



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO**

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

**ACOPLAMIENTO DE FENOLES SUSTITUIDOS CATALIZADO POR  
COMPLEJOS BIOINSPIRADOS DE Cu(II)**

**TESIS**

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS**

PRESENTA

**Q. ALAN ULISES MENDIETA MARTÍNEZ**

DRA. LAURA GASQUE SILVA  
FACULTAD DE QUÍMICA

Ciudad Universitaria, CD. MX. Junio de 2018



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

## MIEMBROS DEL JURADO

<b>PRESIDENTE:</b> Dr. Anatoly Yatsimisky	Facultad de Química, UNAM
<b>VOCAL:</b> M. en C. Blas Flores Pérez	Facultad de Química, UNAM
<b>VOCAL:</b> Dr. José Ivan Castillo Pérez	Instituto de Química, UNAM
<b>VOCAL:</b> Dra. Liliana Quintanar Vera	CINVESTAV, IPN
<b>SECRETARIO:</b> Dra. Itzel Guerrero Ríos	Facultad de Química, UNAM

### SITIO DONDE SE DERROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio 216, División de estudios de posgrado, Departamento de Química Inorgánica y Nuclear. Facultad de Química, UNAM.

### PARTE DE ESTE TRABAJO SE PRESENTÓ EN:

“V Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry”, que se llevó a cabo del 18 al 22 de octubre del 2016 en Querétaro, México.



## *Agradecimientos*

A la UNAM y a la Facultad de Química por ser mi segunda casa, las cuales me permitieron desarrollarme exitosamente tanto en el ámbito profesional, cultural y docente. Siempre será un orgullo pertenecer a estas maravillosas instituciones. Esperando que algún día pueda retribuirles todo lo que me han brindado.

Al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas y al CONACYT por el gran apoyo financiero durante mis estudios de maestría con número de becario 596737.

A la Dra. Laura Gasque no solo por adoptarme desde “Kinder” para pertenecer a su extraordinario grupo de investigación, sino también por todo el cariño y apoyo incondicional brindado durante mi estancia en el laboratorio 216, además de agradecer sus maravillosas enseñanzas para desarrollarme exitosamente en el ámbito profesional y docente. ¡Muchas gracias!

A los miembros del jurado conformados por: el Dr. Anatoly Yatsimisky, el M. en C. Blas Flores Pérez, el Dr. José Ivan Castillo Pérez, la Dra. Liliana Quintanar Vera y la Dra. Itzel Guerrero Ríos por sus acertadas y valiosas aportaciones para el mejoramiento de este manuscrito.

A la Dra. Nuria Esturau Escofet por su apoyo y colaboración en el proyecto en temas relacionados con resonancia magnética nuclear.

Al Dr. Gerardo Ferrer Sueta por sus grandes y acertadas aportaciones a este proyecto.

A mis amigos de laboratorio: Óscar Gúzman, Edgar Zermeño y Juan Campos, por todas las buenas experiencias académicas y personales que pasamos juntos. Realmente fue una etapa maravillosa convivir con ustedes. ¡Son los mejores!

# ÍNDICE

<b>Índice</b>	I
<b>Abreviaturas y símbolos</b>	III
<b>Introducción</b>	1
<b>Capítulo 1. ANTECEDENTES</b>	4
<b>1.1 Cobre presente en los sistemas biológicos</b>	4
1.1.1 Clasificación de las enzimas de cobre	5
1.1.2 Oxígeno molecular en los procesos oxidativos	9
<b>1.2 Compuestos bioinspirados de Cu(II) estudiados por nuestro grupo de investigación</b>	13
1.2.1 Ligantes derivados de imidazol	15
1.2.2 Compuestos de coordinación de Cu(II) con ligantes derivados de imidazol	19
1.2.3 Propiedades estructurales y electrónicas de los complejos bioinspirados de Cu(II)	20
1.2.4 Actividad catecolasa de los complejos bioinspirados de Cu(II)	25
<b>1.3 Acoplamiento oxidativo de fenoles</b>	31
<b>1.3.1 Acoplamiento oxidativo de 2,6-dimetilfenol</b>	34
1.3.1.1 Aspectos generales	34
1.3.1.2 Mecanismo catalítico del acoplamiento oxidativo C-O del 2,6-dimetilfenol	37
1.3.1.3 Estudios preliminares del acoplamiento oxidativo del 2,6-dimetilfenol en el grupo investigación	41
1.3.1.4 Complejos de Cu(II) que catalizan selectivamente la polimerización del 2,6-dimetilfenol	43
<b>1.3.2 Acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol</b>	46
1.3.2.1 Aspectos estructurales y funcionales de la fenoxazinona sintasa	46
1.3.2.2 Sistemas modelo que presentan actividad fenoxazinona sintasa	51
1.3.2.3 Mecanismo catalítico del acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol	58
<b>Capítulo 2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS</b>	60
<b>Capítulo 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	62
<b>3.1. Acoplamiento oxidativo del 2,6-dimetilfenol</b>	62
<b>3.1.1. Efecto de la variación del catalizador</b>	64
3.1.1.1. Comparación de porcentaje de rendimiento entre complejos dinucleares de Cu(II)	67
3.1.1.2. Comparación de porcentaje de rendimiento entre complejos dinucleares de Cu(II) y sus análogos mononucleares de Cu(II)	69
3.1.1.3. Comparación de la longitud de cadena del polímero obtenido entre complejos dinucleares de Cu(II)	77

3.1.1.4. Comparación de la longitud de cadena del polímero obtenido entre complejos dinucleares de Cu(II) y sus análogos mononucleares de Cu(II)	79
<b>3.1.2. Variación en las condiciones de la reacción de polimerización del 2,6-dimetilfenol</b>	80
3.1.2.1. Variación de la relación del [DMP]:[Catalizador]	81
3.1.2.2. Variación de la temperatura	81
3.1.2.3. Variación de la relación del medio MeCN: H <sub>2</sub> O	82
<b>3.2. Acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol</b>	85
<b>3.2.1. Estudios preliminares de actividad fenoxazinona sintasa de los complejos bioinspirados de Cu(II)</b>	86
<b>3.2.2. Estudios cinéticos de la reacción de acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol</b>	99
3.2.2.1. Efecto de la variación de la concentración del catalizador	101
3.2.2.2. Efecto de la variación de concentración del sustrato	107
<b>Capítulo 4. CONCLUSIONES</b>	123
<b>Capítulo 5. SECCIÓN EXPERIMENTAL</b>	126
<b>5.1 Equipos y reactivos</b>	126
5.1.1 Reactivos y disolventes	126
5.1.2 Equipos	127
<b>5.2 Síntesis de los ligantes dinucleantes y mononucleantes</b>	128
5.2.1 Síntesis del ligante dihe	128
5.2.2 Síntesis del ligante dihp	128
5.2.3 Síntesis del ligante dimp	129
5.2.4 Síntesis del ligante diep	129
5.2.5 Síntesis del ligante mihe	130
5.2.6 Síntesis del ligante miep	131
<b>5.3 Acoplamiento oxidativo del 2,6-dimetilfenol</b>	131
5.3.1 Preparación de los catalizadores en disolución	131
5.3.2 Polimerización del 2,6-dimetilfenol catalizado por los complejos bioinspirados de Cu(II)	133
5.3.3 Variación de las condiciones de la reacción de polimerización del 2,6-dimetilfenol	134
<b>5.4 Acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol</b>	135
5.4.1 Estudios preliminares	135
5.4.2 Estudio cinético de la reacción de acoplamiento del 2-aminofenol	136
<b>Capítulo 6. REFERENCIAS</b>	141

# ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

*dihe*: 2,8-dimetil-5,11-di-(hidroxietil)-1,4,5,6,7,10,11,12-octahidroimidazo[4,5h]-imidazo[4,5-c][1,6]diazecina.

*dihp*: 2,8-dimetil-5,11-di-(hidroxipropil)-1,4,5,6,7,10,11,12-octahidroimidazo[4,5h]-imidazo[4,5-c][1,6]diazecina.

*diep*: 2,8-dimetil-5,11-di-(2-etilpiridina)-1,4,5,6,7,10,11,12-octahidroimidazo[4,5h]-imidazo[4,5-c][1,6]diazecina.

*dimp*: 2,8-dimetil-5,11-di-(2-metilpiridina)-1,4,5,6,7,10,11,12-octahidroimidazo[4,5h]-imidazo[4,5-c][1,6]diazecina.

*mihe*: 2-[N'-(2-etil-5-metilimidazol-4-il)metil](N-metil)amino]etanol

*miep*: 2-[N'-(2-etil-5-metilimidazol-4-il)metil](N-metil)amino]piridina

*emisar*: N'-(2-etil-5-metilimidazol-4-il)metil}(N'N''N'''-trimetil)etilendiamina

*emitrim*: Ácido 2-[N'-(2-etil-5-metilimidazol-4-il)metil](N-metil)amino] etanoico

DMP: 2,6-Dimetilfenol

RMN: Resonancia Magnética Nuclear

EPR: Resonancia Paramagnética electrónica

PPE: siglas en inglés poly (2,6-dimethyl-1,4-phenylene ether))

PPO: siglas en inglés poly (2,6-dimethyl-1,4-phenylene oxide))

TMBD: 3,3',5,5'-tetrametil-bifenil-4,4'-diol

DPQ: 3,3',5,5'-tetrametil-4,4'-difenoquinona

MeCN: Acetonitrilo

MeOH: Metanol

DTBC: 3,5-di-*terc*-butilcatecol

DTBQ: 3,5-di-*terc*-butilquinona

DTBF: 2,6-di-*terc*-butilfenol

PHS: Fenoxazinona sintasa (siglas en inglés)

TEA: N,N,N-trietilamina

V<sub>0</sub>: Velocidad inicial

$K_M$ : Constante de Michaelis-Menten

$K_{cat}$ : Constante catalítica o número de recambio

$V_{max}$ : Velocidad máxima

DDQ: 2,3-Dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona

BQMI: Iminobenzoquinona (siglas en inglés)

OAP: *o*-Aminofenol

$M_n$ : Masa molecular promedio en unidades (polímeros)

$\lambda_{max}$ : Longitud de onda máxima

$k_{obs}$ : Constante de velocidad observada

Cat: Catalizador

CatS: Complejo catalizador- sustrato

S: Sustrato

[CuL]: Complejo mononuclear de Cu(II)

[Cu<sub>2</sub>L]: Complejo dinuclear

# INTRODUCCIÓN

En la mayoría de los sistemas biológicos, metales de transición como: hierro, níquel, cobalto, cobre, manganeso, zinc, molibdeno, se encuentran formando parte de un grupo de proteínas conocidas como metaloproteínas que constituyen el dominio de la química bioinorgánica. Dentro de la clasificación de estas macromoléculas se encuentran las denominadas metaloenzimas cuyas funciones dependen de la naturaleza del catión metálico dentro del sitio activo. En nuestro caso, el interés por las metaloenzimas es por aquellas que contienen uno o más átomos de cobre en su sitio activo; puesto que su actividad siempre está asociada a reacciones de transferencia electrónica, catálisis de oxidación de sustratos orgánicos (aminas, carbohidratos, fenoles, etc) por  $O_2$ ; transporte, activación y reducción del  $O_2$ , debido a las propiedades rédox que posee el catión metálico.

Ante la complejidad de estas metaloenzimas, resulta todo un reto aislarlas, purificarlas y manipularlas con la finalidad de realizar estudios que brinden información certera acerca de la estructura y actividad catalítica de sus sitios activos. Sin embargo, para algunos grupos de investigación la complejidad de estas macromoléculas no resulta ser una limitante para estudiarlas<sup>i</sup>. Una de las posibles vías a las que han recurrido los químicos bioinorgánicos para resolver esta problemática es modelar y sintetizar compuestos de coordinación de bajo peso molecular que emulen algunas de las características, propiedades y funciones de sus centros activos denominados “sistemas modelo”, “complejos biomiméticos” o “complejos bioinspirados”. Estos sistemas modelos, además de proporcionar un mayor entendimiento acerca de las metaloenzimas por medio de información cinética, estructural y espectroscópica para compararla con el sistema biológico, permiten obtener información que es difícil de obtener de los estudios directos con las metaloenzimas. La obtención de estos compuestos tiene el potencial no solo de proporcionar entendimiento acerca del funcionamiento de las metaloenzimas, sino también para producir nuevos catalizadores que permitan efectuar transformaciones con aplicaciones prácticas, que son difíciles de llevar a cabo, en condiciones suaves de reacción. Algunos ejemplos son las oxidaciones selectivas llevadas a cabo mediante el uso de  $O_2$ .

Una de las características estructurales más comunes en las metaloenzimas de cobre, es encontrar al catión metálico coordinado a residuos imidazólicos de histidina. Esto ha inspirado a varios grupos de investigación a diseñar y sintetizar compuestos de coordinación de cobre preferentemente con ligantes que contengan átomos de nitrógeno de naturaleza heteroaromática.

En nuestro grupo de investigación se han sintetizado y caracterizado una importante colección de ligantes dinucleantes y mononucleantes derivados de imidazol y sus correspondientes complejos de cobre (II) cuyas propiedades estructurales, espectroscópicas, magnéticas y catalíticas también han sido estudiadas, encontrándose que los complejos dinucleares de Cu(II) pese a no ser tan buenos modelos estructurales de la catecol oxidasa presentan una importante actividad catecolasa en comparación con muchos modelos de Cu(II) descritos en la literatura. Además, se han sintetizado complejos mononucleares de Cu(II) análogos a los complejos dinucleares, para los cuales su actividad catecolasa disminuye drásticamente; hasta la fecha no se comprende la razón de este fenómeno. Ante la importante actividad catalítica mostrada por los complejos bioinspirados de Cu(II) surgió la idea de explorar la reactividad de esta serie de complejos dinucleares y mononucleares de cobre (II) frente a compuestos fenólicos.

Los compuestos fenólicos pueden llevar a cabo reacciones de **acoplamiento oxidativo**. Este tipo de reacciones consisten principalmente en la activación del enlace C-H del anillo aromático para dar paso a formación de enlaces C-C o C-O entre anillos aromáticos. Esta reactividad depende principalmente de la naturaleza de los sustituyentes de las posiciones *orto* y *para* del anillo aromático del compuesto fenólico. Este trabajo se enfoca en estudiar la actividad catalítica de los complejos bioinspirados de Cu(II) en las reacciones de acoplamiento oxidativo de dos distintos fenoles:

- a) La polimerización del 2,6-dimetilfenol (producto de acoplamiento C-O) en el medio MeCN/H<sub>2</sub>O, ya que dicho producto de polimerización es un termoplástico utilizado como materia prima en la fabricación de productos de interés industrial.

- b) La reacción de acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol en solución metanólica produciendo la 2-amino-3*H*-fenoxazin-3-ona que presenta propiedades antimicrobianas, aunque el verdadero interés por esta reacción se debe a su uso como reacción modelo para evaluar la actividad fenoxazinona sintasa de diversos complejos de Co, Mn, Fe y Cu. La fenoxazinona sintasa es una metaloenzima que contiene cobre, cuya función consiste en catalizar la reacción de acoplamiento de un derivado de OAP cuyo producto posee potentes actividades antineoplásicas para ser utilizado como fármaco en el tratamiento de diferentes tipos de cáncer.

Para caracterizar y cuantificar los productos obtenidos en los diferentes procesos oxidativos se utilizan diferentes técnicas como:  $^1\text{H}$ -RMN,  $^{13}\text{C}$ -RMN y Espectroscopia UV-Vis.

Se comparó la actividad catalítica de los complejos bioinspirados de Cu(II) en las reacciones de acoplamiento oxidativo de los sustratos mencionados anteriormente, con la finalidad de entender como las variaciones estructurales y electrónicas del tercer diente en los ligantes afecta el rendimiento del proceso de polimerización y la longitud de cadena del producto polimérico. Por otra parte, en el caso de la reacción oxidativa del 2-aminofenol, las variaciones estructurales y electrónicas del tercer diente en los complejos bioinspirados de Cu(II) afectan la velocidad inicial ( $v_0$ ) del proceso oxidativo encontrándose por medio de estudios cinéticos un comportamiento totalmente distinto al variar la concentración del sustrato para los complejos bioinspirados de Cu(II)

# Capítulo 1

## ANTECEDENTES

### 1.1 Cobre presente en los sistemas biológicos

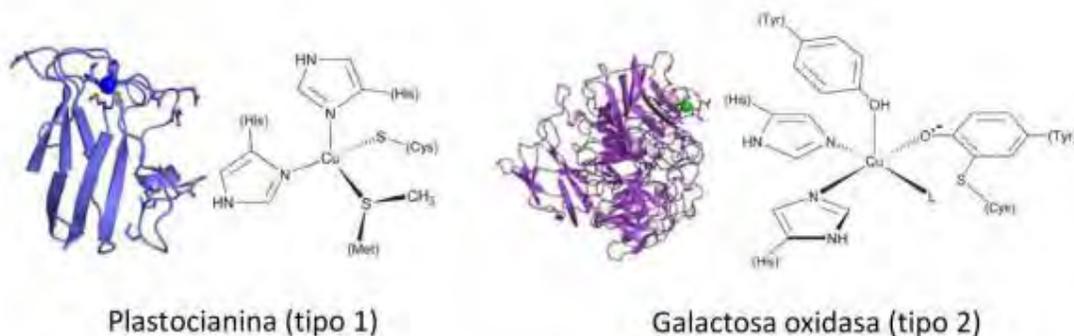
El cobre es un elemento esencial que requieren los sistemas vivos para el funcionamiento de diversos procesos biológicos. Este metal se encuentra en concentraciones del orden de partes por millón (ppm) en la mayoría de los organismos vivos, siendo el tercer metal de transición más abundante en el cuerpo humano con un valor de 1.7 ppm, por detrás de hierro y cinc<sup>2</sup>. La mayor parte del cobre presente en los sistemas biológicos se encuentra enlazado a numerosas proteínas, cuyo entorno de coordinación dentro del sitio activo de la metaloproteína juega un papel relevante en las funciones bioquímicas que ésta desempeña. Los estados de oxidación más comunes del cobre y que presentan relevancia biológica son: Cu (I) y Cu (II). El Cu (I), que es un ácido “blando”, se encuentra enlazado a las proteínas mediante de residuos de cisteína o metionina de la macromolécula, siendo el azufre el átomo donador. En cuanto al Cu (II), que es un ácido “intermedio”, el rango de ligantes aumenta incluyendo átomos de nitrógeno provenientes de residuos de histidínicos, característica estructural común en la mayoría de las metaloenzimas de cobre. También se puede encontrar enlazado a grupos carboxilato provenientes de residuos de aspartato y glutamato, átomos de nitrógeno y grupos carbonilo provenientes del esqueleto de la proteína y por último átomos de azufre de cisteína y metionina<sup>3</sup>.

### 1.1.1 Clasificación de las metaloenzimas de cobre (II)

Las metaloproteínas de cobre han sido muy estudiadas y para tratar de sistematizarlas se han utilizado diversos criterios. Existen dos clasificaciones importantes que se basan en:

- a) La función que desempeñan.
- b) La estructura del sitio activo.

Ninguna de las dos clasificaciones es excluyente puesto que ambas nos proporcionan información acerca del cobre en los sistemas vivos. Los criterios que se utilizan para la clasificación de la estructura del sitio activo se realizan en función de las características espectroscópicas y magnéticas de los centros metálicos, las cuales reflejan la estructura electrónica y geométrica del centro activo de la metaloenzima. Se han identificado siete tipos de metaloenzimas de cobre, a partir de datos experimentales: tipo I (plastocianina y azurina), tipo II (galactosa oxidasa y Cu-Zn superóxido dismutasa), tipo III (catecol oxidasa y tirosinasa), tipo IV (laccasa y ascorbato oxidasa), Cu<sub>A</sub> sitio de valencia mixta (citocromo c oxidasa y óxido nitroso-reductasa), Cu<sub>B</sub> (citocromo c oxidasa) y Cu<sub>Z</sub> (óxido nitroso reductasa)<sup>4,i</sup>. En las siguientes figuras 1.1.1 y 1.1.2 se muestran algunos ejemplos de metaloenzimas de cobre.



**Figura 1.1.1.** Tipo de sitios activos en las metaloproteínas de Cu(II).

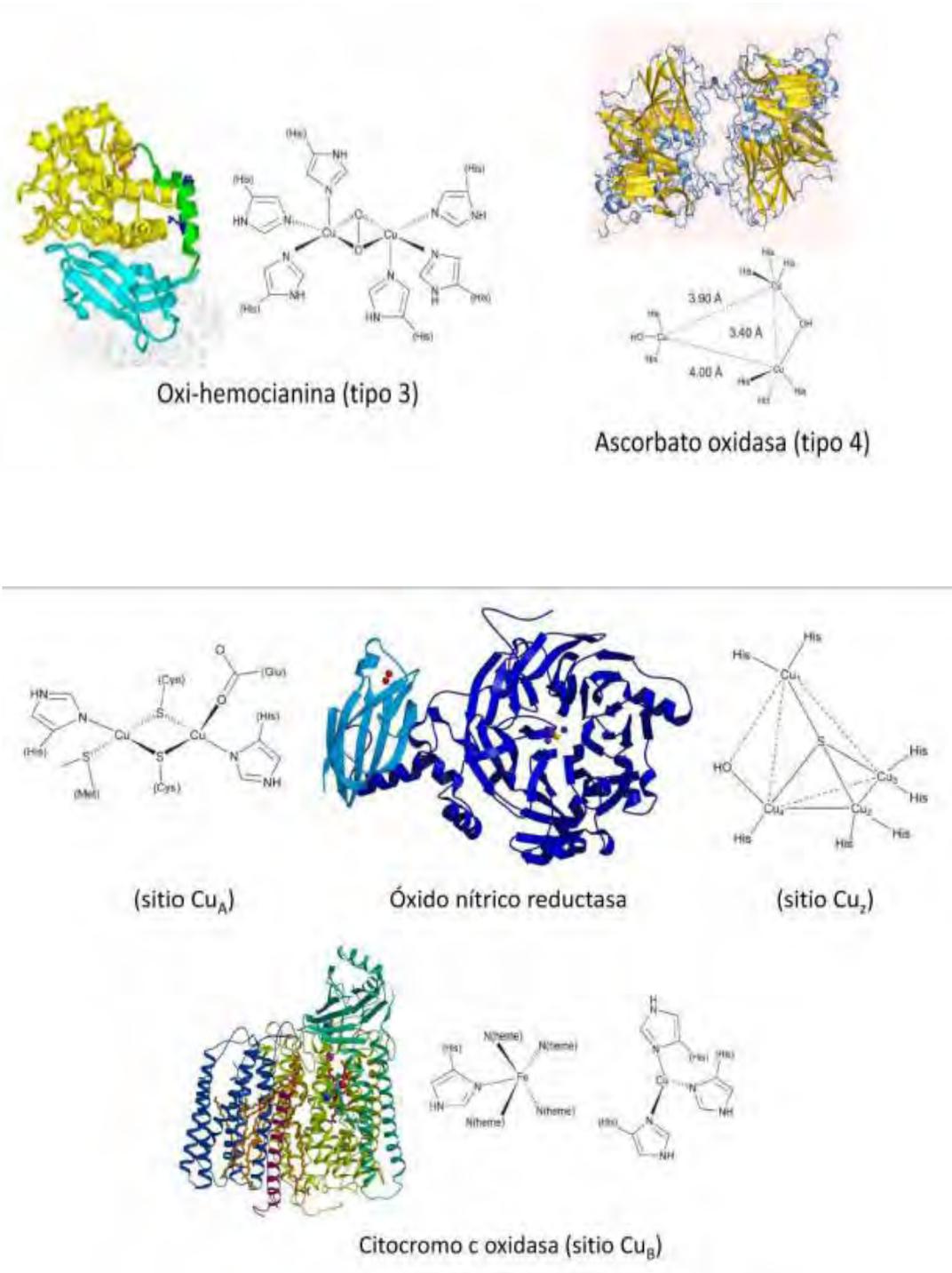


Figura 1.1.2. Tipos de sitios activos en las metaloproteínas de Cu(II)

En el presente trabajo solo se discutirá sobre la clasificación de las metaloproteínas de cobre con base a la función que desempeñan. En esta clasificación se han identificado 4 procesos que llevan a cabo<sup>5</sup>:

- Transporte, almacenamiento y recepción de iones metálicos.
- Transferencia electrónica
- Transporte y almacenamiento de oxígeno
- Catálisis (metaloenzimas)

La función que resulta interesante para el grupo de investigación es en cuestiones de catálisis, puesto que en las metaloenzimas de cobre los procesos catalíticos involucran procesos rédox en el que  $O_2$  es el protagonista de estos procesos oxidativos. Las principales funciones de este tipo de metaloenzimas son: reducción de  $O_2$  a  $H_2O_2$  o a  $H_2O$ , oxidación de sustratos orgánicos por  $O_2$  y metabolismo de  $O_2$ .

Con base en el proceso rédox que desempeña las metaloenzimas se pueden clasificar de la siguiente manera: oxidasas, monooxigenasas y dioxigenasas<sup>6,7</sup>.

- a) Oxidasas: catalizan la transferencia de electrones al oxígeno molecular que puede reducirse a superóxido, peróxido o agua.
- b) Monooxigenasas: catalizan reacciones de inserción de un solo átomo de oxígeno, mientras que el otro se reduce formando agua.
- c) Dioxigenasas: catalizan reacciones en el que ambos átomos de oxígeno se incorporan al sustrato.

En la siguiente tabla se muestran algunos ejemplos de metaloenzimas que catalizan estos procesos oxidativos, y algunos ejemplos de otras metaloenzimas con diferentes funciones.

*Tabla 1.1.1. Ejemplos de metaloproteínas de cobre con base en su función*

<b>Función</b>	<b>Reacción</b>	<b>Proteína de cobre</b>	<b>Distribución</b>
<b>Transporte de O<sub>2</sub></b>	$Hc + O_2 \rightleftharpoons [HcO_2]$	Hemocianina	Moluscos y artrópodos
<b>Transporte de electrones</b>	$Cu^I \rightleftharpoons Cu^{II} + e^-$	Plastocianina Azurina	Plantas Bacterias
<b>Oxidasas "azules"</b>	$O_2 \rightarrow 2H_2O$	Lacasa Ascorbato oxidasa  Ceruleoplasmina	Plantas Plantas  Suero humano y animal
<b>Oxidasas "no azules"</b>	$O_2 \rightarrow H_2O_2$	Galactosa oxidasa Catecol oxidasa Amino oxidasa	Hongos Bacterias, levaduras, plantas y animales
<b>Oxidasa terminal</b>	$O_2 \rightarrow 2H_2O$	Citrocomo c oxidasa	Bacterias aeróbicas y mitocondrias eucariotas
<b>Monooxigenasas</b>	$O_2 \rightarrow H_2O + \text{sustrato-O}$	Dopamina $\beta$ - monooxigenasa Tirosinasa	Mamíferos  Microorganismos, plantas y animales
<b>Dioxigenasas</b>	$O_2 \rightarrow 2 \text{sustrato-O}$	Quercetinasa	Hongos
<b>Degradación de superóxido</b>	$O_2^- \rightarrow O_2 + O_2^{2-}$	Cu,Zn-Superóxido dismutasa	Citoplasma de células eucariotas

### 1.1.2 Oxígeno molecular en procesos oxidativos

Las reacciones de oxidación son pieza fundamental dentro de la síntesis orgánica, ya que desempeñan un rol muy importante para la producción de una inmensa cantidad de compuestos con interés a nivel industrial, farmacéutico y químicos, entre otros. Por razones ambientales y económicas, los procesos oxidativos que se llevan a cabo en las distintas industrias químicas utilizan preferentemente oxígeno molecular como oxidante principal. El uso de este oxidante es ideal debido a la disponibilidad directa del aire que lo hace una fuente barata y ambientalmente adecuada para llevar a cabo una enorme cantidad de procesos oxidativos a comparación de los métodos de oxidación clásicos donde utilizan cantidades estequiométricas de oxidantes inorgánicos que resultan ser tóxicos y contaminantes ambientales como: permanganato de potasio y dicromato de potasio. En la tabla 1.1.2 se muestran algunos ejemplos de productos sintetizados mediante oxígeno molecular como agente oxidante. Sin embargo, el éxito de estas reacciones oxidativas depende directamente del uso de catalizadores heterogéneos y homogéneos<sup>8</sup>.

Una de las limitantes importantes para utilizar oxígeno molecular en los procesos oxidativos está relacionado con su naturaleza cinéticamente inerte, ya que las reacciones con sustratos orgánicos no son favorables a condiciones ambientales; esto se debe al estado fundamental singulete que presentan la mayoría de dichas moléculas. Lo que significa que las reacciones entre dichas moléculas orgánicas con estado singulete y oxígeno molecular están prohibidas por espín, permitiendo que exista vida en una atmosfera oxidante como la nuestra. Sin embargo, si el sustrato orgánico se convierte en un radical mediante la combustión a temperaturas elevadas donde se produce luz y calor sin ningún control, el proceso oxidativo será favorable, dado que la reacción ya está permitida por spin<sup>9</sup>.

**Tabla 1.1.2.** Productos de interés a nivel industrial sintetizados con O<sub>2</sub> como agente oxidante y un catalizador (homogéneo o heterogéneo)<sup>8</sup>.

Producto	Materia prima	Oxidante/proceso
Estireno	Benceno/eteno	O <sub>2</sub> / en fase líquida
Ácido tereftálico	p-Xileno	O <sub>2</sub> /fase líquida
Formaldehido	Metanol	O <sub>2</sub> /fase gas
Óxido de etano	Etano	O <sub>2</sub> /fase gas
Fenol	a) Benceno/propeno b) Tolueno	O <sub>2</sub> /fase líquida
Ácido Acético	a) n-butano b) Eteno	O <sub>2</sub> /fase líquida
Ácido acrílico	Propeno	O <sub>2</sub> /fase gas
Ácido benzoico	Tolueno	O <sub>2</sub> /fase líquida
Anhídrido Maleico	n-butano	O <sub>2</sub> /fase gas
Anhídrido ftálico	o-Xileno	O <sub>2</sub> /fase gas
Ácido adípico	Benceno	O <sub>2</sub> /fase líquida

Una de las posibilidades para llevar a cabo los procesos oxidativos con O<sub>2</sub>, es la activación de esta molécula diatómica mediante una transferencia electrónica con ciertos cationes metálicos. La naturaleza ha brindado una solución elegante para superar la barrera cinética de la activación del oxígeno molecular mediante el uso de metales de transición incorporados a las proteínas: las denominadas metaloenzimas. Entre las numerosas metaloenzimas involucradas en la transferencia de electrones se encuentran las que contienen cobre que se describieron anteriormente, además muchas otras que contienen hierro o manganeso. Esto ha inspirado a obtener catalizadores con estos iones metálicos para ser utilizados en reacciones de oxidación que sean capaces de activar O<sub>2</sub><sup>10</sup>.

Los químicos inorgánicos, utilizando conocimientos de química de coordinación, han diseñado catalizadores de bajo peso molecular que imitan las características estructurales o funcionales del sitio activo de las metaloenzimas que tienen la capacidad de activar O<sub>2</sub>. En general, la actividad catalítica de la mayoría de los complejos metálicos es alentadora, sin embargo, muchos de los complejos resultan ser poco eficientes en los procesos

oxidativos. Indudablemente los estudios de actividad catalítica de estos complejos son muy útiles para proporcionarnos información útil acerca de importantes aspectos mecanísticos de dichas metaloenzimas. El desarrollo de reacciones catalíticas con la perspectiva de comprender e imitar las funciones enzimáticas de las metaloenzimas ha sido el enfoque de los químicos bioinorgánicos durante las últimas décadas. Además de ayudar a comprender una posible vía mecanística de la metaloenzima a través de estos complejos biomiméticos, una idea a largo plazo es desarrollar complejos que serían muy útiles como catalizadores.

Ha habido un considerable interés en el uso de cobre en la química de reducción de  $O_2$ . Una de las razones se debe a la existencia de las metaloenzimas que contienen cobre que efectúan eficientemente la reducción de  $O_2$  como parte de su función. Existen las multicobre oxidasas en las que el que el sitio activo está conformado por un clúster tricobre más un cobre (II) separado, pero electrónicamente comunicado. Este último efectúa oxidaciones de un electrón a la vez de sustratos biológicos, por ejemplo: ascorbato, fenoles y diaminas. Dichos estudios han llevado al uso de tales enzimas como soporte en electrodos para llevar a cabo reducciones electrocatalíticas de oxígeno molecular con actividades elevadas.

La existencia de metaloenzimas cuyo sitio activo está conformado por dos o más cationes metálicos de Cu(II) como por ejemplo, la hemocianina que es un portador de oxígeno en la sangre de moluscos y artrópodos o la tirosinasa cuya función es hidroxilar fenoles para producir catecoles y/o quinonas, ha llevado a los químicos bioinorgánicos a estudiar la unión y reactividad del oxígeno molecular con complejos de cobre. Tales investigaciones han revelado muchos aspectos fundamentales nuevos en el campo, incluido el descubrimiento de varios complejos incluyendo al grupo Cu(I)- $O_2$  muy bien definidos. Se conocen cuatro tipos estructurales, y la generación de uno u otro depende principalmente de la naturaleza del ligante nitrogenado, y los compuestos formados pueden surgir a partir de diferentes especies mononucleares de Cu(II) o de complejos dinucleares de Cu(II)<sup>11</sup>. Algunas de estas estructuras se muestran en la siguiente figura 1.1.3.

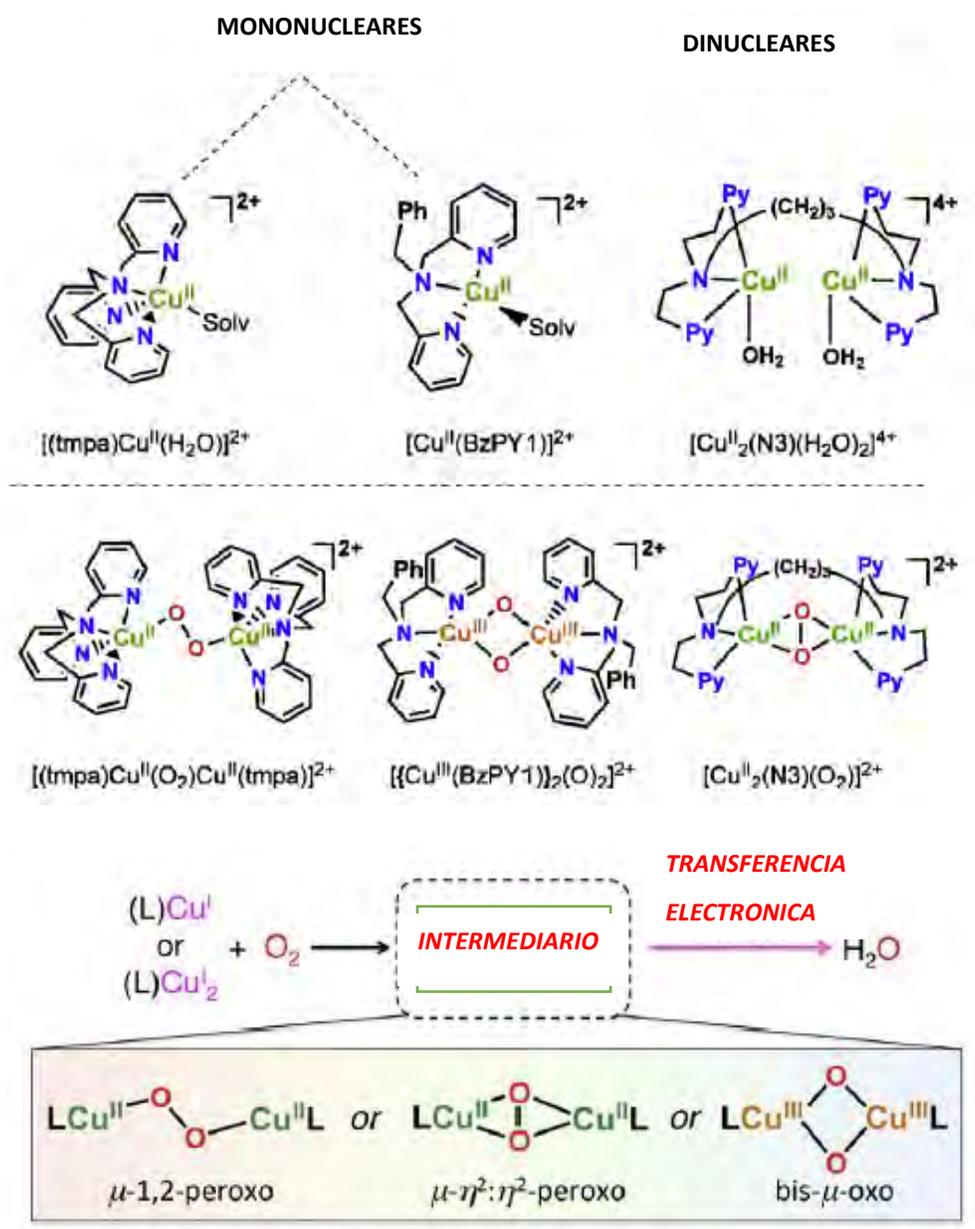


Figura 1.1.3. Formación de complejos intermedios de Cu(II) y oxígeno molecular<sup>11</sup>.

## 1.2 Compuestos bioinspirados de Cu(II) estudiados por nuestro grupo de investigación

En los últimos años se han intensificado los estudios acerca de la estructura y actividad catalítica de los sitios activos de las metaloenzimas, pero han resultado ser complicados debido a los problemas que se derivan de su obtención y manipulación. Una de las estrategias para obtener información acerca de la relación que existe entre la estructura y función del sitio activo en la metaloenzima, es modelar y sintetizar compuestos de coordinación de bajo peso molecular que emulen algunas de las características estructurales, funcionales y/o espectroscópicas de estos sitios activos. Estos nuevos compuestos inspirados específicamente en el sitio activo de los catalizadores biológicos son denominados “sistemas modelo”. Esta nueva área encargada en estudiar los diversos “sistemas modelo”, se le conoce como química biomimética o bioinspirada.

Entre las metaloenzimas, aquellas que realizan sus funciones catalíticas mediante sitios activos que contienen cobre han recibido gran interés debido a su participación en reacciones vitales para los sistemas biológicos. El sitio activo en casi todas las metaloenzimas de cobre está constituido por uno o más cationes metálicos enlazados principalmente a grupos imidazólicos provenientes de residuos histidínicos<sup>12</sup>. Esta principal característica estructural ha inspirado a distintos grupos de investigación incluyendo al nuestro a no solo a obtener “sistemas modelo” de cobre, sino también nuevos catalizadores bioinspirados con ligantes constituidos por átomos donadores de nitrógeno; primordialmente de naturaleza heteroaromática como piridinas<sup>13, 14</sup>, pirazoles<sup>15, 16</sup>, imidazoles<sup>17, 18</sup> entre otros.

Algunas metaloenzimas de cobre como la catecol oxidasa (cataliza la oxidación de catecoles para dar las respectivas *orto*-quinonas), hemocianina (acarrea oxígeno en moluscos y artrópodos) y tirosinasa (cataliza la producción de melanina) requieren de la presencia de por los menos dos átomos de cobre que interactúen íntimamente para realizar sus funciones catalíticas. Durante años se han propuesto una gran variedad de “sistemas modelo” de cobre cuyos ligantes además de contener grupos donadores por nitrógeno,

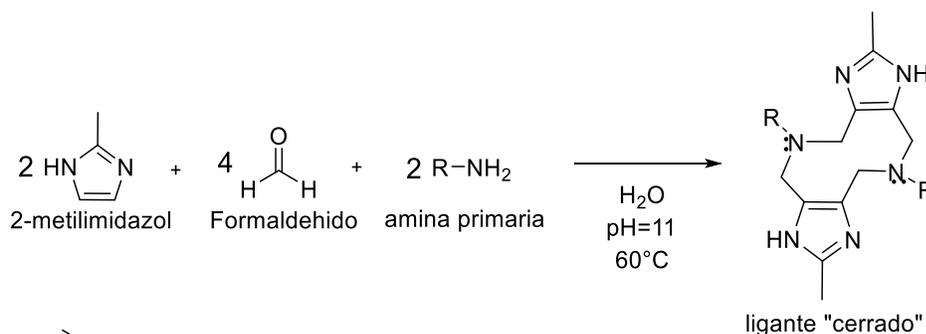
también tienen la capacidad de coordinar a dos átomos de cobre manteniéndolos a una distancia cercana de entre 3 y 4 Å, de tal manera que exista una comunicación íntima entre los dos centros metálicos, lo cual los hace sistemas muy atractivos para su estudio, por su semejanza estructural con las mencionadas metaloenzimas.

Nuestro grupo de investigación se ha dedicado a estudiar las propiedades estructurales, espectroscópicas, en disolución y catalíticas de una importante colección de compuestos de coordinación dinucleares y mononucleares de Cu(II), principalmente dinucleares, con ligantes derivados de imidazol que a pesar de no ser buenos modelos estructurales de la catecol oxidasa, presentan una actividad catecolasa importante. Ha resultado de gran interés explicar la relación que existe entre la actividad catecolasa de estos complejos de Cu(II) con la modificación en las propiedades estructurales de los ligantes, además de conocer el comportamiento de estos sistemas en disolución en los diferentes medios en el que se lleva a cabo la actividad catalítica.

### 1.2.1 Ligantes derivados de imidazol

Desde hace algunos años, la reacción de Mannich en condiciones básicas ha resultado ser la única vía efectiva para sintetizar la importante colección de ligantes; a partir de 2-metilimidazol (en el caso de los dinucleantes) o 2-etil-4-metilimidazol (en el caso de los mononucleantes), formaldehído y una amina primaria o secundaria.

Los ligantes dinucleantes denominados “cerrados” son los compuestos más estudiados por el grupo de investigación en comparación con los ligantes mononucleantes. Estos ligantes “cerrados” se sintetizan a partir de 2-metilimidazol, formaldehído y una amina primaria como se muestra en el esquema 1.2.1.



**Esquema 1.2.1.** Síntesis de ligantes dinucleantes mediante la reacción de Mannich.

Una característica estructural de todos los ligantes “cerrados” es la presencia de un anillo de 10 miembros conocido como anillo diazocina producto de la doble reacción de Mannich. El anillo de 10 miembros está conformado por 4 átomos de carbono de las posiciones 4 y 5 de las moléculas de 2-metilimidazol y aminometilos provenientes de la reacción de condensación entre los formaldehídos y las aminas primarias.

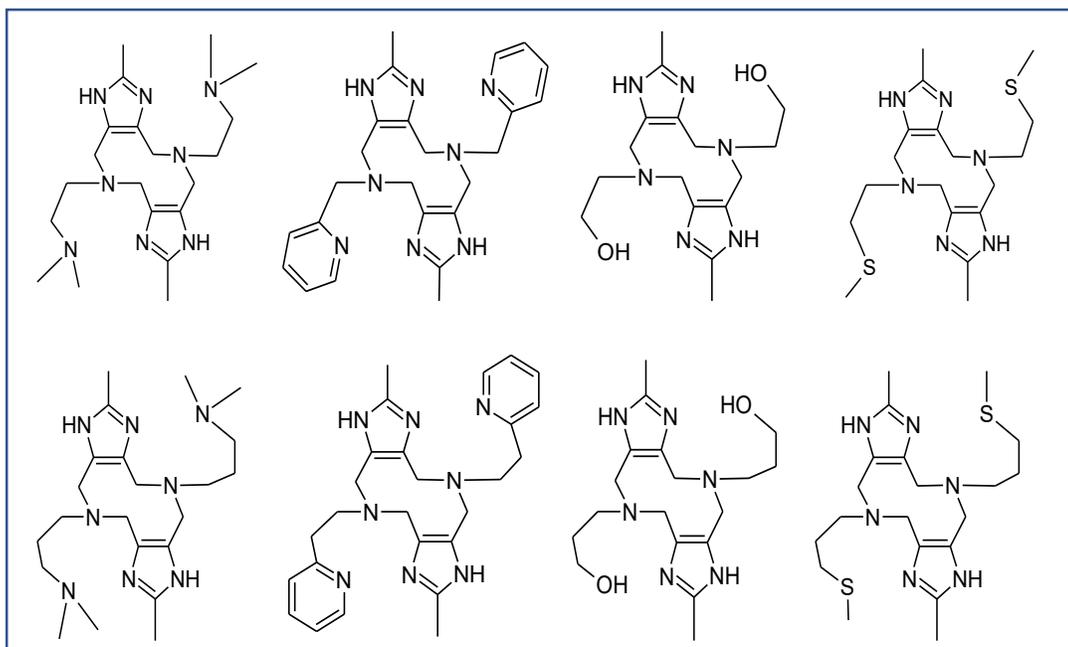
Los ligantes “cerrados” además de estar constituidos por un anillo diazocina, poseen dos sitios de coordinación, generalmente tridentados, por donde se pueden enlazar dos átomos de Cu(II) de manera equivalente. Cada sitio de coordinación está conformado por un átomo de nitrógeno heteroaromático que proviene de la molécula del 2-metilimidazol, otro átomo de nitrógeno de naturaleza alifática del anillo diazocina y por último de un tercer

y variable átomo donador; que proviene del grupo R de la amina primaria que se utiliza en la reacción de Mannich (Esquema 1.2.1).

No solo la naturaleza del tercer átomo donador marca la diferencia entre los ligantes “cerrados” sino también la longitud de la cadena alifática entre el segundo (nitrógeno de la amina primaria) y el tercer átomo donador, que puede ser de dos o de tres átomos de carbono. Estos ligantes son denominados como: “cerrados cortos” o “cerrados largos”, respectivamente.

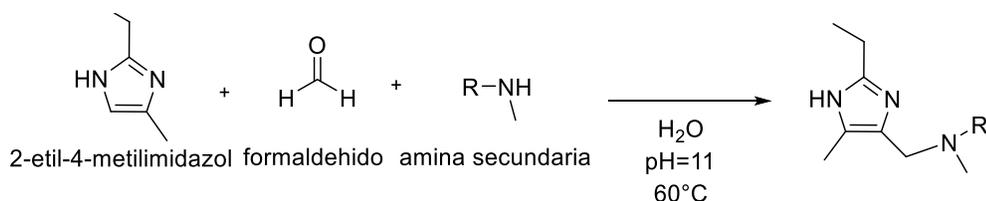
Las aminas primarias que se han utilizado para sintetizar la variedad de ligantes “cerrados cortos y largos” son: *N, N*-dimetiletilendiamina<sup>19</sup>, glicina<sup>20</sup>, 2-(aminometil)-piridina<sup>21</sup>, 2-(2-aminoetil)-piridina<sup>22</sup>, etanolamina<sup>23</sup>, propanolamina<sup>23</sup> y tioéter amina, etc.

En la figura 1.2.1 se observan algunos ejemplos de ligantes “cerrados cortos y largos” sintetizados a partir de las aminas primarias mencionadas anteriormente.



**Figura 1.2.1.** Ligantes “cerrados cortos”(arriba) y “cerrados largos” (abajo) sintetizados y caracterizados por el grupo de investigación.

Los ligantes mononucleantes se sintetizan a partir de 2-etil-4-metilimidazol, formaldehído y una amina secundaria como se muestra en el esquema 1.2.2. El objetivo de utilizar este imidazol disustituido es adicionar a la única posición reactiva (posición 4) un aminometil que proviene de la reacción de condensación entre el formaldehído y la amina secundaria.



**Esquema 1.2.2.** Síntesis de ligantes mononucleantes mediante la reacción de Mannich.

Estos ligantes solo pueden enlazar un átomo de Cu(II) en el único sitio de coordinación disponible, generalmente tridentado. En este sitio de coordinación solo un átomo donador puede ser modificado dependiendo del grupo R (-OH, N-piridina, N-alifático, etc) de la amina secundaria que se ocupe en la reacción de Mannich.

Los átomos donadores que completan el sitio tridentado son dos nitrógenos: uno heteroaromático del 2-etil-4-metilimidazol y otro alifático proveniente de la amina secundaria.

Los ligantes mononucleantes que se observan en la figura 1.2.2 se han obtenido a partir de las siguientes aminas secundarias: 2-(aminometil)-etanol, 2-(aminometil)-piridina, N,N,N-trimetiletilendiamina<sup>24</sup>, ácido 2-(metilamino)acético<sup>24</sup>.

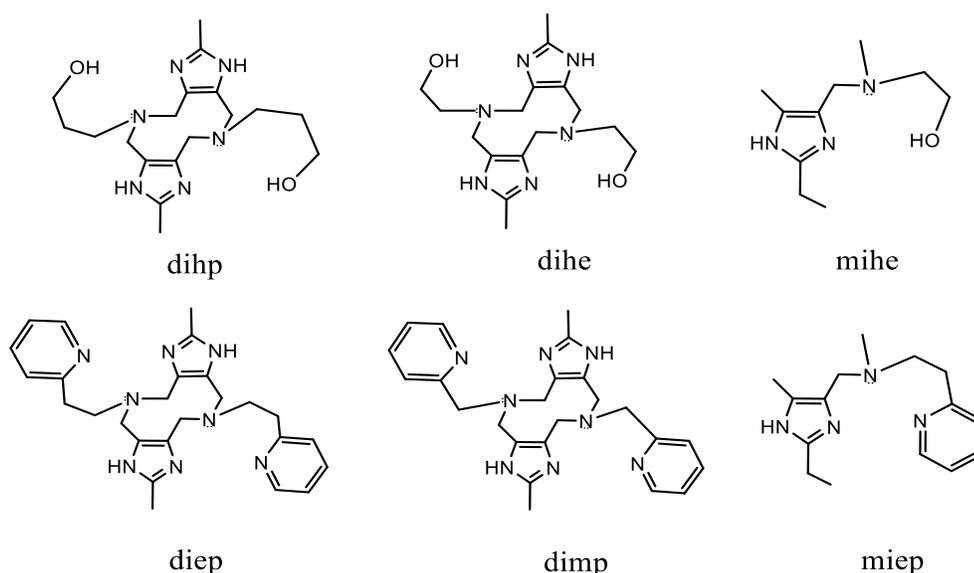


### 1.2.2 Compuestos de coordinación de Cu (II) con ligantes derivados de imidazol

Para la mayoría de los ligantes descritos anteriormente se han realizado estudios en disolución en los que se han determinado tanto las constantes de acidez como las constantes de formación de los complejos de Cu(II), y con estos datos se han podido realizar gráficas de abundancia de las diferentes especies involucradas.

Se sabe entonces que los complejos dinucleares y mononucleares se forman de manera cuantitativa al mezclar estequiométricamente un equivalente (en el caso de los mononucleantes) o dos equivalentes (en el caso de los dinucleantes) de una sal de Cu(II) y un equivalente de ligante, cuyos valores de la constante de formación global ( $\log \beta$ ) de estos complejos de Cu(II) varía entre 9 y 20.

En las siguientes secciones solo se discutirán las propiedades estructurales, electrónicas y catalíticas de los complejos de Cu(II) que se forman a partir de los ligantes dihe, dihp, mihe, dimp, diep y miep que se muestran en la figura 1.2.3. Los respectivos compuestos de Cu(II) que forman estos ligantes son los protagonistas de este trabajo.



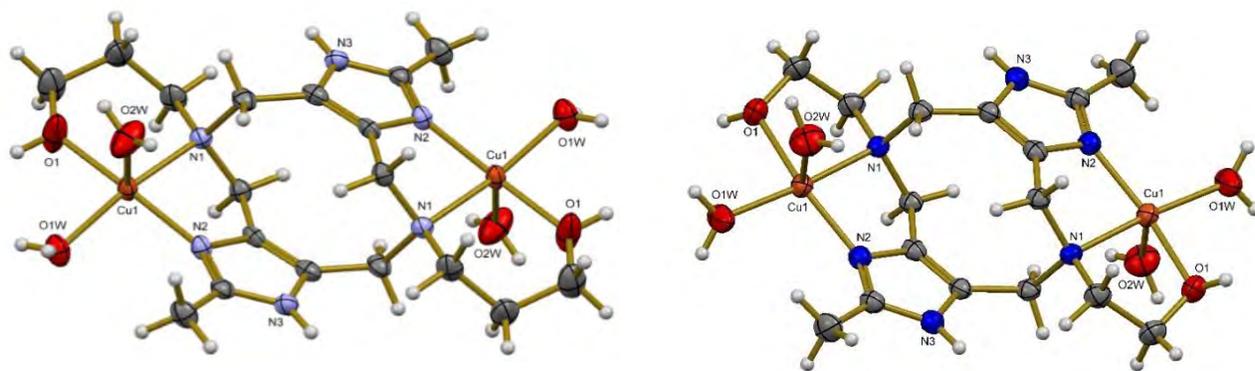
**Figura 1.2.3.** Ligantes mononucleantes y dinucleantes sintetizados y estudiados por el grupo de trabajo.

### 1.2.3 Propiedades estructurales y electrónicas

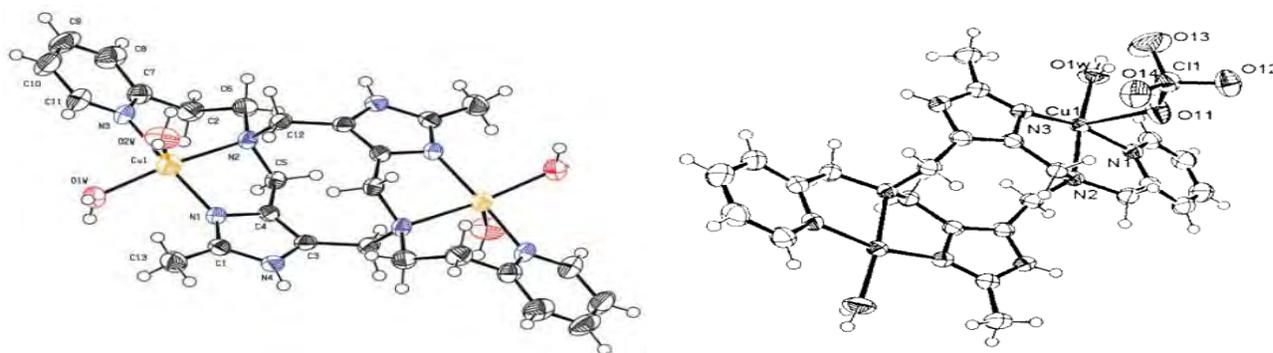
Los ligantes “cerrados” *dihe*, *dihp*, *dimp* y *diep* como se observa en la figura 1.2.3 poseen dos sitios tridentados. La diferencia entre estos ligantes se encuentra en la naturaleza del tercer átomo donador; en el caso de los ligantes *diep* y *dimp* es un nitrógeno heteroaromático de piridina (figura 1.2.3) mientras que para los ligantes *dihe* y *dihp* la especie donadora es un átomo de oxígeno proveniente de un grupo -OH. Otra de las diferencias entre estos ligantes es la cadena alifática que se encuentra entre el segundo (nitrógeno alifático) y tercer átomo donador; el *dihe* y *dimp* pertenecen a los ligantes catalogados como “cerrados cortos” mientras que el *dihp* y *diep* a los ligantes “cerrados largos”.

Las características descritas anteriormente son cruciales para explicar la importante actividad catalítica de sus respectivos compuestos de coordinación dinucleares de Cu(II).

Se ha podido determinar la estructura cristalina por medio de difracción de rayos X de monocristal de los compuestos de coordinación dinucleares de Cu(II) que forman los ligantes *dimp*, *diep*, *dihp* y *dihe* con diferentes sales de Cu(II), como  $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$



**Figura 1.2.4.** Estructuras cristalinas de los compuestos  $[\text{Cu}_2(\text{dihe})(\text{H}_2\text{O})_4](\text{ClO}_4)_4$  (derecha) y  $[\text{Cu}_2(\text{dihp})(\text{H}_2\text{O})_4](\text{ClO}_4)_4$  (izquierda).



**Figura 1.2.5.** Estructuras cristalinas de los compuestos  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4](ClO_4)_4$  (izquierda) y  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4](ClO_4)_4$  (derecha).

En las figuras 1.2.4 y 1.2.5 se observa que los compuestos de coordinación dinucleares presentan la fórmula general  $[Cu_2(L)(H_2O)_4]^{4+}$  L= *dimp*, *diep*, *dihe* y *dihp* donde la geometría que adquiere cada átomo de Cu(II) es una pirámide de base cuadrada ligeramente distorsionada; la base está conformada por 2 átomos de nitrógeno (N-imidazol y N-anillo diazecina) presentes en los ligantes, por un átomo de nitrógeno de piridina en el caso de los ligantes *dimp* y *diep*, mientras que para los complejos con *dihe* y *dihp* el átomo de oxígeno del grupo hidroxilo es el que ocupa esta posición, y finalmente la cuarta posición es ocupada por una molécula de agua; en la posición apical se encuentra un átomo de oxígeno que proviene de una molécula de agua.

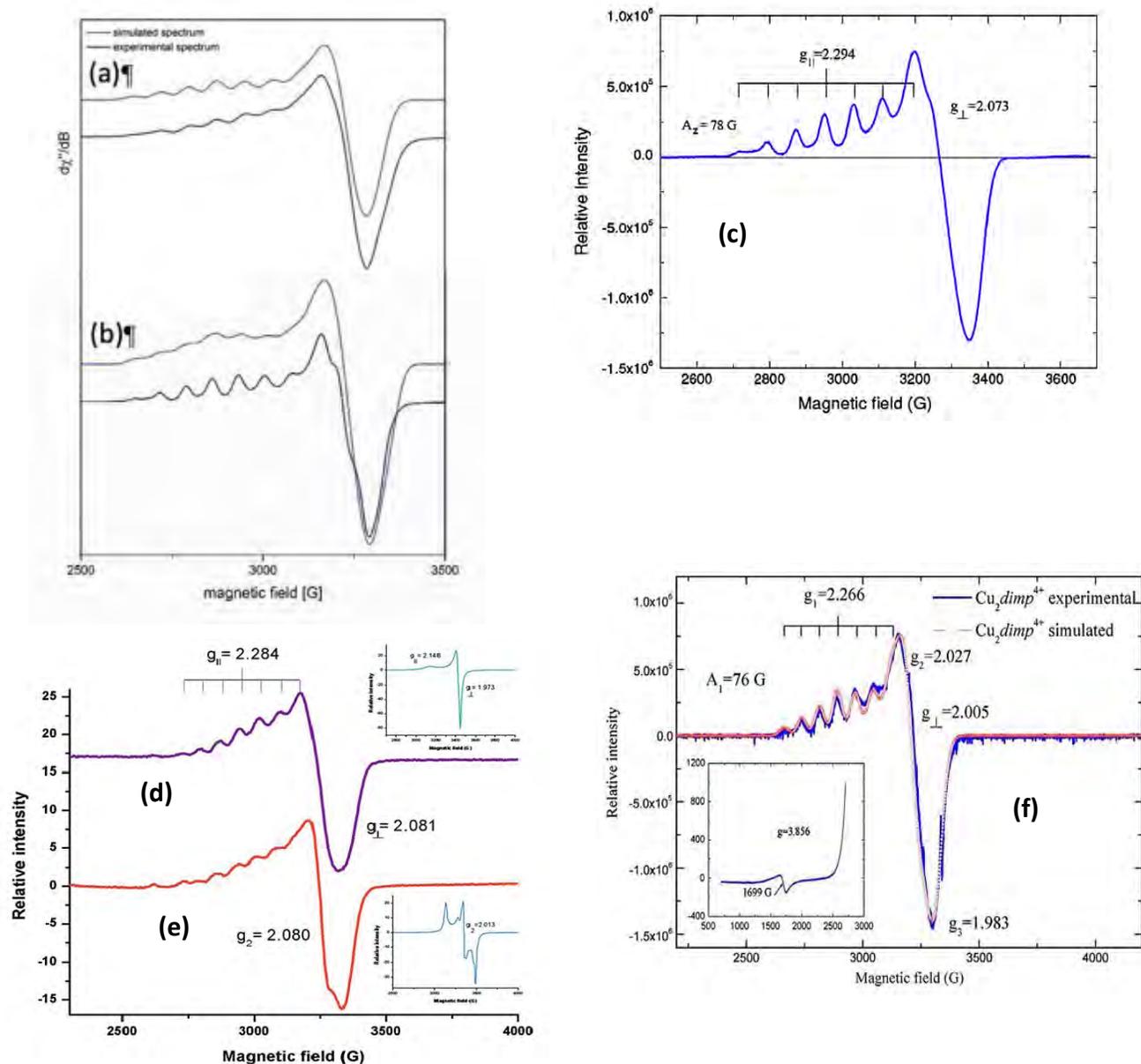
En la tabla 1.2.1 se observa que los valores de las distancias de enlace que hay entre el átomo de Cu(II) y los átomos donadores que conforman la base de la pirámide en los distintos complejos  $[Cu_2(L)(H_2O)_4]^{4+}$  es de aproximadamente 2 Å, mientras que la distancia de enlace entre el átomo de oxígeno de la molécula de agua de la posición apical y el átomo de Cu(II) está entre 2.19 y 2.55 Å. Esta diferencia en las distancias de enlace se debe a la manifestación del efecto de Jahn-Teller en estos compuestos de coordinación de Cu(II).

**Tabla 1.2.1.** Distancias de enlace (Å) de los complejos  $[Cu_2(L)(H_2O)_4]^{4+}$

Átomos	L		Átomos	L	
	<i>Dihe</i>	<i>Dihp</i>		<i>Dimp</i>	<i>Diep</i>
Cu <sub>1</sub> -O <sub>1</sub> (agua)	1.97	2.01	Cu <sub>1</sub> -O <sub>1</sub> (agua)	1.96	2.00
Cu <sub>1</sub> -N <sub>2</sub>	1.98	1.96	Cu <sub>1</sub> -N <sub>2</sub>	2.06	2.13
Cu <sub>1</sub> -O <sub>1</sub>	1.99	1.95	Cu <sub>1</sub> -N <sub>3</sub>	1.98	1.99
Cu <sub>1</sub> -N <sub>1</sub>	2.06	2.01	Cu <sub>1</sub> -N <sub>1</sub>	1.97	1.99
Cu <sub>1</sub> -O <sub>2</sub> (agua)	2.27	2.19	Cu <sub>1</sub> -O <sub>2</sub> (agua)	2.55	2.26
Cu <sub>1</sub> -Cu <sub>2</sub>	7.36	7.41	Cu <sub>1</sub> -Cu <sub>2</sub>	7.36	7.45

Otra de las características que comparten los complejos  $[Cu_2(L)(H_2O)_4]^{4+}$  es que la distancia Cu-Cu es mayor a 7Å; este valor es muy grande en comparación con la distancia que se presenta en la propia enzima (catecol oxidasa) y otros sistemas modelo. Sin embargo, se ha observado mediante estudios de EPR que los electrones desapareados se encuentran acoplados, lo cual es inusual dada la distancia a la que se encuentran los átomos de Cu(II) en nuestros compuestos.

Los espectros de EPR de los compuestos dinucleares Cu(II) se observan a continuación:

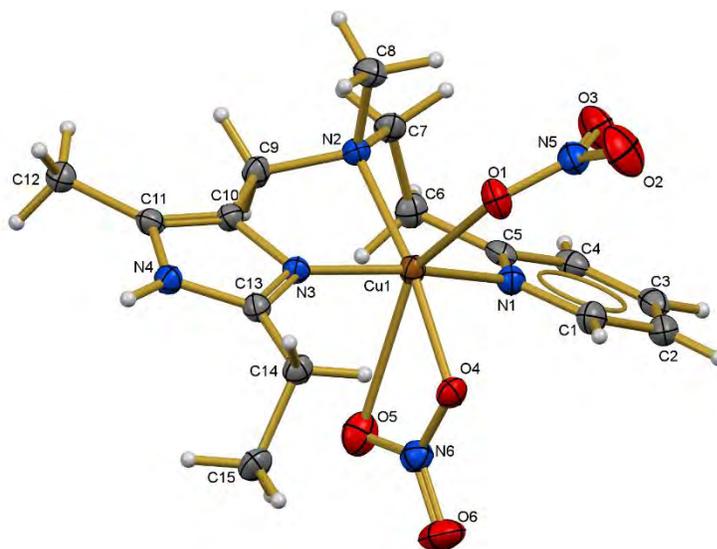


**Figura 1.2.6.** Espectros de EPR de los complejos dinucleares de cobre(II) con ligandos cerrados. a)  $[Cu_2dih(H_2O)_4]^{4+}$  (superior), b)  $[Cu_2dihp(H_2O)_4]^{4+}$  (inferior). Los dos espectros se obtuvieron en EtOH/MeOH 1:1 a 150 K c)  $[Cu_2dimeim(H_2O)_4]^{4+}$  El espectro se obtuvo en MeOH a 77 K, d)  $[Cu_2diep(H_2O)_4]^{4+}$  e)  $[Cu_2dmpa(H_2O)_4]^{4+}$ . Ambos espectros se obtuvieron en MeOH a 77 K. f)  $[Cu_2dimp(H_2O)_4]^{4+}$ . El espectro se obtuvo en MeOH a 77 K.

En todos los espectros de EPR que se muestran en la figura 1.2.6 de estos compuestos de coordinación  $[Cu_2(L)(H_2O)_4]^{4+}$  se observa un comportamiento particular. Se observan 7 líneas hiperfinas, que corresponden a un electrón acoplado a dos núcleos con spin 3/2 (los isótopos de cobre,  $^{63}Cu$  y  $^{65}Cu$ , tienen  $S=3/2$ ). Este comportamiento es extraño debido a que los dos centros metálicos se encuentran a una distancia considerable, con base en la estructura cristalina de los compuestos dinucleares de Cu(II). A pesar de que no podemos hacer una comparación directa de lo que pasa con los átomos de Cu(II) en los complejos dinucleares en disolución y la estructura cristalina, la evidencia espectroscópica de EPR muestra una posible interacción entre estos átomos de Cu(II). De alguna manera, podemos proponer que en disolución los dos centros metálicos de Cu(II) la distancia Cu-Cu se acorta, provocando la interacción entre ellos.

Los ligantes *miep* y *mihe* poseen un solo sitio de coordinación tridentado. La única diferencia entre estos dos ligantes es el tercer átomo donador. En el caso del ligante *miep* el tercer átomo donador corresponde a un nitrógeno proveniente de piridina, mientras que en el ligante *mihe* el átomo de oxígeno del grupo -OH es el tercer átomo donador.

Hasta el momento, no se han realizado estudios en disolución, espectroscópicos, magnéticos y catalíticos de los complejos mononucleares con los ligantes *mihe* y *miep*. Únicamente se conoce la estructura cristalina del complejo mononuclear de Cu(II) con el ligante *miep*, mientras que la estructura cristalina del complejo mononuclear en el que el ligante es *mihe* aún no se tiene. En la figura 1.2.7 se puede observar que el complejo  $[Cu(miep)(NO_3)_2]$  presenta una geometría octaédrica elongada con un cierto grado de distorsión; uno de los aniones nitrato se encuentra enlazado al Cu(II) de manera bidentada mientras que el otro anión se encuentra enlazado monodentadamente. Las 4 posiciones de la base se encuentran ocupadas por los tres átomos de nitrógeno provenientes del 2-metilimidazol, piridina y amina terciaria, mientras que la cuarta posición está ocupada por un átomo de oxígeno proveniente del anión nitrato que se encuentra enlazado bidentadamente. Las posiciones axiales son ocupadas por átomos de oxígeno provenientes los aniones nitrato.



**Figura 1.2.7.** Estructura cristalina del compuesto  $[Cu(miep)(NO_3)_2]$  en el que se puede observar una geometría octaédrica elongada con cierto grado de distorsión.

#### 1.2.4 Actividad catecolasa de los complejos bioinspirados de Cu(II)

En años recientes se han publicado trabajos que muestran que muchos compuestos de coordinación de cobre con muy diversas características presentan actividad catecolasa; esta actividad catalítica puede evaluarse mediante estudios cinéticos de la reacción de oxidación del sustrato modelo 3,5-di-*tert*-butilcatecol (DTBC) a 3,5-di-*tert*-butilquinona (DTBQ). Estos estudios motivaron a la exploración de la actividad de todos los complejos del grupo de investigación, como catalizadores de esta reacción.

Los estudios catalíticos realizados por el grupo de trabajo arrojaron resultados muy alentadores, encontrándose que los complejos dinucleares de Cu(II) descritos anteriormente (figuras 1.2.4 y 1.2.5), pese a no ser tan buenos modelos estructurales de la catecol oxidasa, presentan una importante actividad catecolasa en comparación con muchos modelos de Cu(II) descritos en la literatura.

Por lo general, los estudios cinéticos de la reacción de oxidación del DTBC catalizada por diversos compuestos de Cu(II) siguen un comportamiento tipo Michaelis-Menten; cuyo

modelo matemático nos permite obtener los parámetros cinéticos: constante de Michaelis-Menten ( $K_M$ ), velocidad máxima ( $V_{max}$ ) y constante catalítica ( $k_{cat}$ ). Estos parámetros cinéticos nos permiten comparar la eficiencia catalítica entre los diversos modelos de Cu(II). La eficiencia catalítica de estos sistemas modelo se denota por medio del cociente  $k_{cat}/K_M$ .

Entre los estudios realizados por el grupo de investigación, se encontró que las condiciones adecuadas en el que los complejos  $[Cu_2(L)(H_2O)_4]^{4+}$  presentan la mayor eficiencia catalítica es en una mezcla 1:1 de MeOH/H<sub>2</sub>O a pH ligeramente básico y 25°C. En la tabla 1.2.2 se muestran los valores de los parámetros cinéticos obtenidos a partir del modelo de Michaelis-Menten a los valores de pH en que se realizaron los estudios cinéticos de los complejos dinucleares de Cu(II) con los ligantes *dihe*, *dihp*, *dimp* y *diep*.

**Tabla 1.2.2.** Parámetros catalíticos de distintos complejos  $[Cu_2(L)(H_2O)_4]^{4+}$  a valores de pH básicos. (Log  $\beta$  = constante de formación global)

	$[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$	$[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$	$[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$	$[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$
Log $\beta$	10.82	9.91	19.07	18.63
pH	8.1	8.1	8.5	7.5
$K_M$ (M)	$0.7025 \times 10^{-4}$	$0.2396 \times 10^{-4}$	$0.289 \times 10^{-4}$	$5.16 \times 10^{-4}$
$k_{cat}$ (s <sup>-1</sup> )	0.0435	0.0657	0.0175	0.0788
$K_{cat}/K_M$	620	2742	605	153

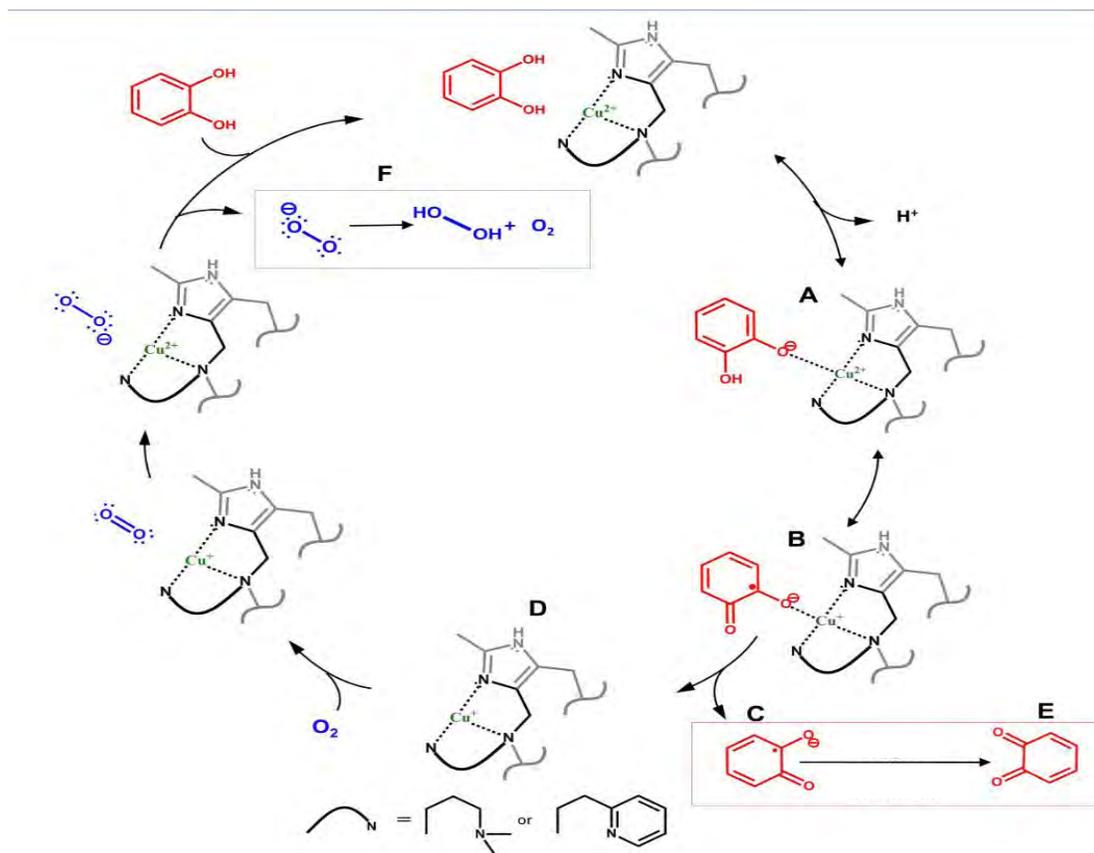
La actividad catecolasa de estos complejos dinucleares de Cu(II) depende del pH del medio. Por lo que se han realizado estudios en disolución para determinar la especiación de los complejos en función del pH, y así obtener información acerca de la naturaleza de las especies catalíticamente activas. Los valores de pH en los que se realizaron las reacciones catalíticas (tabla 1.2.2) indicaron que las especies estables y predominantes son las formas hidrolizadas de los complejos dinucleares; siendo estas especies las causantes de la actividad catalítica.

La eficiencia catalítica también varía dependiendo del brazo que proporciona el tercer átomo donador en los ligantes. Se ha encontrado que los complejos de Cu(II) con ligantes “cerrados largos” *dihp* y *diep* son los mejores catalizadores, con eficiencia catalítica más alta para esta reacción en comparación con sus análogos “cortos” *dihe* y *dimp*.

Es posible que esto se deba a la labilidad y débil unión (observar los valores de  $\log \beta$  de la tabla 1.2.2) del tercer diente, es decir a la facilidad con la que este átomo donador se descoordine del cobre, permitiendo una mejor interacción con el catecol. Además, de que un anillo quelato de seis miembros le proporciona flexibilidad al complejo; contribuyendo a la facilidad de cambio desde una geometría octaédrica elongada preferida por el Cu(II) a una tetraédrica distorsionada preferida por el Cu(I), en el proceso de reducción.

En el grupo de investigación no solo se ha estudiado la actividad catecolasa de los complejos dinucleares de Cu(II), sino también se ha elucidado un posible mecanismo de oxidación del DTBC catalizado por dichos compuestos. Para la construcción del posible ciclo catalítico fue necesario utilizar técnicas espectroscópicas como EPR y UV-Vis en condiciones anaerobias, con el propósito de identificar distintos intermediarios que permitieran proponer un lógico proceso catalítico de oxidación del DTBC a su correspondiente DTBQ<sup>22</sup>.

Se demostró que durante el ciclo catalítico los iones de Cu(II) se reducen a Cu(I) al reaccionar con el DTBC, reoxidándose con el oxígeno ambiental formando de nuevo Cu(II) y ion superóxido. Este ion superóxido dismuta a ion peróxido y oxígeno molecular. El primer paso de la oxidación del DTBC es la formación de un radical semiquinona, que dismuta para dar una molécula de quinona y una de DTBC (Figura 1.2.8).



**Figura 1.2.8.** Propuesta de ciclo catalítico de la oxidación del DTBC por los complejos de Cu(II) de nuestro grupo de investigación. Los grupos *tert*-butil del DTBC son omitidos<sup>22</sup>.

Los estudios sobre la actividad catalítica de los complejos mononucleares de Cu(II) con los ligantes *mihe* y *miep* aún no se han realizado a profundidad como en el caso de sus análogos dinucleantes *dihe* y *diep*, respectivamente. Una de las razones por las que el grupo de investigación no se ha adentrado en la exploración catalítica de estos complejos, se debe a los resultados desalentadores (tabla 1.2.3) que se obtuvieron de estudios catalíticos de los complejos nucleares de Cu(II) con los ligantes *emisar* y *emitrim*<sup>24</sup>.

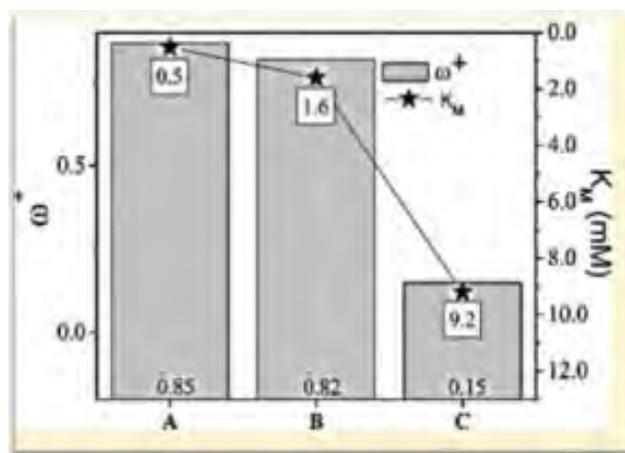
**Tabla 1.2.3.** Eficiencia catalítica de complejos dinucleares y mononucleares de Cu(II).

	$[\text{Cu}_2(\text{glimeim})(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$	$[\text{Cu}_2(\text{dimeim})(\text{H}_2\text{O})_2]^{4+}$	$[\text{Cu}(\text{emisar})(\text{H}_2\text{O})_2]^+$	$[\text{Cu}(\text{emitrim})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$
$K_M$ (M)	$0.76 \times 10^{-3}$	$1.81 \times 10^{-3}$	$47.24 \times 10^{-3}$	$9.02 \times 10^{-3}$
$k_{\text{cat}}$ ( $\text{s}^{-1}$ )	0.07399	0.1193	0.1854	0.0616
$K_{\text{cat}}/K_M$	97.36	65.91	3.93	6.83

En la tabla 1.2.3 se puede observar la notable diferencia en los valores de eficiencia catalítica (cociente  $K_{\text{cat}}/K_M$ ). Los complejos mononucleares de Cu(II) con los ligandos *emisar* y *emitrim* presentan una eficiencia catalítica aproximadamente 10 a 30 veces menor a la que presentan sus análogos dinucleares de Cu(II). Por lo que estos complejos mononucleares de Cu(II) del grupo de investigación no resultaron ser buenos catalizadores para la reacción oxidación del DTBC.

Ante la superior actividad catecolasa mostrada por los complejos dinucleares de Cu(II) en comparación con sus análogos mononucleares, surge una nueva interrogante relacionada con la influencia del segundo átomo de Cu(II) sobre la actividad catalítica de estos complejos dinucleares de Cu(II). Esta interrogante aún no se ha podido resolver completamente, pero se han realizado estudios teórico- experimentales que permiten dar una posible explicación.

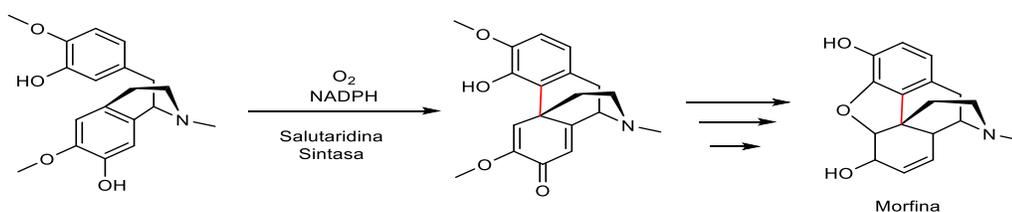
El estudio teórico – experimental consiste principalmente en relacionar el carácter electroceptor ( $\omega^+$ , en eV) de los centros metálicos de dos complejos dinucleares  $[Cu_2(dimp)(OH)(H_2O)_3]^{3+}$  y  $[Cu_2(dimem)(OH)(H_2O)_3]^{3+}$ , y uno mononuclear  $[Cu(emitrim)(OH)(H_2O)]^+$  con la constante de Michaelis-Menten ( $K_M$ , en mM) obtenida de los estudios de actividad catecolasa. En la figura 1.2.9 se puede observar que del lado derecho de la gráfica se ubican los valores de la constante de Michaelis ( $K_M$ , en mM) la cual nos indica la afinidad del sustrato (en este caso el catecol) por el sitio activo (Nota: La escala de  $K_M$  se encuentra invertida, ya que a valores pequeños significa una buena afinidad entre sustrato y sitio activo) mientras que del lado izquierdo se localiza el valor del carácter electroceptor ( $\omega^+$ , en eV). Es claro que el complejo con un mayor carácter electroceptor en este caso  $[Cu_2(dimp)(OH)(H_2O)_3]^{3+}$  ( $\omega^+=0.85$  eV) es el que tiene una menor constante de Michaelis-Menten, mientras que el compuesto mononuclear tiene un menor valor de carácter electroceptor y un mayor valor de la constante de Michaelis-Menten. Por lo que la presencia del segundo átomo de Cu(II) en nuestros catalizadores mejora el carácter electroceptor<sup>25</sup>.



**Figura 1.2.9.** Poder electroceptor ( $\omega^+$ , en eV), comparado con valores experimentales de  $K_M$ : A:  $[Cu_2(dimp)(OH)(H_2O)_3]^{3+}$  B:  $[Cu_2(dimem)(OH)(H_2O)_3]^{3+}$ , y C: mononuclear  $[Cu(emitrim)(OH)(H_2O)]^+$ <sup>25</sup>.

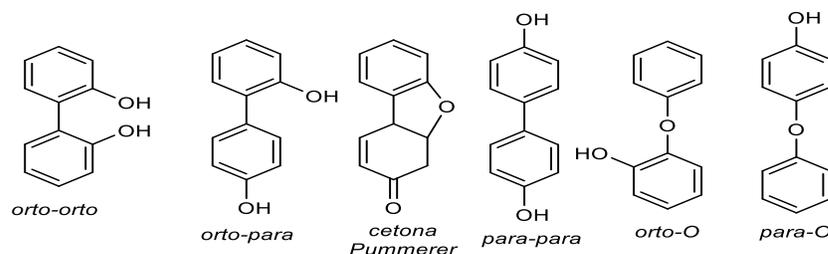
### 1.3 Acoplamiento oxidativo de fenoles

La reacción de acoplamiento oxidativo de fenoles fue utilizada por primera vez por *Barton* y *Cohen* en el año de 1957 como uno de los pasos clave en la biosíntesis del alcaloide *Erythrina* o *Morfina*<sup>26</sup>. Desde entonces, la reacción oxidativa de compuestos fenólicos no ha dejado de considerarse como uno de los procesos químicos claves en las rutas sintéticas para elaborar productos naturales con actividad biológica como: polifenoles, alcaloides, terpenoides, policétidos y glicopéptidos, pese a la inmensa variedad de reacciones orgánicas que existen en la actualidad.



**Esquema 1.3.1.** Biosíntesis de la morfina

El acoplamiento oxidativo de fenoles se caracteriza principalmente por la formación de enlaces C-C entre anillos aromáticos y/o enlaces C-O entre el átomo de carbono del anillo aromático de un compuesto fenólico y el átomo de oxígeno del grupo -OH de otro. Esta reacción además de acceder fácilmente a la formación de enlaces C-C y/o enlaces C-O, también puede conducir a una desaromatización oxidativa y dar paso a la formación de quinonas.

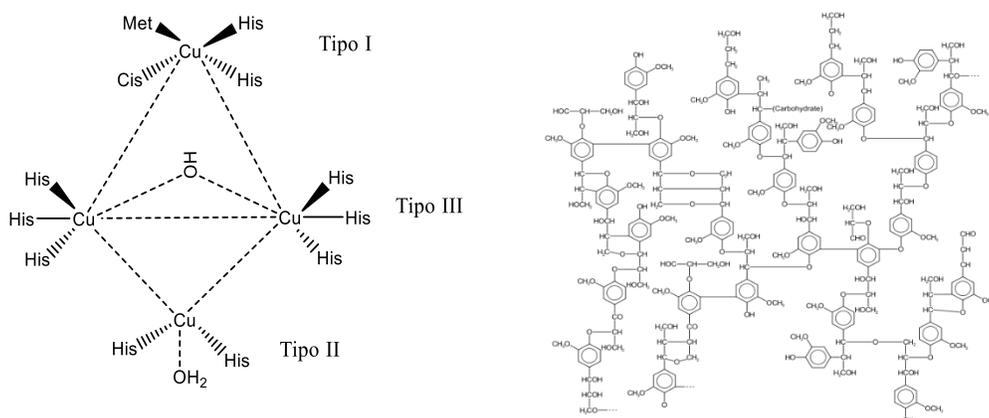


**Figura 1.3.1.** Productos de acoplamiento oxidativo de la molécula de fenol.

Una de las problemáticas de esta reacción oxidativa es en cuestiones de regioselectividad ya que entre más sitios disponibles tenga el anillo aromático fenólico, específicamente si las posiciones *orto* y *para* se encuentran libres, más productos de

acoplamiento oxidativo se obtendrán; lo que significa que la regioselectividad de esta reacción oxidativa será relativamente baja. En la figura 1.3.1 se puede observar todos los posibles productos de acoplamiento oxidativo de la molécula de fenol sin ningún sustituyente en las posiciones *orto* y *para* del anillo aromático.

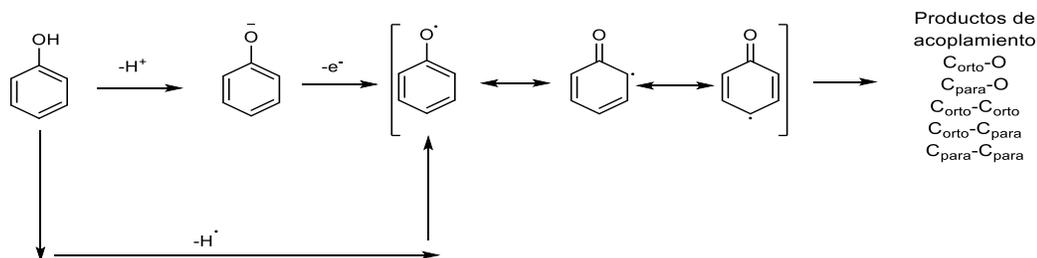
Tradicionalmente, en la síntesis de los compuestos de acoplamiento oxidativo se utilizan agentes oxidantes en cantidades estequiométricas como: compuestos hipervalentes de I(III), sales metálicas de Cu(II), Fe(III), Cr(III) y Mn(III), y además compuestos orgánicos a base de oxígeno como: peróxidos, DDQ, NaClO y NaNO<sub>2</sub>, K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>27</sup>. Sin embargo, se han encontrado nuevas y preferibles alternativas para proceder en la reacción oxidativa; una de estas alternativas es el uso de catalizadores biológicos como: peroxidasas en presencia de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, citocromo P450 y lacassas en presencia de O<sub>2</sub> (aire); este último biocatalizador es una metaloenzima de cobre que poseen algunas plantas cuya función principal es la producción de lignina (polímero fenólico). Por otro lado, desde hace más de cincuenta años se han descrito en la literatura una gran variedad de compuestos tanto de Cu(I) como de Cu(II) que facilitan el acoplamiento ya sea C-C ó C-O en los fenoles<sup>28</sup>.



**Figura 1.3.2.** Estructura del sitio activo de la lacassa (izquierda) y estructura de la lignina (derecha)

El mecanismo de reacción de acoplamiento oxidativo de fenoles ha sido una interrogante para diversos grupos de investigación durante muchos años y hasta la fecha este tema de investigación sigue activo. El proceso universalmente aceptado para explicar el acoplamiento oxidativo de fenoles es vía radicales libres, cuya especie iniciadora de la vía es el radical fenoxi. De esta manera se puede racionalizar las distintas especies que se

obtienen de la reacción oxidativa, ya que el único electrón desapareado ubicado en el átomo de oxígeno se puede deslocalizar en las posiciones *orto* y *para* del anillo aromático como se muestra en el esquema 1.3.3.



**Figura 1.3.3.** Proceso radicalario para obtener productos de acoplamiento.

El radical fenoxi puede formarse mediante distintos procesos como: la transferencia de átomo de hidrógeno (oxidación directa de la molécula de fenol mediante un radical o un agente oxidante apropiado) y la oxidación directa del ion fenolato ( $PhO^-$ ). Los potenciales de oxidación de los aniones fenolato son típicamente más bajos que sus análogos fenólicos. Para los fenoles, el potencial de oxidación varía aproximadamente de 1.0 a 1.4 V, mientras que para su respectivo anión fenolato ( $PhO^-$ ) es mucho más bajo con valores de aproximadamente -0.6 y -0.3 V (vs. Ag / AgCl)<sup>29</sup>.

Hasta la fecha se sigue considerando el proceso radicalario como propuesta para explicar el acoplamiento oxidativo de compuestos fenólicos, sin embargo, han surgido nuevas propuestas en el que vías iónicas y/o pericíclicas son las adecuadas para explicar el proceso oxidativo.

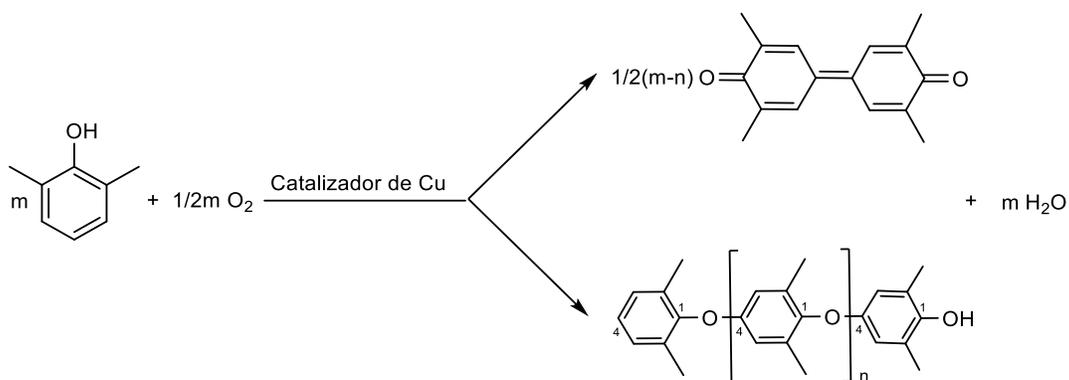
En las siguientes secciones se discutirá sobre los fenoles protagonistas de este trabajo que son: el 2,6-dimetilfenol y 2-aminofenol, cuyos productos de acoplamiento oxidativo tienen un interés a nivel industrial y biológico respectivamente.

### 1.3.1 Acoplamiento oxidativo del 2,6-dimetilfenol

#### 1.3.1.1 Aspectos generales

La formación de los enlaces C-C y/o C-O entre anillos fenólicos solo se llevan a cabo particularmente en las posiciones *orto* y *para* de los anillos aromáticos fenólicos como se mencionó anteriormente. El compuesto 2,6-dimetilfenol al tener las 2 posiciones *orto* ocupadas por grupos metilos, la única posición disponible para formar los enlaces C-C y/o C-O sería entre las posiciones *para* de los compuestos fenólicos.

En el siguiente esquema 1.3.2 se puede observar que la reacción de acoplamiento oxidativo del 2,6-dimetilfenol procede por dos distintas vías: la primera produciendo un polímero denominado PPE (siglas en inglés poly (2,6-dimethyl-1,4-phenylene ether)) o PPO (siglas en inglés poly (2,6-dimethyl-1,4-phenylene oxide)) mediante acoplamientos C-O y la segunda vía es el acoplamiento C-C que da lugar a la formación de la 3,3',5,5'-tetrametil-4,4-difenoquinona.



**Esquema 1.3.2.** Acoplamiento oxidativo del 2,6-dimetilfenol.

En el año de 1959 A. S. Hay *et. al.*<sup>30</sup> descubrieron que un complejo de Cu<sup>I</sup>Cl-piridina en presencia de O<sub>2</sub> cataliza selectivamente la polimerización del 2,6-dimetilfenol. Desde entonces, se han sintetizado y estudiado diversos compuestos de coordinación de cobre con ligantes donadores por nitrógeno que han resultado ser eficientes en catalizar la polimerización del fenol disustituido.

El producto de polimerización es un termoplástico estructuralmente constituido por arilos disustituidos enlazados entre sí por grupos éter en las posiciones 1 y 4 (esquema 1.3.2).

El PPE es utilizado como materia prima para la fabricación de diferentes productos de interés industrial. El interés comercial que se le tiene a este polímero se le atribuye a las distintas propiedades notables que posee como: elevada estabilidad térmica, baja absorción a la humedad y resistencia química.

La primera compañía en comercializar el PPE fue General Electric Co en el año de 1960. Sin embargo, no tardaría mucho tiempo en comercializarse como producto puro debido a las exitosas investigaciones por mejorar sus propiedades. En ese mismo año se descubrió que el PPO al ser combinado con poliestireno (PE) forman una mezcla homogénea que exhibe una amplia gama de propiedades sobresalientes como: una buena baja absorción a la humedad en comparación con el PPE puro, excelente estabilidad dimensional, buena resistencia al impacto, alta rigidez dieléctrica, elevado grado de inflamabilidad y buena resistencia a temperaturas elevadas<sup>31</sup>.

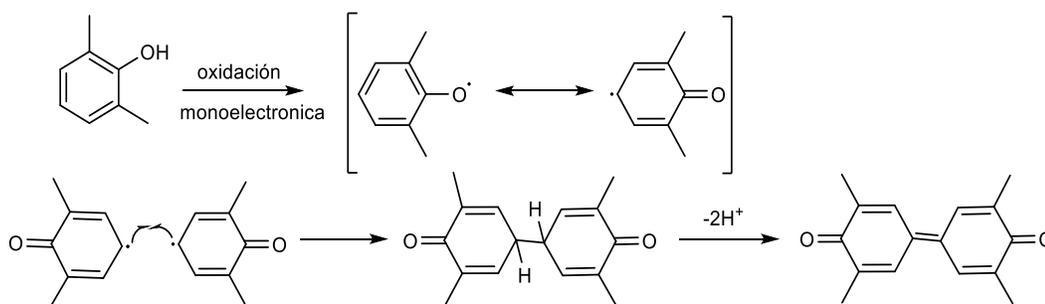
La resina (PPE/PE) es comercializada bajo el nombre de Noryl®, y es considerada a nivel mundial como uno de los termoplásticos comerciables más importantes de la actualidad. Esta resina es utilizada en la fabricación de productos con aplicaciones en diferentes áreas, por ejemplo: armazones de computadoras, cartuchos de impresoras, recubrimientos para cables eléctricos, componentes estructurales en los motores de automóviles, teléfonos celulares (componentes) y discos (DVD, MP3 y Blue-Ray).

Las empresas industriales utilizan el PPE de bajo peso molecular ( $10\ 000 < M_n < 40\ 000$ ) y una baja temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) para la elaboración de la resina PPE/PE<sup>32</sup>.

La reacción de acoplamiento oxidativo del 2,6-dimetilfenol puede proceder por una segunda vía para producir 3,3',5,5'-tetrametil-4,4-difenoquinona (producto de acoplamiento C-C) que consiste principalmente en la unión dos moléculas de 2,6-dimetilfenol mediante los átomos de carbono de las posiciones *para* de los anillos aromáticos fenólicos, que posteriormente sufren otro proceso oxidativo para formar la

3,3',5,5'-tetrametil-4,4-difenoquinona (DPQ, siglas en inglés); este producto es un claro ejemplo de una reacción de desaromatización oxidativa fenólica (esquema 1.3.2). La DPQ no tiene una aplicación de interés significativo, pero no puede despreciarse debido a que su producción puede ser altamente selectiva causando una disminución en la producción catalítica del polímero de interés industrial. Hay algunos sistemas catalíticos que producen selectivamente la diquinona, por ejemplo: Au/TiO<sub>2</sub>, Co(AcO)<sub>3</sub>, complejos de Mn(III), complejos de Cu<sub>2</sub>Fe, tirosinasa e incluso algunos complejos dinucleares de cobre<sup>33</sup>. La reacción también puede proceder estequiométricamente con agentes oxidantes como oxido de plata o hexacianoferrato (III) de potasio.

El mecanismo más adecuado y simple para explicar la formación de la diquinona es vía radicales libres como se muestra en el esquema 1.3.3 que consiste en una oxidación monoelectrónica del fenol o anión fenolato que, por deslocalización del electrón desapareado en el anillo aromático, específicamente en la posición *para*, forma el radical 2,6-dimetil-2,5-ciclohexadienona. Por último, dos radicales 2,6-dimetil-2,5-ciclohexadienona se acoplan entre si hasta formar la DPQ.



**Esquema 1.3.3.** Vía radicales libres para explicar la formación de la DPQ.

### 1.3.1.2 Mecanismo catalítico del acoplamiento oxidativo C-O del 2,6-dimetilfenol

Durante años no solo se han investigado complejos de cobre que catalicen selectivamente la reacción de polimerización, sino también se ha buscado comprender el mecanismo de esta reacción. Hasta la fecha no se conoce un ciclo catalítico que explique con certeza la formación del producto de polimerización, pero existen dos vías propuestas aceptadas por la comunidad científica que explican la formación de dicho producto:

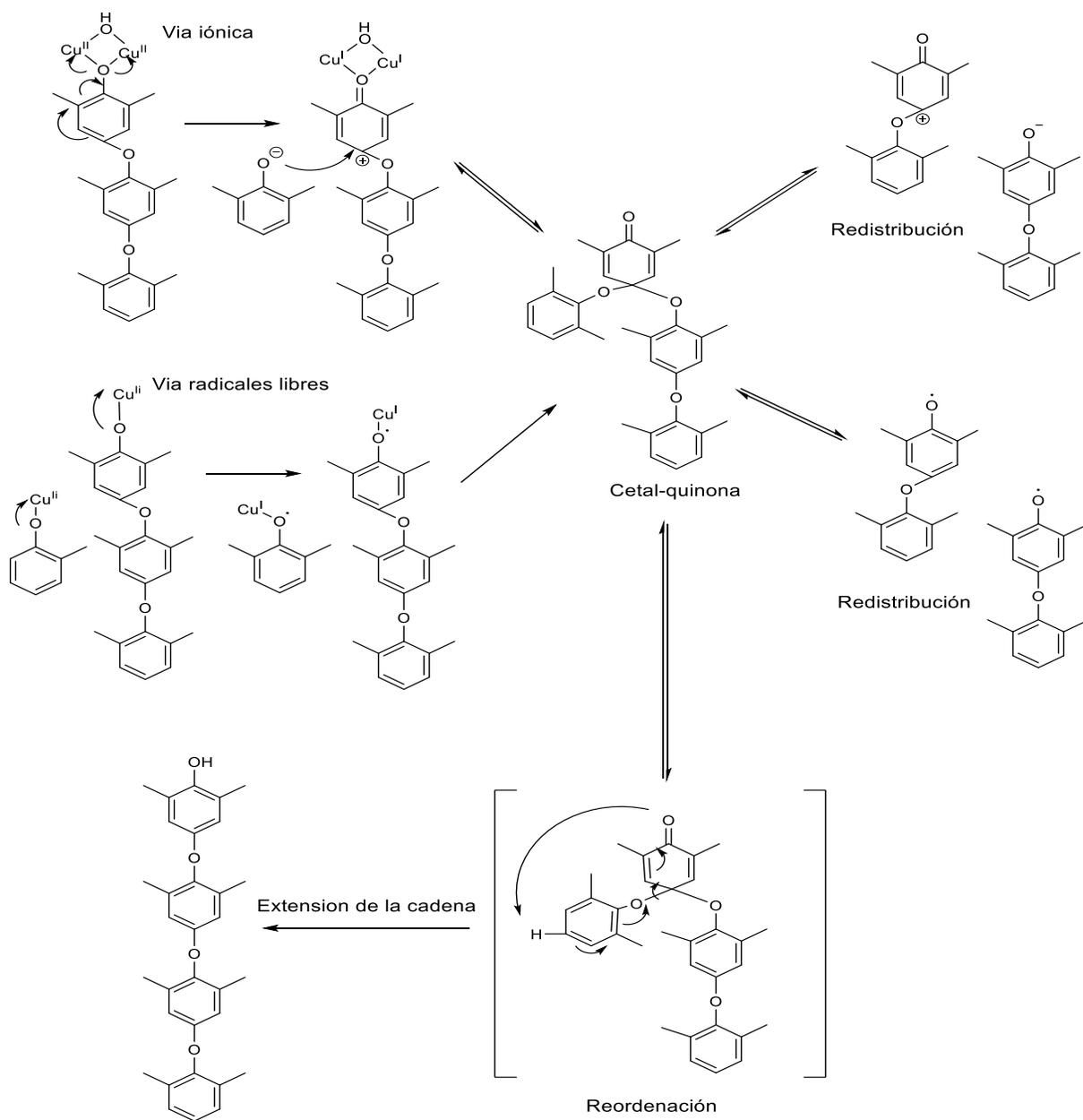
#### a) Vía radicales libres

En esta vía se propone que las especies reactivas son los radicales fenoxi coordinados o libres que se forman cuando el ion fenolato se coordina a un solo átomo de Cu(II) del catalizador y lo reduce a Cu(I). El electrón desapareado que se encuentra en el átomo de oxígeno se deslocaliza hasta el átomo de carbono ubicado en la posición *para* del anillo aromático, y así dar paso a la formación del PPO<sup>34</sup>. Esta vía también explica la formación de la DPQ.

#### b) Vía iónica

La formación de cationes fenoxonio es el punto de partida para explicar la formación del PPE. El ion fenoxonio se forma cuando el anión fenolato se coordina a dos centros metálicos de Cu(II), estos son reducidos a Cu(I) formando el catión fenoxonio. La carga del catión deslocalizada hasta la posición *para* del anillo aromático, donde ya es susceptible al ataque nucleofílico por otro ion fenolato y formar el producto de acoplamiento C-O<sup>35,31</sup>.

En el siguiente esquema 1.3.4 se muestran las propuestas mecanísticas descritas anteriormente.



**Esquema 1.3.4.** Propuestas mecanísticas para la formación del producto de acoplamiento C-O.

Aunque la vía radicalaria y iónica plantean diferentes intermediarios iniciales para la formación del producto de polimerización, en ambos procesos se propone la formación de un cetal-quinona (Esquema 1.3.4) como intermediario del proceso oxidativo. Este intermediario aceptado universalmente, a su vez puede reaccionar en:

- Una reordenación tipo Claisen, que es un caso especial de reordenamiento sigma trópico concertado propuesto por Ionescu *et al.*<sup>36</sup> para explicar la extensión de

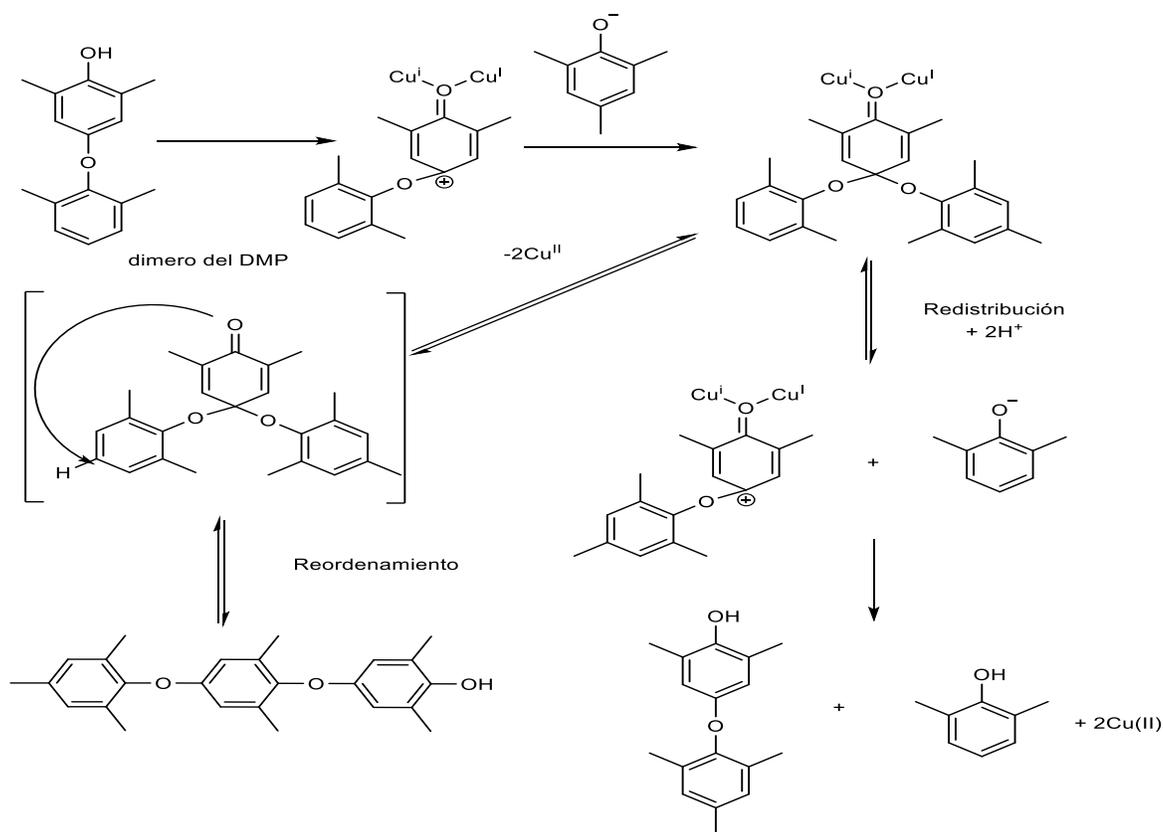
la cadena del polímero. Esta reorganización consiste principalmente en desplazar la quinona sobre la cadena de la especie oligomérica, hasta alcanzar un posible final.

- b) Una redistribución en el que el intermediario cet-al-quinona puede disociarse para dar paso a la formación de dos especies diméricas. En este proceso es posible que el enlace éter de un dímero se rompa para dar pasó a la formación de un monómero y un trímero.

Estudios realizados por *Mijs et al.*<sup>37</sup> mediante cromatografía de gases en los primeros instantes de la reacción de polimerización de 4-ariloxifenoles (dímeros fenólicos) lograron identificar monómeros y trímeros fenólicos que sustentan el proceso de redistribución, además también identificaron tetrámeros y hexámeros resultado de la transposición. Estos estudios comprueban que la única posibilidad de explicar los diferentes oligómeros formados en el proceso oxidativo es mediante la formación del intermediario cet-al-quinona.

Otros estudios realizados por *Jan Reedijk et al.*<sup>38</sup> encontraron que al mezclar 4-(2,6-dimetilfenoxi)-2,6-dimetilfenol (dímero del 2,6-DMP) y 2,4,6-trimetilfenol (esquema 1.3.5) bajo una atmosfera de oxígeno y un complejo de Cu(II) con *N*-metilimidazol como ligante, al paso de 1 o 2 min identifican mediante cromatografía de líquidos acoplado a espectrometría de masas picos correspondientes a un monómero de 2,6-DMP , además de un dímero híbrido entre el 2,4,6-trimetilfenol y un 2,6-DMP que comprueba el proceso de redistribución, además observan picos correspondientes a trímeros procedentes del proceso de reorganización.

Estos estudios dan una fuerte evidencia de la formación del intermediario cet-al-quinona durante la reacción de polimerización, ya que los productos derivados formados por el proceso de " redistribución " (formación del monómero 2,6-DMP y dímero híbrido) así como el proceso de "reordenamiento" (formación de trímeros) se observan directamente.



**Esquema 1.3.5.** Proceso de redistribución y reorganización descrito por Jan Reedijk et al.

El mecanismo de acoplamiento oxidativo, en particular la explicación de la selectividad del acoplamiento C-O sobre el acoplamiento C-C y viceversa, aún no está claro. Algunos grupos de investigación consideran que la polimerización procede a través de acoplamientos de radicales fenoxi generados por un catalizador de cobre, mientras que otros creen que una especie dinuclear de cobre producen cationes fenoxonio para explicar el proceso de polimerización. El grupo de Kobayashi *et al.*<sup>34</sup> en el año 2003 fueron unos de los primeros en descartar la vía iónica entre los grupos que defienden la propuesta radicalaria, enfatizando la imposibilidad de tener cationes fenoxonio en la mezcla de reacción. Sin embargo, evidencias experimentales descritas en la literatura, tienden a apoyar la posible existencia de las especies carbocatiónicas durante el transcurso de la reacción de polimerización<sup>39, 40, 31</sup>. Ninguna de las propuestas puede ser excluida completamente hasta el punto de considerar que la polimerización del 2,6-dimetilfenol pueda proceder a través de dos o más mecanismos competitivos o mediante una combinación de ambas o más vías.

### 1.3.1.3 Estudios preliminares del acoplamiento oxidativo del 2,6-dimetilfenol en el grupo de investigación

Los primeros estudios que introdujeron al grupo de investigación en la reacción de acoplamiento oxidativo del 2,6-dimetilfenol fue utilizando los complejos  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$ ,  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$ ,  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu(miep)(H_2O)_2]^{2+}$  como catalizadores de esta reacción oxidativa en presencia de oxígeno atmosférico.

Es importante mencionar que en el grupo de investigación se han realizado estudios sobre la actividad catecolasa de los complejos mencionados en MeOH/H<sub>2</sub>O y MeCN/H<sub>2</sub>O, encontrando que la actividad en la primera mezcla es mucho mayor que en la segunda. Al iniciar los estudios sobre la reacción de acoplamiento del 2,6-dimetilfenol, se probaron estos dos medios de reacción, así como los disolventes MeOH y MeCN sin agua. A diferencia de lo encontrado para la oxidación de DTBC, la reacción de acoplamiento de DMP, prácticamente no procede en MeOH/H<sub>2</sub>O favoreciendo la precipitación del complejo hidroxilo ante las condiciones básicas necesarias para formar el 2,6-dimetilfenolato, mientras que en la mezcla MeCN/H<sub>2</sub>O se obtiene selectivamente el polímero PPO. En estos estudios preliminares el catalizador más eficiente al paso de 8 días es  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$ , con rendimiento de la reacción oxidativa de 85%, cuyo polímero posee una longitud de cadena de 41-43 unidades como se puede observar en la siguiente tabla 1.3.1<sup>4142</sup>.

**Tabla 1.3.1.** Valores de % de rendimiento y longitud de la cadena polimérica al paso de 8 días.  $[Cu_2L]=5 \times 10^{-4}$  M;  $[CuL]=1 \times 10^{-3}$  M  $[DMP]=0.02$  M y  $[TEA]=0.02$  M en MeCN/H<sub>2</sub>O a 25°C.

Catalizador	Rendimiento (%)	Longitud de cadena del polímero
$[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$	74.8	42
$[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$	72.2	39
$[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$	85	41-43
$[Cu(miep)(H_2O)_2]^{2+}$	62	13

En el caso del medio MeCN, en contraste con los resultados obtenidos en el medio MeCN/H<sub>2</sub>O, los complejos de Cu(II) no resultaron ser activos para catalizar la reacción de

acoplamiento oxidativo del 2,6-dimetilfenol. Se obtiene selectivamente la formación de la 5,5'-tetrametil-4,4-difenoquinona, producto del acoplamiento C-C, en muy pequeñas cantidades aproximadamente en 2%. Dado que la cuantificación de este producto se llevó a cabo mediante espectrofotometría UV-Vis, fue necesario sintetizarlo en condiciones estequiométricas con  $K_3[Fe(CN)_6]$  con la finalidad de obtener su absorptividad molar en el medio empleado para la reacción catalítica.

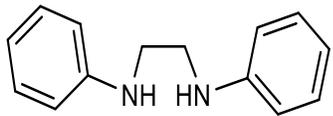
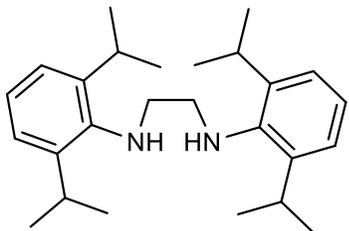
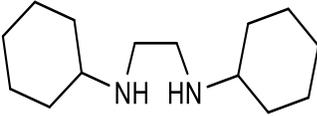
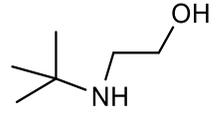
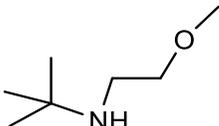
De esta manera se llegó a la conclusión de que la presencia de  $H_2O$  en nuestro medio de reacción es de vital importancia, aunque involucra la adición del pH como otra variable en la reacción catalítica, nos permite generar especies hidrolizadas de los complejos de cobre (II) debido al pH básico que impone el anión fenolato; siendo las especies hidrolizadas las causantes de la elevada y selectiva actividad catalítica.

#### 1.3.1.4 Complejos de Cu(II) que catalizan selectivamente la polimerización del DMP

Desde el año de 1959, en que se descubrió la reacción de polimerización del 2,6-dimetilfenol catalizada selectivamente por un complejo de Cu<sup>I</sup>Cl-piridina. Se han descrito en la literatura una variedad de complejos de Cu(II) y Cu(I) con ligantes donadores por nitrógeno y/u oxígenos capaces de catalizar selectivamente dicha reacción de polimerización. A continuación, se mencionan algunos ejemplos de catalizadores de cobre junto con las condiciones adecuadas para llevar a cabo el proceso de polimerización, así como el rendimiento de la reacción.

Se ha estudiado la obtención de PPE con distintos complejos mononucleares de Cu(II) con ligantes derivados de etilendiamina y distintas composiciones del medio de reacción, el complejo de Cu(II) con *N*-di-*terc*-butiletildiamina como ligante en tolueno/metanol se lleva a cabo la reacción catalítica más eficiente a 25°C con un burbujeo de O<sub>2</sub> durante 2 horas. Los complejos con ligantes con sustituyentes más voluminosos (tabla 1.3.2 ) no conducen a obtener productos PPE aislables. El alcohol es necesario para sintetizar el polímero de alto peso molecular ( $M_n > 10\ 000$ ). En la siguiente tabla 1.2 se muestran valores reportados de  $M_n$ ,  $M_w$  y PDI del polímero PPE en el medio tolueno/MeOH<sup>32</sup>.

**Tabla 1.3.2.** Valores reportados de  $M_w$ ,  $M_n$  e IPD de polímero PPE.

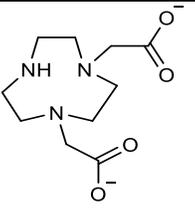
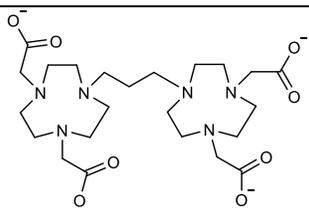
	Ligante	Tiempo (h)	Rendimiento (%)	$M_w$	$M_n$	IPD
1)		0.5	73	104200	24600	4.24
2)		2	-	-	-	-
3)		3	-	-	-	-
4)		2	-	-	-	-
5)		2	9	3000	2200	1.36
6)		2	67	31,700	14,200	2.23
7)		2	29	5400	3500	1.54

En la tabla 1.3.2 se puede observar que al cambiar una *tert*-butilamina (ligante 1) (tabla 1.2.3) por un oxígeno como átomo donador, se favorece la reacción de polimerización del 2,6-dimetilfenol. La reacción de polimerización depende del grupo funcional que aporte el átomo de oxígeno, ya que el ligante con un grupo –OH se obtiene producto de polimerización en buenos rendimientos y con valores mayores de  $M_n$ ,  $M_w$  y PDI en comparación con el ligante que contiene el grupo –OR (éter).

También se ha estudiado la actividad catalítica en MeCN de complejos mononucleares de Cu(II) con diferentes imidazoles como ligantes, en la obtención de PPE. Al usar ligantes como 1-metilimidazol y 1,2-dimetilimidazol presentan un % conversión mayor al 99%. Sin embargo, en este trabajo no se analiza la longitud de la cadena<sup>43</sup>.

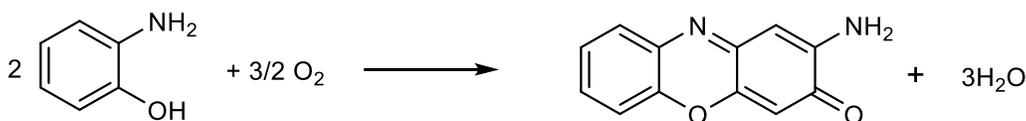
Otros ejemplos son complejos de Cu(II) con ligantes que contienen átomos de nitrógeno y oxígeno como átomos donadores que reportan el grupo de Saito *et al.*<sup>44</sup>. Las condiciones de reacción que utilizan son las siguientes: Medio acuoso a 50°C, base NaOH y n-dodecil sulfato de sodio a 18 horas. En el que se obtienen bajos valores de Mw, en comparación con los casos anteriores.

**Tabla 1.3.3.** Valores reportados de Mw polímero PPE.

Ligante	Rendimiento (%)	M <sub>w</sub>
	99	5100
	68	5800

### 1.3.2 Acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol

La reacción de acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol produce la 2-amino-3*H*-fenoxazin-3-ona (esquema 1.3.7). El proceso oxidativo involucra una transferencia de 6 electrones en total; este producto de acoplamiento también es conocido como Questiomycin A (nombre en inglés). Esta reacción oxidativa ha sido objeto de numerosos estudios debido a las propiedades antimicrobianas que posee dicha 2-amino-3*H*-fenoxazin-3-ona, pero sobre todo el gran interés por este proceso oxidativo se debe a que puede usarse como modelo para la síntesis de la Actinomicina D, es decir en la evaluación de la actividad fenoxazinona sintasa que más adelante se discutirá.

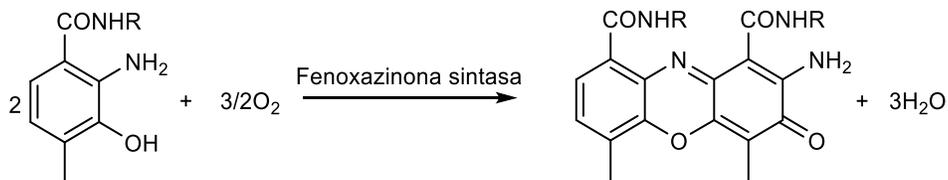


*Esquema 1.3.7. Reacción acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol*

La 2-amino-3*H*-fenoxazin-3-ona está compuesta estructuralmente por tres anillos distintos: uno bencénico, una oxazina y por último un anillo de iminoquinona. En las últimas dos décadas el interés por este proceso oxidativo ha ido en aumento y muchos grupos de investigación se han dedicado a sintetizar y caracterizar complejos de Fe(II), Mn(II), Co(II) y Cu(II) capaces de acelerar el proceso de acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol. Esta reacción también puede ser catalizada por metaloenzimas como lacasa y peroxidasa en presencia de H<sub>2</sub>O; así como el uso de un radical estable como el TEMPO en cantidades estequiométricas<sup>45</sup>.

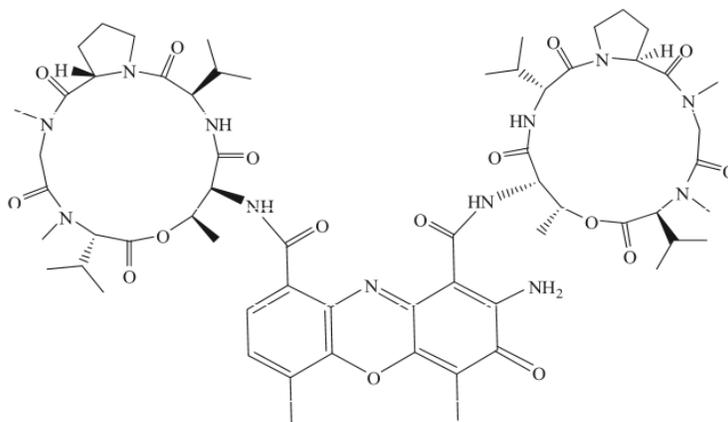
#### 1.3.2.1 Aspectos estructurales y funcionales de la fenoxazinona sintasa

La fenoxazinona sintasa (PHS) es una metaloenzima de cobre cuya función principal es catalizar la formación del cromóforo fenoxazinona en presencia de oxígeno atmosférico durante la biosíntesis de la actinomicina D; a partir de dos moléculas de aminofenol sustituido. (esquema 1.3.8).



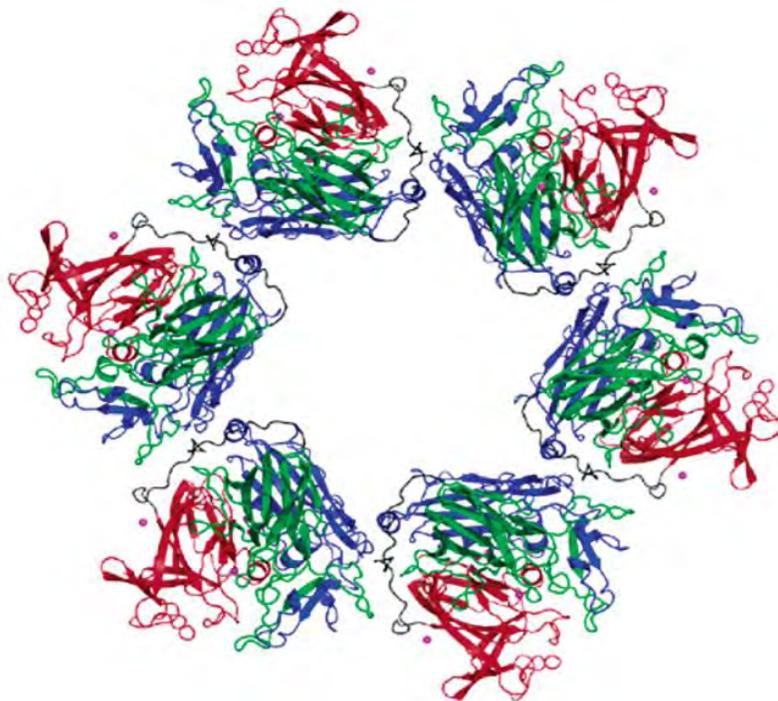
**Esquema 1.3.8.** Biosíntesis de la Actinomicina D.

La actinomicina D es un compuesto natural heterocíclico que se caracteriza por poseer un cromóforo de fenoxazinona unido mediante un enlace peptídico (amida) a dos ciclos pentapeptídicos (figura 1.3.4). La importancia de este compuesto natural es en el ámbito biológico, ya que es un potente agente antineoplásico usado clínicamente para el tratamiento de ciertos tipos de cáncer como: coriocarcinoma, tumor de Wilms, rbdomiosarcoma y sarcoma de Kaposi. Se ha demostrado que la actividad antineoplásica de la actinomicina D se debe a la unión con el ADN mediante la intercalación del cromóforo de fenoxazinona con las bases nitrogenadas. El resultado de esta interacción es la elevada inhibición específica de la síntesis del ARN a partir del ADN<sup>46</sup>.



**Figura 1.3.4.** Estructura completa de la Actinomicina D.

En el año de 1962, *Katz y Weissback*<sup>47</sup> fueron los primeros en aislar la enzima de *Streptomyces antibiotus*, más tarde fue clonada en *Streptomyces liuidans* y aislada en cantidades de 100 mg aproximadamente con un peso molecular de 88000 daltones. Sin embargo, la estructura era desconocida hasta que en el año 2006 *James P. Allen y Wilson A. Francisco*<sup>48</sup> reportaron su estructura cristalina proveniente de *Streptomyces antibioticus*. La estructura cristalina revela la existencia de dos formas oligoméricas con distinta actividad catalítica: dímeros de bajas actividades catalíticas y hexámeros con elevadas actividades catalíticas.

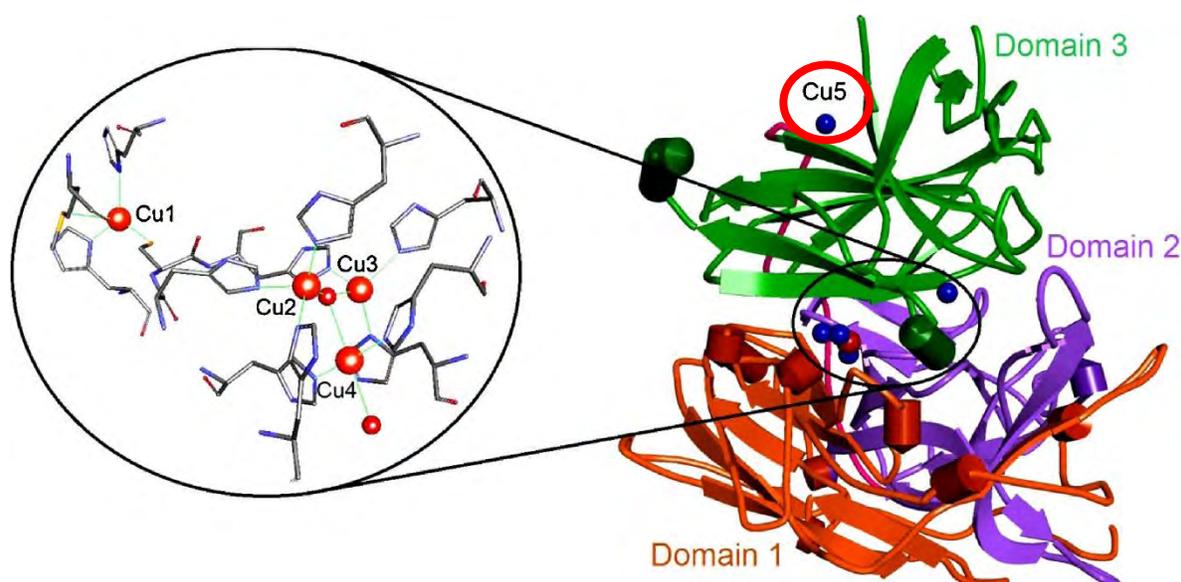


**Figura 1.3.5.** Oligómero hexamérico presente en la PHS<sup>48</sup>.

Los datos estructurales revelaron que cada subunidad del hexámero se divide en tres dominios (figura 1.3.5), además de que cada una de estas subunidades contiene 5 átomos de cobre: un cobre tipo I, dos cobres tipo II y un cobre tipo III. El quinto átomo de cobre tipo II se encuentra ubicado a 25 Å del cobre tipo I y del otro cobre tipo II.

Este quinto centro metálico no desempeña un papel fundamental sobre la elevada actividad catalítica de la forma hexaédrica pero su presencia desempeña un rol importante en cuestión estructural.

Cuatro de los cinco átomos de cobre: un mononuclear tipo I, un mononuclear tipo II y un dinuclear tipo III, se encuentran localizados primordialmente en los dominios 1 y 3 como se muestra en la figura 1.3.6. El arreglo tetranuclear de cobre también se encuentran en algunas oxidasas multicobre como: lacasas, ascorbato oxidasa y ceruplasmina. El quinto átomo (Cu5) de cobre tipo II se encuentra en el bucle que conecta a los dominios 3 y 2, y representa un nuevo cofactor ya que no se había descrito anteriormente en la estructura de otras oxidasas multicobre (figura 1.3.6).

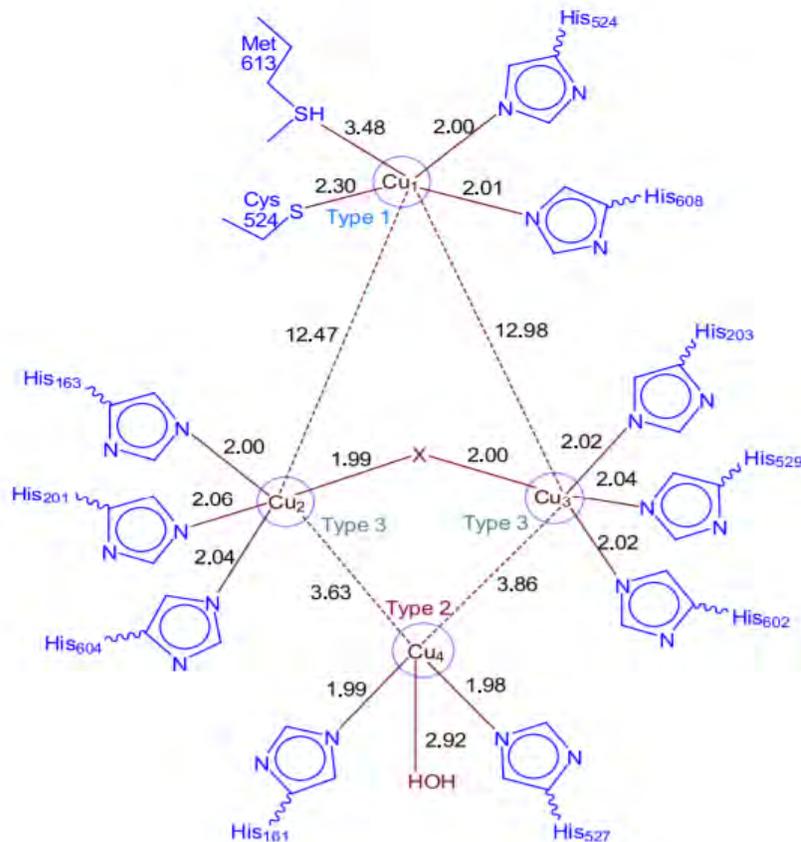


**Figura 1.3.6.** Localización de los cationes metálicos de Cu(II) en los dominios de la estructura oligomérica<sup>46</sup>.

El cobre tipo I se encuentra enlazado a: dos histidinas (524, 608), una cisteína 603 y una metionina 613 que pertenecen al dominio 3, y su geometría es de bipirámide trigonal distorsionada, pero en la figura 1.3.7 no se muestra el otro ligante axial que es característico en los centros de cobre tipo I. El cobre tipo I se encuentra a 12.5 Å del cobre tipo II y del cobre tipo III, además de que se encuentra conectado al centro tipo III a través de un ligante puente que facilita la transferencia electrónica entre estos dos centros.

En el centro de cobre tipo III cada uno de los centros metálicos se encuentra enlazado a residuos histidínicos, mientras que un grupo puente  $X = OH^-$  o  $H_2O$  hace que interactúen íntimamente estos dos átomos de cobre. La distancia entre átomos de cobre es de 3.88Å.

Por último, el centro de cobre tipo II se encuentra a una distancia de aproximadamente 3.6 - 3.8 Å de los átomos de cobre del centro tipo III. El catión metálico Cu(II) se encuentra enlazado a histidinas 161 y 527 que son aportadas por los dominios 1 y 3. El tercer ligante corresponde a una molécula de agua.



**Figura 1.3.7.** Arreglo tetranuclear de cationes metálicas de Cu(II) característico del sitio activo de la fenoxazinona sintasa<sup>46</sup>.

### 1.3.2.2 Sistemas modelo que presentan actividad fenoxazinona sintasa

Los trabajos pioneros sobre la catálisis de la reacción de acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol se realizaron en presencia de sales o complejos de cobalto. En el año 1987, por primera vez se reportó que el perclorato de cobalto (II) cataliza la reacción de oxidación del 2-aminofenol a la correspondiente 2-amino-3*H*-fenoxazin-3-ona en condiciones ambientales y en disolventes como: acetona, metanol, etanol, acetonitrilo y THF<sup>49</sup>. En 1991, *Simandi et al.*<sup>46</sup> estudiaron el comportamiento cinético de la reacción oxidativa del OAP catalizada por el complejo [tetrakis(3,5-di-*terc*-butil-4-hidroxifenil)-dodecacloro ftalocianina cobalto(II)], en el que observaron una cinética tipo Michaelis-Menten con respecto al OAP; para entonces aún se desconocía la estructura de la fenoxazinona sintasa. En 1993 y 1996 el mismo grupo de *Simandi*<sup>50,51</sup> reportan la presencia de un intermediario radicalario proveniente del 2-aminofenol durante el proceso oxidativo utilizando como catalizadores derivados de cobaloximas.

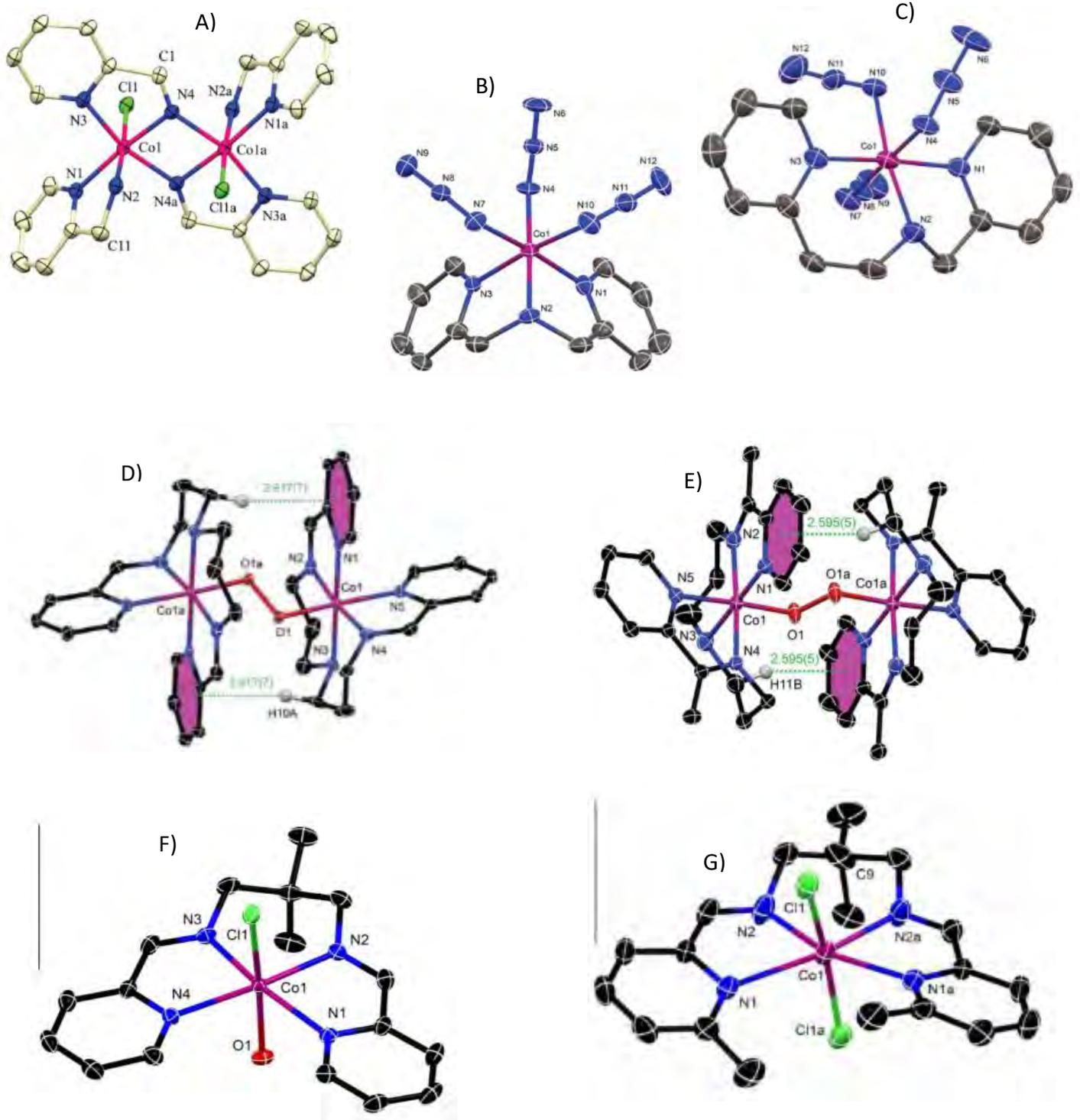
Hasta el año 2008, *Hassanein et al.*<sup>52</sup> reportaron que el complejo (5,10,15,20-tetrakis-(*p*-fenilsulfonato) porfinatocobalto(II) cataliza la reacción de oxidación del OAP en presencia de oxígeno y medio acuoso, a pH=9. Los estudios cinéticos que realizaron sobre esta reacción encontraron que la velocidad de reacción tiene una dependencia lineal con la concentración del catalizador y observaron una cinética de primer orden con respecto al OAP.

Sin embargo, todos los estudios anteriormente descritos solo reportan la dependencia de la velocidad de reacción en función de la concentración del catalizador y sustrato, temperatura y pH. Ninguno de ellos reporta la eficiencia de los catalizadores junto con los parámetros cinéticos  $K_M$ ,  $k_{cat}$  y  $V_{max}$ .

Hasta hace aproximadamente 5 años *Panja et al.*<sup>53,54,55,56</sup> reportaron eficiencias catalíticas utilizando complejos de Co(II) y Co(III) (Figura 1.3.8) como catalizadores del proceso oxidativo en condiciones ambientales. En la siguiente tabla 1.3.4 se observan los valores de parámetros cinéticos  $K_M$  y  $k_{cat}$ , así como el valor de la eficiencia catalítica.

**Tabla 1.3.4.** Parámetros cinéticos de Michaelis – Menten para comparar los sistemas de modelo de Co(II) y Co(III).

Catalizador	Disolvente	$k_{cat}$ ( $s^{-1}$ )	$K_M$ (mM)	$k_{cat}/K_M$
A) dinuclear Co(III)	CH <sub>3</sub> OH	0.0038	1.57	2.42
B) Co(III)	CH <sub>3</sub> OH	0.0056	7.12	0.78
C) Co(III)	CH <sub>3</sub> OH	0.0092	8.58	1.07
D) dinuclear de Co(III)	CH <sub>3</sub> OH	0.0084	10.1	0.83
E) dinuclear de Co(III)	CH <sub>3</sub> OH	0.0064	14.7	0.435
F) Co(II)	CH <sub>3</sub> OH	0.0038	20	0.19
G) Co(II)	CH <sub>3</sub> OH	0.0011	16	0.069

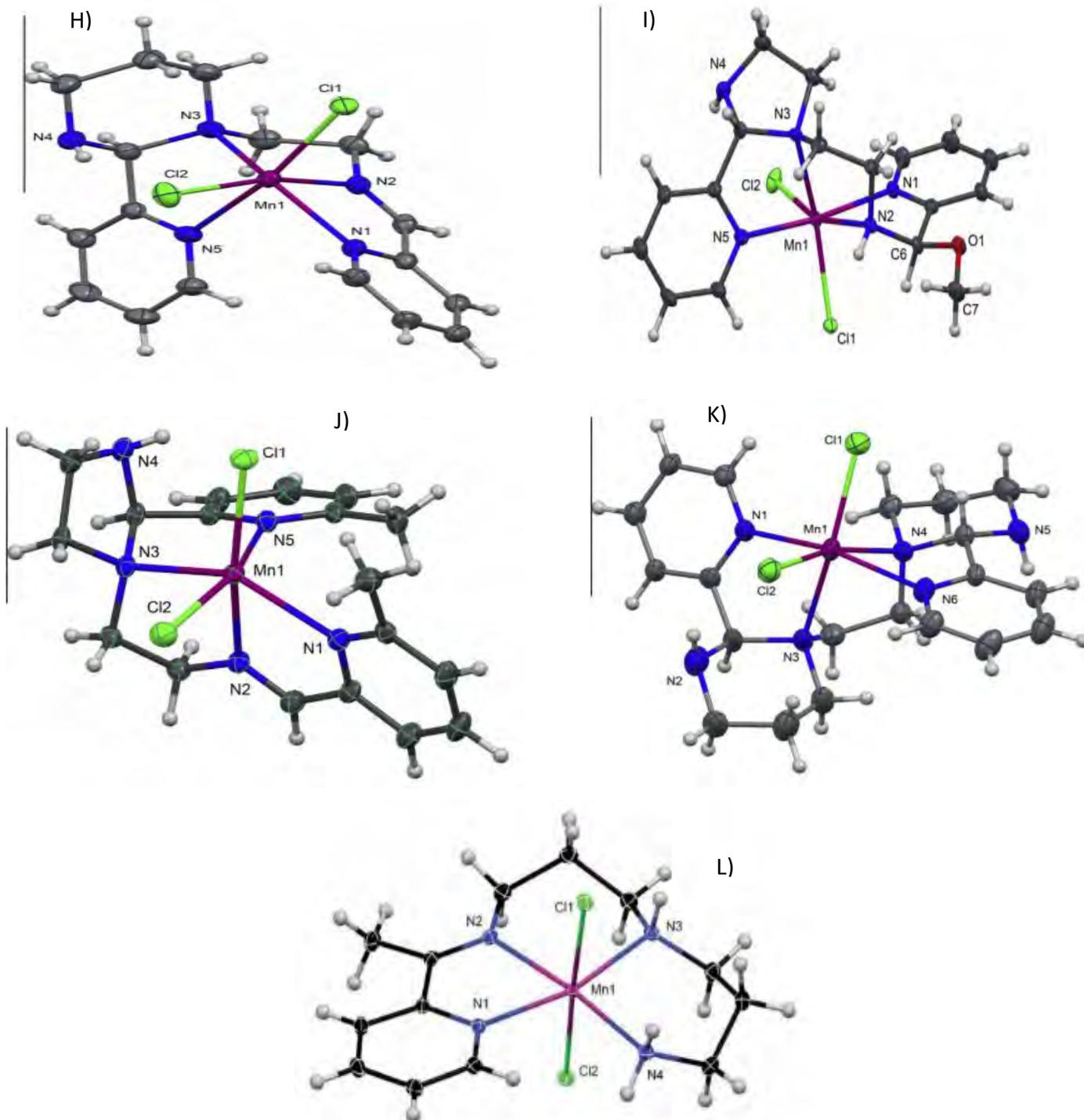


**Figura 1.3.8.** Estructura cristalinas de sistemas modelo de Co(II) y (III) que presentan actividad fenoxazinona sintasa<sup>53,54,55,56</sup>.

En las últimas décadas, la reacción de acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol ha sido catalizada por complejos de manganeso. En el 2006, *Simandi et al.*<sup>57</sup> fueron los primeros en reportar que un complejo dimérico de dioximatomanganeso (II) en metanol se disocia en una forma monomérica y presenta actividad fenoxazinona sintasa. Los estudios cinéticos que realizaron de actividad fenoxazinona sintasa, encontraron un comportamiento tipo Michaelis-Menten con respecto a la concentración de OAP sin embargo, no reportan los parámetros que se obtienen del modelo matemático de Michaelis-Menten. En el 2008 *Speier et al.*<sup>58</sup> demostraron que un complejo mononuclear de manganeso (II)  $[Mn(L)(H_2O)_2(CH_3CN)](ClO_4)_2$  donde  $L=1,3$ -bis(6'-metil-2-piridilimino) isoindolina, cataliza la reacción de oxidación del OAP. Se realizó el estudio cinético donde se encontró de igual manera un comportamiento tipo Michaelis-Menten, con los siguientes parámetros cinéticos:  $V_{max}= 1.35 \times 10^{-7} Ms^{-1}$ ,  $K_M=5.13 \times 10^{-3} M$  y  $k_{cat}= 0.81 \times 10^{-3} s^{-1}$ . La eficiencia catalítica ( $k_{cat}/K_M$ ) es de  $0.15 M^{-1}s^{-1}$ . Recientemente *Panja et al.*<sup>59,60</sup> reportaron que los complejos de Mn(II) con ligantes donadores por nitrógeno que se observan en la figura 1.3.9 presentan actividad fenoxazinona sintasa. Los estudios cinéticos demuestran un comportamiento tipo Michaelis-Menten. Los parámetros cinéticos se encuentran en la tabla 1.3.5.

**Tabla 1.3.5.** Parámetros cinéticos de Michaelis – Menten para comparar los sistemas de modelo de Mn(II) y Mn(III).

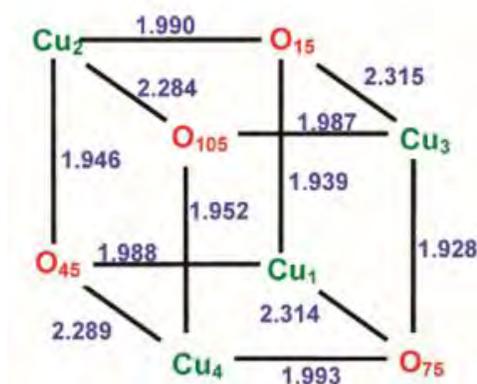
Catalizador	Disolvente	$k_{cat} (s^{-1})$	$K_M(mM)$	$k_{cat}/K_M$
H) Mn(II)	CH <sub>3</sub> OH	0.0033	32.5	0.10
I) Mn(II)	CH <sub>3</sub> OH	0.0027	29.6	0.09
J) Mn(II)	CH <sub>3</sub> OH	0.0023	23.4	0.098
K) Mn(II)	CH <sub>3</sub> OH	0.0073	54.6	0.13
L) Mn(II)	CH <sub>3</sub> OH	0.0065	11.1	0.59



**Figura 1.3.9.** Estructura cristalina de sistemas modelo de Mn(II) y (III) que presentan actividad fenoxazinona sintasa<sup>59,60</sup>.

Por último, aproximadamente hace tres años *Dey y Mukherjee*<sup>61, 62</sup> realizaron estudios cinéticos con  $\text{Mn}(\text{AcO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{Mn}(\text{AcO})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  como catalizadores en el medio  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{CH}_3\text{OH}(90:10)$ , encontrándose un comportamiento tipo Michaelis-Menten al variar la concentración de 2-aminofenol con eficiencias catalíticas 1.41 y 0.73  $\text{s}^{-1}\text{M}^{-1}$ , respectivamente. La actividad catalítica de estas sales de manganeso en la reacción de acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol resultan ser superiores a los complejos de manganeso descritos anteriormente.

Aunque la fenoxazinona sintasa contiene átomos de cobre en su sitio activo, el uso de sales de cobre o complejos que imiten la actividad fenoxazinona sintasa comenzó unos años más tarde que los estudios pioneros de cobalto. En el año de 2004, *Speier et al.*<sup>45</sup> utilizaron diferentes sales de cobre:  $\text{CuCl}$ ,  $\text{CuCl}_2$ ,  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ ,  $\text{Cu}(\text{OCH}_3)_2$  y  $\text{Cu}(\text{OCH}_3)\text{Cl}$  como catalizadores de la reacción de acoplamiento del 2-aminofenol con oxígeno molecular a 60°C en DMF. Además, descubrieron que con 1 equivalente de ligante donador por nitrógeno como: 2,2'-bipiridina, 3,3'-iminobis(*N,N*-dimetil-propilamina), 1,10-fenantrolina y *N,N,N',N'*-tetrametil-etilendiamina la velocidad de la reacción aumenta. Posteriormente en el año 2007, *Chaudhuri et al.*<sup>63</sup> reportaron que un complejo tetranuclear de Cu(II) con forma cúbica (figura 1.3.10) cataliza la reacción de acoplamiento del 2-aminofenol a la fenoxazinona correspondiente en condiciones aerobias obteniendo un 100% de conversión al paso de 40 horas en una solución metanólica. Hasta la fecha es el único complejo tetranuclear que presenta actividad fenoxazinona sintasa. Ninguno de los estudios anteriores reporta un comportamiento cinético tipo Michaelis-Menten.



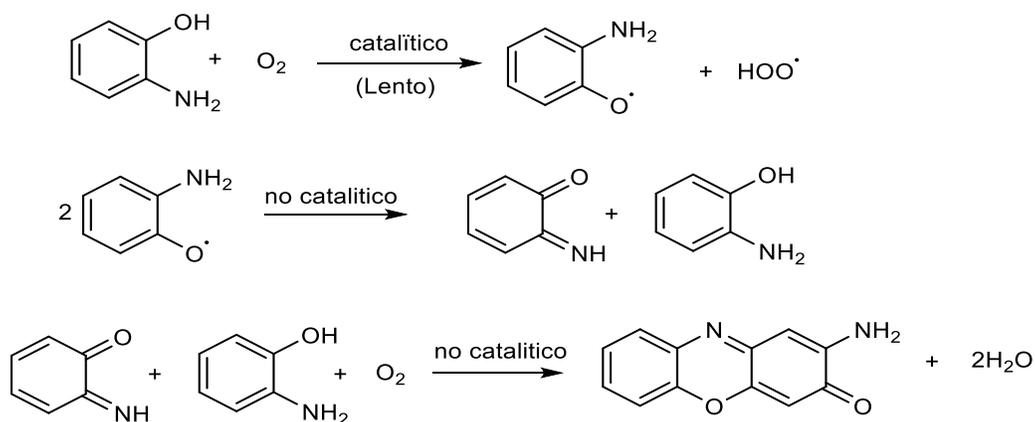
**Figura 1.3.10.** Estructura de un sistema modelo tetranuclear de Cu(II) con forma cúbica<sup>63</sup>.

A partir del descubrimiento de la estructura cristalina de la enzima fenoxazinona sintasa, cuyo sitio activo posee átomos de cobre, se comenzaron a ocupar algunas metaloenzimas de cobre como: Lacasas y tirosinasas provenientes de diferentes sistemas biológicos para catalizar el proceso oxidativo del 2-aminofenol. En los estudios cinéticos con la metaloenzima tirosinasa se obtuvieron parámetros cinéticos del modelo de Michaelis-Menten en medio acuoso con buffer de fosfatos;  $k_{\text{cat}}$  ( $\text{s}^{-1}$ ) = 60.57 y  $K_M$  = 0.78 mM, por lo tanto, una eficiencia catalítica de  $k_{\text{cat}}/K_M = 77\ 653.8$ , cuyos valores son muy superiores a todos los sistemas modelo reportados en la literatura<sup>64</sup>.

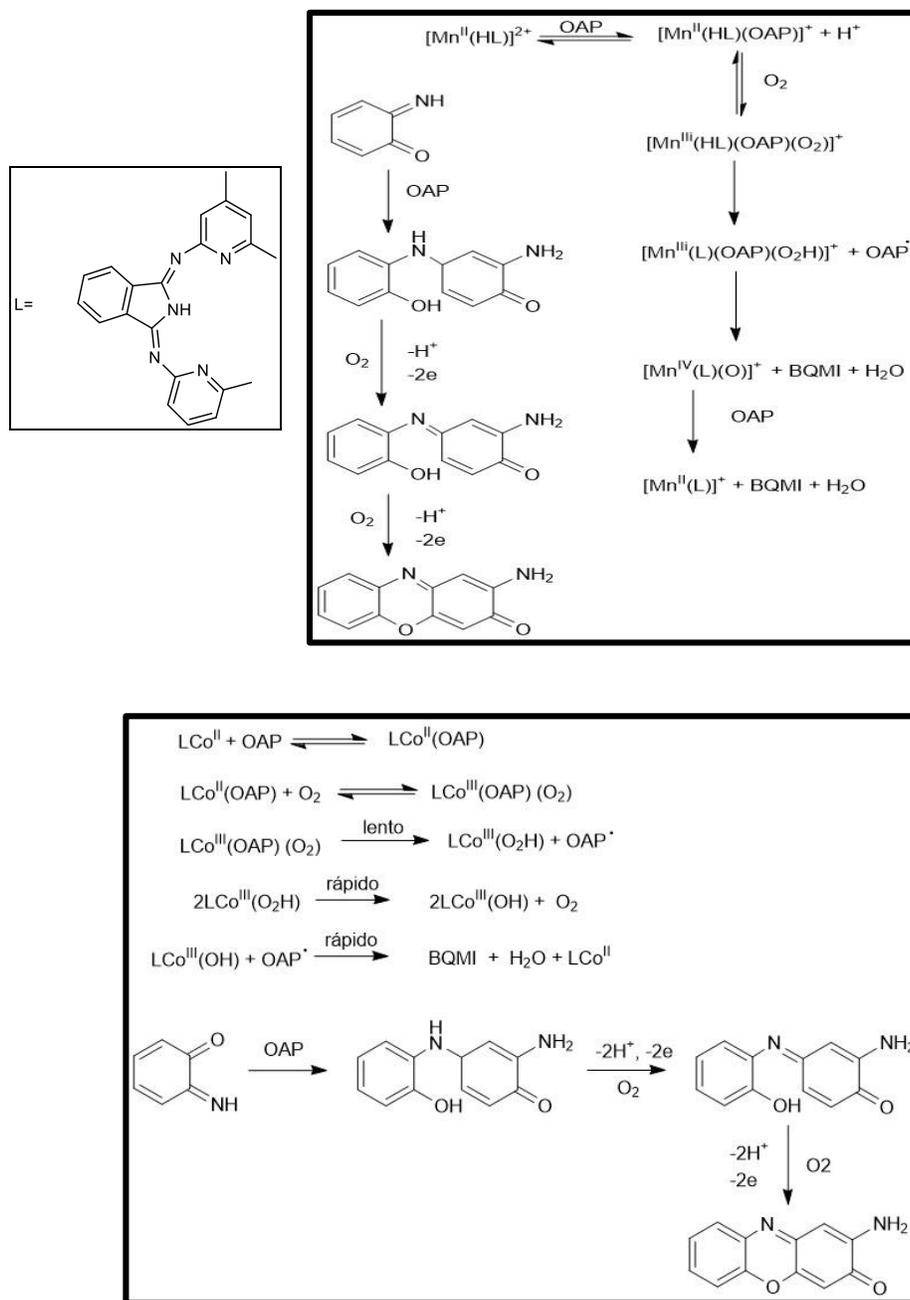
### 1.3.2.3 Mecanismo catalítico del acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol

Algunos grupos de investigación se han dado a la tarea de proponer un posible ciclo catalítico para explicar el proceso de acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol, en el que involucran la participación de una especie radicalaria proveniente del 2-aminofenol (OAP\*) en sus rutas catalíticas. Sin embargo, la detección de esta especie radicalaria presenta un elevado grado de dificultad ya que tiende a reaccionar rápidamente. En el año 2006 *Simandi et al.*<sup>57</sup> detectaron por espectroscopia de EPR un radical relativamente estable proveniente de la oxidación del sustrato 2-anilino-4,6-di-*tert*-butilfenol (derivado del 2-aminofenol) catalizado por un complejo de Mn(II) en solución metanólica, de esta manera extrapolan que en la reacción de acoplamiento del OAP existe una participación del radical OAP en su ruta catalítica.

Algunos estudios mecanísticos de los sistemas modelo demuestran que el paso más crucial del proceso oxidativo es la formación de la iminobenzoquinona (IMBQ por sus siglas en inglés) que se produce por la dismutación de dos especies radicalarias de OAP\*, como se muestra en el esquema 1.3.9. La formación de la IMBQ a partir del OAP es posible a través de especies reactivas de oxígeno (ROS) como hidroperoxo o superoxo y no directamente de la unión con el sustrato como se observa en el esquema 1.3.10.



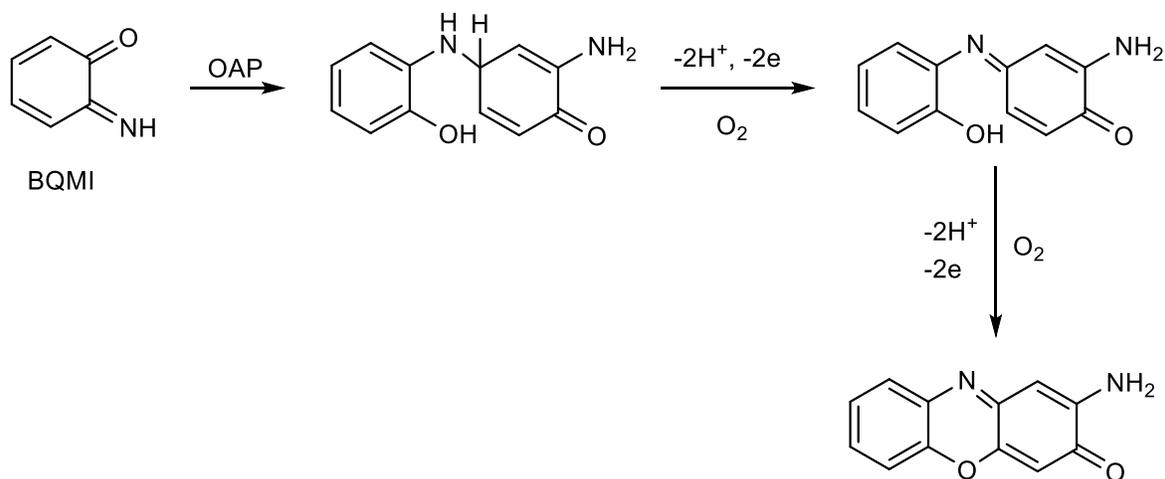
**Esquema 1.3.9.** Mecanismo catalítico de la oxidación del OAP en presencia únicamente de O<sub>2</sub>



**Esquema 1.3.10.** Propuestas mecanísticas del acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol catalizado por complejos de Mn(II)<sup>65</sup> y Co(II)<sup>66</sup>.

Se han realizado estudios utilizando técnicas como espectrometría de masas (ESI-MS) de las soluciones catalíticas con la finalidad de investigar un posible intermediario entre un complejo y el sustrato; hasta el momento no se ha reportado a detalle algún intermediario de esta naturaleza<sup>67</sup>. Cabe mencionar que dos moléculas de 2-aminofenol pueden acoplarse en presencia de solo O<sub>2</sub> atmosférico como se observa en el esquema 1.3.11. El primer paso de la reacción oxidativa del 2-aminofenol mediante el O<sub>2</sub>, es un proceso catalítico y lento, mientras que los otros pasos de la reacción oxidativa son espontáneos y rápidos.

Los pasos finales para formar el cromóforo de la fenoxazinona, es decir la adición, ciclación y oxidación, no requiere asistencia de catalizador como se muestra en el esquema 1.3.11.



**Esquema 1.3.11.** Pasos finales de la reacción de acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol sin asistencia catalítica.

# Capítulo 2

## OBJETIVOS E HIPÓTESIS

### Objetivo general:

Estudiar la actividad catalítica de los compuestos de coordinación de Cu(II) con ligantes derivados de imidazol en las reacciones de acoplamiento oxidativo de fenoles sustituidos, particularmente del 2,6-dimetilfenol y 2-aminofenol; cuyos productos de acoplamiento poseen propiedades de interés a nivel industrial y biológicas, respectivamente.

### Objetivos particulares:

- Evaluar la actividad catalítica de los complejos bioinspirados de Cu(II) en la reacción de polimerización del 2,6-dimetilfenol al paso de 24 horas; cuantificando y determinando la longitud de la cadena mediante  $^1\text{H-RMN}$  el producto de polimerización.
- Comparar la actividad catalítica entre los diferentes complejos dinucleares de Cu(II) entre estos y sus análogos mononucleares en la polimerización del 2,6-dimetilfenol.
- Analizar las diferencias que se producen en el rendimiento del proceso oxidativo y en la longitud de la cadena polimérica al variar la temperatura, la relación [Sustrato]: [Catalizador] y la relación del medio MeCN:H<sub>2</sub>O
- Realizar estudios preliminares de la actividad fenoxazinona sintasa de los compuestos bioinspirados de cobre (II) utilizando 2-aminofenol como sustrato modelo, cuantificando la cantidad de fenoxazinona que se obtiene de las reacciones catalíticas mediante espectrofotometría UV-Vis.
- Evaluar mediante estudios cinéticos la actividad catalítica de los complejos bioinspirados de Cu(II) en el acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol mediante espectrofotometría UV-Vis.
- Comparar la actividad fenoxazinona sintasa entre los diferentes complejos dinucleares de Cu(II) entre estos y sus análogos mononucleares.

**Hipótesis:**

En el grupo de trabajo se ha demostrado que los complejos dinucleares de Cu(II):  $[Cu_2(L)(H_2O)_4]^{4+}$  L = *dimp*, *diep*, *dihe* y *dihp* presentan una importante actividad catecolasa; de hecho, entre los compuestos estudiados, estos son los que han demostrado tener una mayor eficiencia catalítica. Se sabe además que estos compuestos son capaces de reducirse en presencia de un sustrato y reoxidarse en presencia de oxígeno atmosférico, generando radicales libres en el sustrato.

Como este tipo de comportamiento es útil en la reacción de acoplamiento de fenoles catalizada por compuestos de cobre, se propone que los complejos  $[Cu_2(L)(H_2O)_4]^{4+}$  L = *dimp*, *diep*, *dihe* y *dihp* que han presentado una importante actividad catecolasa, presentarán una importante actividad catalítica en el acoplamiento oxidativo del 2,6-dimetilfenol y del 2-aminofenol.

La actividad catecolasa de los complejos mononucleares de Cu(II) estudiados en el grupo de investigación ha resultado ser inferior en comparación con sus análogos dinucleares de Cu(II), por lo que la actividad catalítica de los complejos dinucleares de Cu(II) en la reacción de acoplamiento oxidativo de compuestos fenólicos será superior que sus análogos mononucleares de Cu(II), a pesar de que los compuestos fenólicos difieren estructuralmente de los catecoles por un grupo -OH.

# Capítulo 3

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Acoplamiento oxidativo del 2,6-dimetilfenol

En los antecedentes (sección 1.3.1.3) se discutieron los resultados más destacados de estudios preliminares de la reacción de polimerización del 2,6-dimetilfenol catalizada por nuestros complejos bioinspirados de Cu(II), específicamente  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$ ,  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$ ,  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu(miép)(H_2O)_2]^{2+}$ . En aquellos estudios catalíticos, se impusieron condiciones que involucran:

- Tiempos de reacción sumamente largos en comparación con estudios descritos en la literatura.
- El proceso oxidativo solo depende de la pequeña cantidad de oxígeno molecular disuelto en el medio MeCN/H<sub>2</sub>O y/o de la cantidad localizada en la interfase del medio MeCN/H<sub>2</sub>O.

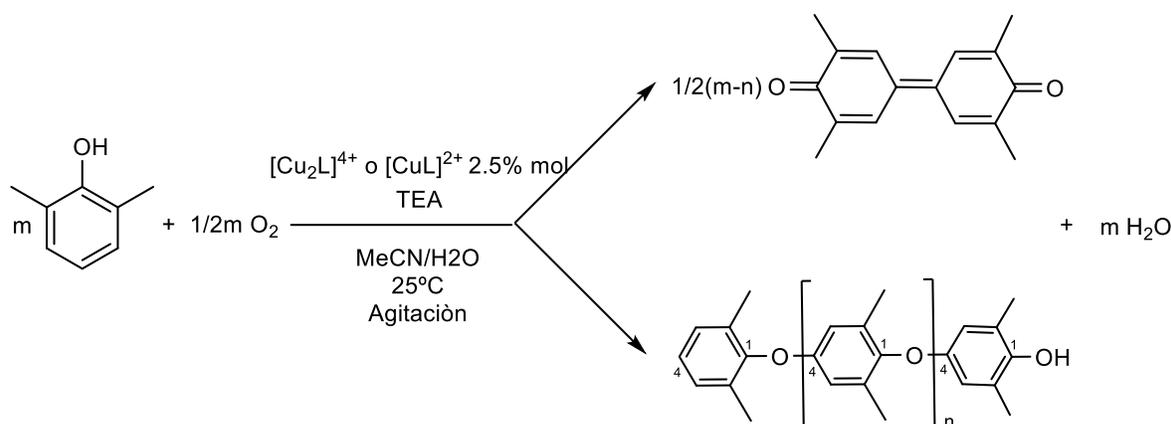
En este trabajo se modifican estas dos condiciones con la finalidad de optimizar el tiempo y disponibilidad de oxígeno molecular en el medio de reacción, además de añadir a la lista otros dos complejos bioinspirados de cobre (II):  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu(mihe)(H_2O)_2]^{2+}$  que también son capaces de catalizar selectivamente la reacción de polimerización del 2,6-dimetilfenol.

El primer cambio en las condiciones del proceso oxidativo fue la disminución de la duración de las reacciones catalíticas de 192 horas (8 días) a tan solo 24 horas. La duración de 8 días del proceso oxidativo se determinó mediante un estudio de variación del % de rendimiento de la reacción de polimerización en función del tiempo (2, 4, 6 y 8 días), en que se observó que al paso de 8 días se obtenía una mayor cantidad de producto de

polimerización<sup>41</sup>. Esta modificación fue impulsada por estudios descritos en la literatura donde fijan un tiempo de reacción de aproximadamente 24 horas o menos. De esta manera, el cambio a tan solo 24 horas no solo nos permitirá optimizar el tiempo de la reacción sino también nos permitirá comparar la actividad catalítica de nuestros complejos bioinspirados de Cu(II) con otros catalizadores de Cu(II) descritos en la literatura.

La segunda modificación en las condiciones del proceso oxidativo es aumentar la disponibilidad de oxígeno molecular en el medio de reacción. Para ello, se montó un sistema de inyección de aire continuo con la finalidad de burbujear aire en el seno de reacción, y asegurar que durante las 24 horas que dura el proceso de polimerización haya la suficiente cantidad de oxígeno molecular indispensable para la reacción oxidativa. En la mayoría de los estudios descritos en la literatura la principal fuente de agente oxidante es el uso directo de tanques de oxígeno molecular. Por lo que, en nuestro proceso nos ahorramos el costo de uno o más tanques de oxígeno sustituyéndolo por una fuente gratuita, el aire.

El presente trabajo comienza con la evaluación de la actividad catalítica de los complejos dinucleares de Cu(II) :  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$ ,  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$ ,  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  y los complejos mononucleares de Cu(II):  $[Cu(miép)(H_2O)_2]^{2+}$  y  $[Cu(mihe)(H_2O)_2]^{2+}$  en la reacción de polimerización del 2,6-dimetilfenol bajo las condiciones que se encuentran en el esquema 3.1.1.



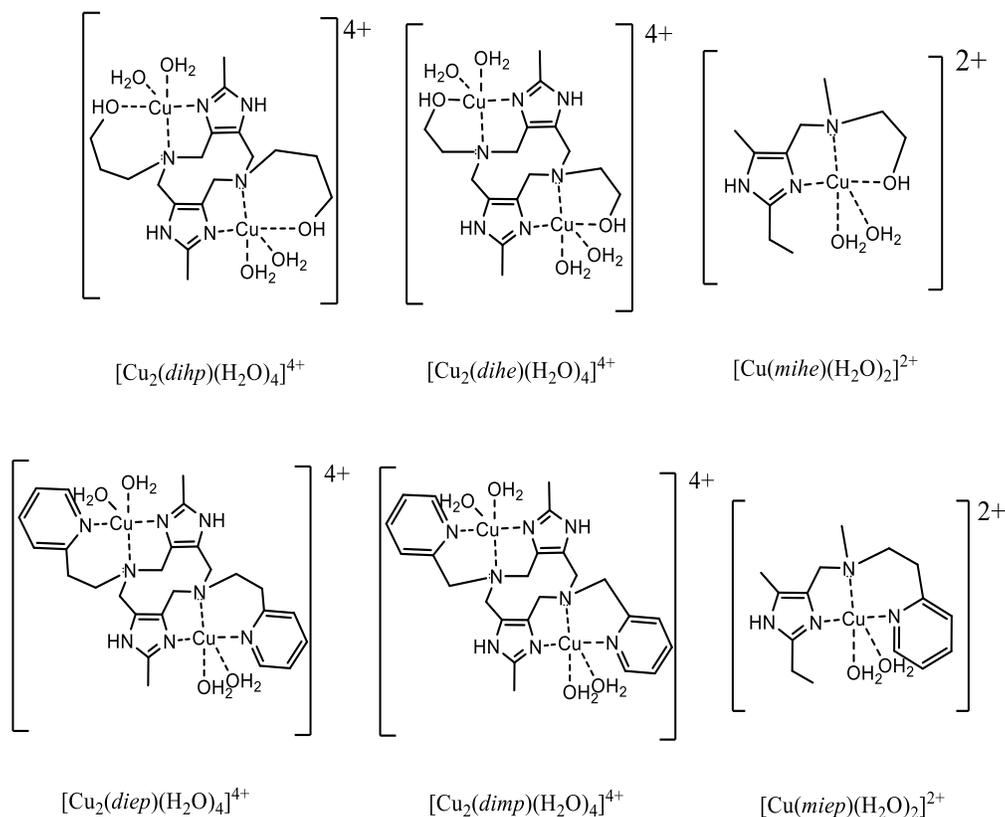
**Esquema 3.1.1.** Acoplamiento oxidativo del 2,6-dimetilfenol catalizado por nuestros compuestos bioinspirados de Cu(II). Las condiciones experimentales  $[DMP]=0.02\text{ M}$ ,  $[Cu_2L]=0.0005\text{ M}$ ,  $[CuL]=0.001\text{ M}$ ,  $[TEA]=0.02\text{ M}$  a  $25^\circ\text{C}$ .

En el caso de las reacciones oxidativas que son catalizadas por los complejos mononucleares de Cu(II) se añade una cantidad doble en comparación con sus análogos dinucleares, con el propósito de mantener constante en todas las reacciones catalíticas la cantidad de cationes metálicos de Cu(II). A pesar de que los complejos de Cu(II) del grupo de investigación catalizan selectivamente la polimerización del DMP, también se forma una pequeña y tal vez despreciable cantidad del producto de acoplamiento C-C, cuya determinación se realizó mediante espectrofotometría UV-Vis en el que se encontró que la cantidad de producto de acoplamiento C-C es de aproximadamente entre 2 y 3%.

### 3.1.1 Efecto de la variación del catalizador

La evaluación de la actividad catalítica de los complejos de cobre (II) del grupo de investigación en el proceso de polimerización se realiza mediante la cuantificación del producto sólido obtenido, es decir con el rendimiento de la reacción de polimerización. Los catalizadores protagonistas se pueden observar nuevamente en la figura 3.1.1, cuyas características, semejanzas y diferencias estructurales se discutieron en la sección 1.2.3. Dichos catalizadores de Cu(II) observados en la figura 3.1.1 corresponden únicamente a precursores catalíticos, ya que se espera que las especies activas encargadas de catalizar selectivamente la reacción de polimerización en el medio MeCN/H<sub>2</sub>O sean las especies

hidrolizadas de estos complejos bioinspirados de Cu(II) formadas *in situ* debido al pH básico que impone el 2,6-dimetilfenolato que se forma al momento de añadir la TEA.



**Figura 3.1.1.** Complejos bioinspirados de Cu(II) protagonistas en el acoplamiento oxidativo del 2,6-dimetilfenol.

De manera global cada una de las reacciones catalíticas se realiza por triplicado en el sistema de inyección de aire continuo. Las observaciones generales experimentales de las reacciones catalíticas son las siguientes:

- Al inicio todas las mezclas de reacción son homogéneas y con una coloración verdosa, que varía ligeramente dependiendo del catalizador que se utilice. Hasta después de un par de horas, las mezclas de reacción donde los complejos de Cu(II) con los ligantes *diep*, *dimp*, *mihe* y *miep* son los catalizadores, se comienza a observar turbidez en la mezcla de reacción. Para los complejos con los ligantes *dihe* y *dihp* la turbidez se empieza a observar hasta después de ocho horas.

- En todas las reacciones catalíticas se obtienen productos de color verde. Estos sólidos de coloración verdosa son sometidos a un proceso de purificación, ya que el producto de polimerización es un sólido de color blanco.

El polímero derivado del 2,6-dimetilfenol presenta una alta solubilidad en disolventes no polares como tolueno y cloroformo, por el contrario, es totalmente insoluble en disolventes polares como acetonitrilo, agua, metanol y etanol. Esta información resulta de gran utilidad para el proceso de purificación del polímero, puesto que dicho proceso solo consiste en: disolver el producto en cloroformo o tolueno para quitar todas las impurezas sólidas, para posteriormente precipitar el polímero con metanol y unas gotas de EDTA al 5% m/v para finalmente filtrar y secar a vacío.

Después de la purificación de todos los productos de polimerización, el siguiente paso es calcular el % de rendimiento de cada una de las reacciones catalíticas; cuyo valor se calcula de la siguiente manera:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{masa del polímero obtenido (g)}}{\text{masa del monómero usado (g)}} * 100$$

En la tabla 3.1.1 se muestran los valores promedio del % de rendimiento obtenido de las reacciones de polimerización catalizadas por los diferentes complejos bioinspirados de Cu(II).

**Tabla 3.1.1.** % de rendimiento de la reacción de polimerización catalizada por los complejos bioinspirados de cobre Cu(II) a 24 horas. [Cat]= $5 \times 10^{-4}$  M [DMP]=0.02M y [TEA]=0.02M en MeCN/H<sub>2</sub>O a 25°C.

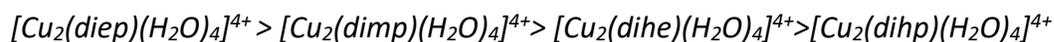
Catalizador	Rendimiento (%)
$[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$	31.5
$[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$	21.4
$[Cu(mihe)(H_2O)_2]^{2+}$	45.6
$[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$	46.2
$[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$	50.2
$[Cu(miep)(H_2O)_2]^{2+}$	36.7

Para analizar los diferentes resultados que se observan en la tabla 3.1.1. Se van a sistematizar de la siguiente manera:

- Comparación de porcentaje de rendimiento entre complejos dinucleares de Cu(II)
- Comparación de rendimiento entre los complejos dinucleares de Cu(II) con sus análogos mononucleares de Cu(II)

### 3.1.1.1 Comparación de porcentaje de rendimiento entre complejos dinucleares de Cu(II)

Al comparar los porcentajes de rendimiento de la reacción de polimerización que se encuentran en la tabla 3.1.1, se puede observar la siguiente tendencia:



Sin tomar en cuenta las moléculas de agua coordinadas al catión metálico para fines comparativos y sin olvidar que las especies hidrolizadas son quienes catalizan la reacción de polimerización, solo nos centraremos en los átomos donadores que aportan los ligantes y en el tamaño del segundo anillo quelato para dar una posible explicación a los diferentes valores de rendimiento de la reacción de polimerización.

Los complejos de Cu(II) donde el catión metálico se encuentra enlazado a solamente átomos de nitrógeno (*N*-imidazol, *N*-diazecina y *N*-piridina) que proporcionan los ligantes *dimp* y *diep*, resultan ser más activos, ya que se obtiene una mayor cantidad de producto de polimerización en comparación con los complejos de Cu(II) donde el catión metálico se encuentra enlazado a oxígeno y nitrógeno (*N*-imidazol, *N*-diazecina y *O*-alcohol) que proporcionan los ligantes *dihe* y *dihp*. A pesar de que no se conoce con certeza el mecanismo catalítico de esta reacción oxidativa, una posible explicación ante esta diferencia puede derivarse de factores electrónicos del tercer diente del ligante. En el caso de los complejos  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$  el tercer diente es una piridina, mientras que para los complejos  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$  el grupo -OH es el tercer diente. La piridina al ser un ligante aceptor  $\pi$  retira densidad electrónica del centro metálico, haciéndolo un centro más duro, provocando que exista una mejor interacción

entre el centro metálico y el 2,6-dimetilfenolato. Debido a esta buena interacción, la transferencia electrónica entre el complejo dinuclear de Cu(II) y el sustrato aniónico, resulte ser un proceso más favorable y rápido produciendo un mayor número de intermediarios adecuados que conduzcan a la formación del polímero en comparación con los centros metálicos de Cu(II) unidos a grupos -OH provenientes de alcoholes con características únicamente donadoras  $\sigma$ .

Por otra parte, nos centramos en el tamaño del tercer brazo del ligante. En el caso de los complejos  $[Cu_2(diép)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$ , el complejo de Cu (II) con *diép* catalogado como “cerrado largo” presenta una actividad ligeramente superior en comparación con su análogo “cerrado corto” *dimp*. Aunque la diferencia no es tan notable, esta puede atribuirse a que un anillo quelato de seis miembros le proporciona mayor flexibilidad al complejo, contribuyendo a la facilidad de cambio de geometría de octaédrica elongada preferida por el Cu(II) a una tetraédrica distorsionada preferida por el Cu(I), en el proceso de reducción. Por el contrario, en el caso de los complejos  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$  el complejo de Cu(II) con el ligante *dihp* “cerrado largo” muestra una menor actividad catalítica en la polimerización oxidativa en comparación con el complejo de Cu (II) con el ligante *dihe*, su análogo corto. Para este caso, se podría proponer que el ligante *dihp* a pesar de ser un ligante “cerrado largo”, el proceso de cambio de geometría de octaédrica elongada a tetraédrica distorsionada no resulte ser un proceso sencillo como el caso anterior, sumándole además de que la preferencia del Cu(I) a coordinarse al grupo-OH sería desfavorable.

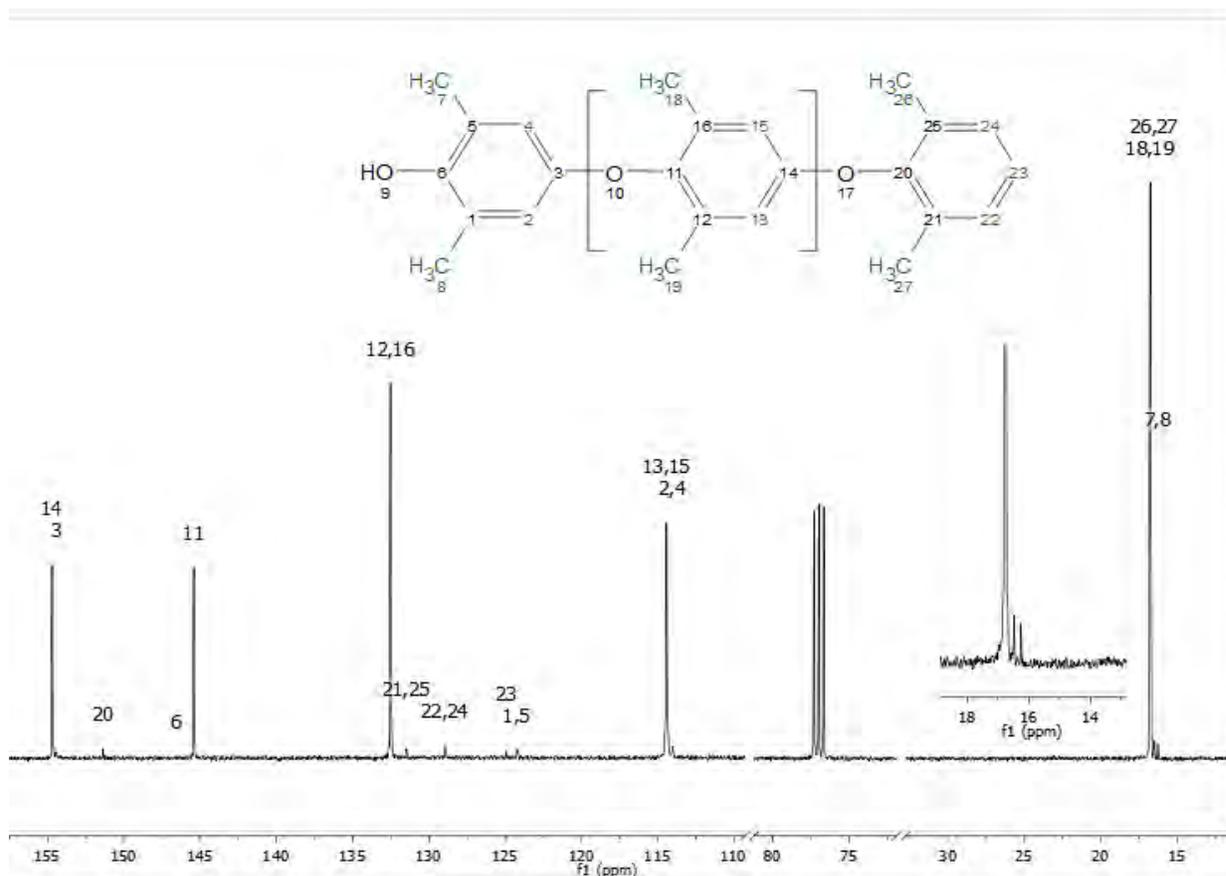
### 3.1.1.2 Comparación en el porcentaje de rendimiento entre complejos dinucleares de Cu(II) y sus análogos mononucleares de Cu(II)

En la reacción de acoplamiento oxidativo del 2,6-dimetilfenol catalizada por el complejo dinuclear  $[Cu_2(diép)(H_2O)_4]^{4+}$  se obtiene una mayor cantidad de producto de polimerización en comparación con su análogo mononuclear  $[Cu(miép)(H_2O)_2]^{2+}$ . En este caso, la presencia del segundo catión metálico de Cu(II) en el complejo  $[Cu_2(diép)(H_2O)_4]^{4+}$  hace diferencia en el proceso oxidativo. Este resultado es totalmente esperado, basado únicamente en los estudios de actividad catecolasa en el que se demuestra que los complejos mononucleares de Cu(II) son mucho menos eficientes que sus análogos dinucleares de Cu(II)<sup>24</sup>. Sin embargo, la explicación de la influencia del segundo catión metálico en los complejos dinucleares en los procesos catalíticos no se ha podido resolver completamente. En este caso la presencia del segundo catión metálico en los complejos dinucleares mejora las propiedades electroceptoras para poder tener una mayor interacción con el 2,6-dimetilfenolato<sup>25</sup>.

En el caso del complejo mononuclear  $[Cu(mihe)(H_2O)_2]^{2+}$  no sigue la misma tendencia; este complejo resultó ser más activo en el proceso oxidativo que su análogo dinuclear  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$ . Al parecer en este caso la presencia del segundo catión metálico de Cu(II) en el complejo  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$  no influye significativamente en la cantidad de polímero obtenido en el proceso oxidativo.

La caracterización del producto de polimerización obtenido con cada catalizador se realiza mediante  $^1H$  y  $^{13}C$ -RMN. A continuación, se describen los resultados obtenidos de dicha caracterización.

En la figura 3.1.2 se muestra un solo espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN puesto que todos los espectros muestran señales con desplazamientos químicos similares. El espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN nos permite identificar con certeza que el sólido obtenido corresponde al producto de polimerización.



**Figura 3.1.2.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (400 MHz) en  $(\text{CDCl}_3)$  a  $25^\circ\text{C}$  del producto de polimerización obtenido de la reacción catalizada por  $[\text{Cu}_2\text{dihe}]^{4+}$  con sus respectivas asignaciones.

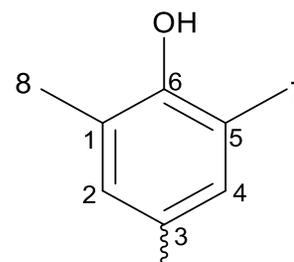
El polímero derivado del DMP se divide en cabeza, cuerpo y cola. La cabeza corresponde a un DMP sustituido en la posición *para* del anillo aromático, mientras que el cuerpo del polímero corresponde a todos los monómeros enlazados por oxígeno y la posición *para* del anillo aromático y por último, la cola del producto de polimerización es un DMP que se enlaza por el átomo de oxígeno a la posición *para* de otro anillo perteneciente al cuerpo del polímero. El monómero de la cola mantiene el H de la posición *para* del anillo.

Esta descripción es necesaria debido a que en el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN se observan las señales que corresponden a dichos segmentos de la cadena polimérica. El experimento se llevó a cabo disolviendo el producto en  $\text{CDCl}_3$ . En las tablas 3.1.2, 3.1.3 y 3.1.4 se resume el desplazamiento químico de las señales que corresponden a cada uno de los segmentos del producto de polimerización.

### Cabeza

**Tabla 3.1.2.** Asignación y desplazamientos químicos ( $\delta$ ) para el espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  (400 Hz) en  $\text{CDCl}_3$  a  $25^\circ\text{C}$  de la cabeza de la cadena.

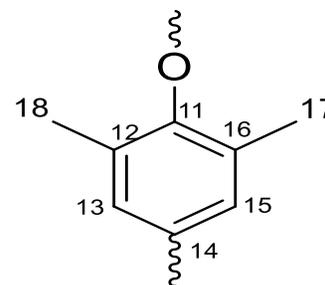
Asignación	$\delta$ (ppm)
$-\text{CH}_3$ (7,8)	16.25
C orto del anillo (1,5)	124.24
C meta del anillo (2,4)	114.01
C para del anillo (3)	154.42
C sustituido por el - OH(6)	146.6



### Cuerpo

**Tabla 3.1.3.** Asignación y desplazamientos químicos ( $\delta$ ) para el espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  (400 Hz) en  $\text{CDCl}_3$  a  $25^\circ\text{C}$  del cuerpo de la cadena.

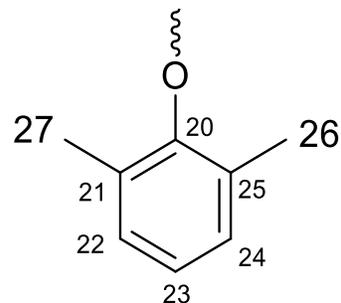
Asignación	$\delta$ (ppm)
$-\text{CH}_3$ (18,17)	16.77
C orto del anillo (12,16)	132.53
C meta del anillo (13,15)	114.43
C para del anillo (14)	154.70
C sustituido por el -OR (11)	145.41



**Cola**

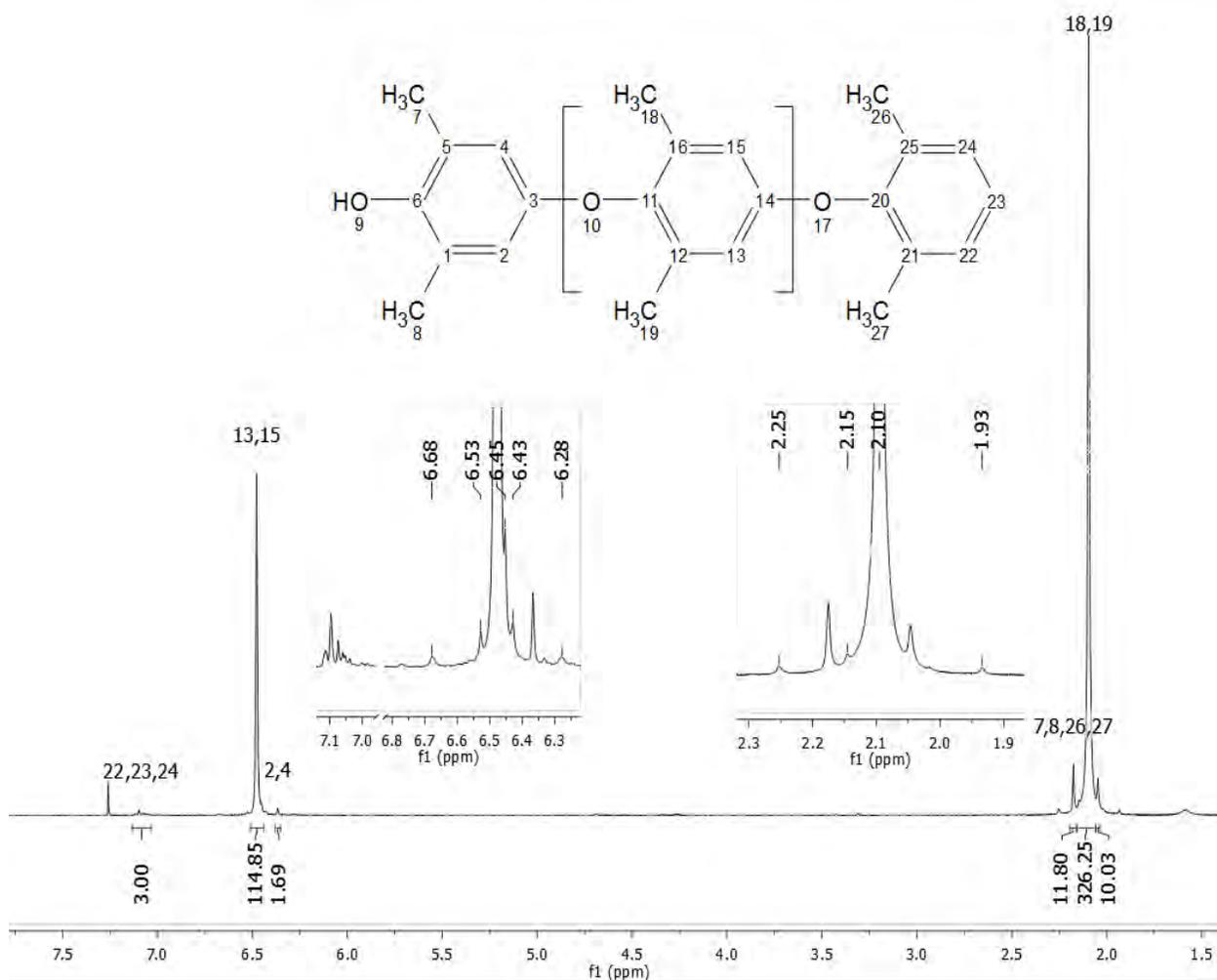
**Tabla 3.1.4.** Asignación y desplazamientos químicos ( $\delta$ ) para el espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  (400 Hz) en  $\text{CDCl}_3$  a  $25^\circ\text{C}$  de la cola de la cadena.

Asignación	$\delta$ (ppm)
$-\text{CH}_3$ (26,27)	16.48
C orto del anillo (21,25)	131.48
C meta del anillo (22,24)	128.94
C para del anillo (23)	124.91
C sustituido por el $-\text{OR}$ (20)	151.37



La señal que aparece en 76.99 ppm corresponde al  $\text{CDCl}_3$ . Nótese que las señales que corresponden al cuerpo de la cadena son más intensas por tener un número mayor de átomos de carbono en comparación con las señales que corresponden a la cabeza y cola de la cadena polimérica.

De igual manera que en el caso anterior, solo se muestra un espectro RMN de  $^1\text{H}$  representativo debido a que todos los espectros muestran señales con los mismos desplazamiento químicos. Los espectros  $^1\text{H}$ -RMN confirman que el producto obtenido corresponde al producto de acoplamiento C-O, ya que se observan señales características de la cabeza, cuerpo y cola del polímero. En la figura 3.1.3 se muestran las asignaciones de cada una de las señales y en las tablas 3.1.5, 3.1.6 y 3.1.7 se resume el desplazamiento químico y multiplicidad de las señales.

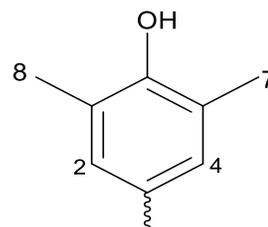


**Figura 3.1.3.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) en  $(\text{CDCl}_3)$  a  $25^\circ\text{C}$  del producto obtenido por  $[\text{Cu}_2\text{dihe}]^{4+}$  con su asignación.

### Cabeza

**Tabla 3.1.5.** Asignación, multiplicidad, desplazamientos químicos ( $\delta$ ) para el espectro de RMN- $^1\text{H}$  (400 Hz) en  $\text{CDCl}_3$  a 25°C de la cabeza de la cadena.

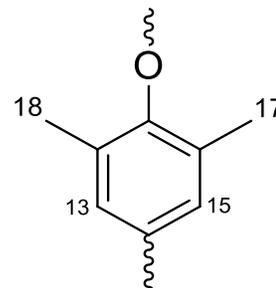
Asignación	Multiplicidad	$\delta$ (ppm)
-CH <sub>3</sub> (7,8)	Singulete	2.18
-CH- de la posición <i>meta</i> del anillo (2,4)	Singulete	6.37



### Cuerpo

**Tabla 3.1.6.** Asignación, multiplicidad, desplazamientos químicos ( $\delta$ ) para el espectro de RMN- $^1\text{H}$  (400 Hz) en  $\text{CDCl}_3$  a 25°C de la cabeza de la cadena.

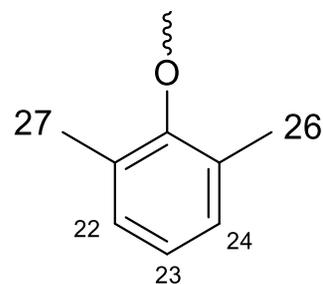
Asignación	Multiplicidad	$\delta$ (ppm)
-CH <sub>3</sub> (18,17)	Singulete	2.10
-CH- de la posición <i>meta</i> del anillo. (13,15)	Singulete	6.48



### Cola

**Tabla 3.1.7.** Asignación, multiplicidad, desplazamientos químicos ( $\delta$ ) para el espectro de RMN- $^1\text{H}$  (400 Hz) en  $\text{CDCl}_3$  a 25°C de la cabeza de la cadena.

Asignación	Multiplicidad	$\delta$ (ppm)
-CH <sub>3</sub> (26,27)	Singulete	2.18
-CH- de la posición <i>meta</i> y <i>para</i> del anillo. (22,23,24)	Multiplete	7.09



En las tablas 3.1.5 y 3.1.7 se puede observar que las señales que aparecen en 2.18 ppm corresponden a los metilos tanto de la cabeza como de la cola del polímero; esta asignación es sustentada por un análisis bidimensional HMBC. El singulete que aparece alrededor de 2.05 ppm cuya integración es menor a 12 pueden ser asignado a 4 -CH<sub>3</sub> que correspondan a un monómero contiguo a la cabeza y al penúltimo de la cadena. Por último, la señal que aparece en 6.45 ppm corresponde a monómeros que forman parte del cuerpo de la cadena.

Las señales que aparecen en 7.26 ppm corresponden al hidrógeno metílico de CHCl<sub>3</sub> y en 1.58 ppm a hidrógenos de moléculas de agua. Otras señales que aparecen en 1.93, 2.25, 6.28, 6.43, 6.53, 6.68 ppm corresponden a señales satélite.

La parte fundamental del análisis por resonancia magnética nuclear de <sup>1</sup>H no es solo identificar el producto de polimerización, sino mediante la integración de las señales correspondientes a la cabeza, cuerpo y cola, podemos determinar la longitud de cadena del producto polimérico.

La única variante en todos los espectros de <sup>1</sup>H-RMN es la intensidad de las señales que corresponde al cuerpo de la cadena, ya que los productos de polimerización obtenidos presentan diferentes longitudes de cadena.

La integración de las señales que corresponden a la cabeza y cola del polímero, en la región de los H-aromáticos es de 2 (6.37 ppm) y 3 (7.09 ppm), respectivamente. En la tabla 3.1.8 se muestra la integración de exclusivamente las señales del cuerpo.

**Tabla 3.1.8.** Valores % de rendimiento y de longitud de la cadena determinado mediante la integración de las señales de  $^1\text{H-RMN}$

Catalizador	Asignación	Integración	# de monómeros del cuerpo	Longitud de cadena total	Rendimiento (%)
$[\text{Cu}_2(\text{dihe})(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$	-CH <sub>3</sub> -CH- (posición <i>meta</i> )	229 81	38 40	41-42	31.5
$[\text{Cu}_2(\text{dihp})(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$	-CH <sub>3</sub> -CH- (posición <i>meta</i> )	189 64	31 32	34-35	21.4
$[\text{Cu}(\text{mihe})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$	-CH <sub>3</sub> -CH- (posición <i>meta</i> )	122 38	20 19	21-24	45.6
$[\text{Cu}_2(\text{dimp})(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$	-CH <sub>3</sub> -CH- (posición <i>meta</i> )	158 53	26 26	28-30	46.2
$[\text{Cu}_2(\text{diep})(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$	-CH <sub>3</sub> -CH- (posición <i>meta</i> )	129 44	21 22	24-25	50.2
$[\text{Cu}(\text{miep})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$	-CH <sub>3</sub> -CH- (posición <i>meta</i> )	66 22	11	13	36.7

Para analizar los resultados de la tabla 3.1.8, la comparación de dichos resultados se realiza de la siguiente manera:

- Longitud de cadena entre complejos dinucleares de Cu(II)
- Longitud de cadena entre los complejos dinucleares de Cu(II) con sus análogos mononucleares de Cu(II).

### 3.1.1.3 Comparación de la longitud de cadena del polímero obtenido entre complejos dinucleares de Cu(II)

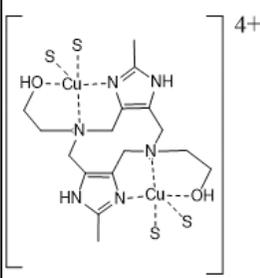
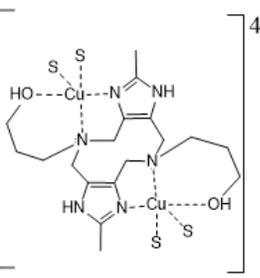
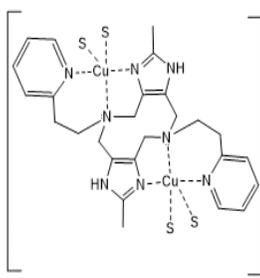
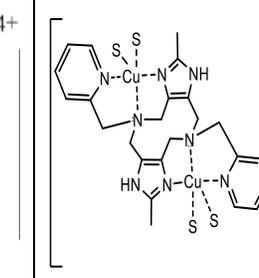
En la tabla 3.1.8 se puede observar que al utilizar el complejo dinuclear  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$  como catalizador en la reacción de polimerización se obtiene un polímero más extenso comparado con los polímeros que se obtienen de las reacciones catalizadas por los otros complejos dinucleares de Cu(II), con una extensión de cadena de 41-42 unidades. Posteriormente le sigue el producto de polimerización obtenido de la reacción catalizada por el complejo análogo  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$  ya que este polímero posee una longitud de cadena de 34-35 unidades monoméricas.

Al utilizar los complejos  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$  como catalizadores se obtienen polímeros que poseen longitudes de cadena más cortas en comparación con los complejos  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$ ; siendo el complejo dinuclear  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  el que produce un polímero de mayor longitud de cadena con 28-30 unidades monoméricas en comparación con su análogo  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$  en el que se obtiene un polímero con aproximadamente 24-25 unidades monoméricas. De esta manera, los catalizadores con ligantes denominados “cerrados cortos” conducen a obtener productos de polimerización con más unidades monoméricas en comparación a sus análogos “cerrados largos”.

De los resultados que se encuentran en la tabla 3.1.8 se puede observar una relación inversa entre el rendimiento de la reacción oxidativa y la longitud de la cadena polimérica, puesto que en las reacciones catalizadas por  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$  se obtienen bajos rendimientos del proceso de polimerización, pero el polímero obtenido posee una longitud de cadena más larga, mientras que el rendimiento de los procesos

oxidativos catalizados por los complejos  $[Cu_2(diép)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  son altos pero el polímero producido posee una longitud de cadena con menos unidades monoméricas. Una de las posibles explicaciones de este fenómeno podría estar asociado a la estabilidad y labilidad precisamente del tercer diente. En la tabla 3.1.9 se puede observar que la diferencia en las constantes de estabilidad globales; cuyos valores dependen de la naturaleza del tercer diente; siendo los complejos dinucleares  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(diép)(H_2O)_4]^{4+}$  más estables que los complejos  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$ .

**Tabla 3.1.9.** Constantes de estabilidad global de los complejos dinucleares de Cu(II)

	$[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$	$[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$	$[Cu_2(diép)(H_2O)_4]^{4+}$	$[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$
				
Log β	10.82	9.91	19.07	18.63

La baja estabilidad del tercer diente –OH en los complejos  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$  puede considerarse como una vacante más, ya que un anión 2,6-dimetilfenolato podría sustituir al tercer diente –OH y coordinarse al centro metálico. Por lo que de alguna manera dos o más iones 2,6-dimetilfenolato estarían participando en el mismo centro metálico, que posteriormente conduzcan a la formación de un intermediario más extenso y por ende a un polímero con una mayor longitud de cadena. Caso contrario, con los complejos  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(diép)(H_2O)_4]^{4+}$  en el que el tercer diente piridínico se encuentra enlazado fuertemente al centro metálico, el cual no podría ser sustituido por un anión 2,6-dimetilfenolato y producir un intermediario que conduzca a la formación del producto de polimerización de longitud de cadena más corta.

#### 3.1.1.4 Comparación de longitud de cadena entre los complejos dinucleares de Cu(II) con sus análogos mononucleares de Cu(II).

Desde un principio se proponía que la actividad catalítica de los complejos mononucleares de Cu(II) en la reacción de polimerización resultaría ser baja en comparación con sus análogos dinucleares de Cu(II) basados únicamente en los estudios de actividad catecolasa de algunos complejos mononucleares y dinucleares de Cu(II) del grupo de investigación. Esta analogía no se puede extrapolar completamente a la reacción de polimerización del DMP, puesto que para el complejo mononuclear  $[Cu(mihe)(H_2O)_2]^{2+}$  se obtiene una mayor cantidad de producto de polimerización en comparación con su análogo dinuclear  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$ . Una de las posibles justificaciones de este fenómeno recae en la longitud de cadena del polímero, ya que al utilizar el complejo dinuclear de Cu(II) se obtiene un menor rendimiento, pero un polímero con más unidades monoméricas, mientras que al utilizar el complejo mononuclear se obtiene un mayor rendimiento, pero un polímero con una menor longitud de cadena. De esta manera la presencia del segundo catión metálico de Cu(II) del complejo dinuclear solo nos beneficia en cuestiones de longitud de cadena.

En contraste, para los complejos donde el tercer diente es un grupo piridínico, tanto la cantidad de producto de polimerización obtenido como la longitud de cadena es mayor cuando se utiliza el complejo dinuclear  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$  en la reacción catalítica que al utilizar su análogo mononuclear  $[Cu(miép)(H_2O)_2]^{4+}$ . En este caso la presencia del segundo catión metálico beneficia tanto en cantidad como en longitud de cadena del producto de polimerización.

### 3.1.2 Variación en las condiciones de la reacción de polimerización del 2,6-dimetilfenol

En esta sección se presentan los resultados de la variación en las condiciones de: relación [Sustrato]: [Catalizador], medio de reacción MeCN:H<sub>2</sub>O y temperatura de la reacción de polimerización catalizada por el complejo  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$ . La finalidad de modificar estas variables fue buscar un aumento en el rendimiento y en la longitud de cadena en comparación con el polímero obtenido de la reacción catalizada como se describe en la sección 3.1.1. La elección de utilizar únicamente  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$  como catalizador para estos estudios, se debe a que el producto obtenido utilizando este catalizador posee más unidades monoméricas en comparación con los polímeros obtenidos de las reacciones de catalizadas por los otros compuestos de Cu(II). En la tabla 3.1.10 se muestran los resultados obtenidos de este estudio. Todos los experimentos se realizaron por triplicado en el sistema de inyección de aire continuo, descrito anteriormente. El cálculo del rendimiento de la reacción de polimerización se realiza de igual manera que en la sección 3.1.1.2 y en cuanto a la determinación de la longitud de la cadena polimérica se realiza mediante <sup>1</sup>H-RMN.

**Tabla 3.1.10.** Optimización de la reacción de polimerización del 2,6-DMP catalizada por el complejo  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$  variando las condiciones de temperatura, relación MeCN/H<sub>2</sub>O y relación [Sustrato]:[Catalizador]

Medio	% Cat. en mol	Temperatura (°C)	Rendimiento (%)	Longitud de la cadena
MeCN/H <sub>2</sub> O(1:1)	5	25	20.9	28
MeCN/H <sub>2</sub> O(1:1)	2.5	25	31.5	41-42
MeCN/H <sub>2</sub> O(1:1)	2.5	35	49.4	26-27
MeCN/H <sub>2</sub> O(1:1)	2.5	45	34.6	34-36
MeCN/H <sub>2</sub> O(3:1)	2.5	35	6.7	21
MeCN/H <sub>2</sub> O(1:3)	2.5	35	-	-

### 1.3.2.1 Variación de la relación [DMP]:[Catalizador].

El efecto de variar la relación [Sustrato]:[Catalizador] resulta ser favorable en un valor de 40:1, ya que al utilizar una relación 20:1 se observa una disminución en el rendimiento del proceso oxidativo en aproximadamente 10% sumado a que la longitud de la cadena polimérica del producto se acorta en 14 unidades con respecto al producto de polimerización que se obtiene cuando se usa la relación 40:1 [sustrato]:[catalizador]. Al no observar una mejora en el rendimiento de la reacción y longitud de cadena del polímero; la relación [sustrato]: [catalizador] 40:1 se mantiene para las siguientes pruebas. Cabe mencionar que también se realizó una prueba de relación 60:1 [Sustrato]: [Catalizador] (aumentando la cantidad de sustrato); sin embargo, se decidió no continuar con este experimento, ya que al momento de añadir TEA a la disolución de DMP rápidamente se observa un aumento en la tonalidad amarillenta en la mezcla de la reacción, señal de la rápida formación del producto de acoplamiento C-C.

### 1.3.2.2 Variación de la temperatura

En esta sección se analizan los cambios en el rendimiento de la reacción de polimerización y en la longitud de la cadena polimérica al incrementar la temperatura a 35 y 45°C de la reacción catalítica. En la tabla 3.1.10 se puede observar que a 35°C aumenta la cantidad de producto de polimerización en aproximadamente 18% en comparación con los resultados obtenidos a 25°C. Sin embargo, la longitud de cadena del polímero disminuye en 15 unidades monoméricas.

Por el contrario, si aumentamos 10 °C más la temperatura de la reacción catalítica (45°C) se observa una disminución de 14.8% en el rendimiento de la reacción, pero la longitud de la cadena polimérica aumenta en 9 unidades con respecto a los resultados que se obtienen a 35°C. Ahora, si estos resultados obtenidos a 45°C los comparamos con los resultados a 25°C se observa una ganancia en aproximadamente del 3.1% en cuestiones de rendimiento, pero la longitud de cadena del polímero obtenido disminuye en 6 unidades.

Al parecer el papel que desempeña variar la temperatura en esta reacción oxidativa, es un juego entre un aumento en el rendimiento de la reacción de polimerización y una disminución en la longitud de cadena del producto polimérico, y viceversa. Debido a que solo se logró un aumento en el rendimiento del proceso oxidativo a 35°C, esta temperatura de reacción se mantiene para la siguiente y última prueba.

### 1.3.2.3 Variación del medio MeCN:H<sub>2</sub>O

Por último, se estudia el efecto que se produce en la reacción catalítica al variar la cantidad de agua o de acetonitrilo del medio de reacción. Las modificaciones involucran un aumento en la proporción de acetonitrilo en un caso y en otro, un aumento en la proporción de agua. Los resultados obtenidos de estas pruebas no son nada favorables, ya que en el primer caso donde se aumenta la cantidad de acetonitrilo MeCN:H<sub>2</sub>O (3:1), el rendimiento baja dramáticamente de 49.4% (relación de MeCN:H<sub>2</sub>O a 35°C) a 7.4%. La posible explicación ante esta disminución drástica, se debe a la presencia de un precipitado de color verde en el medio de reacción; este sólido verde podría ser identificado como el complejo  $[Cu_2(dihe)(OH)_4]$  causando que en el medio exista solo una pequeña fracción de la especie activa capaz de catalizar la reacción de polimerización. Sin embargo, la modificación que produce esta variación sobre la longitud de la cadena polimérica no es tan drástica ya que solo se observa un decremento de 6 unidades, con respecto al polímero que se obtiene en el medio de reacción MeCN:H<sub>2</sub>O 1:1 a 35°C.

En cuanto a la reacción catalítica donde el agua se encuentra en mayor proporción (medio MeCN:H<sub>2</sub>O es 1:3) no hay mucho de qué discutir ya que no se obtiene absolutamente nada; únicamente se obtiene un sólido negro (CuO). Al parecer las condiciones de pH que se establecen cuando hay una mayor cantidad de agua en el medio de reacción y un aumento en la temperatura favorecen la destrucción del catalizador.

Los estudios descritos anteriormente comprueban que las condiciones más adecuadas para obtener los mejores resultados de la reacción de polimerización catalizada usando complejo  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$  son: relación 40:1 [Sustrato]: [Catalizador] y relación del medio MeCN:H<sub>2</sub>O 1:1.

Como el mejor rendimiento para el catalizador  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$  se obtuvo a 35°C, con una relación 40:1 [Sustrato]: [Catalizador] y relación del medio MeCN:H<sub>2</sub>O 1:1, se llevaron a cabo las reacciones de polimerización con el resto de los catalizadores, bajo estas condiciones.

**Tabla 3.1.11.** % de rendimiento de la reacción de polimerización catalizada por los complejos bioinspirados de Cu(II) y longitud de la cadena del polímero obtenida a 25 y 35°C.

Entrada	Catalizador	25°C		35°C	
		Rendimiento (%)	Longitud de la cadena	Rendimiento (%)	Longitud de la cadena
1	$[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$	31.5	41-42	49.4	26-27
2	$[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$	21.4	34-35	33.5	37-38
3	$[Cu(mihe)(H_2O)_2]^{2+}$	45.6	21-24	57.8	41-43
4	$[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$	46.2	28-30	55.5	46-48
5	$[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$	50.2	24-25	40	39-40
6	$[Cu(miep)(H_2O)_2]^{2+}$	36.7	13	30	20-21

En la tabla anterior se puede observar que un aumento de 10°C en las reacciones oxidativas donde los complejos  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$ ,  $[Cu(mihe)(H_2O)_2]^{2+}$  y  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  son los catalizadores conlleva a un mejor rendimiento y una mayor longitud de la cadena. Este aumento es más notorio en las reacciones catalizadas por los complejos  $[Cu(mihe)(H_2O)_2]^{2+}$  y  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  ya que la cadena de los productos

poliméricos aumenta en aproximadamente 20 unidades monoméricas, mientras que en cuestiones de rendimiento de la reacción se observa un aumento de 12.2 % y 9.3%, respectivamente.

En cuanto a la reacción catalizada por el complejo  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$  un aumento en la temperatura hace que se obtenga un polímero con 3 unidades monoméricas más en comparación con el polímero que se obtiene a 25°C, mientras que el rendimiento de la reacción aumenta en aproximadamente 12.1% . Finalmente, al utilizar el complejo  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$  en la reacción de polimerización, se observa una disminución en el rendimiento de la reacción en un 10%, pero un aumento en la longitud de cadena de aproximadamente 15 unidades con respecto al polímero que se obtiene a una temperatura de 25°C.

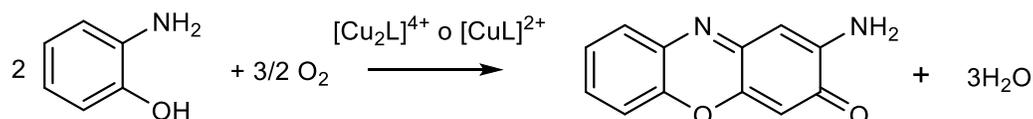
Con el aumento de la temperatura en las reacciones catalíticas solo se logró obtener un polímero de aproximadamente 46-48 unidades monoméricas en un rendimiento del 55.5% utilizando el complejo  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  como catalizador, superando los resultados obtenidos de la reacción catalítica cuando se utiliza el complejo dinuclear  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$  como catalizador a 25 y 35°C .

En la sección de los antecedentes se menciona que un polímero de peso molecular entre  $10000 < M_n < 40\ 000$  es el adecuado para la fabricación de productos de interés industrial. Sin embargo, con ninguno de nuestros catalizadores se logra alcanzar un valor de  $M_n$  que se encuentre dentro del intervalo anterior. Si recurrimos a la información que nos proporciona la técnica de  $^1H$ -RMN. La masa molecular del polímero obtenido en la reacción catalítica donde se obtuvo la mayor longitud de cadena es utilizando  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  como catalizador; cuyo valor es de  $M_n = 5762$  g/mol (46-48 unidades).

Sin embargo se sabe que los polímeros tipo PPO con menor longitud de cadena, (entre 10 y 40 unidades, con masas molares entre 1000 y 5000g/mol) son útiles en la elaboración de ciertos composites poliméricos<sup>68</sup>.

### 3.2 Acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol

Desde hace aproximadamente 2 décadas, los estudios relacionados con la actividad fenoxazinona sintasa de sistemas modelos de Co (II) y (III), Mn (II) y (III), Fe(II) y Cu(II) han ido en aumento. Hasta el año pasado, se han encontrado más reportes sobre sistemas modelos de manganeso y cobalto que presentan actividad fenoxazinona sintasa, que de complejos de Cu(II) que catalizan este proceso oxidativo, a pesar de que desde el año 2006<sup>48</sup> fue revelada la estructura cristalina de la enzima fenoxazinona sintasa, cuyos sitios activos contienen cationes metálicos de Cu(II).



**Esquema 3.2.1.** Acoplamiento oxidativo de 2-aminofenol catalizada por los complejos bioinspirados del grupo de investigación.

En nuestro grupo de investigación, uno de los propósitos es evaluar la actividad fenoxazinona sintasa de los complejos bioinspirados de Cu(II) (los mismos que se utilizaron en la reacción de polimerización del DMP) a pesar de que estos complejos bioinspirados de Cu(II) no sean buenos modelos estructurales del sitio activo de la enzima fenoxazinona sintasa. La evaluación de la actividad catalítica se realiza mediante la reacción de acoplamiento oxidativo del sustrato modelo 2,6-aminofenol (OAP) para producir la respectiva 2-amino-3H-fenoxazin-3-ona (esquema 3.2.1), cuya característica relevante es que presenta color en disolución metanólica, por lo que su estudio puede realizarse mediante espectroscopia UV-Vis.

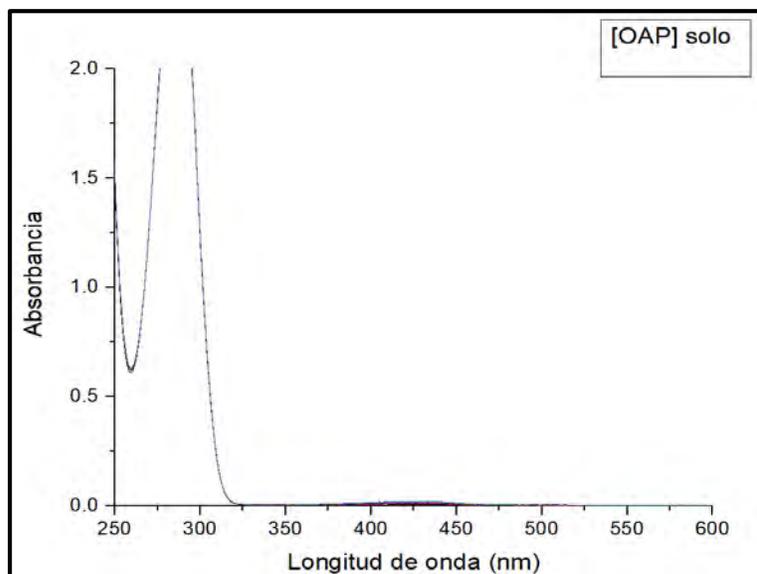
### 3.2.1 Estudios preliminares de actividad fenoxazinona sintasa de los complejos bioinspirados de Cu(II)

Para adentrarnos en la reacción de acoplamiento del 2-aminofenol primeramente, se realiza la exploración de la actividad fenoxazinona sintasa de nuestros complejos mediante espectrofotometría UV-Vis. Estos estudios preliminares consisten en seguir el crecimiento de la banda en  $\lambda_{\text{max}}=430$  nm (característico de la 2-amino-3*H*-fenoxazin-3-ona) durante 60 min.

Cada uno de los experimentos se realizan de la siguiente manera:

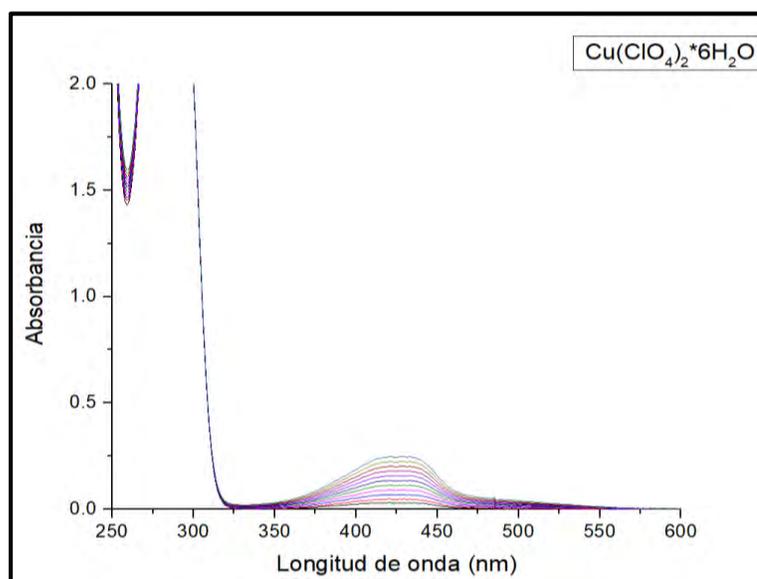
- Relación [Sus]:[Cat] = 100:1 ; [Sus]= 1 mM [Cu<sub>2</sub>L]=0.01 mM en el caso de [CuL]<sup>2+</sup>=0.02 mM.  
La concentración de los complejos mononucleares de Cu(II) es el doble para mantener la constante la cantidad de cationes metálicos en las reacciones catalíticas.
- El tiempo de reacción en todos los casos es de 60 min. Los espectros se obtienen cada 5 min.
- Condiciones aerobias.
- Medio metanólico y 25°C

El primer espectro UV-Vis que se muestra en la figura 3.2.1 es exclusivamente del sustrato sin presencia de catalizador en medio metanólico. Se puede observar un ligero crecimiento en 430 nm correspondiente a la absorción de la fenoxazinona. Esto es evidencia de que el proceso oxidativo del OAP es favorable debido a la presencia de O<sub>2</sub> disuelto en el medio metanólico.



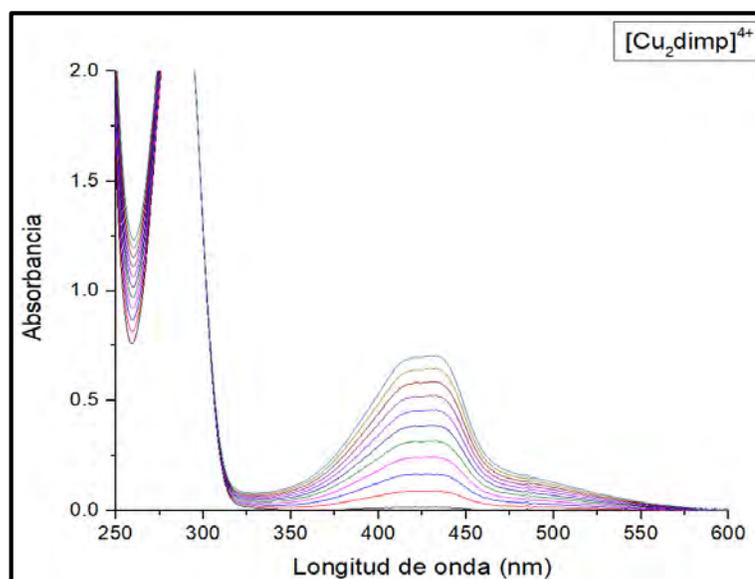
**Figura 3.2.1.** Seguimiento de la banda en  $\lambda_{max}=430$  nm durante el proceso oxidativo del OAP en ausencia de catalizador durante 1 hora.

Cuando a la reacción de oxidación se le añade  $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$  se puede observar en la figura 3.2.2 un notable crecimiento de la banda en 430nm en comparación con en el seguimiento de la reacción en ausencia de  $\text{Cu}(\text{II})$ , por lo que  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$  es capaz de catalizar la reacción de acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol.

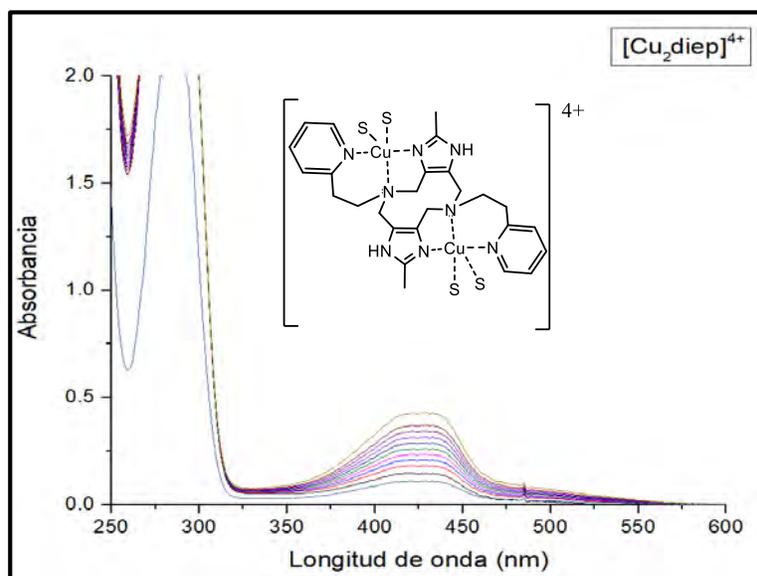


**Figura 3.2.2.** Seguimiento de la banda en  $\lambda_{max}=430$  nm durante el proceso oxidativo del OAP catalizado por  $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$  durante 1 hora.

En las figuras 3.2.3 y 3.2.4 se puede observar el seguimiento del proceso oxidativo del OAP catalizado por los complejos dinucleares  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$ . En esta figura también se puede observar que, en ambos procesos, hay un notorio crecimiento de la banda en 430 nm correspondiente a la absorción de la fenoxazinona, en comparación con el seguimiento UV-Vis del proceso oxidativo en ausencia de catalizador. La diferencia entre estos dos procesos es que la reacción catalizada por el complejo dinuclear de Cu(II)  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  es más rápida que el proceso oxidativo catalizado por el complejo  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$ .

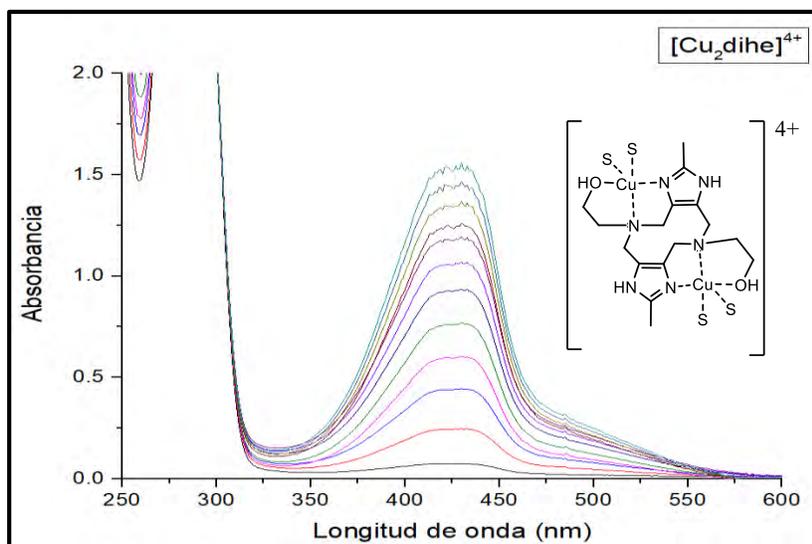


**Figura 3.2.3.** Seguimiento de la banda en  $\lambda_{max}=430$  nm durante el proceso oxidativo del OAP catalizado por  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  durante 1 hora.

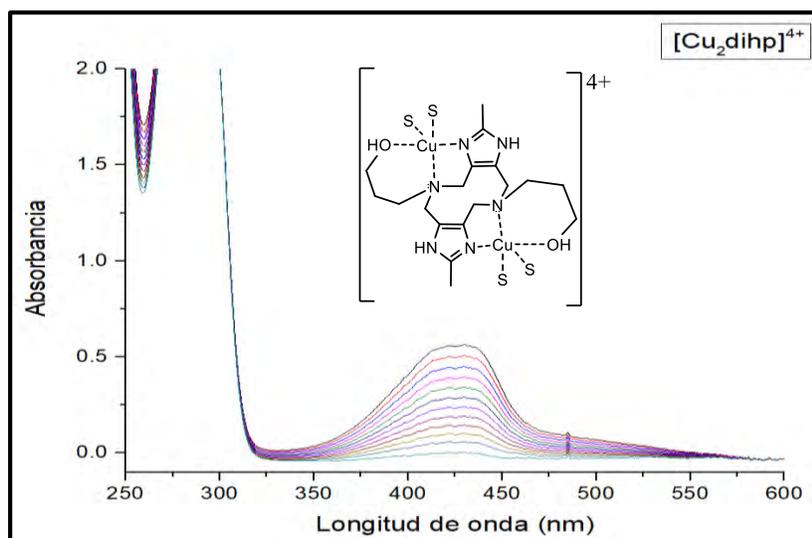


**Figura 3.2.4.** Seguimiento de la banda en  $\lambda_{\text{max}}=430$  nm durante el proceso oxidativo del OAP catalizado por  $[\text{Cu}_2(\text{diep})(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$  durante 1 hora.

El seguimiento de este mismo proceso catalizado por los complejos dinucleares  $[\text{Cu}_2(\text{dihp})(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$  y  $[\text{Cu}_2(\text{dihe})(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$  se puede observar en las figuras 3.2.5 y 3.2.6. De igual manera se puede observar un notorio crecimiento de la banda en 430 nm correspondiente a la absorción del cromóforo de fenoxazinona en comparación con lo que se observa en las figuras 3.2.1 y 3.2.2. La reacción catalizada por el complejo  $[\text{Cu}_2(\text{dihe})(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$  es más rápida en comparación con el proceso oxidativo catalizado por el complejo  $[\text{Cu}_2(\text{dihp})(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$ .



**Figura 3.2.5.** Seguimiento de la banda en  $\lambda_{\text{max}}=430$  nm durante el proceso oxidativo del OAP catalizado por  $[\text{Cu}_2(\text{dihe})(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$  durante 1 hora.

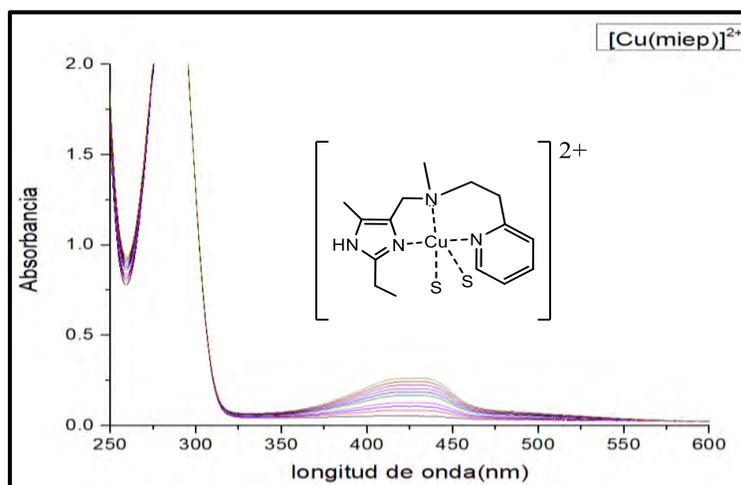


**Figura 3.2.6.** Seguimiento de la banda en  $\lambda_{\text{max}}=430$  nm durante el proceso oxidativo del OAP catalizado por  $[\text{Cu}_2(\text{dihp})(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$  durante 1 hora.

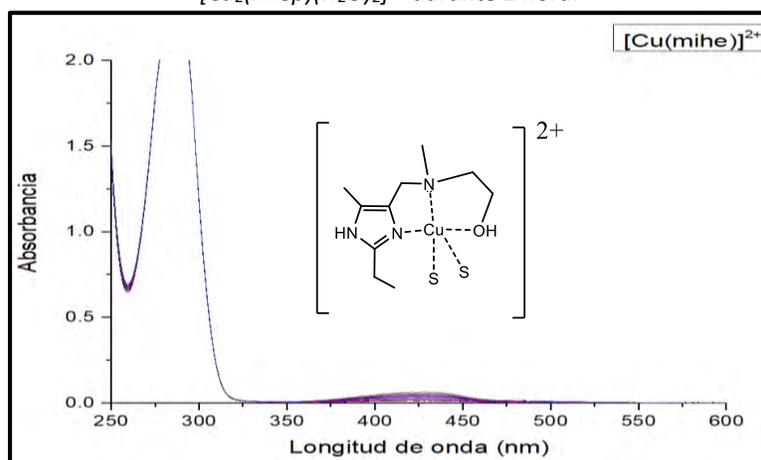
Si nos basamos únicamente en el valor de absorbancia en  $\lambda_{\text{max}}= 430$  nm de los espectros UV-Vis que se obtienen al paso de 60 min y considerando que esta unidad de absorción es directamente proporcional a la cantidad de producto de acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol (Ley de Lambert-Beer), la reacción catalizada por el complejo  $[\text{Cu}_2(\text{dihe})(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$  es la más eficiente puesto que se obtiene una mayor cantidad de

producto en comparación con todos los catalizadores dinucleares de Cu(II) al paso de 60 min.

En las figuras 3.2.7 y 3.2.8 se puede observar el seguimiento de la reacción oxidativa catalizada por los complejos mononucleares  $[Cu(mihe)(H_2O)_2]^{2+}$  y  $[Cu(miep)(H_2O)_2]^{2+}$ . En estos procesos oxidativos se puede observar de igual manera que en los casos anteriores, un crecimiento de la banda en 430 nm, señal de que los complejos mononucleares de Cu(II) son capaces de catalizar la reacción de acoplamiento oxidativo.

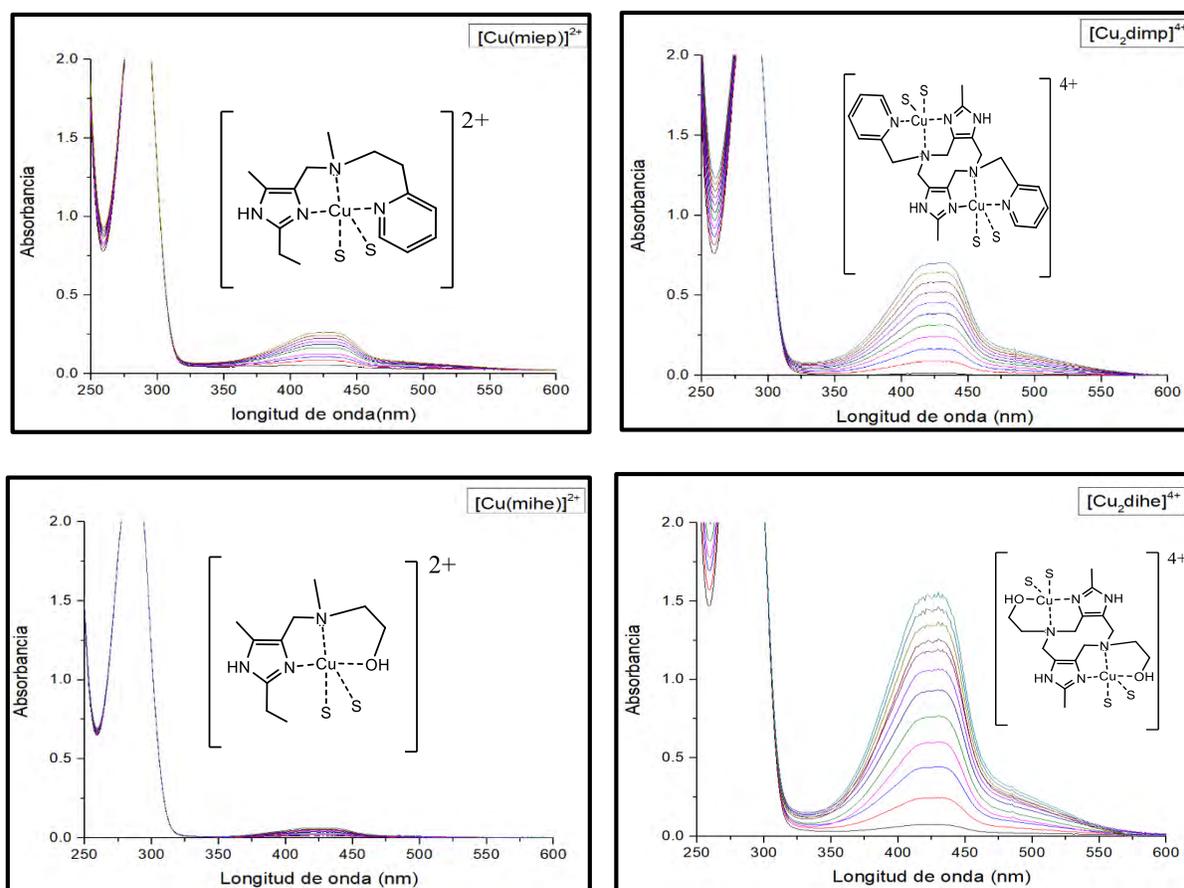


**Figura 3.2.7.** Seguimiento de la banda en  $\lambda_{max}=430$  nm durante el proceso oxidativo del OAP catalizado por  $[Cu_2(miep)(H_2O)_2]^{2+}$  durante 1 hora.



**Figura 3.2.8.** Seguimiento de la banda en  $\lambda_{max}=430$  nm durante el proceso oxidativo del OAP catalizado por  $[Cu_2(mihe)(H_2O)_2]^{2+}$  durante 1 hora.

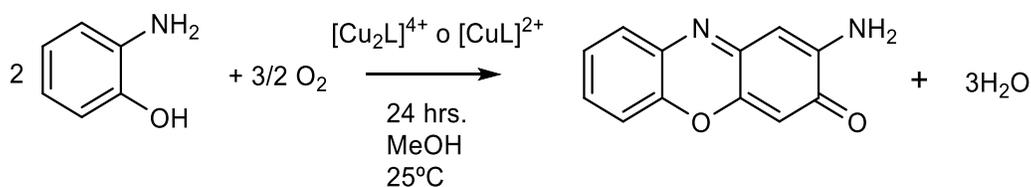
Si comparamos estos avances de reacción catalizadas por los complejos mononucleares de Cu(II) con sus respectivos análogos dinucleares de Cu(II) (figuras 3.2.9), claramente se observa que los complejos dinucleares catalizan más eficientemente la reacción de acoplamiento oxidativo. Además, puede observarse que el complejo mononuclear  $[Cu(miép)(H_2O)_2]^{2+}$  cataliza la reacción mejor que el complejo  $[Cu(mihe)(H_2O)_2]^{2+}$ . Cabe destacar que en los procesos oxidativos la concentración de los complejos mononucleares de Cu(II) es dos veces mayor que de los complejos dinucleares de Cu(II) con la finalidad de que la cantidad de cationes metálicos se mantenga constante.



**Figura 3.2.9.** Comparación de seguimiento de la banda en  $\lambda_{max}=430$  nm durante el proceso oxidativo del OAP catalizado por complejos mononucleares y dinucleares de Cu(II) durante 1 hora.

Los estudios anteriores demuestran que nuestros complejos bioinspirados de Cu(II) tienen la capacidad de catalizar la reacción de acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol, es decir que presentan actividad fenoxazinona sintasa, pero esta información no es suficiente para poder empezar a concluir sobre la actividad fenoxazinona sintasa de nuestros catalizadores de Cu(II)

Un siguiente paso consistió en cuantificar la cantidad de producto acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol de las reacciones catalíticas al paso de 60 y 1440 min ( 1 hora y 24 horas). La reacción oxidativa se lleva a cabo en un sistema de inyección continuo de aire a 25°C con el propósito de aumentar la disponibilidad del O<sub>2</sub> en el medio de reacción (esquema 3.2.2). Este análisis cuantitativo se realiza mediante espectrofotometría UV-Vis utilizando la proporción lineal entre la absorbancia y la concentración (ley de Lambert-Beer), por lo que es necesario conocer el valor del coeficiente de absorptividad molar del cromóforo de fenoxazinona en el medio metanólico.

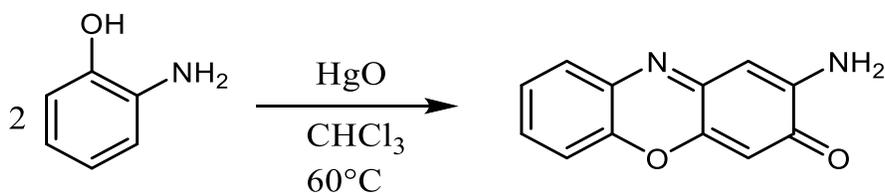


**Esquema 3.2.2.** Reacción de acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol en el grupo de investigación.

En los estudios descritos en la literatura sobre actividad fenoxazinona sintasa se encontró que no existe un único valor universal de coeficiente de absorptividad; existen múltiples valores. Diferentes grupos de investigación<sup>55,56,63,69,70</sup>, han utilizado valores desde 5533 hasta 24000 cm<sup>-1</sup> M<sup>-1</sup><sup>71,72,69,73</sup>.

Ante la duda de los diferentes valores reportados en la literatura, se tomó la decisión de obtener un valor propio de coeficiente de absorptividad molar de la fenoxazinona en metanol; para ello se sintetizó la 2-amino-3H-fenoxazin-3-ona mediante la oxidación del 2-

aminofeol con óxido de mercurio (II) como se observa en el esquema 3.2.3, con un método descrito en la literatura<sup>74</sup>.

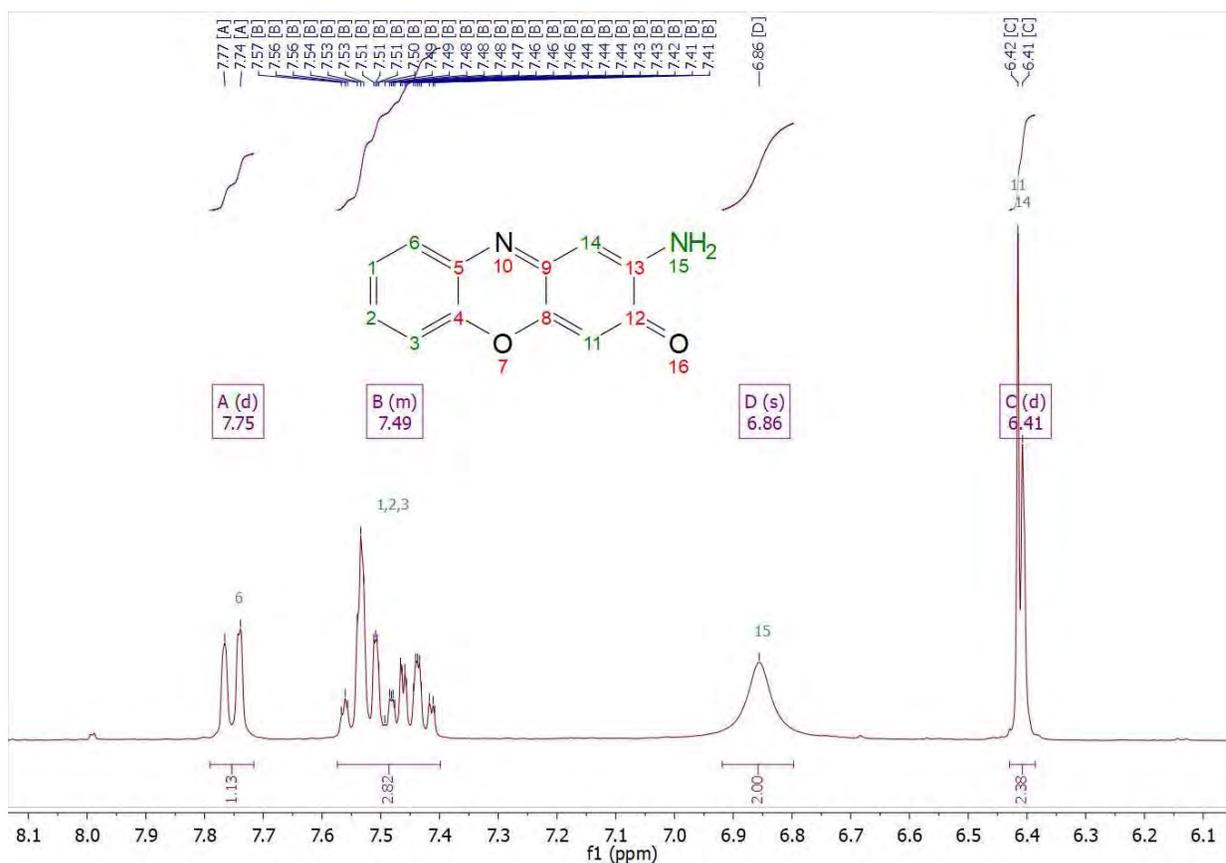


**Esquema 3.2.3.** Síntesis de la aminofenoxazinona utilizando HgO como agente oxidante.

La caracterización de la fenoxazinona obtenida en el grupo de investigación únicamente se realizó mediante <sup>1</sup>H-RMN. La asignación de las señales se observa en la tabla 3.2.1. Solo se hace énfasis en la zona de los hidrógenos aromáticos puesto que la molécula de fenoxazinona solo contiene hidrógenos de naturaleza aromática. El experimento se llevó a cabo disolviendo el producto en DMSO-d<sub>6</sub>. En la siguiente tabla se resume el desplazamiento químico de las señales de la 2-amino-3H-fenoxazin-3-ona.

**Tabla 3.2.1.** Asignación de las señales del espectro RMN-<sup>1</sup>H de la fenoxazinona.

Asignación	Multiplicidad	δ(ppm)	Integración
-CH <sub>2</sub>	Singlete	6.41	1
-CH <sub>3</sub>	Singlete	6-42	1
-NH <sub>2</sub>	Singlete señal ancha	6.86	2
-CH del anillo aromático	Multiplete	7.49	3
CH de la posición orto con respecto al O-R	Doble de dobles	7.75	1


**Figura 3.2.10.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz) en (DMSO-d<sub>6</sub>) a 25°C de la fenoxazinona.

Para obtener el valor de coeficiente de absortividad molar de la fenoxazinona en medio metanólico se construye una curva de calibración. En la siguiente figura 3.2.11 se observa el ajuste por mínimos cuadrados de la recta para obtener el valor de la pendiente; cuyo valor nos proporciona que el coeficiente de absortividad molar de  $18\ 343\ \text{cm}^{-1}\ \text{M}^{-1}$ .

**Figura 3.2.11.** *Gráfico de Absorbancia vs. Concentración para determinar el coeficiente de absortividad molar en  $\lambda_{\text{max}}=430\ \text{nm}$  de la fenoxazinona en metanol.*

En la tabla 3.2.2 se muestran los resultados del rendimiento de los procesos oxidativos. La concentración del producto de acoplamiento se determina mediante la curva de calibración de la figura 3.2.11.

**Tabla 3.2.2.** % de rendimientos de la reacción de acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol al paso de 1 y 24 horas.

Catalizador	Absorbancia	Concentración (M)	Rendimiento (%) a 1 hora	Rendimiento (%) a 24 hrs
OAP (sin catalizador)	0.01949	$6.23 \times 10^{-7}$	0.125	
$[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$	0.246	$1.3 \times 10^{-5}$	2.6	22
$[\text{Cu}_2(\text{dihe})(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$	1.5945	$8.65 \times 10^{-5}$	17.3	83
$[\text{Cu}_2(\text{dihp})(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$	0.56662	$3 \times 10^{-5}$	6.1	76.8
$[\text{Cu}(\text{mihe})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$	0.06265	$2.97 \times 10^{-6}$	0.6	20
$[\text{Cu}_2(\text{dimp})(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$	0.70411	$3.8 \times 10^{-5}$	7.6	77
$[\text{Cu}_2(\text{diep})(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$	0.42818	$2.3 \times 10^{-5}$	4.58	74.8
$[\text{Cu}(\text{miep})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$	0.26226	$1.39 \times 10^{-5}$	2.77	40

Los valores del porcentaje de rendimiento de la reacción catalizada por los complejos bioinspirados de Cu(II) al paso de 1 y 24 hrs se pueden sistematizar de la siguiente manera:

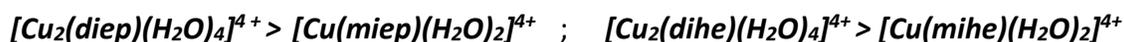
- Entre los complejos cuyos ligantes son *dihe*, *dihp* y *mihe* se observa la siguiente tendencia:



- En cuanto a los complejos de Cu(II) donde los ligantes son *dimp*, *diep* y *miep*, la tendencia que se observa en la tabla 3.2.2 es la siguiente:



- La comparación entre los complejos mononucleares de Cu(II) con sus análogos dinucleares de Cu(II) sigue la siguiente tendencia:



Los complejos dinucleares de Cu(II) con los ligantes denominados “cerrados cortos” ( $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$ ) conducen un mayor rendimiento en comparación con sus análogos dinucleares con ligantes denominados “cerrados largos” ( $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$ ). Lo que significa que las características estructurales y electrónicas del tercer diente en los complejos de Cu(II) influyen en la obtención de producto de acoplamiento. Más adelante mediante estudios cinéticos de esta reacción oxidativa, se da una posible explicación para estas diferencias.

Otro de los resultados que es importante destacar es que los complejos mononucleares de Cu(II) presentan un bajo rendimiento en comparación con sus análogos dinucleares, por lo que se puede pensar que la actividad fenoxazinona sintasa de estos complejos mononucleares de Cu(II) es baja, por lo que la presencia del segundo catión metálico en los complejos dinucleares de Cu(II) sí influye en la actividad catalítica de dichos complejos.

Para poder explicar los resultados sobre las diferencias en la cantidad de producto de acoplamiento oxidativo obtenido en las reacciones catalíticas, se tiene que recurrir a estudios cinéticos.

### 3.2.2 Estudios cinéticos de la reacción de acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol

El propósito de los estudios cinéticos es evaluar la actividad catalítica de los complejos bioinspirados de Cu(II) en el acoplamiento oxidativo del sustrato modelo 2-aminofenol en presencia de oxígeno.

El producto de acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol, como ya se mencionó anteriormente, presenta una intensa banda de absorción en  $\lambda_{\text{max}} = 430$  nm en metanol, gracias a esta información; los estudios cinéticos de este proceso oxidativo se realizan mediante espectrofotometría UV-Vis. La velocidad del proceso oxidativo en metanol se determinó mediante el método de las velocidades iniciales ( $v_0$ ); para ello se sigue el crecimiento de la banda en  $\lambda_{\text{max}} = 430$  nm con respecto al tiempo, en los primeros instantes de la reacción catalítica. La ventaja de este método es que se considera insignificante la reacción inversa ya que, en los primeros instantes, la concentración del producto es pequeña. Esta consideración resulta ser muy práctica pues permite utilizar ecuaciones sencillas para determinar los parámetros cinéticos.

Los estudios cinéticos consisten en lo siguiente:

- **Determinar el efecto de la concentración del catalizador** en la velocidad inicial de la reacción. Si el comportamiento cinético es de primer orden con respecto al catalizador, se podrá proponer el modelo enzimático de Michaelis-Menten para explicar el comportamiento cinético del proceso oxidativo.
- **Determinar el efecto de la variación de la concentración del sustrato** en la velocidad inicial. En los sistemas modelo que siguen un comportamiento tipo Michaelis-Menten, este tipo de estudios permiten determinar los parámetros cinéticos  $K_M$ ,  $V_{\text{max}}$  y  $k_{\text{cat}}$ , así como el valor de la eficiencia catalítica ( $k_{\text{cat}}/K_M$ ).

Es de suma importancia considerar todos los factores que intervienen en la reacción catalítica para tener un mejor control de estos estudios cinéticos y sobre todo para realizar una buena comparación de los resultados obtenidos. Todos los estudios cinéticos se llevaron a cabo bajo las siguientes condiciones:

- Un control de temperatura constante de 25°C.
- Presión atmosférica constante.
- Medio de reacción metanólico
- El crecimiento de la banda en 430 nm se siguió durante 100 s. Cada espectro UV-Vis se obtuvo cada 5 s.
- En el caso de los complejos mononucleares de Cu(II) las concentraciones utilizadas fueron el doble respecto a los estudios de los complejos dinucleares: de este modo, la concentración total de cationes metálicos de Cu(II) en el estudio de ambos sistemas es la misma.

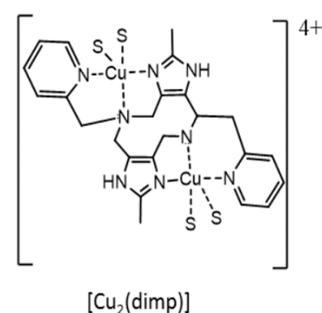
Todas las mediciones se realizaron 10 veces mediante la técnica de *stopped-flow*. En la mayoría de las gráficas de Absorbancia vs. tiempo (figura 3.2.12), se logran distinguir dos pasos de la reacción catalítica. De acuerdo con diversos autores, el primero de estos pasos se debe a la rápida reacción estequiométrica entre el complejo de Cu(II) y el 2-aminofenol. Por otra parte, el segundo paso de la reacción, el cual es más lento que el primero, fue monitoreado durante 80 segundos aproximadamente. Se puede observar un comportamiento lineal de la concentración del cromóforo de fenoxazinona en función del tiempo. A partir de la pendiente de esta grafica mediante un ajuste matemático se determina la velocidad inicial de la reacción.

**Figura 3.2.12.** Gráfico de Absorbancia vs. Tiempo que se observa en todos los procesos catalíticos.

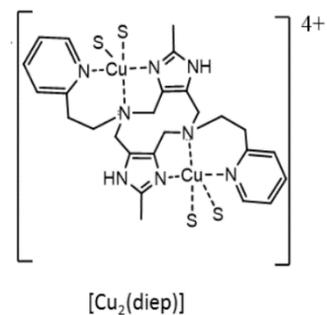
### 3.2.2.1 Efecto de la variación de la concentración del catalizador

En estos estudios se busca encontrar el comportamiento cinético de la velocidad inicial con respecto a la variación de concentración del catalizador. Resulta de gran importancia realizar estos estudios cinéticos, puesto que un comportamiento de primer orden es una condición necesaria para proponer el modelo enzimático de Michaelis-Menten, sin embargo, esto no asegura que el comportamiento con el sustrato siga dicho modelo enzimático.

Los estudios se realizan manteniendo constante, y en mayor proporción, la concentración del 2-aminofenol con respecto a la concentración de los catalizadores. La concentración del sustrato OAP es de  $4 \times 10^{-3}$  M en todos los casos, tanto para los dinucleares de Cu(II) como mononucleares de Cu(II). En las figuras 3.2.13 y 3.2.14 se observan los gráficos de velocidad inicial vs. concentración de catalizador exclusivamente de los catalizadores dinucleares de Cu(II) cuyo tercer diente corresponde a un átomo de nitrógeno proveniente de piridina.



**Figura 3.2.13.** Gráfico de  $v_o$  vs.  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  en el que se observa un comportamiento de pseudo-primer orden.



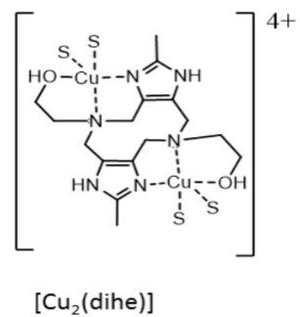
**Figura 3.2.14.** Gráfico de  $v_o$  vs.  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$  en el que se observa un comportamiento de pseudo-primer orden.

En las figuras anteriores se puede observar que hay una relación lineal entre la velocidad inicial y la concentración de ambos catalizadores; el coeficiente de correlación lineal en ambas gráficas es mayor a 0.98. Estos resultados indican que la reacción es de pseudo-primer orden con respecto a la concentración de los complejos dinucleares de Cu(II), por lo que la ley de velocidad queda de la siguiente manera:

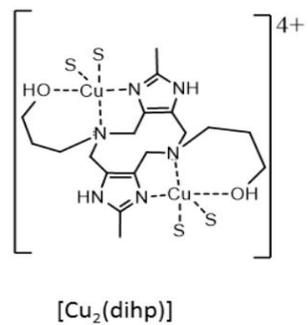
$$V_o = k_{obs}[Cat]$$

El valor de  $k_{obs}$  es la constante catalítica observada, y  $[Cat]$  es la concentración del catalizador dinuclear de Cu(II). Más adelante se compararán los valores de las  $k_{obs}$  de todos los catalizadores.

En las siguientes figuras 3.2.15 y 3.2.16 se muestran los gráficos de velocidad inicial vs. concentración de catalizadores dinucleares de Cu(II) cuyo tercer diente es el átomo de oxígeno proveniente del grupo -OH.

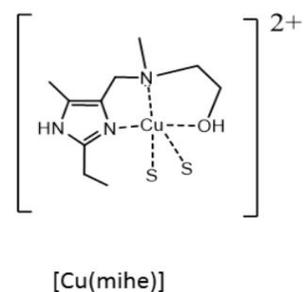


**Figura 3.2.15.** Gráfico de  $v_o$  vs.  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$  en el que se observa un comportamiento de pseudo-primer orden.

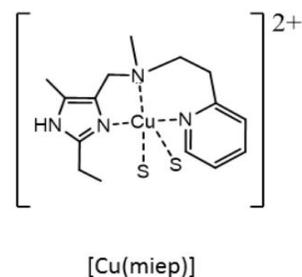


**Figura 3.2.16.** Gráfico de  $v_o$  vs.  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$  en el que se observa un comportamiento de pseudo-primer orden.

En las figuras anteriores se puede observar el mismo comportamiento lineal entre la velocidad inicial y la concentración de los catalizadores dinucleares de Cu(II), por lo que el comportamiento cinético en la variación de la concentración del catalizador también es de pseudo-primer orden. Por último, en las figuras 3.2.17 y 3.2.18, se muestran las gráficas de velocidad inicial vs. concentración de los catalizadores mononucleares de Cu(II). Se puede observar que el comportamiento cinético es el mismo que el de sus análogos dinucleares de pseudo-primer orden. El coeficiente de correlación es mayor 0.99 en estos casos.



**Figura 3.2.17.** Gráfico de  $v_o$  vs.  $[Cu_2(mihe)(H_2O)_2]^{2+}$  en el que se observa un comportamiento de pseudo-primer orden.



**Figura 3.2.18.** Gráfico de  $v_o$  vs.  $[Cu_2(mihe)(H_2O)_2]^{2+}$  en el que se observa un comportamiento de pseudo-primer orden.

El comportamiento cinético al variar la concentración de los complejos dinucleares y mononucleares de Cu(II) en el proceso oxidativo resultó ser de pseudo-primer orden. Para poder comparar la actividad de los catalizadores en este proceso oxidativo es necesario recurrir al valor de la  $k_{obs}$ ; dicho valor se obtiene mediante el ajuste por mínimos cuadrados de las gráficas lineales; en la tabla 3.2.3 se muestran estos valores.

**Tabla 3.2.3.** Valores de las  $k_{obs}$  obtenidos para los complejos bioinspirados de Cu(II) de los estudios cinéticos al variar la concentración del catalizador.

Catalizador	$k_{obs} (s^{-1})$
$[Cu_2 dihp]^{4+}$	$5.65 \times 10^{-4}$
$[Cu_2 dihe]^{4+}$	$1.27 \times 10^{-3}$
$[Cumihe]^{2+}$	$6.53 \times 10^{-5}$
$[Cu_2 diep]^{4+}$	$5.19 \times 10^{-4}$
$[Cu_2 dimp]^{4+}$	$1.9 \times 10^{-3}$
$[Cumiep]^{2+}$	$1.91 \times 10^{-4}$

Al observar la tabla 3.2.3, resulta evidente que el mejor catalizador para esta reacción oxidativa es el complejo dinuclear  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$ ; mientras que el complejo de Cu(II) que muestra la más baja actividad catalítica es el complejo mononuclear  $[Cu(mihe)(H_2O)_4]^{4+}$ . De los resultados obtenidos también se puede observar lo siguiente:

- Entre los complejos bioinspirados de Cu(II) cuyos ligantes son *dihe*, *dihp* y *mihe* se observa la siguiente tendencia:



- En cuanto a los complejos de Cu(II) donde los ligantes son *dimp*, *diep* y *miep*, la tendencia que se observa es la siguiente:



- La comparación entre los complejos mononucleares de Cu(II) con sus análogos dinucleares de Cu(II) sigue la siguiente tendencia:



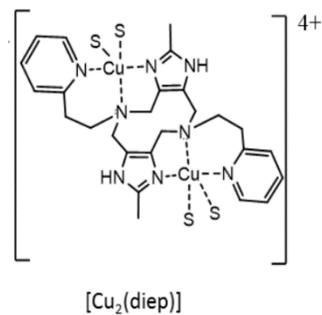
Estos resultados son congruentes con lo descrito en la sección donde se obtiene el rendimiento de la reacción de acoplamiento oxidativo. Con los valores de  $k_{obs}$  se demuestra que los mejores catalizadores para la reacción oxidativa son los complejos dinucleares de Cu(II) con los ligantes denominados “cerrados cortos”, *dimp* y *dihe*. Con estos resultados se puede afirmar que las características estructurales y electrónicas del tercer diente y el tamaño del segundo anillo quelato influyen en la eficiencia catalítica de los complejos de Cu(II) en el proceso oxidativo. En el caso de los complejos mononucleares de Cu(II) con base en su valor de  $k_{obs}$ , estos resultaron ser menos eficientes que sus análogos dinucleares, lo que significa que en este proceso oxidativo la presencia del segundo catión metálico influye en la actividad catalítica de los complejos dinucleares de Cu(II).

### 3.2.2.2 Efecto de la variación de concentración del sustrato

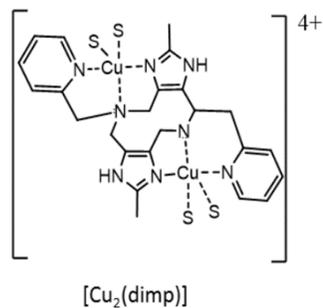
En la mayoría de los estudios cinéticos de complejos con Co, Mn y Cu que presentan actividad fenoxazinona sintasa que se encuentran descritos en la literatura (sección 1.3.2.2) se describe un comportamiento tipo Michaelis-Menten al variar la concentración de sustrato, por lo que se podría esperar que nuestros complejos bioinspirados de Cu(II) sigan un comportamiento de tipo enzimático. Además, el comportamiento cinético obtenido para todos los catalizadores es de pseudo-primer orden por lo que se puede proponer que el modelo de Michaelis-Menten sea el adecuado para evaluar la actividad catalítica de estos sistemas modelo.

El estudio de la variación de concentración del 2-aminofenol se lleva a cabo manteniendo constante la concentración del catalizador. Para los complejos dinucleares de Cu(II) la concentración es de  $1 \times 10^{-5}$  M, mientras que para los complejos mononucleares de Cu(II) la concentración es de  $2 \times 10^{-5}$  M. En cuanto a la variación de sustrato en todos los casos es de  $0.1 \times 10^{-3}$  a  $6 \times 10^{-3}$  M. Primero se muestran los resultados de los complejos de Cu(II) en los que el tercer diente corresponde a un átomo de nitrógeno proveniente de un grupo piridínico:  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$ ,  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(miep)(H_2O)_2]^{4+}$

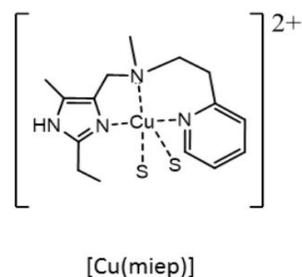
En las figuras 3.2.19, 3.2.20 y 3.2.21 se muestran las gráficas obtenidas en este estudio; se puede observar que a bajas concentraciones de 2-aminofenol existe una dependencia lineal de la velocidad inicial de la reacción con respecto a la concentración de 2-aminofenol; sin embargo, a concentraciones elevadas de OAP, la velocidad de la reacción comienza a presentar una región donde se mantienen constante, lo que sugiere que el catalizador se comienza a saturar, lo que significa que el comportamiento cinético al variar la concentración del sustrato utilizando estos catalizadores es de tipo Michaelis-Menten.



**Figura 3.2.19.** Gráfico de  $v_o$  vs. [OAP] en el que se observa un comportamiento tipo Michaelis-Menten utilizando como catalizador  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$

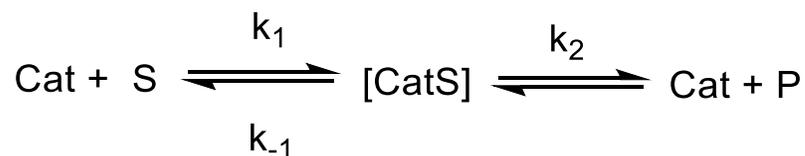


**Figura 3.2.20.** Gráfico de  $v_o$  vs. [OAP] en el que se observa un comportamiento tipo Michaelis-Menten utilizando como catalizador  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$



**Figura 3.2.21.** Gráfico de  $v_o$  vs. [OAP] en él que se observa un comportamiento tipo Michaelis-Menten utilizando como catalizador  $[Cu(miep)(H_2O)_2]^{2+}$

El modelo enzimático de Michaelis-Menten considera que la reacción catalítica global está constituida por dos etapas. En una primera etapa se forma un complejo entre el catalizador y el sustrato; en la segunda etapa de la reacción, el complejo [CatS] se descompone en producto P y el catalizador que se regenera.



El modelo considera que la velocidad de reacción está limitada por la segunda etapa, es decir que la disociación del complejo CatS, para regenerar el catalizador y obtener el producto y está representada por la ecuación siguiente:

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

Para utilizar el modelo de Michaelis-Menten, la velocidad de la reacción debe ser evaluada en los primeros instantes (velocidad inicial), cuando la concentración del producto es pequeña, y por lo tanto la reacción inversa puede considerarse insignificante. Si se aplica el principio del estado estacionario al complejo  $CatS^{75}$ , por lo que se puede considerar que la concentración de este complejo se mantiene constante durante la reacción, esto significa que las velocidades de formación y de disociación del complejo son iguales:

*velocidad de formación de  $CatS$  = velocidad de disociación de  $CatS$*

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

Si se despeja  $[CatS]$  de la expresión anterior, y se asume que en la reacción catalítica la concentración del catalizador libre es igual a la concentración inicial del catalizador menos la concentración del catalizador comparado con el sustrato,  $[Cat]=[Cat]_0-[CatS]$ . Es posible llegar a una expresión para la velocidad inicial de la reacción ( $v_0$ ), en términos de las concentraciones iniciales de sustrato y catalizador.

$$v_0 = k_2 [CatS] = k_2 \left[ \frac{[Cat]_0 [S]}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + [S]} \right]$$

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

$$K_M = \left[ \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \right]$$

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

$$V_{max} = k_2 [Cat]_0$$

Así, finalmente se obtiene la expresión final del modelo matemático de Michaelis-Menten:

$$v_0 = \left[ \frac{V_{max} [S]}{K_M + [S]} \right]$$

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

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

Los parámetros cinéticos  $K_M$  y  $k_{cat}$  son características diferentes del proceso catalítico, el cociente  $k_{cat}/K_M$  es utilizado como una medida de la eficiencia catalítica. Este nuevo parámetro catalítico engloba todo el proceso catalítico; tanto el equilibrio de formación del complejo catalizador-sustrato, como la transformación del sustrato en producto y proporciona la influencia de estos dos pasos en la actividad de cada compuesto. Este parámetro cinético resulta adecuado para comparar las actividades de diferentes catalizadores frente a un mismo sustrato. Esto significa que entre mayor sea el valor del cociente  $k_{cat}/K_M$  mayor será la eficiencia catalítica.

Dado el evidente comportamiento tipo de Michaelis-Menten al variar la concentración de 2-aminofenol, a concentración fija de los catalizadores, el siguiente paso es obtener los parámetros cinéticos para cada uno de los catalizadores mediante un tratamiento de linealización de Lineweaver-Burk. Este consiste en graficar los valores  $1/v_0$  vs.  $1/S$  de la siguiente manera:

$$\frac{1}{v_0} = \frac{K_M}{V_{max}} \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{max}}$$

El valor inverso de la ordenada al origen nos proporciona el valor de velocidad máxima ( $V_{max}$ ), mientras que a partir del valor de la pendiente del modelo lineal junto con el valor de  $V_{max}$  se puede calcular la constante de Michaelis-Menten. En las figuras 3.2.23, 3.2.24 y 3.2.25 se muestran los gráficos con su correspondiente ajuste lineal con una  $R^2$  mayor a 0.9.

El valor de la  $k_{\text{cat}}$  es muy importante para calcular la eficiencia catalítica de los catalizadores en el proceso oxidativo. Sin embargo, este parámetro cinético no se puede calcular mediante el modelo de Michaelis-Menten, pero se puede calcular de la siguiente forma:

$$V_{\text{max}} / [\text{Cat}]_0 = k_{\text{cat}}$$

El valor de  $[\text{Cat}]_0 = 0.01\text{Mm}$

**Figura 3.2.23.** Gráfico *Lineweaver-Burk*  $1/v_o$  vs.  $1/[\text{OAP}]$  utilizando  $[\text{Cu}_2(\text{diep})(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$  como catalizador.

**Figura 3.2.24.** Gráfico *Lineweaver-Burk*  $1/v_0$  vs.  $1/[OAP]$  utilizando  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  como catalizador.

**Figura 3.2.25.** Gráfico *Lineweaver-Burk*  $1/v_0$  vs.  $1/[OAP]$  utilizando  $[Cu(miep)(H_2O)_2]^{2+}$  como catalizador.

Los parámetros cinéticos que se obtienen de la reacción oxidativa catalizada por los complejos de Cu(II) cuyo tercer diente es de naturaleza piridínica se observan en la siguiente tabla 3.2.4.

**Tabla 3.2.4.** Parámetros cinéticos obtenidos del acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol catalizada por los complejos  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$ ,  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu(miep)(H_2O)_2]^{2+}$  en MeOH a 25°C.

	$V_{max}$ ( $M s^{-1}$ )	$K_M$ ( $M$ )	$k_{cat}$ ( $s^{-1}$ )	$k_{cat}/K_M$ ( $s^{-1} M^{-1}$ )
$[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$	$2.657 \times 10^{-8}$	$0.67 \times 10^{-4}$	$2.66 \times 10^{-3}$	39.6
$[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$	$5.037 \times 10^{-8}$	$2.61 \times 10^{-4}$	$5.037 \times 10^{-3}$	19.3
$[Cu(miep)(H_2O)_2]^{2+}$	$4 \times 10^{-8}$	$1.82 \times 10^{-4}$	$2 \times 10^{-3}$	11

Al comparar los valores obtenidos de la constante de Michaelis-Menten ( $K_M$ ) se encuentra que el complejo dinuclear de Cu(II) con el ligante *dimp* presenta una mayor

afinidad por el 2-aminofenol al observarse un menor valor con respecto al complejo dinuclear con el ligante análogo “cerrado largo” *diep*. Esto significa que el complejo cuyo tercer diente posee una cadena lateral corta es más afín al sustrato. En el caso del complejo mononuclear de Cu(II) con el ligante *miep* se puede observar que es menos afín por el sustrato en comparación con su análogo dinuclear. El segundo catión metálico de Cu(II) mejora las características electroceptoras del catalizador hacia el sustrato, con base en el estudio teórico que se discutió en la sección 1.2.4.

Por otra parte, el parámetro cinético  $k_{cat}$  cuyo valor es proporcional a la velocidad máxima ( $V_{max}$ ) se refiere a la capacidad del catalizador para llevar a cabo la transformación de sustrato a producto. Los resultados de la tabla 3.2.4 muestran que el complejo  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$  presenta el mayor valor de  $k_{cat}$ , es decir realiza más rápido la transformación del 2-aminofenol comparado con  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  y desde luego con su análogo mononuclear  $[Cu(miep)(H_2O)_2]^{2+}$ . Una de las posibles explicaciones ante la superioridad en la transformación del 2-aminofenol que presenta el complejo  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$  probablemente sea en el paso del cambio geométrico de Cu(II) a Cu(I) de una geometría de pirámide de base cuadrada a una tetraédrica distorsionada. Ya que los ligantes con una cadena lateral más larga presentan una mayor flexibilidad que favorece el cambio geométrico en el proceso catalítico.

Finalmente, al comparar los valores de eficiencia catalítica (cociente de  $k_{cat}/K_M$ ) se observa el siguiente orden:



Esta tendencia es congruente con los estudios preliminares de la sección 3.2.1, en los que se obtiene un mayor rendimiento del proceso oxidativo cuando es catalizado por el complejo dinuclear  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$ . Además, la tendencia descrita anteriormente es la misma que se observa en los estudios de comportamiento cinético con respecto a la variación del catalizador. La explicación de estos resultados se debe al mayor valor de eficiencia catalítica en el proceso de acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol que presenta el complejo  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$ . La superior actividad fenoxazinona sintasa se la podríamos

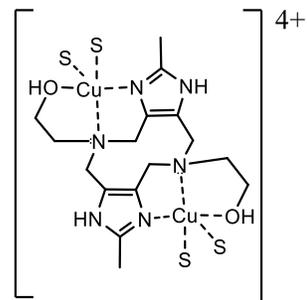
atribuir a la afinidad que tiene dicho catalizador por el sustrato y no a la capacidad que tiene para llevar a cabo la transformación del sustrato a su respectivo producto. En cuanto al complejo mononuclear  $[Cu(miép)(H_2O)_2]^{2+}$ , este presenta una menor eficiencia catalítica que su análogo dinuclear de Cu(II), en aproximadamente la mitad. Con este resultado se sigue recabando evidencia experimental de que la presencia del segundo catión metálico presenta un efecto importante en la actividad catalítica de los complejos dinucleares, en este caso en la actividad fenoxazinona sintasa.

Al comparar la actividad catalítica de los complejos  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$ ,  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu(miép)(H_2O)_2]^{2+}$  con la actividad catalítica de distintos modelos de Co (II) y (III), Mn (II) y (III) e incluso de Cu(II) descritos en la literatura (sección 1.3.2.2), se observa que nuestros catalizadores presentan una superior actividad fenoxazinona sintasa que la mayoría de estos modelos. La importante actividad fenoxazinona sintasa de nuestros complejos se lo podemos atribuir a los valores menores de la constante de Michaelis-Menten, es decir a la afinidad del sustrato por nuestros catalizadores de Cu(II); estos valores al compararlos con la mayoría de los modelos descritos en la literatura resultan ser los mejores valores.

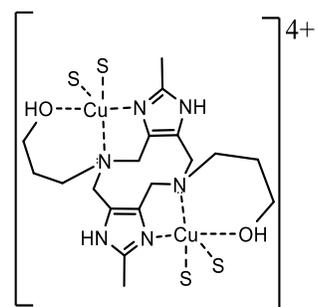
Por otro lado, la reacción de acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol catalizada por los complejos  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$ ,  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu(mihe)(H_2O)_2]^{2+}$  no presentan el mismo comportamiento cinético tipo Michaelis-Menten observado en los casos anteriores.

En las figuras 3.2.26, 3.2.27 y 3.2.28 se encuentran los gráficos de velocidad inicial vs. [OAP] en los que se pueden observar distintos comportamientos: por un lado, en los tres casos se puede observar una dependencia lineal de la velocidad inicial a bajas concentraciones de sustrato hasta alcanzar una velocidad máxima, pero por otro lado conforme aumenta la concentración de sustrato se observa un decremento en la velocidad inicial hasta llegar a un punto donde se mantiene constante. Lo que significa que a elevadas concentraciones de 2-aminofenol, este se comporta como un inhibidor del proceso oxidativo. Este tipo de comportamiento cinético sugiere que la reacción catalítica presenta una inhibición enzimática del tipo por exceso de sustrato.

Los máximos que se observan en los gráficos están en distintos valores de [OAP]: la velocidad máxima para el complejo  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$  se alcanza a 0.5 mM, mientras que el complejo dinuclear  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$  se alcanza en 0.2 mM y por último para el complejo mononuclear  $[Cu(mihe)(H_2O)_2]^{2+}$  se alcanza en 1 mM. Otra de las observaciones que se puede notar en los gráficos donde los complejos dinucleares de Cu(II) son los catalizadores, es que a partir de 4 mM la velocidad inicial comienza a ser constante, mientras que para el complejo mononuclear de Cu(II) esto sucede a partir de 2mM; esto indica que las reacciones catalíticas no se inhiben por completo. Para explicar esto puede proponerse la transformación del catalizador en una nueva especie menos activa catalíticamente.

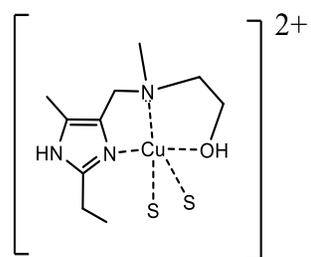


**Figura 3.2.26.** Gráfico de  $v_o$  vs. [OAP] en el que se observa una inhibición por exceso de sustrato utilizando como catalizador  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$ .



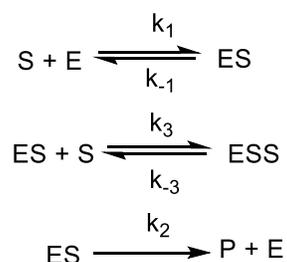
**Figura**

**3.2.27.** Gráfico de  $v_o$  vs.  $[OAP]$  en el que se observa una inhibición por exceso de sustrato utilizando como catalizador  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$ .



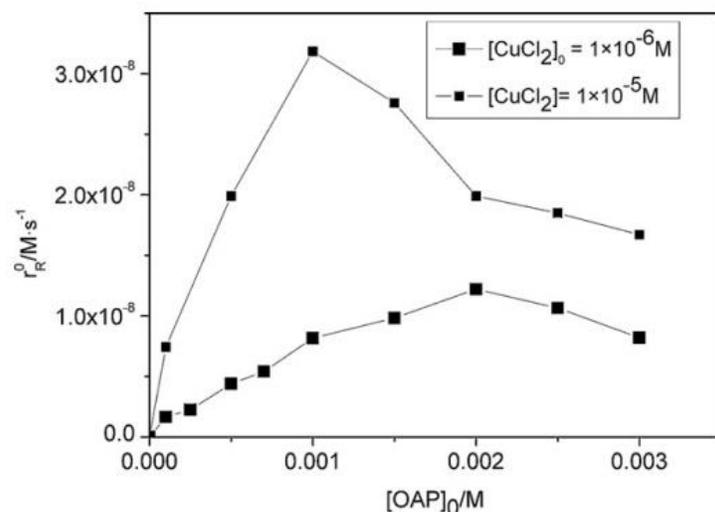
**Figura 3.2.28.** Gráfico de  $v_o$  vs.  $[OAP]$  en que se observa una inhibición por exceso de sustrato utilizando como catalizador  $[Cu_2(mihe)(H_2O)_2]^{2+}$ .

La inhibición por exceso de sustrato es un tipo de inhibición reversible y una de las desviaciones más comunes de la cinética tipo Michaelis-Menten. Tal como su nombre lo dice este tipo de inhibición es causada por exceso de sustrato que produce una disminución en la velocidad de reacción debido a la formación de un segundo intermediario sustrato-enzima “no reactivo”. Cuando sucede este fenómeno, se observa experimentalmente que la velocidad de reacción pasa por un máximo al ir aumentando la concentración de sustrato, lo que se puede observar en las figuras 3.2.26, 3.2.27 y 3.2.28. Un mecanismo que puede explicar este comportamiento es el siguiente<sup>76</sup>:



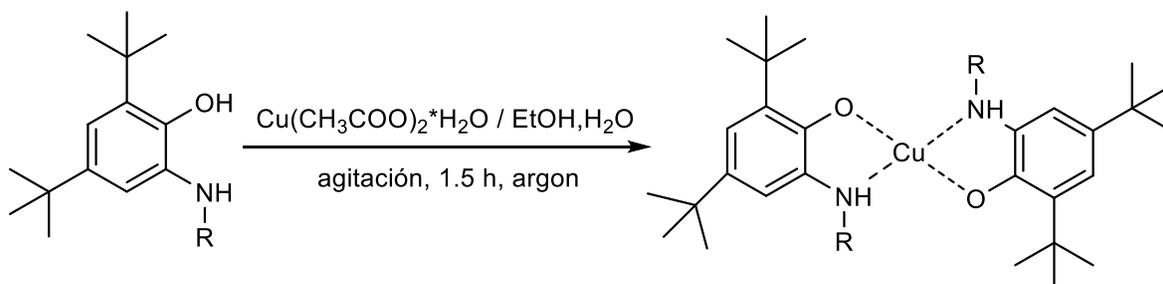
La inhibición por exceso de sustrato ocurre cuando dos moléculas de sustrato se unen al sitio activo de la enzima al mismo tiempo. Siempre que las moléculas de sustrato estén unidas al sitio activo, la enzima es efectivamente inactiva y, por lo tanto, se inhibe. Para que este proceso sea favorable, la segunda molécula de sustrato debe de acercarse al sitio activo rápidamente; de lo contrario la primera molécula de sustrato alcanzaría rápidamente la colocación catalítica correcta. La colisión entre la enzima y el sustrato es totalmente aleatoria y es probable que esto ocurra a una concentración suficientemente elevada de sustrato, ya que las frecuencias de colisiones aleatoria aumentarían, por lo que la inhibición solo se observa en presencia de sustratos en exceso<sup>77</sup>.

Existe un estudio cinético realizado por Olmazu *et al*<sup>73</sup> en el que observan el mismo comportamiento cinético de inhibición por exceso de sustrato (figura 3.2.29) en la reacción de acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol catalizado por  $\text{CuCl}_2$  en medio acuoso. Mediante estudios teóricos cinéticos proponen que la especie que pueda inhibir la reacción oxidativa es el complejo bis(2-aminofenolato) cobre (II); este complejo neutro es aislado y caracterizado mediante espectroscopia vibracional.



**Figura 3.2.29.** Grafico de velocidad inicial vs. Concentración de OAP a diferentes concentraciones de CuCl<sub>2</sub>, en el que se observa una inhibición por exceso de sustrato<sup>82</sup>.

Existen reportes de *o*-aminofenoles sustituidos e impedidos estéricamente (esquema 3.2.4) que se coordinan al catión metálico de Cu(II). En estos casos, los sustituyentes no permiten que se lleve a cabo la dimerización del compuesto, ya que se quedan enlazados al centro metálico. En los complejos obtenidos, el ligante se encuentra en su forma monodesprotonada, y presenta una geometría cuadrada plana como se puede observar en la esquema 3.2.4<sup>78</sup>



**Esquema 3.2.4.** Síntesis de complejos entre Cu(II) y *o*-aminofenoles sustituidos ( $R=H$  o fenil).

Una de las posibles explicaciones para este comportamiento cinético de la inhibición por exceso de sustrato en nuestros catalizadores, es con base en la estabilidad relativa de los complejos dinucleares y mononucleares de Cu (II); cuyo valor depende del tercer diente.

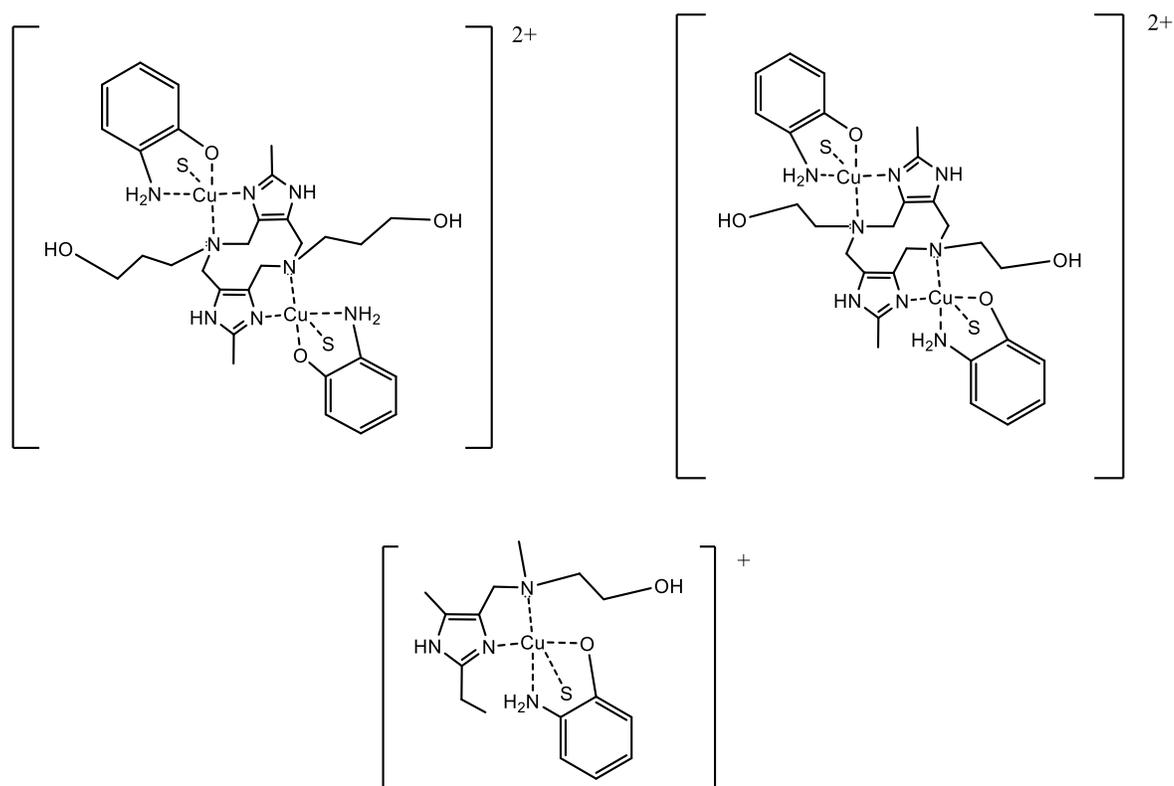
En la tabla 3.2.5 solo se muestran las constantes de estabilidad global de los complejos dinucleares de Cu(II).

**Tabla 3.2.5.** Constantes de formación global de los complejos dinucleares de Cu(II)

	$[\text{Cu}_2(\text{dihe})(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$	$[\text{Cu}_2(\text{dihp})(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$	$[\text{Cu}_2(\text{diep})(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$	$[\text{Cu}_2(\text{dimp})(\text{H}_2\text{O})_4]^{4+}$
Log $\beta$	10.82	9.91	19.07	18.63

Los complejos dinucleares de Cu(II) con los ligantes *diep* y *dimp* tienen un tercer diente de naturaleza piridínica que se encuentra fuertemente enlazado al catión metálico en comparación con los complejos dinucleares de Cu(II) con los ligantes *dihe* y *dihp*. Esta unión entre el grupo piridínico con el catión metálico Cu(II) sobre la base de la pirámide cuadrada del sitio de coordinación, no puede ser remplazado por el anión de 2-aminofenolato, entonces este se coordina de manera monodentada únicamente por el hidroxilato en la única posición disponible (ocupada por una molécula de disolvente) en la base de la pirámide. Sin embargo, con los complejos de Cu(II) cuyo tercer diente es un grupo -OH que se encuentra débilmente unido al centro metálico sobre la base de la pirámide cuadrada del sitio de coordinación, es posible que el aminofenolato se quelate sobre el plano de la pirámide desplazando al grupo -OH del ligante para formar un nuevo complejo que provoque la inhibición del proceso oxidativo. Esta prueba de inhibición puede dar un indicio de la excelente afinidad del sustrato por el catalizador. Las estructuras propuestas para los complejos de Cu(II) capaces de inhibir la reacción de acoplamiento oxidativo se

muestran en la figura 3.2.30. A pesar de que no se cuenta con la información acerca de las constantes de formación global de los complejos mononucleares de Cu(II) con *miep* y *mihe*, sus comportamientos cinéticos con respecto a la variación de la concentración del sustrato siguen la misma tendencia descrita anteriormente.



**Figura 3.2.30.** Propuestas de la coordinación del *o*-aminofenolato a los complejos de cobre; cuyo tercer diente es un grupo -OH

Finalmente, con base en los valores de constantes de formación global de los complejos  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$  se puede explicar los diferentes máximos o velocidades máximas que se observan en sus respectivos gráficos de  $V_o$  vs. [OAP]. En el caso del complejo  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$  se observa que el máximo se encuentra en 0.2 mM, lo que significa que la inhibición de este catalizador es mucho más fácil que la inhibición que presenta el complejo análogo de cadena lateral corta  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$ ; cuyo máximo o velocidad máxima se observa en 0.5 mM. El tercer diente del complejo  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$  forma un anillo quelato de 6 miembros con el centro metálico, el cual sería fácilmente

sustituible por un 2-aminofenolato que forma un quelato más estable, además de que este tercer diente en la disolución metanólica se encuentra débilmente unido al centro metálico.

No se cuenta con parámetros cinéticos para comparar la actividad fenoxazinona sintasa de estos tres complejos bioinspirados de Cu(II):  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$ ,  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu(mihe)(H_2O)_2]^{2+}$  aunque presenten un comportamiento similar, porque no presentan un comportamiento Michaelis-Menten. Sin embargo, con los resultados del comportamiento cinético con respecto a la variación de concentración del sustrato del complejo mononuclear  $[Cu(mihe)(H_2O)_2]^{2+}$  se puede observar que en ningún momento las velocidades iniciales de la gráfica  $v_0$  vs. [OAP] superan las velocidades iniciales de la gráfica  $v_0$  vs. [OAP] de su análogo dinuclear. Esto constituye otra evidencia de que la actividad catalítica de los complejos mononucleares de Cu(II) en este caso con el ligante *mihe* es mucho menor que la actividad catalítica de su análogo dinuclear  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$ .

# Capítulo 4

## CONCLUSIONES

Los complejos bioinspirados de Cu(II) estudiados en el presente trabajo son capaces de catalizar las reacciones de acoplamiento oxidativo de fenoles sustituidos en presencia de oxígeno molecular proveniente del aire.

- La actividad catalítica de los complejos de Cu(II) en la reacción de polimerización del DMP depende de las características estructurales y electrónicas de cada ligante, causando diferencias apreciables entre el rendimiento de la reacción oxidativa y la longitud de cadena del polímero obtenido:
  - a) Se encontró que al utilizar los complejos  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$  formados por ligantes cuyo tercer grupo donador es un nitrógeno piridínico, se obtienen mejores rendimientos. Sin embargo, los polímeros obtenidos en estos casos poseen longitudes de cadena más cortas. Por otro lado, al utilizar los complejos  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$ , formados por ligantes cuyo tercer grupo donador es hidroxilo, se obtienen polímeros de cadena más larga pero con más bajos rendimientos.
  - b) Con los complejos dinucleares de ligantes denominados “cerrados cortos” *dimp* y *dihe* se obtienen mayores longitudes de cadena de polímero; siendo el complejo dinuclear con el ligante *dihe* el más adecuado para sintetizar un polímero de mayor longitud de cadena, de 42 a 44 unidades.

- c) La presencia del segundo catión metálico en el complejo  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$  influye en su actividad catalítica durante el proceso oxidativo, puesto que se obtiene un mayor rendimiento y una mayor longitud de cadena del polímero que su análogo mononuclear  $[Cu(miép)(H_2O)_2]^{2+}$ , mientras que la presencia del segundo catión metálico en el complejo  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$  solo influye únicamente en la obtención de un polímero de mayor longitud de cadena con respecto a su análogo mononuclear  $[Cu_2(mihe)(H_2O)_2]^{2+}$ .
- El acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol (actividad fenoxazinona sintasa) catalizada por los complejos de Cu(II) depende principalmente de las características electrónicas y estructurales de los ligantes derivados de imidazol, causando notables diferencia en los estudios cinéticos:
- a) Los mejores rendimientos después de 24hrs para la reacción de acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol se obtuvieron con  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$ . Sin embargo, los estudios cinéticos demuestran que estos dos catalizadores no presentan el mismo comportamiento.
- b) Los complejos  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$ ,  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(miép)(H_2O)_2]^{2+}$  presentan un comportamiento cinético tipo Michaelis-Menten al variar la concentración del sustrato de, mientras que los complejos  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$ ,  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(mihe)(H_2O)_2]^{2+}$  presentan una inhibición del tipo por exceso de sustrato. La explicación para entender estas diferencias se basa en la estabilidad relativa de los complejos dinucleares y mononucleares de Cu (II), cuyo valor depende del tercer grupo donador del ligante.

- c) La actividad fenoxazinona sintasa de los complejos  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$ ,  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  y  $[Cu_2(miep)(H_2O)_2]^{2+}$ , con base en los valores de eficiencia catalítica calculados a partir de los parámetros cinéticos  $k_{cat}$  y  $K_M$ , resultan ser muy superiores a la actividad fenoxazinona sintasa de muchos modelos descritos en la literatura. Las buenas eficiencias catalíticas que presentan estos complejos pueden asociarse con la buena afinidad del sustrato por los catalizadores.
- d) Los complejos mononucleares de Cu(II) presentan actividades fenoxazinona sintasa muy inferiores a las de sus respectivos análogos dinucleares. Estos resultados son otra evidencia más de que la presencia del segundo catión metálico influye en la actividad catalítica de los complejos dinucleares de Cu(II).

# Capítulo 5

## SECCIÓN EXPERIMENTAL

### 5.1 Equipos y reactivos

#### 5.1.1 Reactivos y disolventes

En la síntesis y estudio de los compuestos obtenidos se utilizaron los siguientes reactivos y disolventes:

2-metilimidazol, 99% (Aldrich)

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

Etanolamina, >99.5% (Aldrich)

3-Aminopropanol, 99% (Aldrich)

2-aminometil-piridina, 99% (Aldrich)

2-(2-aminoetil)-piridina, 99% (Aldrich)

2-(metilamino)etanol, 97%, Aldrich

2-(2-metilaminoetil)-piridina, 97%, Aldrich

Formaldehido 37.5% (Mallinckrodt)

Trietilamina, >99.5% (Sigma-Aldrich)

Perclorato de cobre (II) hexahidratado  $[\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$  98% (Sigma-Aldrich)

2, 6-Dimetilfenol, 99% (Aldrich)

2-aminofenol 99% (Aldrich)

EDTA, 99% (JT Baker)

Oxido de Mercurio (II) HgO

Acetonitrilo grado reactivo 99.9% (JT Baker)

Cloroformo grado reactivo 99.9% (JT Baker)

Metanol grado reactivo 99.9% (JT Baker)

Metanol grado espectrofotométrico 99.9% (Sigma-Aldrich)

Acetato de etilo 99.9% (JT Baker)

Agua Deuterada [D<sub>2</sub>O]

Ácido clorhídrico deuterado [DCI] 35% en agua deuterada, 99.9% D.

Cloroformo deuterado [CDCl<sub>3</sub>]

### 5.1.2 Equipos

Espectrofotómetro. Agilet 8453.

UV-Visible Chemstation Software.

Análisis elemental. AE (Perkin Elmer) 2400 para CHNS, USAI

Resonancia Magnética Nuclear, Unity INOVA 300MHz (Varian), USAI

## 5.2 Síntesis de los ligantes dinucleantes y monucleantes.

### 5.2.1 Síntesis del ligante dihe.

Se disuelve 1.64 g (20 mmol) de 2-metilimidazol en aproximadamente 40 mL de agua destilada. A esta disolución se agrega lentamente, de forma simultánea, pero por separado, 4.87 mL (60 mmol) de formaldehído al 37% en agua y 1.2 mL (20 mmol) de etanolamina. La mezcla de reacción se lleva a pH básico adicionando (20 mmol) de trietilamina, la solución se calienta en un baño de aceite a 60°C con agitación continua. Se observa un precipitado blanco después de 36 horas. El producto formado se filtra a vacío y se lava con dos porciones de agua y solo una de acetona. Se obtiene 1.7g de producto con un rendimiento del 25%.

RMN-<sup>1</sup>H (D<sub>2</sub>O/HCl): δ 3.86, 3.87, 3.88 (t, 4H, -CH<sub>2</sub>-), 3.48, 3.495, 3.5 (t, 4H, -CH<sub>2</sub>-), 2.49 (s, 8H, -CH<sub>2</sub>-), 4.4 (s, 6H, CH<sub>3</sub>)<sup>23</sup>.

Análisis elemental. Calculado para C<sub>16</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub> • 2H<sub>2</sub>O : C, 51.88; H, 8.16; N, 22.69. Encontrado: C, 52.36; H, 8.09; N, 22.62.

### 5.2.2 Síntesis del ligante dihp.

Se disuelven 1.64 g (20 mmol) de 2-metilimidazol en aproximadamente 40 mL de agua destilada. A esta disolución se le añade lentamente, de forma simultánea, pero por separado, 4.87 mL (60mmol) de formaldehído al 37% en agua y 1.52 mL de 3-aminopropanol. La mezcla de reacción se lleva a un pH básico adicionando (20 mmol) de trietilamina, la solución se calienta en un baño de aceite a 60°C con agitación constante durante 72 horas. El producto obtenido se filtra a vacío y se lava con dos porciones de metanol y solo una de acetona. Se obtienen 1.6 g de producto con un rendimiento del 26%.

Análisis elemental. Calculado para C<sub>16</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub> • ½H<sub>2</sub>O: C, 58.20; H, 8.41; N, 22.62. Encontrado para C, 58.09; H, 8.43; N, 22.35<sup>23</sup>.

RMN-<sup>1</sup>H (D<sub>2</sub>O/HCl): δ 4.22 (s, 4H, -CH<sub>2</sub>-), 3.31, 3.33, 3.35 (t, 2H, -CH<sub>2</sub>-), 3.27 (t, 2H, -CH<sub>2</sub>-), 2.27 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.73, 1.75, 1.77, 1.79, 1.82 (q, 2H, CH<sub>2</sub>).

### 5.2.3 Síntesis del ligante dimp.

Se disuelve 9.85 g (120 mmol) de 2-metilimidazol en aproximadamente 50 mL de agua destilada. A esta disolución se agrega lentamente 21.5 mL (260 mmol) de formaldehído al 37% en agua y 13 ml (120 mmol) de 2-aminometil-piridina. La mezcla de reacción se lleva a pH básico adicionando 8.35 mL (60 mmol) de trietilamina, la disolución se calienta en un baño de aceite a 60°C con agitación continua. Después de 24 horas la mezcla de reacción se torna de color naranja.

A las 48 horas aparece un precipitado de color blanco. La mezcla de reacción se deja durante 24 horas más. El producto formado se filtra a vacío y se lava con dos porciones de agua y una de acetona.

La masa del producto es 3.3512 g que corresponde a un rendimiento del

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, D<sub>2</sub>O/HCl) =  $\delta$  2.38 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 3.5 (s, 4H, -CH<sub>2</sub>-diacezina), 4.26 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-*o*-piridina), 7.74 (td, <sup>3</sup>J=8.0 Hz, <sup>3</sup>J=6.0 Hz, <sup>4</sup>J=1.2 Hz, 1H, H-*m*-piridina), 7.86 (dd, <sup>3</sup>J=8.0 Hz, <sup>4</sup>J= 0.8 Hz, 1H, H-*m*-piridina), 8.31 (td, <sup>3</sup>J= 8.0 Hz, <sup>3</sup>J=6.0 Hz, <sup>4</sup>J=1.6, 1H, H-*p*-piridina), 8.55 (dt, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, <sup>4</sup>J=1.6 Hz, <sup>5</sup>J=0.8, 1H, H-*o*-piridina).

Análisis elemental. Calculado para C<sub>24</sub>H<sub>28</sub>N<sub>8</sub>•4H<sub>2</sub>O: C, 57.58; H, 7.25; N, 22.38. Encontrado: C, 58.18; H, 7.47; N, 22.80<sup>21</sup>.

### 5.2.4 Síntesis del ligante diep.

Se disuelve 1.64 g (20 mmol) de 2-metilimidazol en aproximadamente 40 mL de agua destilada. A esta disolución se agrega lentamente 4.87 mL (60 mmol) de formaldehído al 37% en agua y 2.44 ml (20 mmol) de 2-(2-aminoetil)-piridina. La mezcla de reacción se lleva a pH básico adicionando (20 mmol) de trietilamina. La disolución se calienta en un baño de aceite a 60°C con agitación continua. A las 24 horas se le añade 2 mL de una solución acuosa de formaldehído al 37% a la mezcla de reacción. Después de 48 horas cumplidas, el producto formado se filtra a vacío y se lava con dos porciones de agua y una de acetona.

La masa del producto es 0.975 g en un rendimiento del 14.6%

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, D<sub>2</sub>O/HCl)= δ 2.3 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 3.4 (m, 8H, piridina-**CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N**), 4.26 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-*o*-piridina), 4.10 (s, 4H, -CH<sub>2</sub>-diacezina), 7.65 (td, <sup>3</sup>J=8.0 Hz, <sup>3</sup>J=6.0 Hz, <sup>4</sup>J=1.2 Hz, 1H, H-*m*-piridina), 7.79 (dd, <sup>3</sup>J=8.0 Hz, <sup>4</sup>J=0.8 Hz, 1H, H-*m*-piridina), 8.25 (td, <sup>3</sup>J=8.0 Hz, <sup>3</sup>J=6.0 Hz, <sup>4</sup>J=1.6 Hz, 1H, H-*p*-piridina), 8.4 (dt, <sup>3</sup>J=6.0 Hz, <sup>4</sup>J=1.6 Hz, <sup>5</sup>J=0.8 Hz, 1H, H-*o*-piridina).

Análisis elemental. Calculado para C<sub>26</sub>H<sub>32</sub>N<sub>8</sub>•5H<sub>2</sub>O: C, 57.12; H, 7.74; N, 20.5. Encontrado: C, 57.72; H, 7.77; N, 20.42<sup>22</sup>.

### 5.2.5 Síntesis del ligante mihe.

Se disuelve 4.4 g (40 mmol) de 2-etil-4-metilimidazol en aproximadamente 80 mL de agua destilada. A esta disolución se agrega lentamente 4 mL (50 mmol) de formaldehído al 37% en agua y 3.2 mL (40 mmol) de 2-(metilamino)etanol. La mezcla de reacción no lleva base, puesto que la mezcla de reacción se encuentra en condiciones suficientemente básicas para que se lleve a cabo la reacción. La disolución se calienta en un baño de aceite a 60°C con agitación continua durante varios días. El producto formado se seca con calentamiento y a vacío. El producto resultante es un aceite viscoso amarillento.

Análisis elemental. Calculado para C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>•2H<sub>2</sub>O: C, 51.48; H, 9.94; N, 18.01. Encontrado para C, 53.41; H, 9.00; N, 18.12.

RMN-<sup>1</sup>H (D<sub>2</sub>O/HCl): δ 1.17 (t, <sup>3</sup>J=7.56, 3H, imidazol-**CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>**), 2.20 (s, 2H, N(amina)-**CH<sub>3</sub>**), 2.53 (s, 3H, **CH<sub>3</sub>**-imidazol), 2.81 (c, <sup>3</sup>J=7.67, 2H, imidazol-CH<sub>2</sub>-**CH<sub>3</sub>**, 3H), 2.83 (s, 2H, imidazol-**CH<sub>2</sub>-N**(amina)), 3.51 (t, <sup>3</sup>J=5.35, 2H, N(amina)-**CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>**), 3.61 (t, <sup>3</sup>J=5.33, 2H, piridina-**CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>**),

### 5.2.6 Síntesis del ligante miep.

Se disuelve 4.4 g (40 mmol) de 2-etil-4-metilimidazol en aproximadamente 80 mL de agua destilada. A esta disolución se agrega lentamente 4 mL (50 mmol) de formaldehído al 37% en agua y 3.2 mL (40 mmol) de 2-(2-metilaminoetil)-piridina. La mezcla de reacción se lleva a pH básico adicionando (20 mmol) de trietilamina. La disolución se calienta en un baño de aceite a 60-70°C con agitación continua durante 48 horas. El producto formado se seca con calentamiento y a vacío. El producto resultante es un “aceite viscoso amarillento”.

Análisis elemental. Calculado para  $C_{15}H_{22}N_4 \cdot 2H_2O$ : C, 61.20; H, 8.90; N, 19.03. Encontrado para C, 61.78; H, 8.73; N, 19.29.

RMN- $^1H$  ( $D_2O/HCl$ ):  $\delta$  1.05 (t,  $^3J=7.56$ , 3H, imidazol- $CH_2-CH_3$ ), 2.07 (s, 2H, N(amino)- $CH_3$ ), 2.53 (c,  $^3J=7.67$ , 2H, imidazol- $CH_2-CH_3$ , 3H), 2.59 (s, 3H,  $CH_3$ -imidazol), 3.04 (t,  $^3J=5.35$ , 2H, N(amino)- $CH_2-CH_2$ ), 3.73 (t,  $^3J=5.33$ , 2H, OH- $CH_2-CH_2$ ), 1.73 (s, 2H, imidazol- $CH_2-N$ (amino)), 7.83 (td,  $^3J=8.0$  Hz,  $^3J=6.0$  Hz,  $^4J=1.2$  Hz, 1H, H-*m*-piridina), 7.88 (dd,  $^3J=8.0$  Hz,  $^4J=0.8$  Hz, 1H, H-*m*-piridina), 8.42 (td,  $^3J=8.0$  Hz,  $^3J=6.0$  Hz,  $^4J=1.6$ , 1H, H-*p*-piridina), 8.58 (dt,  $^3J=6.0$  Hz,  $^4J=1.6$  Hz,  $^5J=0.8$ , 1H, H-*o*-piridina).

## 5.3 Acoplamiento oxidativo del 2,6-dimetilfenol

### 5.3.1 Preparación de los catalizadores en disolución.

Para el caso de la reacción de acoplamiento oxidativo del 2,6-dimetilfenol. Se preparan disoluciones  $5 \times 10^{-3}$  M de los complejos dinucleares de Cu(II) en acetonitrilo. En el caso de los complejos mononucleares de Cu(II) la concentración es de  $1 \times 10^{-2}$  M en el mismo medio.

Se pesan 0.25 mmol de ligante en el caso de los dinucleantes: *dimp*, *diep*, *dihe* y *dihp*; mientras que para los ligantes monucleantes *mihe* y *miep* se pesan 0.5 mmol. Por otro lado, se disuelve 0.1850 g (0.5 mmol) de  $Cu(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$  en aproximadamente 10 mL de acetonitrilo; la disolución resultante se añade al ligante. Se agita la disolución para

solubilizar totalmente el ligante y se afora a 50 mL. Todas las disoluciones son de color verde a excepción de la disolución con el ligante miep; la disolución de este complejo es de color azul. La tonalidad verdosa de los complejos varía dependiendo del ligante.

El espectro de UV-Vis de la disolución del complejo  $[Cu_2(dihp)(H_2O)_4]^{4+}$  presenta una  $\lambda_{max} = 678 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 166 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). En cuanto a la disolución del complejo  $[Cu_2(dihe)(H_2O)_4]^{4+}$  al instante en que es preparada esta disolución hay que utilizarla, ya que en un lapso de 24 horas comienza a aparecer un sólido de color verde claro señal de que está precipitando  $[Cu_2dihp](ClO_4)_4$ . El espectro de UV-Vis de la disolución de dicho complejo presenta una  $\lambda_{max} = 675 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 146 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).

El espectro de UV-Vis de la disolución del complejo  $[Cu_2(dimp)(H_2O)_4]^{4+}$  presenta una  $\lambda_{max} = 623 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 288 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), mientras que el espectro de UV-Vis de la disolución del complejo  $[Cu_2(diep)(H_2O)_4]^{4+}$  presenta una  $\lambda_{max} = 625 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 262 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).

En el caso de los complejos mononucleares de Cu(II). El espectro de UV-Vis de la disolución del complejo  $[Cu(miep)(H_2O)_2]^{2+}$  presenta una  $\lambda_{max} = 614 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 101 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) mientras que el espectro de UV-Vis de la disolución del complejo  $[Cu(mihe)(H_2O)_2]^{2+}$  presenta una  $\lambda_{max} = 657 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 82 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).

### 5.3.2 Polimerización del 2,6-dimetilfenol catalizado por los complejos bioinspirados de Cu(II).

Se realizan 3 experimentos por cada catalizador. Los componentes se añaden respetando el siguiente orden: sustrato, disolvente (medio), base y catalizador. La base que se ocupa es una disolución 0.1 M de N, N, N-trietilamina en acetonitrilo.

En la tabla 5.3.1 se resumen las cantidades necesarias para llevar a cabo las reacciones catalíticas con la finalidad de tener una relación 1:40 de [sustrato]: [catalizador] y respetar la relación 1:1 del medio acetonitrilo/agua. El agente oxidante es el O<sub>2</sub> del aire que es inyectado continuamente mediante un sistema conformado por un matraz Kitasato tapado con un corcho y una pipeta pasteur. El flujo de aire comienza cuando el sistema es conectado al vacío.

**Tabla 5.3.1.** Cantidades de los reactivos por utilizar en las reacciones catalíticas.

Sustrato (DMP) (g)	Acetonitrilo (mL)	Agua (mL)	Base 0.1M (mL)	Catalizador 5 x10 <sup>-3</sup> M (dinucleares) o 0.01 M (mononucleares) (mL)
0.488	40	100	40	20

Cada reacción montada se mantiene a una temperatura de 25°C y se sella perfectamente para evitar la evaporación del acetonitrilo durante las 24 horas que dura la reacción catalítica. Los productos que se obtienen de las reacciones catalizadas por los complejos dinucleares y mononucleares de Cu(II) son sólidos verdes por lo que se someten a un proceso de purificación; que consiste en disolver dicho sólido en aproximadamente 5 mL de cloroformo para posteriormente realizar una filtración por gravedad retirando las impurezas en el producto de polimerización. Al filtrado obtenido se le añaden aproximadamente 10 mL de metanol y 3 gotas de EDTA al 5% en agua. El producto se filtra a vacío utilizando unos filtros especiales de membrana; cuyo tamaño de poros es de 22 micrómetros posteriormente se deja secar a vacío. Se obtiene el rendimiento de la reacción y el producto de polimerización se analiza por <sup>1</sup>H-RMN.

### 5.3.3 Variación de las condiciones de la reacción de polimerización del 2,6-dimetilfenol

Todas las reacciones se hacen por triplicado en el sistema de inyección de aire continuo sellado para evitar la evaporación del acetonitrilo.

#### a) Variación de la relación [Sustrato]:[Catalizador]

Para la relación 1:40 de [Sustrato]:[Catalizador] el procedimiento experimental se encuentra descrito en la sección 5.3.2. En el caso de la relación 1:20 [Sustrato]:[Catalizador] se modifican las cantidades de los reactivos para obtener dicha relación [Sustrato]:[Catalizador] y para mantener la relación 1:1 del medio MeCN:H<sub>2</sub>O. En la siguiente tabla 5.3.2 se puede observar el resumen de las cantidades de los reactivos.

**Tabla 5.3.2.** Cantidades de los reactivos por utilizar para las reacciones catalíticas 1:20 [Sus]:[Cat].

Sustrato (DMP) (g)	Acetonitrilo (mL)	Agua (mL)	Bas e 0.1M (mL)	Catalizador 5 x10 <sup>-3</sup> M (dinucleares) o 0.01 M (mononucleares) (mL)
0.244	100	60	20	20

De igual manera, cada reacción montada se mantiene a una temperatura de 25°C y se sella perfectamente para evitar la evaporación del acetonitrilo durante las 24 horas que dura la reacción catalítica. Los productos obtenidos se someten al proceso de purificación descrito anteriormente. Se determina el % de rendimiento de las reacciones de polimerización y los productos se analizan mediante <sup>1</sup>H-RMN.

#### b) Variación de la temperatura

Para saber el efecto de la temperatura sobre las reacciones catalíticas se sigue el mismo procedimiento de la sección 5.3.2 con la diferencia de que dichas reacciones catalíticas se llevan a cabo a 35 y 45°C. Sin olvidar que cada experimento se realiza por triplicado utilizando el sistema de inyección de aire continuo, además de que los productos se purifican y se analizan mediante <sup>1</sup>H-RMN.

### c) Variación del medio MeCN/H<sub>2</sub>O

La variación del medio de MeCN/H<sub>2</sub>O se realiza en las proporciones: 3:1 más acetonitrilo y 1:3 más agua, manteniendo la relación 1:40 [Catalizador]:[Sustrato] y a 35°C cada una de las reacciones catalíticas. En la siguiente tabla 5.3.3 se resume las cantidades de los reactivos para cada una de las pruebas del medio de reacción.

**Tabla 5.3.3.** Cantidades de los reactivos por utilizar para las reacciones catalíticas 1:20 [Sus]:[Cat].

Sustrato (DMP) (g)	Acetonitrilo (mL)	Agua (mL)	Base 0.1M (mL)	Catalizador 5 x10 <sup>-3</sup> M (dinucleares) o 0.01 M (mononucleares) (mL)
0.488	90	50	40	20
0.488	10	150	20 de una disolución 0.2M	20

Cada experimento se realiza por triplicado utilizando el sistema de inyección de aire continuo, además los productos obtenidos se someten al proceso de purificación descrito anteriormente, además de que los productos se analizan mediante <sup>1</sup>H-RMN.

## 5.4 Acoplamiento oxidativo del 2-aminofenol

### 5.4.1 Estudios preliminares

Los primeros estudios de acoplamiento oxidativo de 2-aminofenol para producir la 2-amino-3H-fenoxazin-3-ona consisten en demostrar mediante espectrofotometría UV-Vis que los complejos bioinspirados de Cu(II) son capaces de catalizar este proceso oxidativo; para ello se sigue el crecimiento de la banda en  $\lambda_{\max}=430$  nm que corresponde a la absorción del cromóforo de fenoxazinona. El coeficiente de absortividad molar del cromóforo de la fenoxazinona se determinó mediante una curva patrón en metanol obteniéndose un valor de 18 343 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> a 430 nm.

Todos los experimentos se llevaron de la misma manera; disolviendo 0.0109 g de 2-aminofenol en 99 ml de metanol grado espectrofotométrico dentro del sistema de inyección continuo de aire, posteriormente se adiciona 1mL de una disolución 0.001 M del complejo dinuclear de Cu(II) en metanol, mientras que los experimentos con los complejos mononucleares de Cu(II) se añade un 1mL de una disolución de 0.002 M en metanol. De estas mezclas, rápidamente se toma una alícuota de aproximadamente 3 mL para colocarla en una celda de 1cm de paso óptico e iniciar el análisis espectrofotométrico UV-Vis. Inmediatamente después de la adición de la mezcla de reacción se adquieren los espectros UV-Vis cada 5 min durante 60 min. El blanco para la técnica espectrofotométrica es únicamente metanol.

El resto de la mezcla que se encuentra en el sistema de inyección de aire se conecta al vacío para suministrarle dicho gas y dejarla durante 24 horas a 25°C con agitación constante. Después de las 24 hrs, se toma un alícuota de 1 mL y se afora a 10 ml para adquirir el espectro UV-Vis; así obtener el valor de absorbancia en  $\lambda_{\max}=430$  nm y calcular la cantidad de producto de acoplamiento oxidativo mediante una curva de calibración por estándar externo.

#### **5.4.2 Estudio cinético de la reacción de acoplamiento del 2-aminofenol.**

El estudio cinético se realiza mediante la técnica de *stopped-flow*. Las disoluciones de partida se realizan en metanol grado espectrofotométrico a 25°C, condiciones que se mantuvieron constantes durante **todo** el análisis cinético. De igual manera el blanco en todos los experimentos es únicamente metanol grado espectrofotométrico. Es importante mencionar que el material necesario tanto la preparación como el almacenamiento de la disolución de OAP, estuvo sumergido en una disolución acuosa de EDTA 0.025M. Antes de utilizar dicho material se enjuagó exhaustivamente con abundante agua destilada y metanol para evitar impurezas.

Todos los experimentos se llevaron a cabo de la misma manera; por un lado, en el equipo de *stopped-flow* se coloca la solución del sustrato y por otro lado la solución del catalizador. El mezclado de estas dos disoluciones se realiza mecánicamente.

Inmediatamente del mezclado se inicia la obtención de la curva de A vs. T en  $\lambda_{\text{max}}=430$  nm cada 0.5 s durante 100 s. Cada una de las mediciones se realizó 10 veces.

Para el estudio cinético de esta reacción oxidativa se divide en:

**a) Comportamiento cinético al variar la concentración de catalizador.**

Para determinar la influencia de la concentración del catalizador en la velocidad de reacción, se realizan mediciones manteniendo constante la concentración de sustrato.

Se preparan 5 disoluciones con volumen final de 10 mL de distintas concentraciones de los complejos bioinspirados de Cu(II) a partir de disoluciones stock de 0.2Mm para el caso de los complejos dinucleares y 0.4 M para el caso de los complejos mononucleares. Además, se prepara por cada estudio de catalizador una disolución stock de 8Mm del sustrato. La siguiente tabla 5 muestra las concentraciones de cada reactivo para este estudio.

**Tabla 5.4.1.** Tabla de concentraciones de reactivos para los complejos dinucleares para el estudio cinético.

$[\text{Cu}_2\text{L}]_{\text{disolución}}$ (mM)	$[\text{Cu}_2\text{L}]_{\text{celda}}$ (mM)	$[\text{OAP}]_{\text{celda}}$ (mM)
0.02	0.01	0.4
0.04	0.02	
0.06	0.03	
0.08	0.04	
0.1	0.05	

**Tabla 5.4.2.** Tabla de concentraciones de reactivos para los complejos mononucleares para el estudio cinético.

$[\text{CuL}]_{\text{disolución}}$ (mM)	$[\text{CuL}]_{\text{celda}}$ (mM)	$[\text{OAP}]_{\text{celda}}$ (mM)
0.04	0.02	0.4
0.08	0.04	
0.12	0.06	
0.16	0.08	
0.2	0.1	

De las gráficas de la absorción a 430nm en función del tiempo, se determinaron las velocidades iniciales obtenidas por la pendiente, mediante un ajuste matemático no lineal, en unidades de  $\Delta A/s$ . Estos datos se convirtieron a unidades de concentración de APX producida por medio del valor de coeficiente de absortividad molar de este cromóforo en metanol con la finalidad de construir los gráficos de  $v_0$  vs. [catalizador].

**b) Comportamiento cinético al variar la concentración del sustrato**

El efecto de la concentración del sustrato sobre la velocidad de reacción se determina para todos los complejos bioinspirados de Cu(II) manteniendo la concentración de catalizador constante; para el caso de los complejos dinucleares de Cu(II) es de 0.02mM en 25mL, mientras que los complejos mononucleares de Cu(II) es de 0.04mM en 25mL. En todos los casos las disoluciones se realizan en metanol. Se preparan 11 disoluciones a distintas concentraciones en un volumen final de 10 ml de OAP en un intervalo de 0.1 mM a 6 mM, en metanol para todos los casos. Para las distintas disoluciones se prepararon dos diferentes disoluciones stock. Para estudiar el intervalo de 0.1 a 1 Mm se preparó una disolución de 2mM, mientras que para el estudio del intervalo de 1 a 6 mM se preparó una disolución stock de 20mM. En la siguiente tabla se resume las concentraciones utilizadas en este estudio.

**Tabla 5.4.3.** Tabla de concentraciones de reactivos para los complejos mononucleares y dinucleares para el estudio cinético.

[Cu <sub>2</sub> L] <sub>celda</sub> = 0.01Mm			[CuL] <sub>celda</sub> = 0.02mM		
[OAP] <sub>disolución</sub> (mM)	[OAP] <sub>celda</sub> (mM)	Relación Cu <sub>2</sub> L: OAP	[OAP] <sub>disolución</sub> (mM)	[OAP] <sub>celda</sub> (mM)	Relación CuL: OAP
0.2	0.1	1:10	0.2	0.1	1:5
0.4	0.2	1:20	0.4	0.2	1:10
0.8	0.4	1:40	0.8	0.4	1:20
1.2	0.6	1:60	1.2	0.6	1:30
1.6	0.8	1:80	1.6	0.8	1:40
2	1	1:100	2	1	1:50
4	2	1:200	4	2	1:100
6	3	1:300	6	3	1:150
8	4	1:400	8	4	1:200
10	5	1:500	10	5	1:250
12	6	1:600	12	6	1:300

De las gráficas de la absorción a 430nm en función del tiempo, se determinaron las velocidades iniciales obtenidas por la pendiente, mediante un ajuste matemático no lineal, en unidades de  $\Delta A/s$ . Estos datos se convirtieron a unidades de concentración de APX producida por medio del valor de coeficiente de absortividad molar de este cromóforo en metanol con la finalidad de construir los gráficos de  $v_0$  vs. [OAP].

# Capítulo 6

## REFERENCIAS

- 
- <sup>1</sup> Koval, A. I., Gamez, P., Belle, C., Selmeczi, K., Reedijk, J., *Chem. Soc. Rev.*, **2006**, 35, 814-840
- <sup>2</sup> Linder, M.V., Goode, C.A, *Biochemistry of Copper*. Plenum Press, N.Y, **1991**.
- <sup>3</sup> Koch, K., Peña, M.M., Thiele, D.J., *Chemistry and Biology.*, **1997**, 4, 549-560.
- <sup>4</sup> Gerdemann, C., Eicken, C., Krebs, B., *Acc. Chem. Res.*, **2002**, 35, 183-191.
- <sup>5</sup> Roat-Malone, R.M., *Bioinorganic Chemistry*. New Jersey, **2002**.
- <sup>6</sup> Solomon E.I., Sundaram U.M., Machonkin T.E., *Chem. Rev.*, **1996**, 96, 2563-2603.
- <sup>7</sup> Kaim, W., Schweders, B., Klein, A., *Bioinorganic Chemistry: Inorganic elements in the chemistry of life*. Weinbaden, second edition, **2013**.
- <sup>8</sup> Sheldon, R.A., Arends, I., Hanefeld, U., *Green Chemistry and Catalysis*. Wiley-VCH, Weinheim, 2007.
- <sup>9</sup> Minaev, B.F., Minaeva, V.A., *Ukrainica Bioorganica Acta.*, 2008, 2, 56-64.
- <sup>10</sup> Karlin, K.D., Itoh, S., *Copper-Oxygen Chemistry*. New Jersey, 4 edition, **2011**.
- <sup>11</sup> Fukusumi, S., Yamada, Y., Karlin, K.D., *Electrochimica Acta.*, **2012**, 82, 493– 511.
- <sup>12</sup> Ochiai, E.I, *Química bioinorgánica: una introducción*. University of British Columbia, 2<sup>a</sup> edición **2003**.
- <sup>13</sup> Peralta, R.A., Bortoluzzi, A.J., Szpoganicz, B., Brandao, T.A.S., Castellano, E.E., Bof de Oliveira, M., Severino, P.C., Terenzi, H., Neves, A., *J. Phys. Org.Chem.*, **2010**, 23, 1000–1013
- <sup>14</sup> Majumder, S., Sarkar, S., Sasmal, S., Sanudo, E.C., Mohanta, S., *Inorg. Chem.*, 50, **2011**, 7540–7554.
- <sup>15</sup> Koval, I.A., Belle, C., Selmeczi, K., Philouze, C., Saint-Aman, E., Schuitema, A.M., Gamez, P., Pierre, J.-L., Reedijk, J., *J. Biol. Inorg. Chem.*, **2005**, 10, 739–750.
- <sup>16</sup> Koval, I.A., K. Selmeczi, Belle, C., Philouze, C., Saint-Aman, E., Gautier-Luneau, I., Schuitema, A.M., van Vliet, M., Gamez, P., Roubeau, O., Lueken, M., Krebs, B., Lutz, M., Spek, A.L., Pierre, J.-L., Reedijk, J. *Chem. Eur. J.*, **2006**, 12, 6138–6150.
- <sup>17</sup> Gasque, L., Ugalde-Saldivar, V.M., Membrillo, I., Olguin, J., Mijangos, E., Bernes, S., Gonzalez, I. *J. Inorg. Biochem.* **2008**, 102, 1227–1235.
- <sup>18</sup> Qiu, J.-H., Liao, Z.-R., Meng, X.-G., Zhu, L., Wang, Z.-M., Yu, K.-B., *Polyhedron.*, **2005**, 24, 1617–1623.

- <sup>19</sup> Olguín Talavera, Juan Leopoldo. *Compuestos dinucleares de cobre con ligantes derivados de imidazol y aminos*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM. México D.F. 2003.
- <sup>20</sup> Mendoza-Díaz, G., Driessen, W.L, Reedijk, J., Gorter, S., Gasque, L., Thompson, K.R., *Inorg. Chim. Acta.*, **2002**, 339, 51-59.
- <sup>21</sup> Gonzalez-Sebastian, L., Ugalde-Saldivar, V.M., Mendoza-Quijano, M.R., Mijangos, E., Ortiz-Frade, L.A., Gasque, L., *Journal of Inorganic Biochemistry*, **2010**, 104, 10, 1112-1118.
- <sup>22</sup> Mendoza-Quijano, M.R., Ferrer-Sueta, G., Flores-Álamo, M., Aliaga-Alcalde, N., Gómez-Vidales, V., Ugalde-Saldivar, V.M., Gasque, L., *Dalton Trans.*, **2012**, 41, 4985-4997.
- <sup>23</sup> Zerón, P., Westphal, M., Comba, P., Flores-Álamo, M., Stueckl, A. C., Leal-Cervantes, C., Ugalde-Saldivar, V.M., Gasque, L., *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2017**, 56-62.
- <sup>24</sup> Membrillo Solís, Ingrid Amaranta. *Síntesis y caracterización cinética y electroquímica de complejos mononucleares de cobre (II) análogos a sistemas dinucleares*. Tesis de Maestría. Facultad de Química, UNAM. México D.F. **2008**.
- <sup>25</sup> Martinez, A., Membrillo, I., Ugalde-Saldivar, V.M., Gasque, L., *Journal of Physical Chemistry*, **2012**, 116, 8038-8044.
- <sup>26</sup> Barton, D.H., James, R., Kirby, G.W., Turner, D.W., Widdowson, D.A., *J.Chem.Soc.*, **1968**, 1529-1537.
- <sup>27</sup> More, N.Y., Jeganmohan, M., *Chem. Commun.*, **2017**, 53, 1616-1619.
- <sup>28</sup> Tsuruya, S., Yonezawa, T., Kato, H., *J. Phys. Chem.*, **1974**, 78, 811-816.
- <sup>29</sup> Quideau, S., Deffieux, D., Pouységu, L., *Comprehensive Organic Synthesis II.*, **1991**, 3, 659-703.
- <sup>30</sup> Hay, A. S., Blanchard, H. S., Endre, G. F., Eustance, J. W., *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, 81, 6335-6336.
- <sup>31</sup> Gamez, P., Gupta, S., Reedijk, J., *C. R. Chimie.*, **2007**, 10, 295-304.
- <sup>32</sup> Kim, M., Feng, X., Kim, T.Y., Kim, J-In., Yun, J., *Macromol. Res.*, **2013**, 21, 1054-1058.
- <sup>33</sup> Liao, B-S., Liu, Y-H., Peng, S-M., Liu, S-T., *Dalton Trans.*, **2012**, 41, 1158-1164.
- <sup>34</sup> Kobayashi, S., Higashimura, H., *Prog. Polym. Sci.*, **2003**, 28, 1015-1048.
- <sup>35</sup> Viersen, F.J., Challa, G., Reedijk, J., *Polymer.*, **1990**, 31, 1361-1367.
- <sup>36</sup> Ionescu, M., Mihis A. B., *Macromol. Symp.*, **1997**, 122, 249-256.
- <sup>37</sup> Mijs, W.J., Van Lohuizen, O.E., Bussink, J., Vollbracht, L., *Tetrahedron.*, **1967**, 23, 2253-2264.
- <sup>38</sup> Gupta, S., van Dijk, J., Gamez, P., Galla, G., Redijk, J. *Applied Catalysis A: General.*, **2007**, 319, 163-170.
- <sup>39</sup> Baesjou, P.J., Driessen, W.L., Challa, G., Reedijk, J., *J Mol Catal A: Chem.*, **1996**, 110-195
- <sup>40</sup> Viersen, F.J., Challa, G., Reedijk, J., *Polymer.*, **1990**, 31, 1368-1373.
- <sup>41</sup> Mendieta Martínez, Alan Ulises. Acoplamiento oxidativo 2,6-dimetilfenol catalizado por compuestos dinucleares de Cu(II). Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM. México D.F. **2016**.
- <sup>42</sup> Morett Aguilar, Diego Emilio. Acoplamiento oxidativo de fenoles sustituidos catalizado por compuestos de coordinación de Cu(II) con ligantes derivados de imidazol. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM. México D.F. **2016**.
- <sup>43</sup> Gamez, P., Simons, C., Aromi, G., Driessen, W. L., Challa, G., Reedijk, J., *Applied Catalysis A: General.*, **2001**, 214, 187-192.

- <sup>44</sup> Saito, K., Pant, S., Hearn, M.T.W., *Journal of Applied Polymer Science*, **2011**, 1174-1180.
- <sup>45</sup> Horvath, T., Kaizer, J., Speier, G., *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2004**, 215, 9-15.
- <sup>46</sup> Dey, S.K., Mukherjee, A., *Coordination Chemistry Reviews.*, **2016**, 310, 80-115.
- <sup>47</sup> Katz, E., Weissbach, H., *J. Biol. Chem.*, **1962**, 237, 882-886.
- <sup>48</sup> Smith, A.W., Camara-Artigas, A., Wang, M., Allen, J.P., Francisco, W.A., *Biochemistry.*, **2006**, 45, 4378-4387.
- <sup>49</sup> Simandi, L.I., Nemeth, S., Rumelis, N., *J. Mol. Catal.*, **1987**, 42, 357-360.
- <sup>50</sup> Simandi, L.I., Barna, T., Nemeth, S., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1996**, 473-478.
- <sup>51</sup> Simandi L.I., Barna, T.M., Korecz, L., Rockenbauer, A., *Tetrahedron Lett.*, **1993**, 34, 717.
- <sup>52</sup> Hassanein, M., Abdo, M., Gerges, S., El-Khalafy, S., *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2008**, 287, 53-56.
- <sup>53</sup> Panja, A., Guionneau, P., *Dalton Trans.*, **2013**, 42, 5068-5075.
- <sup>54</sup> Panja, A., Shyamal, M., Saha, A., Mandal, T.K., *Dalton Trans.*, **2014**, 43, 5443-5452.
- <sup>55</sup> Panja, A., *Dalton Trans.*, **2014**, 43, 7760-7770.
- <sup>56</sup> Panja, A., *Polyhedron.*, **2014**, 80, 81-89.
- <sup>57</sup> Szigyártó, I.C., Simandi, T.M., Simandi, L.I., Korecz, L., Nagy, N., *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical.*, **2006**, 251, 270-276.
- <sup>58</sup> Kaizer, J., Barath, G., Csonka, R., Speier, G., Korecz, L., Rockenbauer, A., Parkanyi, L., *J. Inorg. Biochem.*, **2008**, 102, 773-780.
- <sup>59</sup> Panja, A., *Polyhedron*, **2014**, 79, 258-268.
- <sup>60</sup> Panja, A., *RSC Adv.*, **2014**, 4, 37085-37094.
- <sup>61</sup> Dey, S.K., Mukherjee, A., *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2014**, 395, 186-194
- <sup>62</sup> Dey, S.K., Mukherjee, A., *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2015**, 407, 93-101
- <sup>63</sup> Mukherjee, C., Weyhermueller, T., Bothe, E., Rentschler, E., Chaudhuri, P., *Inorg. Chem.*, **2007**, 46, 9895-9905.
- <sup>64</sup> Munoz-Munoz, J.L., Garcia-Molina, F., Garcia-Ruiz, P.A., Varon, R., Tudela, J., Rodriguez-Lopez, J.N., Garcia-Canovas, F., *Biochim. Biophys. Acta, Proteins Proteomics.*, **2011**, 1814, 1974-1983.
- <sup>65</sup> Kaizer, J., Baráth, G., Speier, G., Korecz, L., Rockenbauer, A., Párkányi, L., *Journal of Inorganic Biochemistry.*, **2008**, 102, 773-780.
- <sup>66</sup> El-Khalafy, S., Hassanein, M., *Catalysis Communications.*, **2013**, 40, 125-128.
- <sup>67</sup> Ghosh, K., Harms, K., Chattopadhyay, S., *Polyhedron.*, **2017**, 123, 162-175.
- <sup>68</sup> Gui, L., Wang, H., Shentu, B., Weng, Z., *J. Appl Polym.*, **2013**, 2919-2926
- <sup>69</sup> Bitzer, J., Große, T., Wang, L., Lang, S., Beil, W., Zeeck, A., *J. Antibiot.*, **2006**, 59, 86-92.
- <sup>70</sup> Giurg, M., Piekalska, K., Gełbala, M., Ditkowski, B., Wolanowski, M., Peczynska-Czoch, W., Młochowski, J., *Synthetic Communications.*, **2007**, 37, 1779-1789.
- <sup>71</sup> Székely, G., Bagi, N., Kaizera, J., Speiera, G. *New J. Chem.*, **2013**, 37, 1-3.
- <sup>72</sup> Sousa, A. C., Oliveira, M. C., Martins, L. O., Robalo, M. P., *Green Chem.*, **2014**, 16, 4127-4136.
- <sup>73</sup> Olmazu, C., Puiu, M., Babaligea, I., Raducan, A., Oancea, D., *Applied Catalysis A: General*, **2012**, 448, 74-80
- <sup>74</sup> Cavill, G.W.K., Clezy, P.S., Whitfield, F.B., *Tetrahedron.*, **1961**, 12, 139-145.
- <sup>75</sup> J.H. Segel, *Enzyme Kinetics*. John Wiley. Nueva York, **1975**.

---

<sup>76</sup> Izquierdo, J. F, Cunill, F, Tejero, J, Iborra, M, *Cinética de las reacciones químicas*.  
Universidad de Barcelona, **2004**.

<sup>77</sup> Ahmed Inamdar, S. T, *Biochemical Engineering. Principles and Concepts*, 3<sup>ra</sup> edición,  
**2012**.

<sup>78</sup> Loginova, N.V., Koval'chuk, T.y.V., Zheldakova, R.A., Osipovich, N.P., Sorokin, V.L.,  
Polozov, G.I., Ksendzova, G.A., Glushonok, G.K., Chernyavskaya, A.A., Shadyro, O.I., *Bioorg.*  
*Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16, 5403–5407.