5.2. Desplazamientos químicos en RMN-<sup>13</sup>C de H<sub>4</sub>OxP.

Número de señal	No. de Carbono Imina	<sup>13</sup> C δ (ppm) Imina	Número de señal	No. de Carbono H <sub>4</sub> OxP	<sup>13</sup> C δ (ppm) H <sub>4</sub> OxP
1	7, 15, 23, 31	171.51	1	7, 15, 23, 31	171.36
2	37, 43, 49, 55	164.74	2	38, 44, 50, 56	158.31
3	38, 44, 50, 56	156.57	3	37, 43, 49, 55	56.31
4	11, 19, 26, 34	50.89	4	2, 3	50.98
5	2, 3	49.78	5	5, 13, 21, 29	49.82
6	5, 13, 21, 29	48.64	6	11, 19, 26, 34	46.35
7	6, 14, 22, 30	33.14	7	6, 14, 22, 30	38.79
8	10, 18, 25, 33	24.93	8	10, 18, 25, 33	33.22
9	40, 59	13.24	9	40, 46, 54, 59	19.15
10	46, 54	9.10	10	41, 47, 53, 58	8.29
11	41, 47, 53, 58	8.00		-	

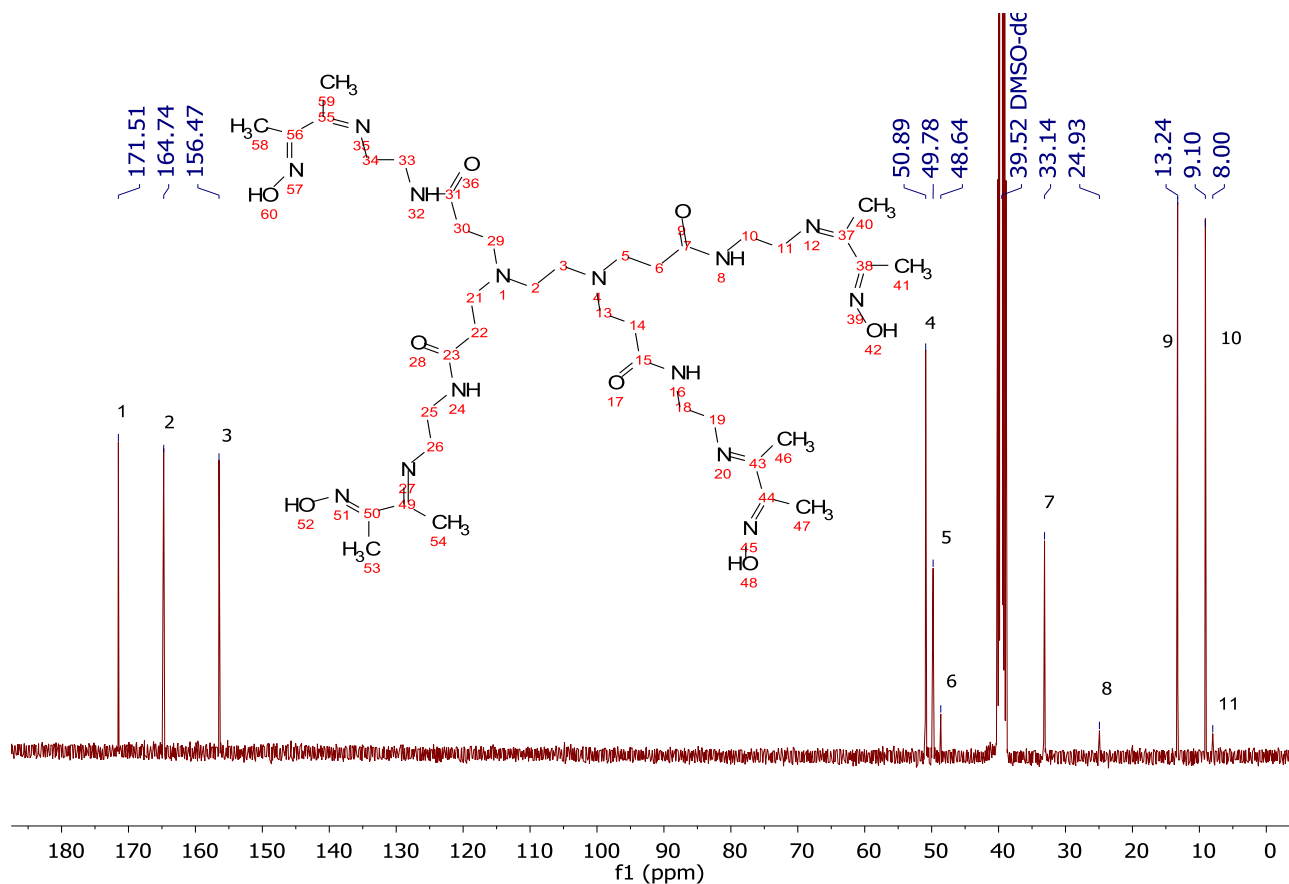


Figura 5.5.4. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de la imina precursora del ligante H<sub>4</sub>OxP en DMSO-d<sub>6</sub>.

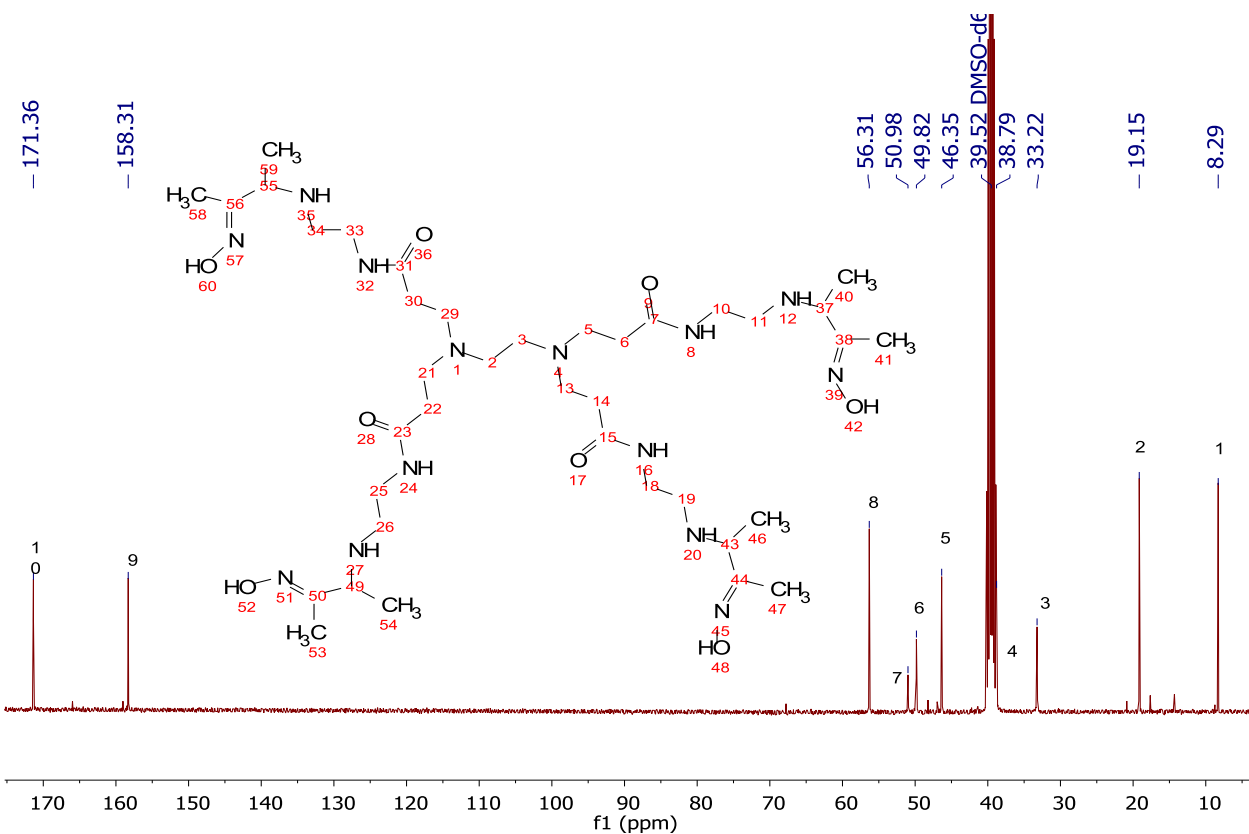


Figura 5.5.5. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del ligante H<sub>4</sub>OxP en DMSO-d<sub>6</sub>.

Para la imina precursora del ligante H<sub>2</sub>OxP, C<sub>38</sub>H<sub>68</sub>N<sub>14</sub>O<sub>8</sub> · 4H<sub>2</sub>O, el análisis elemental da porcentajes teóricos de C 49.55, H 8.32 y N 21.29% y obtuvimos porcentajes experimentales de C 49.94, H 8.09 y N 20.86%. Para el ligante H<sub>4</sub>OxP, C<sub>38</sub>H<sub>76</sub>N<sub>14</sub>O<sub>8</sub> · 6H<sub>2</sub>O, el análisis elemental da porcentajes teóricos de C 47.29, H 9.19 y N 20.32% y los porcentajes experimentales fueron C 47.20, H 8.68 y N 19.95% y el resultado de espectrometría de masas, EM (APCI<sup>+</sup>) [m/z] 858.57, es congruente con una molécula de masa molar 857 g/mol más un protón. Este compuesto es higroscópico, lo cual es muy bueno porque se quiere que sean muy solubles en agua, pero cierta variación en la cantidad de agua puede dar error en el análisis elemental ya que depende de cómo se manipule la muestra.

Tanto la imina como el ligante H<sub>4</sub>OxP se caracterizaron también por espectroscopía de infrarrojo por reflectancia FTIR; los espectros se encuentran en el Anexo I y en la tabla 5.5.3 se enlistan los grupos funcionales presentes en la imina precursora y en el ligante H<sub>4</sub>OxP con sus respectivas bandas de vibración. De manera similar a lo observado con otros ligantes, la banda de intensidad fuerte de la imina en 1625 cm<sup>-1</sup> no se observa después de la reducción y la banda de alargamiento de N-O pasa de 982 cm<sup>-1</sup> en la imina a 943 cm<sup>-1</sup> en el ligante. Las señales que observamos son congruentes con la estructura propuesta

Tabla 5.5.3. Grupos funcionales importantes de la aminoxima H<sub>4</sub>OxP.

Grupo funcional	Enlace	$\bar{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) e intensidad	
		lmina	H <sub>4</sub> OxP
Amina secundaria	N-H	3208, vs	3259, s
Amida	HNC=O	1568, vs	1552, s
lmina	C=N st	1625, vs	-
Oxima	-C=N-OH	1625, s	1632, vs
	OH st	3500-2800, s	3500-2800 s
	N-O st	982, m	943, w

## 5.6. Programas

- *Origin Pro 8.5.0*: Se utilizó en el análisis de datos de las pruebas cinéticas realizadas, así como de las titulaciones potenciométricas.
- *MestReNova 12.0*: Análisis de los espectros obtenidos de RMN de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C.
- *HyperQuad*: Determinación de las constantes de formación para obtener los valores de pK<sub>a</sub> de los ligantes, así como de sus complejos con los cationes metálicos divalentes.
- *HySS*: Determinación de las especies presentes en disolución.
- *HypSpec*: Determinación de las constantes de formación globales de las titulaciones espectrofotométricas realizadas.

## 5.7. Condiciones generales de las disoluciones

- Disoluciones de para los estudios cinéticos

Las disoluciones empleadas en cinética se prepararon en agua destilada y desionizada. Se prepararon disoluciones stock de los ligantes a partir de las cuales se hicieron diluciones. Se prepararon disoluciones stock de los cationes metálicos y se estandarizaron mediante titulaciones con EDTA, Zn metálico de alta pureza (99.999%), NET y rojo de metilo como indicadores. Se emplearon disoluciones stock de amortiguadores biológicos, EPPS, CHES, MOPS y CAPS dependiendo del pH deseado y su concentración en celda fue siempre 50 mM. Se utilizaron este tipo de amortiguadores porque son poco coordinantes y, a las condiciones de trabajo, no se coordinan con los cationes metálicos empleados además de que nos permiten cubrir un intervalo amplio de pH con compuestos de estructuras similares (tipo morfolino

etanosulfónico) y no interfieren en las mediciones cinéticas a 400 nm. Todas las mediciones cinéticas se realizaron a 25°C. Las celdas se prepararon mezclando las cantidades apropiadas en volumen de las disoluciones stock, se completó el volumen de 2000 microlitros con agua, y antes de iniciar y al término de cada reacción se midió el pH en celda. Las reacciones se iniciaron con la adición del sustrato, y se hicieron mediciones por triplicado. Los errores en las constantes de rapidez observadas reportadas en las tablas que se incluyen en este trabajo son menores a un valor de (5) en la última cifra significativa reportada.

- Disoluciones para las titulaciones potenciométricas y espectrofotométricas

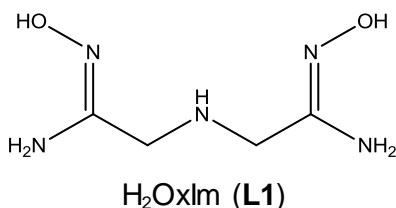
Las titulaciones se realizaron empleando concentraciones de 5 a 10 mM de ligante y cationes metálicos para potenciometría y empleando concentraciones 0.05 a 0.5 mM para espectrofotometría, las cuales se prepararon en matraces volumétricos a partir de las disoluciones stock antes mencionadas y se mantuvieron durante las titulaciones en celdas termostataadas bajo flujo de nitrógeno. En las titulaciones se adicionaron tantos equivalentes de HCl estandarizado como fueron necesarios para asegurar la protonación de todos los grupos presentes en los ligantes. Como titulante se utilizó NaOH preparado fresco en agua destilada, desionizada, estandarizado y se burbujeó nitrógeno.

- Sustrato

La disolución stock del sustrato modelo, 4-NFA, se preparó en acetonitrilo, ya que se mantiene en un disolvente polar aprótico para que no se hidrolice tan rápidamente como sucede en disolución acuosa; estas disoluciones se prepararon frescas y se verificó que el sustrato no estuviera hidrolizado parcialmente al hacer las adiciones a las celdas de reacción. En las celdas se hicieron típicamente adiciones de 20  $\mu$ L de 4-NFA para obtener una concentración final dentro de la celda de 0.05 mM de 4-NFA en un volumen final de 2 mL (1% de acetonitrilo). También se utilizaron celdas de 1.0 mL con volumen mínimo de 0.5 mL en donde se hicieron adiciones de 10  $\mu$ L del sustrato 4-NFA (2% de acetonitrilo). En cada reacción se verificó que la absorbancia final correspondiera a la hidrólisis completa del sustrato.

## 6. Resultados

### 6.1. El ligante H<sub>2</sub>OxIm



Este ligante fue seleccionado para estudiar su reactividad esterolítica y compararlo con cetoximas tipo H<sub>2</sub>dapd que antes fueron reportadas [Yatsimirsky 1998] y amidoximas tipo HPyAmOx [López 2017] porque por un lado, las amidoximas son más básicas y por lo tanto se esperaría que sean nucleófilos más fuertes y por otro, al ser tridentada y flexible, se espera forme complejos metálicos razonablemente estables con los grupos oxima coordinados por nitrógeno con la consecuente disminución de los valores de  $pK_a$  de las oximas; se espera que los complejos resultantes tengan reactividad nucleofílica a menores valores de pH que el ligante. Si bien la síntesis de este ligante y sus complejos de cobre y níquel está reportada [Cullen 1970], no hay ningún reporte en la bibliografía de la reactividad esterolítica de la bisoxima libre o coordinada.

#### 6.1.1. Determinación de las constantes de acidez para el ligante H<sub>2</sub>OxIm

La determinación de las constantes de acidez para H<sub>2</sub>OxIm se hizo mediante titulaciones potenciométricas ya que los protones de los grupos amina y oxima de este ligante alifático no se pueden ver claramente en RMN porque las señales se ensanchan o no son visibles en agua deuterada; el espectro UV-vis del ligante se encuentra principalmente en la región del ultravioleta, en donde los contraiones inorgánicos sencillos interfieren por lo que las titulaciones espectrofotométricas no resultan de gran utilidad. Las titulaciones potenciométricas para H<sub>2</sub>OxIm se hicieron en el intervalo de concentraciones entre 5-10 mM, bajo atmósfera de nitrógeno, a 25°C en una celda termostataada, por triplicado para cada concentración, utilizando como titulante NaOH recién preparado y estandarizado. A cada una de las disoluciones preparadas para titular se le adicionaron tres equivalentes de HCl para asegurar la protonación de todos los grupos amina. En la Figura 6.1.1 se muestra el análisis simultáneo de los datos de 10 titulaciones potenciométricas a diferentes concentraciones en el programa *Hyperquad*, empleado para la determinación de las constantes de acidez, y en la tabla 6.1.1 se resume los valores promedio de las constantes de formación obtenidas, con el error en forma de desviación estándar, así como los valores de  $pK_a$  que se obtienen a partir de estas constantes acumulativas.

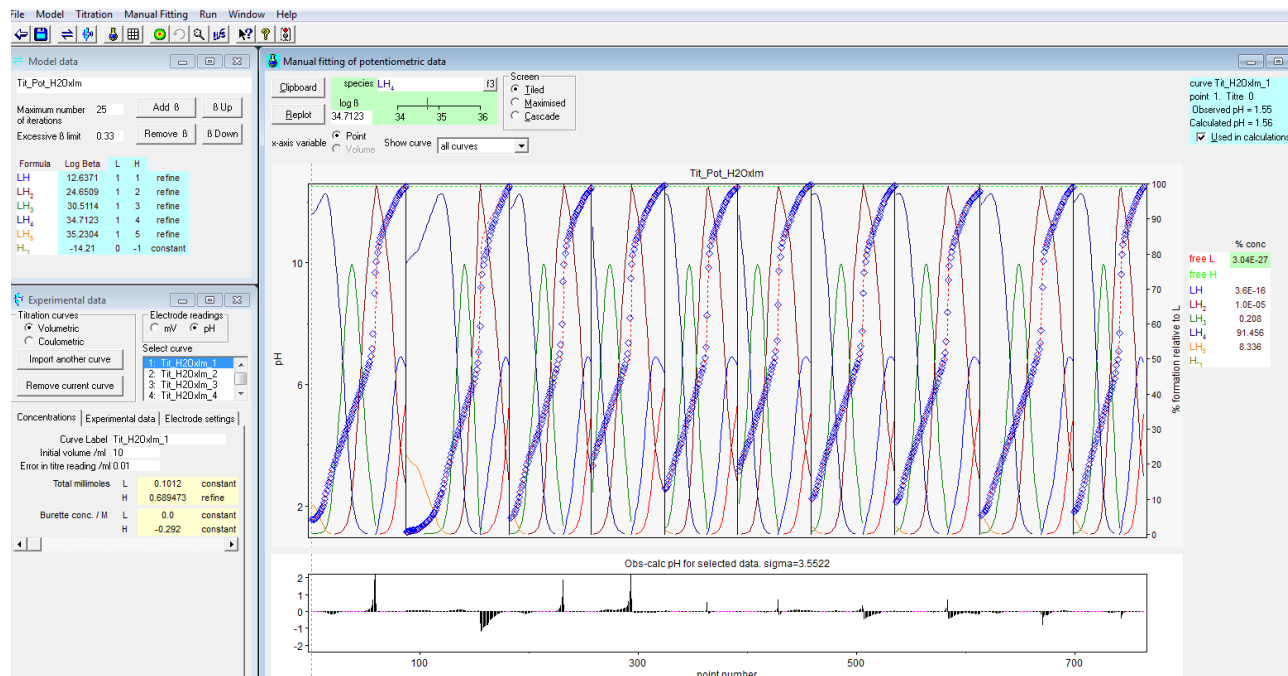


Figura 6.1.1. Ajuste simultáneo de 10 curvas de titulación en el programa *Hyperquad* para la determinación de los valores de  $pK_a$  de  $H_2Oxlm$ .

Tabla 6.1.1. Logaritmo de las constantes de formación,  $\log\beta$ , y valores de  $pK_a$  de  $H_2Oxlm$ .

Especie	Log $\beta \pm ds$	$pK_a$
$HOxlm^-$	$12.64 \pm 0.07$	12.64
$H_2Oxlm$	$24.65 \pm 0.04$	12.01
$H_3Oxlm^+$	$30.51 \pm 0.05$	5.86
$H_4Oxlm^{2+}$	$34.71 \pm 0.06$	4.20
$H_5Oxlm^{3+}$	$35.23 \pm 0.27$	0.52

La asignación de los valores de  $pK_a$  para la protonación de aminas alifáticas primarias, secundarias y para los grupos oxima, se hizo en función de compuestos conocidos. Se seleccionó como mejor esquema de protonación aquél que incluye valores de  $pK_a$  cercanos a los esperados para los grupos funcionales, que tiene menores errores en las constantes (expresados como desviaciones estándar y como los parámetros estadísticos del ajuste) y en el que las constantes obtenidas de los ajustes iteran a los mismos valores sin importar el valor estimado del que se parte dentro del programa *Hyperquad*. Los valores de  $pK_a$  que se asignaron a los grupos amidoxima son 12.01 y 12.64, los cuales son mayores que el valor estimado para el  $pK_a$  de la oxima de la 1,2-(hidroxiimino)propilamino)propan-2-ona oxima, la dioxima correspondiente, 11.72 (Datos teóricos  $pK_{a1} = 5.97$  y  $pK_{a2} = 11.72$  tomados de *Key Physical Properties* de SciFinder, ACS), lo cual resulta razonable porque se esperaría fuera más básica. En la figura 6.1.2 se muestra los



equilibrios de disociación ácida para cada una de las especies correspondientes al ligante H<sub>2</sub>OxIm y sus valores de pK<sub>a</sub>.

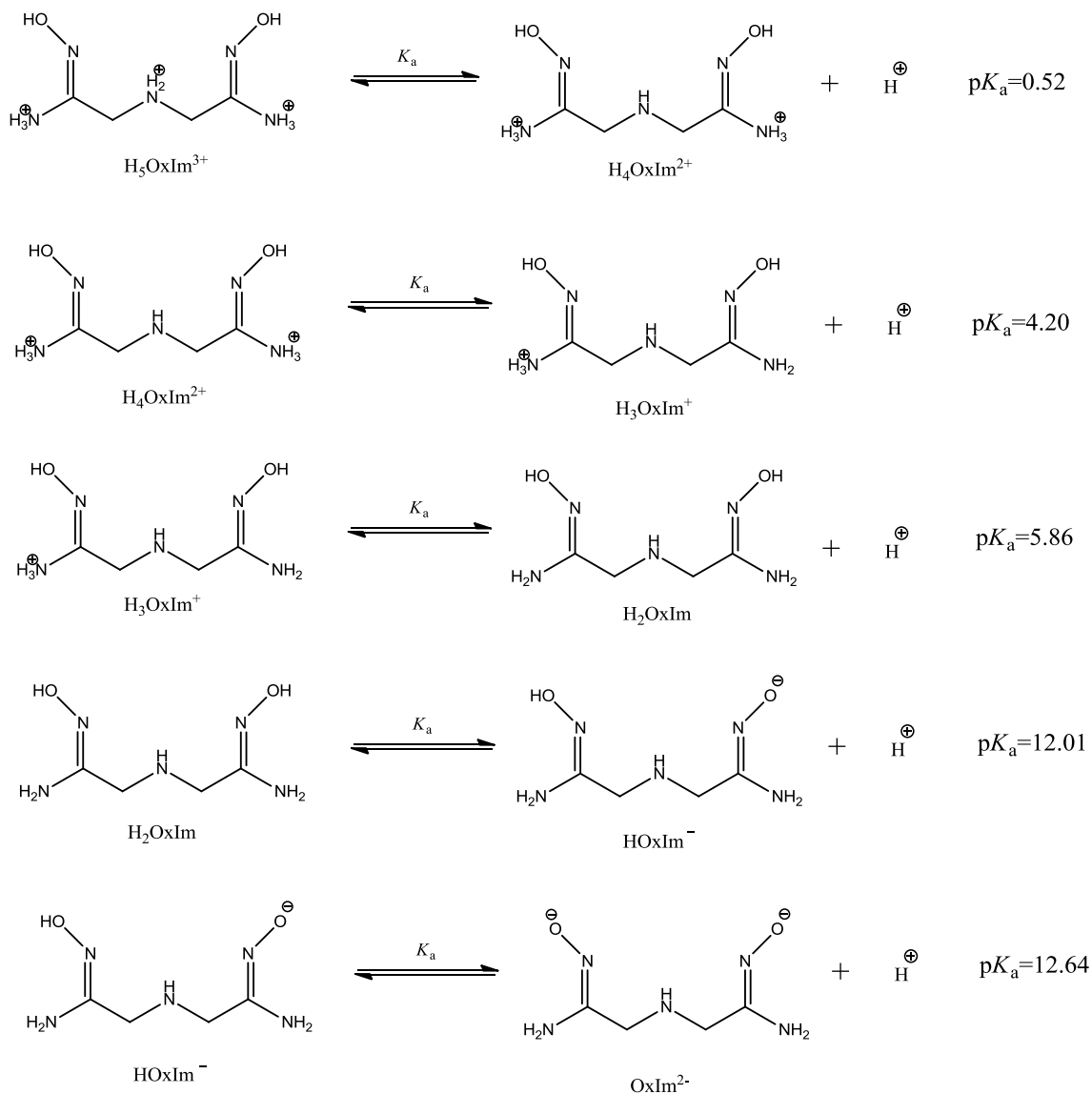


Figura 6.1.2. Equilibrios de disociación ácida para el ligante H<sub>2</sub>OxIm.

### 6.1.2. Determinación de las constantes de formación del ligante H<sub>2</sub>OxIm con cationes metálicos.

Se determinaron las constantes de formación de este ligante con los cationes metálicos Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> y Cd<sup>2+</sup> ya que sus complejos mostraron reactividad esterolítica en disolución acuosa. Se titularon mezclas del ligante H<sub>2</sub>OxIm con la sal del catión metálico en proporciones M:L 1:1 y 1:2, en

concentraciones 2-10 mM empleando como titulante disoluciones de NaOH estandarizadas y recién preparadas en agua, a 25°C y bajo N<sub>2</sub> para evitar la absorción de carbonatos; la titulación se detuvo ante la aparición de algún precipitado.

El sistema más sencillo para esta amidoxima tridentada resultó ser con Cd<sup>2+</sup> para el que se encontraron únicamente especies que contienen metal y ligante en proporción 1:1 con diferentes grados de protonación: [CdLH<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>, [CdLH]<sup>+</sup> y [CdL], figura 6.1.3. No se formaron complejos con mayor proporción de ligante incluso cuando se empleó un exceso 2:1 sobre el catión metálico y, aunque las titulaciones en proporción 1:1 sólo se hicieron hasta pH 10.0 por la aparición de precipitado, el exceso de ligante 2:1 nos permitió llegar hasta pH 12.1. En la tabla 6.1.2 se muestran los valores logarítmicos de las constantes de formación acumulativas de las especies formadas en disolución con este ligante y Cd<sup>2+</sup>. Cabe mencionar que entre todos los complejos metal-oximato que se han estudiado en el grupo de trabajo, éste es el único caso en el que ha sido necesario incluir la especie [CdL(OH)] para el ajuste de los datos potenciométricos. Este complejo debe ser muy estable para que la formación del hidróxido metálico no compita con la desprotonación de una molécula de agua coordinada.

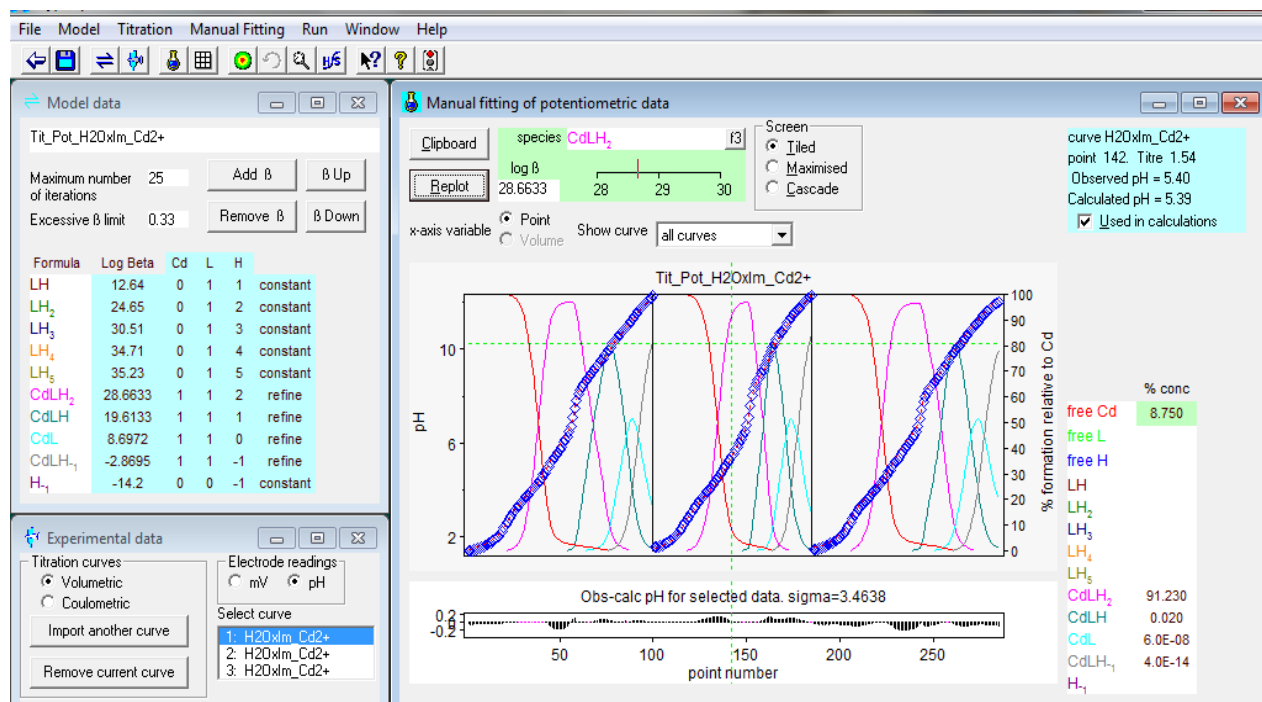


Figura 6.1.3. Ajuste simultáneo de tres curvas de titulación en el programa *Hyperquad* para la determinación de los valores de las constantes de formación acumulativas de las especies de H<sub>2</sub>Oxlm y Cd<sup>2+</sup> formadas en disolución.

Tabla 6.1.2. Logaritmos de las constantes de formación acumulativas de las especies con  $\text{Cd}^{2+}$  y sus valores de  $\text{p}K_a$ .

Equilibrio de formación del ion complejo	$\log \beta \pm ds$
$\text{Cd} + \text{L} + 2\text{H} \rightleftharpoons [\text{CdLH}_2]^{2+}$	$28.54 \pm 0.05$
$\text{Cd} + \text{L} + \text{H} \rightleftharpoons [\text{CdLH}]^+$	$19.2 \pm 0.08$
$\text{Cd} + \text{L} \rightleftharpoons [\text{CdL}]$	$8.34 \pm 0.10$
$\text{Cd} + \text{L} + \text{OH} \rightleftharpoons [\text{CdL}(\text{OH})]^-$	$10.37 \pm 0.10$
Equilibrios ácido-base	$\text{p}K_a$
$[\text{CdLH}_2]^{2+} \rightleftharpoons [\text{CdLH}]^+ + \text{H}^+$	9.34
$[\text{CdLH}]^+ \rightleftharpoons [\text{CdL}] + \text{H}^+$	10.86
$[\text{CdL}(\text{H}_2\text{O})]^{2+} \rightleftharpoons [\text{CdL}(\text{OH})]^- + \text{H}^+$	11.47

Los complejos que se forman entre el ligante  $\text{H}_2\text{Oxlm}$  y  $\text{Zn}^{2+}$  son diferentes que los que se forman con  $\text{Cd}^{2+}$ . En el mejor modelo de equilibrios en disolución con  $\text{Zn}^{2+}$  que encontramos, además de los complejos monohidroxo y dihidroxo,  $[\text{ZnL}(\text{OH})]^-$  y  $[\text{ZnL}(\text{OH})_2]^{2-}$ , que hemos observado con otros ligantes [Lugo-González 2017] se forman especies con estequiometría 1:2 metal:ligante con diferentes grados de protonación si se hacen titulaciones con dos equivalentes del ligante. Se supuso que estos compuestos son octaédricos y se tiene un zinc hexacoordinado, ya que el ligante es tridentado, figura 6.1.4. Al titular con  $\text{NaOH}$  estandarizada la disolución del ligante y  $\text{Zn}^{2+}$  en proporción 1:1 no se observó la formación de precipitado sino hasta valores de  $\text{pH}$  mayores a 12.0 a pesar de que el  $\text{Zn}^{2+}$  es un catión más ácido que el  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{p}K_a$  de  $\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})^{2+}$  8.96 y  $\text{p}K_a$  de  $\text{Cd}(\text{H}_2\text{O})^{2+}$  10.06, [Barnum 1983] y su hidróxido precipita a valores de  $\text{pH}$  menores. En la tabla 6.1.3 se muestran los valores logarítmicos de las constantes de formación acumulativas,  $\log\beta$ , de las especies formadas en disolución con este ligante y con  $\text{Zn}^{2+}$ . Si se comparan los valores de  $\text{p}K_a$  de especies con la misma estequiometría, pero con  $\text{Zn}^{2+}$  y  $\text{Cd}^{2+}$  (tablas 6.1.2 y 6.1.3) resulta evidente que los complejos de zinc son más ácidos, lo cual podría causar que fueran menos reactivos porque la densidad electrónica debe estar más desplazada hacia el catión metálico y por lo tanto el átomo nucleofílico tiene menor densidad electrónica.

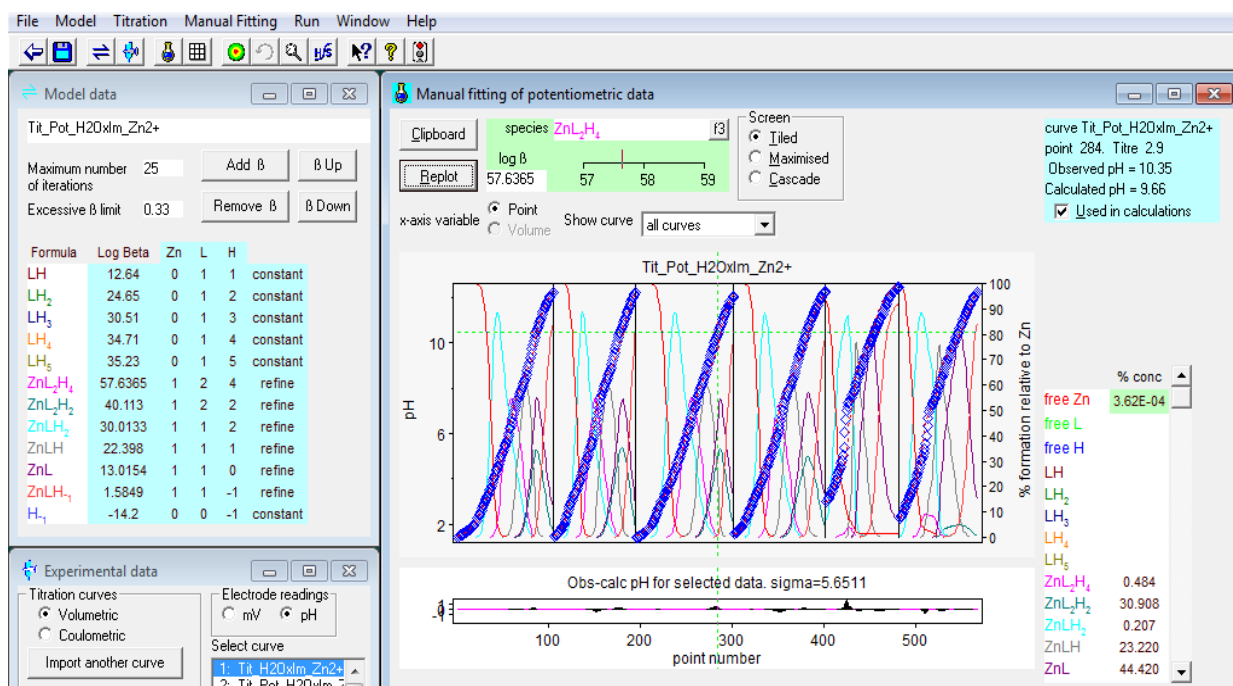


Figura 6.1.4. Ajuste simultáneo de 6 curvas de titulación en el programa *Hyperquad* para la determinación de los valores de las constantes de formación acumulativas de las especies de  $H_2Oxlm$  y  $Zn^{2+}$  formadas en disolución.

Tabla 6.1.3. Logaritmos de las constantes de formación acumulativas de las especies con  $Zn^{2+}$  y sus valores de  $pK_a$ .

Reacción con $Zn^{2+}$	$\log \beta \pm ds$
$Zn + 2L + 4H \rightleftharpoons [ZnL_2H_4]^{2+}$	$57.64 \pm 0.12$
$Zn + 2L + 2H \rightleftharpoons [ZnL_2H_2]^{2+}$	$40.11 \pm 0.21$
$Zn + L + 2H \rightleftharpoons [ZnLH_2]^{2+}$	$30.01 \pm 0.05$
$Zn + L + H \rightleftharpoons [ZnLH]^+$	$22.40 \pm 0.07$
$Zn + L \rightleftharpoons [ZnL]$	$13.02 \pm 0.09$
$Zn + L + OH \rightleftharpoons [ZnL(OH)]^-$	$15.58 \pm 0.09$
Equilibrios ácido-base	$pK_a$
$[ZnLH_2]^{2+} \rightleftharpoons [ZnLH]^+ + H^+$	7.61
$[ZnLH]^+ \rightleftharpoons [ZnL] + H^+$	9.38
$[ZnL(H_2O)]^{2+} \rightleftharpoons [ZnL(OH)]^- + H^+$	11.44

En el caso de las titulaciones con  $Cu^{2+}$ , la formación de iones complejos en disolución se caracteriza por cambios de color en la disolución al adicionar  $Cu^{2+}$  y al realizar la titulación de la mezcla del  $Cu^{2+}$  y el ligante  $H_2Oxlm$  con  $NaOH$  estandarizado: la disolución cambia de un color azul celeste hasta llegar al verde, por ello para este catión metálico se hicieron titulaciones tanto

potenciométricas como espectrofotométricas. Las titulaciones espectrofotométricas se hicieron en un intervalo de concentración de 0.5 a 10 mM en presencia de 1-2 equivalentes de ligante, se obtuvieron los espectros de UV-vis a cada valor de pH y se analizaron los datos primero con *Origin* y después con el programa *HypSpec*. En la figura 6.1.5 se muestra como ejemplo el análisis realizado para una titulación de la mezcla de H<sub>2</sub>Oxlm 6.4 mM y Cu<sup>2+</sup> 3.2 mM para el cual se usó el intervalo de longitudes de onda de 450-950 nm. En el espectro completo, 190-1100 nm, se observa la presencia de varios máximos, sin embargo, algunos de ellos no están relacionados con las transiciones “d-d” en el complejo, por lo que para el análisis sólo se empleó el intervalo de 450-950 nm. En esta figura 6.1.5 en donde se muestra este intervalo es clara la presencia de dos máximos, uno en 575 y otro en 630 nm. El análisis de los perfiles de absorbancia en función del pH a estas longitudes de onda requiere postular que sucede la desprotonación de dos especies, una con pK<sub>a</sub> cercano a 7.0 y otra con pK<sub>a</sub> 11.0; estos valores que deberían ser iguales a cualquier longitud de onda, pero que en realidad son ligeramente diferentes a estas dos longitudes de onda, se emplearon como punto de partida para los ajustes que se hicieron de manera simultánea a todas las longitudes de onda en *HypSpec*.

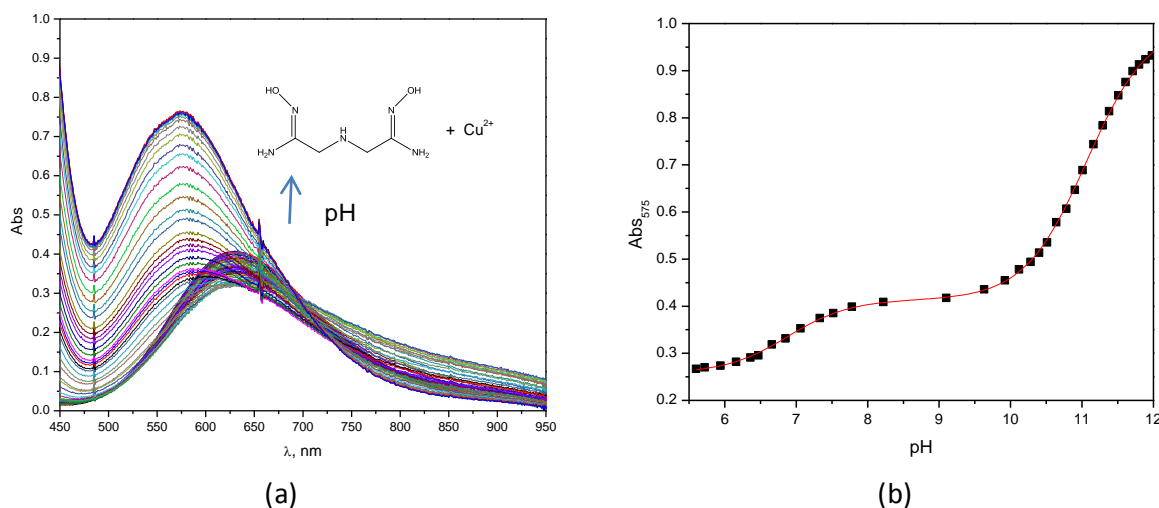


Figura 6.1.5. (a) Titulación de la disolución de H<sub>2</sub>Oxlm 6.46 mM y Cu(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 3.23 mM en agua a 25°C (b) Datos de Abs a 575 nm en función del pH, la línea continua muestra un ajuste para dos valores aparentes de pK<sub>a</sub>, 6.88 y 11.06, obtenidos a partir de la ecuación 1.

$$Abs_{\lambda} = \frac{Abs_f + \Delta Abs \left( 10^{(pK_{a2} - pH)} \right) + Abs_0 \left( 10^{(pK_{a1} + pK_{a2} - 2pH)} \right)}{1 + 10^{(pK_{a2} - pH)} + 10^{(pK_{a1} + pK_{a2} - 2pH)}} \quad \text{Eq. 1}$$

En la figura 6.1.6 se muestra el ajuste realizado en *HypSpec*. El modelo empleado es similar al del cadmio e involucra únicamente la formación de complejos 1:1 metal:ligante con diferentes grados

de protonación:  $[\text{CuLH}_2]^{2+}$ ,  $[\text{CuLH}]^+$ ,  $[\text{CuL}]$ , y  $[\text{CuL}(\text{OH})^-]$  sin que sea necesario considerar especies con estequiometría 2:1 aun en las titulaciones en las que se empleó un exceso de ligante. Cualitativamente la formación de especies de cobre coordinadas con oxígeno es congruente con el cambio de coloración de la disolución hacia el verde hacia el final de la titulación. Vale la pena mencionar que estos complejos hidroxilo son muy estables en disolución acuosa y aún a valores de pH mayores a 12, no se observa la formación de precipitado para el catión más ácido empleado,  $\text{Cu}^{2+}$  ( $pK_a \text{ Cu}(\text{H}_2\text{O})$  7.96 [Barnum 1983]).

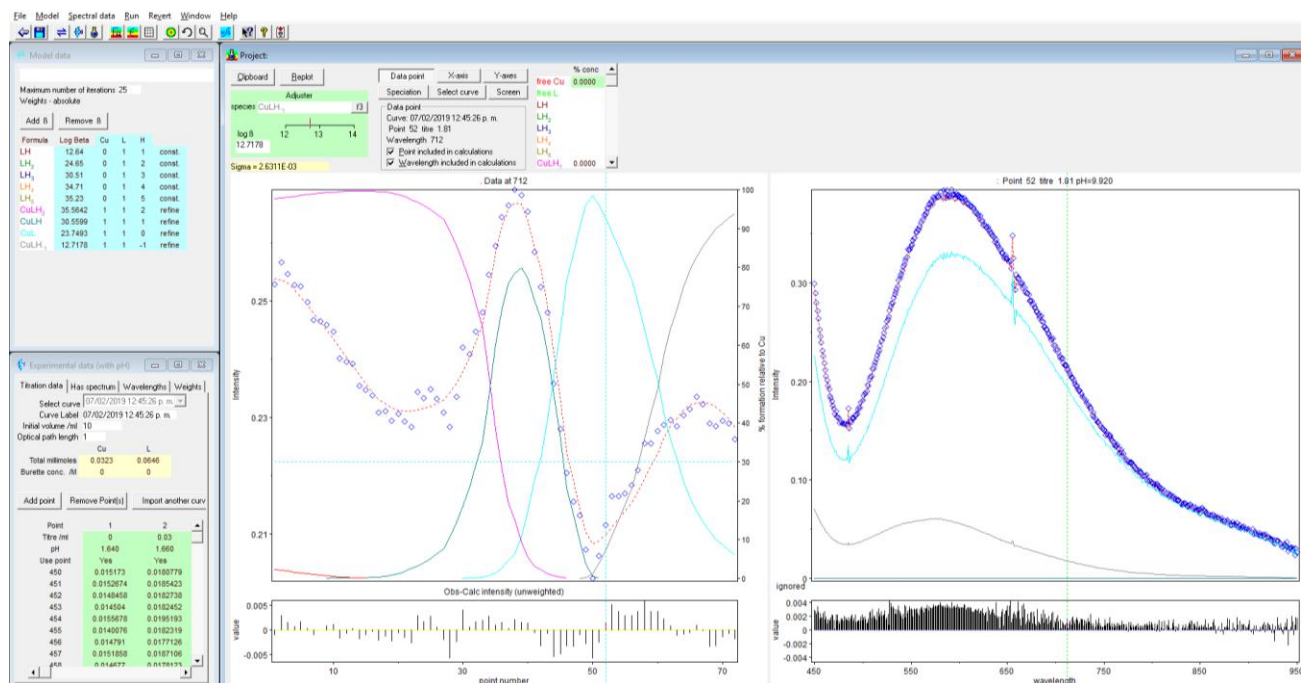


Figura 6.1.6. Ajuste de la curva de titulación de  $\text{H}_2\text{OxIm}$  6.4mM y  $\text{Cu}^{2+}$  3.2 mM en el programa HypSpec para la determinación de los valores de las constantes de formación acumulativas de las especies con  $\text{Cu}^{2+}$  formadas en disolución.

En la figura 6.1.7(a) se muestra el análisis de una titulación de la mezcla de  $\text{H}_2\text{OxIm}$  0.93 mM y  $\text{Cu}^{2+}$  0.47 mM para el cual se usó un intervalo más amplio de longitudes de onda 290-700 nm, ya que al estar más diluida, es posible observar los cambios de absorbancia en longitudes donde las bandas, que se deben a transiciones en el ligante, son más intensas. En esta figura se observa la presencia de máximos en 310, 330, 400, 575 y en 630 nm. A valores de pH entre 4 y 9 se observa que el espectro sólo tiene dos bandas, una en 330 y otra en 630 nm. Al ir aumentando el pH, la intensidad de la banda de 330 nm aumenta notablemente y se desplaza ligeramente hacia el rojo hasta 340 nm, mientras que la banda de 630 nm aumenta en menor proporción y se desplaza hacia el azul hasta 575 nm. A valores de pH mayores a 9 aparecen dos bandas adicionales, en 310 y en 400 nm. El análisis de los perfiles de absorbancia en función del pH a 310 y 400 nm,

figura 6.1.7(b), también corresponde a la desprotonación de dos especies cuyos valores de  $pK_a$  son 7.0 y 11.0.

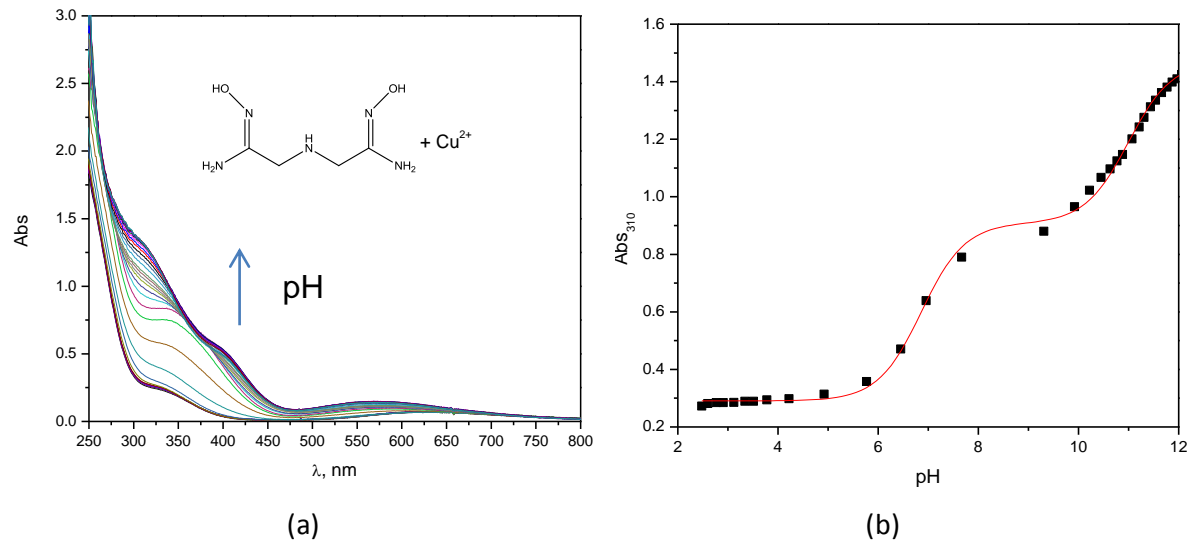


Figura 6.1.7. (a) Titulación de la disolución de  $H_2OxIm$  0.93 mM y  $Cu(ClO_4)_2$  0.47 mM en agua a 25°C, (b) datos de Abs a 310 nm en función del pH, la línea continua muestra un ajuste para dos valores aparentes de  $pK_a$ , 6.89 y 10.99 obtenidos a partir de la ecuación 1.

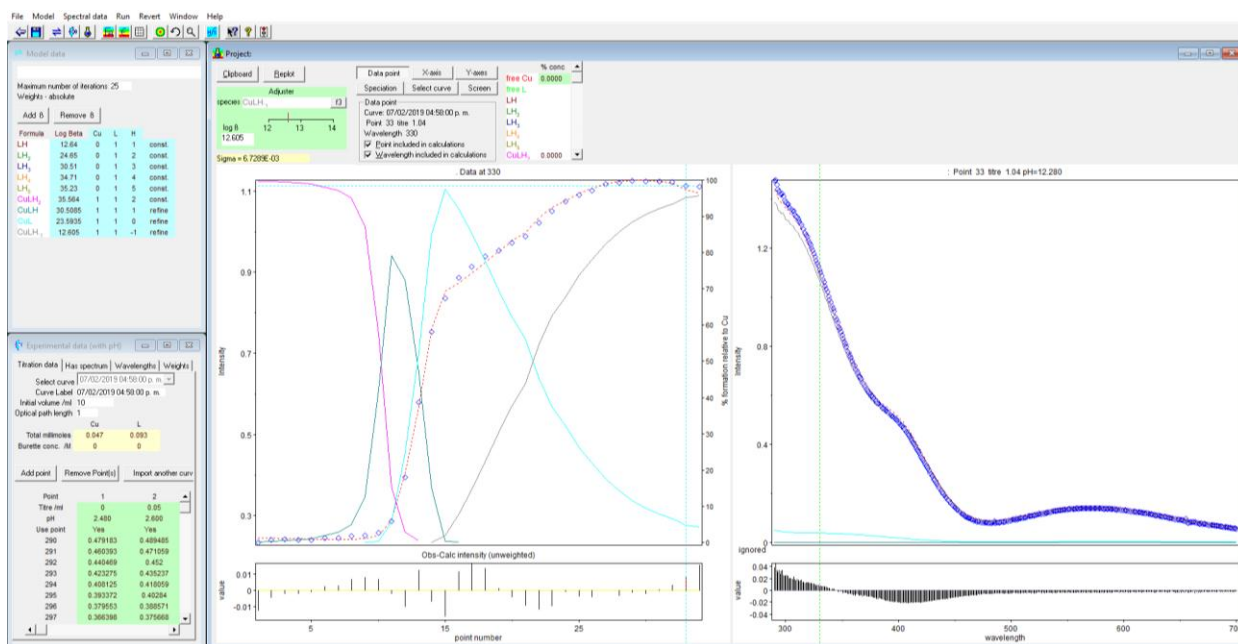


Figura 6.1.8. Ajuste de la curva de titulación de  $H_2OxIm$  0.93 mM y  $Cu^{2+}$  0.47 mM en el programa HypSpec para la determinación de los valores de las constantes de formación acumulativas de las especies con  $Cu^{2+}$  formadas en disolución.

El análisis a todas las longitudes de onda en el intervalo 290-700 nm de manera simultánea realizado en *HypSpec* se muestra en la figura 6.1.8 y en la tabla 6.1.5 se resumen los logaritmos de las constantes de formación acumulativas de las especies de  $H_2OxIm$  con  $Cu^{2+}$  tanto de las titulaciones espectrofotométricas como de las potenciométricas. Al comparar las constantes de

formación acumulativas para  $[\text{MLH}_2]^{2+}$ ,  $[\text{MLH}]^+$  y  $[\text{ML}]$ , el orden de estabilidad con los cationes metálicos,  $\log\beta$ , es con  $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Cd}^{2+}$ . Los valores de las constantes de formación acumulativas de las especies con  $\text{Cu}^{2+}$  medidas por ambas técnicas difieren entre sí a valores de pH básico. Es poco probable que esta diferencia se deba a que se emplearon diferentes concentraciones para ambas técnicas, ya que de las titulaciones espectrofotométricas a diferentes concentraciones se pueden obtener las mismas constantes, además se hicieron mediciones de la misma disolución del pH y del espectro UV-vis a cada valor de pH y se repitieron las titulaciones. Por lo tanto, es posible que se pudieran formar especies con la misma estequiometría pero con diferente geometría que contribuyeran de diferente forma a la absorbancia total a cada longitud de onda, cuya aclaración requiere de estudios más detallados. Sin embargo, estos valores no se corrigieron por la posible presencia de otros complejos en disolución, ni se hicieron estudios más detallados de las especies en disolución por otras técnicas (como EPR por ejemplo) porque su reactividad esterolítica es pequeña comparada con complejos de zinc y cadmio y, aunque resultaron interesantes los complejos que se forman, no eran el objetivo del presente trabajo. Así, para el análisis de los datos cinéticos se emplearon los valores determinados mediante potenciometría.

Tabla 6.1.5. Logaritmo de las constantes de formación acumulativas de las especies con  $\text{Cu}^{2+}$  y sus valores de  $\text{p}K_a$ .

Reacción con $\text{Cu}^{2+}$	$\log\beta \pm \text{ds}$ , espectrofotometría	$\log\beta \pm \text{ds}$ , potenciometría
$\text{Cu} + \text{L} + 2\text{H} \rightleftharpoons [\text{CuLH}_2]^{2+}$	$35.56 \pm 0.01$	$35.53 \pm 0.08$
$\text{Cu} + \text{L} + \text{H} \rightleftharpoons [\text{CuLH}]^+$	$30.56 \pm 0.01$	$29.20 \pm 0.09$
$\text{Cu} + \text{L} \rightleftharpoons [\text{CuL}]$	$23.75 \pm 0.01$	$18.83 \pm 0.12$
$\text{Cu} + \text{L} + \text{OH} \rightleftharpoons [\text{CuL}(\text{OH})]^-$	$26.72 \pm 0.01$	$21.62 \pm 0.12$
Equilibrios ácido-base	$\text{p}K_a$	$\text{p}K_a$
$[\text{CuLH}_2]^{2+} \rightleftharpoons [\text{CuLH}]^+ + \text{H}^+$	5.00	6.33
$[\text{CuLH}]^+ \rightleftharpoons [\text{CuL}] + \text{H}^+$	6.81	10.37
$[\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})]^{2+} \rightleftharpoons [\text{CuL}(\text{OH})]^- + \text{H}^+$	11.03	11.21

En la figura 6.1.9 se muestran los datos espectros electrónicos de una mezcla de  $\text{H}_2\text{OxIm}$  6.46 mM y  $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$  3.23 mM a dos valores diferentes. Se observa que al pasar de pH 1.64 a 12.21 el valor máximo la longitud de onda de absorción se desplaza de 626 a 574 nm y su intensidad se duplica, al mismo tiempo se observa un cambio de color en la disolución de azul cielo a verde, es decir a mayor energía. Las especies complejas predominantes a estos valores de pH son respectivamente  $[\text{CuLH}_2]^{2+}$  y  $[\text{CuL}(\text{OH})]^-$ . A pH 1.64, la concentración molar de cobre libre es de 0.076 mM mientras



que para el complejo de cobre con el ligante neutro es 3.15 mM, por lo tanto, podría considerarse que la absorbancia a 574 nm se debe principalmente al complejo  $[\text{CuLH}_2]^{2+}$ , el cual tendría un coeficiente de extinción molar de  $\epsilon = 130 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$  que es 10 veces mayor que el del complejo  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$  que absorbe a 810 nm y tiene un coeficiente de extinción molar de  $\epsilon = 12 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$  [Baker 1998]. A pH 12.2 la concentración de cobre libre es prácticamente cero,  $6 \times 10^{-25} \text{ M}$ , y únicamente hay dos complejos con cobre,  $[\text{CuL}]$  y  $[\text{CuL}(\text{OH})]^-$  en concentraciones 0.2 mM y 3.0 mM respectivamente. Si únicamente existiera la especie hidroxilo, tendría un coeficiente de extinción molar de  $250 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ , pero dada la contribución de  $[\text{CuL}]$ , debe ser un poco menor a este valor pero seguramente mayor que  $130 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . Aunque los valores sean estimados, es claro que los coeficientes aproximados son mayores a los que se podría esperar para complejos pseudo-octaédricos de cobre pero menores que los que se podría esperar para complejos tetraédricos (además de que los complejos tetraédricos de Cu(II) no son tan comunes en disolución porque fácilmente coordinan una molécula del disolvente o contraion y pasan a ser pentacoordinados [Shimizu 2017], por lo que se podría esperar que hay cierta transferencia de carga desde el ligante y que además se esperaría que ésta fuera mayor cuando el ligante está desprotonado.

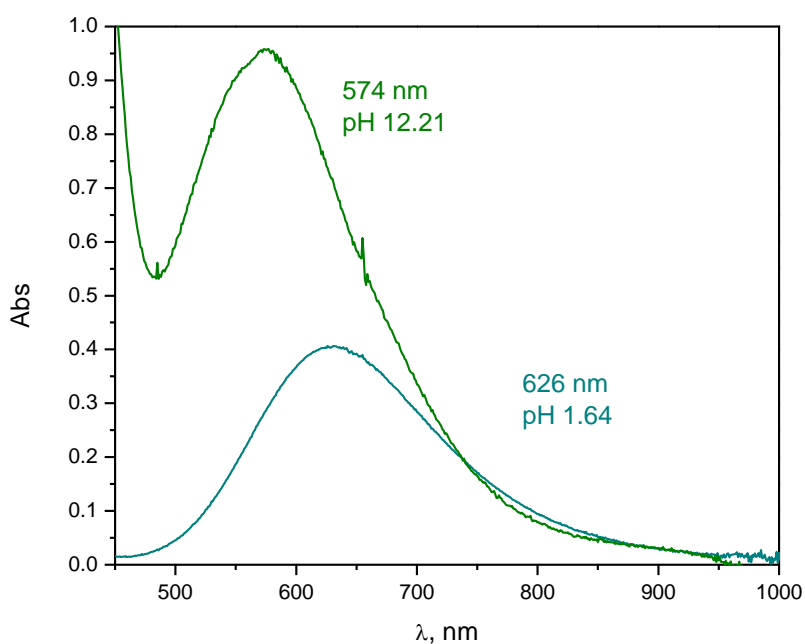
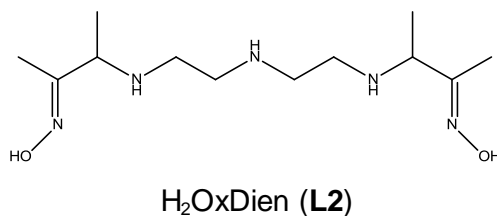


Figura 6.1.9. Espectros electrónicos de una disolución de  $\text{H}_2\text{OxIm}$  6.46 mM y  $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$  3.23 mM a dos valores diferentes de pH en agua a 25°C.

## 6.2. El ligante H<sub>2</sub>OxDien



Se seleccionó este ligante bisoxima pentadentado porque se esperaba que con varios cationes metálicos forme iones complejos muy estables que se coordinen a través de los grupos amina (el ligante se parece a una pentamina alifática no ramificada) y que nos permitan estudiar la reactividad esterolítica que involucra a sus grupos oxima desprotonados, ya sean libres o coordinados, a valores de pH entre 7 y 11 para poder comparar la reactividad y estabilidad de sus iones complejos con las de oximas tetradentadas tipo H<sub>2</sub>Oxen que fueron estudiadas anteriormente [Alpizar 2017]. Si bien en el ligante H<sub>2</sub>Oxen el espaciador entre los grupos oxima es una cadena de etiléndiamina en lugar de dietiléntriamina, se esperaba que la basicidad y reactividad de los grupos oxima no se modifique notablemente ya que es estructuralmente muy cercana a H<sub>2</sub>Oxen.

### 6.2.1. Determinación de las constantes de acidez para el ligante H<sub>2</sub>OxDien.

Se hicieron titulaciones potenciométricas para determinar las constantes de acidez de H<sub>2</sub>OxDien en el intervalo de concentraciones entre 5-12 mM, bajo atmósfera de nitrógeno, a 25°C, utilizando como titulante NaOH estandarizado y agregando tres equivalentes de HCl antes de comenzar la titulación para asegurar la protonación de todas las aminas presentes en la estructura del ligante. En la figura 6.2.1 se muestra el análisis simultáneo de los datos de cuatro titulaciones en el programa *Hyperquad* y en la tabla 6.2.1 se muestran los valores logarítmicos promedio de las constantes de formación obtenidas y sus respectivos valores de pK<sub>a</sub>.

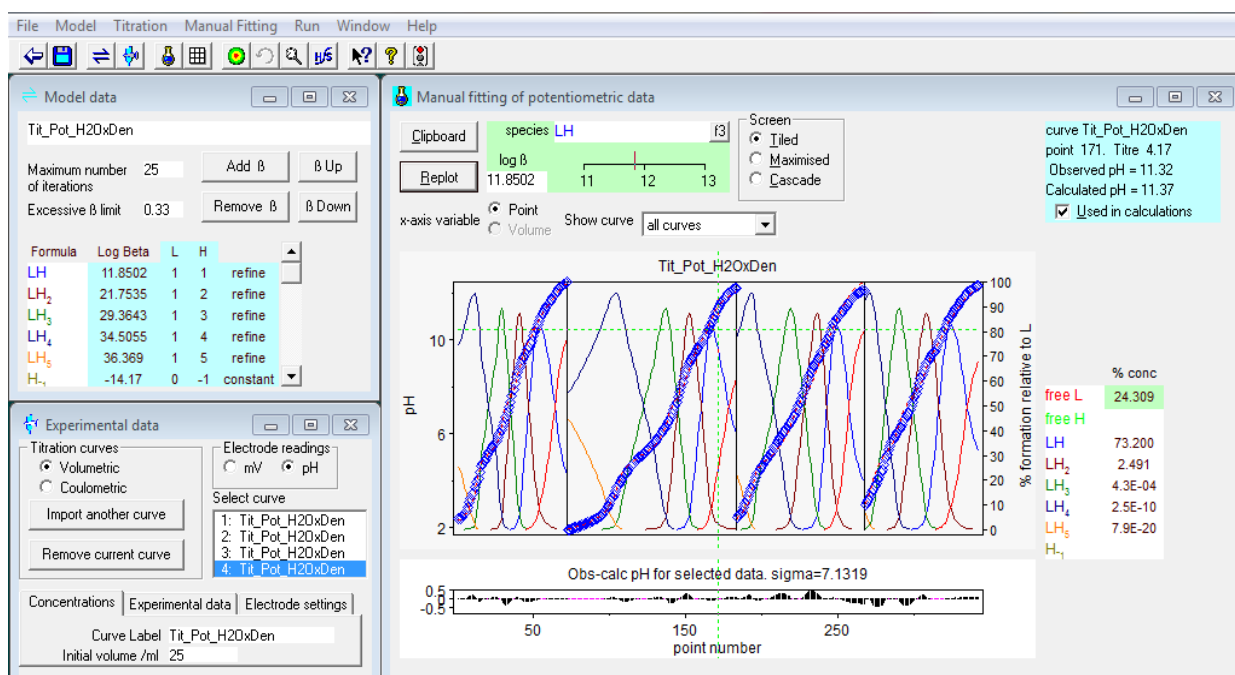


Figura 6.2.1. Ajuste simultáneo de 4 curvas de titulación en el programa *Hyperquad* para la determinación de las constantes de acidez de H<sub>2</sub>OxDien.

Tabla 6.2.1. Logaritmos de las constantes de formación y valores de pK<sub>a</sub> del ligante H<sub>2</sub>OxDien.

Especie	Log β ± ds	pK <sub>a</sub>
H <sub>2</sub> OxDien <sup>-</sup>	11.85 ± 0.06	11.85
H <sub>2</sub> OxDien	21.75 ± 0.07	9.90
H <sub>3</sub> OxDien <sup>+</sup>	29.36 ± 0.09	7.61
H <sub>4</sub> OxDien <sup>2+</sup>	34.51 ± 0.10	5.15
H <sub>5</sub> OxDien <sup>3+</sup>	36.37 ± 0.13	1.86

Estos valores de pK<sub>a</sub> se compararon con los obtenidos anteriormente para el ligante H<sub>2</sub>Oxen [Alpizar 2017], en el que a este ligante se le asignaron los menores valores de pK<sub>a</sub> a las aminas secundarias y los valores de pK<sub>a</sub> mayores se asignaron a la desprotonación de las oximas, esta comparación se realiza en la tabla 6.2.2 en donde se observa que los valores de pK<sub>a</sub> para las aminas secundarias de H<sub>2</sub>OxDien tiene valores muy parecidos a los de H<sub>2</sub>Oxen, sin embargo los grupos oxima del ligante H<sub>2</sub>OxDien son más ácidos debido a que cuenta en su estructura con una amina secundaria adicional y esta cadena espaciadora más larga provoca la disminución de los valores de pK<sub>a</sub> para las oximas, finalmente el pK<sub>a</sub> más bajo corresponde justamente a la amina secundaria central que es muy poco básica. De acuerdo a estas características cabría esperar que el ligante H<sub>2</sub>OxDien se pueda coordinar tanto de forma tetrudentada o pentadentada plegándose sobre el catión metálico o también que dos cationes metálicos puedan coordinarse, aunque más débilmente a un solo ligante.

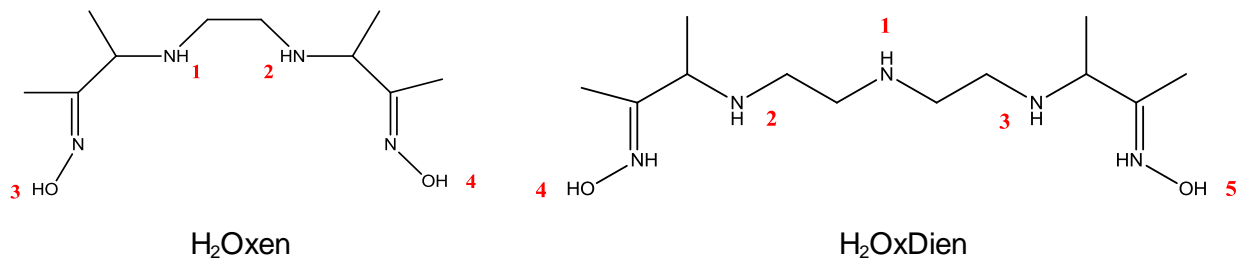


Tabla 6.2.2. Comparación de los valores de  $pK_a$  de las aminoximas H<sub>2</sub>Oxen y H<sub>2</sub>OxDien.

Especies H <sub>2</sub> Oxen	Log $\beta \pm ds$	$pK_a$	Especies H <sub>2</sub> OxDien	Log $\beta \pm ds$	$pK_a$
HOxen <sup>-</sup>	12.13 $\pm$ 0.07	12.13, protón 4	HOxDien <sup>-</sup>	11.85 $\pm$ 0.06	11.85, protón 5
H <sub>2</sub> Oxen	22.97 $\pm$ 0.22	10.84, protón 3	H <sub>2</sub> OxDien	21.75 $\pm$ 0.07	9.90, protón 4
H <sub>3</sub> Oxen <sup>+</sup>	30.71 $\pm$ 0.33	7.74, protón 2	H <sub>3</sub> OxDien <sup>+</sup>	29.36 $\pm$ 0.09	7.61, protón 3
H <sub>4</sub> Oxen <sup>2+</sup>	35.86 $\pm$ 0.37	5.15, protón 1	H <sub>4</sub> OxDien <sup>2+</sup>	34.51 $\pm$ 0.10	5.15, protón 2
			H <sub>5</sub> OxDien <sup>3+</sup>	36.37 $\pm$ 0.13	1.86, protón 1

Así en la figura 6.2.2 se proponen los equilibrios para cada disociación ácida y sus valores de  $pK_a$  de acuerdo a lo obtenido en la tabla 6.2.1.

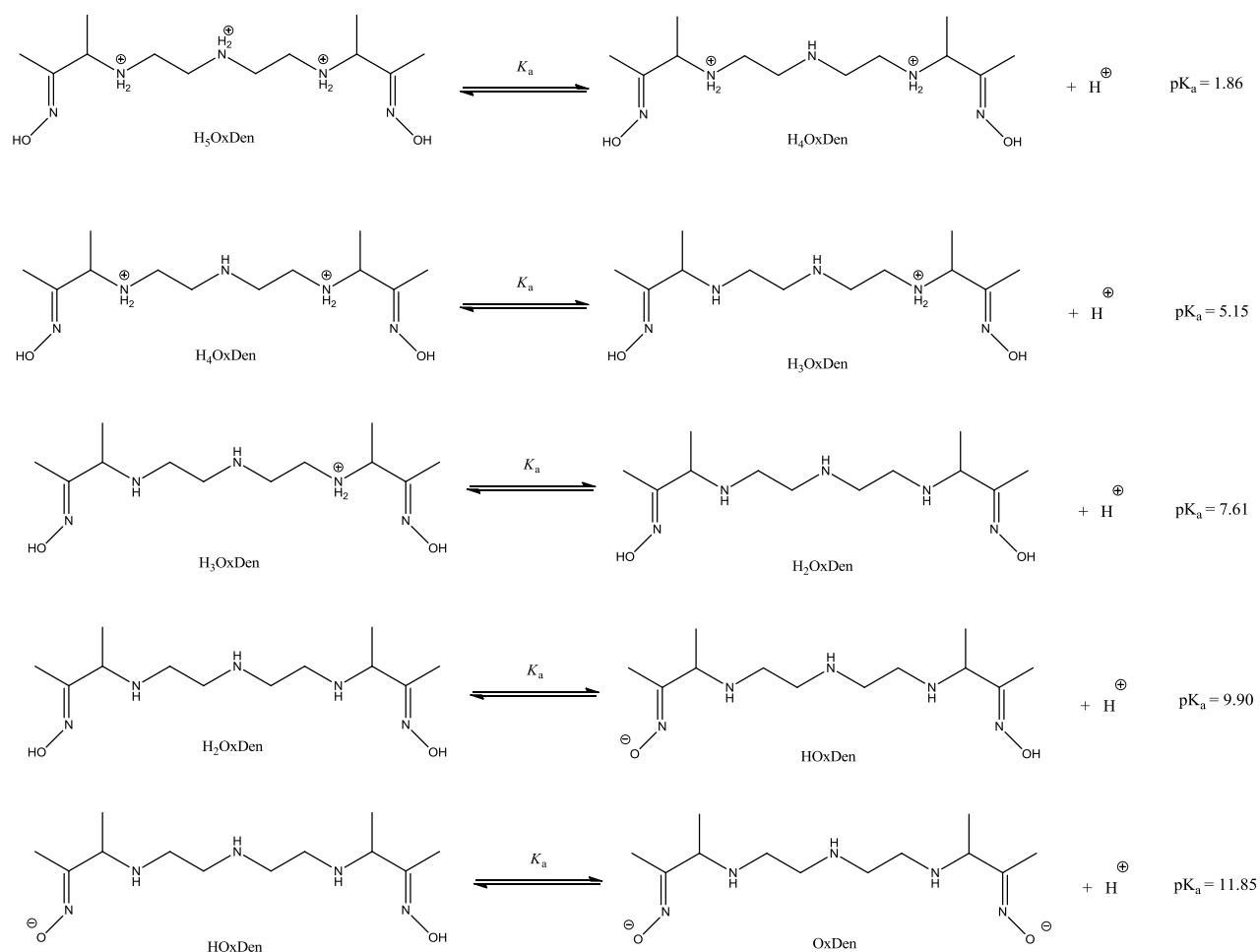


Figura 6.2.2 Equilibrios de disociación ácida del ligante  $H_2OxDien$ .

## 6.2.2. Determinación de las constantes de formación del ligante $H_2OxDien$ con cationes metálicos.

Se determinaron las constantes de formación del ligante pentadentado  $H_2OxDien$  con los cationes  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  y  $Cu^{2+}$  en exceso de ligante con respecto al catión metálico, 1:2, buscando complejar cuantitativamente los cationes metálicos y poder continuar la titulación hasta medios básicos donde precipitan los hidróxidos de los cationes.

Las especies que se encontraron tanto con zinc como con cadmio fueron únicamente especies 1:1 metal:ligante con diferentes grados de protonación:  $[MLH_2]^{2+}$ ,  $[MLH]^+$ ,  $[ML]$ , y  $[ML(OH)]^-$ , lo cual es razonable ya que para este ligante flexible y pentadentado no se espera la formación de complejos con 2 equivalentes del ligante. En la figura 6.2.3 se muestran los ajustes y modelos para

titulaciones del ligante H<sub>2</sub>OxDien en presencia de Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> y en la tabla 6.2.3 se muestran los valores logarítmicos de las constantes de formación acumulativas.

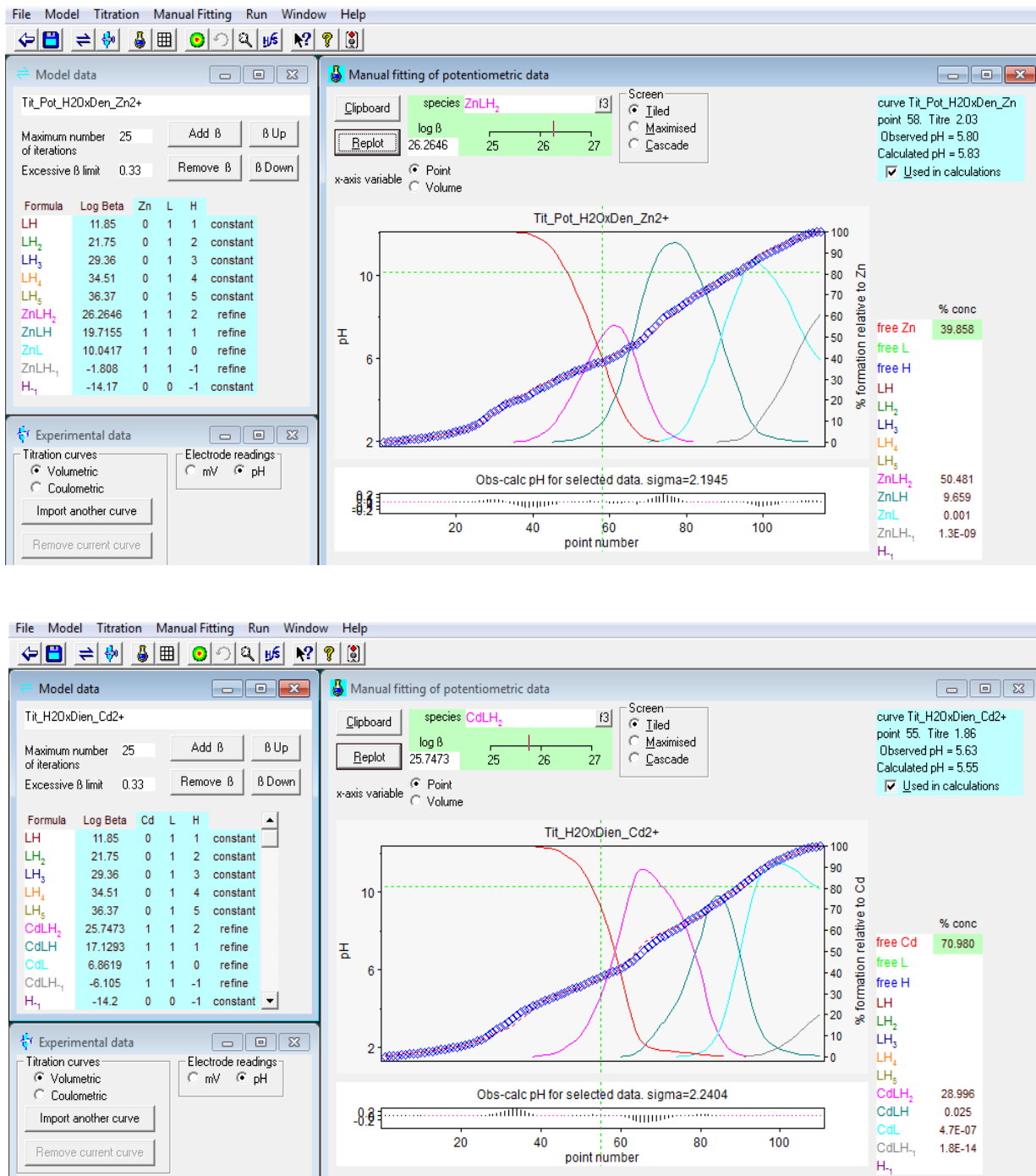


Figura 6.2.3. Ajuste y modelo para de las curvas de titulación potenciométricas de H<sub>2</sub>OxDien con Zn<sup>2+</sup> (parte superior) y Cd<sup>2+</sup> (parte inferior).

Al comparar las constantes de formación acumulativas entre los dos cationes metálicos, observamos que cuando se asocian con el ligante protonado, [MLH<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>, las constantes son muy

parecidas; sin embargo al comparar la asociación con el ligante monodesprotonado,  $[\text{MLH}]^+$  la constante para  $\text{Zn}^{2+}$  es 400 veces mayor y para el ligante totalmente desprotonado,  $[\text{ML}]$ , es 1500 veces mayor, por lo que la estabilidad en disolución de los complejos de  $\text{Zn}^{2+}$  es mayor que para los de  $\text{Cd}^{2+}$  al ir a valores de pH básicos. Esto es congruente con la observación experimental de que si se hacen titulaciones 1:1 con estos cationes metálicos, precipita a menor valor de pH el  $\text{Cd}(\text{OH})_2$  que el  $\text{Zn}(\text{OH})_2$  aunque el zinc sea considerablemente más ácido y duro. Es posible que en el caso del zinc se formen compuestos pentacoordinados incluyendo el nitrógeno de la amina central aunque sea muy poco básico, mientras que en el caso del cadmio el ligante funcione como tetradentado, sin embargo, dado que estos protones se intercambian con el disolvente, no puede verse claramente esta interacción por RMN. Finalmente, es claro que la esfera de coordinación está completada con moléculas de agua, que al desprotonarse genera las especies  $[\text{ML}(\text{OH})]^-$ , dando lugar a que los cationes se encuentren penta o hexacoordinados.

Tabla 6.2.3. Logaritmo de las constantes de formación acumulativas de las especies con  $\text{H}_2\text{OxDien}$  y  $\text{Zn}^{2+}$  y  $\text{Cd}^{2+}$  en agua a  $25^\circ\text{C}$  y sus valores de  $\text{p}K_a$ .

Reacción con $\text{M}^{2+}$	$\text{Zn}^{2+}$ $\log \beta \pm \text{ds}$	$\text{Cd}^{2+}$ $\log \beta \pm \text{ds}$
$\text{M} + \text{L} + 2\text{H} \rightleftharpoons [\text{MLH}_2]^{2+}$	$26.26 \pm 0.05$	$25.75 \pm 0.05$
$\text{M} + \text{L} + \text{H} \rightleftharpoons [\text{MLH}]^+$	$19.72 \pm 0.06$	$17.13 \pm 0.08$
$\text{M} + \text{L} \rightleftharpoons [\text{ML}]$	$10.04 \pm 0.10$	$6.86 \pm 0.09$
$\text{M} + \text{L} + \text{OH} \rightleftharpoons [\text{ML}(\text{OH})]^-$	$12.19 \pm 0.14$	$7.89 \pm 0.23$
Equilibrios ácido-base	$\text{p}K_a$	$\text{p}K_a$
$[\text{MH}_2\text{L}]^{2+} \rightleftharpoons [\text{MLH}]^+ + \text{H}^+$	6.54	8.62
$[\text{MHL}]^+ \rightleftharpoons [\text{ML}] + \text{H}^+$	9.68	10.27
$[\text{ML}(\text{H}_2\text{O})]^{2+} \rightleftharpoons [\text{ML}(\text{OH})]^- + \text{H}^+$	11.85	12.97

Al realizar titulaciones de  $\text{H}_2\text{OxDien}$  con  $\text{Cu}^{2+}$  encontramos que el sistema es un poco más complicado, como se muestra en la figura 6.2.4. El modelo de equilibrios incluye, especies de la misma estequiometría que para  $\text{Zn}^{2+}$  y  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $[\text{MLH}_2]^{2+}$ ,  $[\text{MLH}]^+$ ,  $[\text{ML}]$ , y  $[\text{ML}(\text{OH})]^-$ , pero además una especie  $[\text{M}_2\text{LH}_2]^{4+}$  que implicaría que se pueden coordinar dos iones cobre, quizá de manera bidentada al ligante, y una especie con dos grupos hidroxilo,  $[\text{ML}(\text{OH})_2]^{2-}$ , en la que el cobre podría estar hexacoordinado con los dos grupos OH en posiciones axiales. Las constantes de formación se encuentran en la tabla 6.2.4. La disolución a pH básico es muy estable, tiene color violeta, similar al que se forma en el ensayo de Biuret cuando una proteína reacciona con sulfato de cobre en medio básico y se coordina con amidas de dos aminoácidos de manera N,N,N,N tetradentado

planar y con dos moléculas de agua o hidróxido de forma axial, y también de manera similar se observa que el correspondiente complejo con níquel es amarillo. Se buscó cristalizar este compuesto de coordinación, pero no se tuvieron cristales de calidad adecuada para hacer una difracción de rayos X de monocristal, y como se observó una baja reactividad, no se hicieron mayores intentos por cristalizar el compuesto de coordinación ni por obtener su estructura de rayos X en sólido.

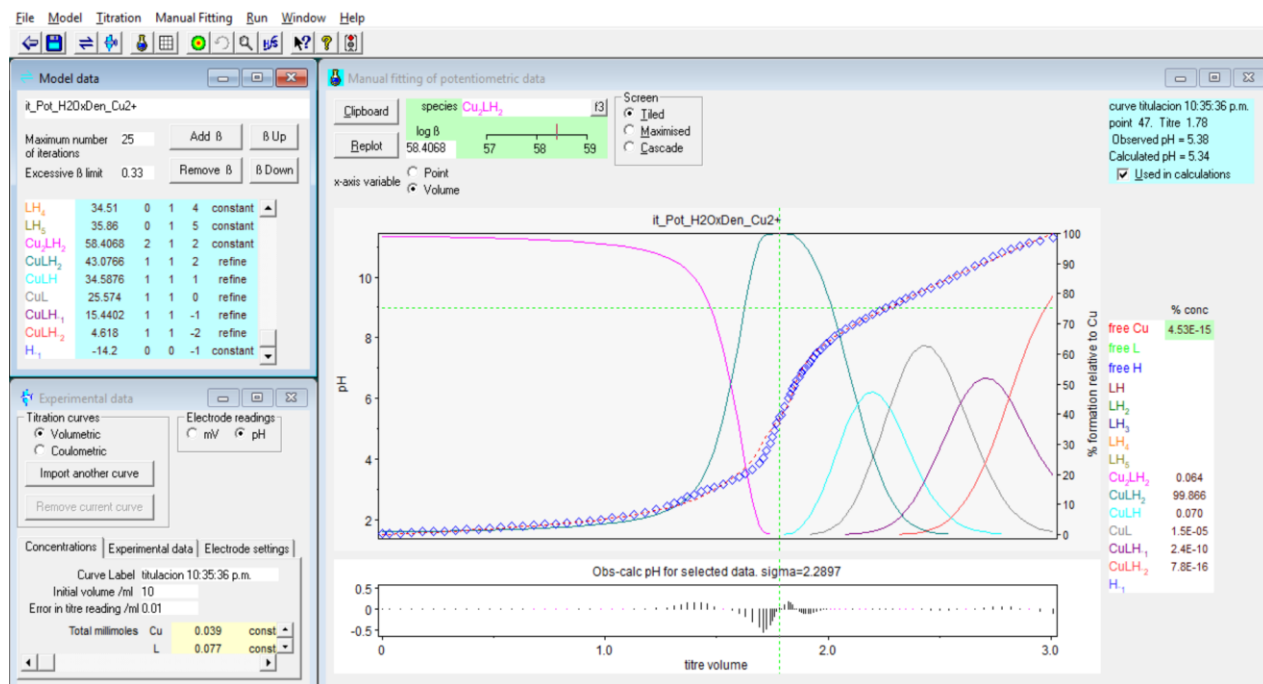


Figura 6.2.4. Ajuste y modelo para de las curvas de titulación potenciométricas de H<sub>2</sub>OxDien con Cu<sup>2+</sup>.

Al mostrar coloración las disoluciones que se hicieron con el ligante H<sub>2</sub>OxDien y Cu<sup>2+</sup>, y posteriormente con Ni<sup>2+</sup>, se obtuvieron unos espectros UV (Figura 6.2.5), ambos obtenidos a pH 8.0 y concentraciones 0.1 mM de L y 0.05 de M<sup>2+</sup>. En el caso de níquel se observó que inicialmente al preparar la disolución del complejo ésta presenta un color amarillo (típico de los complejos planares cuadrados) con una absorción máxima en 360 nm, pero después de un tiempo, la disolución cambia de color hacia el rosa y finalmente aparece un precipitado rosa. Esto podría reflejar que al coordinarse el níquel con el ligante y desprotonarse uno de los grupos oxima, se generara un complejo neutro parecido al que se forma con dimetilgloxima, por lo que resulta un sistema complicado de estudiar pero además tiene baja reactividad. En el caso de los complejos formados con Cu<sup>2+</sup> y el ligante H<sub>2</sub>OxDien, al ir aumentando el pH el color de la disolución cambia de azul marino hacia verde y finalmente morado al ir aumentando el pH lo cual puede reflejar la presencia de especies hidroxio que no precipitan por la presencia del ligante desprotonado. A pH



8.0 coexisten las especies  $[\text{CuH}_2\text{L}]^{2+}$  y  $[\text{CdHL}]^+$  y se observa un máximo en 600 nm que podría indicar que el ligante está coordinado por los nitrógenos, aunque al estar protonado la interacción es más débil que, por ejemplo, con la etiléndiamina que tiene un máximo en 545 nm para  $[\text{Cu}(\text{en})_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ .

Tabla 6.2.4. Logaritmo de las constantes de formación acumulativas de las especies con  $\text{H}_2\text{OxDien}$  y  $\text{Cu}^{2+}$  en agua a 25°C y sus valores de pKa.

Reacción con $\text{Cu}^{2+}$	$\log \beta \pm \text{ds}$
$2\text{Cu} + \text{L} + 2\text{H} \rightleftharpoons [\text{Cu}_2\text{LH}_2]$	$58.41 \pm 0.12$
$\text{Cu} + \text{L} + 2\text{H} \rightleftharpoons [\text{CuLH}_2]$	$43.08 \pm 0.07$
$\text{Cu} + \text{L} + \text{H} \rightleftharpoons [\text{CuLH}]$	$34.59 \pm 0.14$
$\text{Cu} + \text{L} \rightleftharpoons [\text{CuL}]$	$25.57 \pm 0.13$
$\text{Cu} + \text{L} + \text{OH} \rightleftharpoons [\text{CuL}(\text{OH})]$	$15.44 \pm 0.17$
$\text{Cu} + \text{L} + 2\text{OH} \rightleftharpoons [\text{CuL}(\text{OH})_2]$	$18.62 \pm 0.19$
Equilibrios ácido-base	pK <sub>a</sub>
$[\text{CuH}_2\text{L}]^{2+} \rightleftharpoons [\text{CdHL}]^+ + \text{H}^+$	8.49
$[\text{CuHL}]^+ \rightleftharpoons [\text{CdL}] + \text{H}^+$	9.02
$[\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})]^{2+} \rightleftharpoons [\text{CdL}(\text{OH})]^- + \text{H}^+$	10.13
$[\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+} \rightleftharpoons [\text{CdL}(\text{OH})_2]^{2-} + 2\text{H}^+$	10.82

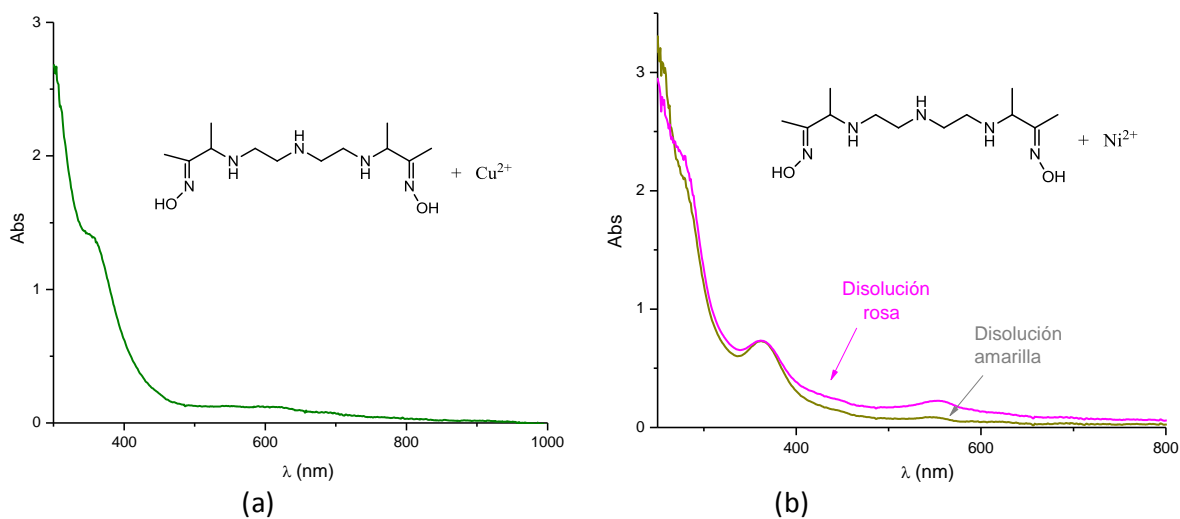
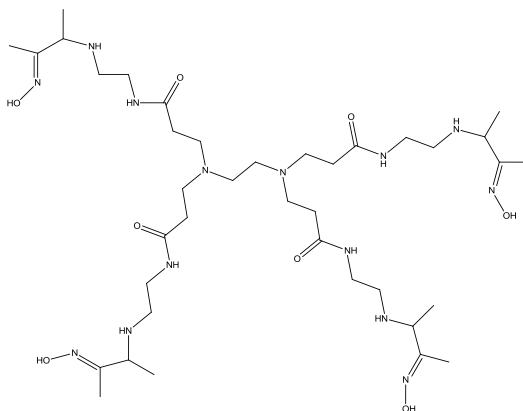


Figura 6.2.5 Espectros UV de los complejos formados con (a)  $\text{H}_2\text{OxDien}$  y  $\text{Cu}^{2+}$ ; (b)  $\text{H}_2\text{OxDien}$  y  $\text{Ni}^{2+}$ .

### 6.3. El ligante H<sub>4</sub>OxP



H<sub>4</sub>OxP (L3)

Se seleccionó este ligante tetraoxima bidentado porque los dendrímeros de tipo PAMAM-NH<sub>2</sub> pueden considerarse como “micelas monomoleculares”, que por efecto hidrofóbico permiten la incorporación no-covalente de sustratos poco solubles en agua, como son paratión y paraoxón. Este dendrímero está poco ramificado, pero resulta interesante saber si se puede obtener algún efecto adicional en la catálisis. Por su terminación –NH<sub>2</sub> puede ser susceptible de modificación mediante su condensación con derivados carbonílicos que contengan la funcionalidad oxima.

#### 6.3.1. Determinación de las constantes de acidez para el ligante H<sub>4</sub>OxP.

Se hicieron titulaciones potenciométricas para determinar las constantes de acidez de H<sub>4</sub>OxP en el intervalo de concentraciones 1-3 mM, bajo atmósfera de nitrógeno, a 25°C. En la figura 6.3.1 se muestra el análisis simultáneo de los datos de dos titulaciones en el programa *Hyperquad*, en la tabla 6.3.1 se muestran los valores logarítmicos promedio de las constantes de formación obtenidas y sus respectivos valores de pK<sub>a</sub>.

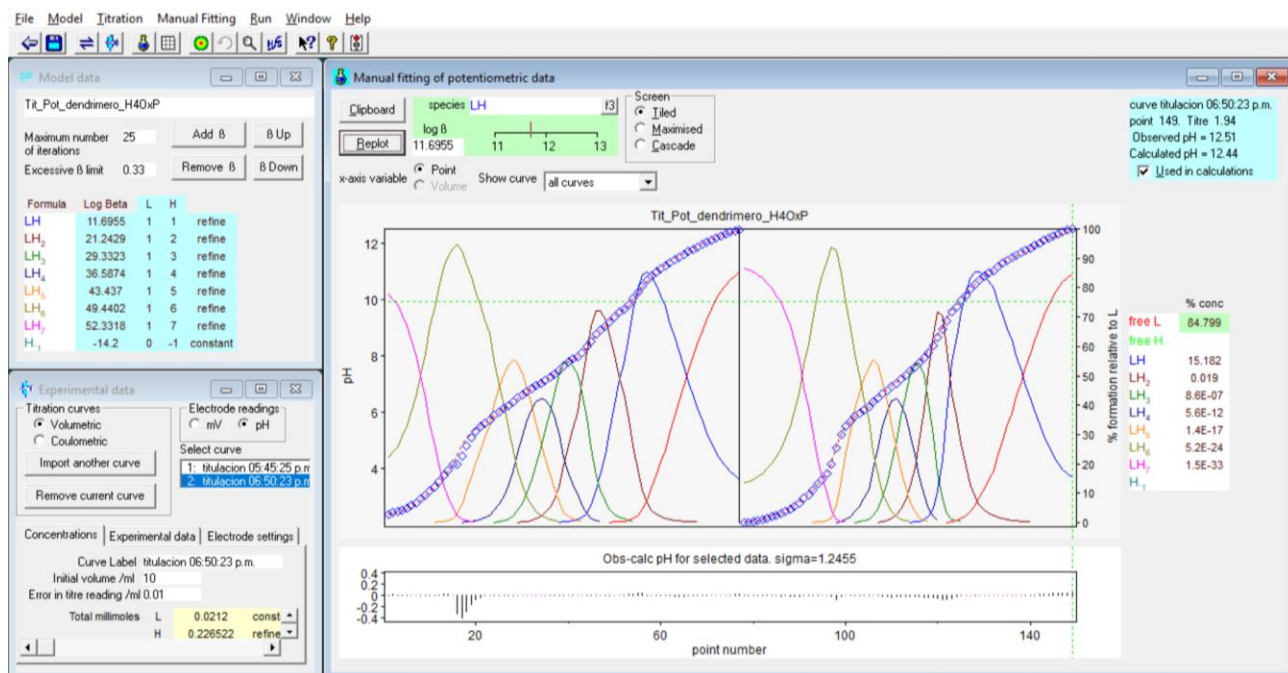


Figura 6.3.1. Ajuste simultáneo de dos curvas de titulación en el programa *Hyperquad* para la determinación de los valores de  $pK_a$  de  $H_4OxP$ .

Tabla 6.3.1. Logaritmos de las constantes de formación y valores de  $pK_a$  de  $H_4OxP$ .

Especie	Log $\beta \pm ds$	$pK_a$
HOxP	11.76 $\pm$ 0.04	11.83
H <sub>2</sub> OxP	23.59 $\pm$ 0.02	11.76
H <sub>3</sub> OxP	33.18 $\pm$ 0.04	9.59
H <sub>4</sub> OxP	41.30 $\pm$ 0.05	8.12
H <sub>5</sub> OxP	48.59 $\pm$ 0.05	7.29
H <sub>6</sub> OxP	55.43 $\pm$ 0.05	6.84
H <sub>7</sub> OxP	61.50 $\pm$ 0.06	6.07
H <sub>8</sub> OxP	64.51 $\pm$ 0.08	3.01

Al emplear moléculas de mayor tamaño y con varios sitios de protonación, es más complicado plantear una asignación razonable. En este caso, para asignar los valores de  $pK_a$  de  $H_4OxP$  se analizaron las constantes de protonación obtenidas mediante titulaciones potenciométricas para el dendrímero PAMAM-NH<sub>2</sub> de generación cero [Cakara 2003], y se compararon con las de nuestras oximas H<sub>2</sub>OxDien y H<sub>2</sub>Oxen. Los valores de  $pK_a$  se muestran en la tabla 6.3.2 (para mayor claridad, se indica el número de protones de la especie con un valor de  $n$ ) y en la figura 6.3.2 se comparan las estructuras de los ligantes H<sub>2</sub>OxDien y H<sub>2</sub>Oxen con el dendrímero PAMAM Gen 0.0, así como la asignación de los valores de  $pK_a$  marcados con números en color.

Tabla 6.3.2. Comparación de valores de  $pK_a$  para PAMAM Gen 0.0, H<sub>4</sub>OxP, H<sub>2</sub>OxDien y H<sub>2</sub>Oxen.

n (HnL)	Dendrímero PAMAM G0, $pK_a$	H <sub>4</sub> OxP $pK_a$	H <sub>2</sub> OxDien $pK_a$	H <sub>2</sub> Oxen $pK_a$
HL	9.70, protón 6	11.83, protón 8	11.85, protón 5	12.13, protón 4
H <sub>2</sub> L	9.26, protón 5	11.76, protón 7	9.90, protón 4	10.84, protón 3
H <sub>3</sub> L	8.74, protón 4	9.59, protón 6	7.61, protón 3	7.74, protón 2
H <sub>4</sub> L	8.31, protón 3	8.12, protón 5	5.15, protón 2	5.15, protón 1
H <sub>5</sub> L	6.68, protón 2	7.29, protón 4	1.86, protón 1	-
H <sub>6</sub> L	3.15, protón 1	6.84, protón 3	-	-
H <sub>7</sub> L	-	6.07, protón 2	-	-
H <sub>8</sub> L	-	3.01, protón 1	-	-

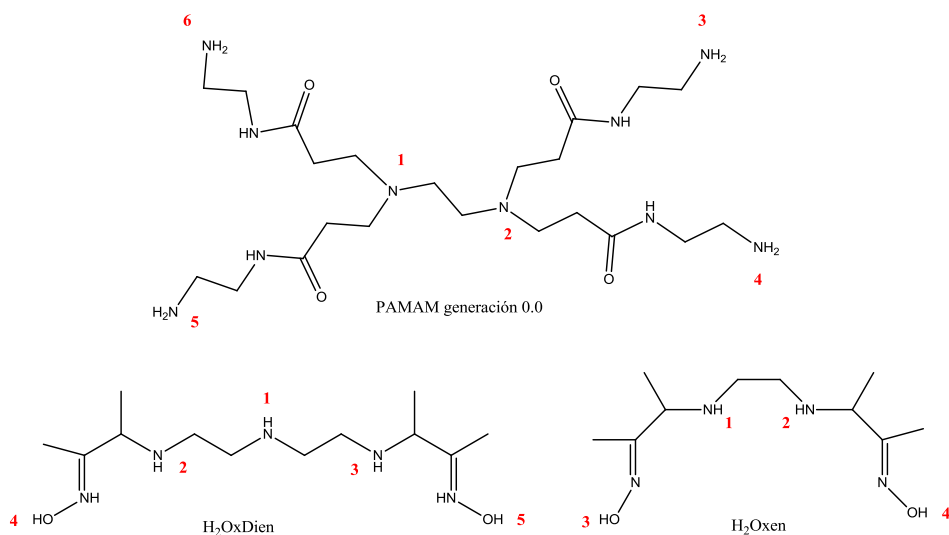


Figura 6.3.2. Asignación de valores de  $pK_a$  para PAMAM Gen. 0.0, y los ligantes H<sub>2</sub>OxDien y H<sub>2</sub>Oxen enlistados en la tabla 6.3.2.

Lo primero que observamos es que en estos sistemas se hace evidente que la secuencia de protonaciones puede incluir varias opciones y éstas deben estar relacionadas con los valores de las constantes macroscópicas. Para el dendrímero PAMAM-NH<sub>2</sub> Gen 0.0 se propuso un modelo para sus microconstantes [Cakara 2003], cuyas protonaciones sucesivas y valores de  $pK_a$  se muestran en la figura 6.3.3; los círculos blancos representan a las aminas desprotonadas y los negros a las aminas protonadas presentes en el dendrímero, no se consideran a las amidas ya que son muy ácidas comparadas con las aminas primarias y secundarias.

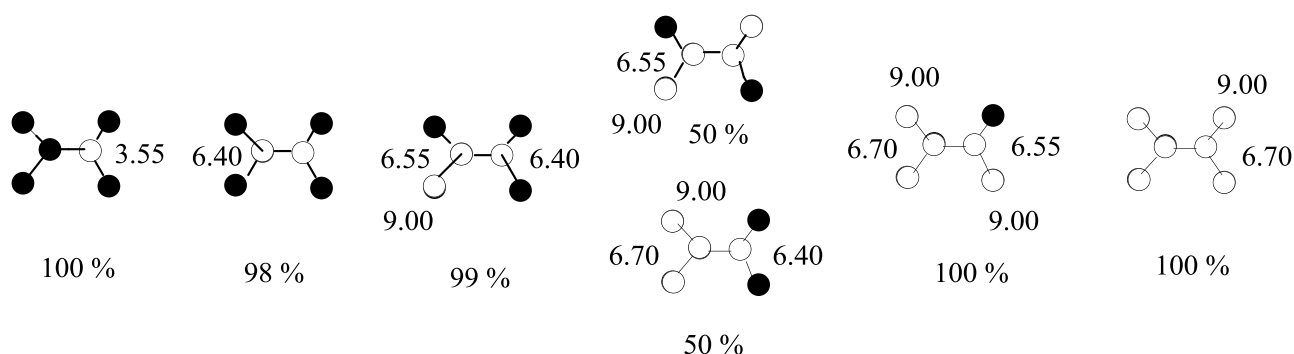


Figura 6.3.3. Protonaciones microscópicas propuestas para el dendrímero PAMAM Gen 0.0 [Cakara 2003].

Como podemos observar, el primer valor de  $pK_a$  de la primer amina terciaria del residuo de etilendiamina es muy ácido, 3.55, pero cuando se desprotona la segunda amina (que es equivalente y está en una molécula simétrica) este valor es de 6.40, y ya no se modifica cuando se desprotona la primer amina primaria periférica que tiene un  $pK_a$  de 9.00; la siguiente desprotonación depende de la posición relativa de las dos opciones equivalentes y de la probabilidad con la que puedan suceder en este modelo que permite a los autores correlacionar estas microconstantes con las constantes macroscópicas que se obtienen por potenciometría. De acuerdo esta secuencia de desprotonaciones, se propone una secuencia similar para el ligante  $H_4OxP$ , en donde se agregan más círculos representando a los protones de los grupo oxima (figura 6.3.4). En nuestro caso, consideramos que las desprotonaciones para dar  $H_3L$  y  $H_2L$  corresponden a las de los grupos oxima y suponemos que las últimas dos desprotonaciones para dar  $HL$  y el ligante totalmente desprotonado, no las vemos porque deben ser muy básicas para una titulación en agua. Así, el análisis de reactividad de los grupos oximato aniónicos se hizo con las especies  $H_3L$  y  $H_2L$ .

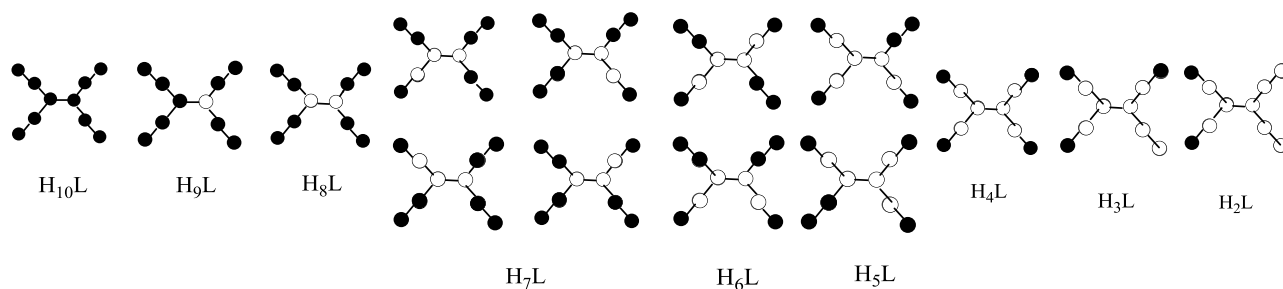


Figura 6.3.4. Protonaciones microscópicas propuestas para del ligante  $H_4OxP$ .

En la figura 6.3.5 se muestra la asignación de cada  $pK_a$  correspondiente a la tabla 6.3.2.

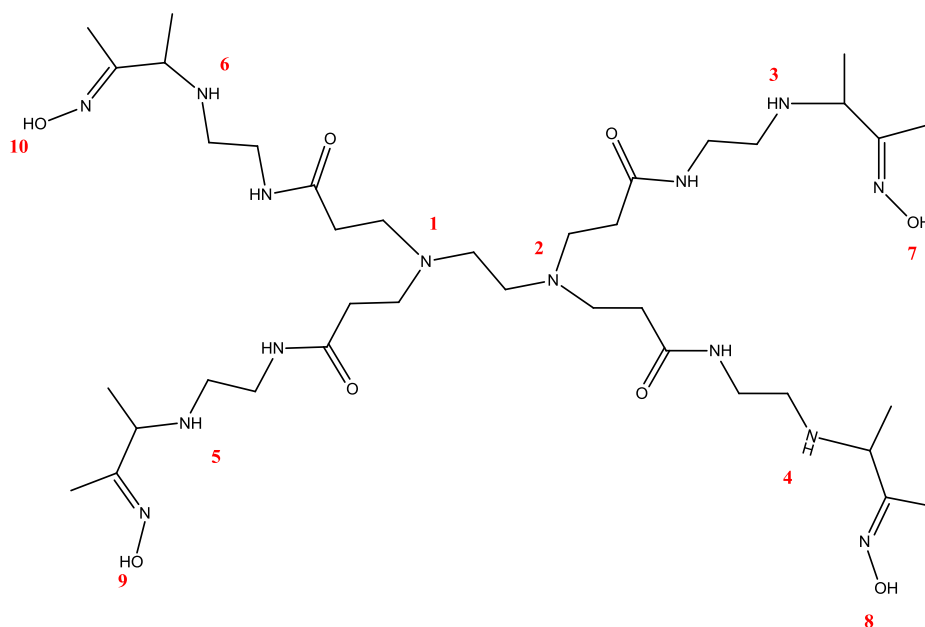


Figura 6.3.5. Asignación de valores de  $pK_a$  propuesta para  $H_4OxP$ .

### 6.3.2. Determinación de las constantes de formación del ligante $H_4OxP$ con $Zn^{2+}$ y $Cd^{2+}$ .

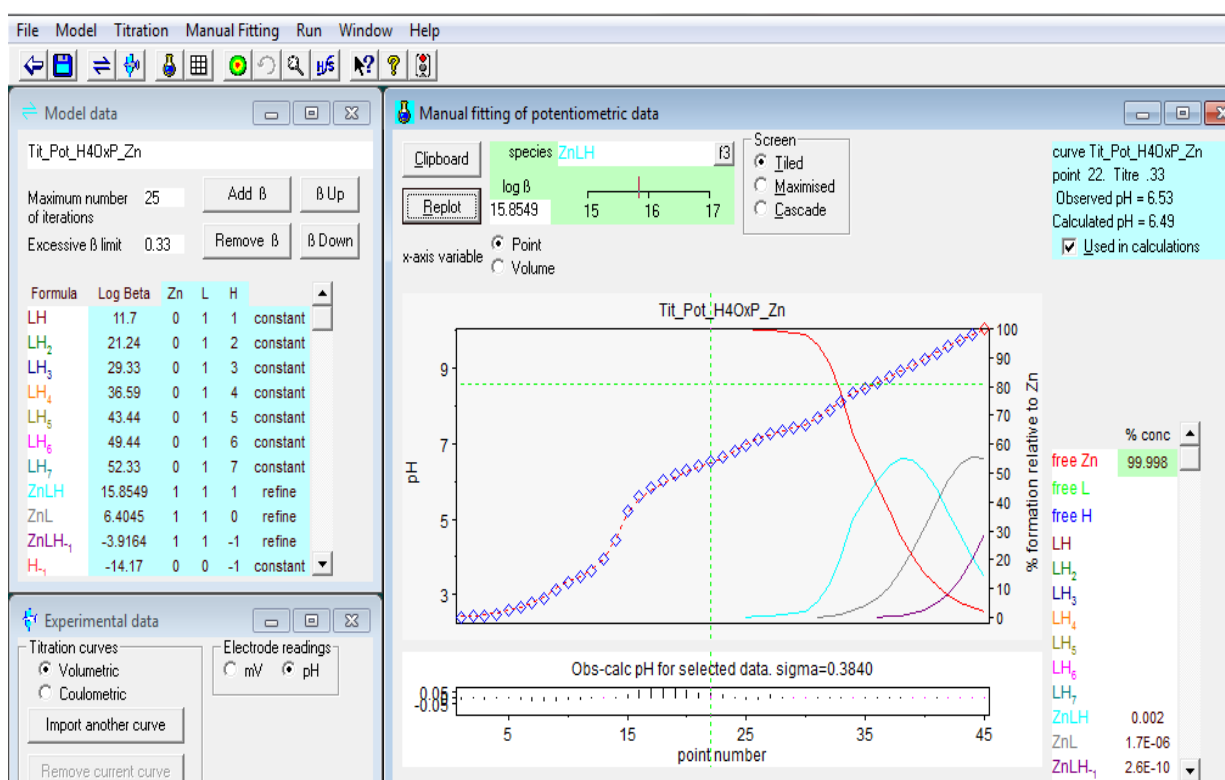
Se determinaron las constantes de formación del ligante  $H_4OxP$  (1.69 mM) mediante titulaciones potenciométricas con los cationes  $Zn^{2+}$  y  $Cd^{2+}$  (1.5 mM) bajo atmósfera de nitrógeno, a 25°C. Se utilizó un pequeño exceso de ligante, pero al llegar a pH 10 la disolución precipitó. Los valores de las constantes acumulativas se enlistan en la tabla 6.3.3. En la figura 6.3.6 se muestra el ajuste de los datos de una titulación en el programa *Hyperquad*. En este caso no se realizaron titulaciones con  $Cu^{2+}$  porque en los estudios previos de reactividad observamos que es menor si la comparamos con los otros ligante estudiados en este trabajo.

Con este ligante, se tienen cuatro sitios de coordinación bidentados (los grupos amida no se consideran), por lo que es razonable esperar que haya precipitación de los hidróxidos de los cationes metálicos a pH más ácido que con los otros ligantes. En el intervalo de pH en el que no observamos precipitación las especies presentes que pudimos plantear a partir de las titulaciones potenciométricas fueron únicamente  $[MLH]$  y  $[ML]$ . Cabe resaltar que volvimos a observar que en el caso del zinc las constantes de formación son mayores que en el caso de cadmio.

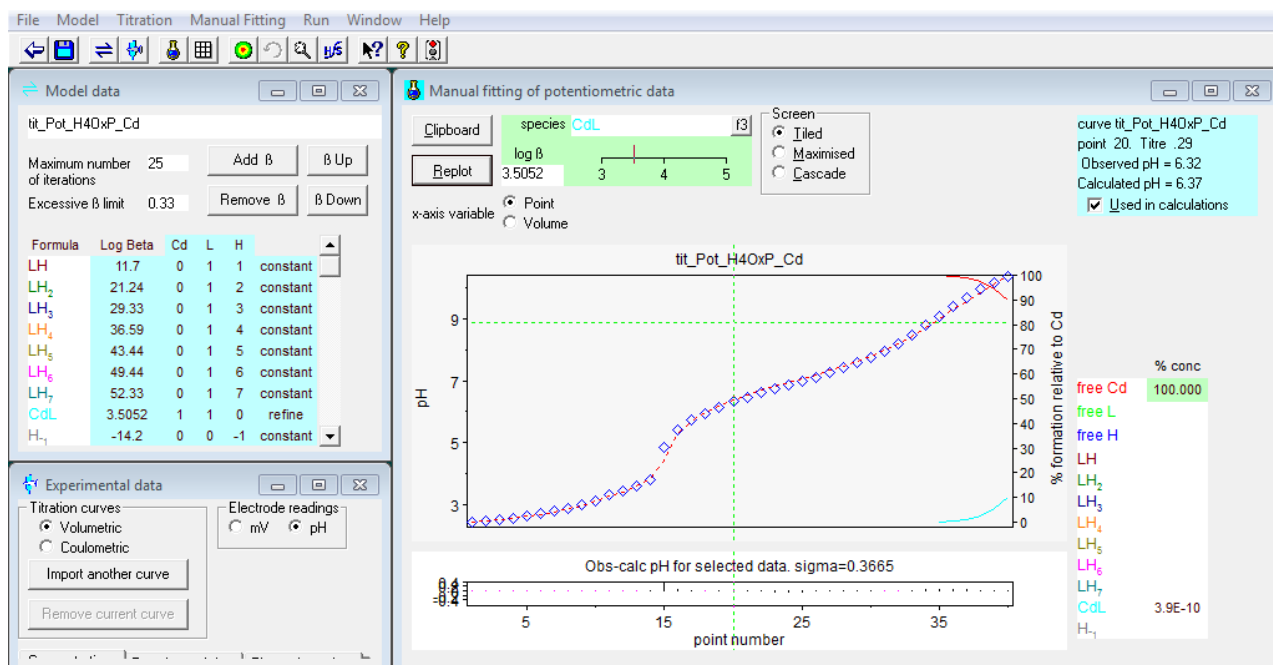
Tabla 6.3.3. Constantes de formación globales,  $\log \beta$ , de los complejos de  $H_4OxP$  con  $Zn^{2+}$  y  $Cd^{2+}$ .

Especie	$H_4OxP + Zn^{2+}$ $\log \beta \pm ds$	$H_4OxP + Cd^{2+}$ $\log \beta \pm ds$
[MLH]	$15.85 \pm 0.10$	
[ML]	$6.40 \pm 0.12$	$3.51 \pm 0.42$
[ML(OH)]	$10.08 \pm 0.24$	

De acuerdo a las constantes obtenidas de las especies formadas en disolución con este ligante que incluye un dendrímero se observa que estas especies son menos estables si las comparamos con las especies formadas en disolución de los ligantes  $H_2OxDien$  y  $H_2OxIm$  coordinados con  $Zn^{2+}$ , ya que, con estos dos ligantes se puede llegar a pH más basicos sin que precipite.



(a)



(b)

Figura 6.3.10. Ajuste y modelo para de las curvas de titulación potenciométrica de H<sub>4</sub>OxP con Zn<sup>2+</sup> (a) y Cd<sup>2+</sup> (b).

#### 6.4. Reactividad esterolítica de los ligantes en función del pH y de sus concentraciones.

Se realizaron dos tipos de estudios cinéticos para determinar la reactividad esterolítica de cada uno de los ligantes sintetizados, empleando siempre NFA como sustrato. En el primer estudio cinético se empleó una concentración de 10 mM para H<sub>2</sub>OxIm y H<sub>2</sub>OxDien a diferentes valores de pH, para el caso de H<sub>4</sub>OxP se utilizó una concentración de 5 mM. De estudios que todavía están en proceso, hemos observado que los efectos relativos con los dendrímeros son mayores cuando la concentración del dendrímero se emplea en concentraciones 0.1 a 1 mM, pero para determinar la reactividad intrínseca de los grupos oxima del dendrímero es necesario que la contribución a la reactividad sea mayor que la contribución de los aniones hidroxilo del medio (lo cual depende del pH), pero una concentración 5 mM nos permite ir hasta valores de pH mayores a 11 y observar la contribución de las oximas pero todavía no son tan rápidas como para que los errores en las determinaciones de las constantes de rapidez observadas conlleven un gran error en su determinación experimental. Estas las constantes de rapidez observadas se determinaron mediante un ajuste no lineal a la ecuación integral 2.

$$y = A_0 + [(A_{inf} - A_0)(1 - e^{-k_{obs}(x)})]$$

Ec. 2



Una vez obtenidos los valores de las constantes observadas en cada valor de pH, se corrigieron por la contribución alcalina, ecuación 3, ya que la constante observada,  $k_{\text{obs}}$ , es la suma de las contribuciones de todos los nucleófilos presentes en la disolución, incluyendo al ion  $\text{OH}^-$  (todas las constantes observadas tienen unidades de  $\text{s}^{-1}$ ).

$$k' = k_{\text{obs}} - k_{\text{OH}} \quad \text{Ec. 3}$$

La  $k_{\text{OH}}$  es la constante de hidrólisis alcalina en cada valor de pH, la cual se obtiene multiplicando la concentración de  $\text{OH}^-$  en cada valor de pH por la constante de segundo orden para la hidrólisis alcalina de NFA determinada experimentalmente,  $14.8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  y que coincide con la constante alcalina antes reportada [Breslow 1965]. En la tabla 6.4.1 se muestran las constantes observadas corregidas por la hidrólisis alcalina para cada ligante ( $k'$ ,  $\text{s}^{-1}$ ), en donde se ha restado la contribución alcalina en cada valor de pH y en la figura 6.4.1 se muestra la contribución de  $\text{H}_2\text{OxIm}$ ,  $\text{H}_2\text{OxDien}$  y  $\text{H}_4\text{OxP}$  en la hidrólisis de NPA en comparación con los iones hidróxido presentes en el medio a cada valor de pH.

Para analizar primero de forma cualitativa esta dependencia, se calculó la distribución de especies para cada ligante en función del pH y se superpusieron las constantes de rapidez observadas obtenidas al realizar los estudios cinéticos en presencia de una concentración 10 mM de  $\text{H}_2\text{OxIm}$  (Figura 6.4.2), 10 mM  $\text{H}_2\text{OxDien}$  (Figura 6.4.3) y 5 mM  $\text{H}_4\text{OxP}$  (Figura 6.4.4). Las constantes fueron medidas hasta valores de pH cercano a 12 ya que a valores de pH mayores el tiempo de vida media es muy corto y se requiere hacer mediciones en un equipo stopped flow, pero las condiciones demasiado básicas no son adecuadas para el tipo de cámara de acero del equipo al que se tiene acceso.

Tabla 6.4.1. Constantes observadas corregidas por la contribución alcalina,  $k'$  s<sup>-1</sup>, en función del pH, para la hidrólisis de NPA, en agua a 25°C.

pH	$k'$ , s <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> OxIm (L1)	$k'$ , s <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> OxDien (L2)	$k'$ , s <sup>-1</sup> H <sub>4</sub> OxP (L3)
5.02	$1.30 \times 10^{-3}$	$9.52 \times 10^{-4}$	$4.13 \times 10^{-4}$
5.52	$1.50 \times 10^{-3}$	$1.23 \times 10^{-3}$	$2.03 \times 10^{-4}$
6.06	$1.80 \times 10^{-3}$	$1.75 \times 10^{-3}$	$1.72 \times 10^{-4}$
6.52	$2.10 \times 10^{-3}$	$2.73 \times 10^{-3}$	$4.03 \times 10^{-4}$
7.04	$1.80 \times 10^{-3}$	$1.90 \times 10^{-3}$	$4.85 \times 10^{-4}$
7.51	$1.90 \times 10^{-3}$	$2.33 \times 10^{-3}$	$8.34 \times 10^{-4}$
8.01	$1.99 \times 10^{-3}$	$3.27 \times 10^{-3}$	$1.38 \times 10^{-3}$
8.51	$2.02 \times 10^{-3}$	$4.27 \times 10^{-3}$	$2.39 \times 10^{-3}$
9	$2.26 \times 10^{-3}$	$5.74 \times 10^{-3}$	$4.86 \times 10^{-3}$
9.54	$2.85 \times 10^{-3}$	$9.69 \times 10^{-3}$	$9.10 \times 10^{-3}$
10.08	$4.36 \times 10^{-3}$	$1.24 \times 10^{-2}$	$1.90 \times 10^{-2}$
10.5	$7.44 \times 10^{-3}$	$3.85 \times 10^{-2}$	$3.69 \times 10^{-2}$
11.01	$1.32 \times 10^{-2}$	$8.59 \times 10^{-2}$	$7.69 \times 10^{-2}$
11.58	$2.30 \times 10^{-2}$	$1.41 \times 10^{-1}$	$9.99 \times 10^{-2}$

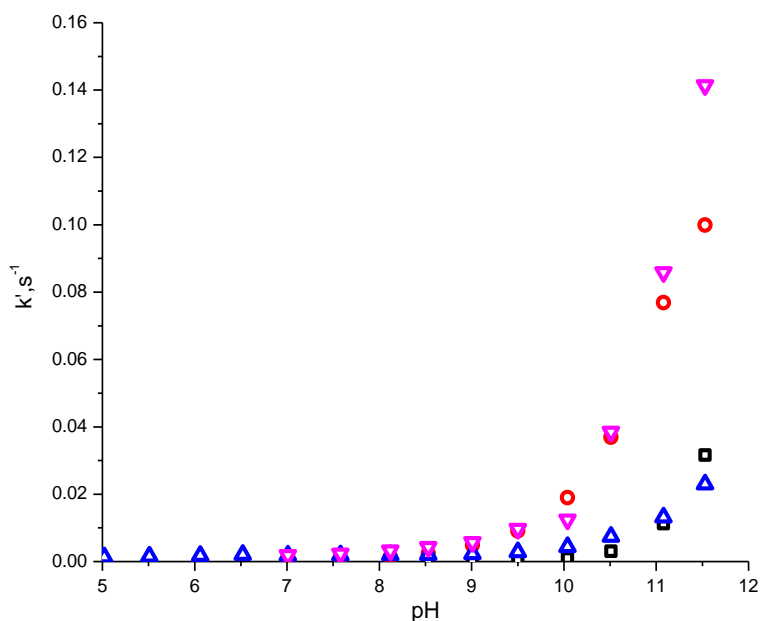


Figura 6.4.1. Constantes de rapidez observadas corregidas por la contribución alcalina en la hidrólisis de NFA en función del pH para (▲) H<sub>2</sub>OxIm, (▼) H<sub>2</sub>OxDien, (○) H<sub>4</sub>OxP y (□) constantes de hidrólisis alcalina. L1 y L2 10 mM en agua 1% acetonitrilo, L3 5 mM, en agua 2% acetonitrilo, amortiguador 50 mM (MOPS, EPPS, CHES o CAPS) a 25°C.

Para  $H_2Oxlm$  se observa que a pH básico, la tendencia de las constantes sigue la distribución de la especie con una oxima desprotonada,  $HOxlm^-$  y existe una pequeña contribución de la especie doblemente desprotonada  $Oxlm^{2-}$ , ya que en la distribución de especies esta especie aparece desde pH 11. Sin embargo se observa que hacia pH neutro o ligeramente ácido, también hay reactividad puesto que la curva no cae a cero, lo que sugiere que la forma neutra de  $H_2Oxlm$  puede participar en la hidrólisis de 4-NFA, así como una pequeña contribución de la especie  $H_3Oxlm^+$ . La reactividad de las especies neutras de las amidoximas hacia 4-NFA ha sido reportada anteriormente por [Simanenko 2001], pero no hay todavía una explicación clara al respecto. Para evaluar cuantitativamente la reactividad del anión oximato, se determinó la concentración de cada una de las especies presentes en disolución y se realizó una regresión lineal múltiple en donde se consideran las especies que pueden tener reactividad en la que se incluyeron a estas cuatro especies anteriormente mencionadas. En la tabla 6.4.2 se muestran las constantes de segundo orden obtenidas de esta correlación, en donde se observa que la especie que contribuye mayoritariamente a la reactividad es  $HOxlm^-$  y esto es coherente, ya que es la especie que se encuentra ya con un grupo oxima desprotonado y esta comienza a aparecer desde pH 9, también se observó una pequeña contribución de la especie doblemente desprotonada con una constante de  $3 M^{-1}s^{-1}$ , sin embargo este valor se omitió de la tabla 6.4.2 porque la fracción de la especie doblemente desprotonada es muy pequeña a valores menores a 11 y, aunque la última cinética que se logró medir fue a pH 11.58, el error en su medición su error es grande comparado con los obtenidos para las otras especies involucradas en la reactividad, esto se debe a que esta especie doblemente desprotonada comienza a aparecer a pH 11.

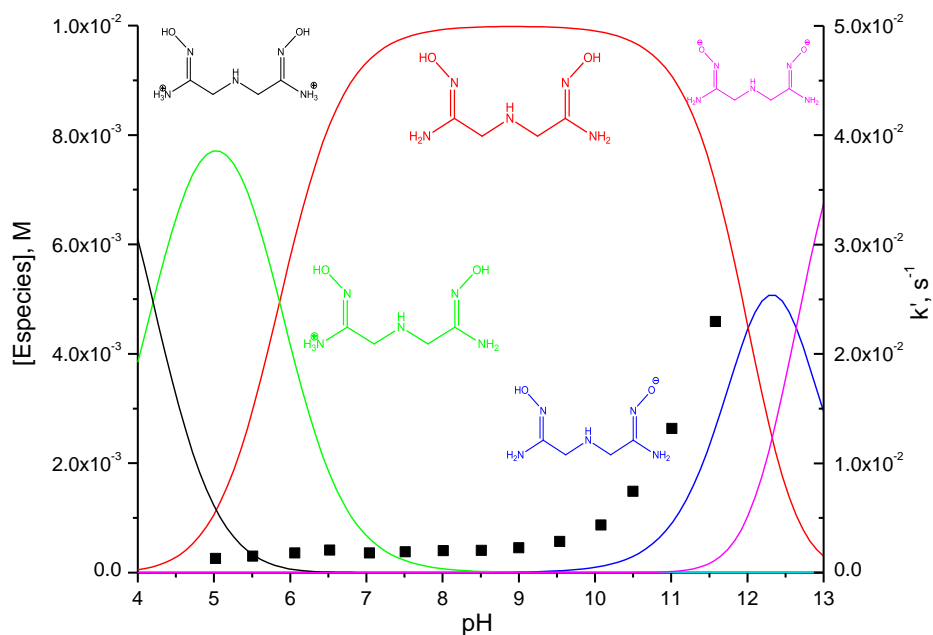


Figura 6.4.2. Distribución de especies presentes en disolución de H<sub>2</sub>OxIm libre en un intervalo de pH de 5-12, (■)  $k'$ , s<sup>-1</sup> a diferentes valores de pH. H<sub>2</sub>OxIm 10 mM, agua, 25°C, 1% acetonitrilo, amortiguador 50 mM (MOPS, EPPS, CHES y CAPS).

En la figura 6.4.3 se muestran las constantes  $k_{\text{obs}}$  experimentales del ligante H<sub>2</sub>OxIm comparadas con el ajuste correspondiente a la ecuación 3, en los que las constantes observadas se descomponen en las constantes de segundo orden multiplicadas por las concentraciones de cada especie reactiva, también se muestra la forma logarítmica. Los valores obtenidos para  $k_3$  a  $k_6$  fueron 0.14, 0.20 y 14 M<sup>1</sup>s<sup>-1</sup> respectivamente, y se encuentran también en la tabla 6.4.2.

$$k_{\text{obs}} = k_3 [\text{H}_3\text{OxIm}]^+ + k_4 [\text{H}_2\text{OxIm}] + k_5 [\text{HOxIm}]^- + k_6 [\text{OxIm}]^{2-} \quad \text{Ec. 4}$$

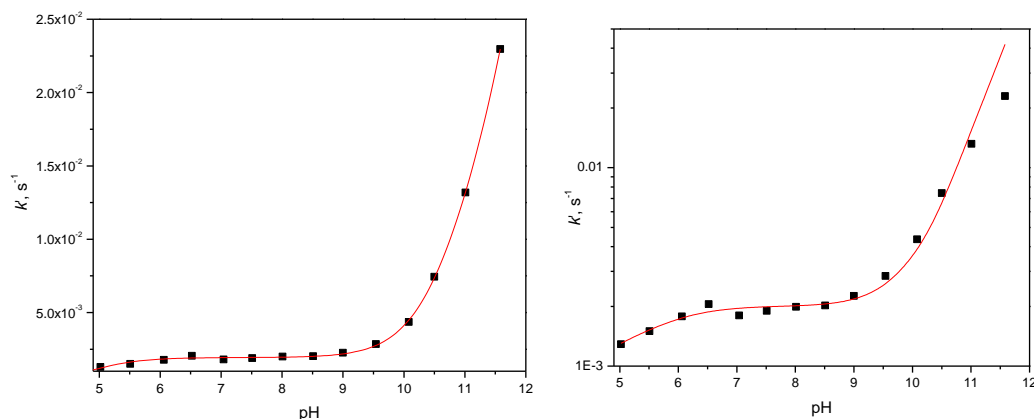


Figura 6.4.3. Constantes de rapidez observadas corregidas por hidrólisis alcalina,  $k'$  s<sup>-1</sup>, en función del pH (■), la línea continua representa la constante calculada de acuerdo a la ecuación 4 y su forma logarítmica (izquierda).

En el caso de  $\text{H}_2\text{OxDien}$ , se observó que la tendencia de las constantes prácticamente sigue la distribución de la especie doblemente desprotonada,  $\text{OxDien}^{2-}$  (Figura 6.4.4). Al hacer una regresión lineal múltiple en donde se consideró también la especie monodesprotonada  $\text{HOxDien}^-$ , se observó que también hay una contribución significativa de esta especie. Los valores obtenidos para  $k_5$  y  $k_6$  fueron  $2.80$  y  $38.27 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  respectivamente, y se encuentran también en la tabla 6.4.2. En la figura 6.4.5 se muestran las constantes experimentales corregidas de pseudoprimer orden del ligante  $\text{H}_2\text{OxDien}$ ,  $k'$  ( $\text{s}^{-1}$ ), comparadas con el ajuste correspondiente a la ecuación 5.

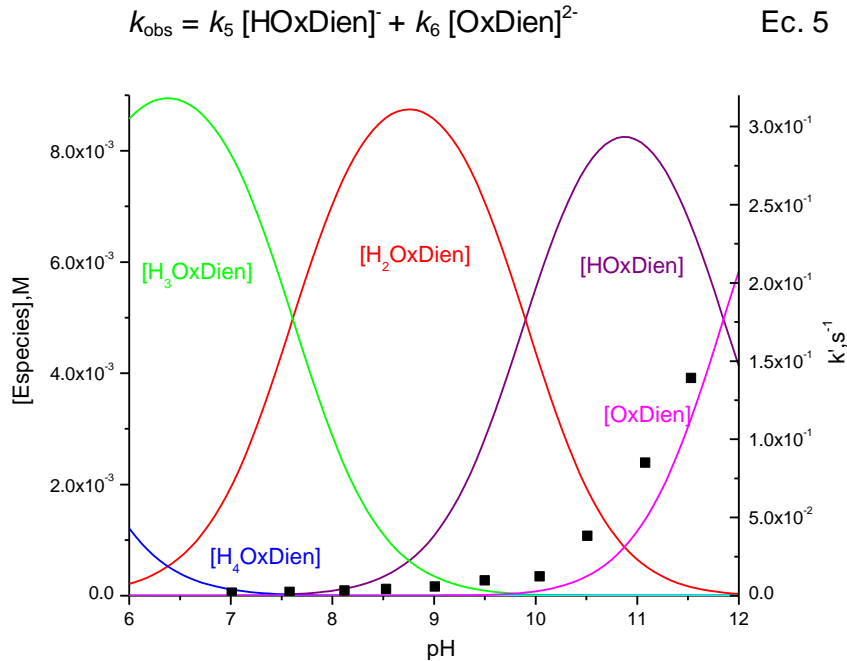


Figura 6.4.4. Distribución de especies presentes en disolución de  $\text{H}_2\text{OxDien}$  libre en un intervalo de pH de 7-12, (■)  $k'$ ,  $\text{s}^{-1}$  a diferentes valores de pH.  $\text{H}_2\text{OxDien}$  10 mM, agua,  $25^\circ\text{C}$ , 1% acetonitrilo, amortiguador 50 mM (MOPS, EPPS, CHES y CAPS).

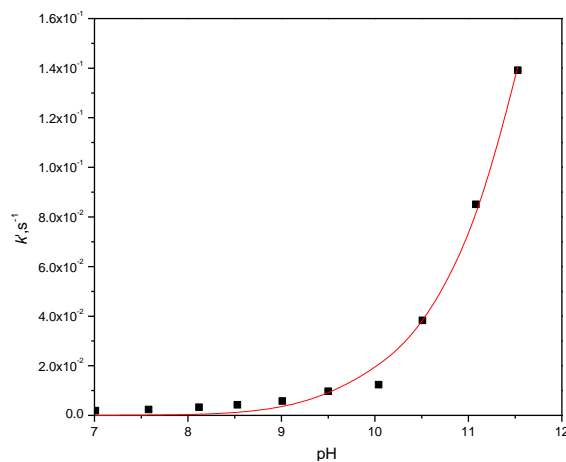


Figura 6.4.5. Constantes de rapidez observadas corregidas por hidrólisis alcalina,  $k'$   $\text{s}^{-1}$ , en función del pH (■), la línea continua representa la constante calculada de acuerdo a la ecuación 5.

Para  $H_4OxP$  tampoco se observa que la tendencia de las constantes siga la distribución de alguna de las especies presentes en disolución por lo que desde el inicio se supuso debería haber más de una especie que participe en la hidrólisis de 4-NFA (Figura 6.4.6). Al realizar una regresión lineal múltiple se obtuvieron contribuciones significativas a las constantes de segundo orden por parte de las especies  $H_3OxP$  y  $H_2OxP$  (Figura 6.4.7), que anteriormente habíamos asignado a los grupos oxima de la molécula. El modelo empleado para explicar la reactividad observada en el intervalo de pH de 7 a 11.5 corresponde a la ecuación 6 que involucra únicamente la concentración de cada una de estas especies multiplicada por su concentración. En la figura 6.4.8 se muestran los valores calculados con esta ecuación comparados con los valores experimentales en coordenadas normales y logarítmicas para poder apreciar que reproduce todos los valores a cada pH.

$$k_{obs} = k_8 [H_3OxP] + k_9 [H_2OxP]^2 \quad \text{Ec. 6}$$

Los valores obtenidos para  $k_8$  y  $k_9$  fueron  $5.4$  y  $70 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  respectivamente; son ligeramente mayores que las determinadas para  $H_2OxDien$  y estas dos a su vez son mayores que las determinadas para  $H_2OxIm$ , éstas constantes se enlistan en la tabla 6.4.2. Las siguientes desprotonaciones de los grupos oxima no se alcanzan a ver por potenciometría ni por estudios cinéticos, por lo tanto es coherente que solo estas dos especies presenten reactividad, ya que no se llega a una desprotonación de todos los grupos oxima.

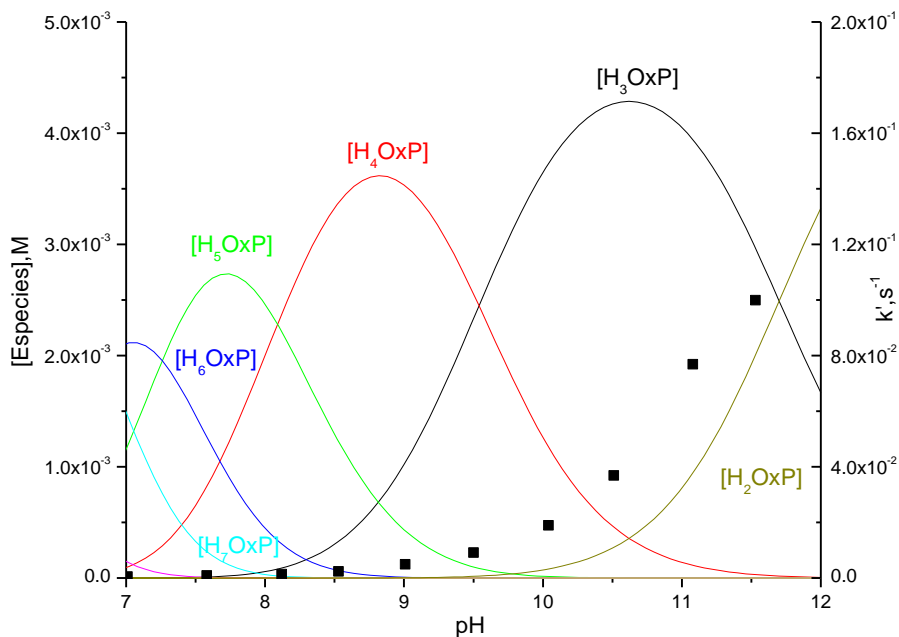


Figura 6.4.6. Distribución de especies presentes en disolución de  $H_4OxP$  libre en un intervalo de pH de 7-12, (■)  $k'$ ,  $s^{-1}$  a diferentes valores de pH.  $H_4OxP$  5 mM, agua,  $25^\circ\text{C}$ , 2% acetonitrilo, amortiguador 50 mM (MOPS, EPPS, CHES y CAPS).

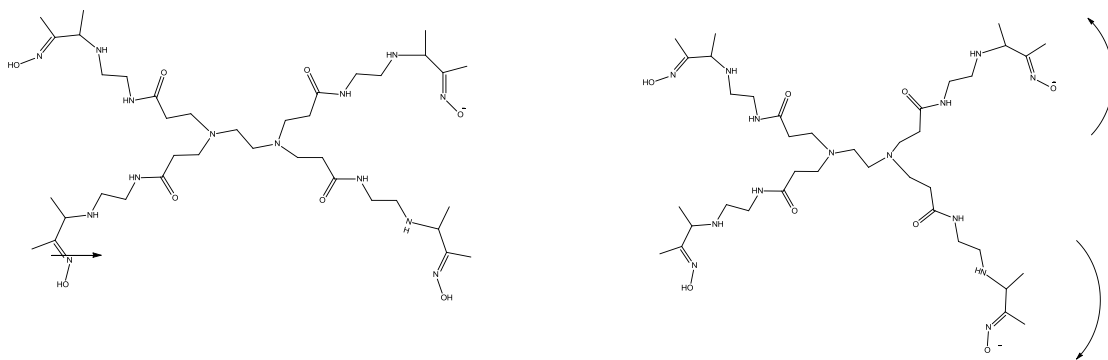


Figura 6.4.7. Especies mono y doblemente desprotonadas del ligante H<sub>4</sub>OxP.

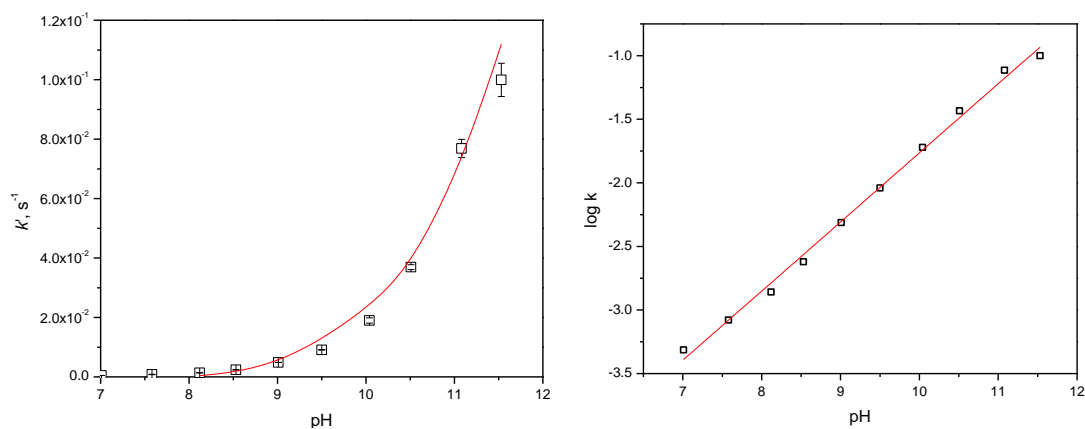


Figura 6.4.8. Constantes de rapidez observadas corregidas por hidrólisis alcalina,  $k'$  s<sup>-1</sup>, en función del pH (■), la línea continua representa la constante calculada de acuerdo a la ecuación 6 (Izquierda). Logaritmo de las constantes obtenidas experimentalmente (Derecha).

Tabla 6.4.2. Constantes de segundo orden para las especies reactivas.

Estructura del ligante	Especie	$k_2$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ) ± ds
	[H <sub>3</sub> OxIm] <sup>+</sup>	0.14 ± 0.04
	[H <sub>2</sub> OxIm]	0.20 ± 0.02
	[HOxIm] <sup>-</sup>	14 ± 1
	[HOxDien] <sup>-</sup>	2.80 ± 0.58
	[OxDien] <sup>2-</sup>	38.27 ± 1.93
	H <sub>3</sub> OxP	5.4 ± 0.8
	H <sub>2</sub> OxP	70 ± 3

El segundo estudio cinético para determinar la reactividad de cada ligante se hizo variando la concentración en un valor fijo de pH, lo cual mantiene constante la fracción del ligante desprotonado cambiando su concentración. Como el comportamiento observado es lineal se obtuvo la constante de segundo orden en cada valor de pH a partir de la pendiente. En la tabla 6.4.3 se enlistan los valores obtenidos de las constantes de segundo orden para cada ligante y en la figura 6.4.9 se muestran algunos resultados de las pendientes obtenidas para cada valor de pH, el resto de los gráficos se encuentran en el anexo II.

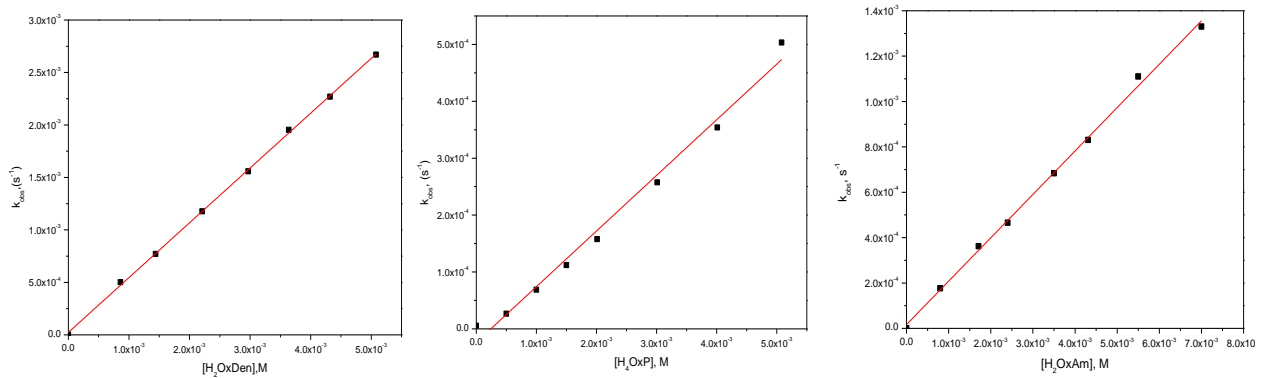


Figura 6.4.9. Dependencia de la concentración de H<sub>2</sub>Oxlm, H<sub>2</sub>OxDen y H<sub>4</sub>OxP a pH=7, en agua a 25°C.

Las constantes de segundo orden obtenidas para cada dependencia de concentración a cada valor de pH se graficaron (figura 6.4.10) y analizaron con la ecuación 7 para obtener un valor de pK<sub>a</sub> aparente, dando un valor de 11.57 para H<sub>2</sub>Oxlm, 10.87 para H<sub>2</sub>OxDen y 9.9 para H<sub>4</sub>OxP, que no corresponden con los obtenidos mediante las titulaciones potenciométricas, esto significa que puede haber participación de más de una especie en la hidrólisis de NFA. El ajuste de los valores de k<sub>obs</sub> respecto al pH en función de las dos especies presentes en disolución en cada caso coincide, dentro de los límites del error, con las constantes de la tabla 6.4.2. Los errores fueron omitidos en la gráfica porque se encuentran dentro de los símbolos empleados excepto para el último punto en el que son del 5-7%.

$$k_{obs} = \frac{(Af+Ai)(10^{pK_a-pH})}{(1+10^{pK_a-pH})} \quad \text{Ec. 7}$$



Tabla 6.4.3. Constantes de segundo orden obtenidas a diferentes valores de pH.

pH	H <sub>2</sub> OxIm $k_2 \pm (d_s) \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$	pH	H <sub>2</sub> OxDien $k_2 \pm (d_s) \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$	pH	H <sub>4</sub> OxP $k_2 \pm (d_s) \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$
5.02	0.066 ± 0.002	7.01	0.522 ± 0.004	7.01	0.098 ± 0.004
5.51	0.093 ± 0.003	7.58	0.600 ± 0.004	7.58	0.10 ± 0.01
6.06	0.120 ± 0.004	8.12	0.648 ± 0.033	8.12	0.19 ± 0.01
6.52	0.177 ± 0.001	8.53	0.926 ± 0.018	8.53	0.48 ± 0.02
7.1	0.191 ± 0.004	9.01	1.184 ± 0.021	9.01	0.83 ± 0.01
7.52	0.201 ± 0.003	9.5	1.850 ± 0.013	9.50	1.53 ± 0.02
8.01	0.214 ± 0.006	10.04	3.129 ± 0.068	10.04	3.17 ± 0.15
8.5	0.211 ± 0.005	10.51	6.855 ± 0.231		
9.03	0.256 ± 0.010	11.08	13.175 ± 0.987		
9.5	0.336 ± 0.003				
10.09	0.571 ± 0.013				
10.52	1.080 ± 0.022				
11.08	2.572 ± 0.020				
11.7	5.917 ± 0.066				

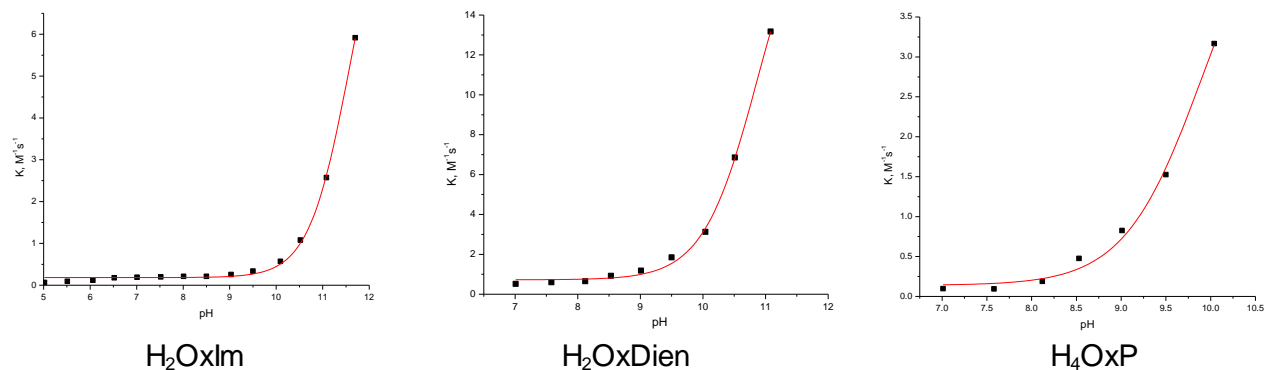


Figura 6.4.8. Constantes de segundo orden para los ligantes libres, la línea continua es un ajuste a la ecuación 7. Se omiten los errores experimentales de la tabla.

## 6.5. Reactividad esterolítica de los ligantes en presencias de cationes metálicos divalentes.

Las primeras pruebas de reactividad catalítica de complejos metálicos de los ligantes H<sub>2</sub>OxIm, H<sub>2</sub>OxDien y H<sub>4</sub>OxP se hicieron en presencia de los cationes metálicos Cd<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup> y Co<sup>2+</sup> para cada uno de los ligantes, en concentraciones fijas del catión y del ligante en proporciones 1:1 y en uno o dos valores de pH, empleando como sustrato modelo 4-NFA. En la figura 6.5.1 se presentan las curvas cinéticas del sistema H<sub>2</sub>OxIm-M<sup>2+</sup> en las que se compara el medio, el ligante solo y el ligante más diferentes cationes metálicos en concentraciones 0.5 mM a pH 7.0 y 8.0, en donde se observa que la reactividad es mucho mayor en presencia de Zn<sup>2+</sup> y Cd<sup>2+</sup>. Al comprobar que la reactividad aumentaba en presencia de cationes metálicos divalentes se hicieron pruebas más detalladas de la reactividad en presencia de Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> y Ni<sup>2+</sup> para hacer el análisis de las especies en disolución que participan en la hidrólisis de 4-NFA.

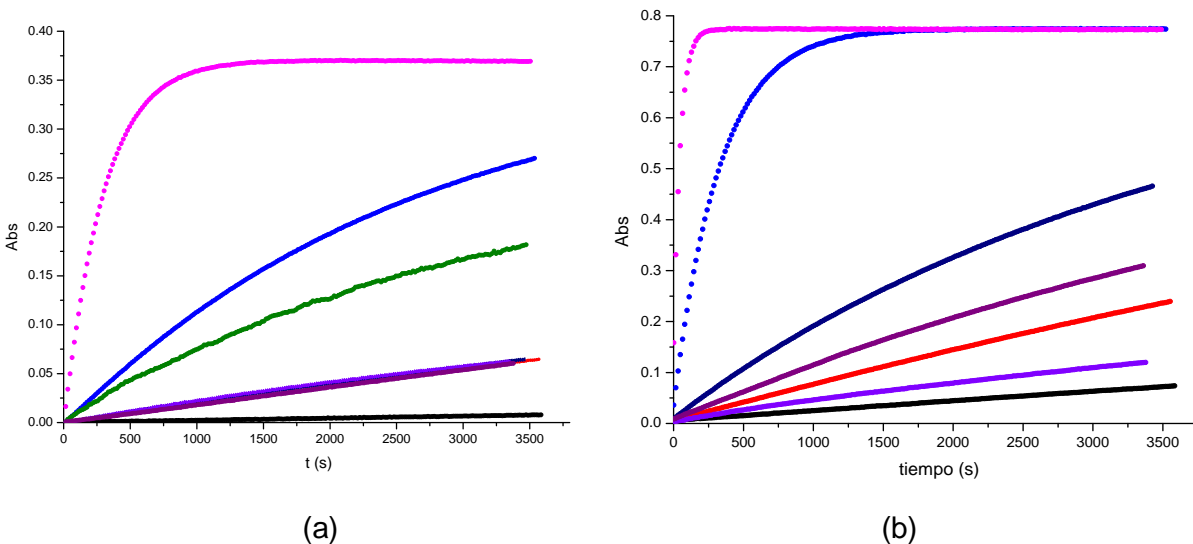


Figura 6.5.1. Curvas cinéticas de la hidrólisis del éster NPA en presencia de H<sub>2</sub>OxIm 0.5 mM y cationes metálicos 0.5 mM, a) pH=7.06, MOPS 20 mM, b) pH=8.0, HEPPS 20 mM en agua a 25°C, medidas a una longitud de onda de 400 nm (●) Amortiguador, (●) H<sub>2</sub>OxIm, (●) H<sub>2</sub>OxIm-Cd<sup>2+</sup>, (●) H<sub>2</sub>OxIm-Zn<sup>2+</sup>, (●) H<sub>2</sub>OxIm-Cu<sup>2+</sup>, (●) H<sub>2</sub>OxIm-Ni<sup>2+</sup>, (●) H<sub>2</sub>OxIm-Co<sup>2+</sup>, (●) H<sub>2</sub>OxIm-Mn<sup>2+</sup>.

En el caso de H<sub>4</sub>OxP se compararon curvas cinéticas obtenidas con pH 9 (figura 6.5.2), a menores concentraciones (0.05 mM del catión) y con un exceso de ligante (0.1 mM de L) ya que los grupos que coordinan al catión metálico son bidentados, los grupos oxima se desprotonan para valores de pH mayores a 9.0 lo que permite evitar la precipitación de los cationes metálicos como hidróxidos. La reactividad observada en presencia de los cationes Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> y Cu<sup>2+</sup> es mayor que la del ligante libre a las mismas condiciones de pH y concentración.

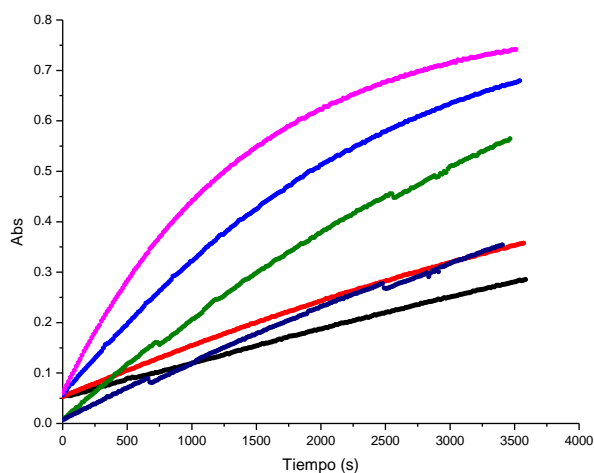


Figura 6.5.2. Curvas cinéticas de la hidrólisis del éster NPA en presencia de  $H_4OxP$  0.1 mM y cationes metálicos 0.05 mM, pH 9.0, CHES 50 mM, en agua a 25°C. (●) Amortiguador, (●)  $H_4OxD$ , (●)  $H_4OxD-Zn^{2+}$ , (●)  $H_4OxD-Cd^{2+}$ , (●)  $H_4OxD-Cu^{2+}$ , (●)  $H_4OxD-Ni^{2+}$ .

Para  $H_2OxDien$  también se obtuvieron curvas cinéticas a pH 9.0 (figura 6.5.3) a menores concentraciones con un exceso de ligante, (0.05 mM del catión y 0.1 mM de L) y nuevamente se observa que para las especies formadas con  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  y  $Cu^{2+}$  hay mayor reactividad que en presencia del ligante al mismo valor de pH y que además, la reactividad observada es mayor que en el caso del ligante derivado de PAMAM,  $H_4OxP$ , sin embargo, como estas condiciones no están optimizadas, no son directamente comparables y es necesario hacer un estudio más detallado, como se indica a continuación en la sección 6.6. A estas condiciones aparentemente los complejos tienen mayor reactividad que los ligantes libres, pero para hacer una comparación válida se requiere determinar las constantes de segundo orden intrínsecas para cada especie.

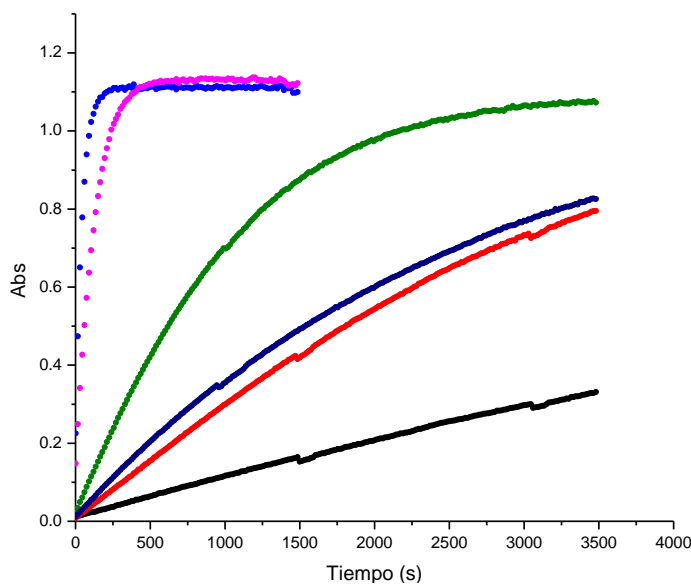


Figura 6.5.2. Curvas cinéticas de la hidrólisis del éster NPA en presencia de  $H_2OxDien$  0.1 mM y cationes metálicos 0.05 mM, pH=9, CHES 50 mM, en agua a 25°C. (●) Amortiguador, (●)  $H_2OxDien$ , (●)  $H_2OxDien-Zn^{2+}$ , (●)  $H_2OxDien-Cd^{2+}$ , (●)  $H_2OxDien-Cu^{2+}$ , (●)  $H_2OxDien-Ni^{2+}$ .

## 6.6. Especies reactivas de los ligantes H<sub>2</sub>OxIm, H<sub>2</sub>OxDien y H<sub>2</sub>OxP en presencia de cationes metálicos.

### 6.6.1. H<sub>2</sub>OxIm y Cd<sup>2+</sup>.

Se estudió la dependencia de la rapidez de reacción en función del pH en presencia de Cd<sup>2+</sup>. De acuerdo a lo observado con sistemas similares anteriores [Alpizar 2017] el primer análisis se hizo considerando que el orden de reacción para las especies cinéticamente activas presentes en disolución es de primer orden. Si esta aproximación es correcta, la constante de rapidez observada debe ser la suma de las contribuciones de todos los nucleófilos presentes en disolución. En el caso de H<sub>2</sub>OxIm, en la ecuación 8 se incluyeron todas las especies que se forman en disolución de acuerdo a lo obtenido en las titulaciones potenciométricas además del ion OH<sup>-</sup>.

$$k_{\text{obs}} = k_1 [\text{H}_4\text{OxIm}]^{2+} + k_2 [\text{H}_3\text{OxIm}]^+ + k_3 [\text{H}_2\text{OxIm}] + k_4 [\text{HOxIm}]^- + k_5 [\text{OxIm}]^{2-} + k_6 [\text{CdH}_2\text{OxIm}]^{2+} + k_7 [\text{CdHOxIm}]^+ + k_8 [\text{CdOxIm}] + k_9 [\text{CdOxIm}(\text{OH})] + k_{10}[\text{OH}^-] \quad \text{Ec. 8}$$

Después, para analizar la reactividad de las especies formadas con Cd<sup>2+</sup>, las  $k_{\text{obs}}$  obtenidas se corrigieron por la contribución de las especies del ligante que presentaron reactividad (H<sub>2</sub>OxIm y HOxIm<sup>-</sup>) y por el medio, de acuerdo a la ecuación 9, esto con el objetivo de obtener sólo la constante observada de las especies con Cd<sup>2+</sup> presentes en disolución.

$$k_{\text{obs}}' = k_{\text{obs}} - (k_3 [\text{H}_2\text{OxIm}] + k_4 [\text{HOxIm}]^- + k_{10} [\text{OH}^-]) \quad \text{Ec. 9}$$

Donde  $k_3$  y  $k_4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ , corresponden a las constantes de segundo orden obtenidas para las especies reactivas de la amidoxima y  $k_{10}$  a la constante de hidrólisis alcalina. Los valores de las constantes observadas ya corregidas se enlistan en la tabla 6.6.1.

Tabla 6.6.1. Valores de  $k_{\text{obs}}'$  a diferentes valores de pH.

pH	$k_{\text{obs}}' (\text{s}^{-1})$	pH	$k_{\text{obs}}' (\text{s}^{-1})$
7.02	$1.01 \times 10^{-4}$	9.53	0.0067
7.5	$2.30 \times 10^{-4}$	10.09	0.0101
8	$5.82 \times 10^{-4}$	10.54	0.0099
8.44	0.0013	11.04	0.0120
9.16	0.0051		

En la figura 6.6.1 se muestra la distribución de especies de cadmio en función del pH, y en la misma gráfica se sobreponen las constantes observadas de rapidez ya corregidas. Haciendo un análisis cualitativo, observamos que las constantes de rapidez siguen la tendencia de la especie monodesprotonada, [CdLH], hasta un pH aproximado de 9.5, pero al aumentar el pH la reactividad ya no sigue esta tendencia por lo que, en la hidrólisis de 4-NFA participan varias especies, probablemente la especie doblemente desprotonada, [CdL], y la que tiene coordinado un OH<sup>-</sup>, [CdL(OH)]. Para determinar si estas especies también participan en la hidrólisis de 4-NFA, y el valor de las constantes de segundo orden para cada complejo de la ecuación 10, se hizo una regresión lineal múltiple tomando en cuenta a todas las especies que incluyen cadmio. El coeficiente de correlación para [CdLH<sub>2</sub>] resultó negativo, lo cual es razonable pues la variación de la concentración de esta especie varía en sentido contrario a las constantes de rapidez, por lo cual se volvió a hacer la correlación excluyéndolo.

$$k_{\text{obs}}' = k_3 [\text{CdH}_2\text{OxIm}]^{2+} + k_4 [\text{CdHOxIm}]^+ + k_5 [\text{CdOxIm}] + k_6 [\text{CdOxIm}(\text{OH})] \quad \text{Ec. 10}$$

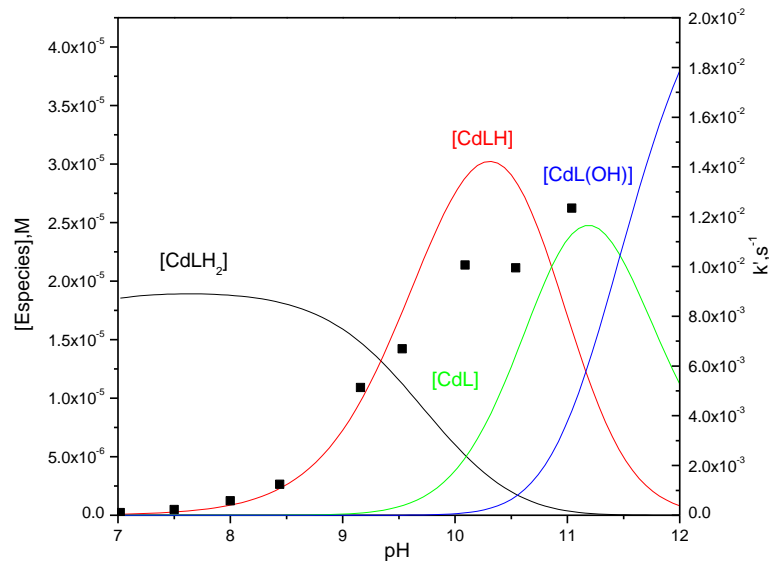


Figura 6.6.1. Distribución de especies Cd-H<sub>2</sub>OxIm en función del pH (lado izquierdo) sobrepuesta con los valores de las constantes de rapidez observadas corregidas,  $k_{\text{obs}}'$ , s<sup>-1</sup>, en función del pH (lado derecho), H<sub>2</sub>OxIm 0.1 mM, Cd<sup>2+</sup> 0.05 mM, MOPS, EPPS, CHES, CAPS 50 mM, en agua a 25°C.

Al hacer la regresión lineal múltiple, se plantearon dos modelos que de acuerdo a los parámetros estadísticos de la regresión, son equivalentes. En el primer modelo encontramos que hay dos especies que participan [CdOxImH], y [CdOxIm] con constantes de segundo orden de  $290 \pm 40 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  y  $220 \pm 50 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  respectivamente. El segundo modelo involucra la participación las especies, [CdOxImH] y [CdOxIm(OH)]<sup>-</sup>, con constantes de segundo orden de  $320 \pm 25 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  ( $k_4$ ) y  $730 \pm 100 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  ( $k_6$ ). El primer modelo se muestra en la figura 6.6.2 como una línea punteada y el segundo modelo se muestra como una línea continua junto con los valores experimentales. El primer

modelo no puede explicar por qué la reactividad sigue aumentando a valores de pH mayores a 10.5, mientras que el segundo sí, además de que el error relativo es mayor en el primer modelo. Por lo tanto, aunque parece más razonable pensar que la reactividad observada entre especies que se forman por desprotonación sucesiva, vemos que la contribución que podemos determinar es mucho mayor para  $[\text{CdOxIm}(\text{OH})^-]$ , y quizá esta sea una razón para que no sea evidente la contribución de la especie  $[\text{CdOxIm}]$  y que se esperaría tenga reactividad. Por lo tanto, se eligió como mejor modelo el segundo, y se propone que estas especies son las que participan en la hidrólisis de 4-NFA, de acuerdo a la ecuación 11. En la tabla 6.6.2 se resumen las constantes de segundo orden seleccionadas para las especies activas cinéticamente, en donde el valor obtenido de la constante de segundo orden para la especie monodesprotonada se dividió entre dos ya que se debe considerar la probabilidad de que hay dos grupos equivalentes que se pueden desprotonar.

$$k_{\text{obs}}' = k_4 [\text{CdOxImH}]^+ + k_6 [\text{CdOxIm}(\text{OH})^-] \quad \text{Ec. 11}$$

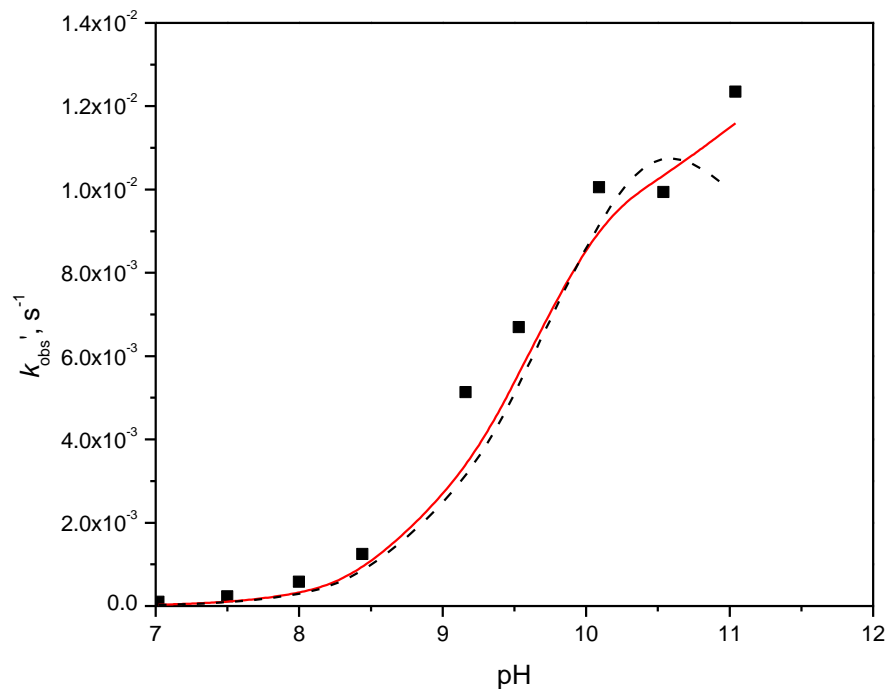
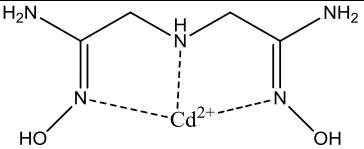


Figura 6.6.2. Constantes de rapidez observadas corregidas en función del pH. La línea continua representa la constante calculada de acuerdo a la ecuación 11 considerando que las especies reactivas son  $[\text{CdHOxIm}]$ ,  $[\text{CdOxIm}(\text{OH})^-]$ .

Tabla 6.6.2. Constantes de segundo orden para las especies de H<sub>2</sub>Oxlm con Cd<sup>2+</sup>.

Estructura propuesta de los complejos formados con Cd <sup>2+</sup>	Especies cinéticamente activas	$k_2$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
	[CdOxlmH] <sup>+</sup>	160 ± 10
	[CdOxlm(OH)] <sup>-</sup>	730 ± 100

Para corroborar si los complejos reactivos con cadmio en disolución sólo tienen estequiometría metal:ligante 1:1, se utilizó el método de variaciones continuas, pero con las constantes de rapidez. Para ello se midieron las constantes de rapidez observadas variando la fracción molar del ligante (y del cadmio) para una concentración total y pH fijo. Al graficar las constantes de rapidez observadas, figura 6.6.3, observamos que hay un máximo en una relación molar 1:1, lo cual indica la estequiometría de la(s) especies reactivas.

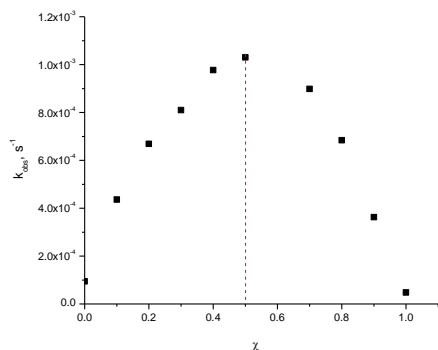


Figura 6.6.3. Método de variaciones continuas para las especies de H<sub>2</sub>Oxlm con Cd<sup>2+</sup>.

### 6.6.2. H<sub>2</sub>Oxlm y Zn<sup>2+</sup>

Se realizaron estudios de reactividad similares a los que anteriormente se describieron con Cd<sup>2+</sup>, de la dependencia de la rapidez de reacción en función del pH en presencia de Zn<sup>2+</sup>. Para el análisis de los resultados cinéticos, primero se consideró que pueden participar todas las especies presentes en disolución de acuerdo a la ecuación 12. Posteriormente las constantes,  $k_{obs}$  s<sup>-1</sup>, se corrigieron por la contribución del ligante y del medio y En la figura 6.6.4 se muestra la distribución de especies sobrepuesta a las constantes observadas de rapidez obtenidas ya corregidas por el medio y por las especies reactivas del ligante.

$$k_{obs} = k_1 [H_2Oxlm] + k_2 [HOxlm^-] + k_3 [Zn(H_2Oxlm)_2] + k_4 [Zn(HOxlm)_2] + k_5 [ZnH_2Oxlm] + k_6 [ZnHOxlm] + k_7 [ZnOxlm] + k_8 [ZnOxlm(OH)] + k_9 [OH^-] \quad \text{Ec. 12}$$

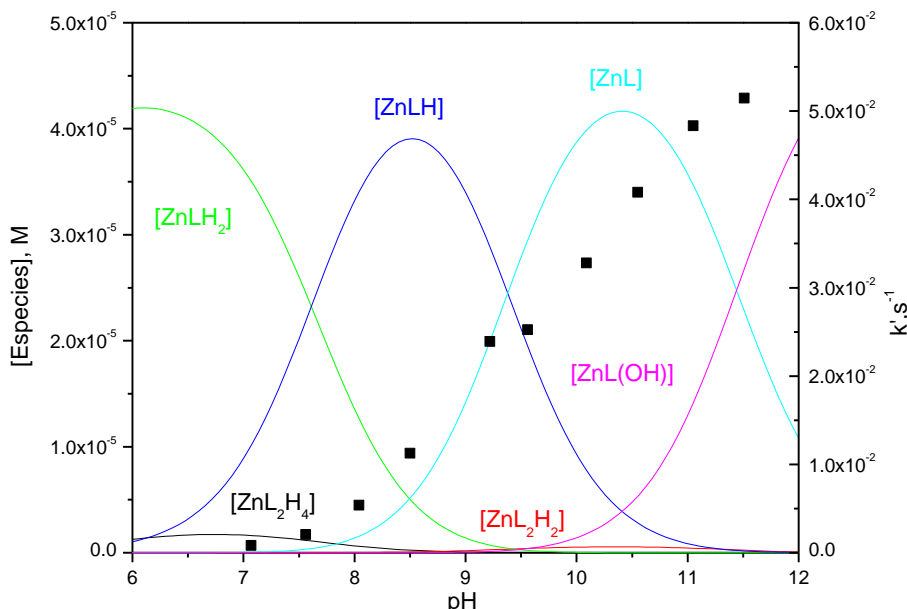


Figura 6.6.4. Distribución de especies Zn-H<sub>2</sub>OxIm en función del pH (lado izquierdo) sobrepuesta con los valores de las constantes de rapidez observadas corregidas,  $k_{obs}'$  s<sup>-1</sup>, en función del pH (lado derecho), H<sub>2</sub>OxIm 0.1 mM, Zn<sup>2+</sup> 0.05 mM, MOPS, EPPS, CHES, CAPS 50 mM, en agua a 25°C.

Al realizar un análisis cualitativo de esta distribución de especies, observamos que las constantes observadas corregidas siguen, hasta un pH aproximado de 9, la distribución de la especie doblemente desprotonada, después de este pH ya no sigue la tendencia de ninguna especie, lo cual se atribuye a que varias especies efectivamente contribuyan en la hidrólisis de NPA, por lo tanto se realizó una regresión lineal múltiple de todas las especies que podrían tener reactividad de acuerdo al diagrama de distribución de especies, en donde, después de hacer la primera correlación se descartaron las especies que contienen dos ligantes y las que están completamente protonadas. Al hacer esta regresión se obtuvieron las constantes de segundo orden para las especies que tienen ligante y zinc, y fueron las especies monodesprotonada, la doblemente desprotonada y la especie con un OH<sup>-</sup>, de acuerdo a la ecuación 13.

$$k_{calc} = k_6 ([ZnHOxIm]) + k_7 ([ZnOxIm]) + k_8 ([ZnOxIm(OH)]) \quad \text{Ec. 13}$$

En la figura 6.6.5 se comparan las constantes experimentales corregidas  $k_{obs}'$  con las constantes calculadas con la ecuación 12 en coordenadas normales y logarítmicas para  $k_{obs}'$ . Vemos que de manera similar a lo observado con cadmio, podemos plantear dos modelos, uno en el que se involucran dos especies [ZnOxIm] y [ZnOxIm(OH)], línea punteada y otro en el que se incluyen tres especies, [ZnHOxIm], [ZnOxIm], y [ZnOxIm(OH)], línea continua. En coordenadas normales ambos ajustes son muy parecidos, sin embargo al compararlos en coordenadas logarítmicas, es claro que en el primer ajuste hace falta una especie que sea responsable por la reactividad observada a valores de pH entre 7 y 9, por lo que el modelo con tres especies, aunque la primer constante



tenga un error experimental grande (30%), explica mejor los datos obtenidos experimentalmente. Las constantes de segundo orden para las especies  $[ZnHOxIm]$ ,  $[ZnOxIm]$ , y  $[ZnOxIm(OH)]$  son respectivamente  $60 \pm 20$ ,  $840 \pm 60$  y  $1350 \pm 100 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  respectivamente después de considerar el factor de probabilidad de los grupos nucleofílicos presentes en las especies; el resumen de estos resultados de se enlistan en la tabla 6.6.3.

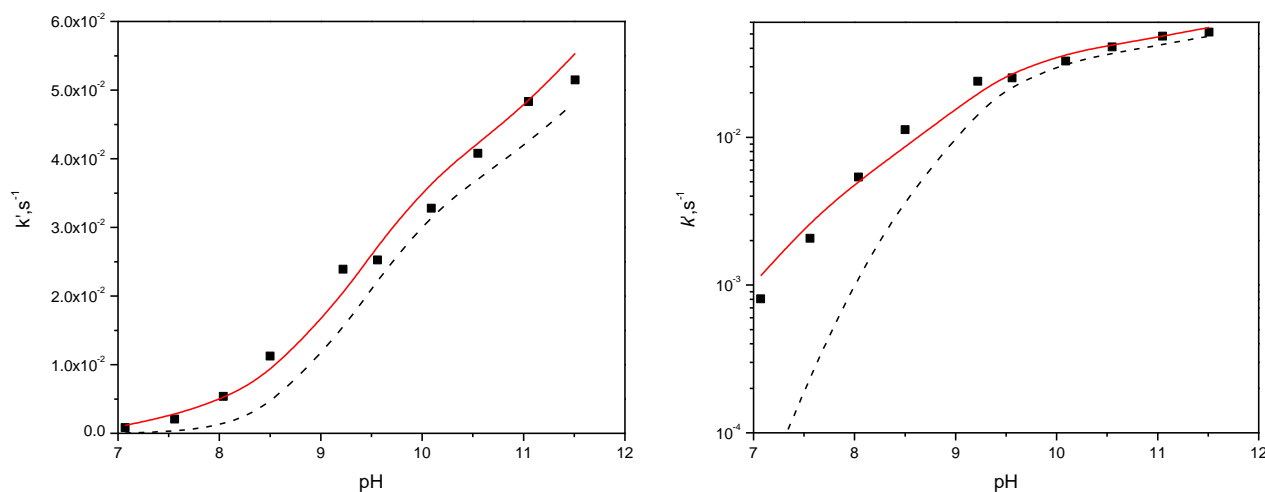


Figura 6.6.5. Constantes de rapidez observadas corregidas en función del pH. La línea continua representa la constante calculada de acuerdo a la ecuación 13 considerando que las especies reactivas son  $[ZnHOxIm]$ ,  $[ZnOxIm]$  y  $[ZnOxIm(OH)]$ .

Tabla 6.6.3. Constantes de segundo orden para las especies de  $H_2OxIm$  con  $Zn^{2+}$ .

Estructura propuesta de los complejos formados con $Zn^{2+}$	Especies cinéticamente activas	$k_2 \text{ (M}^{-1}\text{s}^{-1}\text{)}$
	$[ZnOxImH]^+$	$60 \pm 20$
	$[ZnOxIm]$	$840 \pm 60$
	$[ZnOxIm(OH)]^-$	$1350 \pm 100$

### 6.6.3. $H_2OxIm$ con $Cu^{2+}$

Se estudió la dependencia de la rapidez de reacción en función del pH en presencia de  $Cu^{2+}$ , pero dado que estas reacciones son más lentas que con zinc y cadmio, se realizaron empleando mayores concentraciones del ligante (1 mM) y del catión metálico (0.5 mM). Siguiendo el mismo

análisis que se realizó para los cationes metálicos anteriores, para  $\text{Cu}^{2+}$  se tiene la siguiente ecuación.

$$k_{\text{obs}} = k_1 [\text{H}_2\text{OxIm}] + k_2 [\text{HOxIm}^-] + k_3 [\text{CuH}_2\text{OxIm}] + k_4 [\text{CuHOxIm}] + k_5 [\text{CuOxIm}] + k_6 [\text{CuOxIm}(\text{OH})] + k_7 [\text{OH}^-] \quad \text{Ec. 14.}$$

Al realizar una regresión lineal múltiple de todas las especies que están presentes en disolución, se obtuvo que la única especie que participa en la hidrólisis de 4-NFA es  $[\text{CuOxIm}(\text{OH})]$  dando una constante de segundo orden de  $220 \pm 8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ . Al analizar el diagrama de distribución de especies (figura 6.6.6) vemos que es razonable que sólo haya una especie reactiva pues las constantes observadas siguen el comportamiento de la especie  $[\text{CuOxIm}(\text{OH})]$ .

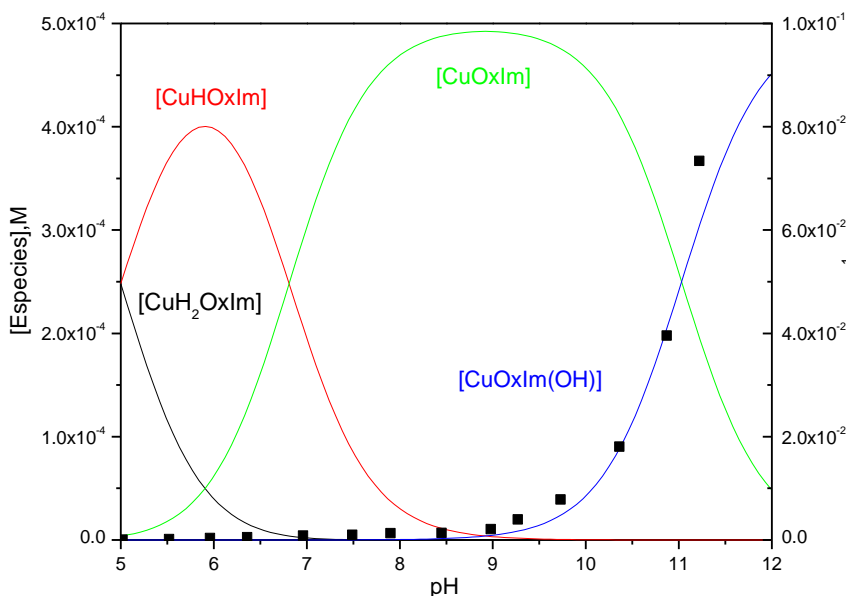


Figura 6.6.6. Distribución de especies  $\text{Cu-H}_2\text{OxIm}$  en función del pH (lado izquierdo) sobrepuesta con los valores de las constantes de rapidez observadas corregidas,  $k_{\text{obs}}$ ,  $\text{s}^{-1}$ , en función del pH (lado derecho),  $\text{H}_2\text{OxIm}$  1 mM,  $\text{Cu}^{2+}$  0.5 mM, MOPS, EPPS, CHES, CAPS 50 mM, en agua a  $25^\circ\text{C}$ .

Para comprobar que este modelo constante reproduce los valores de las  $k_{\text{obs}}$  experimentales, se calcularon estas constantes a partir de la ecuación 15 y se compararon en la figura 6.6.7, donde se observa que efectivamente la única especie compleja reactiva con  $\text{Cu}^{2+}$  es  $[\text{CuOxIm}(\text{OH})]$ .

$$k_{\text{obs}} = k_6 [\text{CuOxIm}(\text{OH})] \quad \text{Ec. 15}$$

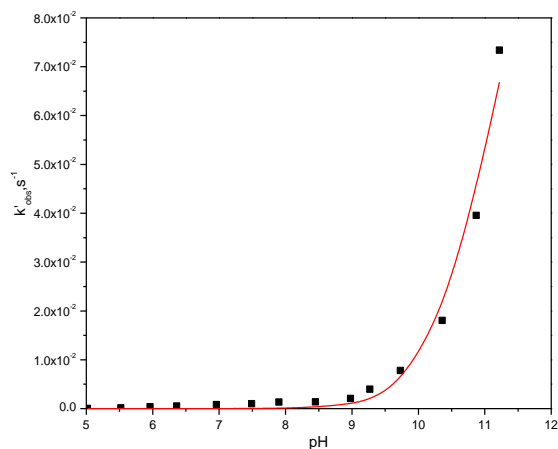


Figura 6.6.7. Constantes de rapidez observadas corregidas en función del pH. La línea continua representa la constante calculada de acuerdo a la ecuación 15 considerando que la especie reactiva es [CuOxIm(OH)].

#### 6.6.4. H<sub>2</sub>OxDien con Cd<sup>2+</sup>

Considerando que el orden de reacción para las especies presentes en disolución que puedan ser cinéticamente activas es de primer orden, se tiene la ecuación 16.

$$k_{obs} = k_1 [\text{HOxDien}] + k_2 [\text{OxDien}] + k_3 [\text{CdH}_2\text{OxDien}]^{2+} + k_4 [\text{CdHOxDien}]^+ + k_5 [\text{CdOxDien}] + k_6 [\text{CdOxDien(OH)}] + k_7 [\text{OH}^-] \quad \text{Ec. 16}$$

En el diagrama de distribución de especies de cadmio con OxDien<sup>2-</sup>, figura 6.6.8, se observa que las constantes observadas corregidas no siguen la tendencia en reactividad de ninguna de las especies presentes en disolución en particular, por lo tanto la reactividad observada se analizó en función de todas las especies complejadas con cobre presentes en disolución, después de corregir las constantes por las contribuciones del ligante libre y del medio. De este análisis se encontró que únicamente las especies mono y doblemente desprotonadas presentan reactividad. Estos valores se enlistan en la tabla 6.6.4.

Tabla 6.6.4. Constantes de segundo orden para las especies de H<sub>2</sub>OxDien con Cd<sup>2+</sup>.

Estructura propuesta de los complejos formados con Cd <sup>2+</sup>	Especies cinéticamente activas	$k_2$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
	[CdOxDienH] <sup>+</sup>	90 ± 8
	[CdOxDien]	440 ± 19

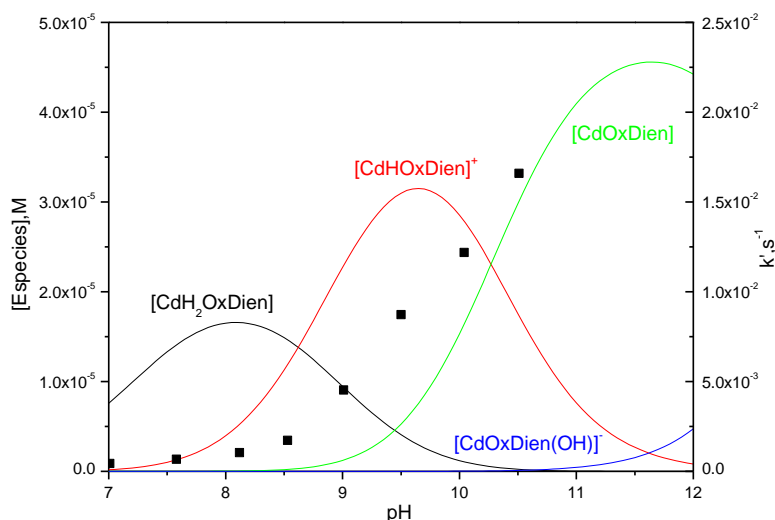


Figura 6.6.8. Distribución de especies Cd-H<sub>2</sub>OxDien en función del pH (lado izquierdo) sobrepuesta con los valores de las constantes de rapidez observadas corregidas,  $k_{obs}$ , s<sup>-1</sup>, en función del pH (lado derecho), H<sub>2</sub>OxDien 0.1 mM, Cd<sup>2+</sup> 0.05 mM, MOPS, EPPS, CHES, CAPS 50 mM, en agua a 25°C.

En la figura 6.6.9 se comparan los valores de las  $k_{obs}$  experimentales con las constantes calculadas, se calcularon estas constantes a partir de la ecuación 17, de donde las especies reactivas son [CdHOxDien]<sup>+</sup> y [CdOxDien] con constantes de segundo orden 90 y 440 M<sup>1</sup>s<sup>-1</sup>, donde ya se considera la mitad del valor de la especie monodesprotonada al considerar la probabilidad de que cualquiera de los dos grupos presentes se pueda desprotonar.

$$k_{obs} = k_4 [CdHOxDien]^+ + k_5 [CdOxDien] \quad \text{Ec. 17}$$

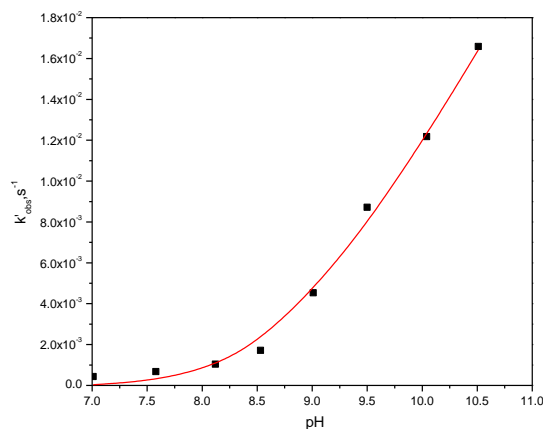


Figura 6.6.9. Constantes de rapidez observadas corregidas en función del pH. La línea continua representa la constante calculada de acuerdo a la ecuación 16 considerando [CdHOxDien]<sup>+</sup> y [CdOxDien] como las especies reactivas.

### 6.6.5. H<sub>2</sub>OxDien con Zn<sup>2+</sup>

Los datos cinéticos del ligante H<sub>2</sub>OxDien con Zn<sup>2+</sup> se analizaron mediante la ecuación 18.

$$k_{\text{obs}} = k_1 [\text{HOxDien}] + k_2 [\text{OxDien}]^- + k_3 [\text{ZnH}_2\text{OxDien}]^{2+} + k_4 [\text{ZnHOxDien}]^+ + k_5 [\text{ZnOxDien}] + k_6 [\text{ZnOxDien}(\text{OH})] + k_7 [\text{OH}^-] \quad \text{Ec. 18}$$

El diagrama de distribución de especies sobrepuesto con las constantes de rapidez, figura 6.6.10, nos permite ver, al menos cualitativamente, que las constantes observadas corregidas siguen la tendencia en reactividad de la especie doblemente desprotonada presente en disolución. Aunque se tienen muy pocos datos en función del pH, al realizar una correlación lineal múltiple de las especies que podrían presentar reactividad de acuerdo a la desprotonación de los grupos oximas, se obtuvo que las especies mono y doblemente desprotonadas presentan reactividad. Estos valores se enlistan en la tabla 6.6.5.

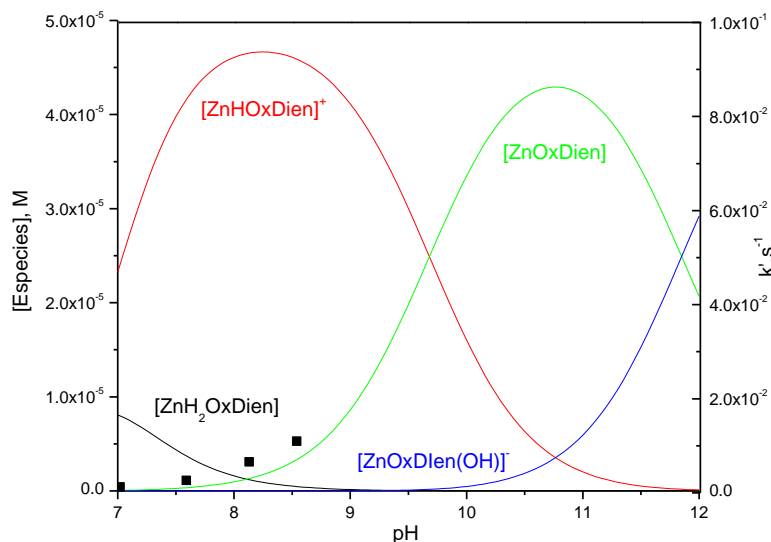
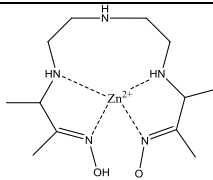


Figura 6.6.10. Distribución de especies Zn-H<sub>2</sub>OxDien en función del pH (lado izquierdo) sobrepuesta con los valores de las constantes de rapidez observadas corregidas,  $k_{\text{obs}}$ , s<sup>-1</sup>, en función del pH (lado derecho), H<sub>2</sub>OxDien 0.1 mM, Zn<sup>2+</sup> 0.05 mM, MOPS, EPPS, CHES, CAPS 50 mM, en agua a 25°C.

Tabla 6.6.5. Constantes de segundo orden para las especies de H<sub>2</sub>OxDien con Zn<sup>2+</sup>.

Estructura propuesta de los complejos formados con Zn <sup>2+</sup>	Especies cinéticamente activas	$k_2$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
	[ZnOxDienH] <sup>+</sup>	70 ± 50
	[ZnOxDien]	1120 ± 170

A partir de la ecuación 19 se calcularon las constantes de rapidez observadas y se compararon en la figura 6.6.11 con las constantes obtenidas experimentalmente. El modelo en el que se considera que las especies reactivas con  $Zn^{2+}$  son las que tienen un ligante mono y doblemente desprotonado reproduce adecuadamente los resultados experimentales. Sin embargo, el error para la contribución del ligante monodesprotonado es muy grande, 70% por lo que estos valores se tratan como estimaciones de la reactividad. A valores de pH básico se obtuvo baja reproducibilidad de las constantes, pero no se observó precipitado por lo que se piensa que los complejos son estables a las condiciones empleadas en cinética, 1:2 metal:ligante en concentraciones pequeñas, 0.05 y 0.1 mM. Al aumentar la concentración de metal y ligante, las reacciones son muy rápidas, con tiempos de vida media menores a 60 segundos, por lo que la determinación adecuada de estas constantes requiere del uso de un equipo de stopped-flow, que ya no fue posible emplear por razones de tiempo. Adicionalmente vimos que estas reacciones son de primer orden, aunque la concentración del catión metálico es igual a la del sustrato empleado, lo cual implica que el proceso es catalítico ya que el complejo no se consume durante la reacción.

$$k_{obs} = k_4 [ZnHOxDien]^+ + k_5 [ZnOxDien]$$

Ec. 19

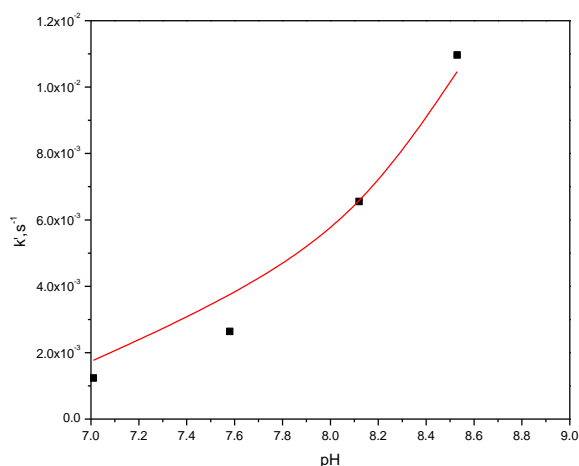


Figura 6.6.11. Constantes de rapidez observadas corregidas en función del pH. La línea continua representa la constante calculada de acuerdo a la ecuación 19 considerando  $[ZnHOxDien]^+$  y  $[ZnOxDien]$  como las especies reactivas.

### 6.6.6. $H_4OxP$ con $Zn^{2+}$

Se hizo el estudio de la dependencia de pH de  $H_4OxP$  con  $Zn^{2+}$ , en donde se considera que participan todas las especies presentes en disolución de acuerdo a la ecuación 20, al tratarse de una reacción de primer orden.

$$k_{obs} = k_1 [H_3OxP] + k_2 [H_2OxP] + k_3 [ZnH_3OxP]^+ + k_4 [ZnH_2OxP] + k_5 [OH^-]$$

Ec. 20

En la figura 6.6.10 se muestra la distribución de especies sobrepuesta a las constantes observadas de rapidez obtenidas ya corregidas por el medio y por las especies reactivas del ligante.

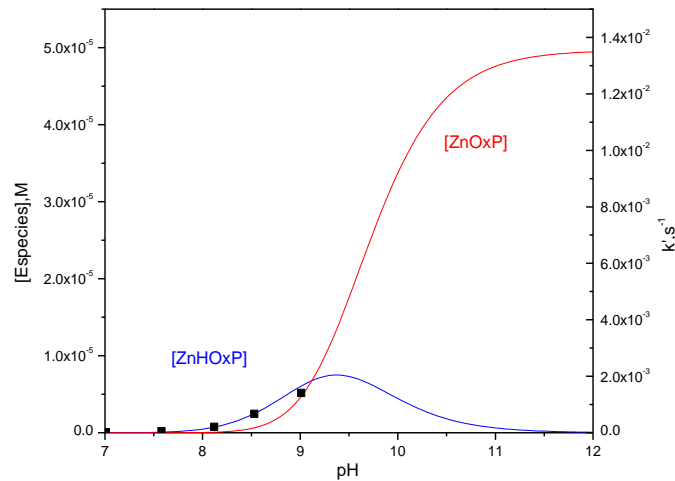


Figura 6.6.10. Distribución de especies Zn-H<sub>4</sub>OxP en función del pH (lado izquierdo) sobrepuesta con los valores de las constantes de rapidez observadas corregidas,  $k_{obs}$ , s<sup>-1</sup>, en función del pH (lado derecho), H<sub>4</sub>OxP 0.1 mM, Zn<sup>2+</sup> 0.05 mM, MOPS, EPPS, CHES, CAPS 50 mM, en agua a 25°C.

El diagrama de especies muestra que sólo una de las especies está participando en la hidrólisis de 4-NFA ya que las constantes observadas corregidas siguen la tendencia de la especie monodesprotonada, al realizarse la correlación lineal múltiple contemplando a las dos únicas especies que se forman con Zn<sup>2+</sup> en disolución, se obtuvo que efectivamente sólo la especie monodesprotonada tiene reactividad, dando una constante de segundo orden de  $220 \pm 10 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ , la cual se determinó de la pendiente de la recta de la figura 6.6.11 y ecuación 21.

$$k_{obs} = k_3 [\text{ZnH}_3\text{OxP}] \quad \text{Ec. 21}$$

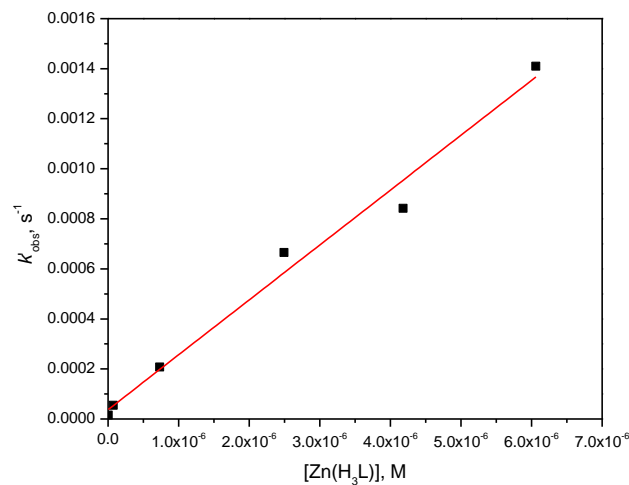


Figura 6.6.11. Constantes de rapidez observadas corregidas (■), la línea continua representa la constante calculada de acuerdo a la ecuación 21.

Para la reactividad de  $H_4OxP$  con  $Cd^{2+}$  la curva cinética obtenida no coincide con la única especie observada en las titulaciones potenciométricas por lo que es necesario hacer estudios más detallados del estudio de su reactividad. En estos estudios se debería medir las constantes de rapidez observada en varias condiciones: incrementando la concentración de los reactivos y hacer las mediciones correspondientes empleando un equipo stopped-flow y variando la concentración del catión metálico a valores fijos de pH, para saber cómo se va coordinando  $Cd^{2+}$ . Esto último debido a que esperamos tener un sistema como en la figura 6.6.12 que pueda coordinar cuatro cationes metálicos, se desprotonen los cuatro grupos oxima, y trabajar a valores de pH óptimos en los que la carga sea positiva en cada una de las ramas de  $H_4OxP$  para favorecer la entrada del sustrato entre estas ramificaciones, al repelerse cada uno de estos grupos.

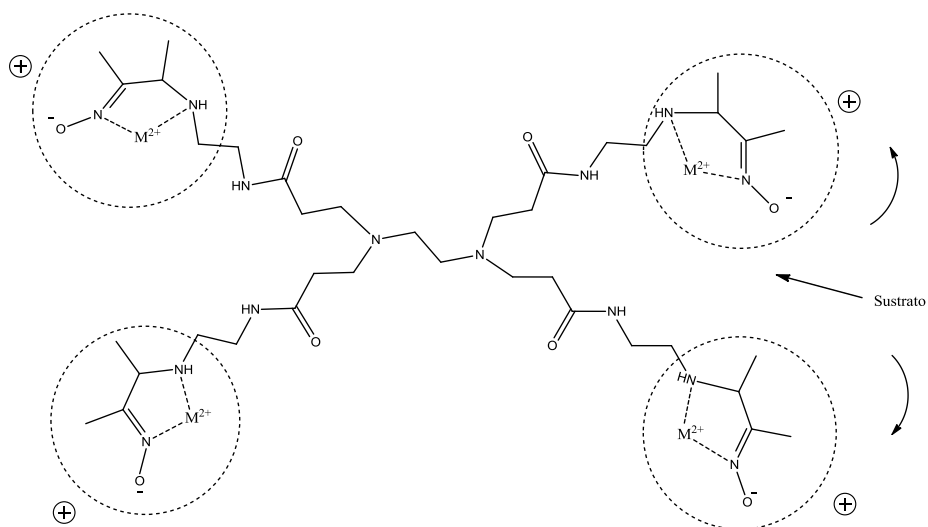


Figura 6.6.12. Sistema propuesto para la complejación del ligante  $H_4OxP$  con cationes metálicos

Lo interesante de estudiar este ligante, después de probar si tenía reactividad con el sustrato modelo 4-NFA, era probar si tiene reactividad hacia la hidrólisis del sustrato paraoxón, el cual es más voluminoso y presenta problemas de solubilidad, por lo que se probó a diferentes concentraciones de  $Zn^{2+}$ , empleando una concentración constante de ligante 0.22 mM y a pH 8. En la figura 6.6.13 se muestran las constantes de rapidez observadas (ya corregidas por la contribución alcalina) graficadas en función de la concentración de zinc. Lo primero que observamos en esta gráfica es que las constantes medidas son 100 veces mayores a la hidrólisis alcalina del paraoxón empleado como sustrato a estas condiciones ( $k_{obs} 8.5 \times 10^{-9} s^{-1}$ ), lo cual es un efecto catalítico importante y, en segundo lugar, observamos que la reactividad depende linealmente de la concentración del zinc. Esta linealidad refleja que los cationes metálicos se siguen complejando con el ligante, la gráfica muestra hasta dos equivalentes adicionados, y todavía no se observa una saturación, la cual se esperaría que apareciera después de haber



adicionado cuatro equivalentes. Para este sistema será interesante hacer estudios más detallados optimizando además el pH para cada catión metálico, probar dendrímeros más ramificados y estudiar su reactividad hacia la hidrólisis de este tipo de sustratos de interés ambiental.

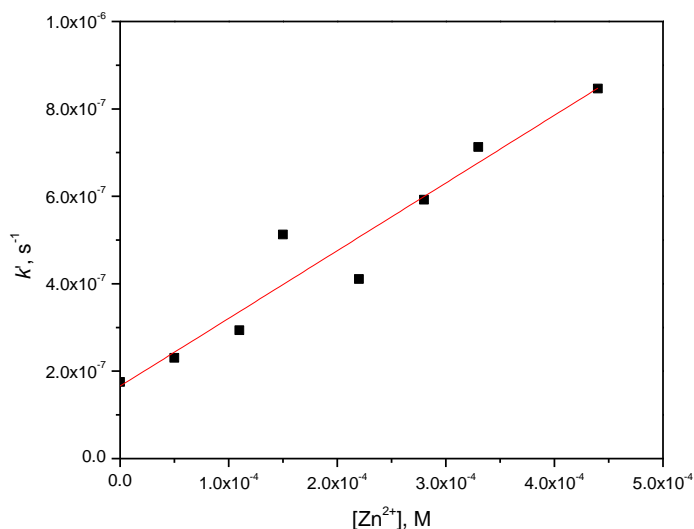


Figura 6.6.13. Constantes de rapidez observadas corregidas en función de la concentración de  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{H}_4\text{OxP}$  0.22 mM, 25°C, pH 8.

## 7. Análisis general y comparación con sistemas reportados.

Después de analizar la reactividad de cada uno de los ligantes en términos de las especies presentes en disolución y obtener sus constantes de segundo orden en la hidrólisis de 4-nitrofenil acetato, se comparan estas constantes de oximólisis con otras oximas en un gráfico de Brønsted. Lo primero que resalta es que encontramos en la zona de nivelación de la reactividad en disolución acuosa para este tipo de nucleófilos las especies  $\text{H}_2\text{OxP}$ ,  $\text{OxDien}$  y  $\text{HOxIm}$ , mientras que la especie neutra  $\text{H}_2\text{OxIm}$  y las especies  $\text{H}_3\text{OxP}$  y  $\text{HOxDien}$  no se comportan como  $\alpha$ -nucleófilos (figura 7.1).

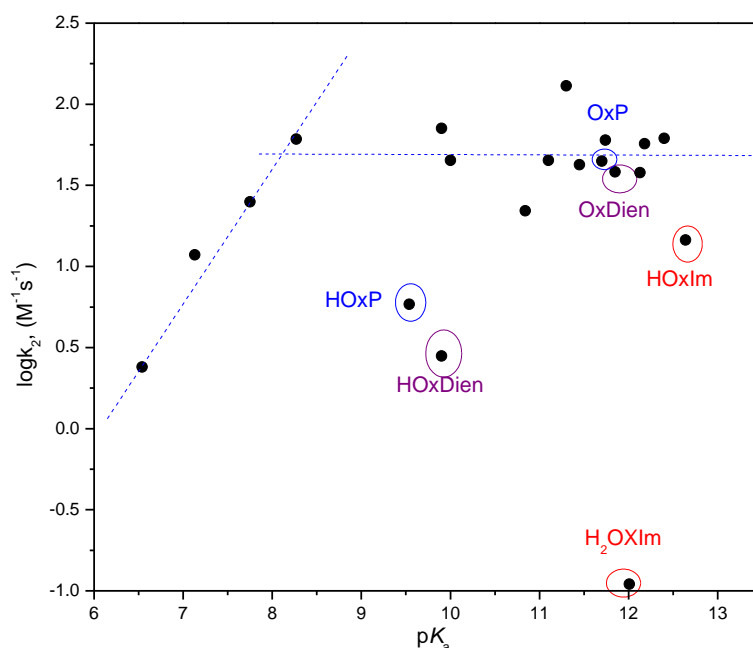
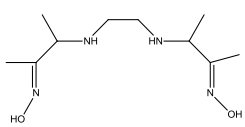
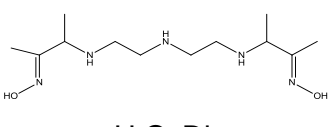
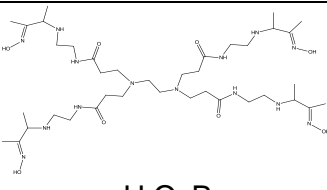


Figura 7.1. Gráfico de Brønsted del logaritmo de las constantes de segundo orden de aminoximas reportadas, junto con las obtenidas en este trabajo para los tres ligantes sintetizados.

Este gráfico de Brønsted incluye aminoximas que tienen un anillo de piridina como grupo coordinante a diferencia de las estudiadas en este trabajo donde una es una amidoxima y dos de ellas aminoximas alifáticas. Observamos que las especies OxP y OxDien caen en el intervalo de reactividad observado para  $\alpha$ -nucleófilos, esta “nivelación” ha sido explicada por un desbalance que surge, por un lado de que antes del ataque nucleofílico el nucleófilo se desolvate y por el otro de la cada vez más fuerte solvatación de los nucleófilos muy básicos en agua; estos procesos están desincronizados y el resultado es que no se observa una reactividad proporcional a la basicidad (indicada por la línea punteada en la figura 7.1) de oximas muy básicas porque están fuertemente solvatadas. Cuando se protonan estos ligantes, su reactividad es mucho menor a la de aminoximas como  $\alpha$ -nucleófilos.

En tabla 6.1 se comparan los ligantes H<sub>2</sub>OxDien, H<sub>4</sub>OxP con el ligante H<sub>2</sub>Oxen [Alpizar 2017] y sus complejos con cationes metálicos divalentes, donde se analizará la influencia en el aumento de número de átomos donadores en la estabilidad de cada complejo y si está relacionado con la reactividad observada.

Tabla 7.1. Comparación de aminoximas.

	 H <sub>2</sub> Oxen		 H <sub>2</sub> OxDien		 H <sub>4</sub> OxP	
	<b>pKa</b>		<b>pKa</b>		<b>pKa</b>	
H <sub>3</sub> L					11.76	
H <sub>2</sub> L	10.84		9.90		11.83	
HL	12.13		11.85			
ZnLH <sub>2</sub>	6.4		6.54		9.12	
ZnLH	8.7		9.68			
ZnL(OH)			11.85			
CdLH <sub>2</sub>	9.27		8.62			
CdLH	10.00		10.27			
CdL(OH)			12.97			
<b>Especies</b>	<b>k<sub>Ox</sub></b> <b>(M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>)</b>	<b>Estructura</b>	<b>k<sub>Ox</sub></b> <b>(M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>)</b>	<b>Estructura</b>	<b>k<sub>Ox</sub></b> <b>(M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>)</b>	<b>Estructura</b>
H <sub>3</sub> L					5.4	<b>M</b>
H <sub>2</sub> L					70	<b>N</b>
HL	22	<b>A</b>	2.80	<b>G</b>		
L	37.8	<b>B</b>	38.27	<b>H</b>		
ZnLH	1250	<b>C</b>	70	<b>I</b>	220	<b>O</b>
ZnL	2030	<b>D</b>	1120	<b>J</b>		
ZnL(OH)	2340					
CdLH	680	<b>E</b>	90	<b>K</b>		
CdL	750	<b>F</b>	440	<b>L</b>		
CdL(OH)	700					

En figura 7.2 se comparan gráficamente las especies cinéticamente activas de la tabla 7.1 las cuales están señaladas entre paréntesis y números en negritas para poder identificarlos rápidamente. En la tabla 7.1 observamos que de los tres ligantes estudiados en este trabajo, la reactividad de las especies libres es mayor para el ligante H<sub>4</sub>OxP.

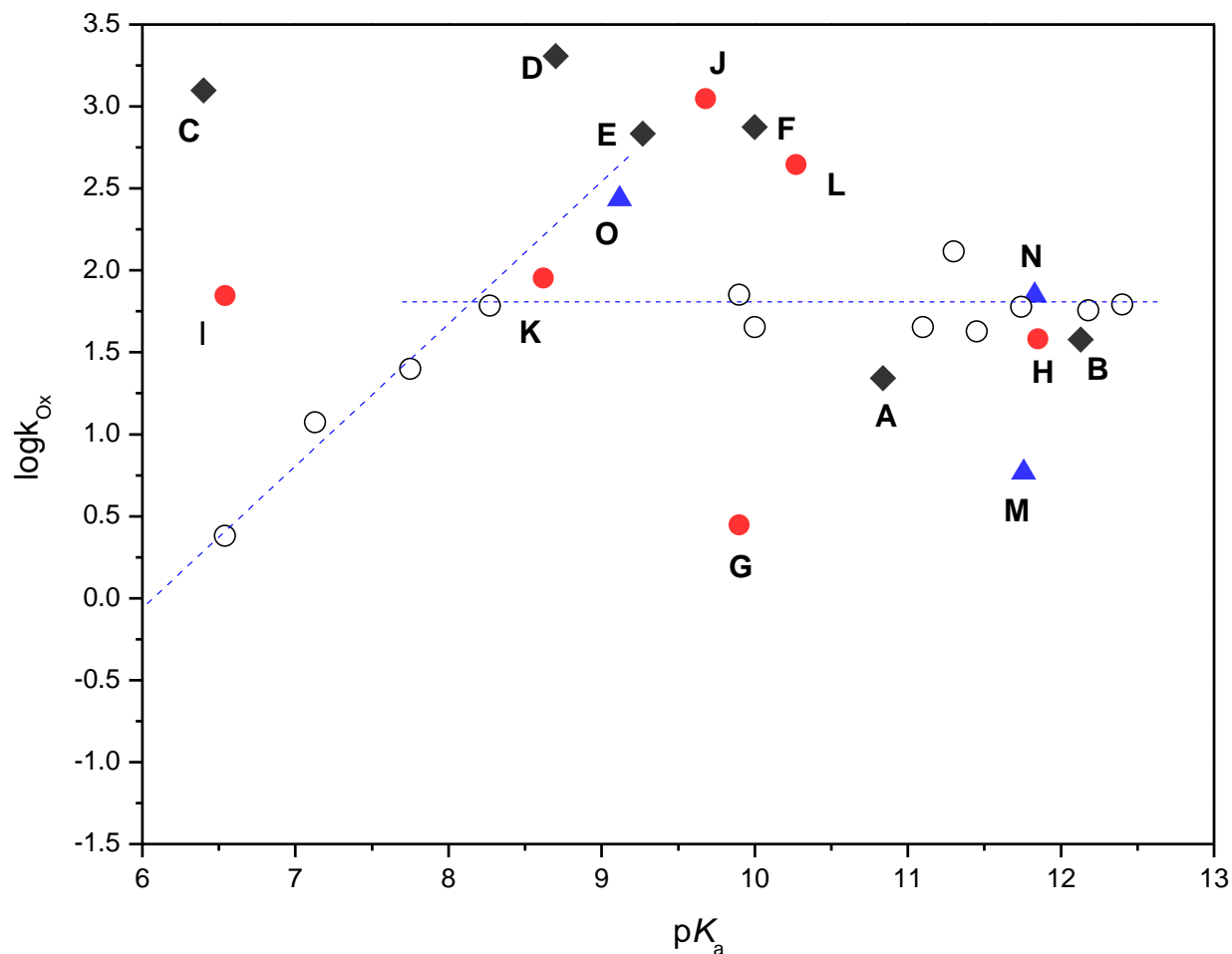


Figura 7.1. Comparación gráfica de las especies reactivas de los ligantes (♦) H<sub>2</sub>Oxen, (●) H<sub>2</sub>OxDien y (▲) H<sub>4</sub>OxP de la tabla 7.1. Los símbolos ○ corresponden a las oximas mencionadas en la tabla 2.1 de la sección 2.

Si analizamos la reactividad de las especies con Zn<sup>2+</sup>, de acuerdo a su basicidad para la especie [ZnOxPH] (14) se esperaría mayor reactividad en comparación a la basicidad de las especies [ZnOxDienH] (9) y [ZnOxenH] (3), sin embargo esto no sucede y la especie [ZnOxenH] presenta mayor reactividad. Esto puede ser debido a que la especie con el ligante derivado de un dendrímero se expande o compacta dependiendo del grado de protonación y no deja entrar fácilmente al sustrato; en el caso de la especie con el ligante a base de etiléndiamina el sustrato entra con mayor facilidad al ser un grupo pequeño en comparación con el dendrímero.

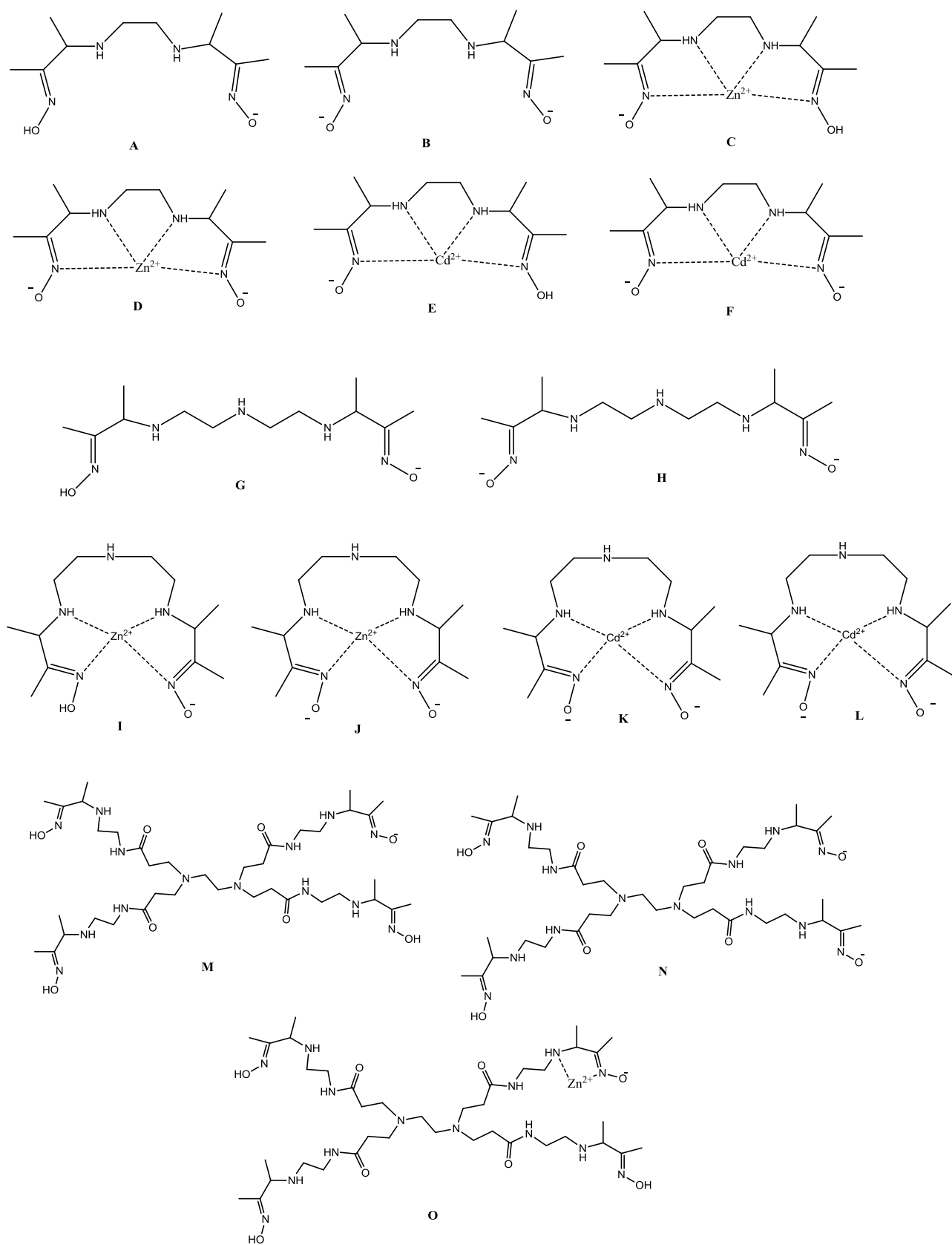


Figura 7.2. Comparación de aminosimazas de la tabla 7.1 y figura 7.1.

En la figura .2 se muestran las estructuras de las especies cinéticamente activas que se graficaron en la figura 7.1 y se enlistaron con números en negritas en la tabla 7.1. En la tabla 7.2 se comparan los sistemas que tienen como base nucleofílica un grupo amidoxima y en la figura 7.3 se comparan gráficamente estos sistemas, identificando entre números en negritas las especies cinéticamente activas y con valores de  $pK_a$  asignados. En la figura 7.4 se muestran las estructuras de las especies graficadas en la figura 7.3 y enlistadas en la tabla 7.2.

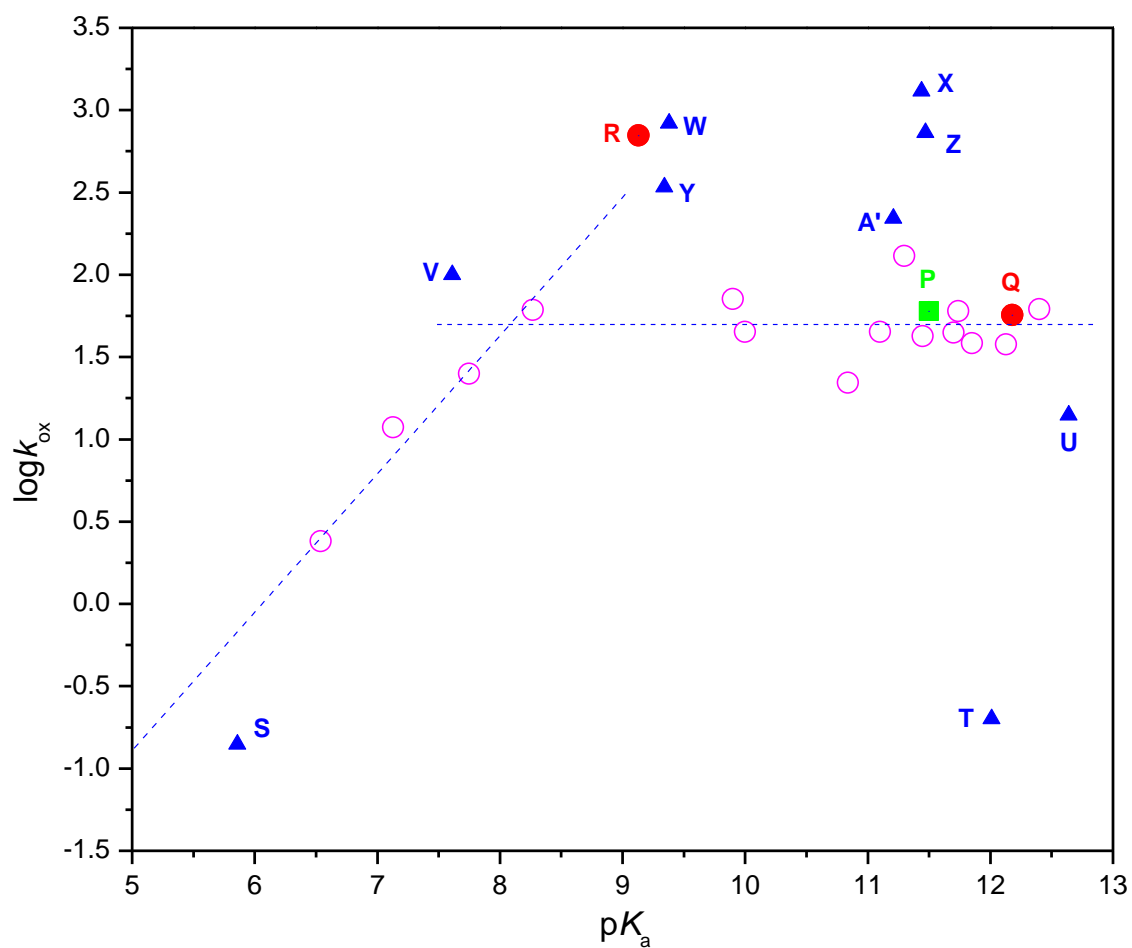
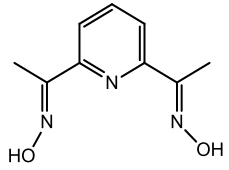
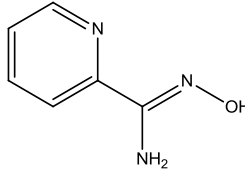
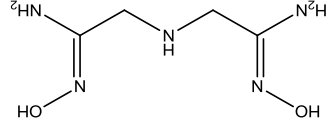


Figura 7.3. Comparación gráfica de las especies reactivas de los ligantes (■)  $H_2dapd$ , (●)  $HPyAmOx$  y (▲)  $H_2OxIm$  de la tabla 7.2. Los símbolos ○ corresponden a las oximas mencionadas en la tabla 2.1 de la sección 2.

Tabla 7.2. Comparación de amidoximas y cetoximas.

	 H <sub>2</sub> dapd [Yatsimirsky 1998]		 HPyAmOx [López 2017]		 H <sub>2</sub> Oxlm [Este trabajo]	
<b>Especies</b>	<b>pK<sub>a</sub></b>		<b>pK<sub>a</sub></b>		<b>pK<sub>a</sub></b>	
[H <sub>2</sub> L]	11.3				12.01	
[HL] <sup>-</sup>	11.5		12.18		12.64	
[ZnH <sub>2</sub> L] <sup>2+</sup>	6.0				7.61	
[ZnHL] <sup>+</sup>			8.50		9.38	
[ZnL(OH)] <sup>-</sup>			6.59		11.44	
[CdH <sub>2</sub> L] <sup>2+</sup>	7.1				9.34	
[CdHL] <sup>+</sup>			9.13		10.86	
[CdL(OH)] <sup>-</sup>					11.47	
[CuH <sub>2</sub> L] <sup>2+</sup>					5.00	
[CuHL] <sup>+</sup>					6.81	
[CuL(OH)] <sup>-</sup>					11.21	
<b>Especies</b>	<b>k<sub>Ox</sub>, (M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>)</b>	<b>Estructura</b>	<b>k<sub>Ox</sub>, (M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>)</b>	<b>Estructura</b>	<b>k<sub>Ox</sub>, (M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>)</b>	<b>Estructura</b>
[H <sub>2</sub> L]					0.14	<b>S</b>
[HL] <sup>-</sup>					0.20	<b>T</b>
[L] <sup>2-</sup>	60	<b>P</b>	57	<b>Q</b>	14	<b>U</b>
[ZnHL] <sup>+</sup>					60	<b>V</b>
[ZnL]					840	<b>W</b>
[ZnL(OH)] <sup>-</sup>	8700		47		1350	<b>X</b>
[CdHL] <sup>+</sup>					160	<b>Y</b>
[CdL]	10,900		700	<b>R</b>		
[CdL(OH)] <sup>-</sup>					730	<b>Z</b>
[CuL(OH)] <sup>-</sup>					220	<b>A'</b>

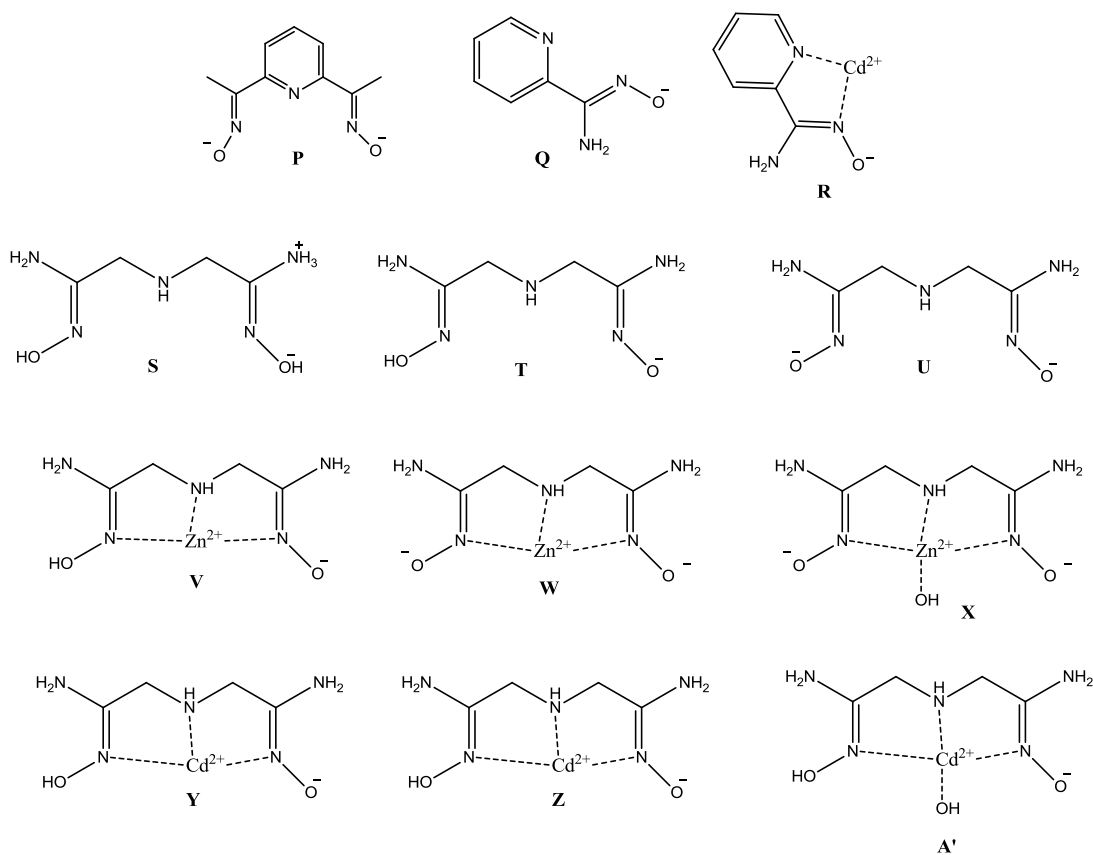


Figura 7.4. Estructuras de las comparación de aminoximas y cetoximas de la tabla 7.2 y figura 7.3.

En la tabla 7.2 se observa que existen mayor cantidad de especies del ligante H<sub>2</sub>OxIm que presentan reactividad hacia la hidrólisis de 4-NFA, sin embargo la reactividad del ligante libre comparada con las especies [Hdapd] (1) y [PyAmOx] (2) no es tan grande y es menor que la del ion OH<sup>-</sup>, pero al complejarse con cationes metálicos las especies con H<sub>2</sub>OxIm resultan ser muy estables a comparación de HPyAmOx, y presentan reactividad. Con cationes metálicos solo se puede comparar directamente la reactividad de las especies [CdPyAmOx] (3) y [CdHOxIm] (8) con valores de pH entre 9.1 y 9.3, donde la reactividad de (8) es aproximadamente la mitad de la que se observa con (3), sin embargo aunque no alcance la reactividad de especies que contienen un anillo aromático en su estructura, la amidoxima sintetizada presenta una reactividad mayor al complejarse con cationes metálicos. Vemos también tres zonas con diferentes tipos de complejos: los complejos hidroxilo están en la zona de nivelación, pero con mayor reactividad a los α-nucleófilos; luego están los complejos ML en los que el ligante está desprotonado y siguen la tendencia lineal en la que desaparece el efecto del desbalance por la solvatación del nucleófilo y adicionalmente el complejo de zinc, tiene una desviación positiva de la parte lineal, lo que se puede interpretar por un efecto particular del catión metálico, lo cual puede estar relacionado con ser el catión metálico de elección en las enzimas naturales.



## 7. Conclusiones

Las oximas H<sub>2</sub>OxIm, H<sub>2</sub>OxDien y H<sub>4</sub>OxP, al desprotonarse en disolución acuosa, generan especies nucleofílicas. Las especies desprotonadas se comportan como  $\alpha$ -nucleófilos en la hidrólisis de 4-nitrofenil acetato y muestran, como otras oximas, una nivelación en su reactividad en un gráfico de Brønsted en función de su basicidad.

La protonación de los grupos ionizables de los dendrímeros y sus derivados requiere considerar microconstantes de acidez y proponer un modelo de protonaciones macroscópicas relacionadas.

Al emplear estos ligantes, H<sub>2</sub>OxIm, H<sub>2</sub>OxDien y H<sub>4</sub>OxP, se comprobó que no es necesaria la presencia de un anillo aromático en la estructura del ligante para que tenga reactividad en la hidrólisis del éster 4-nitrofenil acetato. Sin embargo, las oximas alifáticas H<sub>2</sub>OxIm, H<sub>2</sub>OxDien y H<sub>4</sub>OxP, tienen menor reactividad esterolítica, aproximadamente 3 veces, que las oximas o amidoximas que tienen piridina en su estructura.

En presencia de cationes metálicos, la reactividad de las oximas H<sub>2</sub>OxIm, H<sub>2</sub>OxDien y H<sub>4</sub>OxP aumenta hasta 3 órdenes de magnitud, si se comparan las especies en el mismo estado de protonación con o sin catión metálico. Este efecto se debe tanto al incremento en la acidez del ligante como a un efecto propio de los cationes metálicos ya que la reactividad de los complejos metal-oximato está por encima de la reactividad de los grupos oximato libres.

En presencia de cationes metálicos las oximas alifáticas H<sub>2</sub>OxIm, H<sub>2</sub>OxDien y H<sub>4</sub>OxP, tienen más especies reactivas que las oximas o las amidoximas aromáticas que tienen piridina en su estructura, principalmente debido a que al tener mayor denticidad se forman especies más estables e incluso especies hidroxilo con los cationes metálicos.

Para todos los ligantes, los complejos metal-oximato más reactivos son los de Zn<sup>2+</sup> y Cd<sup>2+</sup>. El Co<sup>2+</sup> casi no da un efecto catalítico, el Cu<sup>2+</sup> y el Ni<sup>2+</sup> son cationes muy ácidos que causan que disminuya la nucleofilia de los grupos oxima coordinados y por lo tanto tienen una baja reactividad aunque son muy estables en disoluciones básicas. Sin embargo, es importante porque hay pocos ejemplos en la literatura en que se observe reactividad esterolítica por parte de complejos metal-oximato con cobre.

Los complejos metálicos de la bis amidoxima  $H_2OxIm$  tienen una reactividad ligeramente mayor que la de los complejos de la amidoxima  $HPyAmOx$ , por lo tanto, si se varía la estructura de la amidoxima se podría modular la reactividad de los complejos metal-oximato.

Los complejos de la aminoxima  $H_2OxDien$  con  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ , y  $Cu^{2+}$  son muy estables y nos permitieron ir a valores de pH mayores a 12.0 sin la precipitación de los hidróxidos correspondientes. Se propone que el ligante, que tiene 5 grupos donadores actúa como ligante aniónico tetradentado y por eso los cationes metálicos se coordinan fuertemente.

Los complejos metal-oximato generados con el ligante  $H_4OxP$ , derivado de un dendrímero PAMAM de generación 0.0 son los más débiles de los complejos estudiados ya que en cada una de las ramificaciones se tiene un ligante bidentado. Se observó un incremento en la reactividad únicamente con  $Zn^{2+}$  ya que este ion puede formar complejos hidroxilo reactivos. Si se compara la reactividad del complejo de zinc del  $H_2OxDien$  con el de  $H_4OxP$ , en el caso del derivado del dendrímero la constante de segundo orden es 4 veces mayor, y si se compara el ligante  $H_4OxP$  en presencia y ausencia de zinc, la reactividad aumenta 100 veces en presencia del catión metálico.

## Bibliografía

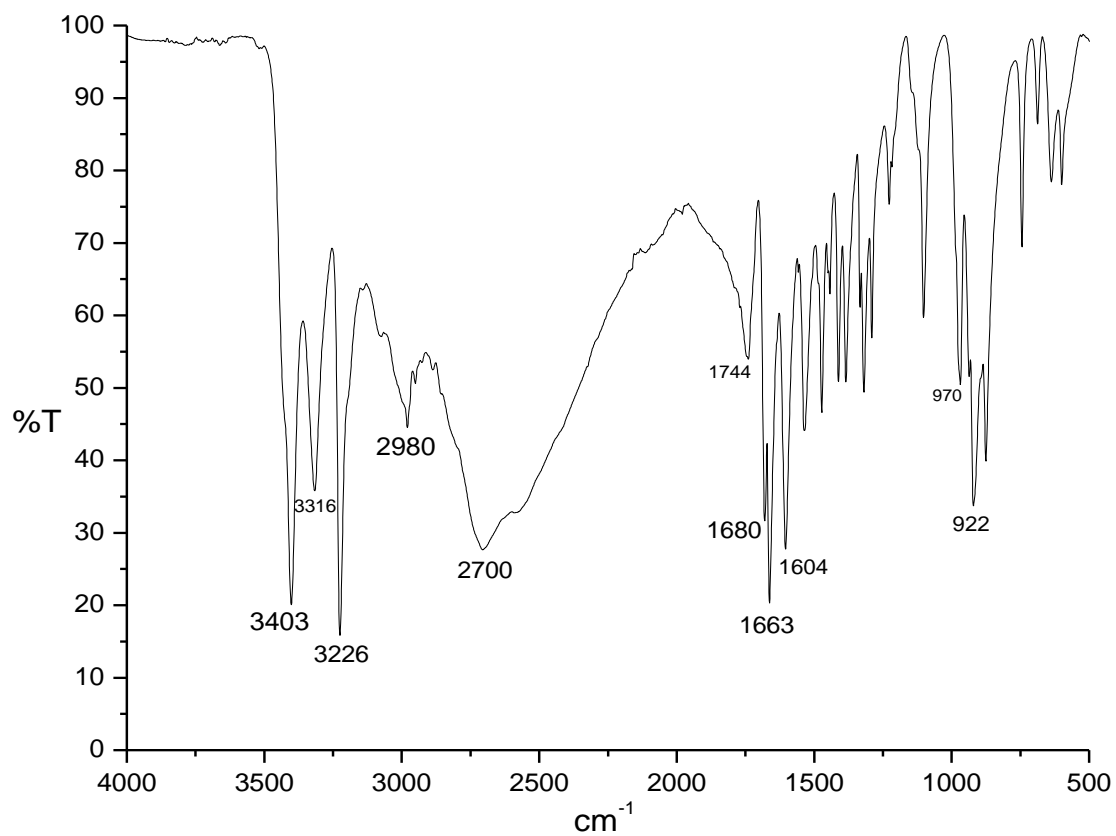
- Alpizar Juárez, E. Complejos esterolíticos metal-oximato de la aminoxima H<sub>2</sub>Oxen. Tesis de licenciatura. Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, **2017**.
- Astruc, D.; Boisselier, E.; Ornelas, C. T., [2010] "Dendrimers Designed for Functions: From Physical, Photophysical, and Supramolecular Properties to Applications in Sensing, Catalysis, Molecular Electronics, Photonics, and Nanomedicine" *Chem. Rev.*, 110, p.1857.
- Aubort, J.D. and Hudson, R.F., [1969] "Intramolecular Catalysis in the Acylation of Amidoximes" *J. Chem. Soc. D*, p. 1342.
- Baker, A.T, [1998] "The Ligand Field Spectra of Copper(II) Complexes", *J. Chem. Educ.*, vol. 75 (1), p.98.
- Barot, N.R., and Elvidge, J.A., [1972] "Heterocyclic Imines and Amines. Part XII. Imino-derivatives of Piperazine" *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, p. 606.
- Barnum, D. [1983] "Hydrolysis of Cations. Formation Constants and Standard Free Energies of Formation of Hydroxy Complexes" *Inorg. Chem.*, vol. 22(16), p. 2297.
- Bertini, I., Luchinat, C., [1994] "The Reaction Pathways of Zinc Enzymes and Related Biological Catalysts" en Bertini, I.; Gray, H. B.; Lippard, S. y Valentine, J. S. Eds. *Bioinorganic Chemistry*. California, Estados Unidos, University Science Books, p.37.
- Breslow, R., and Chipman, D., [1965] "Mixed Metal Complexes as Enzyme Models. I. Intracomplex Nucleophilic Catalysis by an Oxime Anion" *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 87, p. 4195.
- Breslow, R., [1972] "Centenary Lecture. Biomimetic Chemistry" *Chem. Soc. Rev.*, vol. 1, p.553.
- Cakara, D., Kleimann, J., Borkovec, M., [2003] "Microscopic Protonation Equilibria of Poly(amidoamine) Dendrimers from Macroscopic Titrations" *Macromolecules.*, vol. 36, p.4201.
- Chakravorty, A., [1974] "Structural Chemistry of transition metal complexes of oximes" *Coord. Chem. Rev.*, vol. 13, p.1.
- Couderc, S., and Toullec, J., [2001] "Catalysis of Phosphate Triester Hydrolysis by Micelles of Hexadecyltrimethylammonium anti-Pyruvaldehyde 1-Oximate" *Langmuir*, vol. 17, p. 3819.
- Cullen, D.L., and Lingafelter, E.C., [1970] "The crystal structures of bis[2,2'-iminobis(acetamidoxime)] nickel(II) chloride dihydrate and bis[2,2'-iminobis(acetamidoxime)] copper(II) chloride" *Inorg. Chem.*, vol.9, p.1865.
- Edwards, J.O., and Pearson, R.G., [1962] "The Factors Determining Nucleophilic Reactivities" *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 84, p. 16.

- Gómez-Tagle, P., Lugo-González, J.C., and Yatsimirsky, A.K., [2013] "Oximate metal complexes breaking the limiting esterolytic reactivity of oximate anions" *Chem. Commun.*, vol. 49, p.7717.
- Grekov, A. P., and Veselov, V. Y., [1978] "The  $\alpha$ -Effect in the Chemistry of Organic Compounds" *Russ. Chem. Rev.* vol. 47, p. 631.
- Hetch, S.; Fréchet, J. M., [2001] "Dendritic Encapsulation of Function: Applying Nature's Site Isolation Principle from Biomimetics to Materials Science" *Angew. Chem., Int. Ed.*, 40, p.74.
- Jencks, W.P., and Carriulo, [1960] "Reactivity of nucleophilic reagent toward esters" *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 82, p. 1778.
- López Pacheco, A. P. Activación biomimética de amidoximas e hidrólisis de ésteres de interés ambiental. Tesis de licenciatura. Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 2017.
- Lugo-González, J. C.; Gómez-Tagle, P.; Huang, X.; Del Campo, J. M; Yatsimirsky, A. K., [2017] "Substrate Specificity and Leaving Group Effect in Ester Cleavage by Metal Complexes of an Oximate Nucleophile", *Inorg. Chem.*, v. 56(4), p. 2060.
- Mancin, F., Tecilla, P.; Tonellato, U., [2000] "Activation of Oximic Nucleophiles by Coordination of Transition Metal Ions" *Eur. J. Org.Chem.*, p. 1045.
- Perrin, D. D., Dempsey B., and Serjeant, E. P., [1981] " $pK_a$  prediction for organic acids and bases" *London; New York: Chapman and Hall*, vol. 1.
- Popov, A.F. [2008], "Design of green microorganized systems for decontamination of ecotoxicants" *Pure Appl. Chem.*, 80, p. 1381.
- Pretsch, E., Bühlmann, P.; Badertscher, M., [2009] "Structure Determination of Organic Compounds" 4a ed. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*.
- Serbest, K., Karaböcek, S., Değirmencioğlu, İ., and Güner, S., [2001] "Mono-, di- and trinuclear copper (II) dioxime complexes; 3-{2-[2-(2-hidroxyimino-1-methylpropylideneamino)ethylamino]ethylimino}butan-2-one oxime" *Transit. Met. Chem.*, 26, p. 375.
- Shimizu, I., Morimoto, Y., Faltermeier, D., Kerscher, M., Paria, S., Abe, T., Sugimoto, H., Fujieda, N., Asano, K., Suzuki, T., Comba, P., Itoh, S. [2017] "Hydrolysis of Cations. Formation Constants and Standard Free Energies of Formation of Hydroxy Complexes Tetrahedral Copper(II) Complexes with a Labile Coordination Site Supported by a Tris-tetramethylguanidinato Ligand" *Inorg. Chem.*, 56, 9634–9645.
- Simanenkov, Y.S., Prokop'eva, T. M., Belousova, I. A., Popov, A. F., Karpichev, E. A., [2001] "Amidoximes as effective acceptors of acyl group" *Theor. Exp.Chem.*, Vol. 37, 5, p. 288.

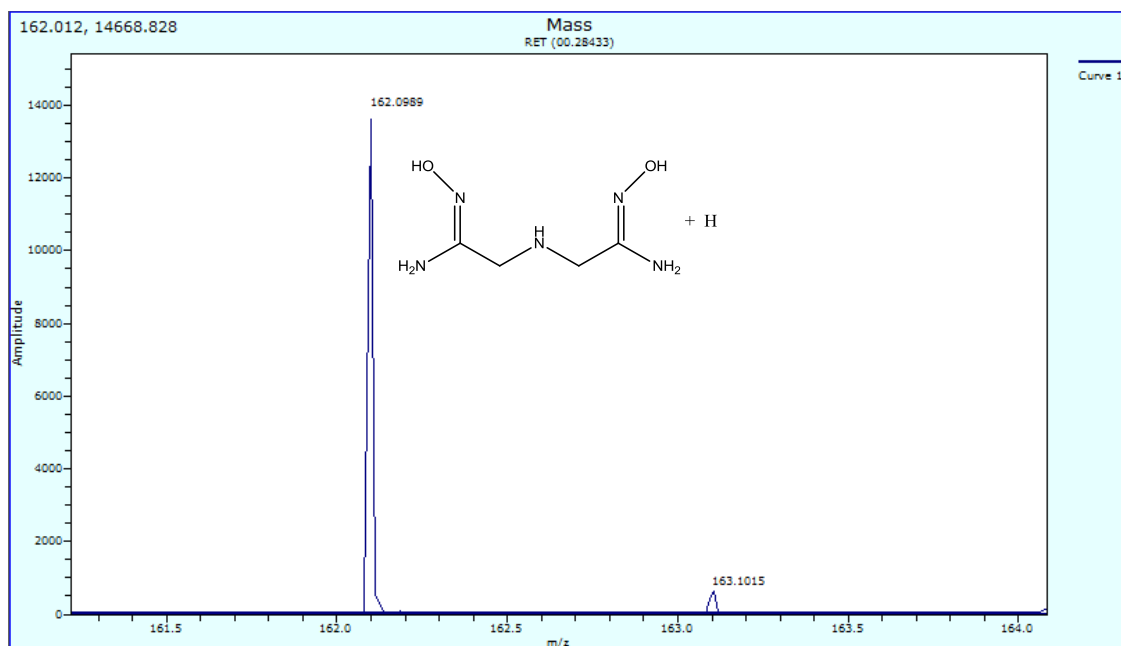
- Singh, N., Karpichev, Y., Tiwari, A.K., Kuka, K., and Ghosh, K.K., [2015] "Oxime functionality in surfactant self-assembly: An overview on combating toxicity of organophosphates" *J. Mol. Liq.*, vol. 208, p.237.
- Solans, X., and Miravittles, C., [1980] "2,2'-Iminobis(acetamide oxime)" *Acta Cryst.*, B36, p.3121.
- Terrier, F., MacCormack, P., Kizilian, E., Halle J., Demersernan, P., Guir, F., and Lion, C., [1991] "Non-linear Bronsted Correlations: Evidence for a Levelling Off in the Reactivity of Oximate Ions in Aqueous Solution" *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1, p. 153.
- Terrier, F., Le Guével, E., Chatrousse, A.P., Moutiersa, G., and Buncel, E., [2003] "The levelling effect of solvational imbalances in the reactions of oximate  $\alpha$ - nucleophiles with electrophilic phosphorus centers. Relevance to detoxification of organophosphorus esters" *Chem. Commun.*, p. 600.
- Tiwari, S., Kolay, S., Ghosh, K.K., Kuka, K., and Marek, J., [2009] "Kinetic Study of the Reactions of *p*-Nitrophenyl Acetate and *p*-Nitrophenyl Benzoate with Oximate Nucleophiles" *Int. J. Chem. Kinet.*, 41, p. 57.
- Yatsimirsky, A.K., Gómez-Tagle, P., Escalante-Tovar, S., and Ruiz-Ramírez, L., [1998] "Kinetics and mechanism of ester hydrolysis by metal complexes of 2,6-diacetylpyridine dioxime" *Inorg. Chim. Acta*, vol. 273, p. 167.
- Yatsimirsky, A.K., Kazankov, G.M., and Ryabov, A.D., [1992] "Ester Hydrolysis Catalysed by ortho-Palladated Aryl Oximes" *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, p. 1295.

## Anexo I

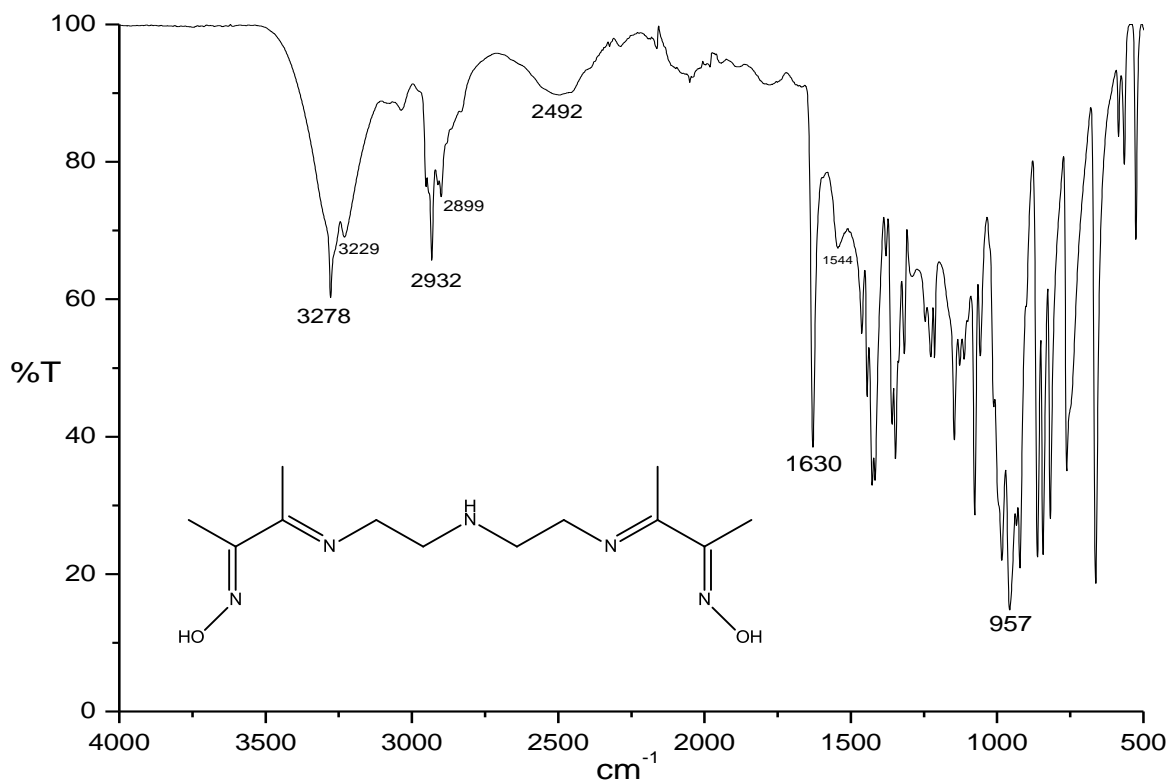
### Espectro de infrarrojo del ligante H<sub>2</sub>Oxlm



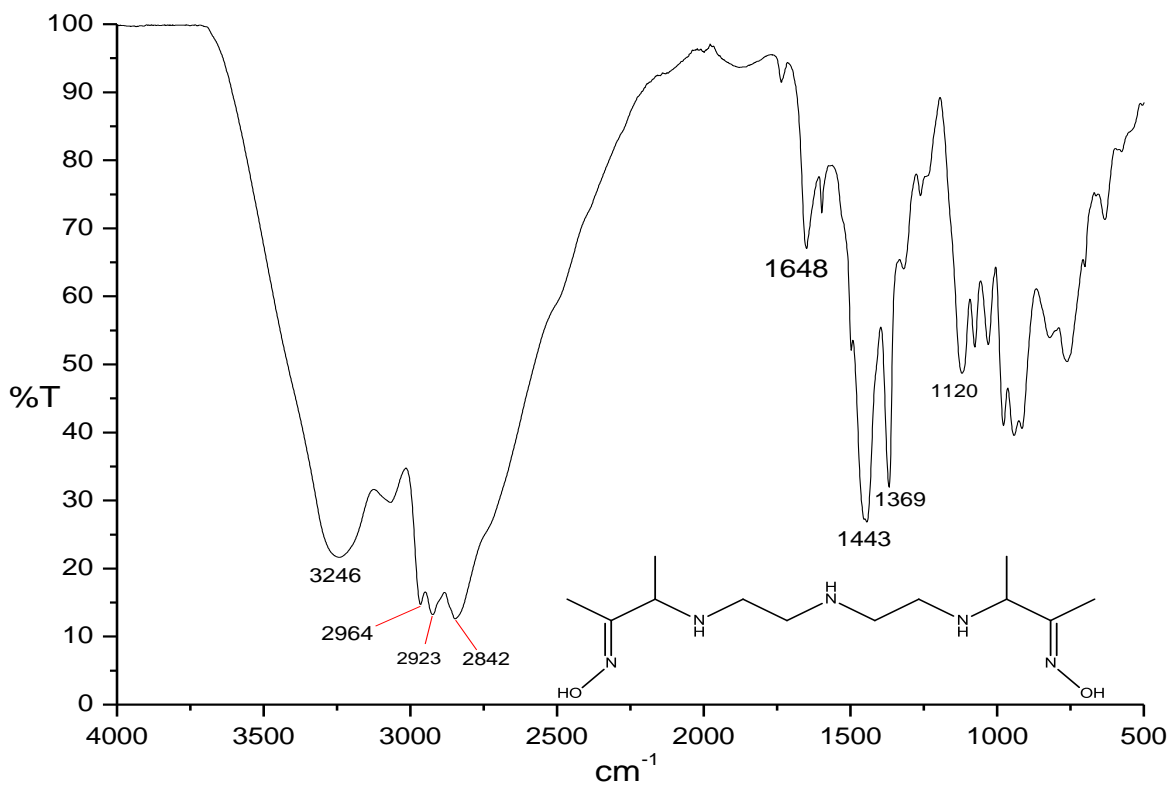
### Espectro de masas del ligante H<sub>2</sub>Oxlm.



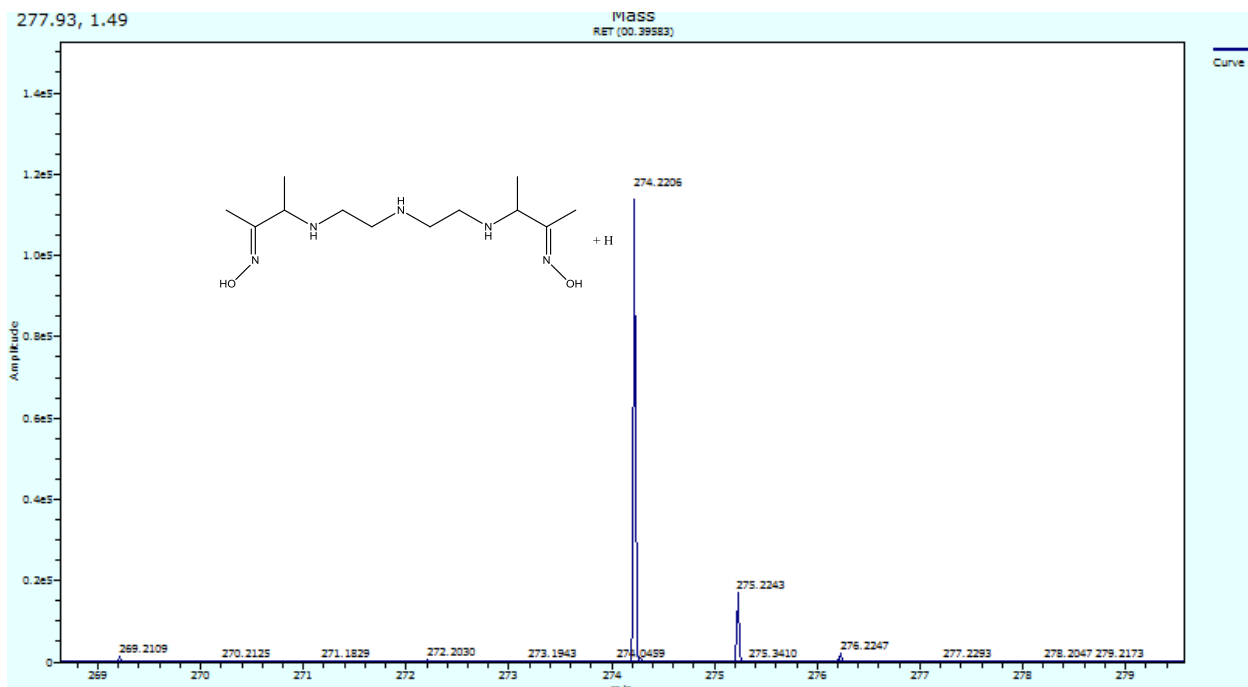
Espectro de infrarrojo de la imina precursora del ligante H<sub>2</sub>OxDien.



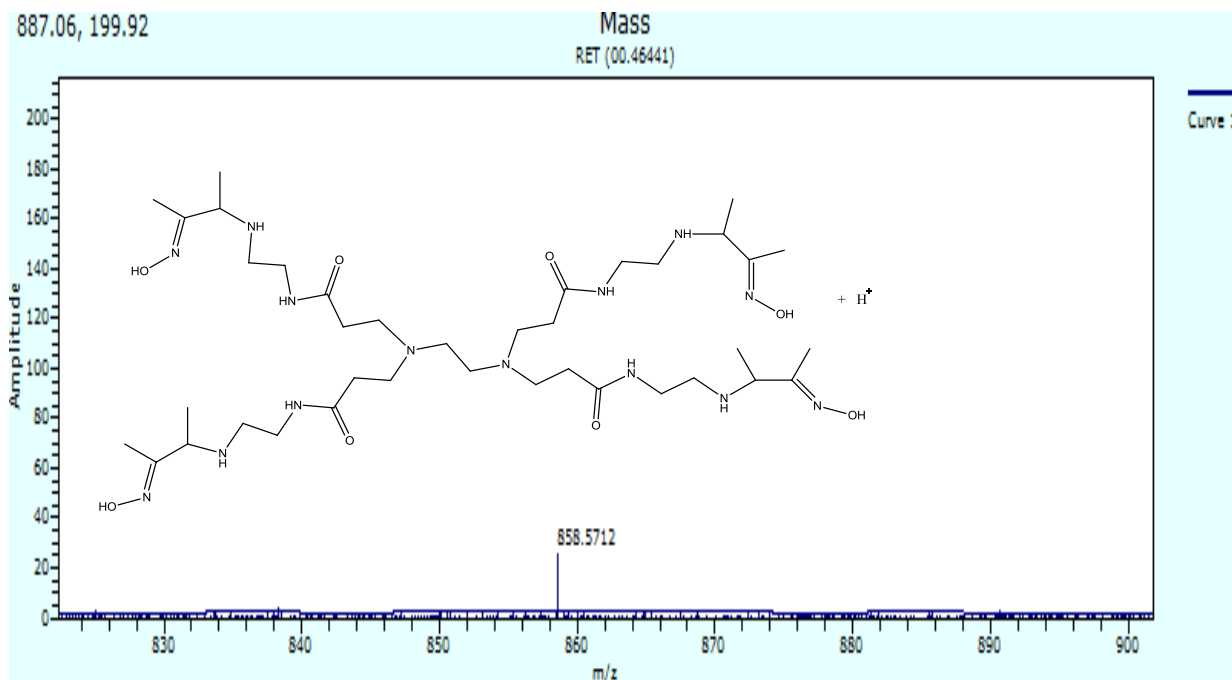
Espectro de infrarrojo del ligante H<sub>2</sub>OxDien.



### Espectro de masas del ligante H<sub>2</sub>OxDien

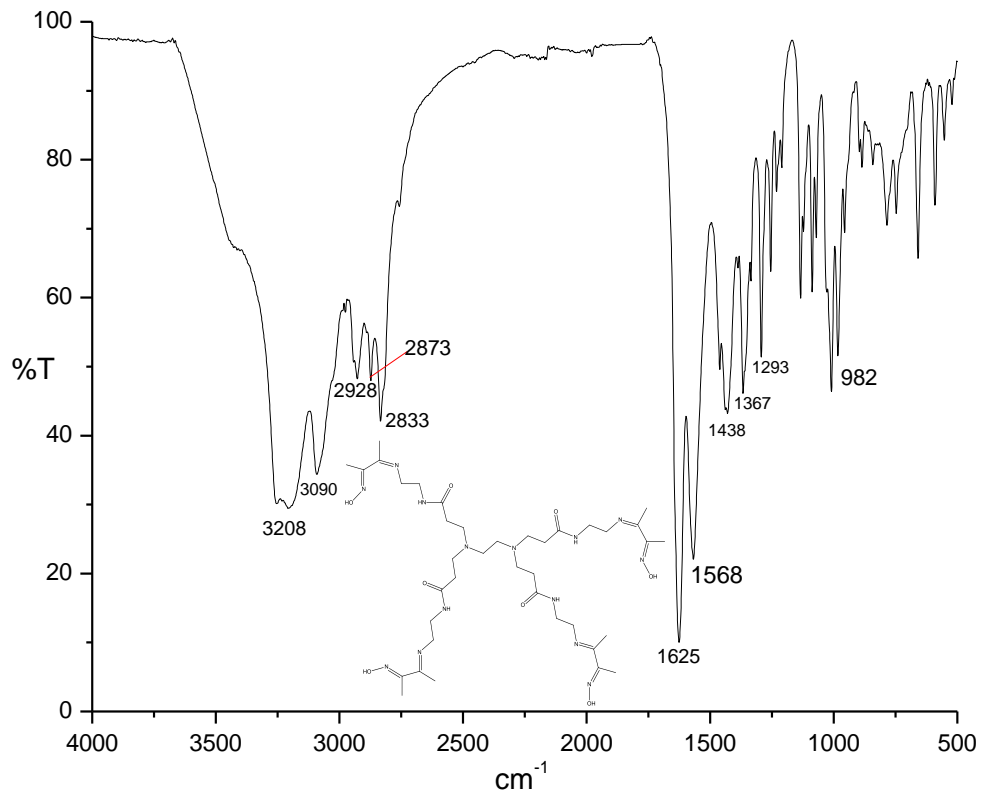


### Espectro de masas del ligante H<sub>4</sub>OXp

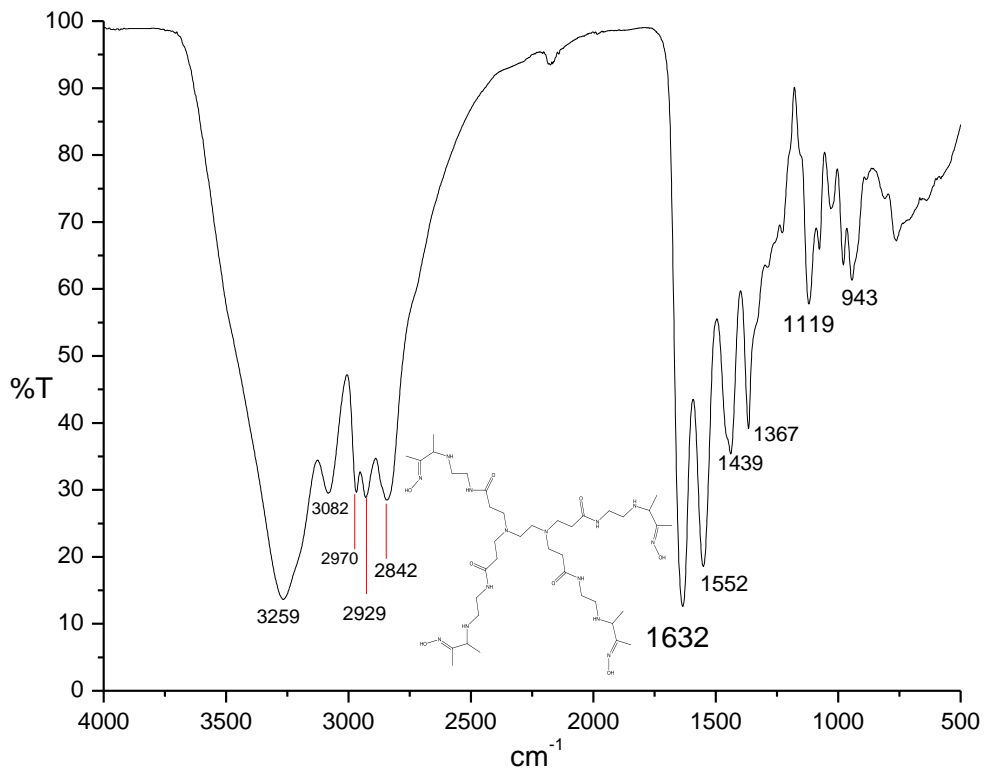




Espectro de infrarrojo de la imina precursora del ligante H<sub>4</sub>OxP.

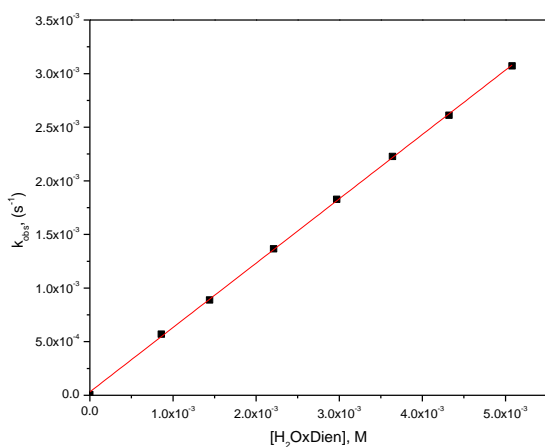


Espectro de infrarrojo del ligante H<sub>4</sub>OxP.

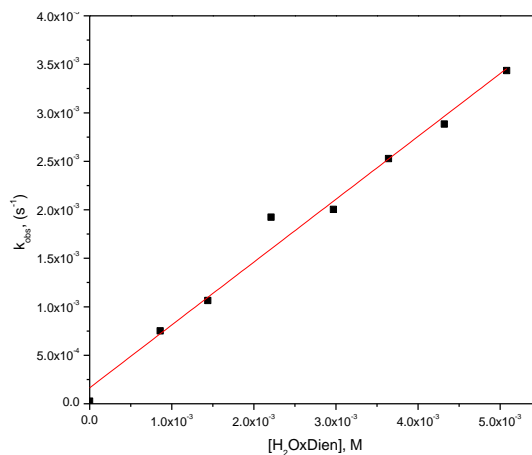


## Anexo II

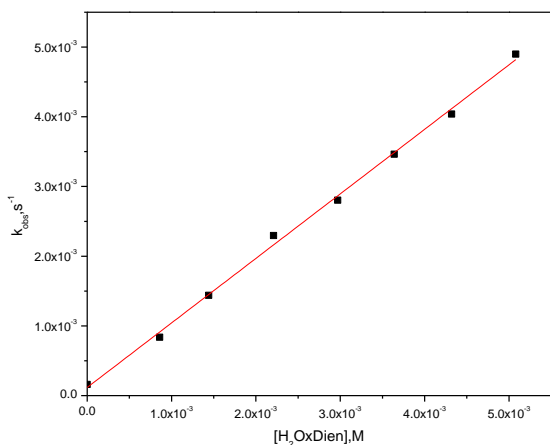
- Dependencia de la concentración de  $\text{H}_2\text{OxDien}$  a valores fijos de pH.



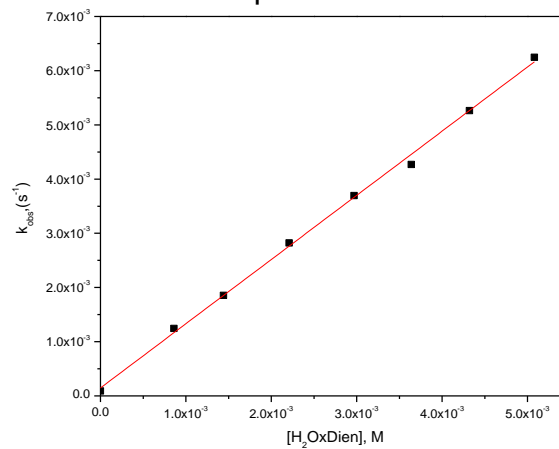
pH=7.58



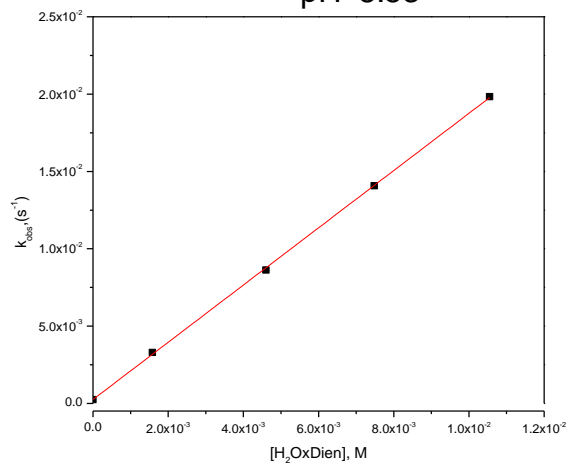
pH=8.12



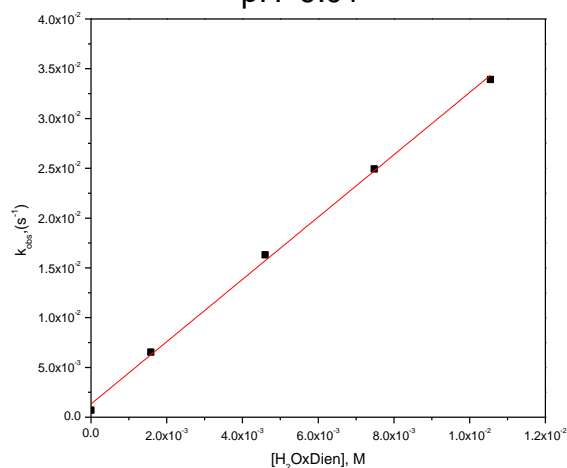
pH=8.53



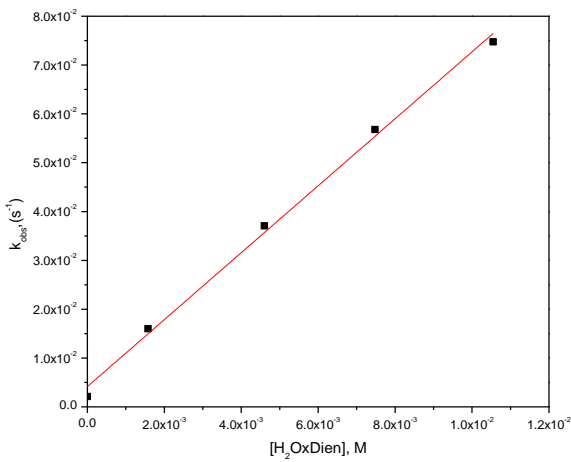
pH=9.01



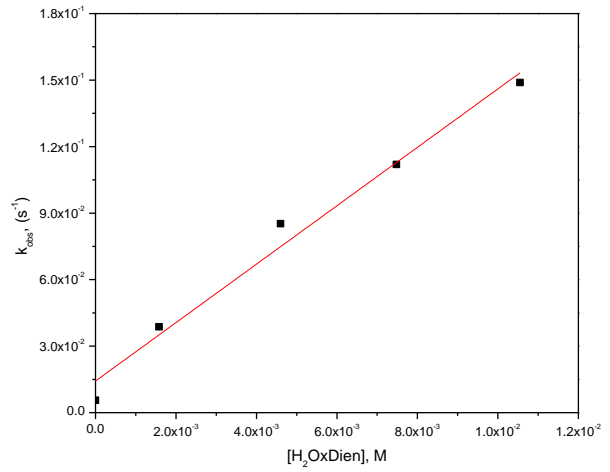
pH=9.50



pH=10.04

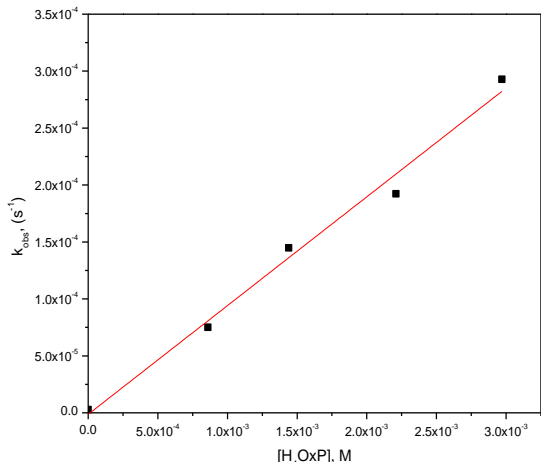


pH=10.51

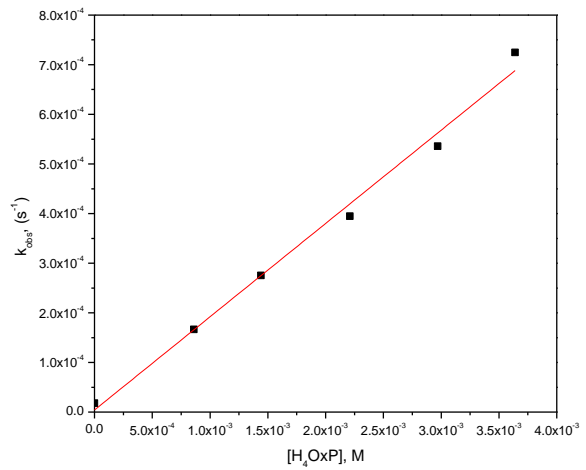


pH=11.08

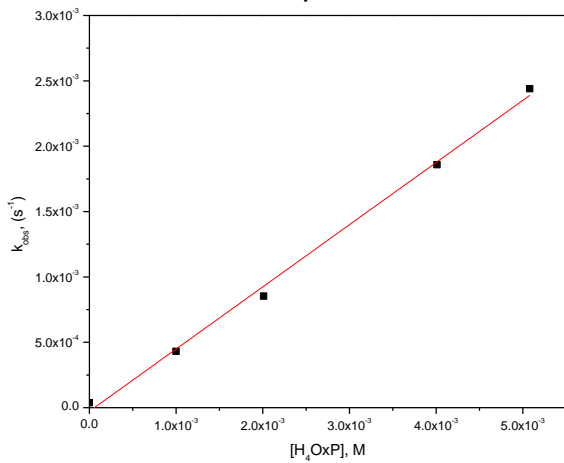
- Dependencia de la concentración de H<sub>4</sub>OxP a valores fijos de pH.



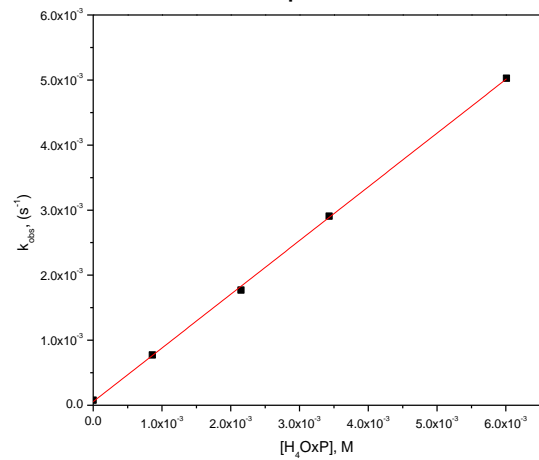
pH=7.58



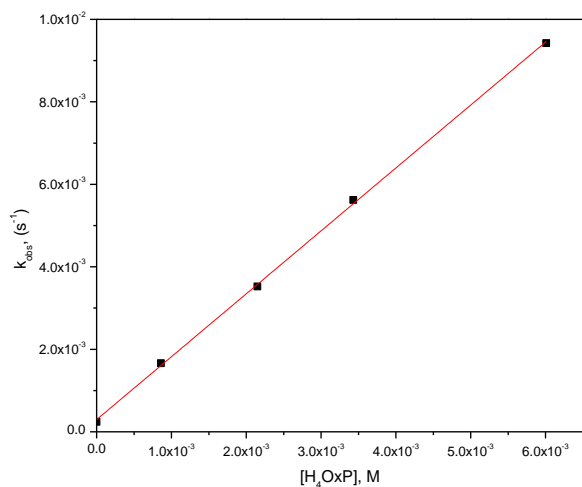
pH=8.12



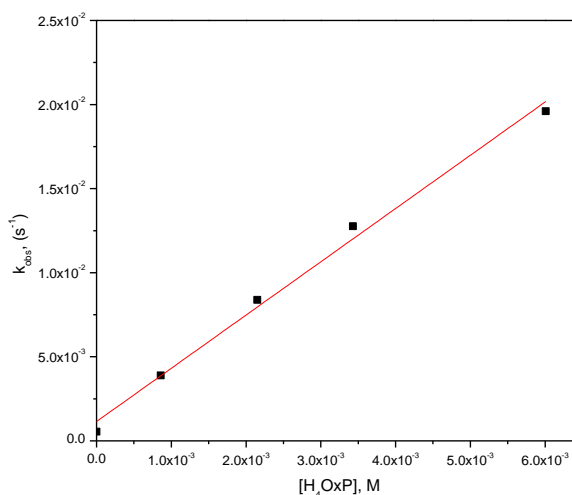
pH=8.53



pH=9.01

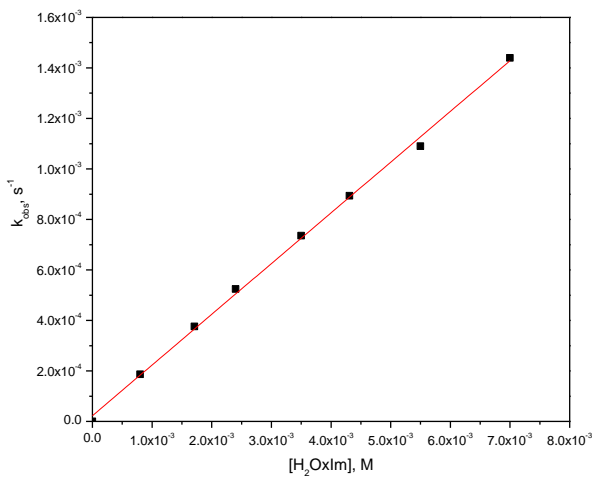


pH=9.50

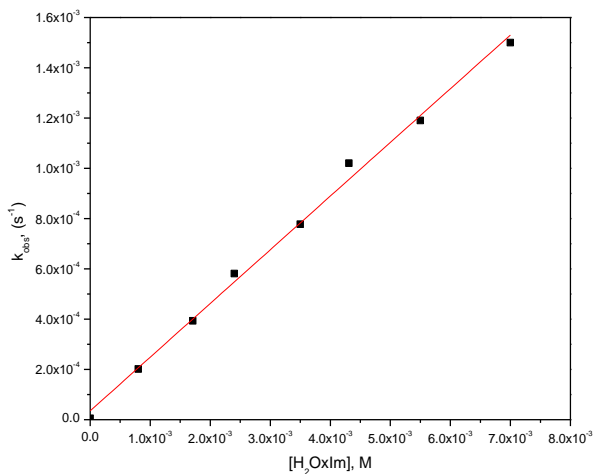


pH=10.04

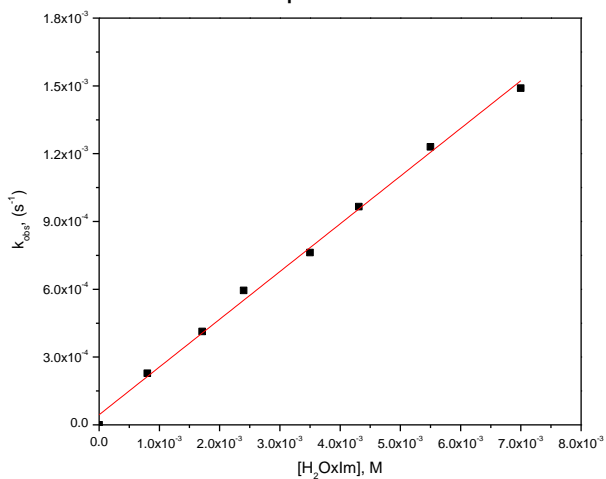
- Dependencia de la concentración de H<sub>2</sub>OxIm a valores fijos de pH.



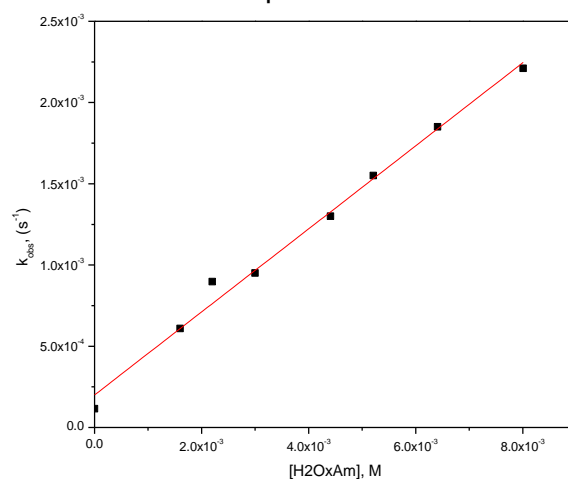
pH= 7.52



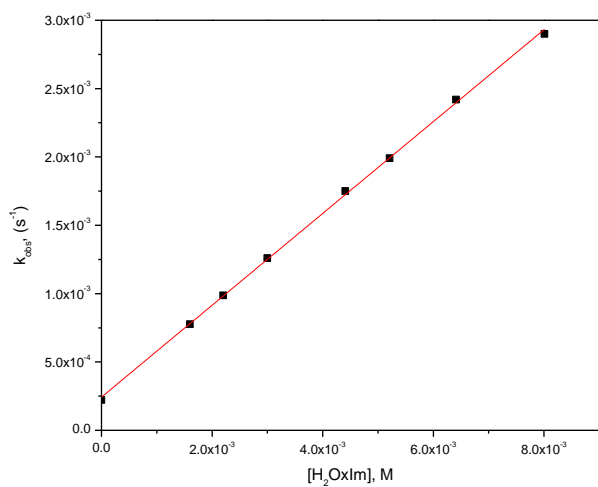
pH=8.01



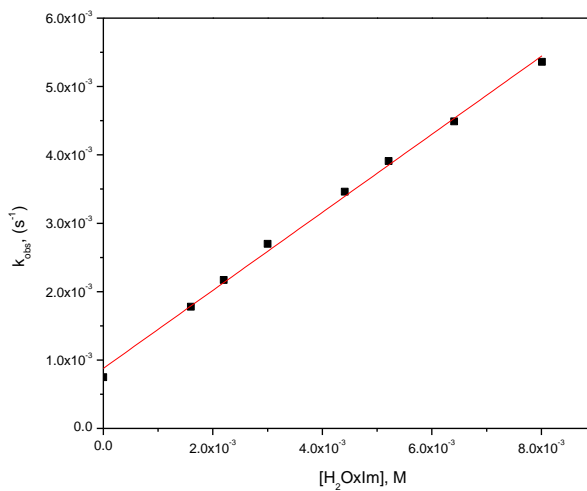
pH= 8.5



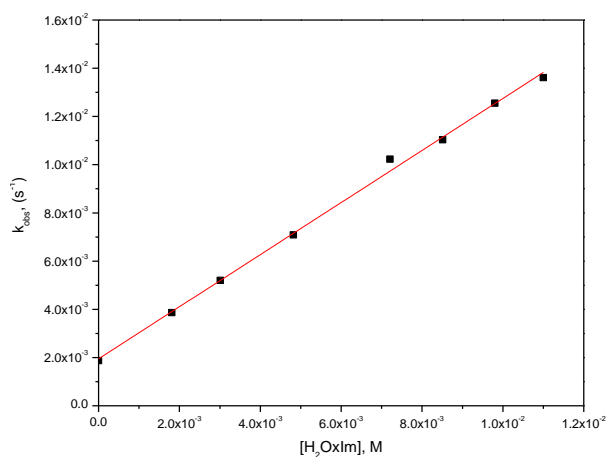
pH=9.03



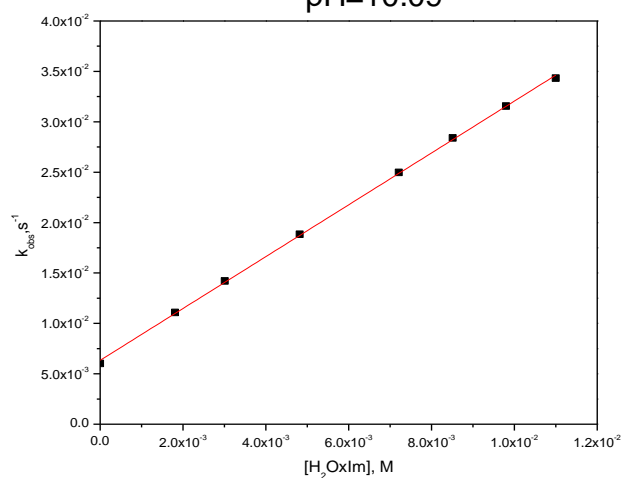
pH=9.5



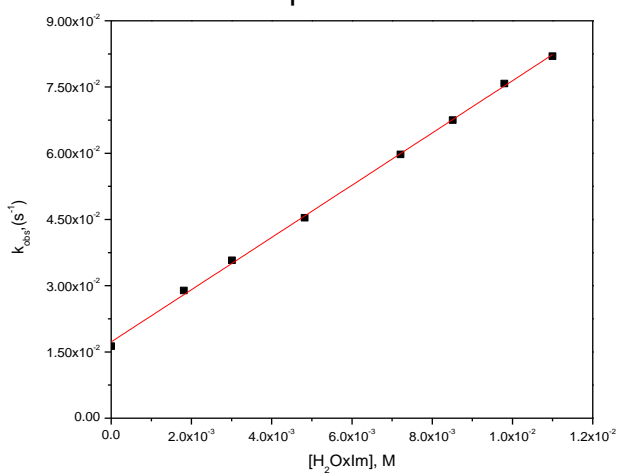
pH=10.09



pH=10.52



pH=11.08



pH=11.7

### Anexo III

A) Obtención de  $k_{obs}$  por el método integral.

Se considera que la hidrólisis del éster 4-NFA sigue la ecuación cinética (1)

$$\frac{d[NF^-]}{dt} = k[NFA][HOxDien^-] \quad (1)$$

Y que cada especie tiene un orden de reacción de uno, donde  $[HOxDien^-]$  es la concentración del ligante libre. En presencia de metales la concentración de la oxima no cambia con el tiempo, por lo que funciona catalíticamente y obtiene una condición de pseudoprimer orden, debido a esto la rapidez de la formación de 4-nitrofenol es igual :

$$\frac{d[NF^-]}{dt} = k_{obs}[NFA] = -\frac{d[NFA]}{dt} \quad (2)$$

$$\int \frac{d[NF^-]}{dt} = -k_{obs}dt \quad (3)$$

$$[NFA] = [NFA]_o e^{-k_{obs}(t)} \quad (4)$$

Al hacer el balance de masas de NFA:

$$[NFA] = [NFA]_o - [NF^-] \quad (5)$$

Al despejar la concentración  $[NFA]_o$  en la ecuación (5) y sustituirla en (4) y despejando  $[NF^-]$ , se obtiene una dependencia en función de la concentración de  $[NFA]_o$  :

$$[NFA] = [NFA]_o - [NFA]_o e^{(-k_{obs}(t))} \quad (6)$$

$$[NFA] = [NFA]_o (1 - e^{(-k_{obs}(t))}) \quad (7)$$

Al considerar la ley de Lambert-Beer, la cual relaciona proporcionalmente el producto del coeficiente de absortividad, la concentración y la longitud de paso óptico en el medio con la absorbancia:

$$A = \epsilon IC \quad (8)$$

Teniendo en cuenta que se utilizó una celda con un paso óptico de 1 cm de longitud y siguiendo la absorbancia a una longitud de onda de 400 nm, tenemos:

$$A^{400} = \varepsilon_{\text{NF}^-}^{400} [\text{NF}^-] \quad (9)$$

De (9) despejamos  $[\text{NF}^-]$  y sustituimos en (7). Posteriormente despejamos la absorbancia a 400 nm y obtenemos:

$$A^{400} = \varepsilon_{\text{NF}^-}^{400} [\text{NFA}]_0 (1 - e^{(-k_{\text{obs}}(t))}) \quad (10)$$

A un tiempo infinito, habrá una conversión completa del NFA inicial, por lo que queda:

$$A^{400} = A^{400}_{\infty} (1 - e^{(-k_{\text{obs}}t_{\infty})}) \quad (11)$$

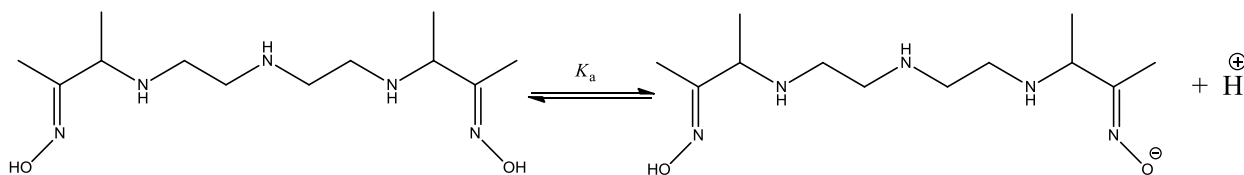
Pero la lectura de la absorbancia se inicia a un tiempo cero ( $t_0$ ), por lo que habrá una concentración inicial del producto debida al tiempo de transformación no monitoreado ( $A_i$ ), donde se observa a continuación su contribución:

$$A^{400} = A_o + \Delta A_{\infty}^{400} (1 - e^{(-k_{\text{obs}}(t))}) \quad (12)$$

Donde  $\Delta A^{400} = A_{\infty}^{400}$

(B) Modelo para la disociación ácida del grupo oxima.

Se consideró el siguiente equilibrio para calcular el valor de la constante de disociación ácida, tomando en cuenta solo uno de los dos grupos oximas presentes en el ligante.



$$K_a = \frac{[\text{HOxDien}^-][\text{H}^+]}{[\text{H}_2\text{OxDien}]} \quad (1)$$

Haciendo el balance de masas:

$$[H_2OxDien]_0 = [H_2OxDien] + [HOxDien^-] \quad (2)$$

Al considerar la absorbancia de la disolución, de acuerdo a ley de Lambert-Beer, tenemos:

$$Abs = \epsilon_1 [H_2OxDien] + \epsilon_2 [HOxDien^-] \quad (3)$$

Despejando del balance de masas (2) a  $[H_2OxDien]$  y sustituyendo en (3), se tiene:

$$Abs = \epsilon_1 ([H_2OxDien]_0 - [HOxDien^-]) + \epsilon_2 [HOxDien^-] \quad (4)$$

Despejando de (1)  $[HOxDien^-]$  y sustituyendo en (4) y asociando términos, obtenemos:

$$Abs = \epsilon_1 [H_2OxDien]_0 + (\epsilon_2 - \epsilon_1) \left( \frac{[H^+][HOxDien^-]}{K_a} \right) \quad (5)$$

Sustituyendo en el balance de masas por el oximato  $[HOxDien^-]$  de (1):

$$\begin{aligned} [H_2OxDien]_0 &= \frac{[H^+][HOxDien^-]}{K_a} + [HOxDien^-] = [HOxDien^-] \left( \frac{[H^+]}{K_a} + 1 \right) \\ [HOxDien^-] &= \frac{[H_2OxDien]_0}{\left( \frac{[H^+]}{K_a} + 1 \right)} \quad (6) \end{aligned}$$

Sustituyendo la ecuación (6) en (5) y reacomodando se obtiene (7):

$$\begin{aligned} Abs &= \epsilon_1 [H_2OxDien]_0 + (\epsilon_2 - \epsilon_1) \left( \frac{[H^+]}{K_a} \right) \left( \frac{[H_2OxDien]_0}{\left( 1 + \frac{[H^+]}{K_a} \right)} \right) \\ Abs &= \frac{\epsilon_1 [H_2OxDien]_0 \left( 1 + \frac{[H^+]}{K_a} \right) + (\epsilon_2 - \epsilon_1) \left( \frac{[H^+][H_2OxDien]_0}{K_a} \right)}{1 + \frac{[H^+]}{K_a}} \\ Abs &= \frac{\epsilon_1 [H_2OxDien]_0 + \epsilon_2 [H_2OxDien]_0 \left( \frac{[H^+]}{K_a} \right)}{1 + \frac{[H^+]}{K_a}} \quad (7) \end{aligned}$$



Sustituyendo el producto del coeficiente de absortividad y la concentración por la absorbancia, y en su forma logarítmica se obtiene:

$$Abs = \frac{A_{L^-} + A_0 (10^{pK_a - pH})}{1 + 10^{pK_a - pH}} \quad (8)$$