



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS
INSTITUTO DE QUÍMICA

Estudio de complejos de Fe con ligantes tipo NS_x , inspirados en el sitio activo de la Nitrogenasa

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

L.A.Q.B. VICTOR EULOGIO LOPEZ GUERRERO

TUTOR PRINCIPAL

DR. IVAN CASTILLO PÉREZ
INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM

Ciudad Universitaria, Cd. Mx., Julio de 2019



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

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

*Estudio de complejos de Fe con ligantes tipo NS_x inspirados en el sitio activo de la
Nitrogenasa*

**TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE**

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

L.A.Q.B. VICTOR EULOGIO LOPEZ GUERRERO



Ciudad de México, Julio de 2019

AGRADECIMIENTOS:

La **Universidad Nacional Autónoma de México**, por contribuir a mi formación académica y profesional, por la infraestructura académica y los apoyos otorgados durante mi maestría.

Al **Conacyt** por apoyarme con la beca que me permitió realizar mis estudios de maestría a través de la beca número 626723.

A **DGAPA-PAPIIT** por el apoyo financiero para el desarrollo del proyecto de tesis.

Al **Instituto de Química de la UNAM**, por facilitarme el uso de sus instalaciones y brindarme un ambiente de hogar.

Al **Dr. Iván Castillo Pérez** por darme la confianza de pertenecer a su grupo de investigación, por sus consejos desde el primer día, por todo el conocimiento y habilidades que compartió conmigo, por ser una persona exigente y flexible cuando se necesitaba, por ser una excelente persona y un excelente tutor. Finamente le agradezco por formar ahora parte de las personas que más admiro y estimo. Un claro ejemplo a seguir.

A los **miembros del jurado de examen**, por el tiempo que se dieron en leer este trabajo, por los aportes y por lo consejos tan valiosos que contribuyeron a la redacción del escrito.

Al **Dr. Marcos Flores Álamo** por el soporte con la elucidación de las estructuras de rayos-X.

A la **M. en C. Virginia Gómez Vidales** por el apoyo con los experimentos de resonancia paramagnética electrónica.

A la **Q.F.B. María del Rocío Patiño Maya** por los estudios de IR y ATR y por su amable trato.

A la **Q. María de la Paz Orta** por la contribución con los análisis elementales.

Al **Dr. Francisco Javier Pérez Flores** y al **I.Q. Luis Velasco Ibarra** por la espectrometría de bajas por ionización de IE y FAB.

Al **personal académico y administrativo** del instituto de química por su labor diaria.

Al **Dr. Elvis Robles Marín**, por entrenarme en todas las técnicas de un laboratorio de química, por ser paciente conmigo, por darme la confianza de trabajar en el desarrollo de parte importante de sus innumerables proyectos, lo que me permitió experimentar no sólo con la parte de síntesis, sino con la parte espectroscópica de compuestos inorgánicos. Por ser un trabajador inalcanzable y un excelente sensei, muchas gracias.

A mis padres **Ma. Victoria Guerrero Contreras** y **Eulogio López Hernández**, y a mis hermanos **Branditos, Bryan, Walter** y **Rubi**, por ser ese soporte que ha estado presente durante cada segundo de mi vida, por su confianza, su amor y su apoyo. Muchas gracias.

A mis amigos **Alitzel Valadez, Brenda Saavedra, Cecilia Ortiz, Fernanda Portugal, Karla Ruvalcaba, Arturo Jimenez** y **Cristian Tovar**, por aportar diversión, risas, cariño y apoyo. Por ser los amigos que han decidido mantenerse a mi lado durante todo este tiempo y que cualquier persona envidiaría tener.

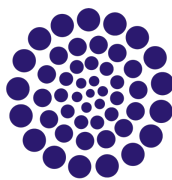
A todos mis compañeros del laboratorio **4C/2-2** de química bioinorgánica y supramolecular. Por sus consejos en el laboratorio y sus aportes en seminarios, pero también por su amistad, sus anécdotas, sus chistes, su buena vibra y por hacerme sentir orgulloso de pertenecer a este grupo de investigación, a Armando Berlanga por su apoyo en los estudios de electroquímica y aporte de ideas y recomendaciones, a Cristina García por sus consejos en cristalización, a Carolina Neira por enseñarme a utilizar la caja de guantes y escuchar mis dudas existenciales, a Erick Ramírez, Carlos Reyes y José Monroy por ayudarme a resolver problemas técnicos en el laboratorio, y a Natalia Muñoz y Andrea Torres por ser unas compañeras de generación que me acompañaron durante casi toda la maestría. También a los compañeros del laboratorio **2-2** en la sección de química orgánica, por toda la confianza que me brindaron, por sus encuestas, sus burlas y su buena selección de música para que todo fluyera mejor en el laboratorio.

Universidad Nacional Autónoma de México

Impreso en México, Ciudad de México. 2019 por Victor Eulogio López Guerrero.



INSTITUTO
DE QUÍMICA **CONACYT**



Posgrado
Ciencias
Químicas


MIEMBROS DEL JURADO

| | | |
|-------------------|--|---|
| Presidente | Dr. Juventino José García Alejandre | Facultad de Química, UNAM |
| Vocal | Dr. David Morales Morales | Instituto de Química, UNAM |
| Vocal | Dra. Liliana Quintanar Vera | Departamento de Química, CINVESTAV |
| Vocal | Dr. Nazario López Cruz | UAEMor |
| Secretario | Dra. Claudia Paola Gómez-Tagle Chávez | Facultad de Química, UNAM |

PRESENTACIÓN EN EVENTOS ACADÉMICOS


XIX BMIC – VI LaBIC – VIII BMRE:

Presentación en modalidad de cartel: *Sulfur-rich diiron complexes inspired by Nitrogenase*.
 XIX Brazilian Meeting on inorganic Chemistry – VI Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry – VIII Brazilian Meeting on Rare Earths. Fortaleza, Brazil. 24-28 Septiembre de 2018.
 (Premio a mejores carteles por la *Royal Society of Chemistry*)*



Sulfur-rich diiron complexes inspired by Nitrogenase

Victor Eulogio Lopez Guerrero¹; Elvis Robles-Marin¹ and Ivan Castillo^{1*}
¹Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México,
 Ciudad de México, Circuito Exterior, CU, 04510, México
 vic.e.lpz@hotmail.com; elvisrobles@gmail.com; joseivan@unam.mx*



INSTITUTO DE QUÍMICA

Introduction

Nitrogen is an essential element for life, and the supply of biologically available nitrogen limits the productivity of many ecosystems. The most abundant source of nitrogen is N₂; however, this molecule has a restricted reactivity¹. N₂ fixation is essential for the absorption of nitrogen by living organisms, providing more reactive chemical species, such as NH₃, which may be bio-processed by most of the organisms.

Diazotrophic microorganism provide a bioavailable source of nitrogen by means of nitrogenases enzymes. Nitrogenases are oxygen-sensitive metal holoenzymes which reduces dinitrogen under ambient conditions, fuelled by Mg-ATP². The most studied nitrogenases are the molybdenum and vanadium nitrogenases, the latter features the FeV cofactor [V7Fe8S-C₂CO]_p. N₂ binding was suggested to occur at one or more iron atoms³. A recent report of the vanadium nitrogenase, supports N₂ activation by coordination at Fe-2 and Fe-6 atoms⁴.

Ligand design

In our research group iron complexes supported by NS₂ and NS₃ donors have been studied as promising bioinspired systems⁵. In this sense, based on previous reports about the mechanism of N₂ fixation by nitrogenases, these include a μ²-bridging intermediate. The present work shows the development of the synthetic O-bridged diiron ([Fe]₂-μ-O) supported by pincer-type dianionic [NS]₂²⁻ donors, and its potential relevance to the V-Nitrogenase intermediate.

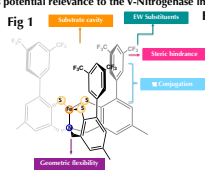


Fig 1

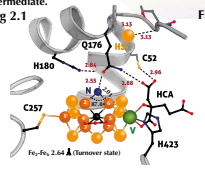


Fig 2.1

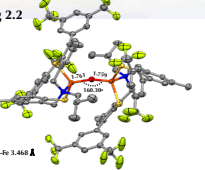
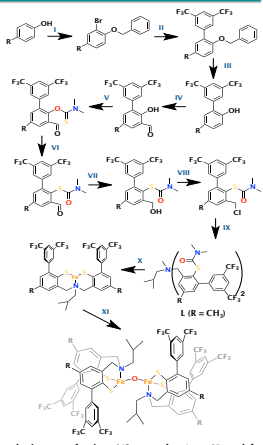


Fig 2.2

Fig 1. Schematic representation of Fe complexes: Substrate cavity to allow the entrance of only small molecules; electron-withdrawing substituents to avoid air oxidation at sulfur; steric hindrance to prevent dimerization (L = NS₂) and geometric flexibility provided by methylene spacers.

Fig 2.1 μ²-bridging intermediate in the "turnover state", where binding results in a flip of Q176, which H-bonds the ligand and creates a holding cavity for displaced S2B sulfide between Fe-2 and Fe-6 of V-Nitrogenase.^{2,4} **Fig 2.2** Mercury-diagram of [LFe]₂-μ-O with 50% of probability (H atoms were omitted for clarity purposes) [Cell: Triclinic; Space group: P1], highlighting the two μ-O iron (III) centers in a rich sulfur environment. The resemblance of this dinuclear iron complex with the μ²-bridging intermediate of V-Nitrogenase takes us closer to a truly synthetic bioinspired complex.

Synthetic route



Synthetic route for iron-NS₂ complex (step XI) and for the diiron complex (step XII), R = CH₃ or F.

EXPERIMENTAL CONDITIONS: I) Br₂/CH₂Cl₂, 12 h R.T., then, K₂CO₃, BzBr, MeCN, 12 h/R.T.; II) 3,5-(CF₃)₂C₆H₃B(OH)₂, Pd(PPh₃)₄, K₂CO₃, DME/H₂O, reflux, 3 days; III) H₂, Pd/C, AcOEt; IV) NEt₃/MgCl₂·(CH₂O)₆, THF, reflux; V) K₂CO₃, DMC, CH₂Cl₂, reflux, 16 h; VI) NaBH(AcO)₃, CH₂Cl₂, 70°C; VII) 230°C/NMP, 15 min.; VIII) 1.5 eq. SOCl₂, CH₂Cl₂, R.T., 12 h; IX) 2 eq. Prec., NaI, K₂CO₃, tBuNH₂, MeCN, reflux, 2 days; X) tBuN(CH₂Siio)₂, MeONa/MeOH, Fe(p-TsO)₃·6H₂O, THF, 65°C, 5 days; XI) [Fe-complex], O₂, R.T.

Characterization

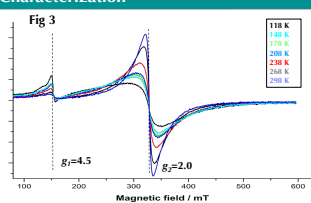


Fig 3. Variable-temperature EPR analysis of diiron complex. Intensity of signals change with T, but g-factors remains the same. According to g values, the complex shows S_{eff}=5/2 with orthorhombic character E/D=0.0505.

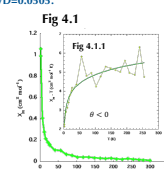


Fig 4.1

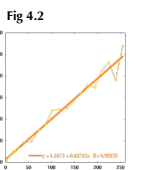


Fig 4.2

Fig 4.1- 4.2 Temperature-dependent magnetic susceptibility analysis of [LFe]₂-μ-O consistent with Curie-Weiss law.⁶ The complex exhibits 6 unpaired electrons at room temperature, due to antiferromagnetic coupling.

Conclusions

- The small rhombic character of [LFe]₂-μ-O is defined by λ = 0.0505 (0 ≤ λ ≤ 1/3), very close to axial symmetry of the crystal field.

Perspectives

- The magnetic properties of diiron complex evidence temperature-dependence and antiferromagnetic coupling, with [2_g-T; θ < 0] and [1/2_g] behaviour (fig. 4.1.1 and 4.2).
- The extraordinary stability of the diiron complex under ambient conditions may provide an air-stable platform for dinitrogen activation.

References

- Holland, P. & Côté, L. J. *Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 7200-7211.
- Sippel, D. et al. *Science*. **2018**, *359*, 1484-1489.
- Robles-Martin, E. et al. *Dalton Transactions*. **2018**. DOI: 10.1039/c8dt01562g
- Thorneley, R. et al. **1993**. *Kinetics and Mechanisms of Nitrogenase*. Ed. Springer, México.
- Gispert, J. **2008**. *Coordination Chemistry*. Wiley, España.

Acknowledgements

This research was supported by DGAPA-PAPIIT IN203317. Also by CONACYT Fellowship #626723 and PAEP support provided by UNAM.

6

Este trabajo de investigación se desarrolló en el Laboratorio 4-C / 2-2 del Instituto de Química de la UNAM bajo la asesoría del Dr. Ivan Castillo Pérez.

Abreviaturas y símbolos

| | |
|-----------------------------------|--|
| A | Angstrom (10^{-10}m) |
| AO | Adición oxidativa |
| BPT | Bipirámide Trigonal |
| °C | Grado Celsius |
| DCM | Diclorometano |
| DME | Dimetoxietano |
| DRX | Difracción de Rayos X |
| $E^{1/2}$ | Potencial de media onda |
| ENDOR | Doble Resonancia Nuclear Electrónica (Electron Nuclear Double Resonance) |
| E^{pa} | Potencial de pico anódico |
| E^{pc} | Potencial de pico catódico |
| EPR | Resonancia Paramagnética Electrónica (Electronic Paramagnetic Resonance) |
| ER | Eliminación reductiva |
| FAB | Bombardeo de átomos rápidos (Fast Atom Bombardment) |
| FeMoco / FeMo | Cofactor FeMo |
| FeVco / FeV | Cofactor FeV |
| HBP | Proceso Haber-Bosch |
| HOMO | Orbital Ocupado de Mayor Energía (Highest Occupied Molecular Orbital) |
| IR | Espectroscopía de Infrarrojos (Infrared Spectroscopy) |
| EI | Impacto Electrónico (Electronic Impact) |
| J | Constante de Acoplamiento |
| L | Ligante |
| LUMO | Orbital Desocupado de Menor Energía (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) |
| MS | Espectrometría de Masas (Mass Spectrometry) |
| M^{N} | FeMo-co en estado basal |
| M^{ox} | FeMo-co oxidado en un electrón |
| M^{R} | FeMo-co reducido |
| m/z | Relación masa-carga |
| mV | Milivoltios |
| NKR | Reacción de Newman-Kwart (Trasposición de Newman-Kwart) |
| PCET | Transferencia de electrón acoplada a protón (Proton-coupled electron transfer) |
| QM/MM | Mecánica cuántica / Mecanismos moleculares (Quantum mechanics/molecular mechanics) |
| RMN ^1H | Resonancia Magnética Nuclear de Protón |
| RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ | Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13 descoplado |
| S | Espín |
| TMS | Tetrametilsilano |
| THF | Tetrahidrofurano |
| UV-Vis | Ultravioleta-Visible |
| δ | Desplazamiento químico |
| μ_{B} | Magnetones de Bohr |

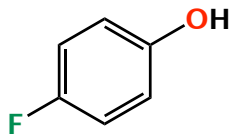
INDICE

| | |
|---|-----------|
| 1. ANTECEDENTES | 16 |
| 1.1 Química de las Metaloproteínas | 16 |
| 1.2 Metaloenzimas metal-azufre | 17 |
| 1.2.1 Hidrógeno e Hidrogenasas | 17 |
| 1.2.2 Nitrógeno y Nitrogenasas | 18 |
| 1.2.2.1 La Nitrogenasa de Vanadio | 21 |
| 1.3 Catálisis Biológica | 22 |
| 1.4 Proceso Haber-Bosch | 27 |
| 1.4 Naturaleza del enlace de la molécula de nitrógeno | 27 |
| 1.5.1 Orbitales moleculares de la molécula de dinitrógeno | 29 |
| 1.5 Catálisis molecular | 31 |
| 1.6.1 Aproximaciones sintéticas de Molibdeno | 32 |
| 1.6.1.1 Modelo de Chatt | 32 |
| 1.6.1.2 Modelo de Cummins | 33 |
| 1.6.1.3 Modelo de Schrock | 34 |
| 1.6.2 Aproximaciones sintéticas de hierro | 36 |
| 1.6.2.1 Modelo mononuclear de Peters | 36 |
| 1.6.2.2 Modelo binuclear de Peters | 37 |
| 1.6.2.3 Modelo de Holland | 38 |
| 2. DISEÑO DE LIGANTES POLIDENTADOS NS_2 COMO ÁTOMOS DONADORES | 39 |
| 2.1 Justificación | 39 |
| 2.2 Objetivos | 40 |
| 2.2.1 Objetivo general | 40 |
| 2.2.1 Objetivos particulares | 40 |
| 2.3 Planteamiento del proyecto | 40 |
| 2.4 Hipótesis | 42 |

| | |
|--|-----------|
| 3. SÍNTESIS DE LIGANTES POLIDENTADOS DE S Y N COMO ÁTOMOS DONADORES | 43 |
| 3.1 Síntesis de tiofenoles: S-ariltiocarbamatos 2,4-disustituídos | 44 |
| 3.2 Síntesis del alcohol bencílico | 51 |
| 3.3 Síntesis del cloruro bencílico | 52 |
| 3.4 Síntesis del ligante tipo pinza | 54 |
| 4. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS METÁLICOS | 57 |
| 4.1 Síntesis del complejo F-NS ₂ -Ni ²⁺ | 57 |
| 4.2 Síntesis del complejo dinuclear (NS ₂ -Fe) ₂ -(μ-O) (12) | 59 |
| 4.2.1 Propiedades estructurales | 60 |
| 4.2.2 Propiedades electrónicas y magnéticas | 62 |
| 4.2.3 Estudios de electroquímica | 67 |
| 4.2.4 Pruebas de reactividad de 12 | 70 |
| 5. CONCLUSIONES | 74 |
| 6. SECCIÓN EXPERIMENTAL | 76 |
| 6.1 General | 76 |
| 6.2 Métodos sintéticos | 78 |
| 7. ANEXOS | 84 |

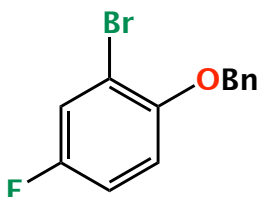
ESTRUCTURAS QUÍMICAS DE LOS COMPUESTOS OBTENIDOS

Estructura química

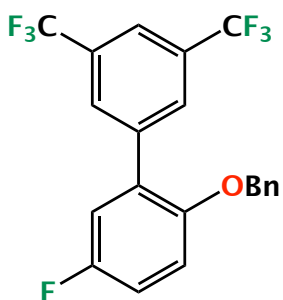


Nombre

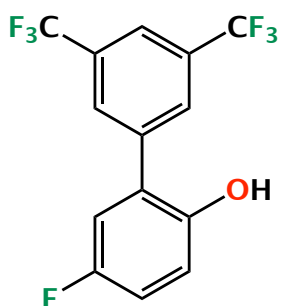
4-fluorofenol (1)
(Precursor comercial)



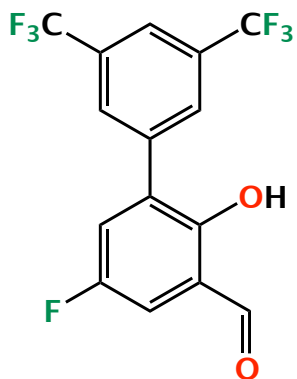
1-(benciloxi)-2-bromo-4-fluorobenceno (2)



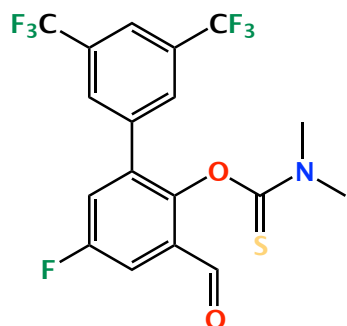
1-(benciloxi)-5-fluoro-3',5'-bis(trifluorometil)-1,1'-bifenilo (3)



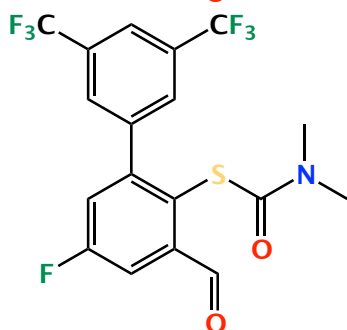
5-fluoro-3',5'-bis(trifluorometil)-[1,1'-bifenil]-2-ol (4)



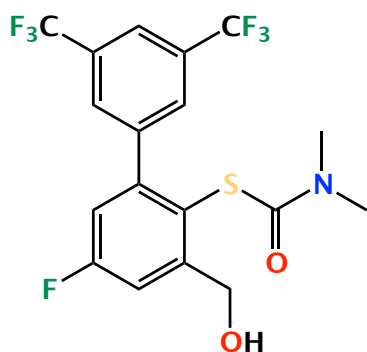
5-fluoro-2-hidroxi-3',5'-bis(trifluorometil)-[1,1'-bifenil]-3-carbaldehído (5)



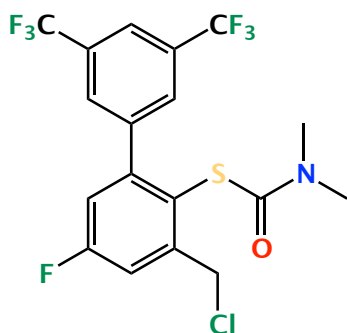
O-(5-fluoro-3-formil-3',5'-bis(trifluorometil)-[1,1'-bifenil]-2-ilo) dimetilcarbamotioato (**6**)



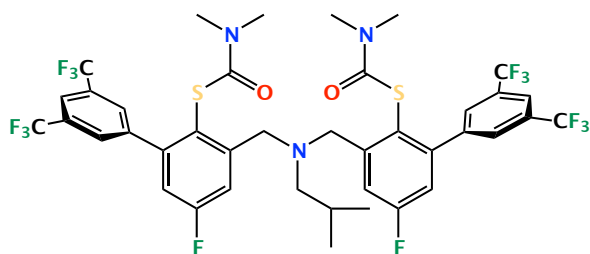
S-(5-fluoro-3-formil-3',5'-bis(trifluorometil)-[1,1'-bifenil]-2-il) dimetilcarbamotioato (**7**)



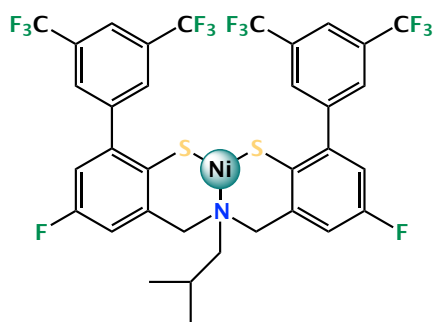
S-(5-fluoro-3-(hidroximetil)-3',5'-bis(trifluorometil)-[1,1'-bifenil]-2-il) dimetilcarbamotioato (**8**)



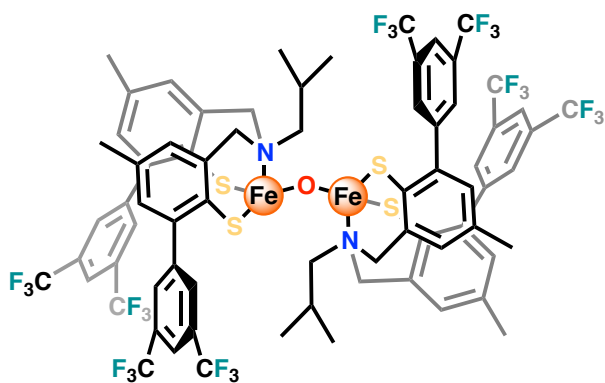
S-(3-(clorometil)-5-fluoro-3',5'-bis(trifluorometil)-[1,1'-bifenil]-2-il) dimetilcarbamotioato (**9**)



S,S'-(((isobutilazanedil)bis(metilen))bis(5-fluoro-3',5'-bis(trifluorometil)-[1,1'-bifenil]-3,2-diil))bis(dimetilcarbamotioato) (**10**)



F-NS₂-Ni (11)



(NS₂-Fe)₂-(μ-O) (12)

RESUMEN

Título: *Estudio de complejos de Fe con ligantes tipo NSx inspirados en el sitio activo de la nitrogenasa*

Autor: *Víctor Eulogio López Guerrero*

Palabras clave: *Hierro, Azufre, Nitrogenasa.*

La producción de amoníaco a partir de nitrógeno gas es uno de los procesos industriales más importantes, debido al uso de amoníaco y otras especies nitrogenadas como precursores para la síntesis de fertilizantes nitrogenados. Actualmente, el método principal para la producción de amoníaco es el proceso Haber-Bosch, que opera bajo condiciones de energía bastante costosas. Por otro lado, microorganismos diazótrofos proveen fuentes bio-aprovechables de nitrógeno a través de las enzimas nitrogenasas a temperatura y presiones ambientales, utilizando una maquinaria biológica bastante compleja, de la cual, se desconoce la forma en que se lleva a cabo esta transformación química. La arquitectura de estas eficientes enzimas nos inspira a preparar análogos sintéticos diseñados para mimetizar sus propiedades estructurales y funcionales, con la finalidad de proveer información sobre el mecanismo catalítico de las especies biológicas y generar nuevos catalizadores sintéticos que permitan la reducción de nitrógeno en condiciones más amigables.

En particular, este proyecto reporta una aproximación sintética a un intermediario parcialmente reducido en el mecanismo catalítico de la reducción de N_2 por la nitrogenasa de vanadio tipo $\mu\text{-OH}$ o $\mu\text{-NH}^2$, utilizando ligantes donadores dianiónicos NS_2 , ampliamente estudiados por nuestro grupo de investigación. También se presentan los estudios estructurales, electrónicos, magnéticos y de reactividad comparativos entre ambos sistemas, mediante diversas técnicas espectroscópicas y electroquímicas. Además, este proyecto reporta la síntesis de un nuevo ligante NS_2 sustituyendo un metilo en posición *para* respecto a los tiolatos donadores por un sustituyente fluoruro, pretendiendo así modular así, las propiedades σ atractoras y π donadoras respecto al análogo metilado. Con este nuevo ligante, se sintetizó y caracterizó un complejo de Ni, pensando en la composición estructural de la hidrogenasa de Ni y Fe, con la finalidad de comparar las propiedades de este complejo con análogos previamente reportados por nuestro grupo de investigación.

ABSTRACT

Title: *Study of Fe complexes with NS_x-type ligands inspired on the active site of nitrogenase*

Author: *Víctor Eulogio López Guerrero*

Keywords: *Iron, Sulfur, Nitrogenase.*

The production of ammonia from nitrogen gas is one of the most important industrial processes, owing to the use of ammonia and other nitrogen sources as raw materials for nitrogen fertilizers. Currently, the main method of ammonia production is the Haber-Bosch process, which operates under very high temperatures and pressures and is therefore very energy-intensive. On the other hand, diazotrophic microorganisms provide bioavailable nitrogen sources by means of nitrogenases under atmospheric pressure and temperature conditions, using a very complex biological machinery, for which the complete mechanism of this chemical transformation is still unknown. The architecture of these efficient enzymes inspire us to prepare synthetic analogues, designed to mimic its functional and structural properties, with the aim of provide insights about the catalytic mechanism of N₂ activation by the biological species, and to generate new molecular catalysts that allow the reduction of dinitrogen under mild conditions.

In particular, this project reports a synthetic approximation to a partially reduced intermediate in the catalytic mechanism for the reduction of dinitrogen by the vanadium nitrogenase, proposed as $\mu\text{-OH}$ or $\mu\text{-NH}^2$, using dianionic NS₂ ligands, which have been widely studied by our research group. Also, we herein present the structural, electronic, magnetic and reactivity comparative studies between both systems, trough spectroscopic and electrochemical techniques. This project provides the synthesis of a new NS₂ ligand, which contains *para*-F substituents respect to the donor thiolates, instead of the *para*-CH₃ analogues, aiming at modulation of the σ -electron withdrawing and π – donating properties between both of them. With the new ligand, one Ni complex was synthesized and characterized, inspired in the NiFe hydrogenase, with the goal of comparing its properties with those of previously reported complexes.

1. ANTECEDENTES

1.1 Química de las Metaloproteínas

Los metales de transición han sido ampliamente utilizados por la naturaleza en el diseño de metaloproteínas y enzimas que catalizan gran cantidad de reacciones, por ejemplo, reacciones tipo no redox, como almacenamiento o transferencia de sustratos celulares importantes; regulación de actividades de otras macromoléculas biológicas; etc., lo cual, refleja una importante diversidad química (preferencia de ligantes; geometría molecular; estados redox; cinética química y termodinámica de estabilidad y labilidad de ligantes) de los elementos del bloque *d*. Como resultado de la abundancia natural de los metales de la primera serie de transición, además del molibdeno, son mayormente seleccionados por la naturaleza para la realización de diversas funciones catalíticas y de transporte, en lugar de otros elementos más pesados del bloque *d* y los elementos del bloque *f*.⁴

La función de las proteínas depende esencialmente del cofactor que éstas contengan. Típicamente se trata de secuencias conservadas evolucionariamente que pueden interactuar covalente o no covalentemente con los centros metálicos. Los cofactores más comunes incluyen iones metálicos como: Mg^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , $Cu^{1+/2+}$, $Fe^{2+/3+}$, que generalmente forman sitios monometálicos en los cofactores.¹ La especificidad en la selección de los metales no sólo se basa en el radio iónico, más bien, la combinación de preferencia de ligantes y restricciones geométricas son utilizadas para diferenciar al ion metálico en cierto estado de oxidación.² Los metales de transición en la naturaleza están más comúnmente asociados con oxígeno, nitrógeno y azufre. Algunos ejemplos de metaloproteínas son la *mioglobina*; la *hemoglobina*, que contiene una protoporfirina de hierro como centro prostético esencial; también la *hemeritina* y *hemocianina*, típicas de invertebrados como anélidos, moluscos y artrópodos, conteniendo un centro binuclear y un núcleo de cobre, respectivamente.³

Las metaloproteínas también son capaces de involucrarse en reacciones de transferencia de electrones y, de hecho, muestran fenómenos electrónicos y magnéticos bastante interesantes, respecto a lo cual, se han generado bastantes incógnitas mecanísticas. Existen principalmente dos tipos de proteínas o enzimas metaloredox: acarreadoras de electrones y oxido-reductoras; las primeras están involucradas únicamente como donadores o aceptores de electrones trabajando en conjunto con alguna otra especie sin ninguna transformación química neta, por ejemplo, las *proteínas azules de cobre* y los *citocromos*. las segundas pueden llevar a cabo reacciones catalíticas dependientes de química redox, como las *hidrogenasas* y las *nitrogenasas*.⁴

¹ Beinert, H. *et al.*, *Science*, 1997, **277**, 653-659.

² Lil, R. *Nature*, 2007, **460**, 831-838.

³ Ellerton, H. *et al. Biophys. Molec. Biol.*, 1983, **41**, 143-248

⁴ Cowan, J. (1996). *Inorganic Biochemistry, An Introduction*. Segunda Ed. Wiley-VCH. EUA.

1.2 Metaloenzimas metal-azufre

En medios biológicos el sistema Fe-S constituye a los centros redox más importantes, de hecho, es uno de los sistemas más viejos y versátiles que se conocen.¹ El entorno químico de estos sistemas es variable, por ejemplo, los donadores azufrados pueden corresponder a las cadenas laterales de los aminoácidos de las proteínas o pueden corresponder a ligantes sulfuros en los cofactores, aunque también puede integrar ligantes alternativos (Asp, Arg, Ser, CO, CN⁻, etc.).² De manera general, los cúmulos atómicos de Fe y S con diferentes estequiometrías están presentes prácticamente en todas las especies y posiblemente procedan de las formas de vida más primitivas, pero su versatilidad les ha permitido mantenerse como parte del metabolismo de los organismos más evolucionados. Actualmente, se sabe que llevan a cabo al menos tres papeles de gran importancia biológica: transferencia electrónica, procesos de activación catalítica y funciones como biosensores de hierro, oxígeno, superóxido y otras especies. Entre los centros redox más importantes de activación catalítica Fe-S se encuentran los complejos proteicos I, II, III, y IV que participan en el transporte electrónico y activación catalítica de O₂ en organismos eucariontes. En organismos procariontes existen las hidrogenasas, que son metaloenzimas clave en el metabolismo bacteriano.⁵

1.2.1 Hidrógeno e Hidrogenasas

Las hidrogenasas se dividen en tres clases, según la composición metálica de su centro activo: [Fe], [FeFe] y [FeNi]. No se hallan relacionadas evolutivamente, pero comparten una arquitectura de aminoácidos y ligantes no proteicos muy similar en el sitio activo, que difícilmente se encuentran en otros sistemas biológicos, dicho bolsillo de unión es crítico en la modulación de la reactividad enzimática, y su síntesis e incorporación en el sitio activo.⁶ Las [FeFe]H₂ asas y [FeNi]H₂ asas, catalizan la activación de H₂ a través de la reacción reversible $[H_2 \rightleftharpoons 2H^+ + 2e^-]$ y catalizan la oxidación de dihidrógeno acoplado a la reducción de protones, esto, como mecanismo de reutilización de acarreadores de electrones acumulados durante la fermentación.⁷ como ejemplo, la hidrogenasa de [NiFe] contiene un sitio activo heterobimetálico con un ión de Ni unido a un ión Fe a través de dos grupos tiolato suministrados por cadenas laterales de cisteína, dos tioles-Cys adicionales se encuentran coordinados a Ni, y el hierro se encuentra complementariamente coordinado a monóxido de carbono y dos ligantes tipo cianuro (*vide infra*).⁸ Estudios recientes sugieren que la evolución de H₂ procede por el acoplamiento del hidruro NiFe y uno de los residuos protonados de las cisteínas.⁹ Por otro lado, el sitio activo de las [FeFe]-H₂ asas trabaja igualmente por acoplamiento hidruro-SH, pero a diferencia de la [NiFe]-asa, la [FeFe]-asa emplea una amina en la segunda esfera de coordinación que facilita la transferencia de protón, y como

⁵ Malkin, R. & Rabinowitz, J., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1966, 23, 822-827.

⁶ Wulder, D. *et al.*, *Structure Rev.*, 2011, **19**, 1038-1052.

⁷ Vignais, P. & Meyer, J., *FEMS microbiol. Rev.*, 2001, **25**, 455-501.

⁸ Boer, J. *et al.*, *Arch. Biochem. Biophys.*, 2014, **544**, 142-152.

⁹ Qiu, S. *et al.*, *Inorg. Chem.*, 2019, **58**, 5, 2979-2986.

consecuencia, en lugar de formar un hidruro tiol-puente, se sugiere como un hidruro-amonio terminal.¹⁰¹¹

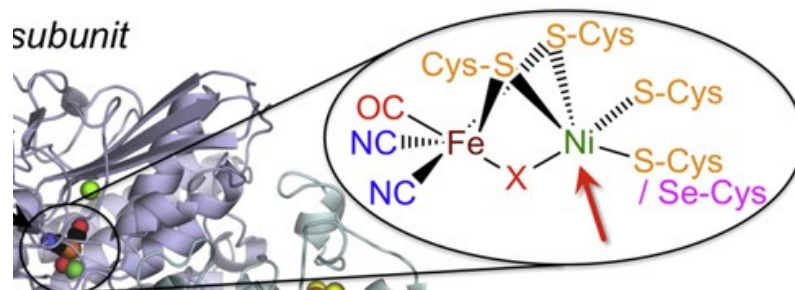


Figura 0.0 Estructura de la hidrogenasa de [NiFe]-, resaltando el sitio activo de la metaloenzima. Imagen adaptada de 11.

La relevancia de las hidrogenasas cobra sentido hacia una fuente alternativa de energía, con la posibilidad de desarrollar catalizadores biomiméticos para la producción de H₂. Otro ejemplo de cofactores corresponde al cúmulo metálico 7Fe-9S de las enzimas nitrogenasas.¹²

1.2.2 Nitrógeno y Nitrogenasas

El nitrógeno es un elemento esencial para todas las formas de vida.¹³ La falta de su suministro limitaría la productividad de muchos ecosistemas, tanto marinos, como terrestres.¹⁴ La fuente más abundante de nitrógeno es la molécula de dinitrógeno, sin embargo, esta molécula se conoce por tener una muy baja reactividad, además que se considera una molécula muy estable termodinámicamente. De hecho, la entalpía para la ruptura del enlace de dinitrógeno es de aproximadamente 945 kJ/mol.¹⁵ El nitrógeno es uno de los elementos más abundantes en la naturaleza, participa en una gran cantidad de procesos químicos y biológicos, además, en su forma reducida es un componente esencial de varias macromoléculas, principalmente de ácidos nucleicos y proteínas, por ende, es necesario para el crecimiento de la gran mayoría de los organismos. Desafortunadamente la mayor fuente de este elemento esencial (aproximadamente 79%), como se ha mencionado, se encuentra como dinitrógeno, por lo que requiere ser convertido a moléculas más reactivas para ser aprovechado por los organismos.

El proceso biológico de fijación de nitrógeno provee aproximadamente el 60% de la producción total de nitrógeno aprovechable. Dicho proceso es indispensable en el ciclo biogeoquímico del nitrógeno.¹⁶ La reducción de N₂ ocurre mediante tres vías: 1) A través de

¹⁰ Artero, V. *et al.*, *Acc. Chem. Res.*, 2015, **48**, 2380-2387.

¹¹ Shafaat, H. *et al.* *Biochim. Biophys. Acta.*, 2013, **1827**, 986-1002.

¹² Casas, S. *et al.* (2002). *Química Bioinorgánica*. 1ra. Ed. Síntesis. México.

¹³ Ferguson, S., *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 1998, **2**, 182.

¹⁴ Holland, L. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2016, **138**. 7200. 7221.

¹⁵ Atkins, P. *et al.* (2006). *Physical Chemistry*. 8va. Ed. W.H. Freeman Hill. EUA.

¹⁶ Canfield, D. *et al.*, *Science*, 2010, **330**, 192.

procesos geoquímicos como la transformación por relámpagos,¹⁷ 2) biológicamente a través de la fijación de las enzimas nitrogenasas y 3) Industrialmente a través del proceso Haber-Bosch (HBP), de estas aproximaciones, la mayor parte de nitrógeno reducido (60% aprox.) corresponde a la fijación biológica de nitrógeno.¹⁸ En este proyecto, son de importancia los procesos biológico e industrial. El proceso biológico es realizado esencialmente por un restringido grupo de microorganismos diazotófos a través de una particular enzima llamada nitrogenasa.

La nitrogenasa es un catalizador biológico sensible a oxígeno, que reduce N₂ atmosférico a amoníaco a temperatura y presión ambientales. Se hallan presentes en una amplia diversidad de *Eubacterias* y *Arqueobacterias*, pero no en organismos eucariontes, quizás la nitrogenasa más representativa es la proveniente de *Azotobacter vinelandii*, una bacteria quimioorganotrófica, que fija nitrógeno en presencia de oxígeno por tres sistemas diferentes de nitrogenasa; posee mecanismos de protección de nitrogenasa con alta capacidad respiratoria en condiciones diazotrófica hasta 10 veces mayor a *E. coli* y sufre diferenciación morfológica para formar quistes resistentes a desecación. Posee además una de las tasas más altas de fijación de nitrógeno (en vida libre fijan al menos 10 mg de N₂ por gramo de glucosa consumido). Bacterias del suelo del género *Rhizobium* *Bradyrhizobium* y *Azorhizobium* también son capaces de fijar nitrógeno.⁴

Existen varios tipos de nitrogenasas, que en realidad comparten un origen evolutivo en común, pero se dividen en tres clases de acuerdo a los iones metálicos utilizados en el sitio catalítico.¹⁹ La más común es la que posee molibdeno, de composición [Mo:7Fe:9S:C]:homocitrato, con un carburo para rigidez estructural;²⁰ un átomo de molibdeno apical, nueve átomos de azufre y siete de hierro. Macroscópicamente posee a la proteína de hierro y molibdeno FeMoCo ó también llamado cúmulo *M* y la proteína de hierro (ésta a su vez contiene a los cúmulos *F* y *P* cuya función es esencialmente el suministro electrónico al cofactor FeMo)³⁴ tal como se muestra en la figura 1.0.²¹ Estudios previos en *A. vinelandii* indican que el Mo no es esencial para la fijación de nitrógeno en dicho microorganismo, de hecho, cepas de delección que carecen de los genes estructurales para la nitrogenasa de Mo mantienen la capacidad de crecimiento diazotrófico, aunque con diferente eficiencia.

En la actualidad existen 61 estructuras de rayos X de diferentes nitrogenasas almacenadas en el banco de datos de proteínas (PDB por sus siglas en inglés)²², lo cual ha dado información estructural muy valiosa sobre la disposición espacial de los cofactores y su composición. La figura 1.1 muestra la estructura refinada del cofactor FeMo (inhibido).²³

¹⁷ Gruber, N. *et al.*, *Nature.*, 2008, **451**, 293.

¹⁸ Smil, et al. (2004). *Enriching the earth: Fritz Haber, Carl Bosch, and the Transformation of World Food Production*. Ed. MIT Press: Cambridge, MA. EUA.

¹⁹ Eady, R., *Chem Rev.*, 1996, **96**, 3013-3030.

²⁰ Lancaster, J. *et al.*, *Science*, 2011, **33**, 974-977.

²¹ Hoffman, *et al.*, *Chem Rev.*, 2014, **114**. 4041-4062.

²² RCSB Protein Data Bank.

<http://www.rcsb.org/pdb/results/results.do?tabtoshow=Current&qrid=5C7FB570> (Visitado por última vez: 23 de Noviembre de 2018).

²³ Spatzal, T. *et al.*, *Science*, 2014, **345**. 1620-1623.

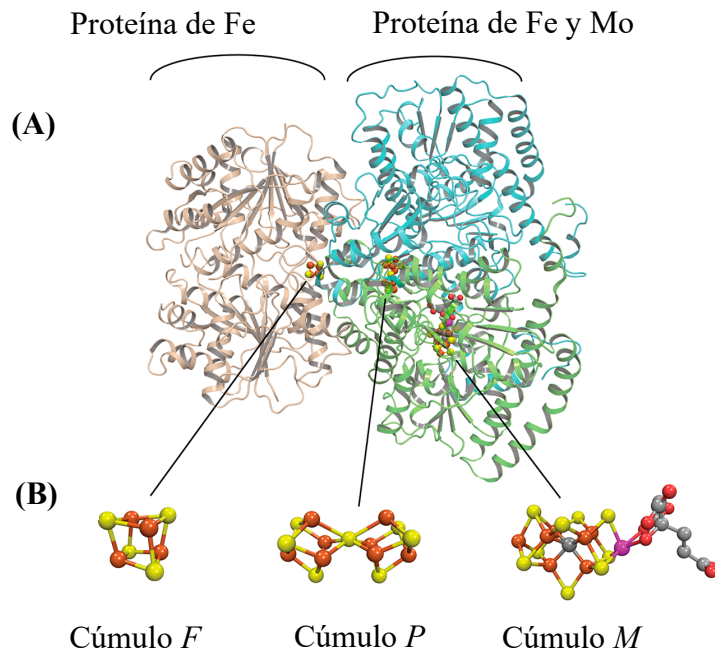


Figura 1.0 Nitrogenasa de molibdeno (A) proteína homodimérica de hierro; proteína de hierro y molibdeno [subunidad α en verde y subunidad β en cian] y (B) modelos para el cúmulo 4Fe-4S (*F*), cúmulo *P* y el FeMoCo (*M*). PDB: 2AFK.²¹

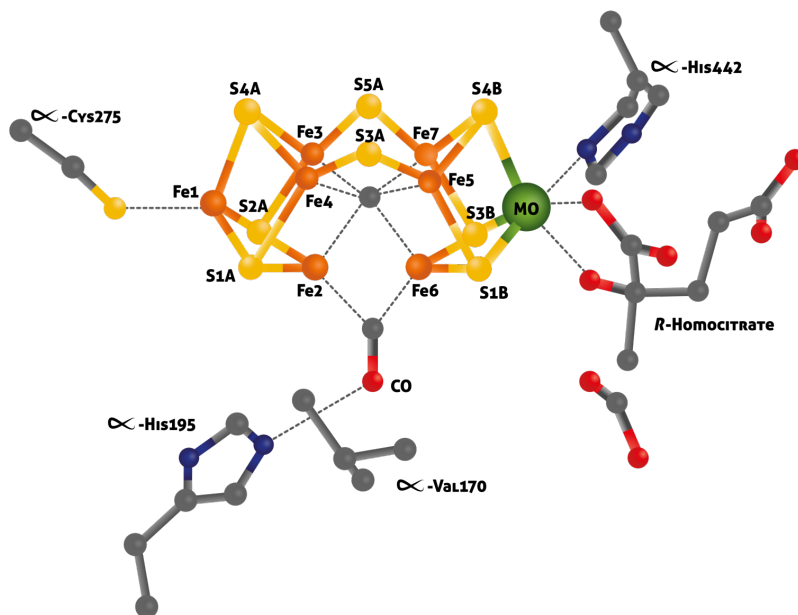


Figura 1.1 Proteína FeMoco inhibida. Vista lateral del cofactor FeMo, resaltando el sitio μ_2 donde se coordina CO, también se muestra el entorno de residuos ligantes (cadenas laterales de los residuos α -Val170 y α -His195 que están muy próximos al sitio de unión de CO). Átomos de hierro representados en color naranja; azufre en amarillo; molibdeno en turquesa; carbono en gris; nitrógeno en azul y oxígeno en rojo.²³

La estructura electrónica del FeMo es aún debatida. Algunos estudios electrónicos sugieren que FeMoCo solo funciona mediante un par redox, con un estado de reposo M^N y un estado reducido M^R ²⁴; se llegó a proponer Mo^{IV} como el estado de oxidación del molibdeno, aunque recientemente se le ha reasignado el estado de oxidación a Mo^{III} con base en estudios de espectroscopía Mössbauer.^{25,26} (véase figura 1.1). Algunas nitrogenasas alternativas son producidas por distintos genes bajo limitación de molibdeno, siendo más comúnmente reemplazado por vanadio.

1.2.2.1 La Nitrogenasa de Vanadio

La nitrogenasa alternativa de V (FeV) fue reportada poco después de *A. vinelandii*²⁷ y *A. chroococcum*²⁸. La composición de FeV corresponde a $[V:7Fe:8S:C]:homocitrato$, muy parecido al cofactor FeMoCo, pero con reemplazo de un átomo de azufre (S3A) por un ion carbonato (véase fig. 1.2).²⁹ Ambos tipos de nitrogenasa difieren en reactividad, por ejemplo, el monóxido de carbono isoelectrónico a N_2 (inhibidor de la nitrogenasa de Mo) puede ser reducido a hidrocarburos exclusivamente por la proteína de V, en analogía a la química *Fischer-Tropsch*³⁰, donde la reducción de CO no procede cuantitativamente a metano (CH_4), convirtiendo más bien a productos parcialmente insaturados con cadenas hidrocarbonadas de 2 a 7 miembros, una diferencia que ha llamado la atención en cuanto a la formación biológica de hidrocarburos para conservación energética.³¹ Por otro lado, FeV, durante la fijación de N_2 desvía una mayor porción del flujo electrónico de la proteína de Fe hacia la formación de H_2 en comparación a FeMo, lo que le permite actuar puramente como hidrogenasa.³²

La sustitución reversible de S2B por el inhibidor no competitivo CO y la sustitución estructural de S3A por $[CO_3]^{2-}$ sugieren que los sulfuros puente del tipo FeX-aSb-FeY, son más bien sitios “flexibles” químicamente a pesar de la rígida estructura de las nitrogenasas, lo cual, en estudios posteriores, se ha determinado que tienen una repercusión importante en el sitio de unión del sustrato N_2 . Además, se cree que el reemplazo en S3A es quizás el hecho que mejor podría explicar las diferencias estructurales y en reactividad entre FeMo y FeV.³³

²⁴ Doan, P. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, **133**, 17329-17340.

²⁵ Bjornsson, R. *et al.*, *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2014, **20**, 447-460.

²⁶ Yoo, S. *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* 2000, **122**, 4926-4963.

²⁷ Hales, B. *et al.*, *Biochemistry*, 1986, **25**, 7251-7255.

²⁸ Eady, R. *et al.*, *Biochem. J.*, 1987, **244**, 197-207.

²⁹ Sippel, D. & Einsle, O., *Nat. Chem. Biol.*, 2017, **13**, 956-960.

³⁰ Lee, C. *et al.*, *Science*, 2010, **329**, 642.

³¹ Hu, Y. *et al.*, *Science*, 2011, **333**, 753-755.

³² Eady, R., *Coord. Chem. Rev.*, 2003, **237**, 23-30.

³³ Sippel, D. & Einsle, O., *Nat. Chem. Biol.*, 2017, **13** 956-960.

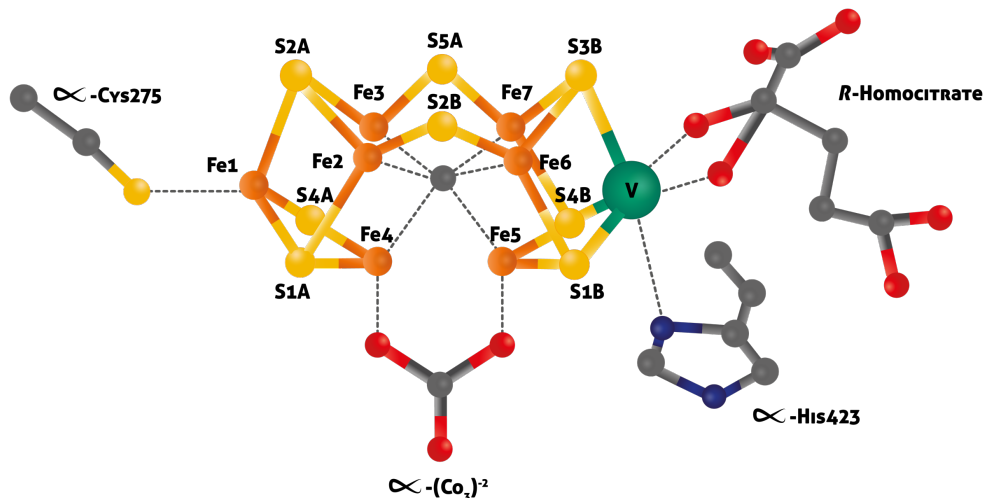
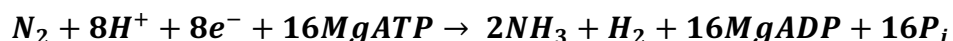


Figura 1.2 Estructura de FeV con composición [V-7Fe-8S-C], incluyendo un ligante homocitrato hacia el heteroátomo de vanadio. (Figura adaptada de 29)

1.3 Catálisis Biológica

La fijación biológica de nitrógeno ocurre naturalmente en condiciones ambientales en microorganismos diazotófos, por lo que el estudio de las enzimas nitrogenasas es de gran interés para comprender este proceso tan sostenible. La síntesis de amoníaco a partir de dinitrógeno catalizado por nitrogenasa satisface a la siguiente ecuación química:



La reacción involucra la liberación de energía química almacenada en ATP, mediante su hidrólisis para vencer la barrera cinética de la reducción de dinitrógeno. Por cada molécula de dinitrógeno reducida, se producen dos moléculas de amoníaco, y también se produce reducción protónica para la liberación de H₂, por lo que el 25% de la energía consumida resulta en la producción de hidrógeno gas. En ausencia de N₂, la nitrogenasa revierte su proceso a reducción de protones, aunque, como se mencionó, algunas nitrogenasas (como la nitrogenasa de V) pueden llevar a cabo reducción de otros sustratos.

Se han propuesto diversos mecanismos de la transferencia electrónica en el cofactor FeMo: Un **modelo secuencial**, donde un electrón es transferido del cúmulo F al cúmulo P y luego al sitio catalítico (Donde se requiere un estado súper-reducido por parte de FeMo-co que no ha sido observado); un **modelo directo** que involucra la reducción directa de FeMo-co por parte del cúmulo F (Aunque el cúmulo P ha mostrado cambios en estado de oxidación durante la fijación de N₂) y un **modelo de gasto por déficit**, que sugiere que los electrones son

transferidos del cúmulo P a FeMo-co y sólo en ese momento el cúmulo P es reducido por el cúmulo F (Consistente con estudios cinéticos y espectroscópicos a baja temperatura).^{34,35}

A pesar de que el mecanismo completo de fijación de nitrógeno molecular es aún un enigma, la propuesta más aceptada corresponde a Lowe D., Leigh G. y Thorneley, R. Esta fue planteada con base en meticulosos estudios cinéticos, proponiendo la reducción de N_2 a 2 moléculas de NH_3 mediante la generación de H_2 en un proceso de 8 electrones, estableciendo 8 estados individuales (E_0 a E_7). Entre las aportaciones más importantes, se elucidó que la enzima posee un estado de reposo (E_0), en el que la enzima es aislada, y debe ser reducida por al menos tres, y de ser posible 4 electrones antes de coordinar N_2 . Bajo condiciones catalíticas, una proporción significativa del flujo electrónico en la nitrogenasa se utiliza para la reducción de protones y obtener H_2 . Al principio se consideraba una reacción “no deseada”, pero luego se demostró que la reacción requiere obligatoriamente generar H_2 en estequiometría 1:1 con la reducción de N_2 .³⁶ Considerando la liberación de H_2 para coordinar el sustrato, se propuso el intercambio de N_2 por H_2 en E_3 (figura 1.3). Sin embargo, en este estado, el dinitrógeno se une reversiblemente a la enzima requiriendo otro equivalente reductor para iniciar la reducción de sustrato, por lo que se cree que E_4 es el estado ideal para comenzar a activarlo. El estado E_4 de la nitrogenasa puede seguir dos rutas, una es la protonación del hidruro, regresando a E_2 , o la liberación productiva de H_2 para coordinar dinitrógeno (*vide infra*).

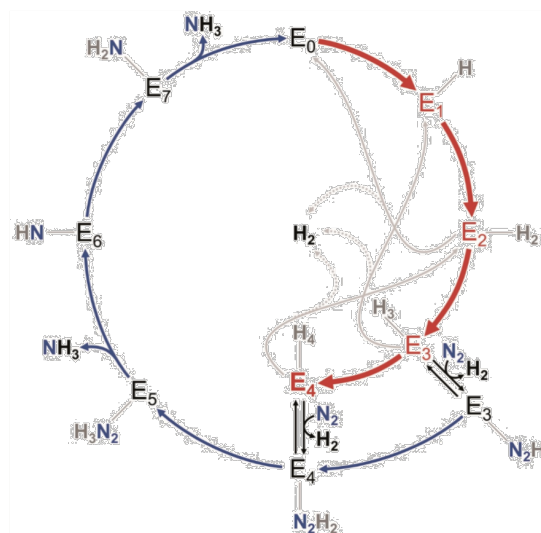


Figura 1.3 Esquema cinético de Thorneley-Lowe para la activación catalítica de dinitrógeno en 8 estados mediante adiciones consecutivas de equivalentes reductores (E_0 - E_7).³⁹

Esto promovió nombrar el estado E_4 como el “**Intermediario Janus**”, que puede ser visualizado como una cara que mira hacia enfrente y hacia atrás simultáneamente, definiendo

³⁴ Foster, s. *et al.*, *Nat Catal.*, 2018, **1**, 490-500.

³⁵ Davydov, R. *et al.*, *Isr. J. Chem.*, 2016, **56**, 841-851.

³⁶ Simpson, F. & Burris, R., *Science*, 1984, **224**, 1095-1097.

el destino de la reacción, no por la evolución del H_2 , sino, de cómo se genera.^{37,38} Hoffman y colaboradores, apoyados en el esquema catalítico de Thorneley-Lowe demostraron, mediante estudios de resonancia paramagnética electrónica (RPE) y espectroscopia de doble resonancia nuclear electrónica (ENDOR por sus siglas en inglés) que dos hidruros poseen tensores hiperfinos anisotrópicos con valores casi idénticos, pero en diferente orientación. Estos se asignaron a hidruros puente [Fe-H-Fe] en la superficie del cofactor (Figura 1.4). Asumiendo un cofactor estructuralmente intacto, el modelo de eliminación reductiva implica que la formación de esos hidruros ocurre entre cuatro hierros (Fe2-3-6-7) localizados debajo del residuo V⁷⁰, dado que su modificación influye en la unión del sustrato y su reducción. Dichos hidruros interactúan para dar lugar a la eliminación reductiva (ER), dejando al cofactor en un estado suficientemente reducido (E_4^*) para adicionar oxidativamente (AO) la molécula de N_2 .

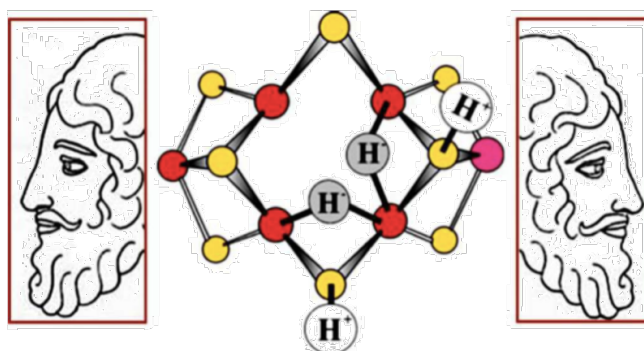


Figura 1.4 Representación del intermediario Janus = $E_4 = E_4H_4$ donde se esquematiza el equilibrio de adición oxidativa de N_2 , dependiente de la eliminación reductiva de H_2 .³⁸

El concepto de ER/AO racionaliza elegantemente aspectos clave del modelo cinético de Thorneley-Lowe, sin embargo, aún hace falta determinar la naturaleza del estado activado E_4 , la estructura molecular y el estado electrónico que pueda describir a E_4^* luego de liberar H_2 .³⁹

Considerando el papel de los hidruros puente Fe2-Fe6 y Fe3-Fe-7, Einsle y colaboradores propusieron en 2018 características estructurales de un intermediario (E_6 del modelo Thorneley-Lowe) de la nitrogenasa de V (μ^2), implicado en la coordinación de dinitrógeno, donde, la unión de N_2 implica un giro de la glutamina 176 (Q176), que permite la formación de un enlace de hidrógeno que permite estabilizar reversiblemente la migración de uno de los átomos de azufre del cofactor FeV (S2B), dejando un sitio vacante para la coordinación del sustrato N_2 entre Fe2 y Fe6 (Fig. 1.5)

³⁷ Hoffman, *et al.*, *Acc. Chem. Res.*, 2013, **46**, 587-595.

³⁸ Lukoyanov, D., *J. Am. Chem. Soc.*, 2016, **138**, 10674-10683

³⁹ Rohde, M. *et al.*, *Biochemistry*, 2018, **57**, 5497-5504.

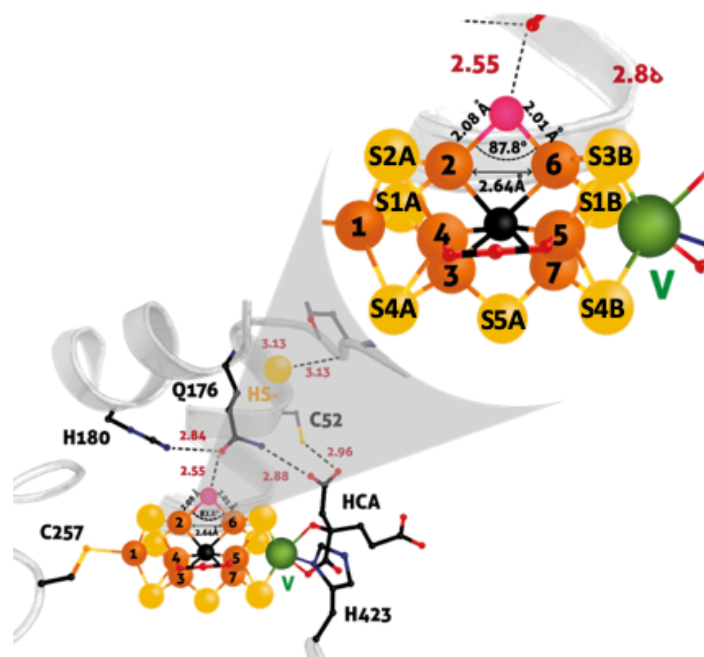


Figura 1.5 Estructura de la nitrogenasa de V en *Turnover state* (sulfuros en amarillo y centros de hierro en naranja). El sulfuro S2B es intercambiado por el ligante XH estabilizado por el residuo Q176. Dicho intermediario se propone ser E₆ en el modelo Thorneley-Lowe.⁴¹

Se ha propuesto un mecanismo para la reducción de E₆ a E₀ basado en la estructura cristalina de un intermediario parcialmente reducido con señales características por RPE, donde la proteína FeV permanecía mayormente intacta, incluyendo un átomo ligero que reemplazaba al azufre S2B entre los iones Fe2 y Fe6 (Véase fig. 1.5). De acuerdo con las distancias encontradas, se propone un ligante NH²⁻ que puede ser estabilizado por interacciones π donadoras por los centros metálicos. El mecanismo propuesto consiste en asumir que FeV está oxidada en dos electrones en E₆ para llegar a E₀, las posteriores reducciones se dan en el cofactor, lo cual debilita las interacciones π donadoras, debido al incremento en la densidad electrónica en los centros metálicos, y a su vez, el nuevo exceso de densidad electrónica en el nitreno se compensará con la llegada de un protón, reduciéndolo parcialmente. Este proceso desfavorece el enlace de hidrógeno con Q176, dando lugar a un ligante terminal NH²⁻ hacia Fe2 o Fe6. Se propone que el ligante se queda unido con un modo de coordinación terminal a Fe2, debido a que este centro metálico está más cerca al residuo H180 que puede estabilizar al ligante, formando un nuevo enlace de hidrógeno.⁴⁰ Por su parte, Q176 queda libre, y Fe6 gana un sitio libre de coordinación, que rápidamente sufre un ataque nucleofílico por parte del HS⁻ de S2B. Esto provoca que la Q176 regrese a su estado de reposo. La transferencia electrónica final a E₀, permite la disociación del sustrato, con la recuperación del puente Fe2-S2B-Fe6.⁴¹

⁴⁰ Varley, J. *et al.*, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2015, **17**, 29541-29547.

⁴¹ Sippel, D. *et al.*, *Science*, 2018, **359**, 1484-1489.

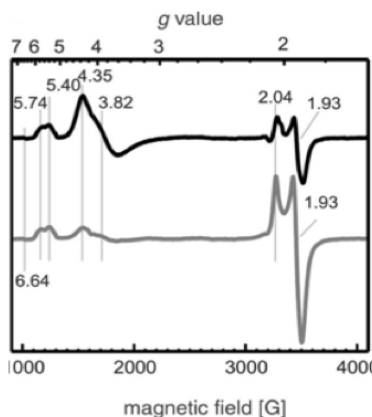


Figura 1.6 Espectro de RPE en banda X de *A. vinelandii* (VFe) aislada en *Turnover state* en color negro y en estado de reposo en color gris. Se observa un cambio en las intensidades relativas de las señales, pero no de los valores del tensor g .⁴¹

Otros estudios sugieren que el ligante puente que reemplaza al sulfuro S2B corresponde a un grupo hidroxio puente, probablemente derivado de la unión de agua al cofactor. Refinamiento por técnicas de mecánica cuántica/mecánica molecular (QM/MM por sus siglas en inglés), para establecer la naturaleza nitreno (NH^{2-}) o hidroxio (OH^-) que forman un enlace de hidrógeno con el carbonilo de Gln176 (Véase fig. 1.7).

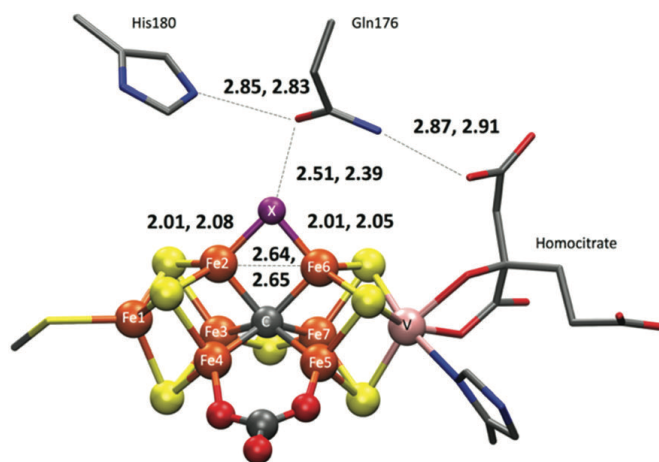


Figura 1.7 Cofactor FeV mostrando las distancias cristalográficas (Å), involucrado el ligante X, His180, Gln176 y el homocitrato. También se muestran las distancias entre los aminoácidos del sitio activo.

El estudio concluye que el suponer al ligante puente como NH no satisface las distancias cristalográficas observadas, sucediendo lo contrario si se supone un puente OH . Con este, las distancias cristalográficas satisfacen mejor las distancias obtenidas con el modelo QM/MM, además resaltan que es posible que el agua tenga un rol importante en la actividad redox y/o el mecanismo de la nitrogenasa, pensando en una actividad análoga a los puentes hidroxio de la hidrogenasa, teniendo en cuenta los puentes hidroxio presentes en la hidrogenasa.⁴²

⁴² Benediktsson, B. *et al.*, *Chem. Commun.*, 2018, **54**, 7310-7313.

1.4 Proceso Haber-Bosch

La productividad y alta eficiencia de los cultivos agrícolas dependen de la adición de esos fertilizantes, sobre todo hacia suelos carentes de nitrógeno aprovechable. La necesidad de la producción de NH₃ continua al alza debido al incremento global de la población, por lo que se requiere la producción a bajo costo de NH₃ con el fin de proveer suficientes alimentos para la sociedad. También se requiere un aumento en la producción de NH₃ para futuros usos como combustible libre de carbono y como molécula de almacenamiento de hidrógeno, debido a su alta densidad energética y la facilidad con la que puede ser transportado y almacenado.⁴³

El proceso Haber-Bosch (HBP), es el método industrial de naturaleza heterogénea utilizado actualmente para la fijación de N₂, generando aproximadamente 500 millones de toneladas de amoníaco por año. En el HBP, una mezcla de hidrógeno (H₂) y nitrógeno gas, se hacen pasar sobre un catalizador de hierro comúnmente sensibilizado con K₂O y Al₂O₃ emitiendo aproximadamente 1.87 toneladas de dióxido de carbono por tonelada de NH₃. La reacción general es exotérmica, pero requiere temperaturas de 300 - 500°C para vencer la barrera cinética y presiones de 150 – 200 atm para favorecer los productos.⁴⁴



Estas condiciones experimentales a nivel industrial en el HBP reflejan la difícil tarea de realizar la transformación química desde dinitrógeno hasta amoníaco.

1.4 Naturaleza del enlace de la molécula de nitrógeno

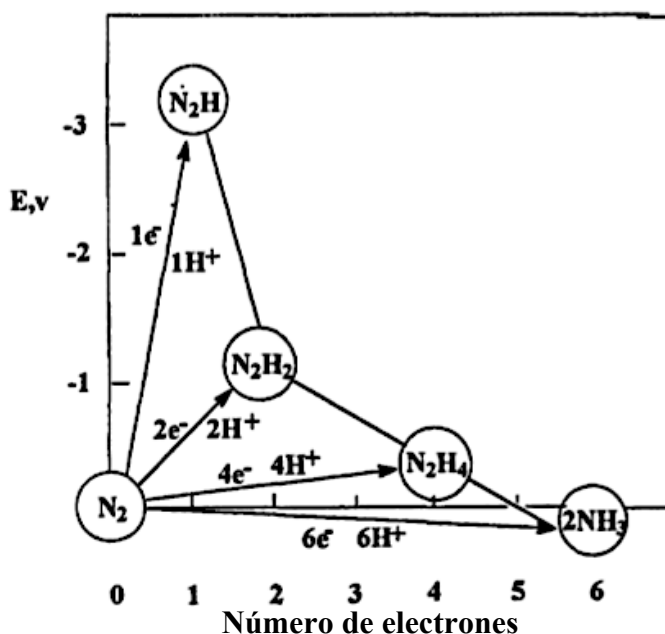
La molécula de nitrógeno es extraordinariamente estable, con $\Delta H_{disoc.}^\circ = 945$ (kJ/mol) ó (245 kCal/mol), como consecuencia del gran traslape orbital entre ambos átomos (distancia interatómica: 1.095 Å). Si se comparan los enlaces dobles C=C, N=N y O=O, sus energías son muy similares: 65, 62 y 63 kcal/mol respectivamente. Se esperaría una diferencia similar entre los triples y dobles enlaces de dichas especies, por ejemplo, la diferencia entre el enlace triple C-C y el enlace C=C es de 47 kcal/mol, pero la diferencia entre N-N (triple) y N=N es de 126 kcal/mol, es decir, N₂ es 79 kcal/mol más estable que lo que se esperaría respecto a moléculas similares. Posee también un potencial de ionización bastante alto (15.058 eV) y una afinidad electrónica negativa (-1.8 eV). Aunque posee una afinidad protónica positiva (5.12 eV) es menor que, por ejemplo, el metano (5.3 eV aprox.). Por ello, N₂ es una base extremadamente débil que no interactúa ni siquiera con los ácidos más fuertes.

⁴³ Kyypers, M. et al. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2018, **16**, 263-267.

⁴⁴ Foster, S. *et al.*, *Nat. Catal.*, 2018, **1**, 490-500.

La estabilidad de la molécula de nitrógeno provoca que muchos compuestos nitrogenados sean explosivos, causando que el nitrógeno molecular sea el mayor constituyente de la atmósfera.⁴⁵ La inusual estabilidad de la molécula de nitrógeno, se ve reflejada en la dificultad de producir compuestos nitrogenados directamente de nitrógeno molecular. La dificultad de reacción del dinitrógeno parece ser el resultado de varios factores, uno de ellos es la gran energía de activación requerida para romper el enlace triple N-N. Otro factor, es el valor de la diferencia energética entre HOMO y LUMO, que hace a la molécula resistente ante procesos redox (véase figura 1.9). Un tercer factor es la baja polarizabilidad del N_2 , que no favorece la formación de estados de transición altamente polares involucrados generalmente en reacciones electrofílicas y nucleofílicas.⁴⁶

También se sabe que las energías requeridas para la escisión consecutiva del enlace triple N-N son anómalas, debido a que la primera energía de disociación requiere más de 100 kCal/mol (correspondiente a casi la mitad de la energía total del enlace triple), situación que ocurre al contrario en moléculas análogas como el acetileno, donde la primera energía de disociación es la más débil de todas (53 kCal/mol). La diferencia entre estas moléculas isoelectrónicas es una consecuencia de la repulsión de los dos pares de electrones no enlazantes y el par electrónico del enlace tipo π remanente después de la disociación de uno de los enlaces de dinitrógeno, mientras que la repulsión de electrones es menor en etileno, ya que cuatro electrones están comprometidos en dos enlaces s con átomos de H, por lo que la energía del estado triplete del dinitrógeno (que puede considerarse como una molécula de N_2 con uno de sus enlaces escindidos) corresponde a un nivel energético mucho más alto, en relación con el estado fundamental, que el estado de triplete correspondiente del acetileno. La fuerza del primer enlace del enlace triple N-N se ve reflejada en los valores de potenciales redox E (figura 1.8). Se requiere la transferencia consecutiva de electrones y protones.



⁴⁵ Pauling, L. (1960). *The Nature of Chemical Bond and the Structure of Molecules and Crystals (An Introduction to Modern Structural Chemistry)*. 3ra. Ed. Cornell University Press. EUA.

⁴⁶ Atkins, P. et al. (2008). *Química Inorgánica*. 4ta. Ed. McGraw-Hill. China.

Figura 1.8 Potenciales redox dependientes del número de electrones transferidos a la molécula de N_2 .⁴⁵

1.5.1 Orbitales moleculares de la molécula de dinitrógeno

Otro factor que brinda estabilidad al enlace triple N-N, es el traslape orbital. En una molécula diatómica homonuclear, los orbitales atómicos poseen energía idéntica, e interactúan aquellos que poseen la simetría apropiada. La figura 1.9 (a) muestra los niveles de energía para una molécula diatómica homonuclear, adicionalmente, cuando dos orbitales moleculares con la misma simetría tienen energía similar, interactúan para disminuir la energía del orbital de menor energía e incrementar la energía del orbital de mayor energía. Por ejemplo, los OM's σ_g ($2s$) y σ_g ($2p$) tienen simetría σ_g (simetría a rotación infinita e inversión). Esos orbitales interactúan para disminuir en energía a σ_g ($2s$) y para incrementar la de σ_g ($2p$), como se muestra en la figura 1.9 (b). Similarmente, σ_u^* ($2s$) y σ_u^* ($2p$) interactúan para disminuir y aumentar la energía de los OM's correspondientes. A este fenómeno se le denomina mezclado de orbitales moleculares; en este caso específico la "mezcla sp " resulta en una estabilización electrónica.⁴⁷

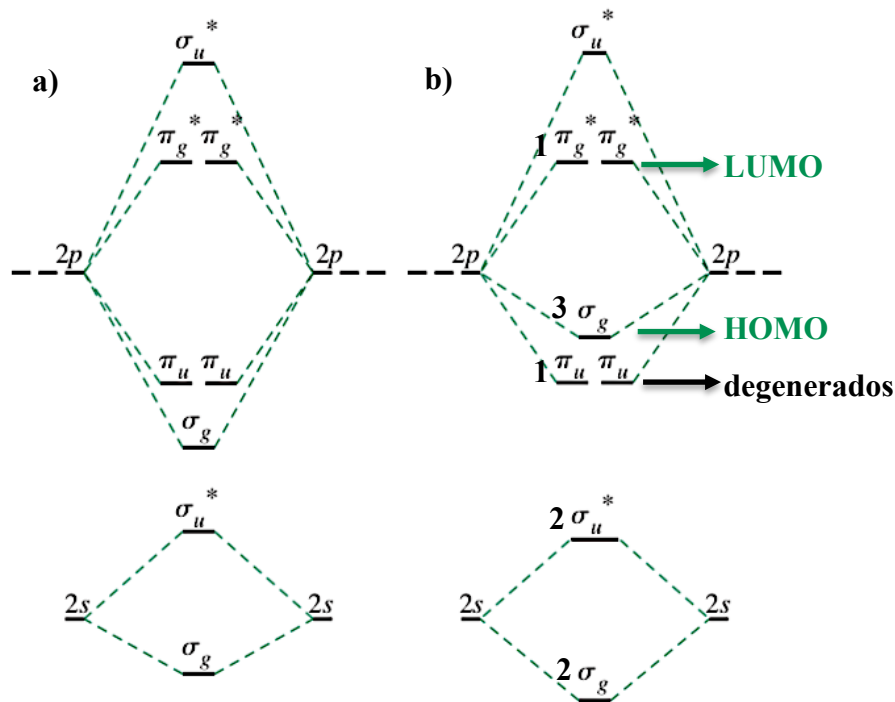


Figura 1.9 Diagrama de orbitales moleculares del N_2 . Se muestra la interacción entre orbitales moleculares con misma simetría, resultando en una diferencia energética mayor entre orbitales moleculares mezclados.⁴⁷

⁴⁷ Miessler, G. et al. (2014). *Inorganic Chemistry*. 5ta. Ed. PEARSON. EUA.

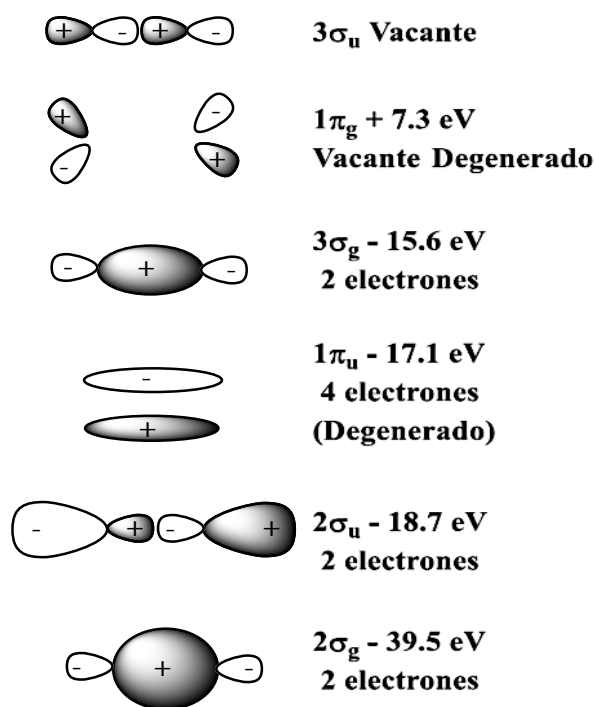


Figura 1.10 Contornos de los orbitales moleculares de frontera de la molécula N₂.⁴⁷

La configuración electrónica del dinitrógeno queda entonces como: $(1\sigma_g)^2(1\sigma_u)^2(2\sigma_g)^2(2\sigma_u)^2(1\pi_u)^4(3\sigma_g)^2$. El HOMO es $3\sigma_g$ y más alto que $1\pi_u$ debido a la mezcla *sp*. El límite aproximado de las superficies de los OM's y sus energías se muestra en la figura 1.10, donde puede apreciarse el LUMO $1\pi_g^*$, que se halla situado muy alto en energía, y los OM's $3\sigma_g$ y $1\pi_u$ son fuertemente enlazantes, difiriendo en energía por 1.5 eV.⁴⁸

La diferencia en la distribución de energía entre los enlaces en acetileno y dinitrógeno lleva a diferencias drásticas en cuanto a la reactividad de estas especies. Las reacciones en uno y dos electrones favorecidas termodinámicamente para el acetileno, generalmente son poco favorecidas para N₂. La brecha energética entre los orbitales HOMO-LUMO ($3\sigma_g-1\pi_g^*$) provoca que N₂ sea muy pobre donador σ y pobre aceptor π , comparado con el homólogo isoelectrónico CO.

Con base en estas consideraciones se ha especulado sobre el desarrollo de un proceso sintético alternativo que cumpla con las bondades de la catálisis biológica y permita escalarlo a nivel industrial como el caso del HBP. Esto permitiría el abastecimiento de fuentes nitrogenadas aprovechables, y se ha enfocado en modelos sintéticos moleculares que proveen modelos menos complejos que los catalizadores biológicos o de superficie heterogénea, que permitan estudiar el mecanismo de fijación de N₂.

⁴⁸ Bazhenova, T. & Shilov, A., *Coord. Chem. Rev.*, 1995, **144**, 69-145.

1.5 Catálisis molecular

El nitrógeno molecular puede formar complejos con metales de transición, actuando simultáneamente como donador σ aceptor π . Como requisito el dinitrógeno coordinado debe ser una base mucho más fuerte que cuando se encuentra como molécula libre para que pueda ser protonado. La interacción $d\pi \rightarrow p\pi$ es esencial para la reducción de dinitrógeno en la esfera de coordinación de los complejos. Generalmente la coordinación terminal de N_2 al metal (M) suele estabilizarse mejor que de forma lateral en sistemas monometálicos, debido a que el nitrógeno molecular puede activarse mejor en complejos lineales (véase fig. 1.11 - a), debido a que existe mayor interacción de los orbitales d con ambos orbitales vacantes π_g^* del dinitrógeno.⁴⁹

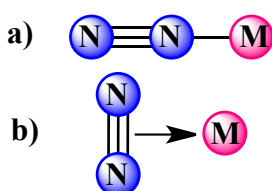


Figura 1.11 Modos de coordinación de N_2 al metal (M): coordinación terminal (a) y coordinación lateral (b).⁴⁹

Para debilitar al máximo los enlaces π del dinitrógeno son requeridos al menos 4 electrones (Tal como lo propone el modelo de Lowe-Thorneley y el intermediario Janus), además para que la reducción proceda, la protonación debe estar termodinámicamente permitida.³⁹

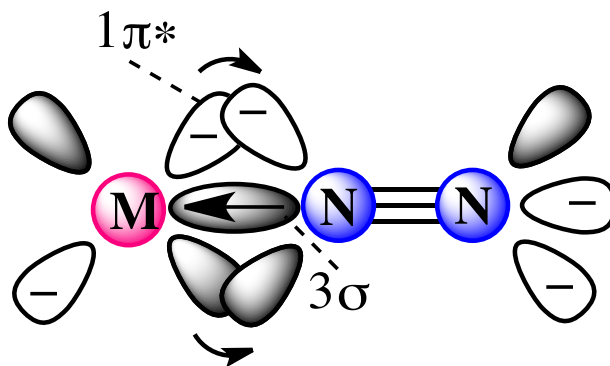


Figura 1.12 Interacción $d\pi \rightarrow p\pi$ en el modo de coordinación terminal.⁴⁹

En los sistemas monometálicos, la molécula de N_2 se une de forma terminal a un solo centro metálico en el sitio activo del complejo, de tal forma que, el llenado de orbitales σ no enlazantes del metal genera un nuevo enlace dativo con los orbitales vacantes d_z^2 ó $d_{x^2-y^2}$ del metal. Los orbitales d_{xz} , d_{xy} ó d_{yz} del metal (que estarán llenos con electrones) interactúan

⁴⁹ Holland, P., *Dalton Trans.*, 2010, **39**, 5415-5425.

por retrodonación con los orbitales π^* del N_2 . Ésta retrodonación, provoca la disminución del orden de enlace N-N haciéndolo más reactivo, y a su vez, fortaleciendo el enlace M-N.

1.6.1 Aproximaciones sintéticas de Molibdeno

1.6.1.1 Modelo de Chatt

El estudio más antiguo del que se tiene reportada la activación de la molécula de dinitrógeno por compuestos sintéticos, es el propuesto por Chatt y colaboradores en 1977, utilizando Mo y W con donadores fosfina (LP_4Mo). Propusieron un ciclo catalítico mononuclear para la reducción de N_2 en bajos estados de oxidación ($Mo^0 \rightarrow Mo^{3+}$), representado en la figura 1.13.⁵⁰

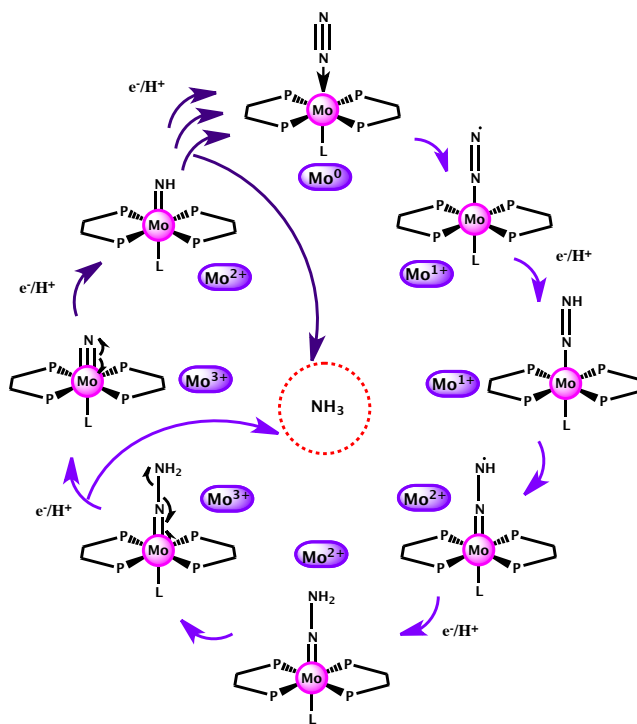


Figura 1.13 Ciclo catalítico de *Chatt* para la reducción de dinitrógeno por LP_4Mo .⁵⁰

Escencialmente consta de un ciclo de reducción de dinitrógeno distal, donde primero se lleva a cabo la formación del aducto de $LP_4Mo(0)-N_2$, posteriormente la conversión del sustrato a diazenuro (N_2H) por oxidación a Mo^{1+} y transferencia de un átomo de hidrógeno al átomo de nitrógeno distal al átomo de Mo, luego una subsecuente reducción del sustrato y oxidación del centro metálico para formar la especie $Mo^{2+}-N_2H_2$, y mediante una última oxidación del metal en el ciclo catalítico y transferencia de otro protón, se genera el amoníaco y un nitruro N^{3-} coordinado a Mo^{3+} . Mediante la reducción catalítica del centro de molibdeno, la especie nitruro terminal se transforma al segundo equivalente de NH_3 por transferencias sucesivas de átomos de H, generando: $Mo^{2+}-NH$ (imida), $Mo^{1+}-NH_2$ (amida) y Mo^0-NH_3 (amina).⁵¹

⁵⁰ Chatt, J. *et al.*, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 1977, 1852.

⁵¹ Chatt, J. *et al.*, *J. Organomet. Chem.* 1975, **101**, 45

1.6.1.2 Modelo de Cummins

Cummins y colaboradores, reportaron la síntesis de un ligante tipo (NRAr), donde $R = C(CD_3)_2CH_3$ y $Ar = 3,5-C_2H_3Me_2$ mononuclear de Mo^{3+} (Véase fig. 1.14) capaz de romper reductivamente la molécula de dinitrógeno y la concomitante formación de dos equivalentes de ligantes nitruros (N_3^-) de Mo^{6+} .

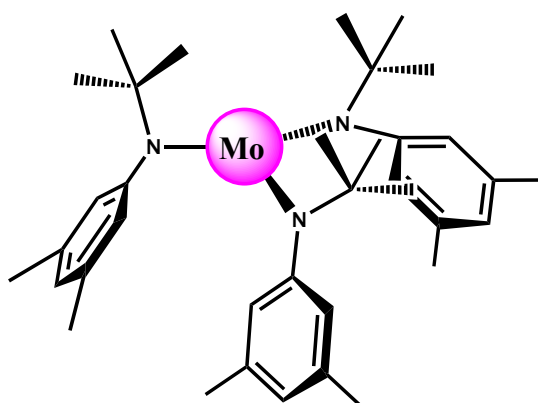


Figura 1.14 Modelo tripodal de Cummins y colaboradores $Mo(NRAr)$.⁵²

También encontraron que la ruptura de N_2 se da como consecuencia de la formación y posteriormente ruptura de un complejo intermediario dinuclear, y su conversión al producto de $Mo(VI)$, es decir, $N\equiv Mo(NRAr)_3$, tal como se muestra en la figura 1.15.⁵²

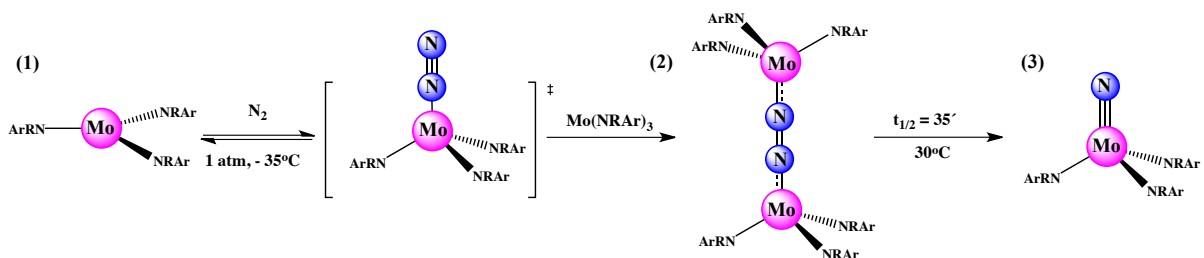


Figura 1.15 Propuesta secuencial de reacciones para la conversión de $Mo(NRAr)_3$ (1) a $N\equiv Mo(NRAr)_3$ (3) en presencia de N_2 , siguiendo la vía del intermediario dinuclear (2). $t_{1/2}$ es la vida media de la conversión de (2) a (3) facilitado por el efecto cooperativo de los dos centros metálicos.⁵²

⁵² Laplaza, C. & Cummins, C., *Science*, 1995, **268**, 861.

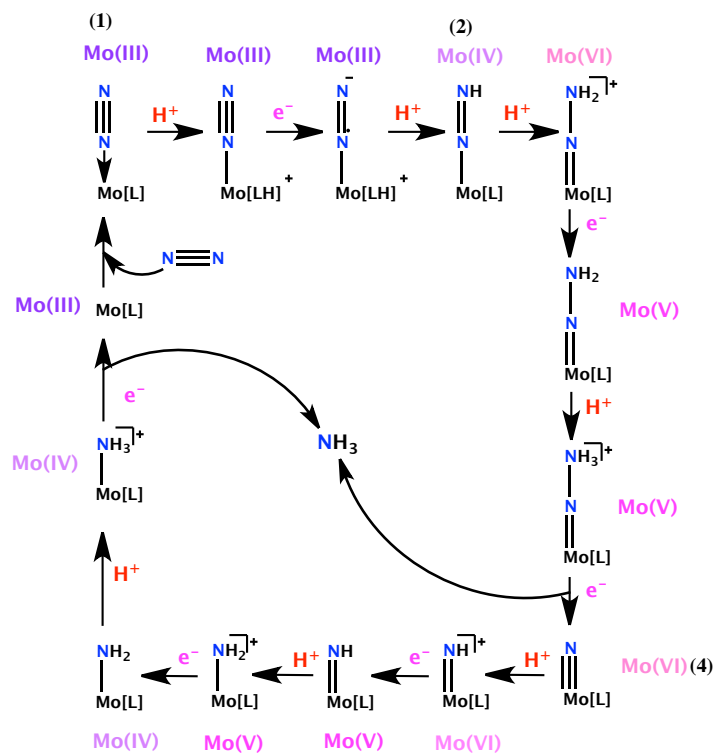


Figura 1.17 Ciclo catalítico de Schrock y colaboradores para la reducción de N_2 .⁵³

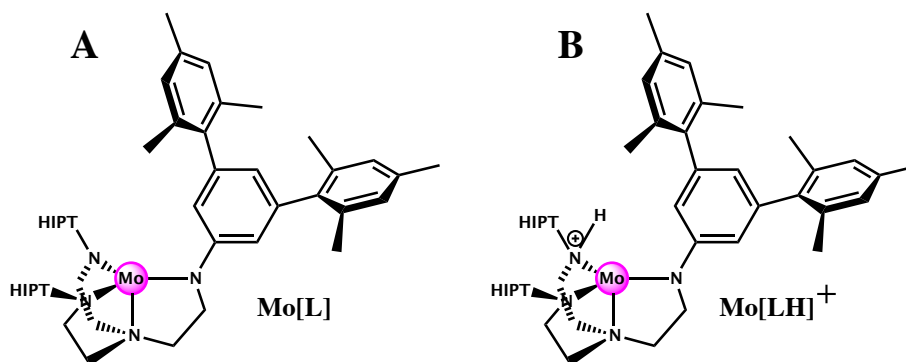


Figura 1.18 Representación de (A) especie sin protonar Mo[L] y (B) especie protonada en el ligante Mo[LH]^+ , en referencia al ciclo catalítico propuesto.⁵³

1.6.2 Aproximaciones sintéticas de hierro

Los modelos anteriores comparten similitud en el centro metálico de Mo en bajos estados de oxidación. El interés por el diseño de complejos de Mo, está basado en la presencia del heterometal en FeMoco, además que originalmente se pensaba que la actividad nitrogenasa era exclusivamente dependiente de dicho metal.⁵⁴ Sin embargo, tras el reporte de fijación de nitrógeno en la enzima dependiente de vanadio^{55 56}, e incluso, con el reporte de la tercera clase de nitrogenasa dependiente solo de Fe⁵⁷ surgieron nuevos modelos sintéticos. Aunado a lo anterior, se encontró que el reemplazo de V-701, impide el acceso del sustrato al potencial sitio de coordinación, disminuyendo importantemente su actividad catalítica, lo cual implica que el sustrato debe aproximarse directamente a Fe6 (Figura 1.19).⁵⁸ Esto inspiró numerosos modelos de Fe desarrollados inicialmente por el grupo de Peters.⁵⁹

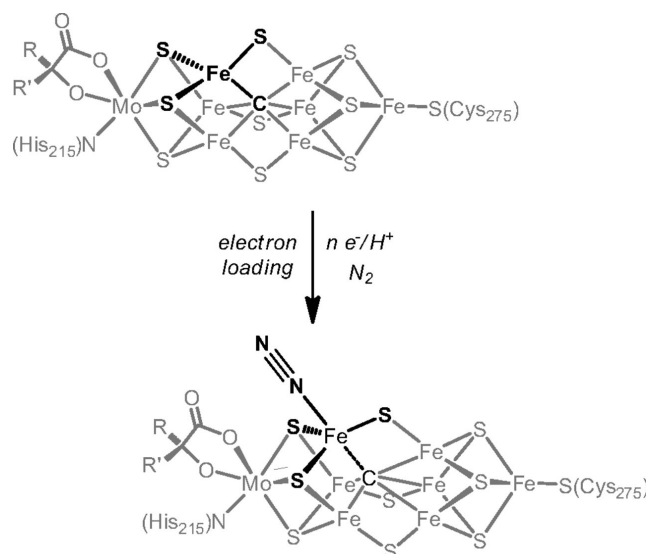


Figura 1.19 Hipotético evento de coordinación terminal de N₂ al cinturón de Fe6 en FeMoco, ilustrando la propuesta elongación Fe-C.

1.6.2.1 Modelo mononuclear de Peters

En este sentido, complejos mononucleares de Fe con ligantes tripodales tetradentados, y tres brazos donadores tipo fosfina unidos a un donador alquilo terciario en posición *trans* al sitio de unión del sustrato. Esto brinda cierto carácter iónico al sitio de unión Fe-N₂, con la finalidad de emular el sitio Fe-6 de FeMoco, potencial sitio de coordinación de dinitrógeno en posición *trans* al átomo de C intersticial.⁵⁹

⁵⁴ Bortels, H. *Arch microbol.* 1930, **1**, 333-342.

⁵⁵ Bishop, P. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci.* 1980, **77**, 7342-7346.

⁵⁶ Hales, B. *et al. Biochemistry*, 1986, **25**, 7251-7255.

⁵⁷ Eady, R. *Chem. Rev.* 1996, 3013-3030.

⁵⁸ Lukoyanov, D. *et al., Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2007, **104**, 1451-1455.

⁵⁹ Rittle, J. & Peters, J., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2013, **110**, 15898-15903

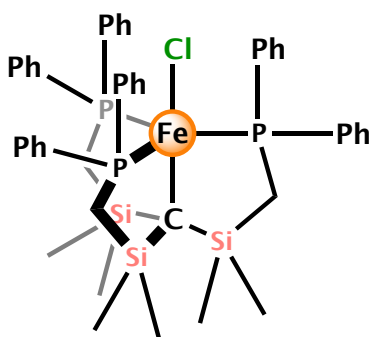


Figura 1.20 Modelo mononuclear de Peters, inspirado en la elongación C-Fe6 como posible sitio de coordinación de N₂.

En estos estudios se concluyó mediante técnicas de Mössbauer, datos estructurales y teóricos que existe un decremento en el grado de covalencia en el par Fe-C, mientras que la covalencia aumenta para Fe-P a medida el estado de oxidación del metal va de Fe²⁺ a Fe⁰. Esto enriquece la hipótesis de que el C_{intersticial} podría modular la coordinación de N₂ a un Fe en el cofactor (Figura 1.20).

1.6.2.2 Modelo binuclear de Peters

Estudios del sitio activo de las enzimas nitrogenasas sugieren la sustitución reversible de S2B por el inhibidor no competitivo CO y la sustitución estructural de S3A por [CO₃]²⁻ en FeV, por lo que es lógico pensar que sitios del tipo Fe-X-Fe, son una aproximación interesante que podría emular la actividad nitrogenasa con mayor eficiencia que sitios mononucleares, pensando en una sinergia entre los dos centros metálicos. En este sentido, Peters y colaboradores, reportaron un complejo bimetalico del tipo L₃Fe-N-FeL₃, donde *L* corresponde a ligantes tipo *tris*(fosfina)boratos [PhBP₃] y el puente N_x corresponde a un átomo de nitrógeno del ligante nitruro apical del análogo monomérico, tal como lo muestra la figura 1.21.

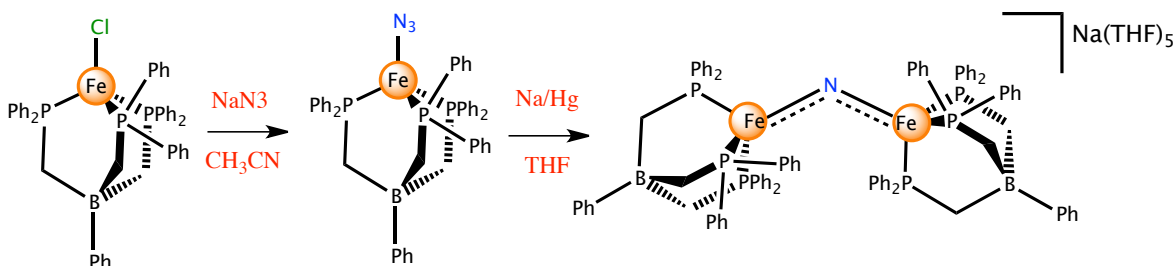


Figura 1.21 Síntesis del complejo binuclear L₃Fe-N-L₃Fe. Ambos hierros exhiben una geometría pseudotetraédrica con carácter de enlace múltiple al N puente.

El complejo bimetalico, alberga dos centros de Fe^{2+} en alto espín con un ambiente pseudotetraédrico acoplados antiferromagnéticamente. El enlace Fe-N es de apenas 1.70 Å, consistente con carácter de enlace múltiple. Además, el complejo presenta un ángulo Fe-N-Fe de 135° y distancia Fe-Fe de 3.15 Å.⁶⁰ La importancia de este nitruro bimetalico se debe a la semejanza de un nitrado rodeado de seis centros de hierro pseudotetraédricos propuesto para el sitio activo de la nitrogenasa.⁶¹

1.6.2.3 Modelo de Holland

El grupo de Holland, desarrollo complejos tipo oxo-dihierro (II) (figura 1.22). Utilizaron ligantes $\text{L}^{\text{tBu}} = \text{ArNC}(\text{tBu})\text{CHC}(\text{tBu})\text{Ar}$, donde Ar = 2,6-diisopropilfenil. El complejo $[\text{L}^{\text{tBu}}\text{Fe}]_2\text{O}$ presenta una estructura trigonal plana alrededor de cada centro de Fe y un ángulo de 167.55° , con una distancia Fe-O de 1.7503 Å, similar a la reportada para la mayoría de las especies diférricas- μO . El complejo fue caracterizado por FTIR, Mössbauer y cálculos teóricos de DFT.⁶²

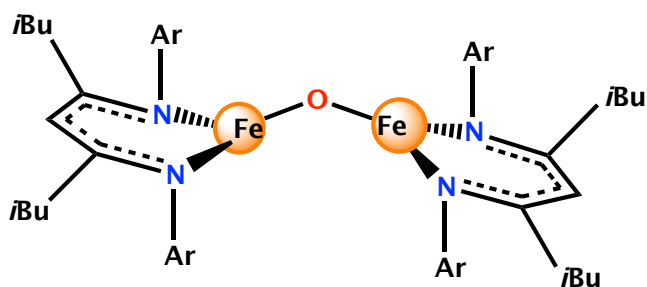


Figura 1.22 Modelo de Holland.

⁶⁰ Brown, S. & Peters, J., *J. Am. Chem. Soc.* 2004, **127**, 1913-1923.

⁶¹ Einsle, O. *et al.*, *Science*, 2002, **297**, 1696.

⁶² Eckert, N. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 9344-9345.

2. DISEÑO DE LIGANTES POLIDENTADOS NS₂ COMO ÁTOMOS DONADORES

2.1 Justificación

La fijación de nitrógeno tiene un gran impacto económico, ecológico y agrícola. Para lograr una mejor comprensión del mecanismo de la activación de dinitrógeno a temperatura y presión ambientales, el diseño y síntesis de catalizadores moleculares que mimeticen estructuralmente el sitio activo de la nitrogenasa es un reto global. En este proyecto se plantea la síntesis de complejos inspirados en la nitrogenasa de V, específicamente en el intermediario parcialmente reducido Fe₂-μX-Fe₆, empleando donadores tipo NS₂. La finalidad es brindar un ambiente químico similar al del sitio activo, lo cual idealmente podría derivar en la coordinación y activación de N₂ a los centros metálicos.

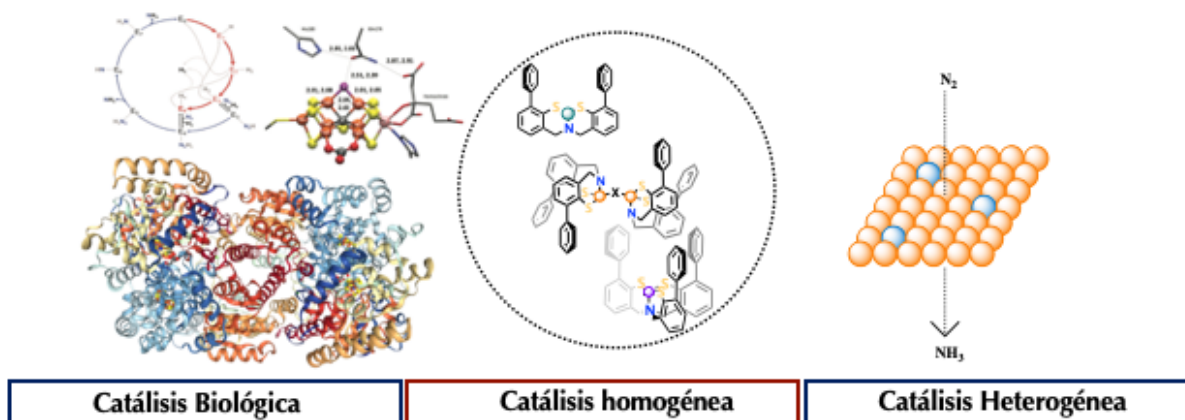


Figura 2.1 Representación esquemática de aproximaciones catalíticas para la reducción de N₂

2.2 Objetivos

2.2.1 Objetivo general

Sintetizar complejos de hierro y/o molibdeno utilizando ligantes tipo NS₂ desarrollados en el grupo de trabajo, que proveen protección estérica y un ambiente similar al sitio activo de la nitrogenasa.

2.2.1 Objetivos particulares

- Sintetizar los ligantes siguiendo metodologías ya establecidas.
- Sintetizar los complejos correspondientes mediante métodos inorgánicos reportados en la literatura.
- Caracterizar los complejos por espectrometría de masas, UV-Visible, RPE y/o RMN, así como susceptibilidad magnética.
- Analizar las propiedades espectroscópicas de los complejos obtenidos frente a las del sitio activo de la nitrogenasa de vanadio.

2.3 Planteamiento del proyecto

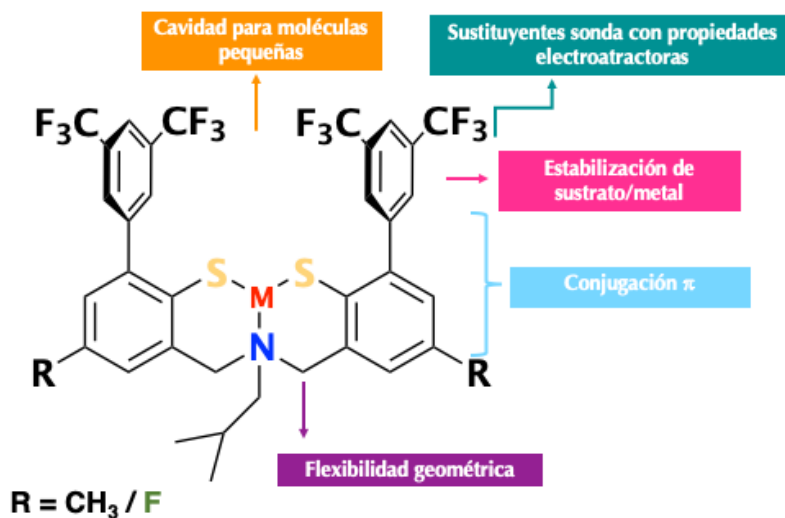
Se plantea la síntesis de complejos de hierro, además análogos de níquel como prueba de concepto y potenciales análogos de las hidrogenasas, empleando ligantes tipo pinza con átomos donadores NS₂, mismos que han sido estudiados en nuestro grupo de investigación en complejo de Fe, Mo y Ni.^{63 64 65} Actualmente existen menos de 30 ejemplos reportados de sistemas binucleares de hierro con ligantes donadores S ajenos a nuestro grupo de investigación, quizás debido al reto sintético que éstos implican. Además de un entorno electrónico similar al sitio activo de la metaloenzima, el enlace M-S exhibe un fuerte carácter covalente que hace al sistema menos susceptible a la protonólisis comparado con las interacciones M-N. Esta estabilidad frente a medios ácidos es deseable, dada la transferencia de electrones acoplada a protones necesaria en la reducción de N₂ en las nitrogenasas. Los ligantes NS₂ contiene ligantes azufrados y centros metálicos de hierro que tratan de emular la primera esfera de coordinación en los sistemas Fe-S de los sistemas biológicos, además poseen sustituyentes fenilos *bis*-(trifluorometilados) que funcionan, por un lado, como agentes de impedimento estérico; además, los sustituyentes electroattractores favorecerán

⁶³ Robles-Marin, E. *et al.*, *Dalton Trans.*, 2018, **47**, 10932.

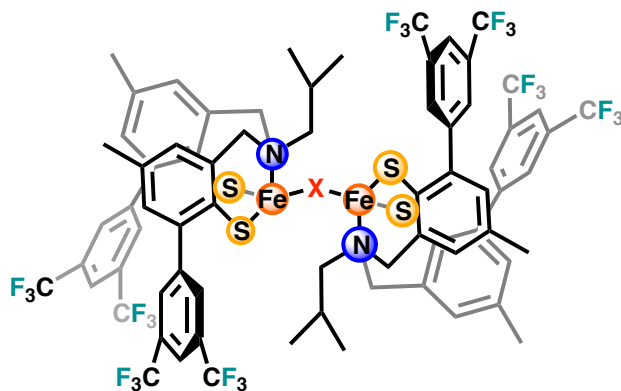
⁶⁴ Mondragón, A. *et al.*, *Inorg. Chem.*, 2015, **54**, 619.

⁶⁵ Mondragón, A. *et al.*, *Dalton Trans.*, 2016, **45**, 9996.

bajos estados de oxidación del centro metálico. Finalmente, la estructura contiene grupos metileno espaciadores que brindan la versatilidad geométrica al complejo.

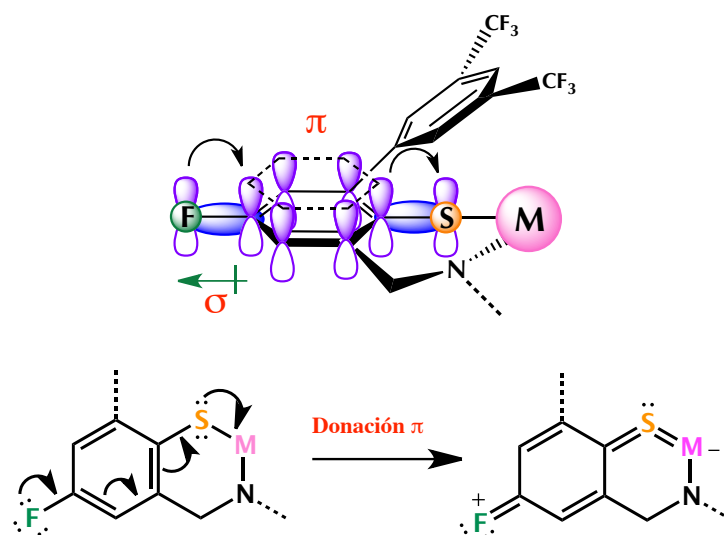


Este proyecto en particular está enfocado en el estudio de un modelo sintético inspirado en la nitrogenasa de vanadio, que cuenta con avances significativos en la elucidación del mecanismo de activación de N₂.⁴¹⁻⁶⁶ Para ello, se planteó la síntesis de un complejo binuclear de hierro similar al intermediario μ-XH (donde X: N u O). la síntesis de los complejos será adaptada a partir de metodologías desarrolladas en nuestro grupo de investigación.



Finalmente, se pretende estudiar la modulación de las propiedades σ electrodonadoras (-CH₃) y σ electroatrasoras (-F) del sustituyente en posición para con respecto al azufre. Potencialmente se podrá también explorar el efecto del flúor en la donación Sπ → M por medio de la conjugación del anillo aromático.

⁶⁶ Lukoyanov, D. *et al.* *J. Am. Chem. Soc.*, 2016, **138**. 10674-10683



2.4 Hipótesis

Los complejos de Fe y Ni deberán poder llevar a cabo procesos redox en ambientes químicos oxidantes y reductores, así como en medio ácido. Se espera que las propiedades estructurales, electrónicas, magnéticas y de reactividad del complejo $(NS_2-Fe)_2-(\mu-X)$ sean similares a las del intermediario Fe_2-X-Fe_6 del cofactor FeV. Además, se espera que la sustitución *para* con flúor, promueva la resistencia a oxidación de los complejos y que haya una mayor contribución de densidad electrónica por parte de los tiolatos hacia el centro metálico, además de favorecer la obtención de los precursores durante la síntesis de los ligantes.

3. SÍNTESIS DE LIGANTES POLIDENTADOS DE S Y N COMO ÁTOMOS DONADORES

Los métodos sintéticos para obtener ligaduras Ar-S son escasos, generalmente se llevan a cabo sustituciones electrofílicas aromáticas utilizando CF_3SCl o sustituciones nucleofílicas aromáticas utilizando EtSNa , también se ha explotado el uso de especies aril-metálicas para lograr este fin⁶⁷. El trabajo desarrollado por Newman y Karnes en 1966,⁶⁸ es otra opción para acceder a sistemas voluminosos con sustituyentes azufrados, estudio que ha servido como base en nuestro grupo de investigación para optimizar las condiciones de síntesis de los ligantes de interés a partir de fenoles comercialmente accesibles para llegar al bloque de construcción S-ariltiocarbamato (7),⁶⁹ que es un precursor crucial. Todos los precursores fueron caracterizados por técnicas espectroscópicas de IR, RMN (^1H , ^{13}C , ^{19}F y DEPT-135), Análisis elemental, punto de fusión y difracción de rayos-X (DRX) cuando fue posible. Se emplearon condiciones experimentales adaptadas a la síntesis del ligante con un nuevo sustituyente *p*-fluorado.

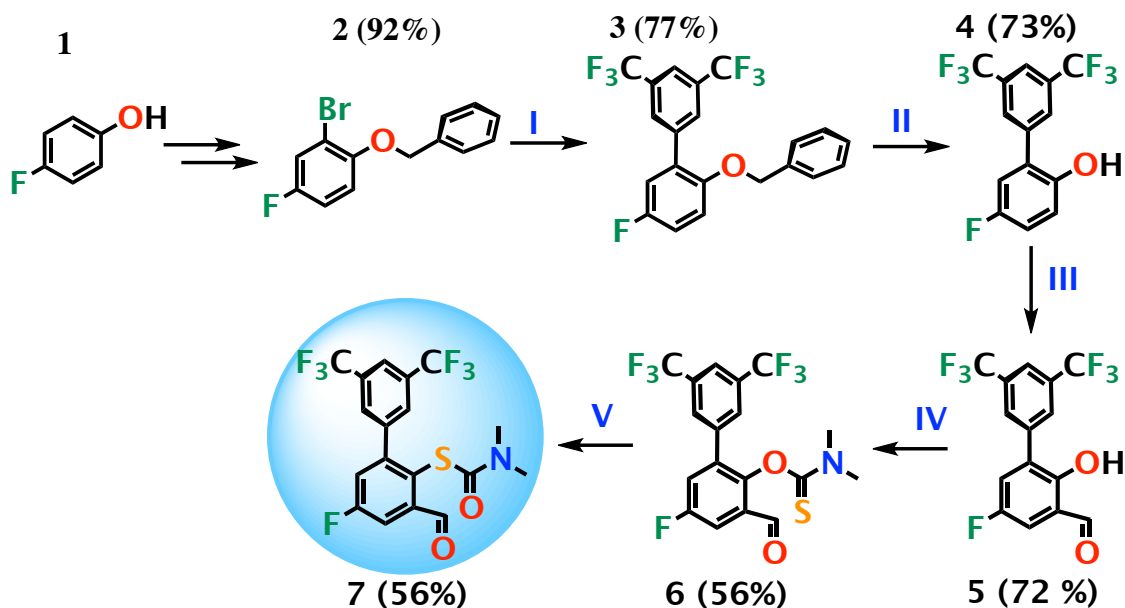


Figura 3.1 Ruta de preparación del S-ariltiocarbamato funcionalizado 6: (I) 3,5-(CF_3) $_2\text{C}_6\text{H}_3\text{B}(\text{OH})_2$, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, K_2CO_3 , $\text{DME}/\text{H}_2\text{O}$; (II) H_2 , Pd/C , $\text{Pd}(\text{OH})_2$, EtOAc ; (III) $\text{MgCl}_2/\text{NEt}_3$, $(\text{CH}_2\text{O})_n$, $\text{THF}/\text{Reflujo}$; (IV) $\text{ClC}(\text{S})\text{NMe}_2$, $\text{DMAP}/\text{Et}_3\text{N}$, DME ; (V) (NKR) 225°C , NMP .

⁶⁷ Agapie, T. Aaron, L. & Cummins, C., *Inorg. Chem.*, 2000, **39**, 174-179.

⁶⁸ Newman, M. Karnes, H., *J Org. Chem.*, 1966, **31**, 3980.

⁶⁹ Mondragón, A., *et al.*, *Tetrahedron Letters*, 2010, **51**, 767.

3.1 Síntesis de tiofenoles: S-ariltiocarbamatos 2,4-disustituídos

La forma más eficiente para acceder a los bloques de construcción S-ariltiocarbamatos sustituidos en las posiciones 2 y 4, es partir de los fenoles *p*-sustituídos, en este caso, utilizando un fluoruro sustituyente (**1**) que fue bromado en la posición orto respecto al sustituyente fenólico utilizando Br_{2(g)} y protegiéndolo con bromuro de bencilo obteniendo el compuesto **2**. La finalidad de la protección es evitar alguna posible interferencia en la siguiente reacción de acoplamiento cruzado (**I**), la cuál fue llevada a cabo utilizando el ácido borónico con los sustituyentes trifluorometilados [3,5-(CF₃)₂C₆H₃B(OH)₂] y el catalizador Pd(PPh₃)₄ en dimetoxietano (DME) durante 48 h, obteniendo el compuesto **3**. A continuación, se procedió a la desprotección de **3** mediante hidrogenólisis por Pd/C y Pd(OH)₂ en EtOAc (**II**), dando como resultado la obtención de **4**, de tal suerte que la formilación se diera en posición *orto* al grupo fenólico. Esto se logró con paraformaldehído y MgCl₂/Et₃N como catalizadores (**III**), dando lugar a **5**. El compuesto **5** se hizo reaccionar con cloruro de N,N-dimetiltiocarbamoilo (ClC(S)NMe₂) en presencia de N,N-dimetilaminopiridina (DMAP) y trietilamina (Et₃N) en una proporción de 1:1 en DME, generando el O-ariltiocarbamato **6** (**IV**). Finalmente, el S-ariltiocarbamato se obtuvo por trasposición térmica de Newman-Kwart (NKR) a 225°C (**V**).

En la figura 3.1.1 se muestra el espectro de RMN de ¹H para el compuesto **4**. Se observan los singletes correspondientes a los protones **Hb** y **Ha** con δ = 8.08 y 7.91 ppm respectivamente, así como los multipletes parcialmente resueltos para **Hd** y **Hc** con δ = 7.09 y 6.87 ppm. El espectro muestra señales para disolvente residual; se obtuvieron cristales para caracterización en estado sólido por DRX mostrada en la figura 3.1.2, donde se observa un ángulo de 49.54° entre los planos de los anillos aromáticos y el grupo fenólico.

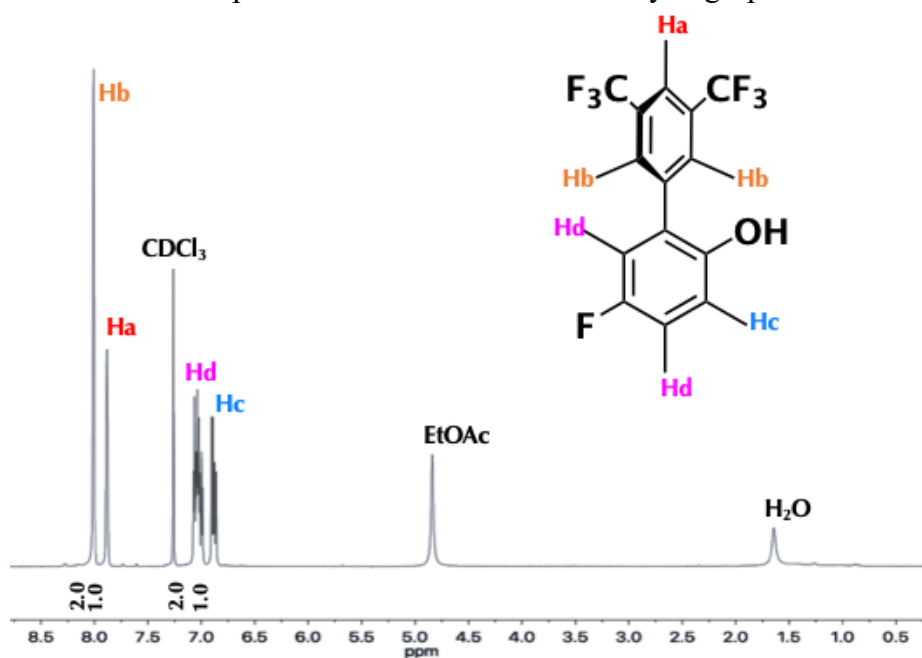


Figura 3.1.1 Espectro de RMN ¹H en CDCl₃ de **4** a temperatura ambiente.

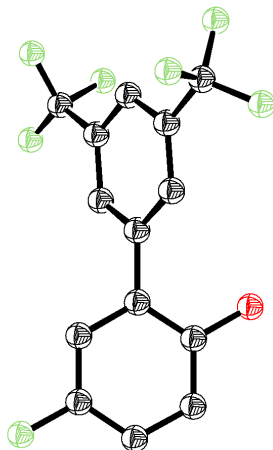


Figura 3.1.2 Diagrama ORTEP de **4** al 50% de probabilidad. Los átomos de hidrógeno se omitieron para claridad. Clave: **negro: C, rojo: O, verde: F.**

Para **5**, se muestra el espectro de RMN de ^1H en la figura 3.1.3, donde se evidencia el singulete del protón unido al oxígeno del fenol **Ha** en $\delta = 11.43$ ppm; luego el protón del aldehído **Hb** a $\delta = 9.92$ ppm; también se observan los singuletes para **Hc** y **Hd** con desplazamientos muy parecidos: $\delta = 8.06$ y 7.87 ppm, un multiplete que integra para los protones **He** y **hf** con $\delta = 7.40$ ppm. Finalmente aparece la señal correspondiente al disolvente residual.

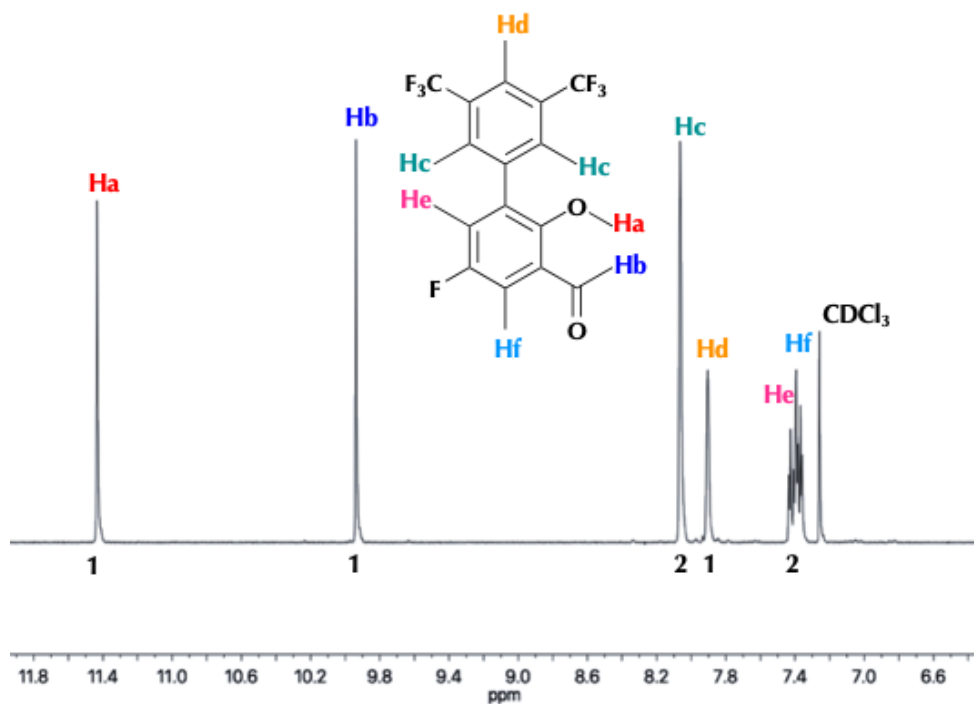


Figura 3.1.3 Espectro de RMN ^1H en CDCl_3 de **5** a temperatura ambiente.

También se muestra la determinación estructural por DRX en la figura 3.1.4, que a diferencia del precursor **4**, tiene un ángulo entre los planos de los anillos de 40.80°. El refinamiento estructural fue suficientemente bueno para determinar los protones del fenol y del aldehído.

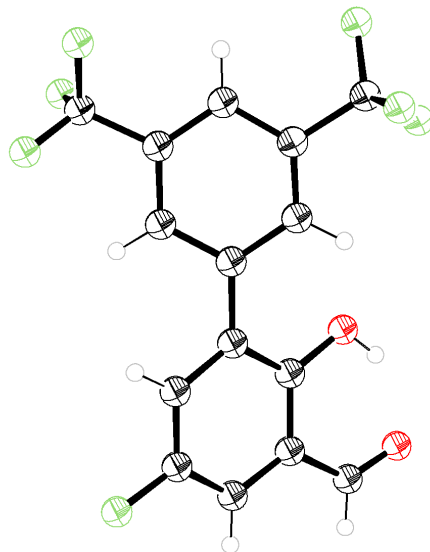


Figura 3.1.4 Diagrama ORTEP de **5** al 50% de probabilidad. Clave: negro: C, Blanco: H, rojo: O, verde: F.

La figura 3.1.5 muestra el espectro de RMN de ^1H para el precursor O-ariltiocarbamato (**6**) donde la señal más desplazada corresponde al protón del aldehído **Ha** con $\delta = 10.13$ ppm; en 7.97 ppm se observa una señal que integra para 3 protones, asignados al anillo aromático que contiene los sustituyentes trifluorometilos (**Hb**, **Hc** y **Hd**), de la cual, se muestra una ampliación y propuesta de asignación según el espectro teórico. Enseguida aparecen dos dobletes de igual intensidad con $\delta = 7.72$ y 7.42 ppm, asignadas a **He** y **Hf** acoplados al sustituyente fluoruro. Se evidencia también la señal correspondiente al disolvente residual, y finalmente dos singuletes simétricos con $\delta = 3.41$ y 3.62 ppm, asignados arbitrariamente a los metilos del sustituyente O-tiocarbamato **Hg** y **Hf**.

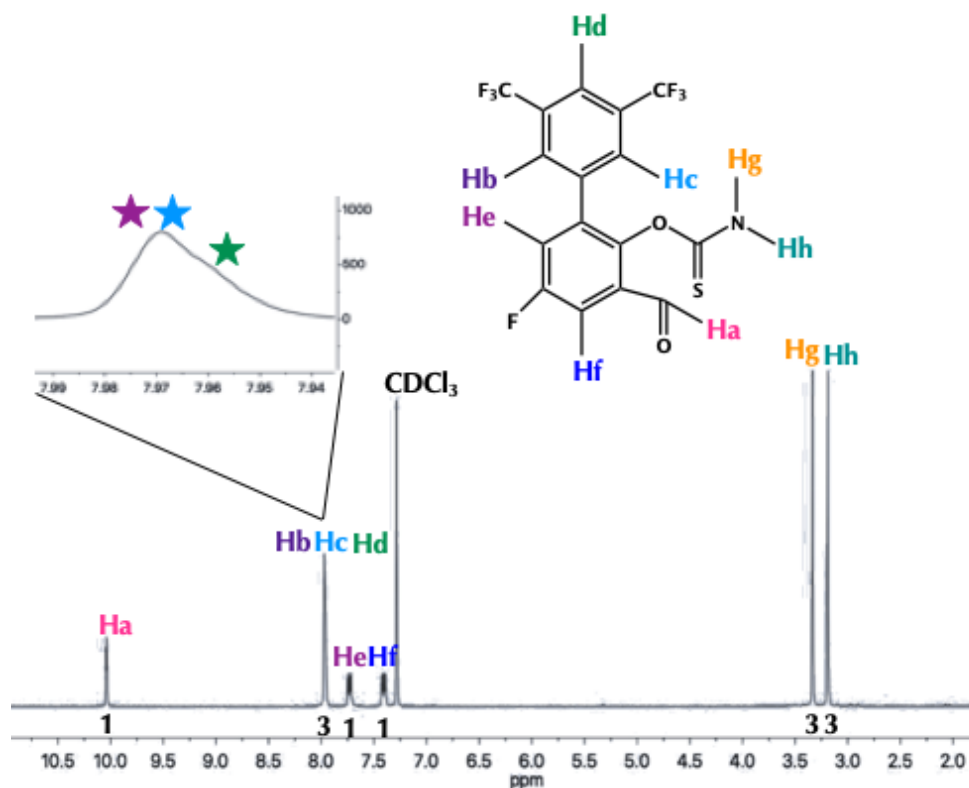


Figura 3.1.5 Espectro de RMN ^1H en CDCl_3 de **6** a temperatura ambiente.

La figura 3.1.6 corresponde a la estructura ORTEP de **6** al 50% de probabilidad, para la cual, en el estado sólido, se encontró un ángulo de 53.80° entre los planos que contienen a los anillos aromáticos, y un ángulo de 74.12° entre el sustituyente O-tiocarbamato y el plano del anillo que lo contiene, mientras que el formilo es coplanar anillo.

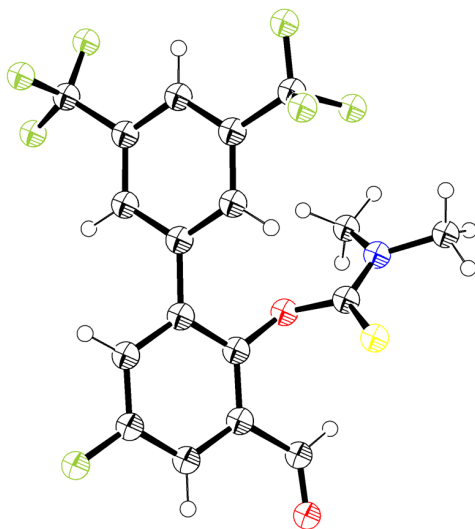


Figura 3.1.6 Diagrama ORTEP de **6** al 50% de probabilidad. Clave: negro: C, Blanco: H, rojo: O, verde: F, Amarillo: S, Azul: N.

Finalmente, para el bloque S-ariltiocarbamato, se muestra el espectro de RMN de ^1H en la figura 3.1.7, donde se observa un comportamiento similar al análogo O-ariltiocarbamato, con el protón del aldehído exhibiendo un singulete con $\delta = 10.42$ (Ha); Hd correspondiente al protón localizado entre los grupos trifluorometilios ($\delta = 7.88$); un doblete para He acoplado al fluoruro ($\delta = 7.79$); enseguida se observa un singulete con integral para dos núcleos, asignado a la contribución de Hb y Hc en $\delta = 7.76$. El doblete de Hf acoplado a F a $\delta = 7.37$, es seguido de la señal para disolvente residual y finalmente, un singulete de gran intensidad con integral para 6 núcleos de protón con $\delta = 2.94$, asignados a los protones de los grupos metilo. Ésta última señal permite diferenciar entre los análogos O-ariltiocarbamato y S-ariltiocarbamato.⁶⁹ La figura 3.1.8 esquematiza la diferenciación de los grupos metilo debido a la resonancia que existe en el O-ariltiocarbamato, donde se favorece la estructura con un enlace doble C=N que impide el libre giro, provocando la no equivalencia de los 6 núcleos del fragmento tiocarbamato en comparación con el análogo S-ariltiocarbamato.

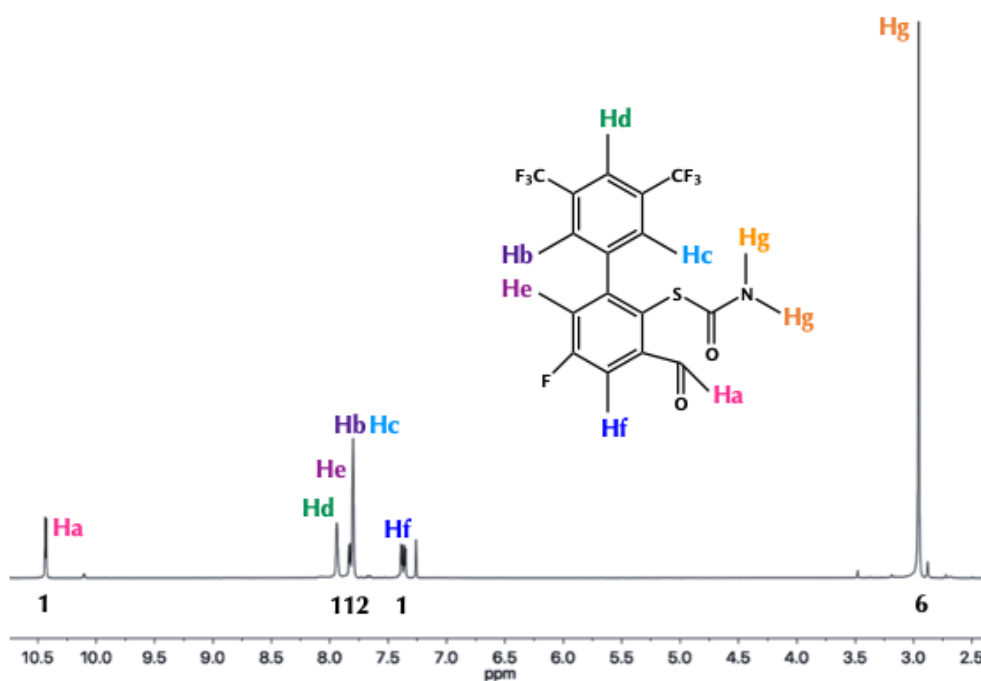


Figura 3.1.7 Espectro de RMN ^1H en CDCl_3 de 7 a temperatura ambiente.

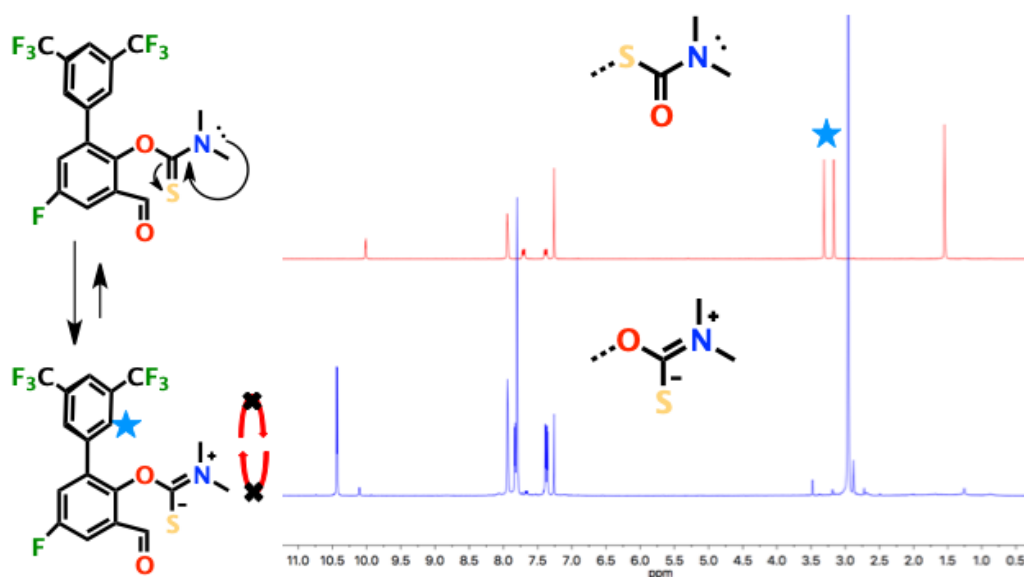


Figura 3.1.8 Comparación de RMN ^1H entre **6** y **7** en CDCl_3 a temperatura ambiente, donde los metilos del fragmento tiocarbamato de **6** son perfectamente diferenciables respecto a **7** debido a efectos resonantes.

De esta forma se obtuvo el compuesto S-ariltiocarbamato con rendimientos razonables. Las seis reacciones en serie se obtuvieron con rendimientos de entre el 52% y 96%. Para el precursor *p*-fluorado estudiado en este trabajo, la temperatura requerida para llevar a cabo la trasposición de Newman-Kwart fue de 210°C , mientras que para el análogo *p*-metilado se reporta una temperatura de 230°C .⁶⁹ Análisis del mecanismo propuesto para la NKR requiere que el anillo aromático acepte densidad electrónica del fragmento tiocarbamato facilitada por el sustituyente carbonílico, como se ilustra en la **figura 3.1.9**.

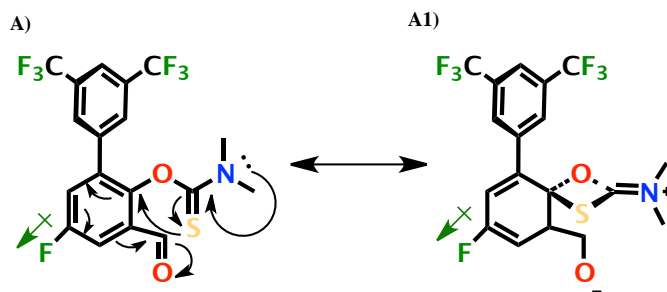


Figura 3.1.9 Ataque nucleofílico por parte del S en NKR para la obtención de **7**.

Se propone entonces, que el fluoruro en posición *para* respecto al fragmento tiocarbamato, facilite el proceso debido al efecto σ -atractor, que podría estabilizar el estado de transición propuesto **A1**, facilitando el proceso de trasposición a una menor temperatura. La **figura 3.1.10** ilustra cualitativamente la barrera de activación que se requiere para llevar a cabo la transformación de **6** a **7**. En la figura 3.1.10, la traza de color verde representa la energía de

activación (E_a) requerida para la formación del precursor S-ariltiocarbamato *para*-metilado. La traza rosa muestra la correspondiente E_a del análogo *para*-fluorado reportado en este trabajo.

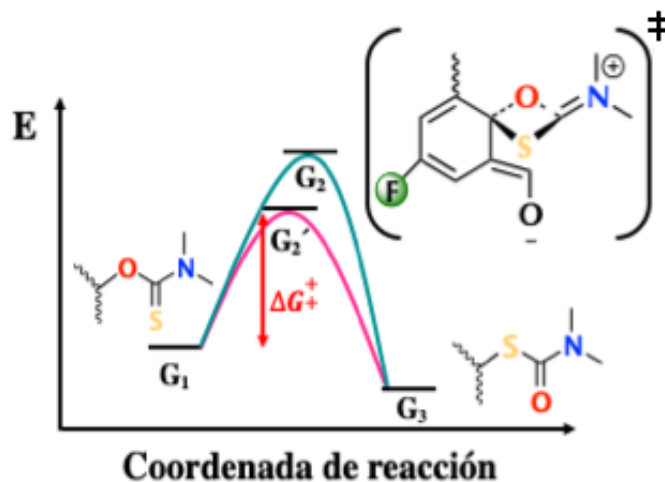


Figura 3.1.10 Diagrama energético de NRK para la obtención de Me-S-ariltiocarbamato y F-S-ariltiocarbamato.

Posteriormente se procedió a la síntesis del ligante tipo pinza NS₂ mediante la ruta sintética:

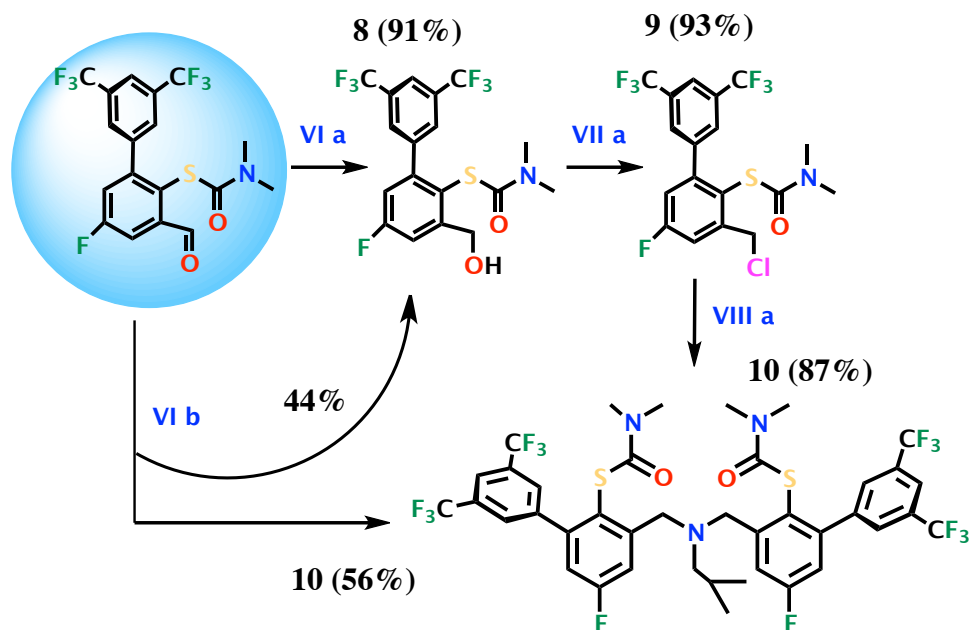


Figura 3.1.11 Ruta de preparación del ligante tipo pinza NS₂ (10): (VI a) NaBH₄(OAc)₃, THF, 70°C, 4d; (VII a) SOCl₂, CH₂Cl₂, T.A. 18 h; (VIII a) NaI, *i*Bu-NH₂, K₂CO₃, MeCN, reflujo, 3d. (VI b) *i*Bu-NH₂, NaBH₄(OAc)₃.

Posterior a la obtención del bloque S-ariltiocarbamato, se procedió a la síntesis del ligante NS₂, para la cuál pueden seguirse dos rutas **a** y **b**. Para la primera ruta **a**, se procede a la reducción del sustituyente formilo *orto* al fragmento S-tiocarbamato; posteriormente se halógena con SOCl₂ y finalmente se sustituye el cloro con isobutilamina. La segunda ruta se lleva en un solo paso por aminación reductiva con un rendimiento de 56%, sin embargo, el producto secundario resulta en la reducción del formilo para dar la obtención del alcohol bencílico **8** que se puede separar de **10** fácilmente por columna cromatográfica para su posterior transformación a **10** vía ruta sintética **a**.

3.2 Síntesis del alcohol bencílico

Para la obtención de **8**, se utilizó NaBH₄(OAc)₃ como agente reductor en agitación a 70°C por 4 días. El término de la reacción fue monitoreado por cromatografía de capa fina. Enseguida, se retiró el disolvente de la reacción y se realizó extracción acuosa con acetato de etilo 1:1 por triplicado, con la finalidad de retirar totalmente las sales inorgánicas; se llevó la fase orgánica a sequedad y al agregar gota a gota hexano, se observó la formación de un precipitado blanco que se separó y caracterizó espectroscópicamente.

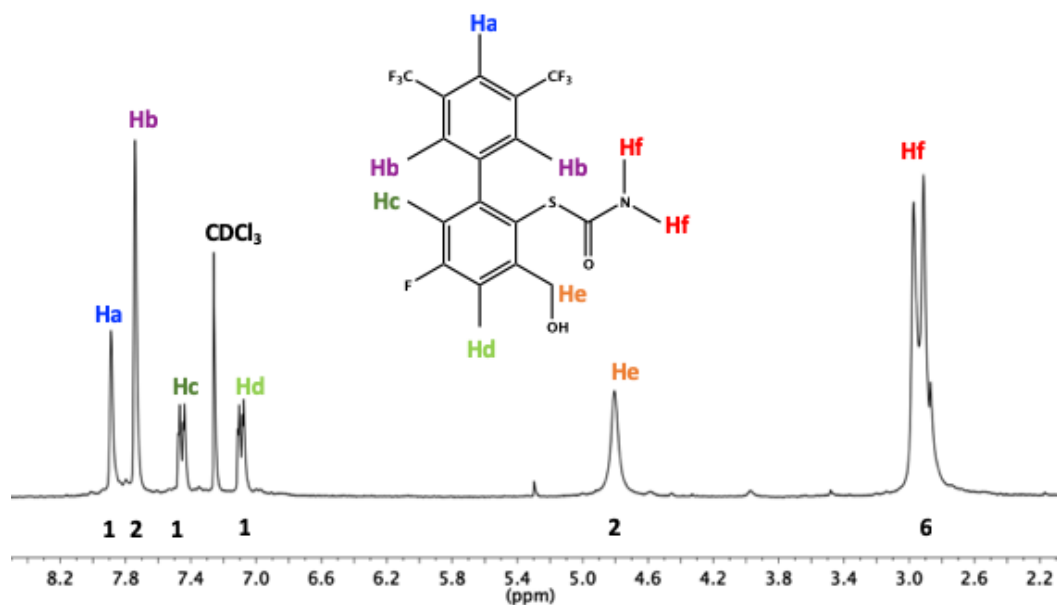


Figura 3.2.1 Espectro de RMN ¹H en CDCl₃ de **8** a temperatura ambiente.

Se realizó la caracterización espectroscópica completa a **8**, que incluye RMN ¹H, mostrada en la figura 3.2.1, donde se observan los singuletes correspondientes a los tres protones del anillo aromático que contiene a los trifluorometilos **Ha** y **Hb**, con $\delta = 7.88$ y 7.73 ppm. Los protones del anillo aromático, con las señales correspondientes a los protones **Hc** ($\delta = 7.43$) y **Hd** ($\delta = 7.08$) acoplados al fluoruro a 3 enlaces de distancia y entre ellos mismos. Posteriormente, se encuentra el singulete **He** del metileno desplazado a 4.99 ppm y

finalmente un doblete **Hf** que integra para 6 núcleos, asignado a los grupos *N*-metilo del S-tiocarbamato. La rotación restringida sobre el enlace C(O)-N y puede observarse si hay enlaces de hidrógeno del grupo tiocarbamato con el sustituyente *Orto*-CH₂OH, un comportamiento similar al observado con el ligante *p*-metilado.⁷⁰

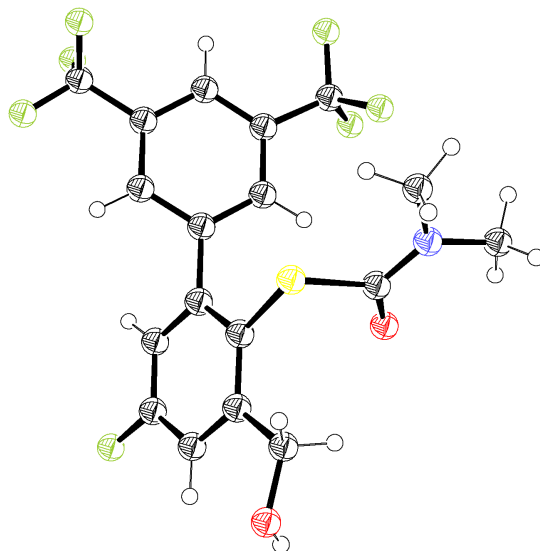


Figura 3.2.2 Diagrama ORTEP de **8** al 50% de probabilidad. Clave: negro: C, Blanco: H, rojo: O, verde: F, Amarillo: S, Azul: N.

La figura **3.2.2** corresponde a **8**, donde el ángulo interplanar de ambos anillos aromáticos es de 52.90°, mientras que el plano del fragmento S-tiocarbamato forma un ángulo de 80.21° respecto al anillo que lo contiene.

3.3 Síntesis del cloruro bencílico

Luego de la reducción del compuesto S-ariltiocarbamato, se procedió a la halogenación de **8** para dar **9** por tratamiento con SOCl₂ en diclorometano (DCM) anhidro bajo atmósfera inerte a temperatura ambiente. La reacción terminó al cabo de 18 h, después de lo cual, se purificó en columna cromatográfica de sílica-gel utilizando una fase móvil de hexano:acetato de etilo 95:5, dando como resultado un aceite casi incoloro con un rendimiento del 93%.

⁷⁰ Robles-Marin, E. (2018). *Síntesis, caracterización, reactividad y estudio teórico de complejos de Molibdeno y Hierro con ligantes tipo NSx como activantes en reacciones redox frente a N₂*. (Tesis de doctorado). Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

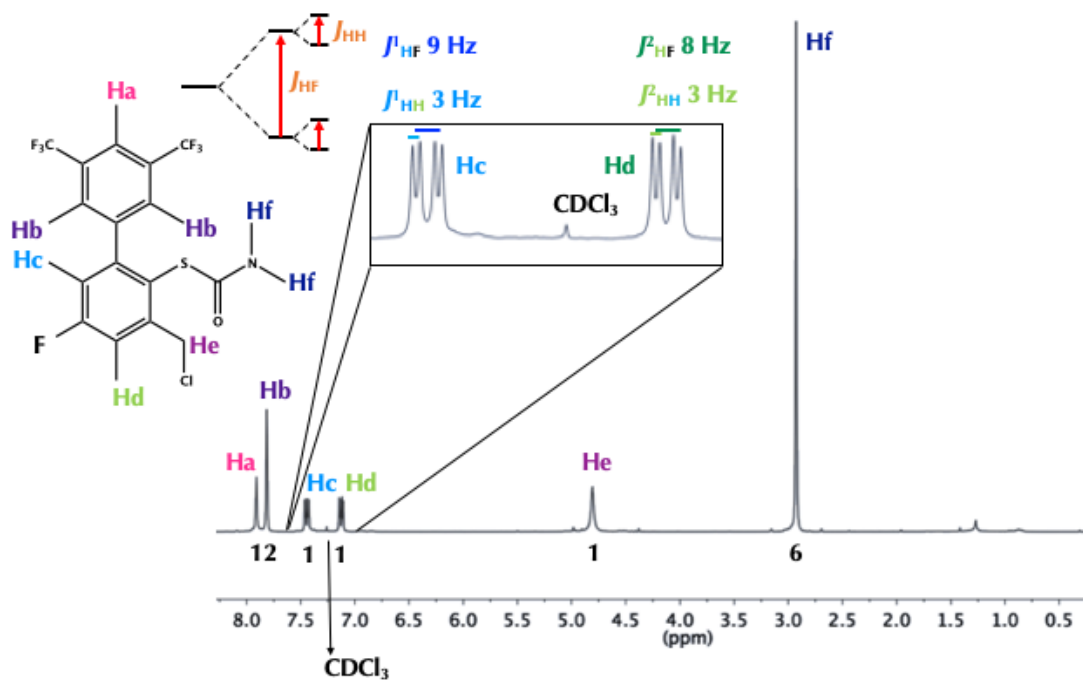


Figura 3.3.1 Espectro de RMN ^1H en CDCl_3 de **9** a temperatura ambiente.

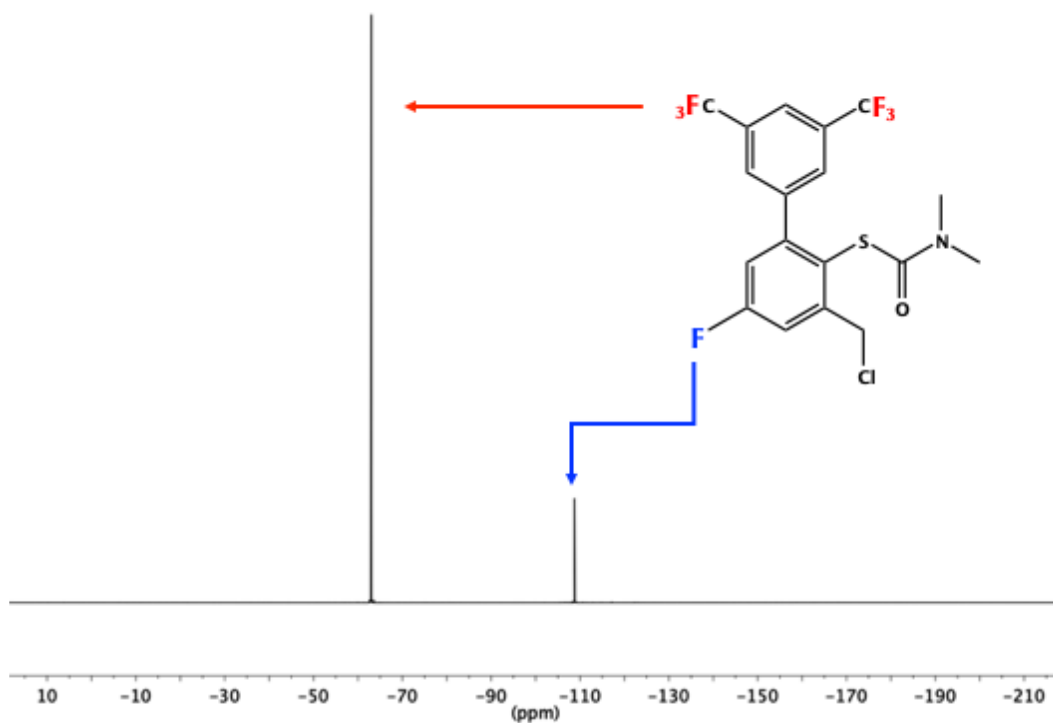


Figura 3.3.2 Espectro de RMN ^{19}F en CDCl_3 de **9** a temperatura ambiente.

Para esto, se muestra la RMN ^1H en la figura 3.3.1, donde se pueden identificar los singuletes de los núcleos **Ha** y **Hb**, con $\delta = 7.81$ y 7.23 ppm, las señales de los protones **Hc** ($\delta = 7.47$ ppm) y **Hd** (7.71 ppm), se encuentran acoplados fuertemente con el F del anillo principal y en menor proporción entre ellos mismos, exhibiendo valores de $J_{\text{HF}} = 9$ Hz y $J_{\text{HH}} = 3$ Hz, tal como se ilustra en la ampliación de la imagen. Finalmente se muestra el singulete del metileno con $\delta = 4.79$ ppm y el singulete en 2.91 ppm que integra para los 6 protones de los grupos *N*-metilo. La figura 3.3.2 corresponde al espectro RMN ^{19}F , donde se observan dos singuletes que corresponden a los 6 núcleos de los trifluorometilos **F** ($\delta = -64$ ppm) y al *p*-fluoruro del anillo principal **F** ($\delta = -109$ ppm). Este comportamiento en RMN ^{19}F se observó en todos los precursores anteriores, con ligeras variaciones en el desplazamiento químico.

3.4 Síntesis del ligante tipo pinza

Finalmente, se procedió a la obtención del ligante tipo pinza **10** a partir del precursor clorado. Para esto, dos equivalentes de **9** fueron disueltos en THF anhidro dentro de un matraz tipo *Schlenck* bajo atmósfera de Ar. Después se realizó un intercambio de halógenos Cl/I, con 2 equivalentes de NaI agitando por 30 minutos, observando turbidez blanca en la disolución. Posteriormente se agregó un equivalente de *i*Bu-NH₂, y casi inmediatamente se agregaron 2.1 equivalentes de K₂CO₃ para propiciar el ataque nucleofílico de la amina al yoduro bencílico. La mezcla se dejó reaccionar a 80°C por 3 días; después de este periodo de tiempo, el producto se aisló y purificó en columna de sílica, utilizando como eluyente una mezcla de hexano:acetato de etilo 9:1. Se obtuvo el producto **10** con un rendimiento de 87%.

La figura 3.4.1 muestra el espectro RMN ^1H de **10** a temperatura ambiente, donde se observan las señales singulete ya reportadas para el cloruro bencílico **Ha** ($\delta = 7.79$ ppm) y **Hb** ($\delta = 7.68$ ppm), luego las señales dobles de dobles **Hc** ($\delta = 7.53$ ppm) y **Hd** ($\delta = 6.92$ ppm). En $\delta = 3.76$ ppm surge un singulete que integra para los cuatro protones de los metilenos puente entre las dos unidades *S*-ariltiocarbamato y la *iso*-butilamina (**He**); casi enseguida se observa un singulete de gran intensidad con integral para 12 núcleos de los *N*-metilos ($\delta_{\text{Hf}} = 2.82$ ppm); luego un doblete **Hg** con $\delta = 2.26$ ppm, seguido de un multiplete con integral para un núcleo **hh** a 1.87 ppm que se acopla casi equitativamente con **He**, **Hg** y **Hi** ($J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz). La última señal corresponde a los dos metilos de *i*Bu-NH₂ con $\delta = 0.91$ ppm.

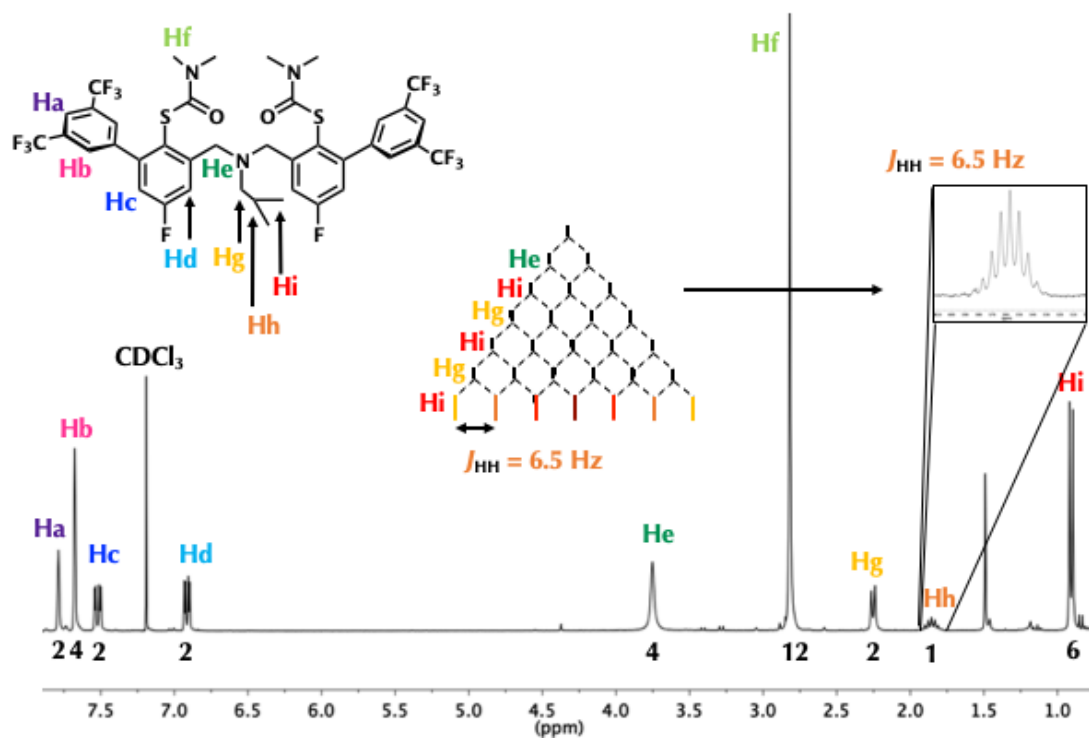


Figura 3.4.1 Espectro de RMN ^1H en CDCl_3 de **10** a temperatura ambiente.

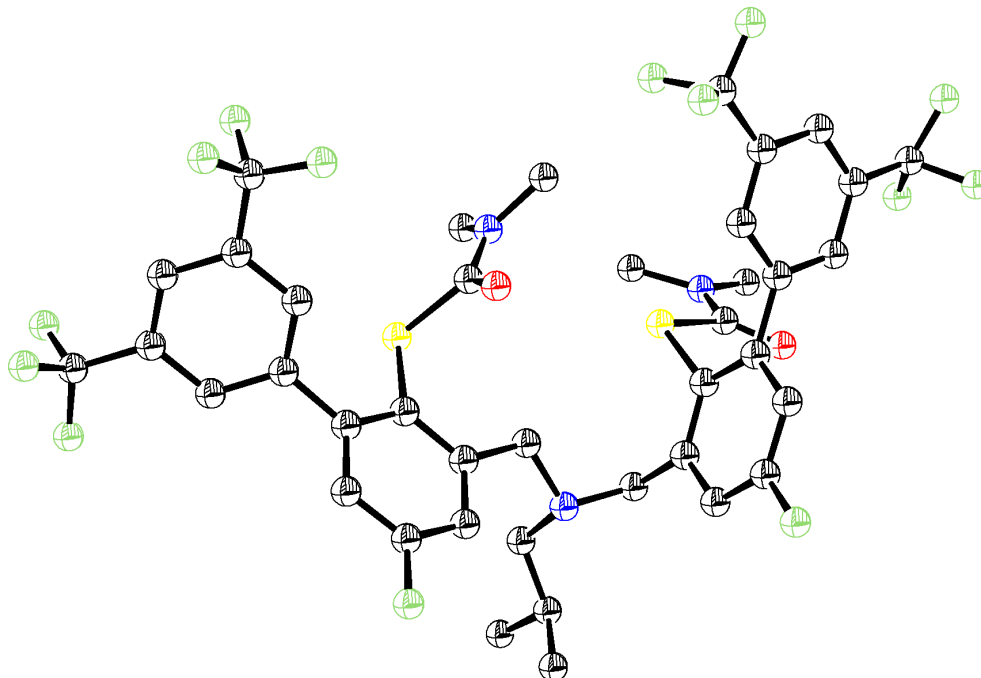


Figura 3.4.2 Diagrama ORTEP de **10** al 50% de probabilidad. Clave: negro: C, Blanco: H, rojo: O, verde: F, Amarillo: S, Azul: N.

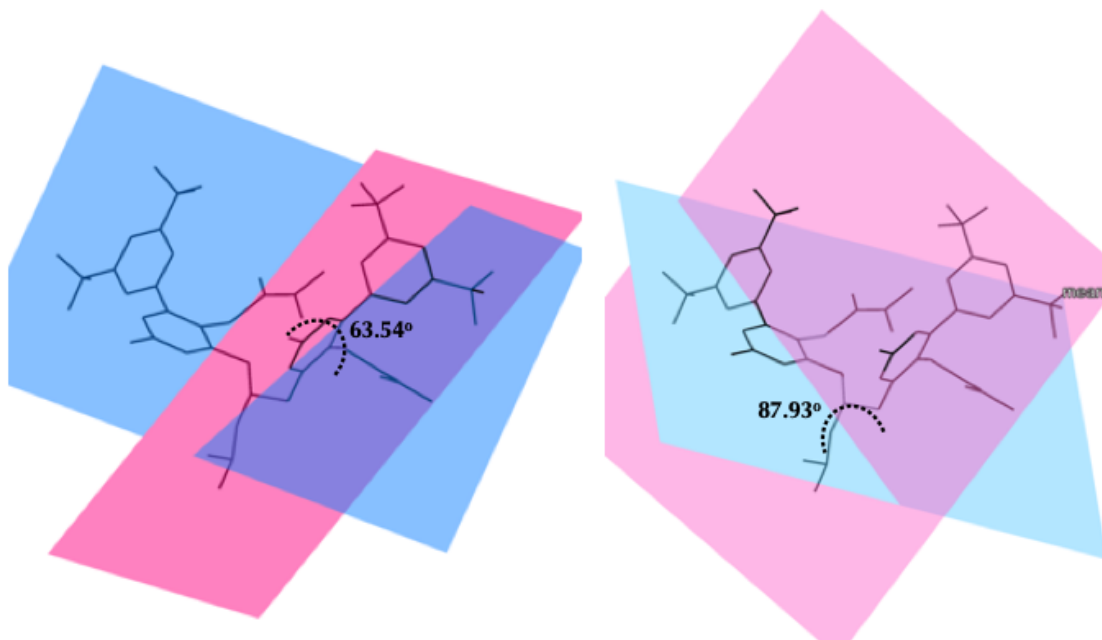


Figura 3.4.4 Planos entre anillos aromáticos para cada uno de los brazos del ligante NS₂.

La estructura cristalizó en una celda monoclinica eje único b con grupo espacial *P21/c*. La figura 3.4.3 corresponde a la estructura ORTEP de **10** al 50% de probabilidad, donde se observa claramente el ligante tipo pinza NS₂ *p*-fluorado. Los ángulos interplanares entre los anillos aromáticos para cada uno de los brazos del ligante son relativamente diferentes, de 63.54° y 87.93°. (Figura 3.4.4).

4. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS METÁLICOS

4.1 Síntesis del complejo F-NS₂-Ni²⁺

Luego de obtener el ligante tipo pinza con átomos donadores NS₂ fluorado en la posición *para* en el anillo aromático respecto al tiolato (F-NS₂ correspondiente a la estructura **10**), se procedió a la preparación del complejo de níquel (II). (Es importante mencionar que el Ni está presente en la hidrogenasa de NiFe).⁷¹ Esta contiene un sitio activo heterobimetálico con Ni y Fe con puentes tiolato suministrados por cadenas laterales de cisteína; dos tioles-Cys adicionales se encuentran coordinados a Ni, y el hierro se encuentra complementariamente coordinado a monóxido de carbono y dos ligantes cianuro, tal como ilustra la figura 4.1.1⁷²

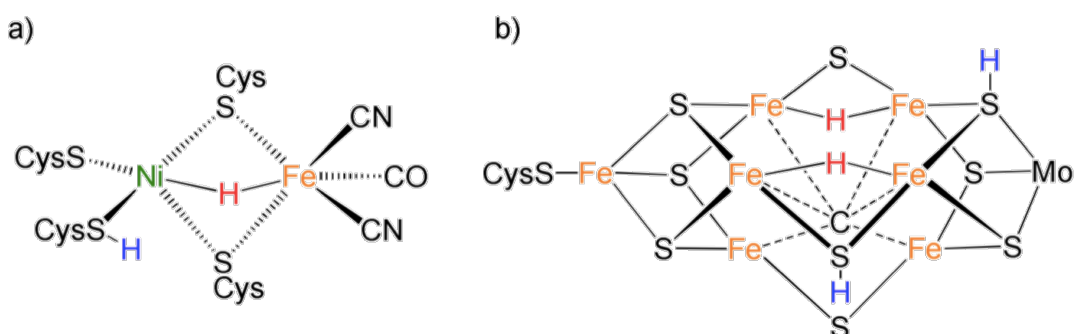


Figura 4.1.1 Representación esquemática de los sitios activos de (a) [NiFe]-H₂asa y (b) [FeMo]-N₂asa.

En este sentido, los cofactores de la nitrogenasa e hidrogenasa comparten similitudes estructurales importantes, por ejemplo, los átomos donadores a los centros metálicos son fundamentalmente RS²⁻/RS⁻, además las nitrogenasas requieren de la condición hidrogenasa para su actividad catalítica. Por ello, nuestro grupo de investigación ha estudiado previamente complejos mono y bimetalicos de Ni²⁺ utilizando el ligante análogo *para*-metilado (CH₃-NS₂), demostrando su actividad hidrogenasa de acuerdo a estudios electroquímicos.⁶⁴ Para la preparación de este tipo de complejos el ligante **10** se mantiene protegido con los grupos S-tiocarbamato (S-tio), debido a la alta tendencia de los tioles (SH) o tiolatos (S⁻) a sufrir oxidación con formación de disulfuros. De este modo, es necesaria la formación *in-situ* de los tiolatos de sodio vía desprotección con metóxido de sodio, y finalmente agregando la sal NiCl₂.6H₂O para obtener el complejo **11**.

⁷¹ Peters, J. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 1999, **9**, 670-676.

⁷² Yu, X. Pang, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2018, **140**, 11454-11463.

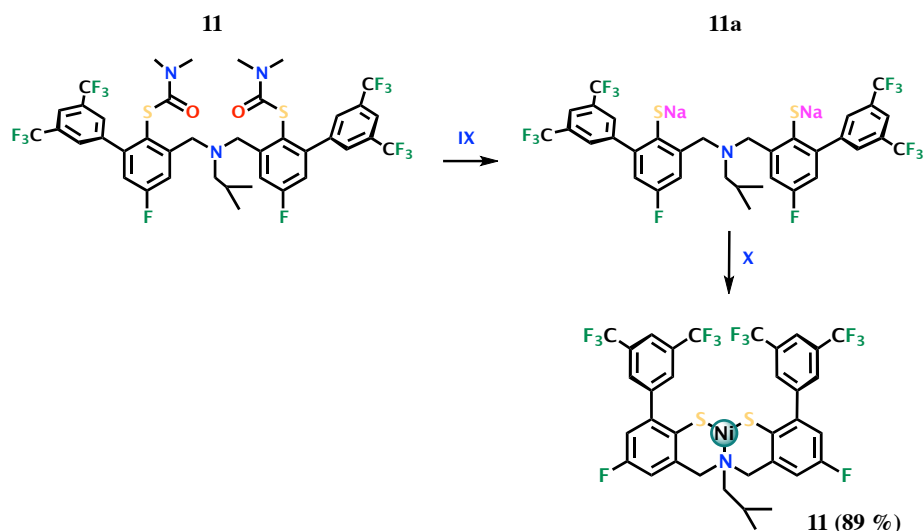


Figura 4.1.2 Ruta de preparación del complejo F-NS₂-Ni²⁺ (**11**): (IX) MeONa/THF, 70°C, 8d; (X) NiCl₂.6H₂O.

Para monitorear la desprotección de **11** se usó espectrometría de masas por ionización FAB⁺, buscando la pérdida del fragmento con *m/z* 72, correspondiente al fragmento O=CH-N-(CH₃)₂ del tiocarbamato. La figura 4.1.3 ilustra en el espectro (A) a **11**, con el pico base (PB) de 72 *m/z*, además de las propuestas de fragmentos (*m/z* 424, *m/z* 495, *m/z* 876 y M+1: 920 *m/z*). El espectro (B) representa **11a** (ligante desprotegido) debido a la ausencia del fragmento 72 *m/z*, y se propone una estructura para el ión molecular (437 *m/z*). El resto de la información se muestra en los anexos 10.4 a 10.6.

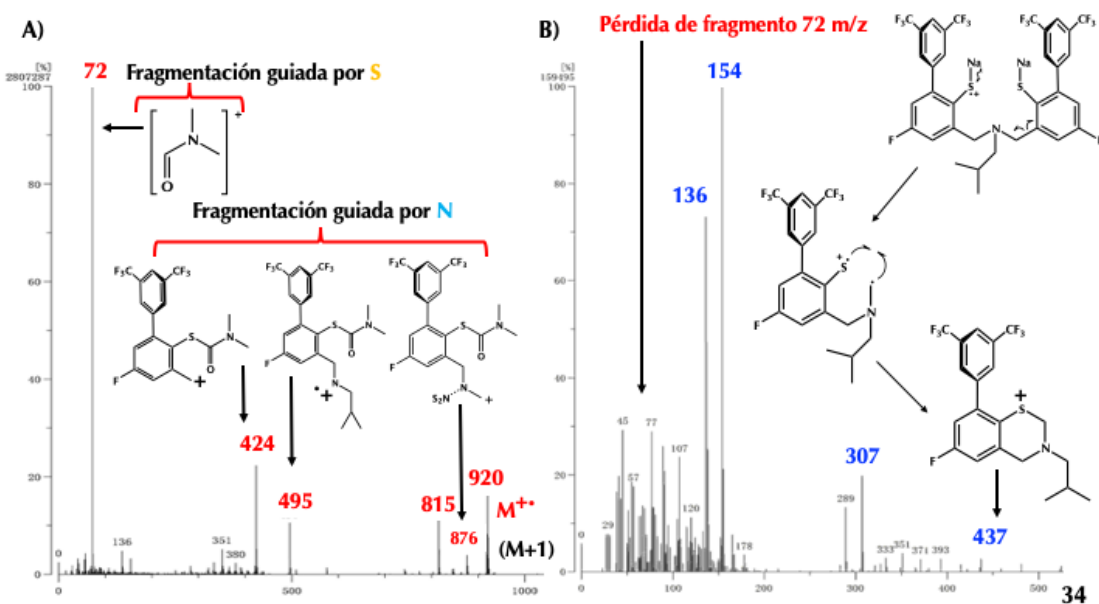
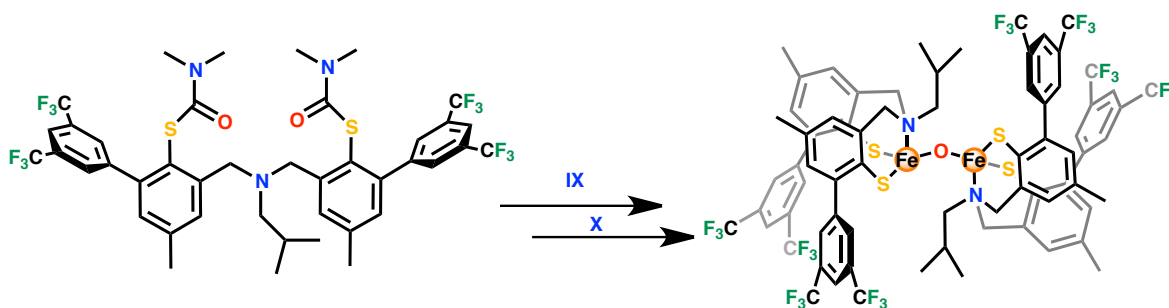


Figura 4.1.3 (A) Espectro de masas FAB⁺ de **11** y (B) espectro de masas FAB⁺ de **11a**

4.2 Síntesis del complejo dinuclear (NS₂-Fe)₂-(μ-O) (12)

Siguiendo con el estudio de sistemas modelo que puedan brindarnos ideas sobre el mecanismo de la fijación biológica de nitrógeno molecular, se estudiaron las propiedades estructurales, electrónicas, magnéticas y de reactividad de un complejo dinuclear de hierro. El diseño de este complejo está inspirado en el fragmento Fe₂-XH-Fe₆ del intermediario propuesto para la coordinación de N₂ de la nitrogenasa de vanadio, donde un átomo ligero X, reemplaza el sulfuro μ₂ S₂B. En el ciclo de Thorneley y Lowe⁴¹ el intermediario con puente NH corresponde al estado E₆, mientras que el grupo de Bjornsson concluyó que la distinción entre un ligante OH y NH no es posible.⁴² En este contexto se sintetizó un complejo como análogo al fragmento Fe-X-Fe en un entorno rico en azufre. Para obtener el complejo dinuclear **12** se empleó inicialmente el ligante *p*-metilado, siguiendo la misma metodología ilustrada en reacciones **IX** y **X** (*vide infra*), utilizando FeCl₂ para la metalación de los ligantes, seguido por la oxidación con oxígeno del aire.



Ruta de preparación del complejo (NS₂-Fe)₂-(μ-O) (**12**): **(IX)** MeONa/THF, 70°C, 8d; **(X)** FeCl₂ + O₂ (ppm)

La identidad de **12** fue inicialmente sugerida por espectrometría de masas FAB⁺ (**Fig. 4.2.0**) obteniéndose el ion molecular de **1663 m/z**; también se observó el fragmento correspondiente al ligante desprotegido con los grupos tiol. Posteriormente se confirmó la especie en estado sólido por difracción de rayos X de monocristal (**Fig. 4.2.1.1**). Se constata la presencia del puente μ-oxo entre dos átomos de hierro coordinados a ligantes CH₃-NS₂ que actúan como ligantes tridentados hacia cada centro metálico a través de los S de los tiofenolatos y el N de la amina terciaria para un ambiente de coordinación **2S1N1O**, con una geometría pseudo-tetraédrica para cada Fe³⁺, tal como en FeV.

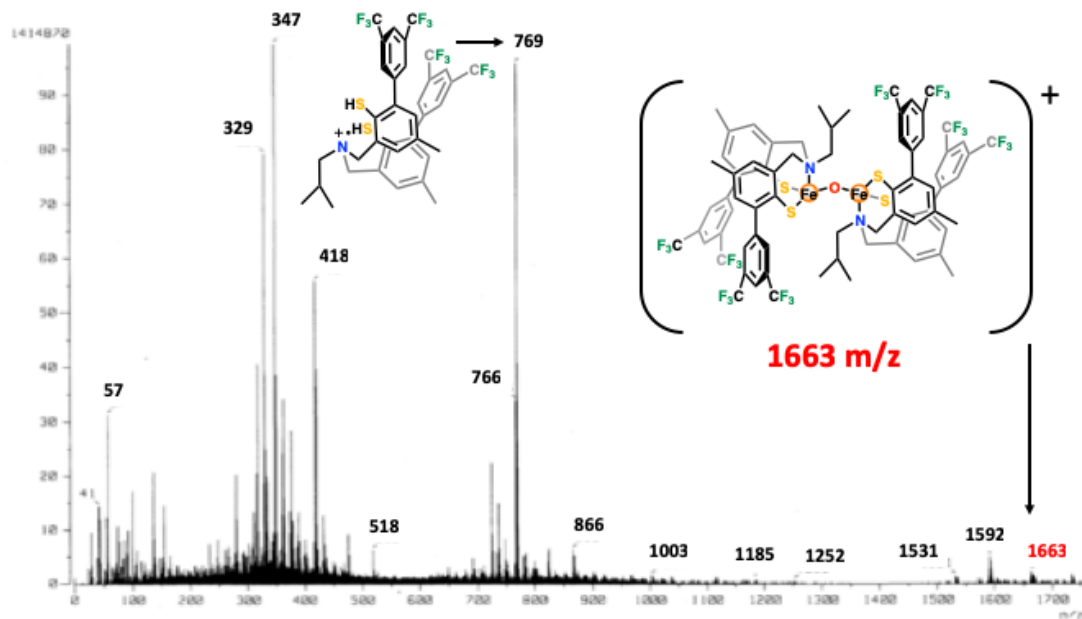


Figura 4.2.0 Espectro de masas FAB⁺ de **12**. Se muestra el ión molecular y el fragmento del ligante desprotegido.

4.2.1 Propiedades estructurales

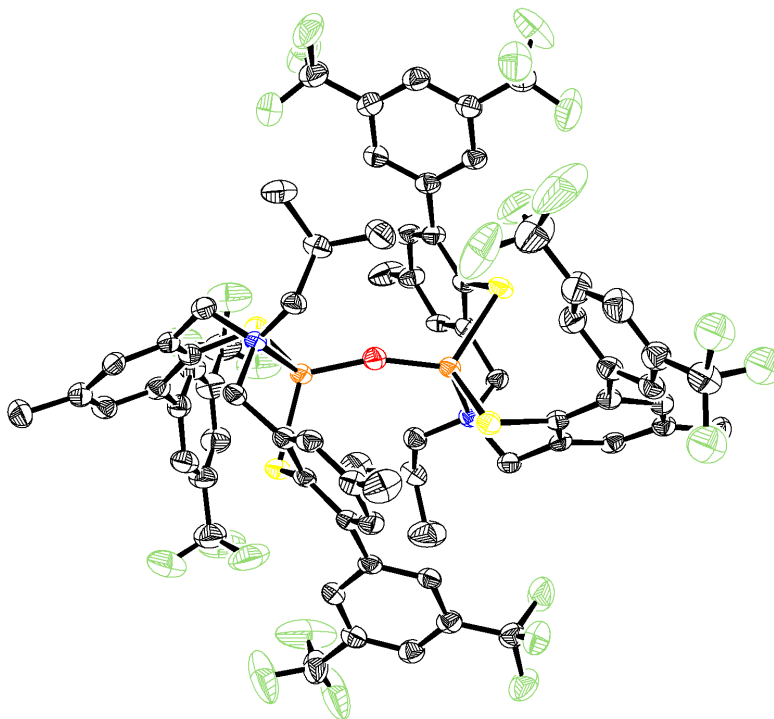


Figura 4.2.1.1 Estructura ORTEP de **12** al 50% de probabilidad. Los átomos de hidrógeno se omitieron con fines de claridad.

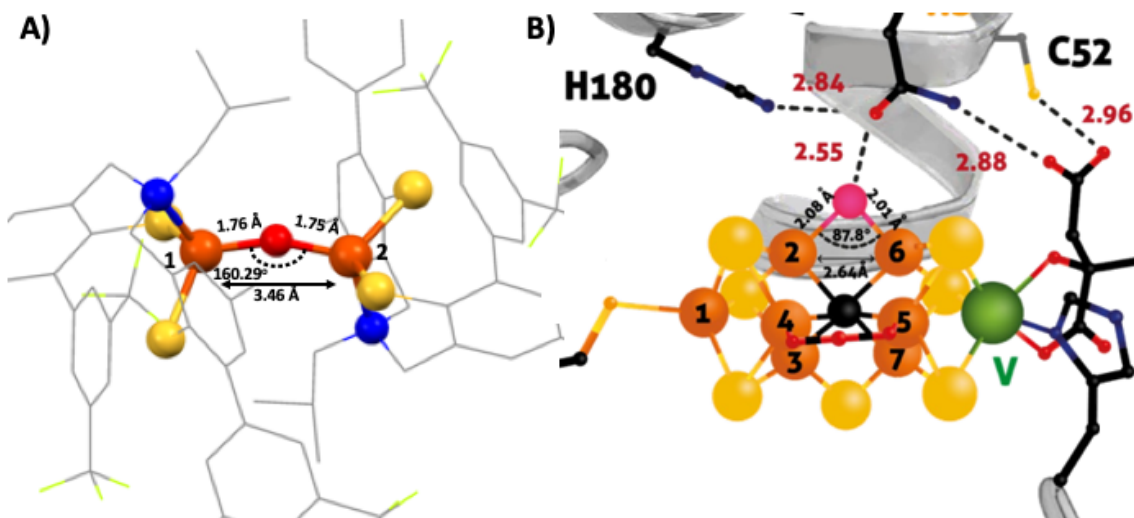


Figura 4.2.1.2 (A) Estructura **12** en estado sólido al 50% de probabilidad para los átomos **Fe, N, S, C** y **O** (átomos de H omitidos para mayor claridad). (B) intermediario de FeV parcialmente reducido, se indica en color rosa el átomo ligero O/N, en naranja los centros de hierro y en amarillo los sulfuros. Se incluyen distancias y ángulos de interés para ambas estructuras.

La estructura cristalográfica del intermediario de FeV revela las siguientes distancias: **Fe2-Fe6**: 2.64 Å, **Fe2-N/O**: 2.08 Å, **Fe6-N/O**: 2.01 Å, con un ángulo **Fe2-N/O-Fe6** de 87.8°. ⁴¹ Para **12**, los parámetros son **Fe1-Fe2**: 3.46 Å; **Fe1-O**: 1.76 Å; **Fe2-O**: 1.75 Å, con un ángulo **Fe1-O-Fe2** de 160.29°. Las diferencias geométricas son consecuencia evidente de la falta de rigidez en la estructura del complejo sintético, principalmente debido a la ausencia del carburo intersticial. Sin embargo, los parámetros de **12** son más semejantes a los postulados para el intermediario μ -OH. ⁴²⁷³

Las frecuencias vibracionales del fragmento **Fe-O-Fe** de **12** fueron determinadas mediante espectroscopia IR. Los dos modos de estiramiento de la unidad M-O-M dependen fundamentalmente del ángulo que se genera (ϕ). Basándonos en las correlaciones de los estiramientos simétricos (ν_s) y antisimétricos (ν_a) contra ϕ para varios sistemas con el sitio Fe-O-Fe ⁷⁴, se determinaron las bandas ν_s y ν_a de nuestro sistema, que deberían ser de $\nu_s = 420 \text{ cm}^{-1}$ y $\nu_s = 850 \text{ cm}^{-1}$. Experimentalmente se observan en $\nu_s = 423 \text{ cm}^{-1}$ y $\nu_a = 846 \text{ cm}^{-1}$. (Véase fig. 4.2.1.3)

⁷³ Kurtz, D. *Chem. Rev.*, 1990, **90**, 585-606.

⁷⁴ Sanders-Loehr, J., et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, **111**, 8084.

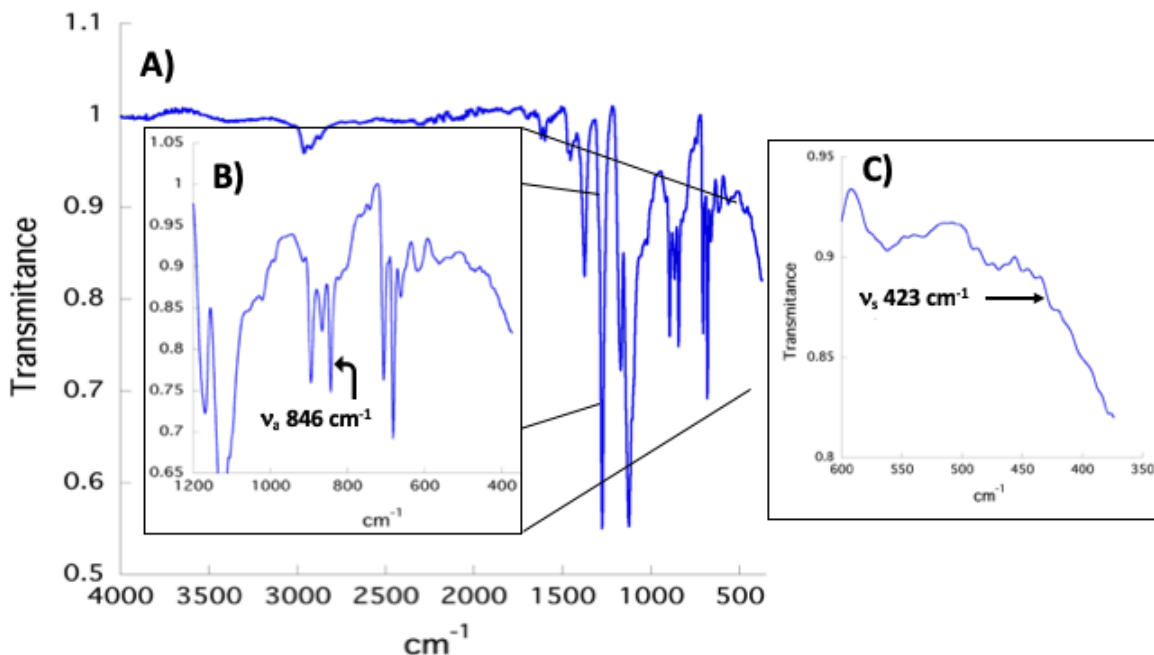


Figura 4.2.1.3 (A) Espectro de infrarrojos de **12**. La señal correspondiente al estiramiento asimétrico ($\nu_a = 846 \text{ cm}^{-1}$) se muestra en (B) y el estiramiento simétrico ($\nu_s = 423 \text{ cm}^{-1}$) en (C)

4.2.2 Propiedades electrónicas y magnéticas

Para obtener información acerca de las propiedades electrónicas de **12**, se llevaron a cabo estudios de EPR a temperatura variable y estudios de espectroscopía Mössbauer a temperatura ambiente. De acuerdo con los datos obtenidos por EPR, a temperatura ambiente (**293 K**), el complejo exhibe un ligero carácter rómbico ($\eta = 0.05$) y un espín total $S = 5/2$. Esto fue concluido luego de analizar el tensor g congruente con lo observado en el espectro de la figura 4.2.2.1: una señal débil en $g_1 = 4.24$ por contribución del doblete de Kramer $m_s = \pm 1/2$ y una señal intensa en $g_2 = 1.99$, debida a las contribuciones sinérgicas de los dobletes de Kramer $m_s = \pm 1/2$ y $\pm 3/2$. A medida que disminuye la temperatura de **298 K** a **117 K**, g_1 gana intensidad y se desplaza a menor campo magnético, mientras que para g_2 se observa lo opuesto, es decir, hay decremento en intensidad y ensanchamiento de la señal hacia valores de campo menores. Este fenómeno dependiente de la temperatura puede atribuirse a la población de especies con un espín total $S < 5/2$ a medida la temperatura disminuye. El comportamiento es consistente con una transición parcial de los sistemas $S = 5/2$ a $S = 3/2$ con el mismo valor de rombicidad $\eta = 0.05$, congruente con los rombogramas, donde g_1 debe aparecer como señal ancha e intensa como consecuencia de la contribución $m_s = \pm 1/2$ y para el caso de g_2 , una señal muy ancha y débil, debido a una sola contribución del doblete de Kramer $m_s = \pm 1/2$ a medida $S = 3/2$ se va poblando a baja temperatura.

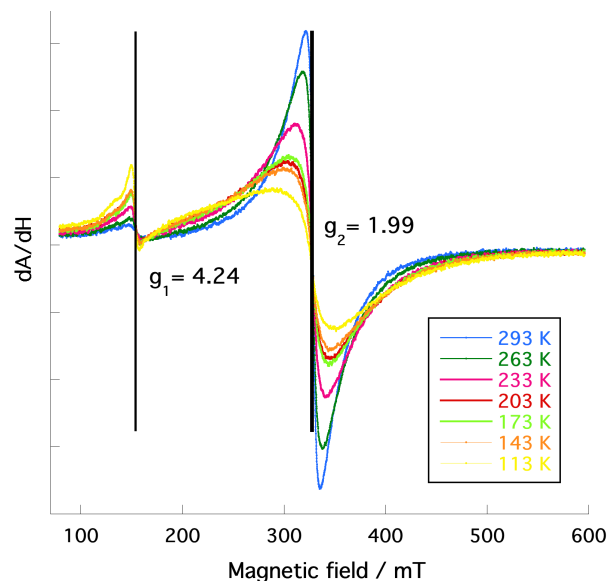


Figura 4.2.2.1 EPR a temperatura variable de **12** desde 293 K hasta 113 K.

Estas observaciones son congruentes con la espectroscopia Mössbauer (**Fig 4.2.2.2**), con desplazamiento de isomérico δ_{Fe} : 0.246 mm s^{-1} (**traza azul**: 2 señales intensas centradas en -0.23 y 0.51 mm/s con $\Delta = 0.74 \text{ mm/s}$, hombro en -0.50 mm/s con $\Delta = 1.01 \text{ mm/s}$). Esta curva experimental se comparó con el comportamiento esperado para un sistema de Fe^{3+} en alto espín (**traza roja**) con desplazamientos: -0.5 mm/s y 0.85 mm/s con $\Delta = 1.35 \text{ mm/s}$. Fe^{3+} en bajo espín (**traza verde**) con desplazamientos: -0.24 mm/s y 0.53 mm/s , $\Delta = 0.75 \text{ mm/s}$ contribuye al espectro experimental. El espectro observado es consistente con dos tipos de iones Fe^{3+} , en configuraciones de alto y bajo espín, lo cual nos permitió racionalizar a **12** como un sistema diférrico con espín intermedio en un ambiente tetrahédrico.^{73,75}

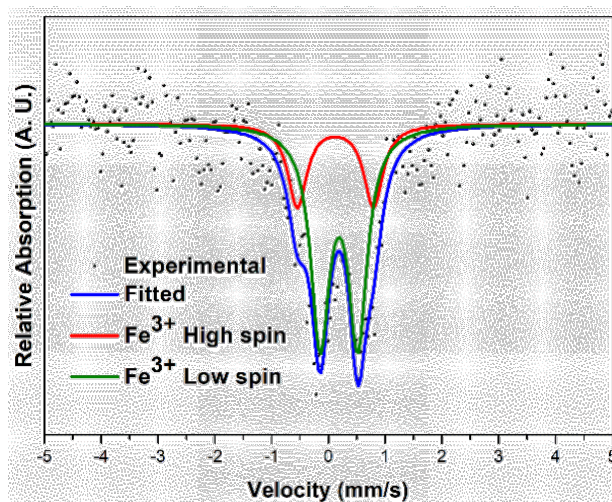


Figura 4.2.2.2 Espectro Mössbauer de **12**.

⁷⁵ Stubna, A. *et al*, *Inorg. Chem.*, 2014, **43**, 3067-3079.

Para complementar el estudio de las propiedades magnéticas del sistema $(\text{NS}_2\text{-Fe})_2\text{-}(\mu\text{-O})$, se determinó la susceptibilidad magnética (χ_M) a temperatura variable. Al graficar T vs χ_M , **12** muestra un comportamiento asintótico (**Fig. 4.2.2.3**), variando desde $4.40\mu_B$ a 298 K, hasta $2.13 \mu_B$ a 3K.

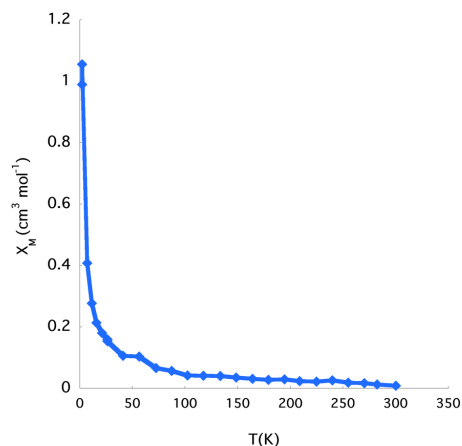


Figura 4.2.2.3 Curva T vs χ_M del análisis de susceptibilidad magnética a temperatura variable

La figura **4.2.2.4** muestra las curvas del producto ($T \cdot \chi_M$) y el inverso ($1/\chi_M$), que son consistentes con un comportamiento que sigue la ley de Curie-Weiss [$\chi = C/(T-\theta)$]⁷⁶ para dos centros metálicos acoplados antiferromagnéticamente, con $\theta < 0$. A pesar de que la correlación para la gráfica ($T \cdot \chi_M$) con desviación estándar $\sigma = 1.08$ sugiere que algunas de las mediciones individuales difieren de lo esperado, la tendencia general de los datos sugiere un incremento de $T \cdot \chi_M$ con la temperatura.⁷⁷

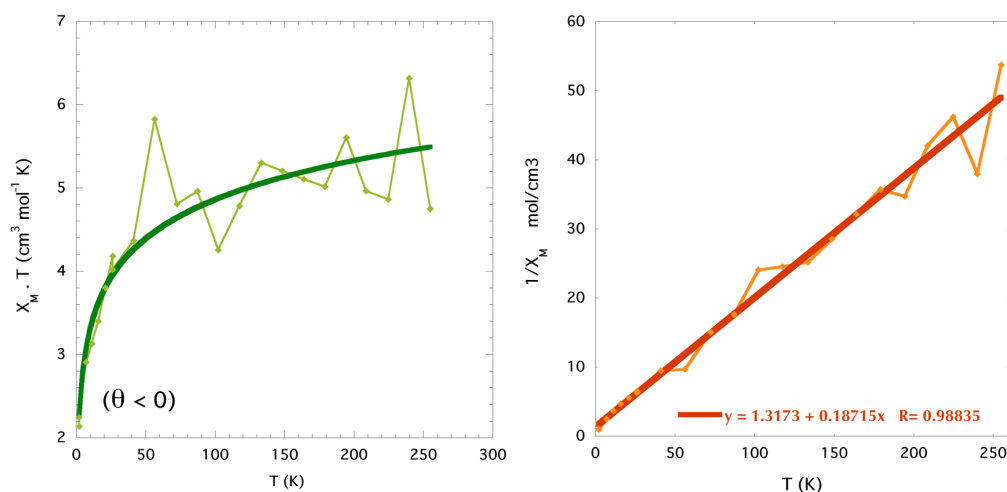


Figura 4.2.2.4 Curvas ($T \cdot \chi_M$) y ($1/\chi_M$) de **12**.

⁷⁶ Spaldin, N. (2003). *Magnetic Materials: Fundamentals and Device Applications*. Ed. Cambridge. Inglaterra. Pág. 46-48.

⁷⁷ Aldas, J. et al. (2017). *Análisis multivariante aplicado con R*. Ed. Parainfo. España. Pág. 41-43.

El análisis de los resultados sugiere que **12** posee un término fundamental, que inicialmente es degenerado y se desdobra por acoplamiento espín-órbita, con términos accesibles térmicamente, además, en general los sistemas polinucleares con fuerte interacción espín-órbita muestran desdoblamiento del término principal en estados suficientemente bajos en energía para ser poblados térmicamente.⁷⁸ La curva χ_M muestra un incremento con la temperatura, consistente con $\theta < 0$ y por tanto, se sugiere un acoplamiento entre los centros Fe1---Fe2 de **12** tipo antiferromagnético. La curva $1/\chi_M$ intersecta el eje de las ordenadas en 1.3173 (a $T = 0$, $1/\chi_M > 0$) lo cual sugiere que el complejo diférrico satisface la tendencia esperada para un complejo que cumple ley de Curie-Weiss.⁷⁸

Las proteínas FeMo y FeV difieren en potenciales redox y reactividad⁷⁹, presentando un perfil catalítico distinto. La proteína de V, en particular, presenta características únicas por EPR, diferentes a las de la proteína FeMo. En estado reducido, FeMo exhibe una señal rómbica para un sistema total de espín $S = 3/2$.⁸⁰ En contraste, la proteína FeV presenta 3 señales EPR, correspondientes a los sistemas de espín $S = 1/2$, $S = 3/2$ y $S = 5/2$.⁸¹ Los valores del tensor g para $S = 3/2$ son: 5.50, 4.32 y 3.77, asignados al sitio catalítico reducido, y su intensidad está correlacionada con la actividad catalítica.⁸² Para **12**, a medida disminuye la temperatura el tensor $g_1 = 4.24$ gana intensidad, y desde **143 K** se observa la aparición de una nueva señal con $g = 5.14$, mientras que el valor $g_2 = 1.99$ se vuelve más ancha, y aunque no es posible determinar exactamente el valor, es claro que dA/dH aumenta en intensidad a valores con $g > 1.99$. Estos cambios son congruentes con el comportamiento magnético del sistema a temperatura variable, donde el sistema de espín intermedio $(NS_2-Fe)_2-(\mu-O)$, se acopla más fuertemente a baja temperatura, favoreciendo valores de g que promueven una importante similitud electrónica en términos de propiedades de espín con el centro activo FeV, que también se encuentra en un ambiente tetraédrico en una configuración de alto espín acoplado antiferromagnéticamente. Éstas similitudes electrónico/magnéticas entre **12** y FeV se ilustran en el diagrama de la figura 4.2.2.5.⁴¹

⁷⁸ Gispert, J. *Coordination Chemistry*, Wiley, 2014.

⁷⁹ Crossland, J. Tyler, R. *Coord. Chem. Rev.*, 2010, **254**, 1883.

⁸⁰ Burgess, B. Lowe, D. *Chem Rev.*, 1996, **96**, 2983.

⁸¹ Lee, C. Hu, Y., Ribbe, M. *PNAS*, 2009, **106**, 9209.

⁸² Eady, R., *Coord. Chem. Rev.*, 2003, **237**, 23.

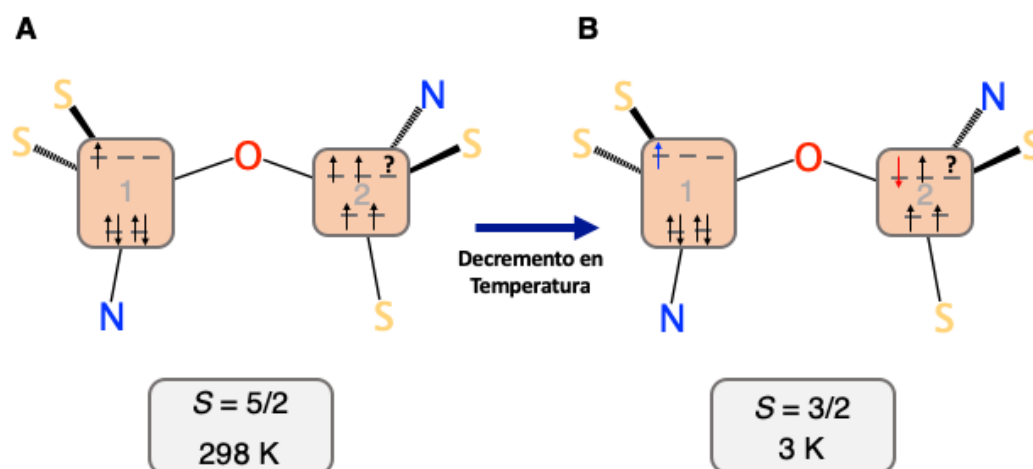


Figura 4.2.2.5 Esquema representativo del acoplamiento antiferromagnético de $(\text{NS}_2\text{-Fe})_2\text{-(}\mu\text{-O)}$, en un ambiente tetrahédrico. (Figura adaptada de **39**)

Se obtuvieron los espectros de absorción electrónica en la región UV del complejo **12** en disolución de THF, mostrado en la **Figura 4.2.2.6**, la cual muestra dos bandas intensas: α : 329 nm ($\epsilon = 10,200 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) y β : 372 nm ($\epsilon = 7,380 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), atribuidas a las transiciones de transferencia de carga del sitio Fe1-O-Fe2 (p_x, p_y) \rightarrow Fe (d_{xz}, d_{yz}) de simetría π , que se vuelven no degeneradas debido al ángulo generado por el puente μ -oxo de 160.29° , atribuidas de acuerdo con los datos reportados para sistemas que poseen el fragmento Fe-O-Fe.^{83,84} Adicionalmente, una amplia señal es observada en γ : 469 nm ($\epsilon = 4,740 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), asignada a la excitación $S(p\sigma) \rightarrow \text{Fe}(d_{xy})$, mientras que la banda a 643 nm ($\epsilon = 2,890 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) puede ser tentativamente asignada a la transferencia de carga $S(p\pi) \rightarrow \text{Fe}(\delta)$. Las bandas γ y δ se desplazan ligeramente a menor energía, comparada con los complejos análogos $[\text{NS}_3\text{-Fe}^{3+}]$ y $[\text{NO}_3\text{-Fe}^{3+}]$ reportados por nuestro grupo de investigación.⁶⁵

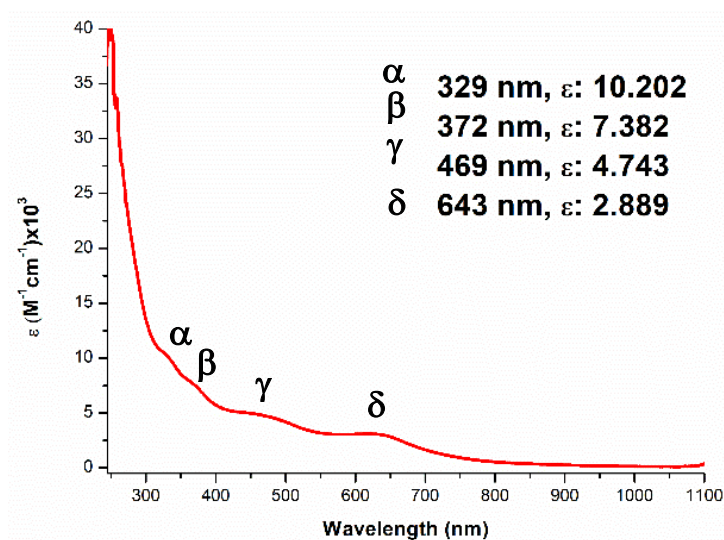


Figura 4.2.2.6 Espectro de absorción electrónica en la región UV-Vis de **12** en disolución de THF

⁸³ McCormick, J. *et al.* *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, **113**, 9066-9079.

⁸⁴ Murray, K. *Coord. Chem. Rev.*, 1974, **12**, 1-35.

4.2.3 Estudios de electroquímica

Se llevaron a cabo estudio⁸⁵s de voltamperometría cíclica para el complejo **12**, exhibiendo un comportamiento electroquímico muy similar en las direcciones anódica y catódica. El voltamograma inicial (Fig 4.2.3.1) en sentido catódico evidencia una curva quasi-reversible (C_1) debido a que la diferencia entre picos anódico y catódico ($E_{ap}-E_{cp} = \Delta E_p$) del proceso se alejan solamente un poco del valor en cuestión ($\Delta E_p=140$ mV) para el sistema Fc^+/Fc bajo las mismas condiciones experimentales (Anexo 12.2). También se observan tres reducciones irreversibles secuenciales. C_1 aparece a un potencial de -0.94 V (respecto al par redox ferricinio/ferroceno = Fc^+/Fc), asignada a la reducción en un electrón $Fe^{3+}Fe^{3+}/Fe^{3+}Fe^{2+}$ y $C_2 = -1.2$ V es asignada al segundo proceso reductivo $Fe^{3+}Fe^{2+}/Fe^{2+}Fe^{2+}$. C_3 y C_4 aparecen a -1.5 V y -2.1 V, respectivamente, tentativamente asignadas a la reducción Fe^{2+}/Fe^{1+} para cada uno de los centros de Fe. (Véase fig. 4.2.12). Cabe mencionar que las señales de reducción centradas en el ligante han sido previamente estudiadas en nuestro grupo de investigación utilizando el complejo $(Zn-NS_2)_2-(\mu S)_2$, debido a que los centros metálicos Zn^{2+} carecen de estados de oxidación fácilmente accesibles, mostrando únicamente señales de reducción a potenciales menores a -3 V respecto al sistema Fc^+/Fc bajo mismas condiciones experimentales.⁶⁴

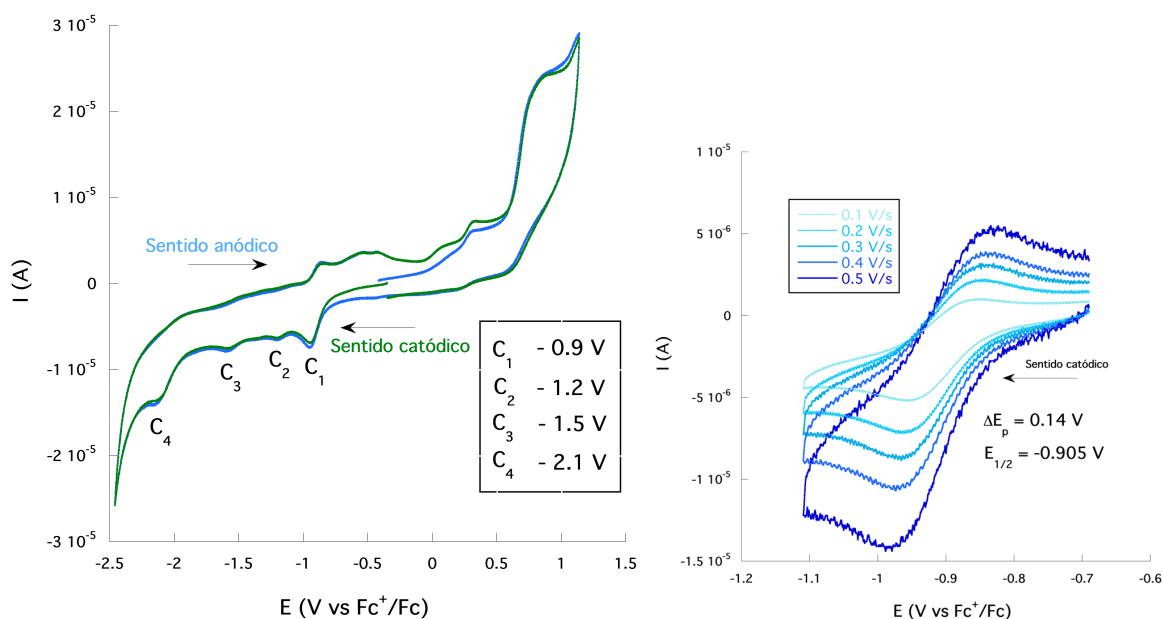


Figura 4.2.3.1 A la izquierda se muestra el voltamograma de **12** en sentidos **anódico** y **catódico**, y, en el voltamograma de la derecha, se muestran las velocidades de barrido del proceso quasi-reversible C_1 con $E_{1/2} = -0.905$ V y $E_{ap}-E_{cp} = 160$ mV.

Se realizaron mediciones de potenciales de inversión con la finalidad de encontrar la dependencia de algún proceso redox, y, por otro lado, facilitar la asignación de señales de los diferentes procesos, encontrando que, al invertir en sentido catódico a potenciales más positivos ($-2.5 \rightarrow 2.0$; $-1.6 \rightarrow 2.0$ y $-1.0 \rightarrow 2.0$), hay un decremento en la corriente de los

⁸⁵ Elgrishi, N. *et al. J. Chem. Educ.*, 2018, **95**, 197-206.

procesos de oxidación. Esto implica una dependencia de los procesos de oxidación respecto a sus correspondientes reducciones (**Anexo 12.1**) Tomando esto en cuenta, las siguientes mediciones se realizaron desde -2.5 V hasta 0 V, acotando solo los procesos de reducción de protones.

Posteriormente, se agregó a **12** un equivalente de ácido trifluorometansulfónico ($\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$) como fuente de H^+ en diclorometano, observando que disminuye la corriente para C_1 , mientras que un nuevo proceso quasi-reversible C_{IH} emerge con $E_{1/2} = -0.49$. Esto puede atribuirse a la reducción $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ de uno de los centros de hierro a través de una nueva ruta con menor coste energético, como la protonación del sitio $\mu\text{-O} \rightarrow \mu\text{-OH}$. (Figura 4.2.3.2)

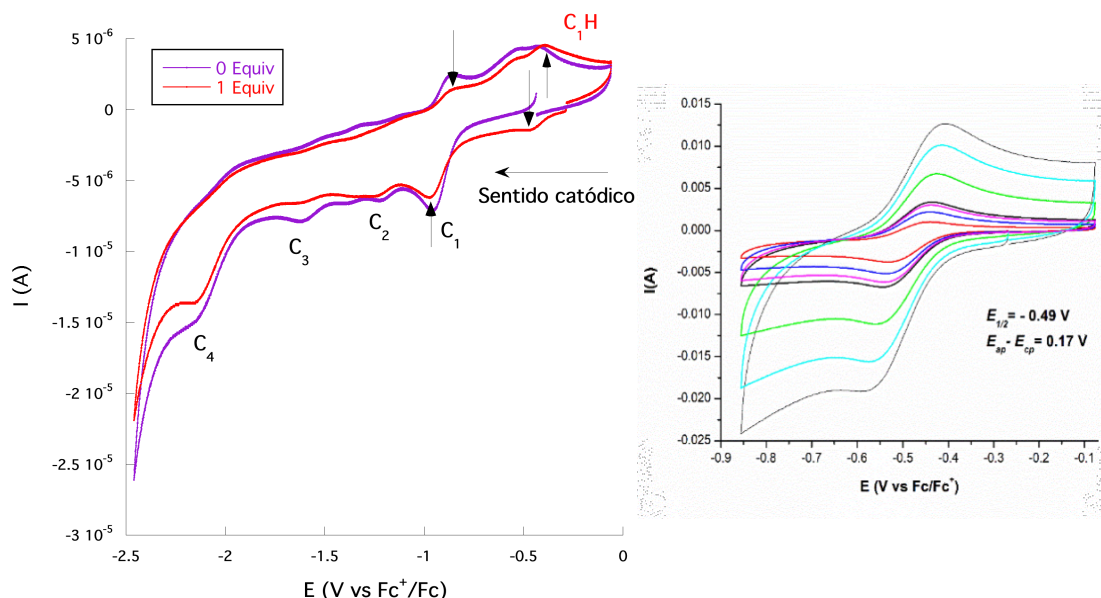


Figura 4.2.3.2 A la izquierda se muestra el voltamograma de **12** con **0 equiv de H^+** y **1 equiv de H^+** . El voltamograma de la derecha corresponde a las velocidades de barrido (0.1 hasta 0.1 V/s) para el nuevo proceso C_{IH} que surge tras la adición de 1 equivalente de ácido en $E_{1/2} = -0.49$ V con $E_{\text{ap}} - E_{\text{cp}} = 170$

La adición de hasta 5 equivalentes de $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$ resultó en un incremento significativo en la corriente observada para el proceso C_{IH} , C_2 y C_4 como procesos reductivos (aunque no se observó desplazamiento en los potenciales de reducción)⁸⁶, sugiriendo reducción electrocatalítica de protones a -2.10 V (**Figura 4.2.3.3**). De acuerdo al comportamiento electroquímico de **12**, se propone que la protonación inicial ocurre en el fragmento Fe-O-Fe, como sugiere la espectroscopía de absorción electrónica en el UV-Vis. Al titular la especie $\mu\text{-O}$ con ácido tríflico (**Figura 4.2.3.3**) se observó que los cambios más importantes ocurren en las bandas α y β . (**Anexo 12.2**)

⁸⁶ Cavell, A. *et al. Inorg. Chem.*, 2015, **54**, 3325-3330.

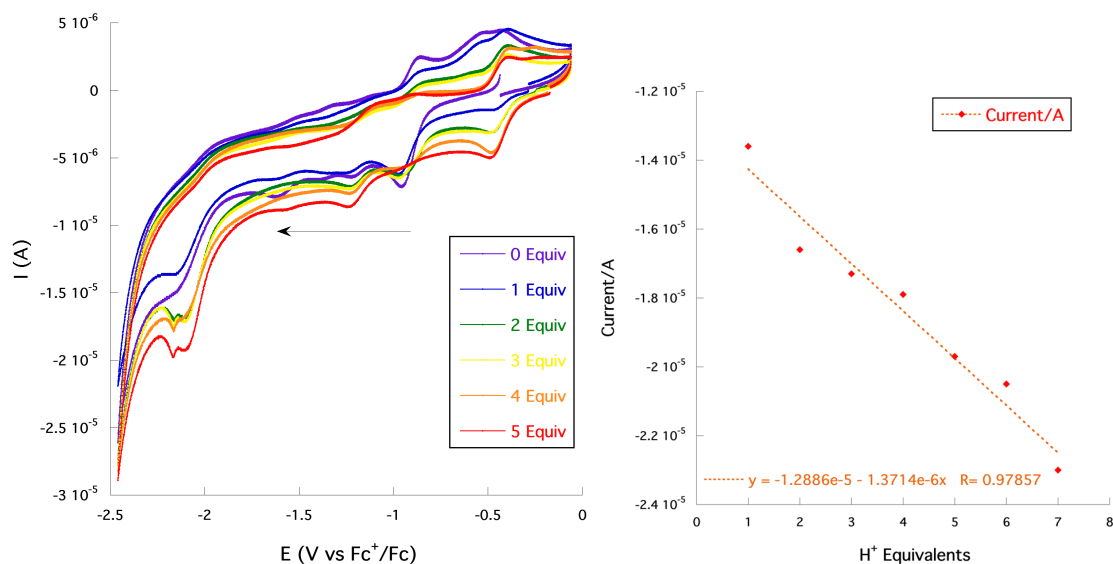


Figura 4.2.3.3 A la izquierda se muestra el voltamograma correspondiente a la titulación de **12** con sucesivos equivalentes de H^+ , mostrando reducción electrocatalítica de protones a un potencial de -2.1 V. La figura de la derecha es la traza correspondiente a los procesos de reducción en -2.1 V vs Fc^+/Fc .

Tomando en cuenta el comportamiento electroquímico y las propiedades electrónicas de **12**, se propone un mecanismo para la reducción electrocatalítica de protones a hidrógeno molecular (**Figura 4.2.3.4**), donde el complejo inicial $\mu\text{-O}$ forma la especie $\mu\text{-OH}$ en presencia de ácido, lo cual facilita la reducción de uno de los centros metálicos de Fe^{2+} . Posteriormente, mediante otro equivalente reductor y un electron cedido por Fe^{2+} , se propone la formación de la $\mu\text{-H}, \mu\text{-OH}$, seguido de la protonación del hidruro para generar H_2 . En ausencia de H^+ la especie $\mu\text{-O}$ debería regenerarse, pero, debido a la gran cantidad de protones en el medio, debe existir solamente un equilibrio entre las especies $\mu\text{-OH}$ y $\mu\text{-H}, \mu\text{-OH}$.

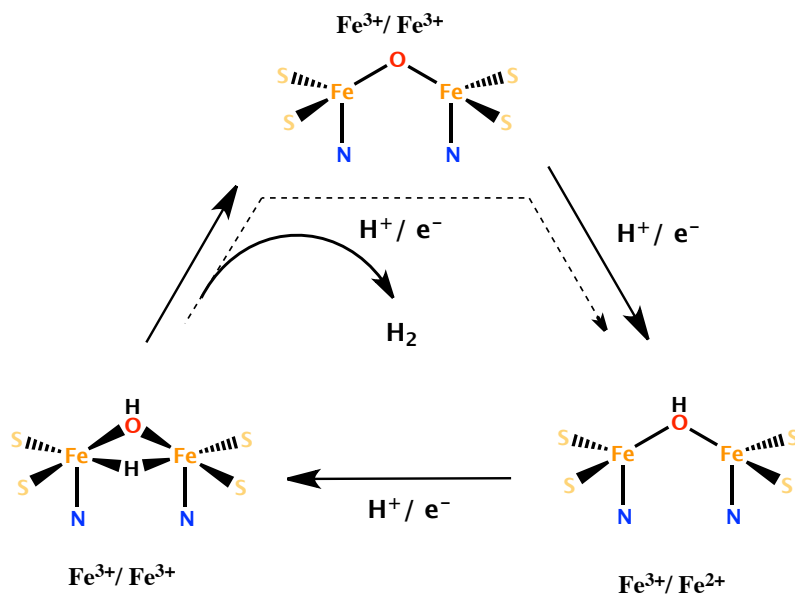


Figura 4.2.3.4 Mecanismo propuesto para la reducción de protones por **12**

4.2.4 Pruebas de reactividad de 12

Se hicieron las pruebas de reactividad $(NS_2-Fe)_2-(\mu-O)$ (**12**) frente a protones e hidrógeno molecular, con la finalidad de generar el intermediario $[(NS_2-Fe)_2-(\mu-OH)]^+$ y en el mejor de los casos la especie $\mu-H, \mu-OH$ que pueda fungir como complejo biomimético en el ciclo de Thorneley-Lowe de la nitrogenasa (E_1-E_4). Para esto, **12**, se disolvió en tolueno y se trató con un equivalente de ácido trifílico para reaccionar por un día a temperatura ambiente en atmósfera inerte, observándose un cambio de coloración negro a amarillo. Posteriormente, el matraz se llenó con H_2 y se calentó a $50^\circ C$ por 2 días, observando un ligero cambio en coloración de amarillo a naranja. (Fig.4.2.4.1)

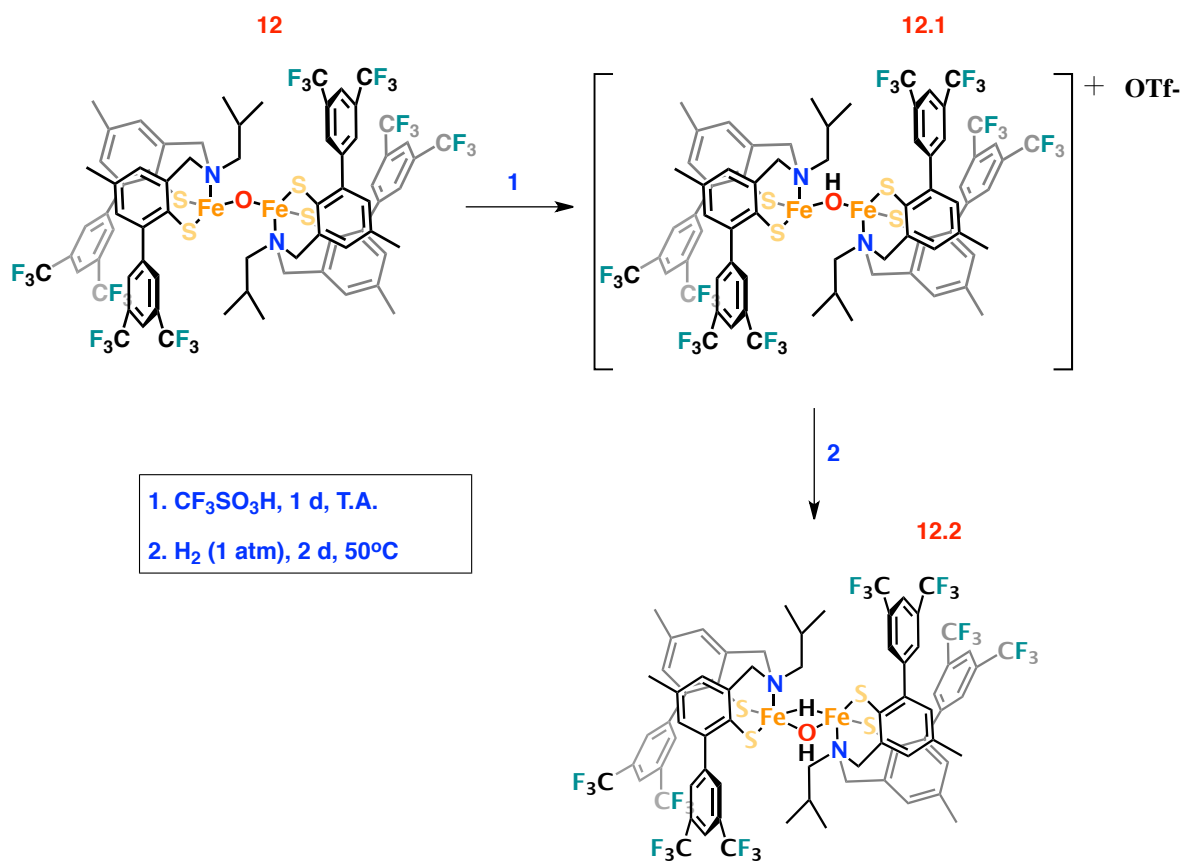


Figura 4.2.4.1 Titulación de **12** con ácido trifílico monitoreado por espectroscopía UV-Vis.

En un primer paso, se obtuvo la especie $\mu-OH$ **12.1**, que fue tratada bajo atmósfera de Ar hasta antes de ser analizado por ATR, exhibiendo un cambio en la intensidad de las señales y la aparición de tres bandas: 2940 cm^{-1} , 1035 cm^{-1} y 646 cm^{-1} . La primera de ellas, tentativamente asignada al estiramiento del puente $\mu-OH$ (Fig. 4.2.4.2), que concuerda con el estudio por absorción electrónica en el UV-Vis con sucesivos equivalentes de ácido trifílico (Anexo 12.4).

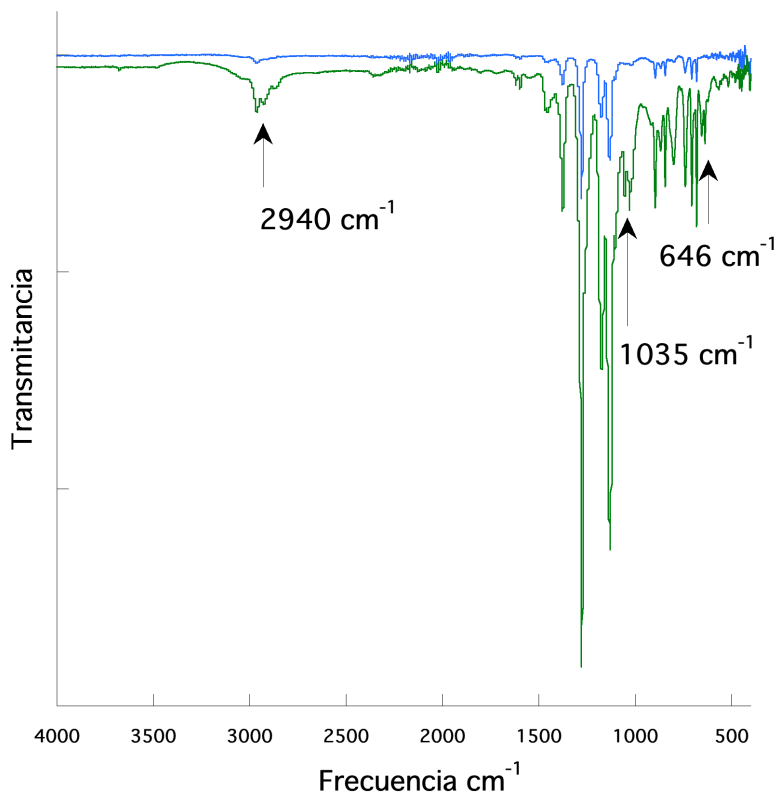


Figura 4.2.4.2 Espectros ATR de **12** y **12.1**. El compuesto **12.1** exhibe un aumento en las señales y la aparición de 3 bandas: 2940 cm^{-1} , 1035 cm^{-1} y 646 cm^{-1} .

Se puso a reaccionar el complejo **12.1** con hidrógeno molecular, con la finalidad de obtener la especie $\text{Fe-}\mu\text{OH,}\mu\text{H-Fe}$ **12.2**. La identidad de este complejo fue inicialmente analizada por espectrometría de masas FAB^+ , donde no se logró observar el ion molecular esperado, en su lugar, se obtuvo el fragmento de 786 m/z , para el cual, se propone la estructura mostrada en la figura **4.2.4.3**, donde se incluye la simulación de la contribución isotópica esperada que coincide bastante bien con lo obtenido experimentalmente. De igual forma, bajo los cuidados necesarios, se analizó la muestra por ATR, y al compararla con los precursores, ($\mu\text{-O}$ y $\mu\text{-OH}$) se siguió observando la banda asignada al estiramiento OH, ligeramente desplazada a números de onda menor, pero con mayor intensidad que $\mu\text{-OH}$, que coincide con el debilitamiento de la banda a 846 cm^{-1} correspondiente al estiramiento asimétrico del fragmento Fe-O-Fe . Adicionalmente, se observó una banda muy intensa en 1739 cm^{-1} , asignada tentativamente a la frecuencia de estiramiento Fe-H .^{87,88} (**Fig. 4.2.4.4**)

⁸⁷ Dugan, T. & Holland, P., *J. organomet. Chem.*, 2009, **694**, 2825-2830.

⁸⁸ Gu, Nina X. *et al. J. Am. Chem. Soc.*, 2018, **140**, 6374-6382.

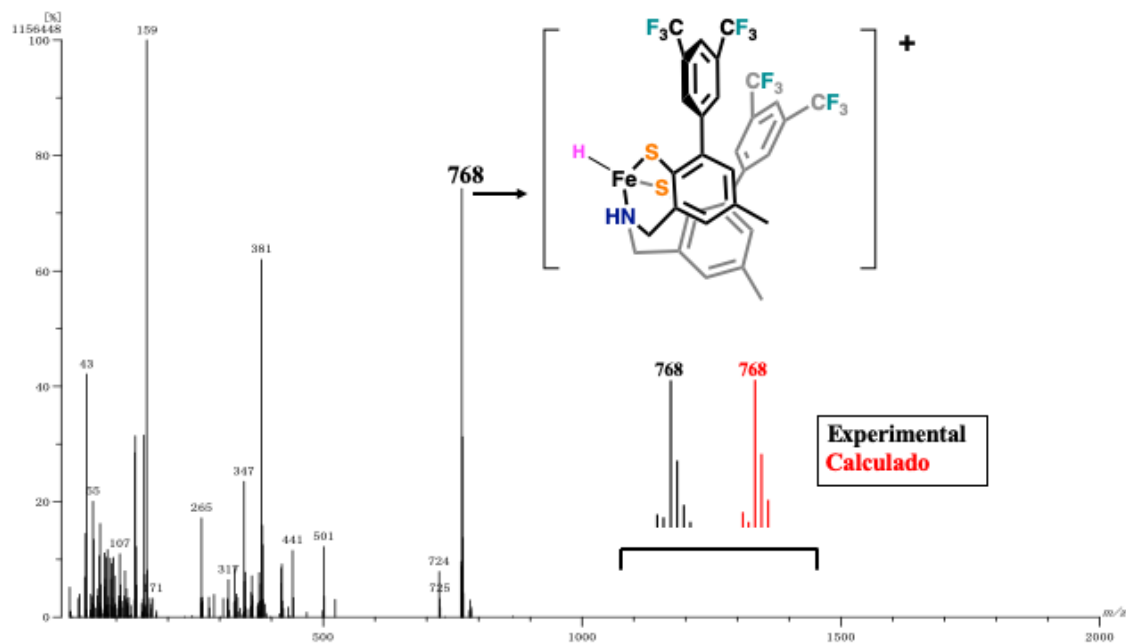


Figura 4.2.4.3 Análisis por MS de **12.2**. Se muestra el fragmento propuesto para la relación m/z 768, así como las contribuciones isotópicas calculada y experimental.

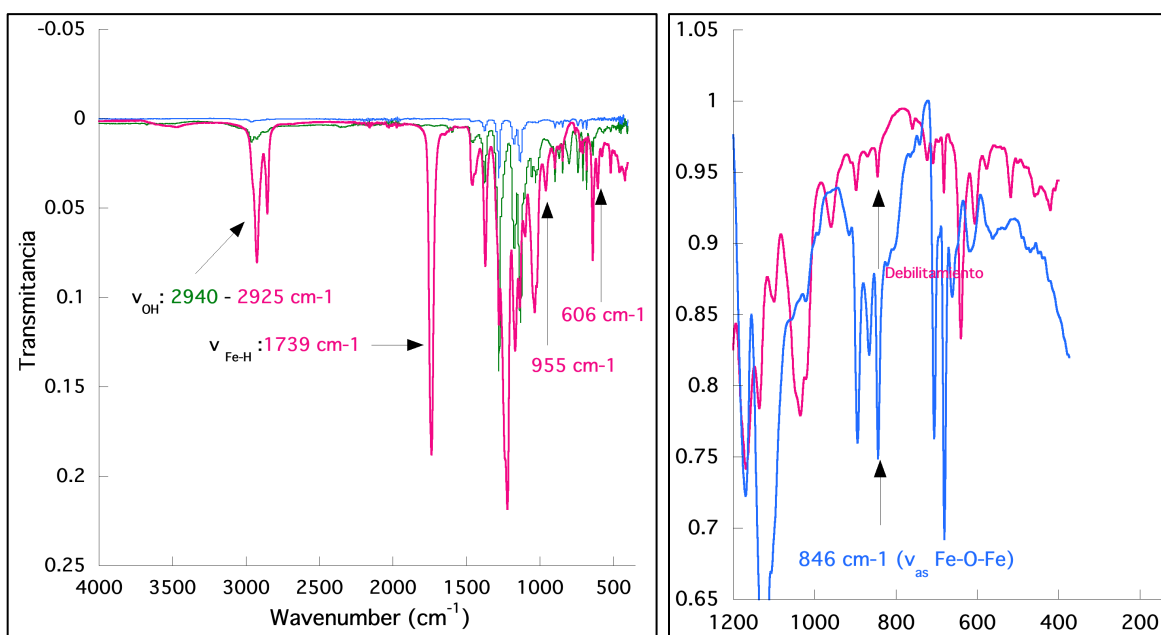


Figura 4.2.4.4 Análisis comparativo de **12.2** contra **12.1** y **12** por ATR. El espectro de la izquierda muestra las bandas correspondientes a los estiramientos de $\mu\text{-OH}$ y $\mu\text{-H}$. En el espectro de la derecha se observa el debilitamiento de la banda del estiramiento asimétrico Fe-O-Fe.

Finalmente, **12.2** se analizó por RMN ^1H , donde se recalca una diferencia importante en la resolución de las señales en comparación con el precursor **12** en el anexo **12.7**. aunque es bastante complicada la asignación debido a dos centros paramagnéticos, en la figura **4.2.4.5** se muestra una asignación tentativa e integración de las señales obtenidas.

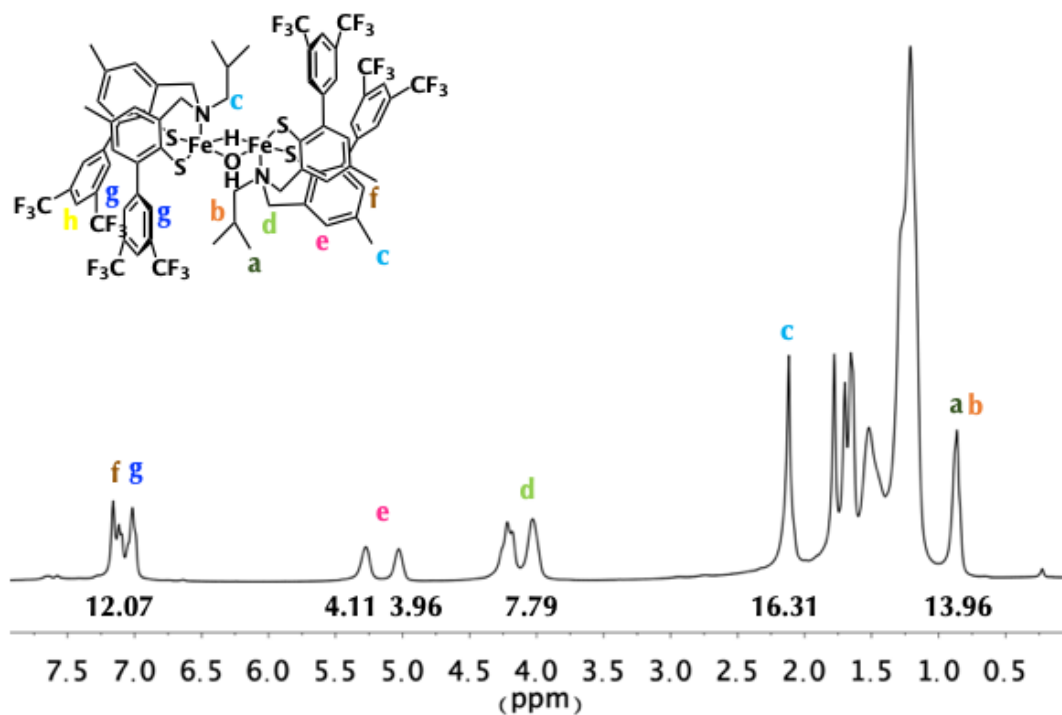
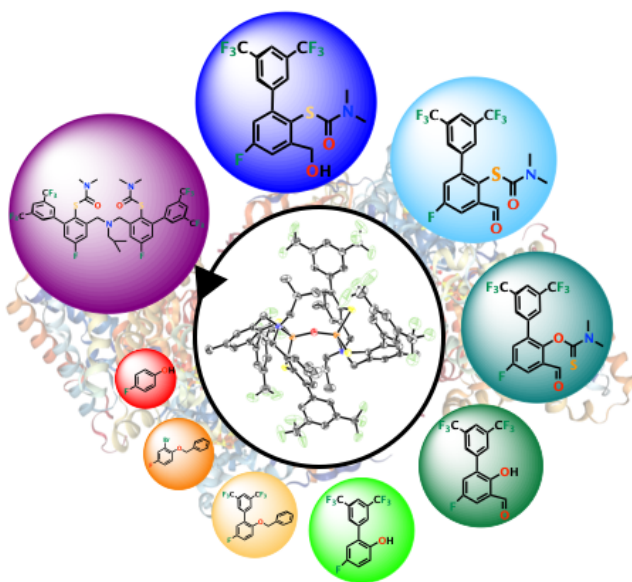


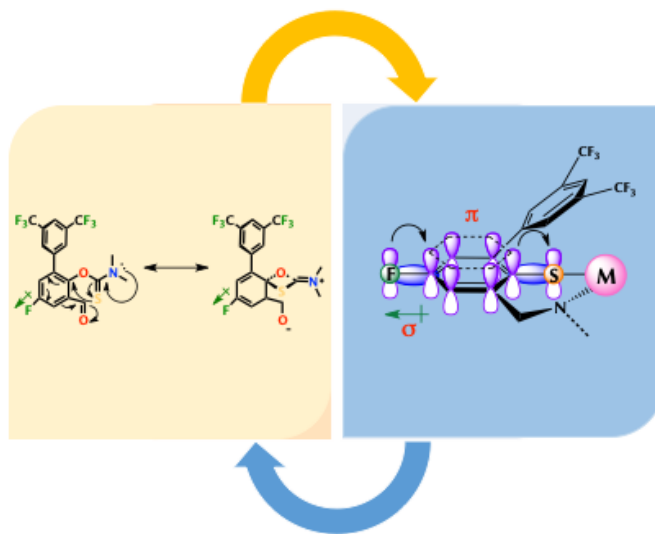
Figura 4.2.4.5 Espectro de RMN ^1H de **12.2**

5. CONCLUSIONES

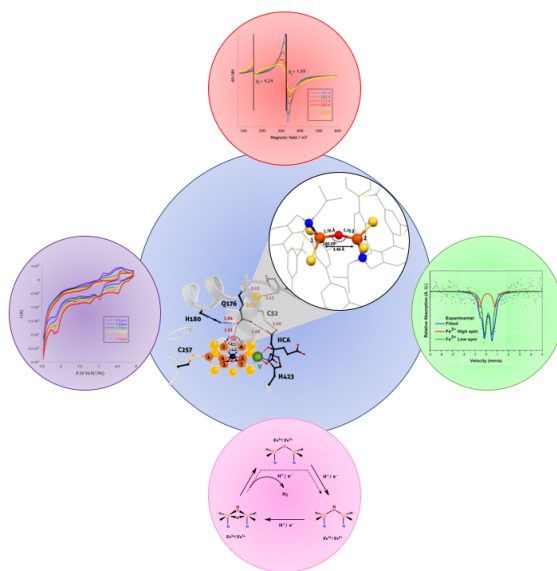
La metodología sintética de los ligantes tipo pinza NS_2 *para*-metilados, desarrollada previamente en nuestro grupo de investigación, es adaptable a la síntesis de los ligantes *para*-fluorados. Estos proveen un ambiente de coordinación rico en azufre, con la capacidad de modular las propiedades σ -electroattractoras y π -electrodonadoras del donador tiofenolato.



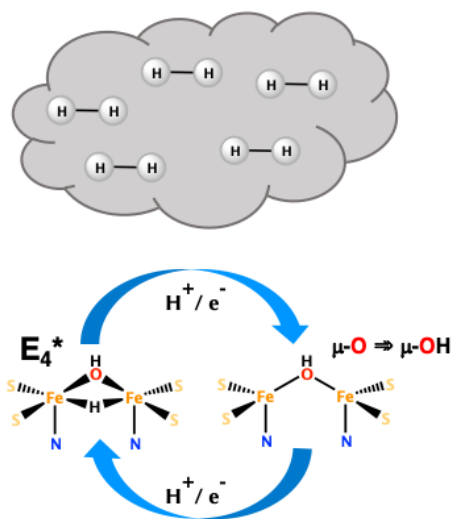
El efecto σ electroattractor de los sustituyentes *para*-F del nuevo ligante se manifiesta en el grupo tiocarbamato como se comprobó en la trasposición de Newman y Kwart, uno de los pasos limitantes en la obtención del bloque de construcción de los ligantes tipo NS_2 y NS_3 .



Se obtuvo un complejo binuclear de hierro μ -O, con el ligante tipo NS_2 *para*-metilado, que de acuerdo con sus propiedades espectroscópicas representa un sistema bioinspirado. El complejo reproduce las propiedades estructurales, geométricas, electrónicas y magnéticas del fragmento $\text{Fe}_2\text{-XH-Fe}_6$ del intermediario μ^2 de la nitrogenasa de vanadio. Estudios posteriores podrían aportar información para la asignación inequívoca de la identidad del átomo ligero, además de permitirnos el acceso a análogos sintéticos con puentes nitrogenados tipo NR.



Las pruebas de reactividad y el comportamiento electroquímico del complejo binuclear de hierro frente a protones sugieren cambios en la corriente que se proponen como consecuencia de la reducción catalítica de protones a hidrógeno molecular, facilitado por la protonación del puente $\mu\text{-O} \rightarrow \mu\text{-OH}$. Debido a su estabilidad en condiciones ambientales, provee una plataforma interesante para la obtención de hidrógeno en analogía a los estadios E_2 ó E_4^* , postulándolo como un candidato interesante para la reducción de N_2 en trabajo futuro.



6. SECCIÓN EXPERIMENTAL

6.1 General

El avance de todas las reacciones llevadas a cabo, fueron monitoreadas por medio de cromatografía en capa fina (TLC), sobre cromatoplasmas de SiO₂ UV₂₅₄ de 0.25 mm de grosor. La separación y purificación de los compuestos se llevó a cabo por cromatografía en columna (CC) utilizando una fase estacionaria sobre gel de sílice (mesh 60). Como fase móvil se utilizó hexano puro, o mezclas pertinentes de hexano-acetato de etilo, variando la polaridad, según el compuesto a separar. Se empleó una línea de vacío/gas inerte tipo *Schlenck* con N₂ o Ar. La pureza e identidad de cada uno de los productos obtenidos fueron confirmadas por sus puntos de fusión y técnicas espectroscópicas y espectrométricas.

Uno de los métodos instrumentales para la determinación de la identidad de las moléculas obtenidas fue la espectrometría de infrarrojos (IR), utilizando para los compuestos orgánicos un espectrómetro Bruker Tensor 27 en discos de KBr. La intensidad de las señales fue comparada mediante software ChemSketchv12. Las señales relativas de los picos se clasifican como: muy débil [vw = 0% - 10%], débil [w = 10% - 30%], media [m = 30% - 60%], fuerte [s = 60 - 90%] y muy fuerte [vs = 90% - 100%]. Para algunos de los complejos se utilizó la técnica de ATR mediante un espectrómetro Thermo Nicolet is50 FT-IR con punta de diamante.

Los espectros de RMN ¹H, ¹³C, ¹⁹F y DEPT-135 fueron obtenidos en un espectrómetro JEOL Eclipse 300 a 300 MHz, utilizando TMS o la señal residual del disolvente como referencia interna (TMS $\delta = 0.00$ ppm, CDCl₃ $\delta = 7.26$ ppm).

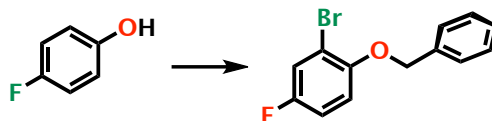
Los experimentos de espectrometría de masas se llevaron a cabo en un espectrómetro JEOL JMS-AX505HA que posee un método de ionización de impacto electrónico (EI-MS). También se utilizó un espectrómetro JEOL JMSSX102A con un método de ionización de bombardeo con átomos rápidos de Xe a 6 keV, con detector de iones positivos (FAB⁺-MS), operado a un voltaje de 10 kV. Las muestras fueron preparadas en una matriz de alcohol nitrobenzílico.

Para las determinaciones estructurales por difracción de rayos X, se empleó un difractómetro Oxford Diffraction Gemini "A" con detector de área Apex CCD. Se emplearon los paquetes de software CrysAlis Pro y CrysAlis RED para la colección e integración de datos. Los datos colectados fueron recogidos para la absorción usando la corrección analítica numérica con un modelo de cristal multifacético basado en expresiones de simetría de Laue por medio de reflexiones equivalentes. Las estructuras se resolvieron con el programa SHELXS-97, y refinadas por la matriz completa de mínimos cuadrados en F² con SHELXL-97. El criterio observado ($F^2 > 2\sigma F^2$) se utilizó para el cálculo de los factores de R. Todos los átomos distintos de hidrógeno se refinaron con los parámetros térmicos anisotrópicos en los ciclos finales de refinamiento. Los átomos de hidrógeno se colocaron en posiciones idealizadas, con distancias de 0.93 Å y 0.98 Å para distancias C-H aromáticas y saturadas, respectivamente.

Los experimentos de electroquímica se realizaron bajo flujo de N_2 en diclorometano anhidro. Se utilizó un potenciostato/galvanostato equipado con electrodo de trabajo de carbono vítreo y un alambre de platino como electrodo auxiliar. Los potenciales fueron medidos contra el electrodo de pseudoreferencia $AgBr_{(s)}/Ag_{(alambre)}$ inmerso en $NBu_4Br.DCM$. El electrolito soporte es hexafluoruro de tetrabutilamonio: Bu_4NPF_6 . Todos los voltamperogramas se iniciaron desde la corriente de potencial nulo ($E = 0$) y se realizaron escaneos en ambas direcciones, positiva y negativa a velocidades de 0.10 y 0.20 V/s^{-1} en acuerdo a la convención IUPAC. Los voltamperogramas del sistema ferroceno-ferrocinio (Fc/Fc^+) (ref. a G.C. Lisensky, R.R. Gagne y otros, Inorg. Chem.) fueron obtenidos para establecer los valores de potenciales de media onda ($E_{1/2}$) de la expresión $E_{1/2} = (E_a - E_c)$ para obtener la corriente normalizada para el complejo.

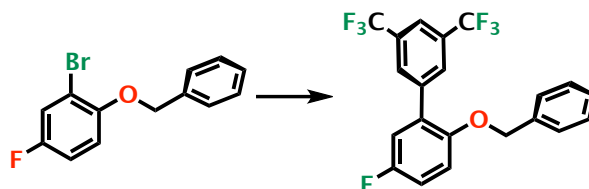
6.2 Métodos sintéticos

Síntesis de **2**:



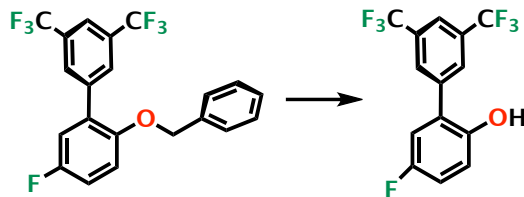
A una disolución de *para*-fluorofenol **1** se le agrega gota a gota 1 equivalente de Br₂. La mezcla se agita a 40°C por 14 h. Posteriormente, se enfría a temperatura ambiente, y se detiene con una solución acuosa de Na₂S₂O₃. Se separa la fase acuosa, y se extrae con 3 porciones de 30 mL de CH₂Cl₂. Las fracciones orgánicas se secan con Na₂SO₄ y se concentran para dar el 2-bromo-4-fluorofenol como un aceite amarillo, el cual, en un matraz tipo *Schlenck* de fondo redondo y bajo atmósfera de Ar, se disuelve (1 equiv) en 600 mL de acetonitrilo anhidro y bromuro de bencilo (1.3 equiv). A esta disolución se le agrega como base K₂CO₃ (2.5 equiv). Esta mezcla se calentó a reflujo con agitación por 24 h, después de lo cual, el producto **2**, se obtuvo relativamente puro, terminando de purificar por columna utilizando una fase móvil de hexano. (92% de rendimiento)

Síntesis de **3**:



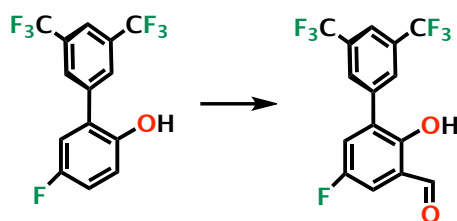
En un matraz tipo *Schlenck* de fondo redondo de 1 L equipado bajo un condensador en atmósfera inerte, el precursor **2** (1 equiv) se disuelve en 500 mL de dimetoxietano (DME) anhidro. Una vez disuelto, se agrega catalizador Pd(PPh₃)₄ (8% mol); 2.5 equivalentes de K₂CO₃ (disuelto en H₂O a una concentración 2 M), formándose una bifase en la disolución. Posteriormente, se agrega el ácido 3,5-bis(trifluorometil)fenilborónico (1.2 equiv) mediante un embudo de adición. La mezcla resultante se calienta a reflujo con agitación por 48 h. Luego del tiempo establecido, se deja enfriar hasta llegar a temperatura ambiente, para ser filtrada con un embudo Buchner, tratando de recuperar la mayor cantidad de catalizador. El disolvente se evapora totalmente a presión reducida para obtener un residuo sólido que se redissuelve en diclorometano, para lavarse con una disolución saturada de NH₄Cl, y salmuera. Se seca con Na₂SO₄, y se concentra por cromatografía en columna con solo hexano como fase móvil, generando un sólido cristalino de color blanco (77% de rendimiento).

Síntesis de 4:



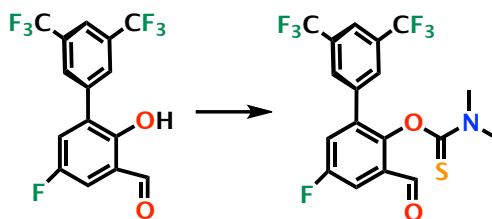
El compuesto **3**, se desprotege utilizando el método general para *O*-debencilación, consistente en la hidrogenólisis catalizada por 10% de paladio sobre carbono (Pd/C) y 10% de hidróxido de paladio (Pd(OH)₂) en peso relativo al sustrato. En una disolución de acetato de etilo previamente destilado, la mezcla se carga en un reactor de alta presión para llevarlo a 350 psi de H₂, con lo cual se obtiene el fenol **4** luego de 12 h de reacción como un sólido cristalino incoloro (73% de rendimiento)

Síntesis de 5:



En un matraz *Schlenck* de fondo redondo, se disuelve el precursor **4** bajo atmósfera inerte (1 equiv) en 500 mL de THF anhidro. Posteriormente se agrega trietilamina (1 equiv), agitando por 50 minutos a temperatura ambiente, para después agregar MgCl₂ (1.2 equiv) y (CH₂O)_n. (1.3 equiv) mL la mezcla se calienta a 80°C con agitación por 24 h, después de lo cual se neutraliza con HCl (3 M). El disolvente se evapora a presión reducida y el residuo sólido se redissuelve en acetato de etilo y la fase orgánica se lava con agua (1:1). Posteriormente se seca con Na₂SO₄, y se concentra a presión reducida. El producto puro se obtiene mediante recristalización en CHCl₃/MeOH 9:1, como un sólido ligeramente verdoso con un rendimiento de 72%.

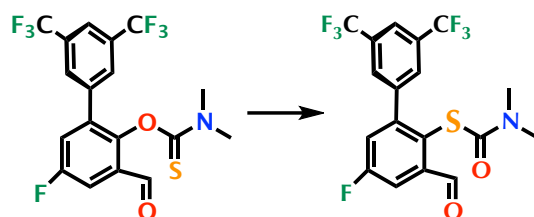
Síntesis de 6:



El salicilaldehído sustituido **5** (1 equiv) se disuelve en DME anhidro bajo atmósfera inerte. Enseguida, una mezcla de DMAP (1.3 equiv) y Et₃N (1.3 equiv) se añade a la disolución en

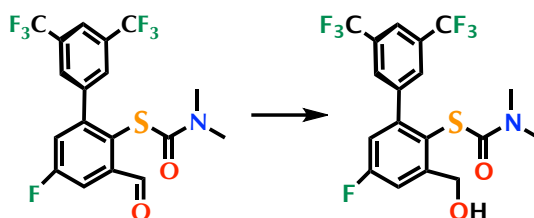
agitación continua. Después de 4 h se agregan 1.2 equivalentes de $\text{Cl}(\text{C}=\text{S})\text{NMe}_2$ en estado sólido, y la mezcla se calienta a 80°C . Tras 18 h de calentamiento, la mezcla se enfría a temperatura ambiente, redisolviéndolo en acetato de etilo (250 mL). La fase orgánica se lavó con agua (3 x 100 mL) y secó con Na_2SO_4 , concentrando el resultante a presión reducida. El producto se purifica por cristalización (hexano/EtOH 1:1) con lo que se obtuvo un sólido blanquecino con rendimiento de 56%.

Síntesis de 7:



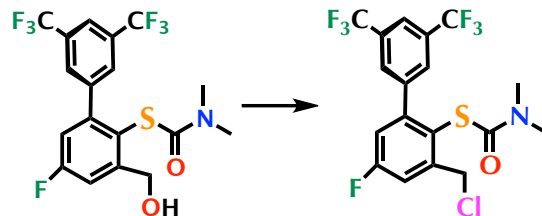
El *O*-ariltiocarbamato **6**, se disuelve en N-metilpirrolidona (NMP) en un matraz *Schlenk* para alta presión de 250 mL. El sistema se cierra bajo atmósfera de nitrógeno y se lleva a temperatura de 210°C por 40 minutos en agitación constante. Luego de este tiempo, la mezcla se enfría a temperatura ambiente y la fase orgánica se separa de NMP por sucesivas extracciones con una mezcla de salmuera y dietiléter. El producto obtenido se cristaliza en hexano/cloroformo 9:1, para obtener a **7** puro como cristales amarillos con un rendimiento de 56%. El compuesto no cristalizado se separa por columna de sílice utilizando una mezcla de disolventes hexano/acetato de etilo 95:5.

Síntesis de **8**:



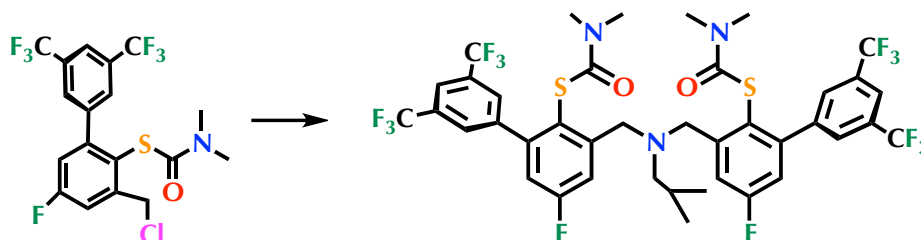
Para la síntesis del *O*-hidroximetil-S-ariltiocarbamato, **7** se disuelve en 100 ml de THF anhidro bajo atmósfera de N_2 , posteriormente se agregan 2 equivalentes de NaBH_4 en sólido, generando una suspensión, la cual, se lleva a ebullición por 3 días. Luego de el tiempo establecido, la mezcla se deja enfriar y se corrobora que todo el aldehído haya sido consumido en la reacción por TLC. El producto precipita fácilmente evaporando el THF y agregando hexano frío, formando un sólido que se recupera por filtración. (Rendimiento 91%)

Síntesis de **9**:



En un matraz *Schlenck* de fondo redondo bajo atmósfera inerte, se disuelve un equivalente de **8** en DCM anhidro; posteriormente se agrega SOCl_2 (1.3 equiv) y se deja en agitación por 18 h a temperatura ambiente. Al término de la reacción, se eliminan los volátiles a presión reducida. El producto **9** se purifica por cromatografía en columna con hexano:acetato de etilo (98:2), con un rendimiento de 93%⁸⁹

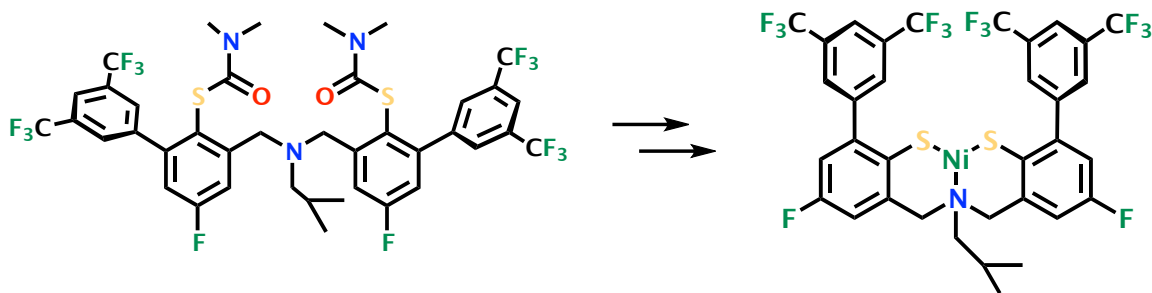
Síntesis de **10**:



Para la síntesis del ligante pinza NS_2 , se disuelve un equivalente de **9** en THF anhidro agitando para disolver completamente. Posteriormente se agrega NaI (1.1 equiv) dejando en agitación por una hora. Luego de este tiempo, se agregan 0.5 equivalentes de isobutilamina *iso*- BuNH_2 y casi instantáneamente se agrega la base K_2CO_3 (2.5 equiv). Toda la mezcla se calienta a reflujo por 4 días, tiempo después del cual el crudo es filtrado por celita y se retira el disolvente por rotoevaporación, quedando una mezcla viscosa de color amarilla. A dicho aceite, se le agrega una mezcla de agua/acetato de etilo 1:1, disolviéndolo por completo, y posteriormente se separa la fase orgánica de la acuosa, lavando la orgánica con agua (2 x 20 mL) para obtener un sólido incoloro después de evaporar totalmente el disolvente. El sólido obtenido se purifica por cromatografía en columna, utilizando una fase móvil de hexano:acetato de etilo (95:5). Se reporta un rendimiento de 87%.

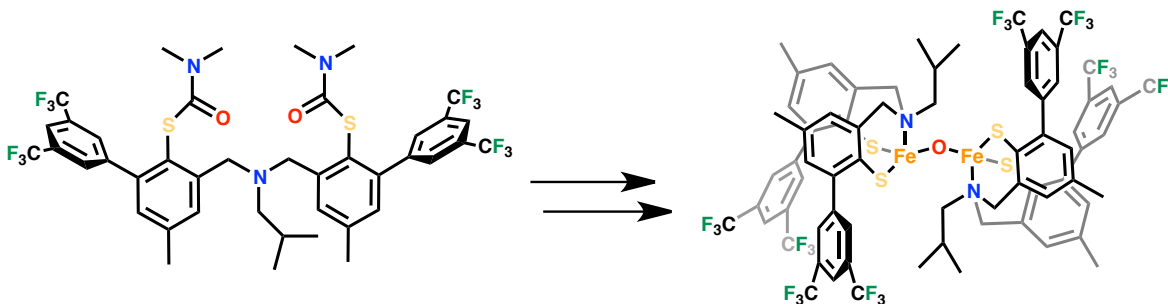
⁸⁹ Mondragon, A. (2014). *Síntesis y caracterización de complejos con metales de transición de relevancia biológica y ligantes auxiliares tipo NS_2 y NS_3 . Una aproximación a metaloenzimas con sitios activos ricos en azufre.* (Tesis doctoral). Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Química, Ciudad de México.

Síntesis de 11:



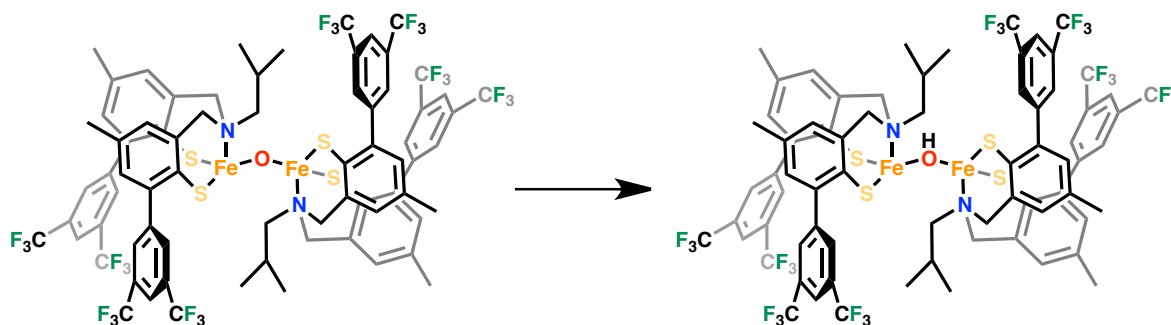
Se disuelve un equivalente del ligante NS₂ *para*-F **10** en THF anhidro en un matraz tipo *Schlenck* bajo atmósfera de Ar, luego se añade una disolución 4.1 M de MeONa (2.5 equiv), agitando a 60°C durante 8 días. Luego del tiempo establecido, se obtiene una disolución amarilla intensa, obteniéndose la sal dianiónica [isoBuN(CH₂ArSNa)₂]²⁻, que puede comprobarse por la desaparición del fragmento del brazo tiocarbamato mediante espectrometría de masas FAB⁺. La especie formada, es metalada *in situ* con un equivalente de la sal NiCl₂·6H₂O, que se deja en agitación a temperatura ambiente por dos días. La mezcla se evapora a sequedad a presión reducida, y el sólido verde se lava varias veces con MeOH para eliminar el *para*-toluensulfonato sódico y subproductos orgánicos. Posteriormente, el sólido se trató de cristalizar en 1,1',2,2'-tetracloroetano: metanol.

Síntesis de 12:



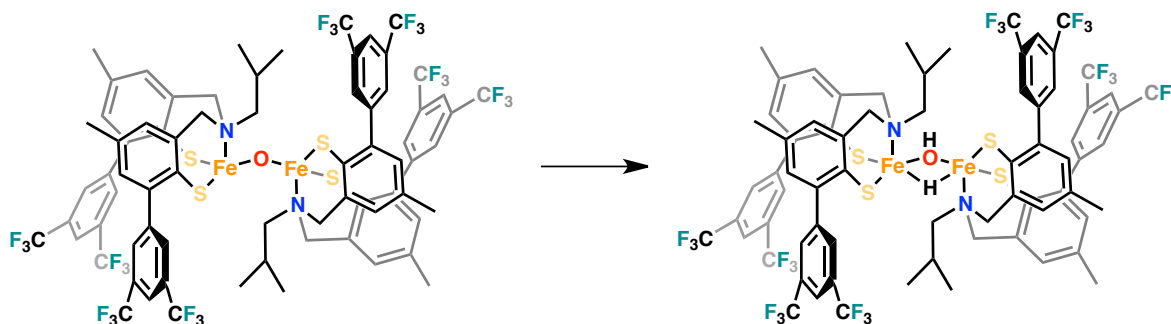
Se disuelve un equivalente de ligante NS₂ *para*-CH₃ en THF anhidro en un matraz tipo *Schlenck* bajo atmósfera inerte. Posteriormente se desprotegen los brazos con MeONa (2.5 equiv), agitando a 65°C durante 8 días. Al terminar la reacción, se obtiene una disolución amarilla intensa que se convierte a un color naranja tras la adición de FeCl₂, que se evapora a presión reducida y se precipita utilizando una mezcla de CHCl₃/MeOH. Posteriormente, se expone a una atmósfera de oxígeno durante 8 días para dar lugar a la formación del complejo μ-O de color negro.⁷⁰

Síntesis de 12.1:



El complejo diférrico μ -O **12**, se redisuelve en diclorometano. Posteriormente, se añade un equivalente de ácido *para*-toluensulfónico como fuente de protones bajo atmósfera inerte, para dar lugar al complejo μ -OH **12.1**. Para pruebas de identidad, se analizó por ATR, manteniendo en un tubo tipo *Schlenck* hasta antes de analizar.

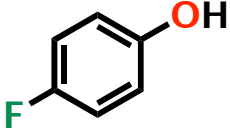
Síntesis de 12.2:



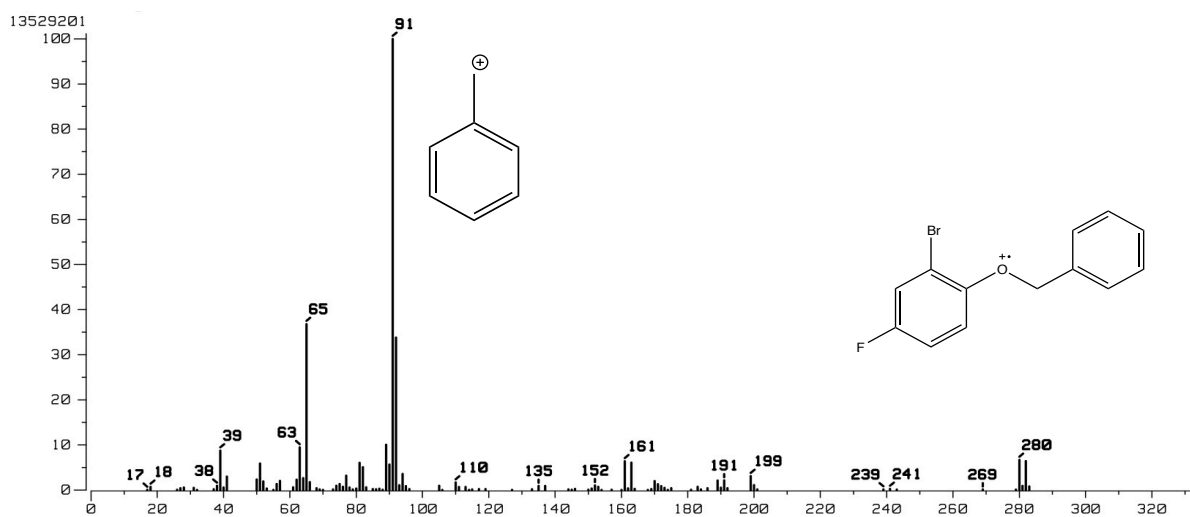
El complejo diférrico **12** se redisuelve en tolueno, posteriormente se añade un equivalente de ácido *para*-toluensulfónico como fuente de protones bajo atmósfera inerte en caja de guantes, con la finalidad de mantener estabilizado al complejo μ -OH **12.1**, dejando en agitación continua a temperatura ambiente por 36 horas. Luego del tiempo establecido, se observa una disolución que cambia de coloración de negro a amarillo, la cual en un sistema *Schlenck*, se degasifica utilizando varios ciclos de N₂ líquido / vacío hasta dejar de observar liberación de gas en el sistema. Posteriormente la línea de vacío se purga por triplicado con H₂ para eliminar cualquier otro tipo de gas y se inyectan 760 torr de H₂ a la reacción, que se deja en agitación continua por 48 horas a 50°C, observando un paulatino cambio en la coloración de amarillo a naranja. La reacción se seca a presión reducida, obteniendo un sólido naranja.

7. ANEXOS

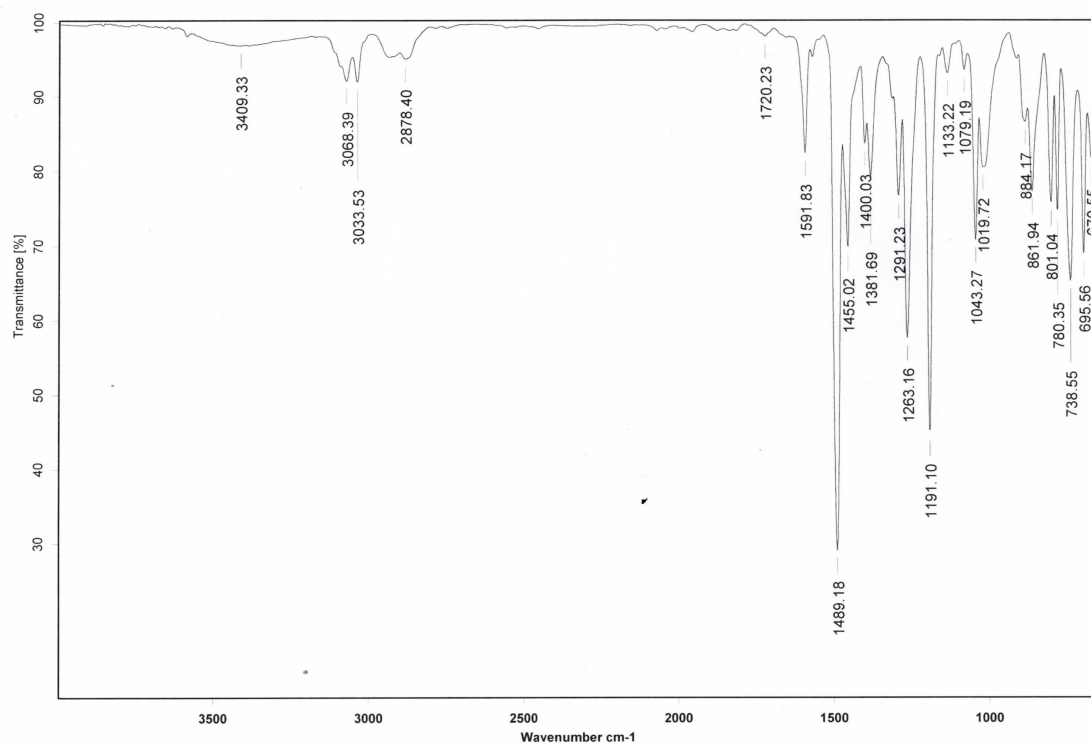
Caracterización anexa de 1:

| Compuesto Químico | N (%) | C (%) | H (%) | S (%) | |
|---|-------|--------------|-------------|-------|-----------------------|
|  | ----- | 55.54 | 3.59 | ----- | Teóricos |
| | ----- | 54.50 | 3.56 | ----- | Experimentales |

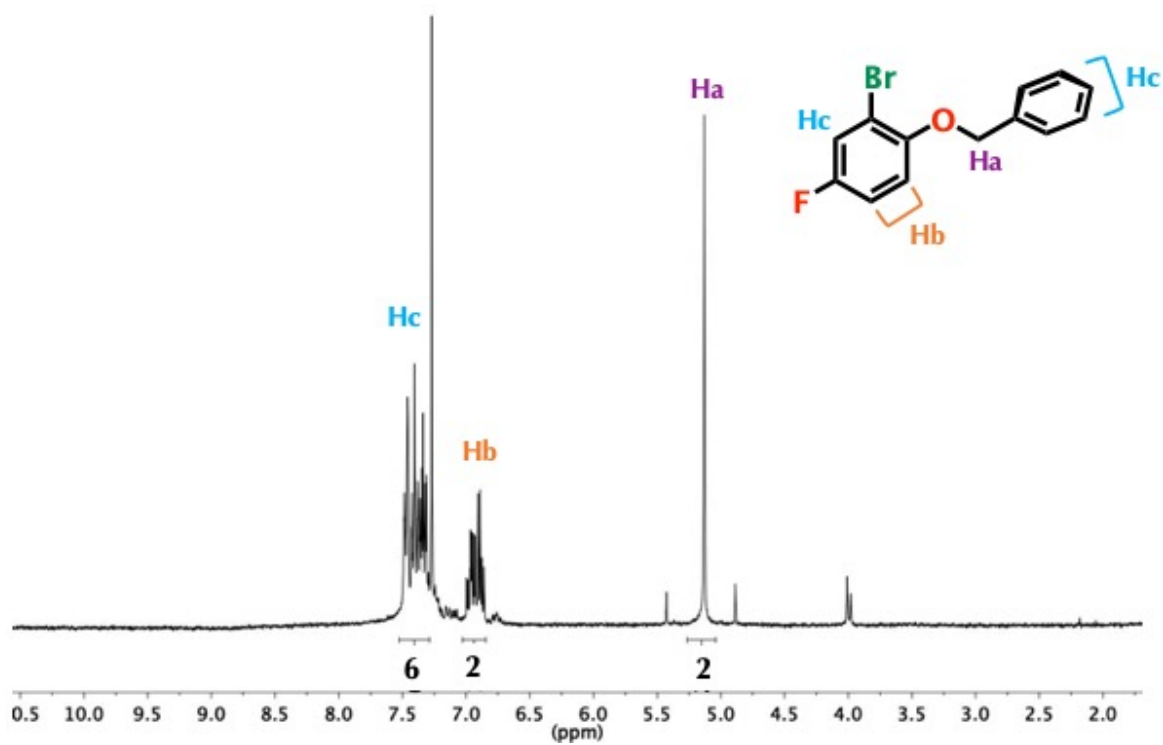
Anexo 1.1 Análisis elemental por combustión de 1.



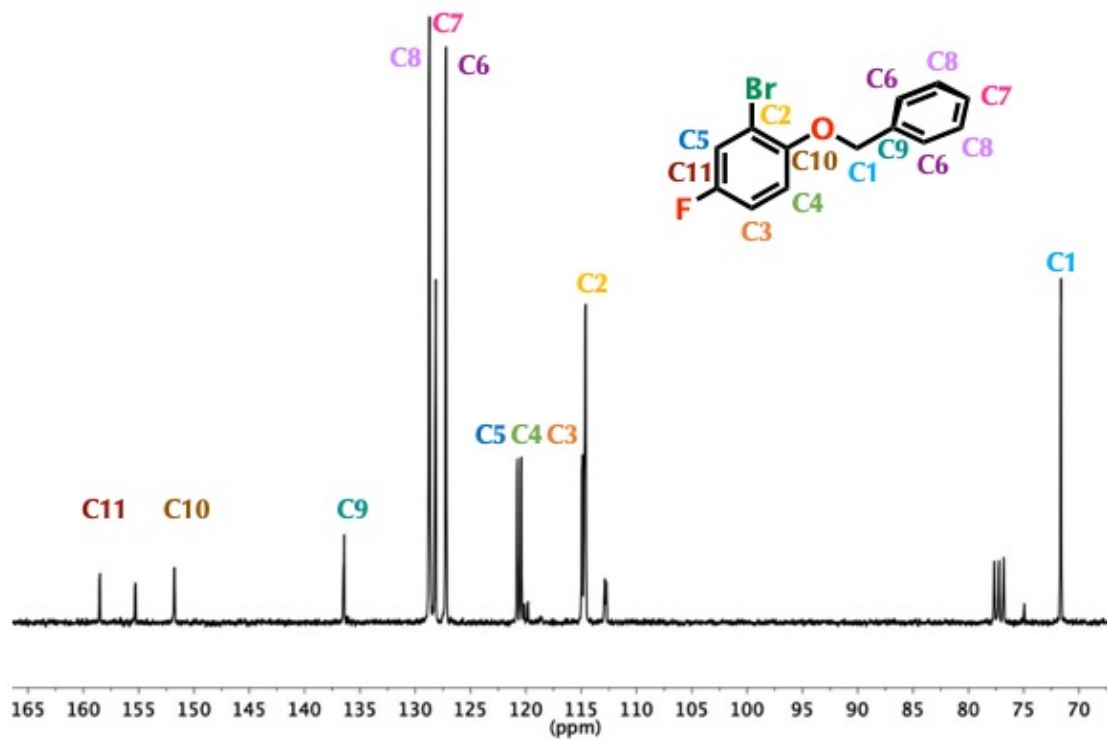
Anexo 1.2 Espectro de masas de 1 por espectrometría de masas (IE) Asignación de PB m/z 91 y M⁺ 290 m/z



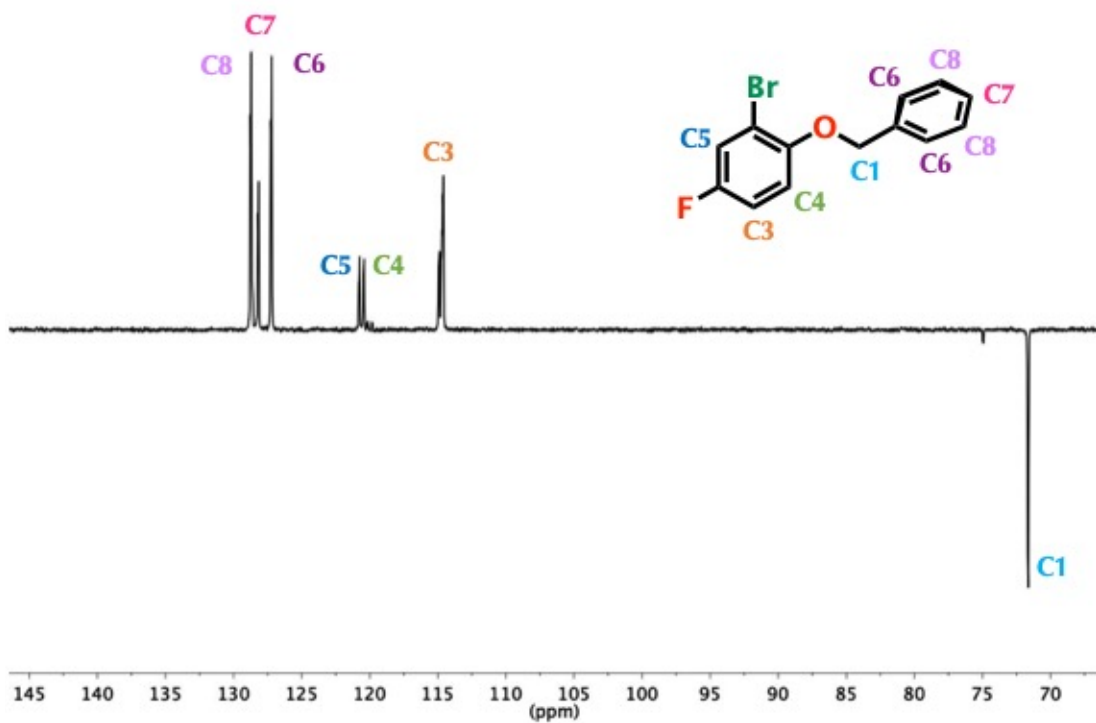
Anexo 1.3 Espectro IR de 1



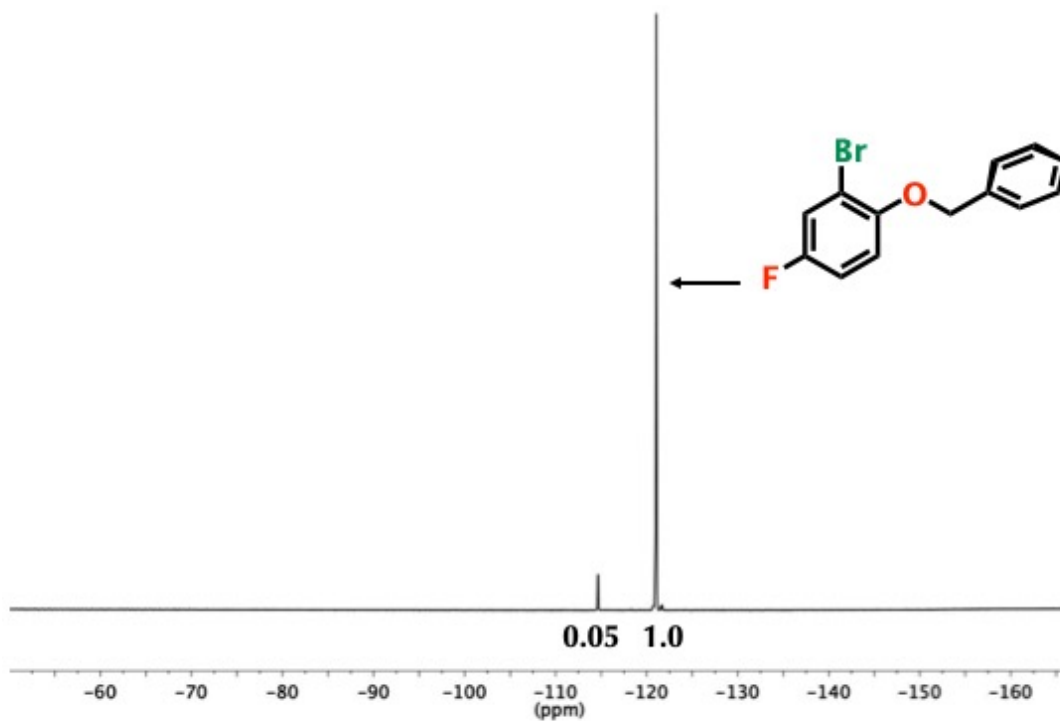
Anexo 1.4 RMN de ¹H del compuesto 1 (Disolvente: CDCl₃, T.A.)



Anexo 1.5 RMN de ¹³C del compuesto **1** (Disolvente: CDCl₃, T.A.).



Anexo 1.6 RMN DEPT-135 del compuesto **1** (Disolvente: CDCl₃, T.A.).



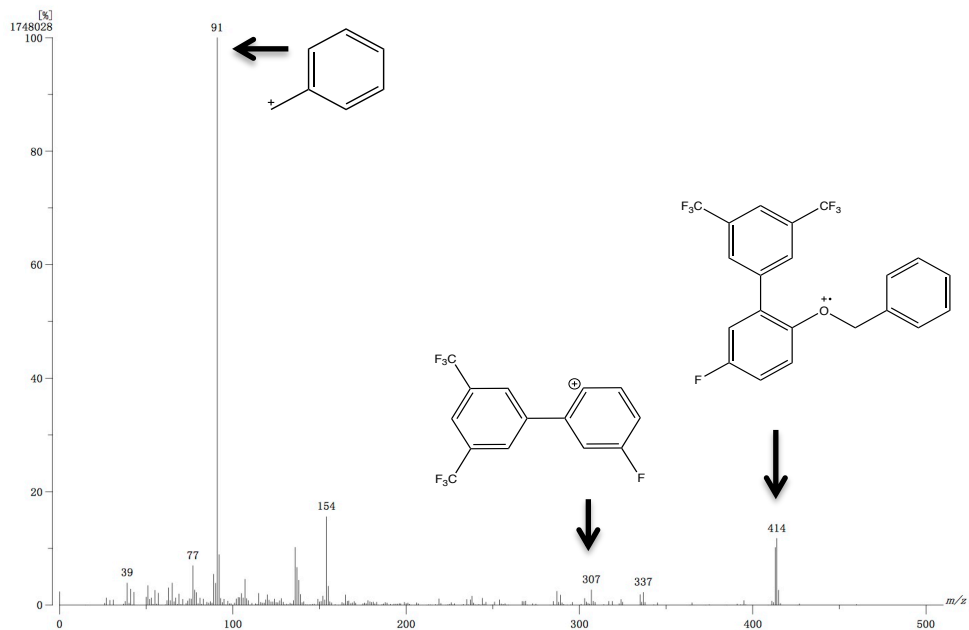
Anexo 1.6 RMN de ^{19}F del compuesto **1** (Disolvente: CDCl_3 , T.A.).

Caracterización anexa de **2**:

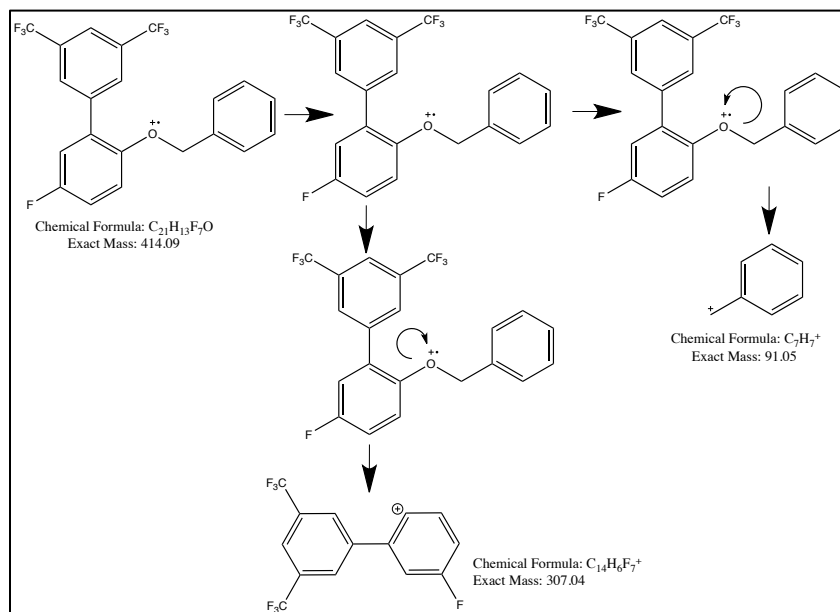
Punto de fusión: **66 °C**

| Compuesto Químico | N (%) | C (%) | H (%) | S (%) | |
|-------------------|-------|--------------|-------------|-------|-----------------------|
| | ----- | 62.45 | 2.58 | ----- | Teóricos |
| | ----- | 60.88 | 3.16 | ----- | Experimentales |

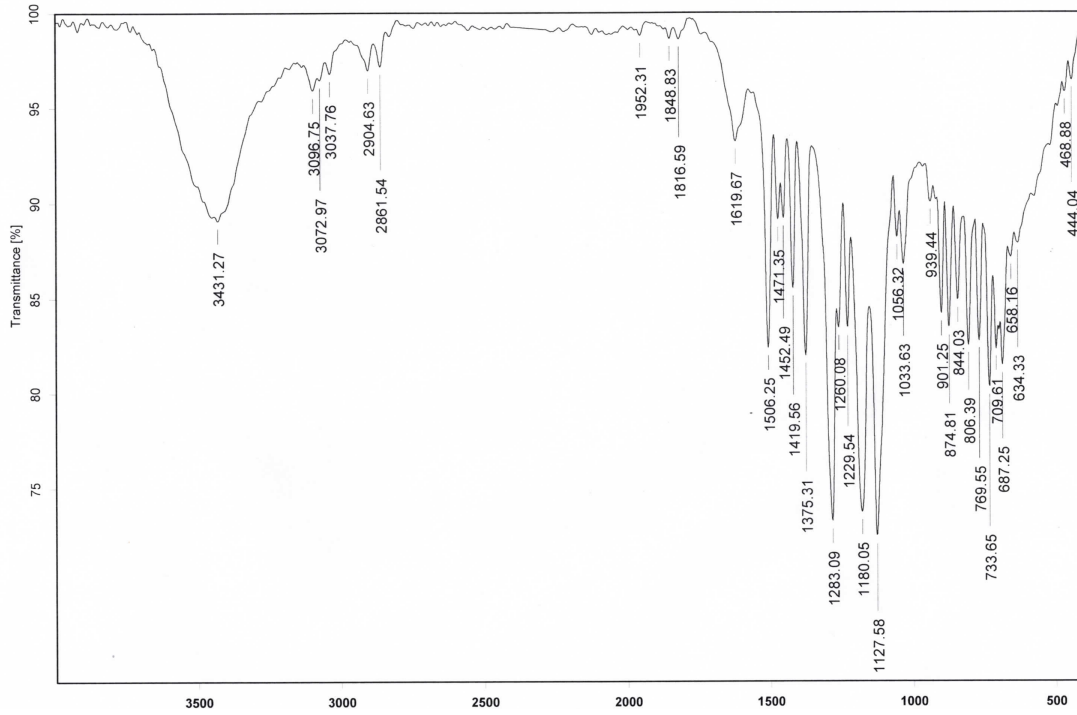
Anexo 1.2 Análisis elemental por combustión de **2**.



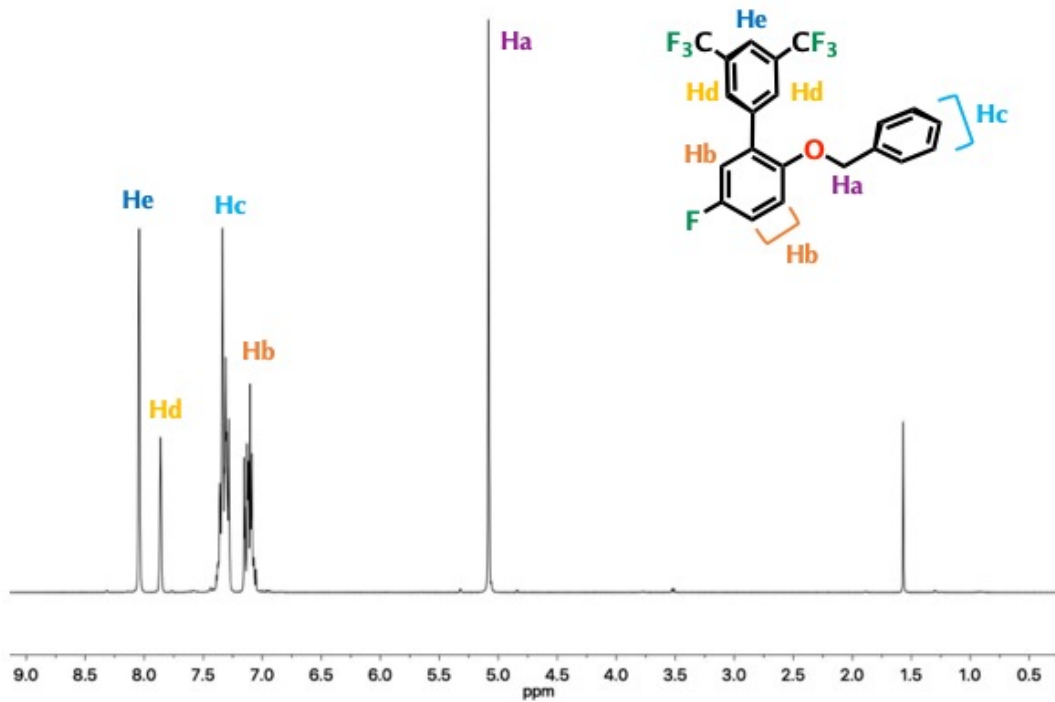
Anexo 2.2 Espectro de masas de 2 (IE). Asignación de PB m/z 91, m/z 307 y M^+ 414 m/z



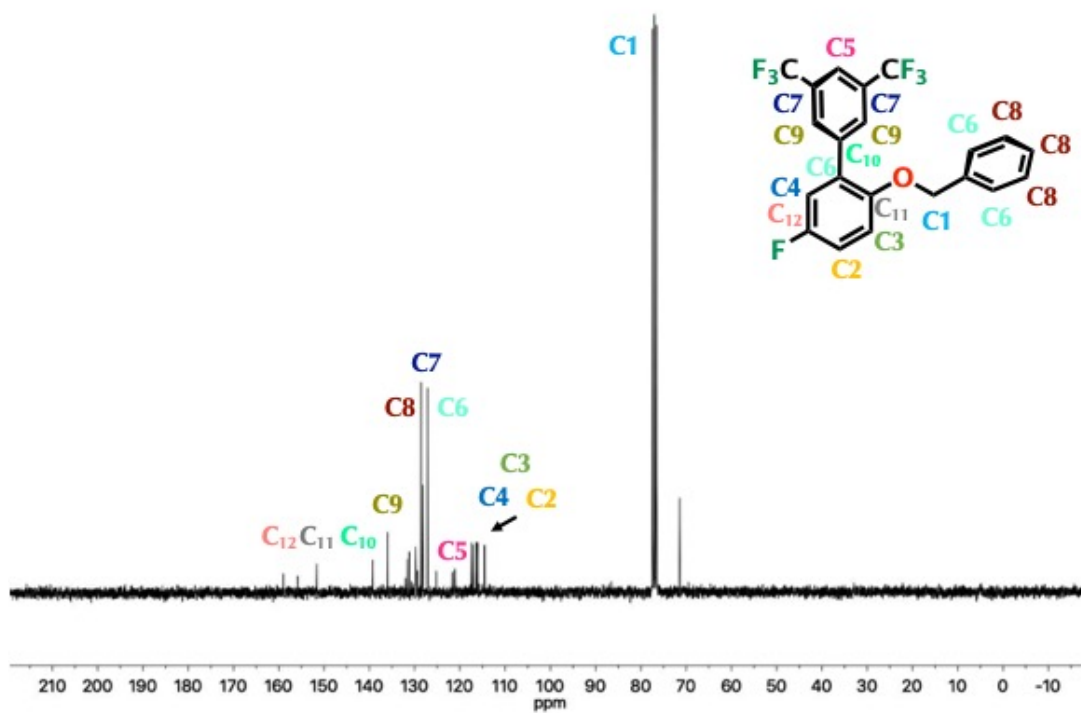
Propuesta de fragmentación de 2 por espectrometría de masas (Impacto electrónico)



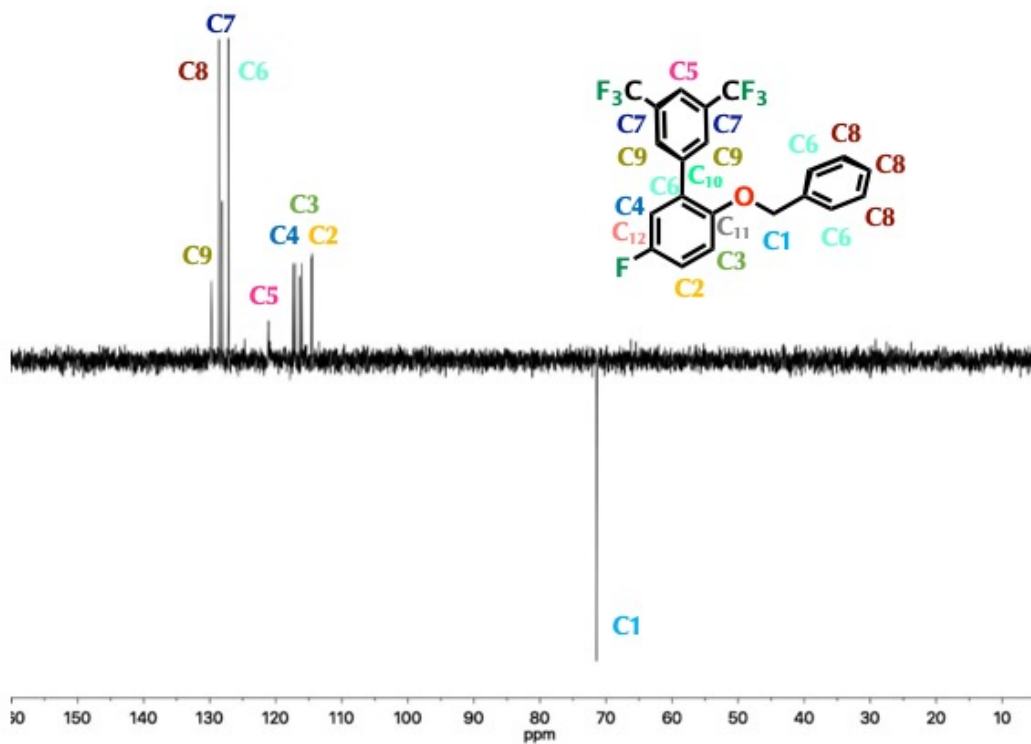
Anexo 2.3 Espectro IR de 2.



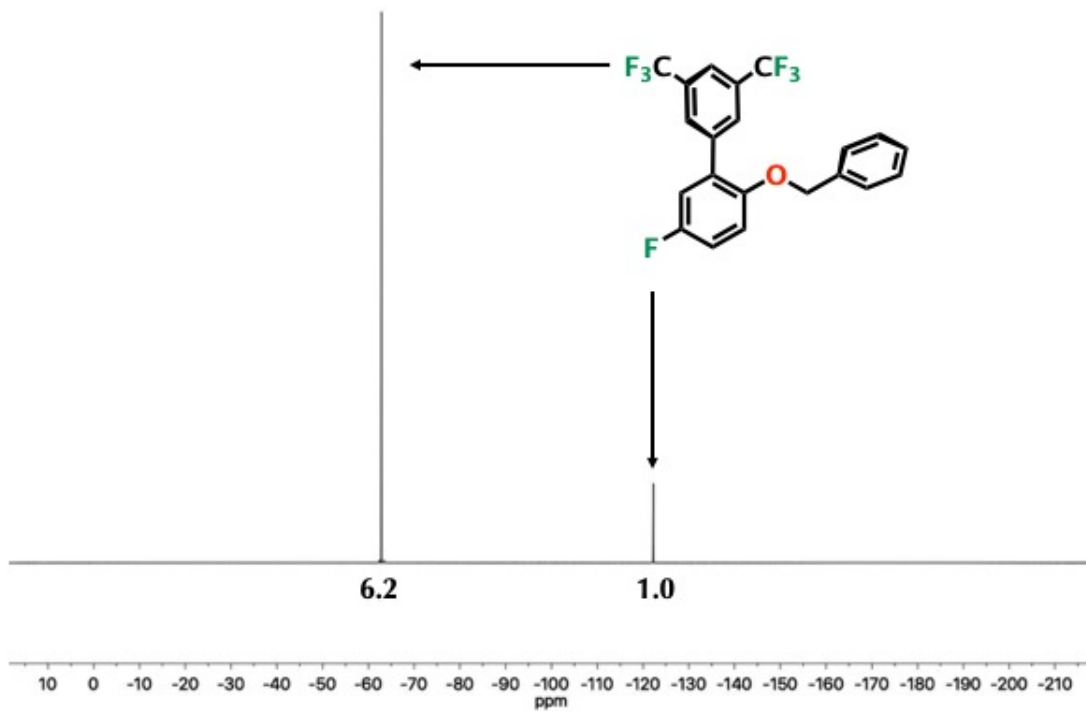
Anexo 2.4 RMN de ¹H del compuesto 2 (Disolvente: CDCl₃, T.A.).



Anexo 2.5 RMN de ^{13}C del compuesto 2 (Disolvente: CDCl_3 , T.A.).



Anexo 2.6 RMN DEPT-135 del compuesto 2 (Disolvente: CDCl_3 , T.A.).



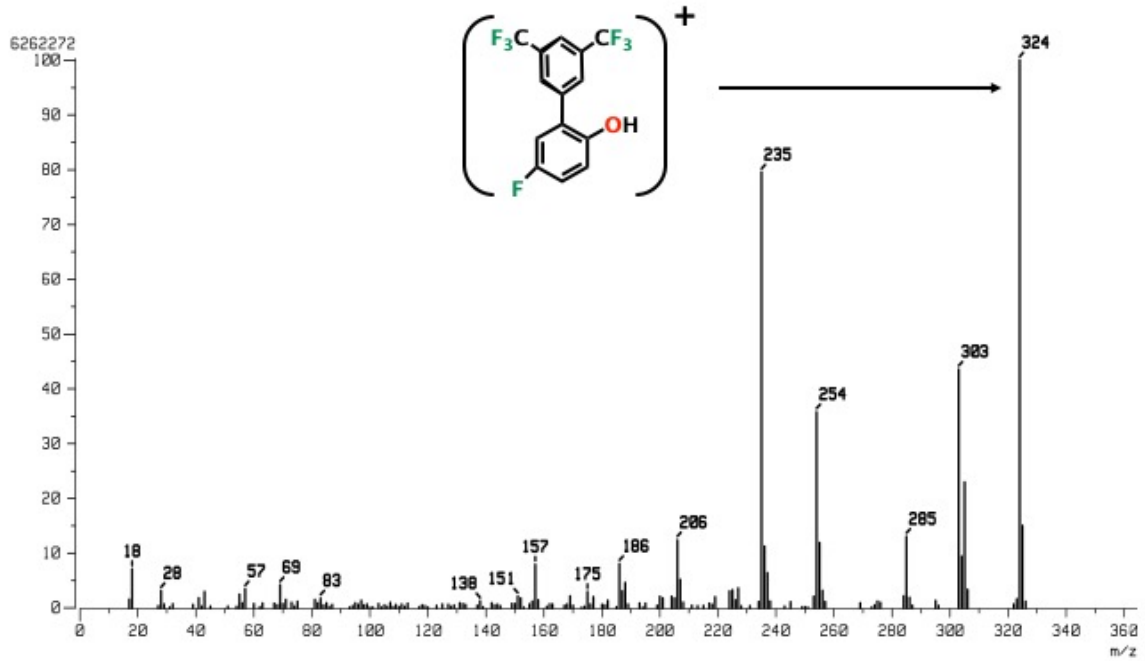
Anexo 2.7 RMN de ^{19}F del compuesto **2** (Disolvente: CDCl_3 , T.A.).

Caracterización anexa de **3**:

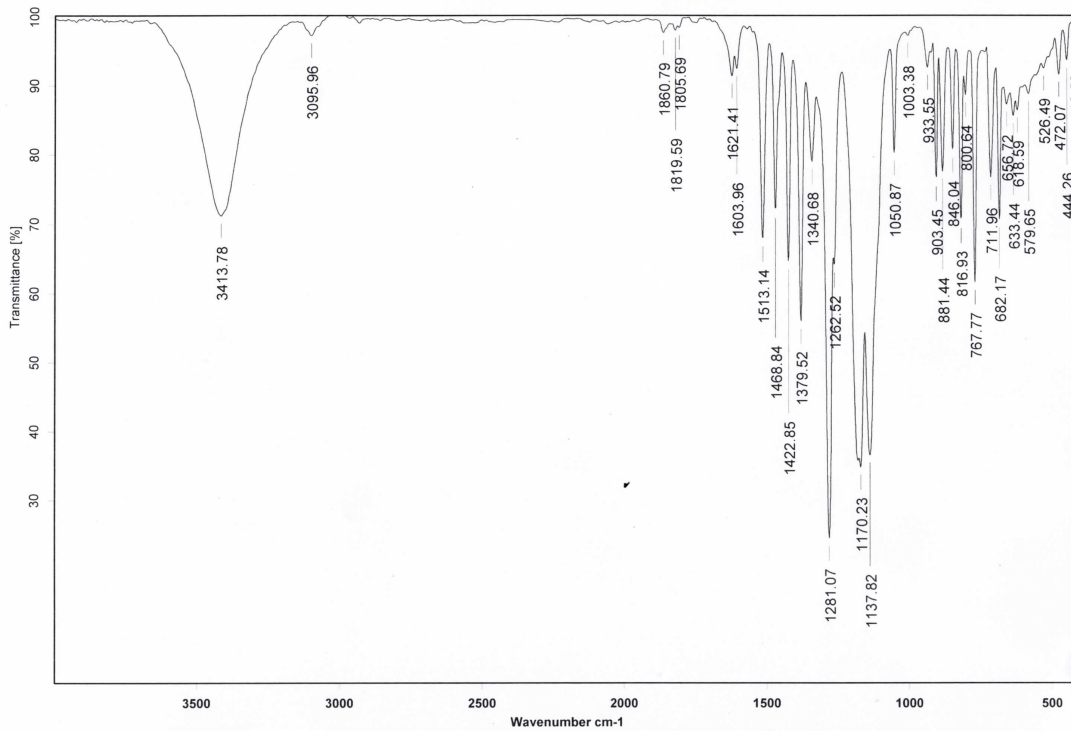
Punto de fusión: **70 °C**

| Compuesto Químico | N (%) | C (%) | H (%) | S (%) | |
|-------------------|-------|-------|-------|-------|-----------------------|
| | ----- | 51.87 | 2.18 | ----- | Teóricos |
| | ----- | 54.46 | 1.96 | ----- | Experimentales |

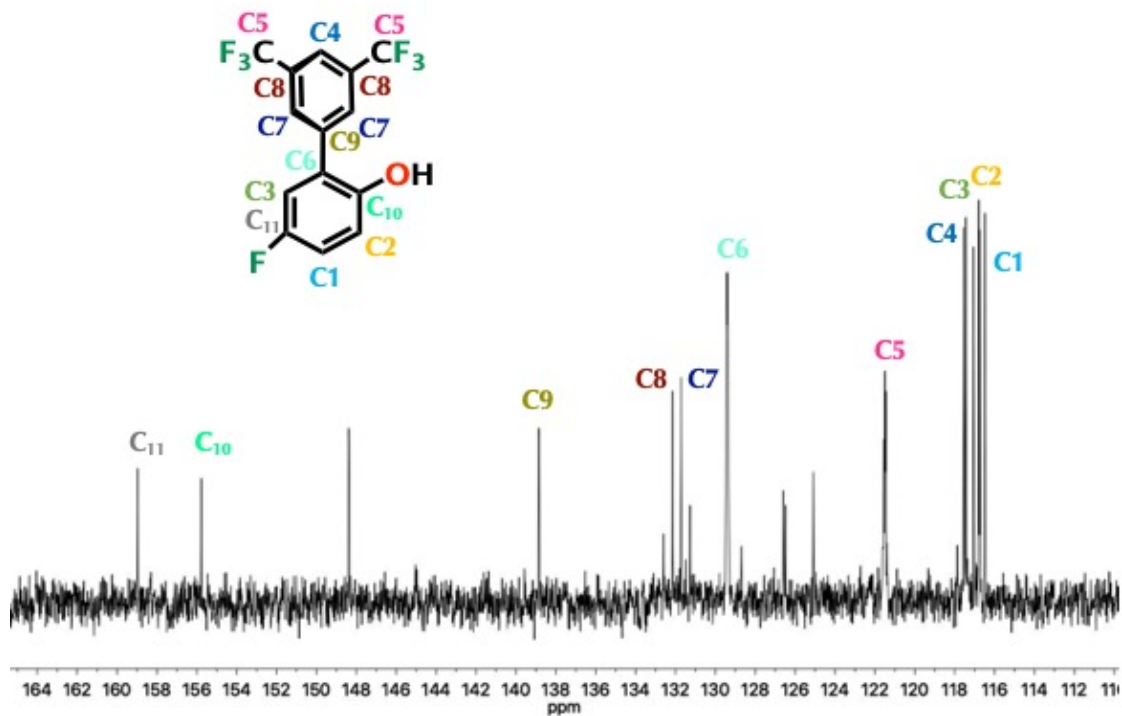
Anexo 3.1 Análisis elemental por combustión de **3**.



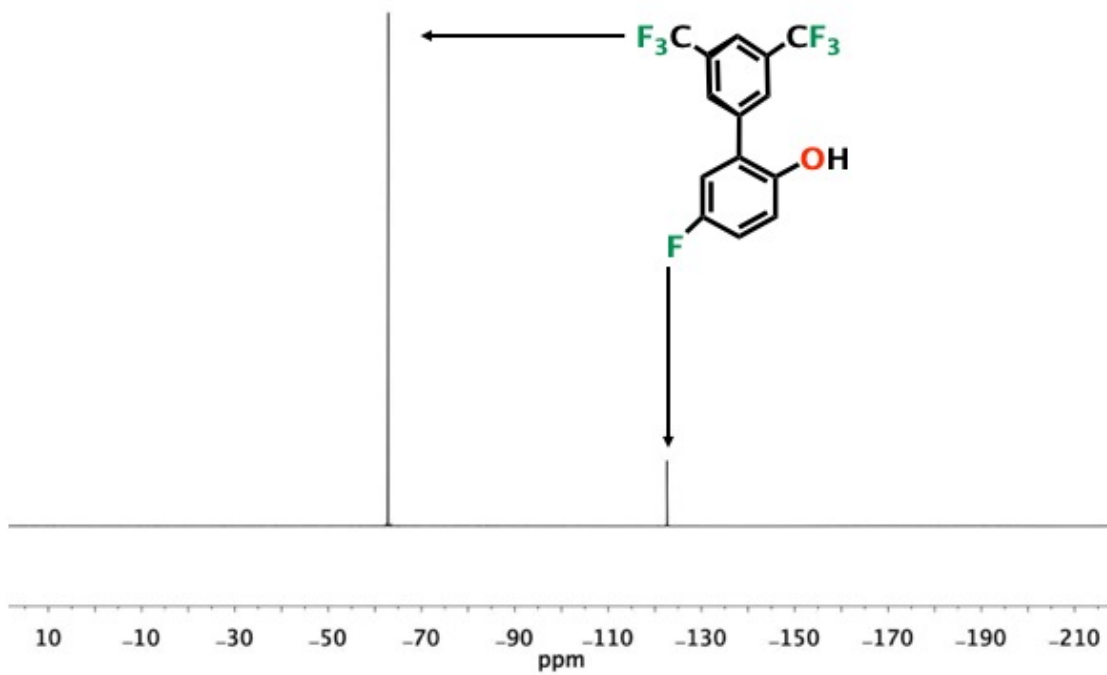
Anexo 3.2 Espectro de masas de 3 (IE), se muestra el ion molecular esperado de M^+ 324 m/z.



Anexo 3.3 Espectro IR de 3.



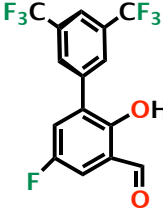
Anexo 3.4 RMN de ¹³C del compuesto 3 (Disolvente: CDCl₃, T.A.).



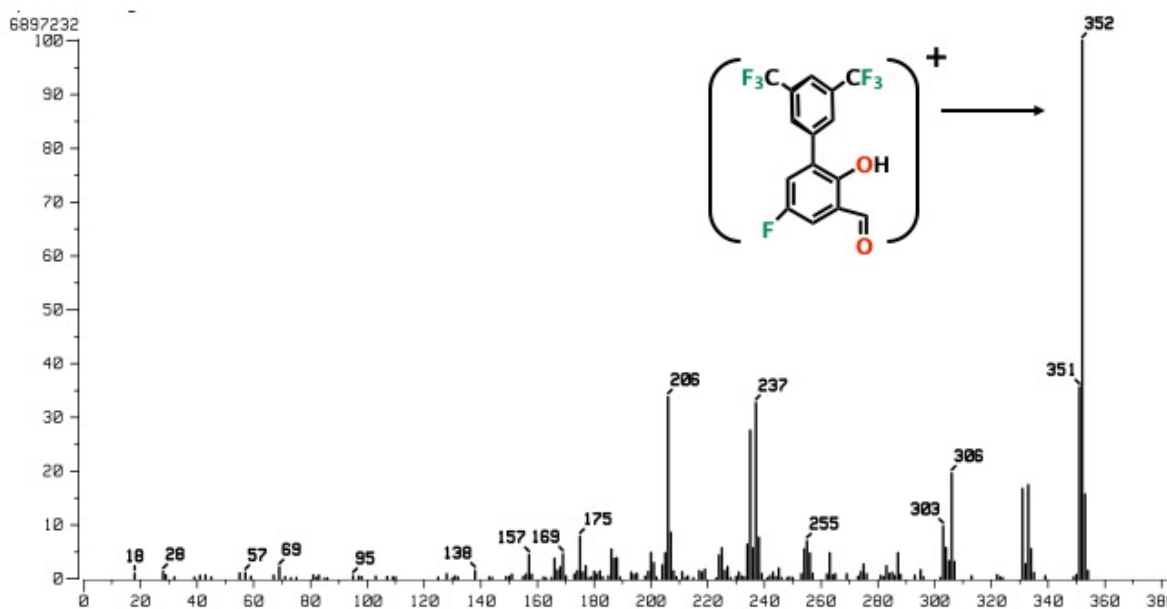
Anexo 3.5 RMN de ¹⁹F del compuesto 3 (Disolvente: CDCl₃, T.A.).

Caracterización anexa de 4:

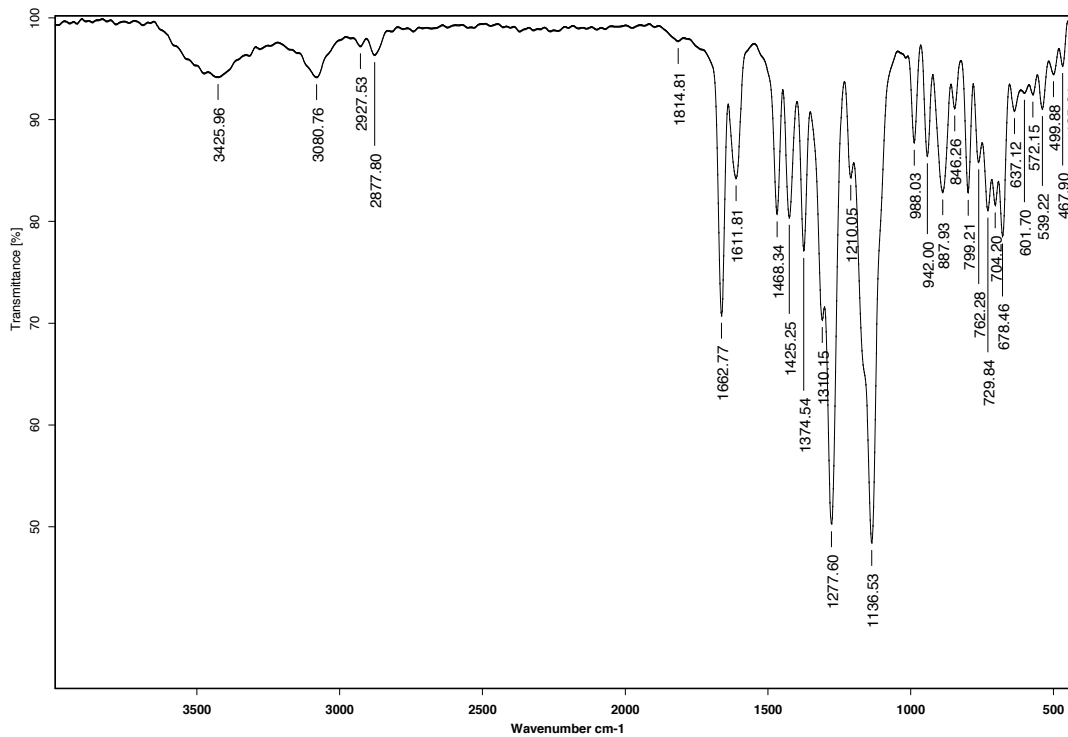
Punto de fusión: 115 °C

| Compuesto Químico | N (%) | C (%) | H (%) | S (%) | |
|---|-------|-------|-------|-------|----------------|
|  | ----- | 51.15 | 2.00 | ----- | Teóricos |
| | ----- | 52.44 | 1.92 | ----- | Experimentales |

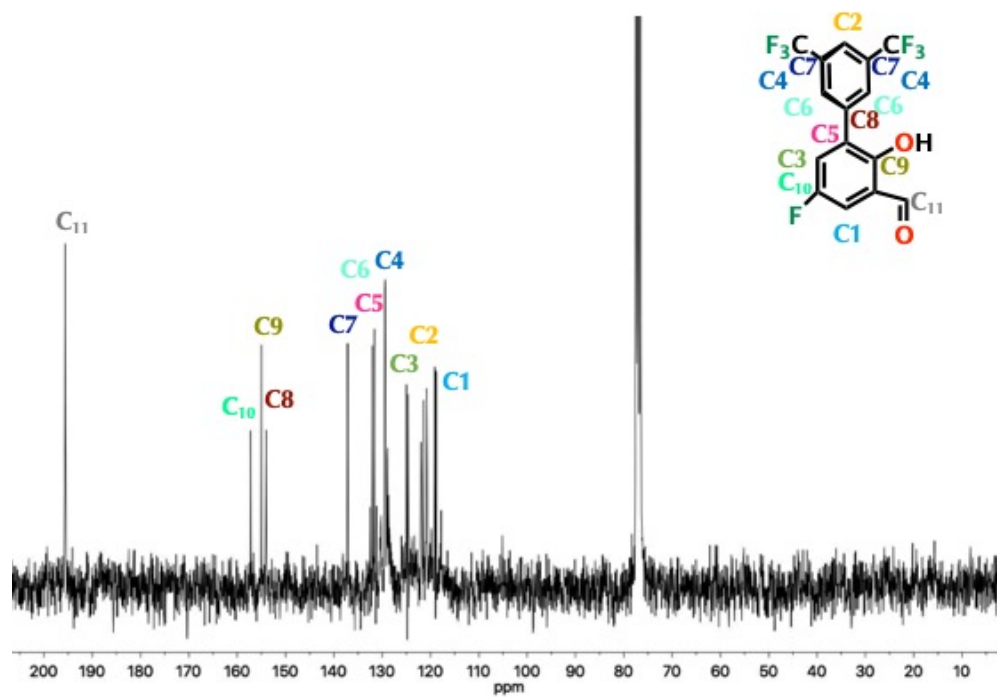
Anexo 4.1 Análisis elemental por combustión de 4.



Anexo 4.2 Espectro de masas de 4 (IE). Asignación de M^+ 352 m/z



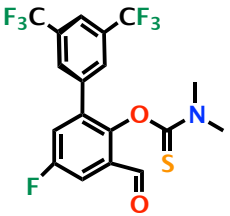
Anexo 4.3 Espectro IR de 4.



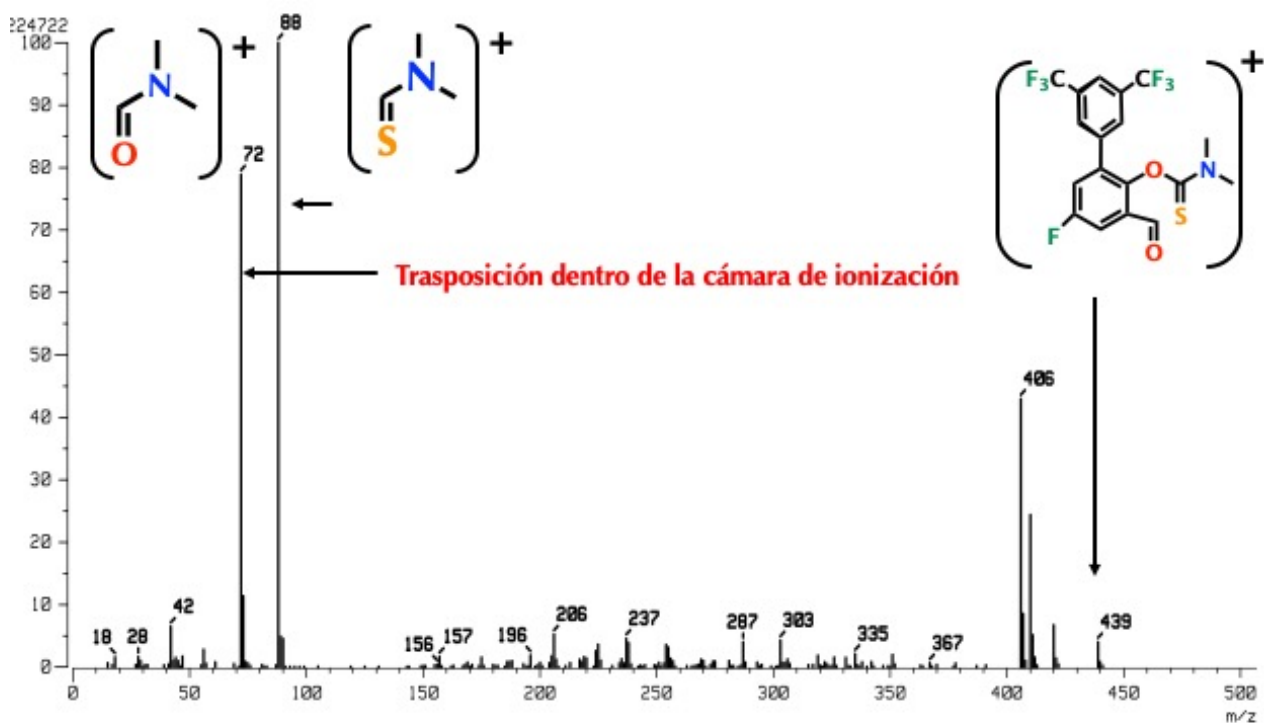
Anexo 4.4 RMN de ¹³C del compuesto 4 (Disolvente: CDCl₃, T.A.).

Caracterización anexa de 5:

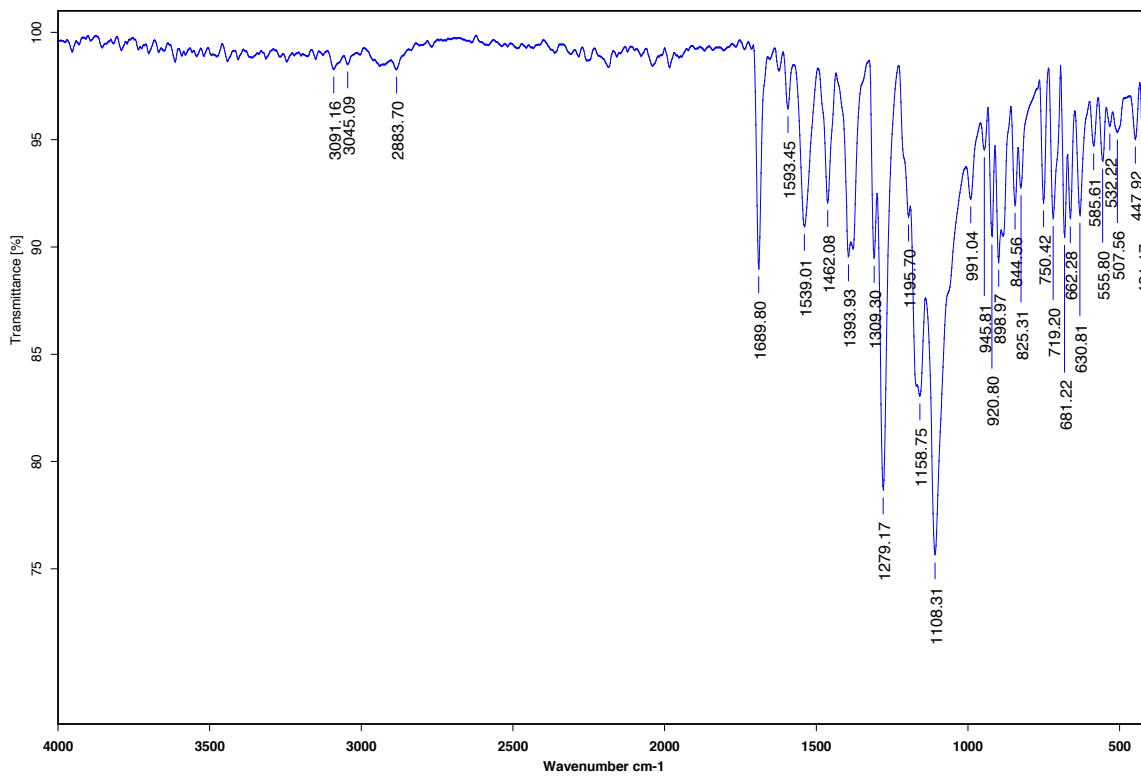
Punto de fusión: 91 °C

| Compuesto Químico | N (%) | C (%) | H (%) | S (%) | |
|---|-------|-------|-------|-------|----------------|
|  | 3.19 | 49.21 | 2.75 | 7.30 | Teóricos |
| | 3.14 | 48.99 | 2.56 | 6.46 | Experimentales |

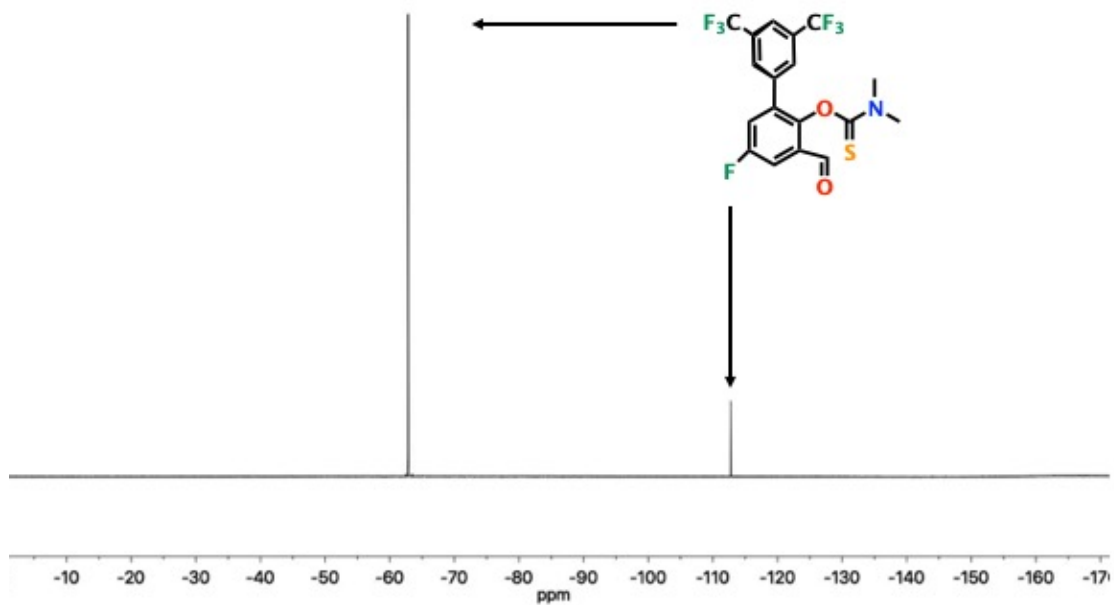
Anexo 5.1 Análisis elemental por combustión de 5.



Anexo 5.2 Espectro de masas de 5 (FAB⁺). Asignación de las especies provenientes de las fragmentaciones correspondientes al brazo *O*-tiocarbamato m/z 88 (PB) y del *S*-tiocarbamato generado por trasposición dentro de la cámara de ionización m/z 72. También se reporta el ión molecular M⁺ 439 m/z



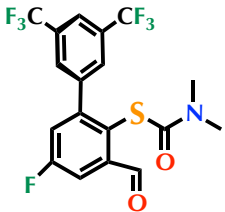
Anexo 5.3 Espectro IR de 5.



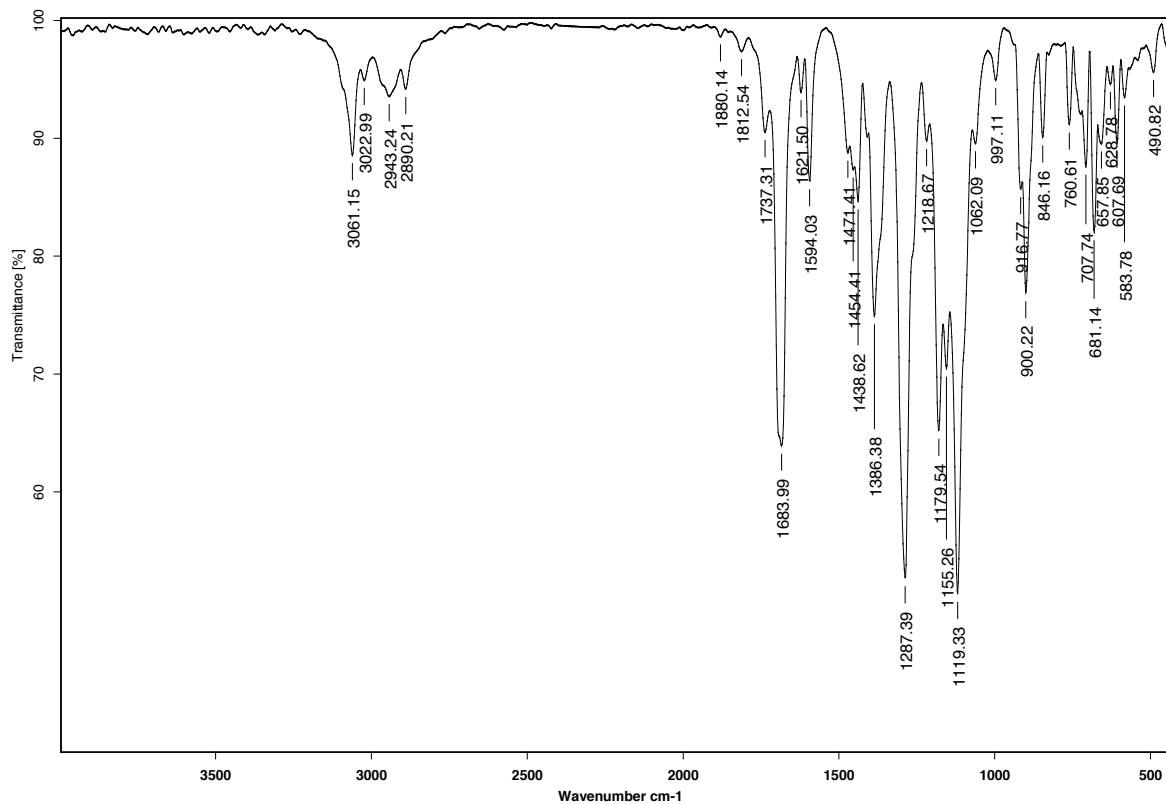
Anexo 5.4 RMN de ^{13}C del compuesto 5 (Disolvente: CDCl_3 , T.A.).

Caracterización anexa de 6:

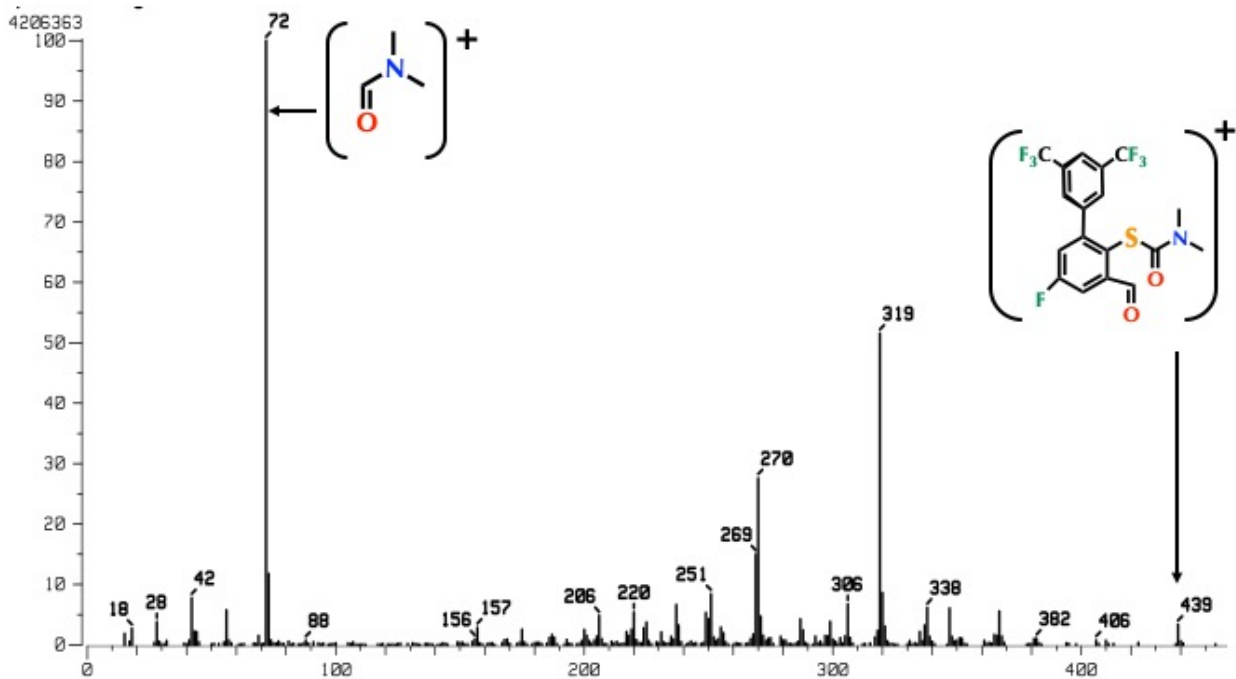
Punto de fusión: 108 °C

| Compuesto Químico | N (%) | C (%) | H (%) | S (%) | |
|---|-------|-------|-------|-------|----------------|
|  | 3.19 | 49.21 | 2.75 | 7.30 | Teóricos |
| | 2.91 | 52.09 | 2.57 | 6.70 | Experimentales |

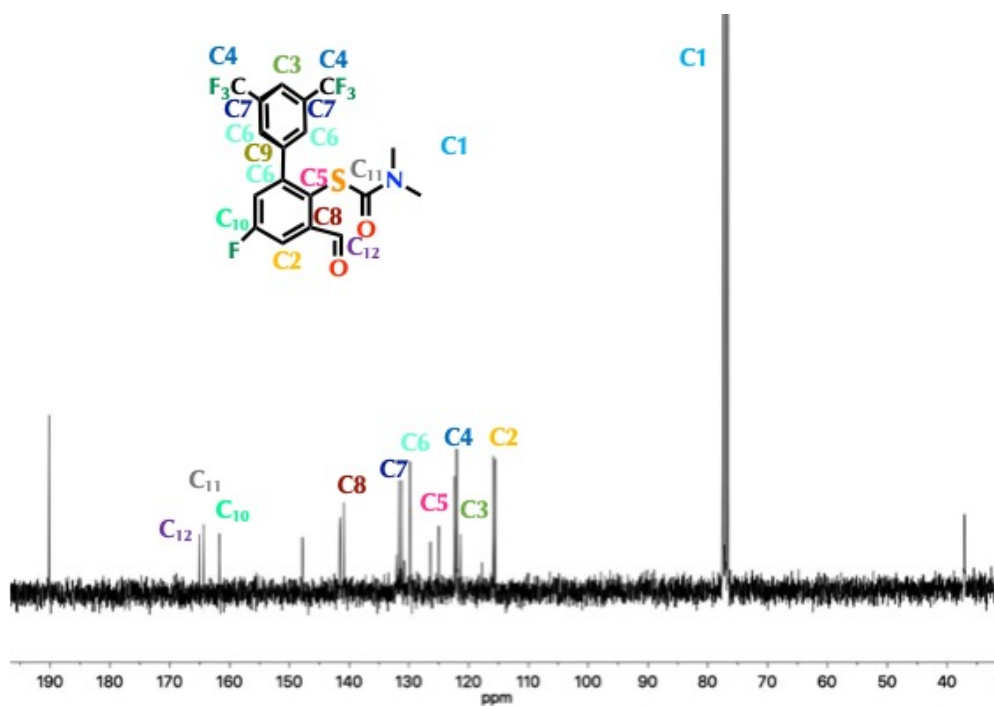
Anexo 6.1 Análisis elemental por combustión de 6.



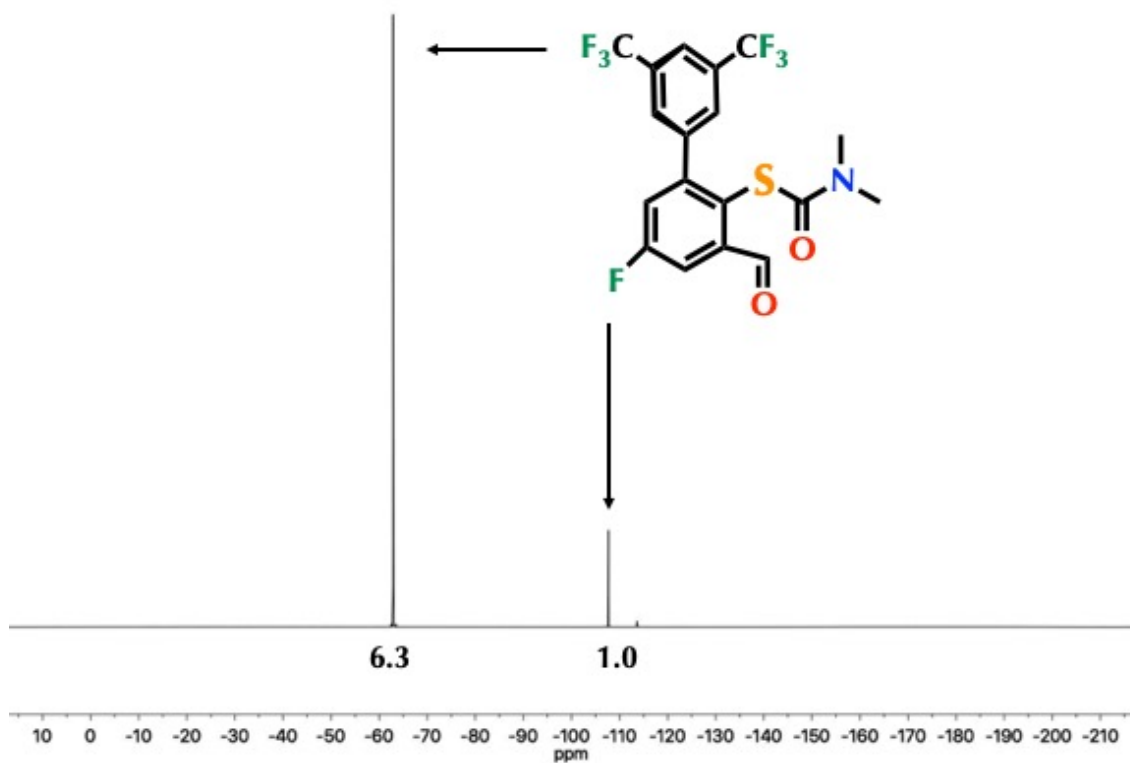
Anexo 6.2 Espectro IR de 6.



Anexo 6.3 Espectro de masas de **6** (FAB⁺). Asignación del **PB** con **m/z 72** correspondiente a la fragmentación del brazo *S*-tiocarbamato y el ion molecular **M⁺ 439 m/z**



Anexo 6.4 RMN de ¹³C del compuesto **6**. (Disolvente: CDCl₃, T.A.).



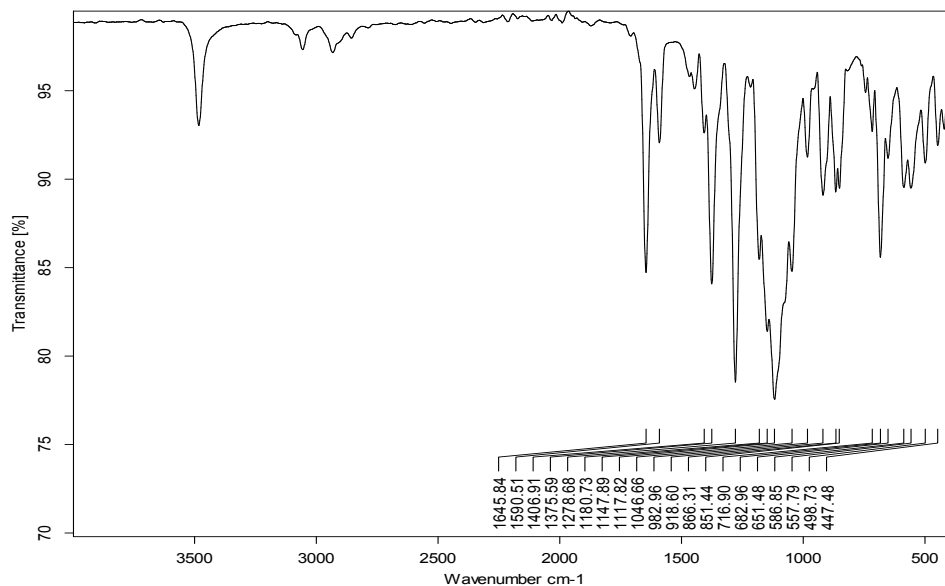
Anexo 6.5 RMN de ^{19}F del compuesto 6. (Disolvente: CDCl_3 , T.A.).

Caracterización anexa de 7:

Punto de fusión: 117 °C

| Compuesto Químico | N (%) | C (%) | H (%) | S (%) | |
|-------------------|-------|-------|-------|-------|----------------|
| | 3.19 | 49.21 | 2.75 | 7.30 | Teóricos |
| | 2.91 | 52.09 | 2.57 | 6.70 | Experimentales |

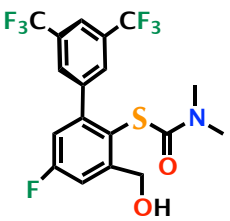
Anexo 7.1 Análisis elemental por combustión de 7.



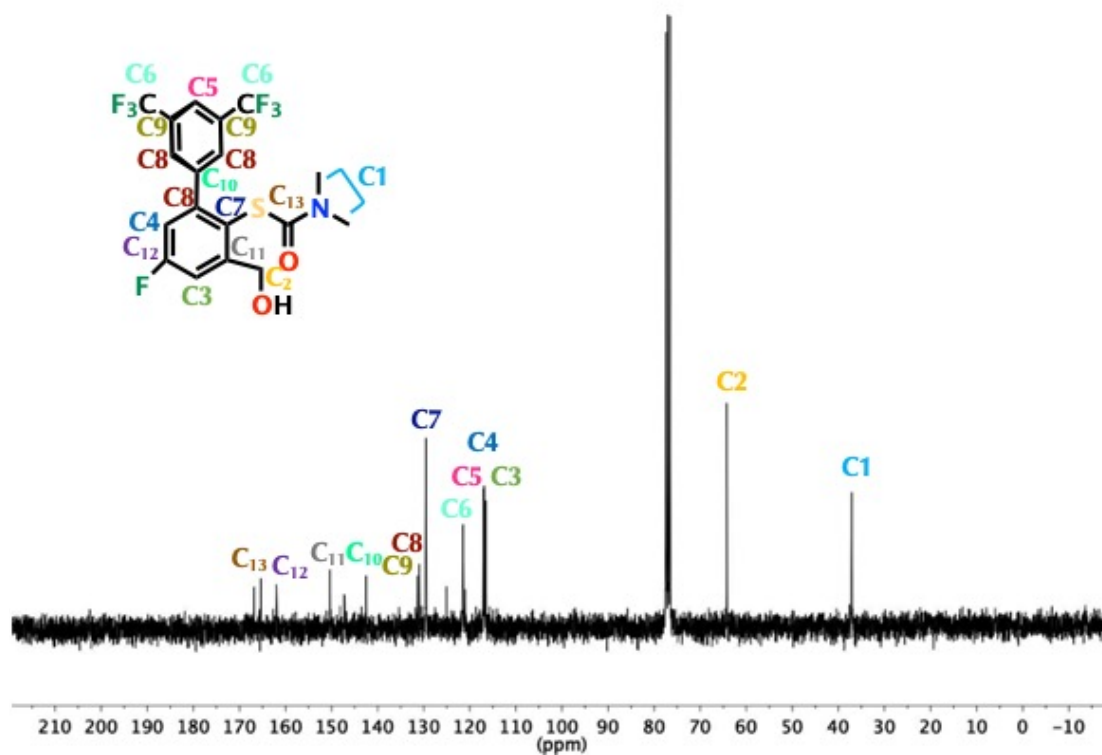
Anexo 7.2 Espectro IR de 7.

Caracterización anexa de 8:

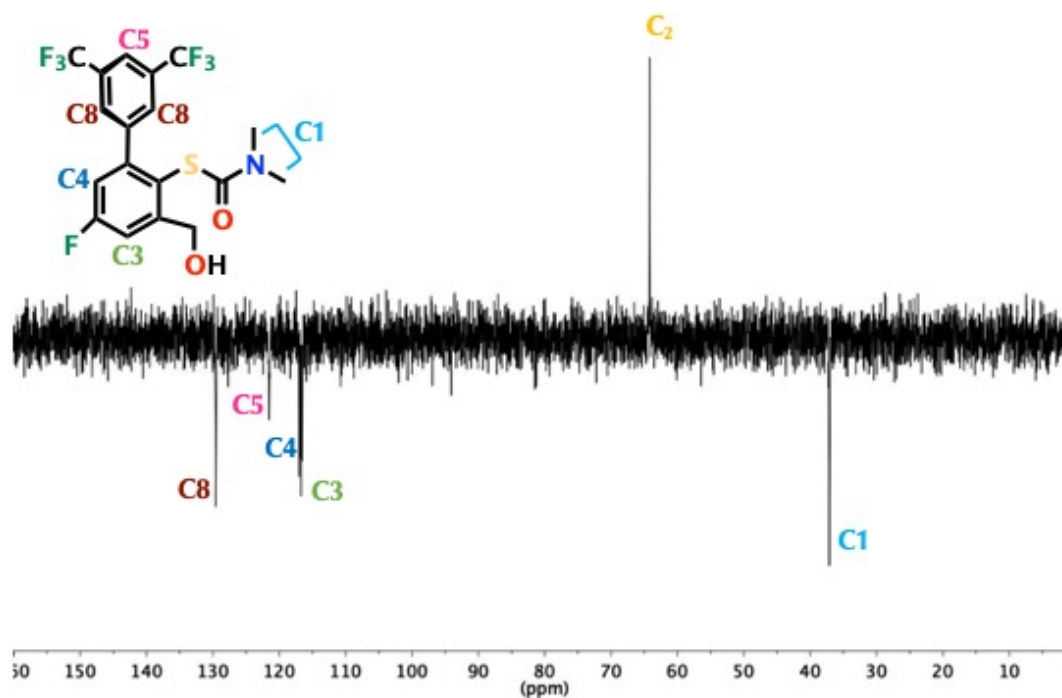
Punto de fusión: 123 °C

| Compuesto Químico | N (%) | C (%) | H (%) | S (%) | |
|---|-------|-------|-------|-------|----------------|
|  | 3.17 | 48.98 | 3.20 | 7.26 | Teóricos |
| | 2.94 | 50.43 | 2.76 | 6.67 | Experimentales |

Anexo 8.1 Análisis elemental por combustión de 8.



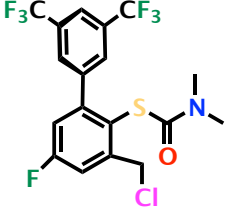
Anexo 8.2 RMN de ^{13}C del compuesto 8. (Disolvente: CDCl_3 , T.A.).



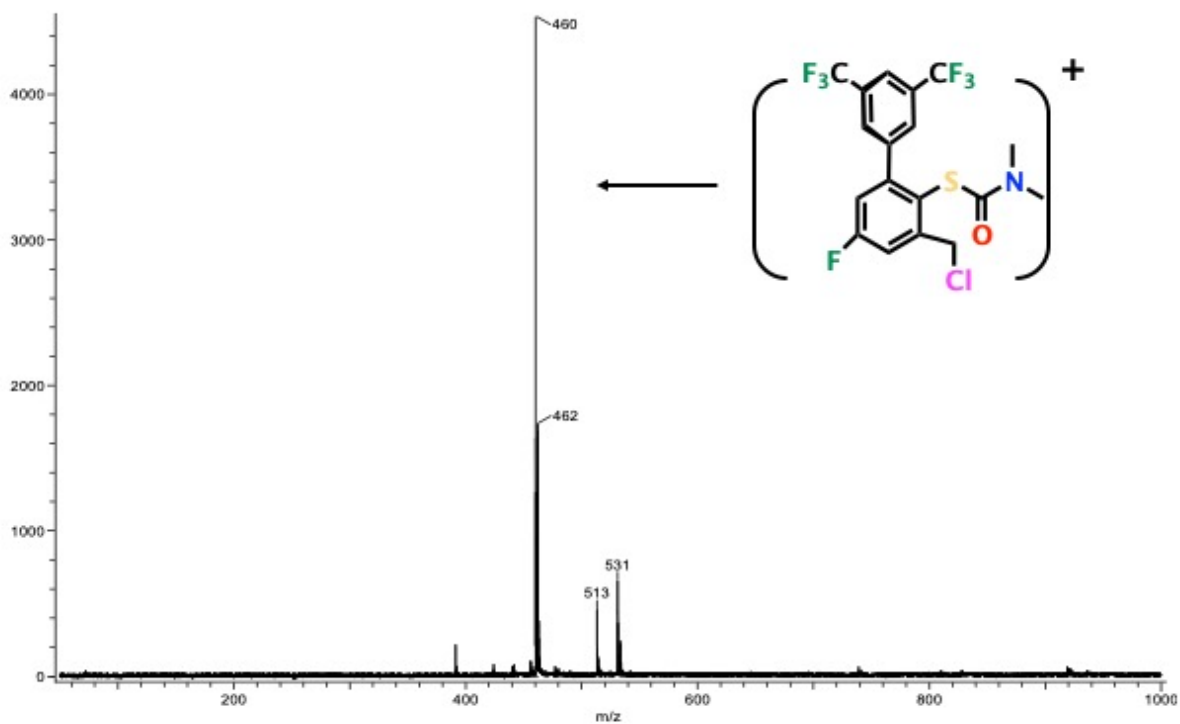
Anexo 8.3 RMN DEPT-135 del compuesto 8. (Disolvente: CDCl_3 , T.A.).

Caracterización anexa de **9**:

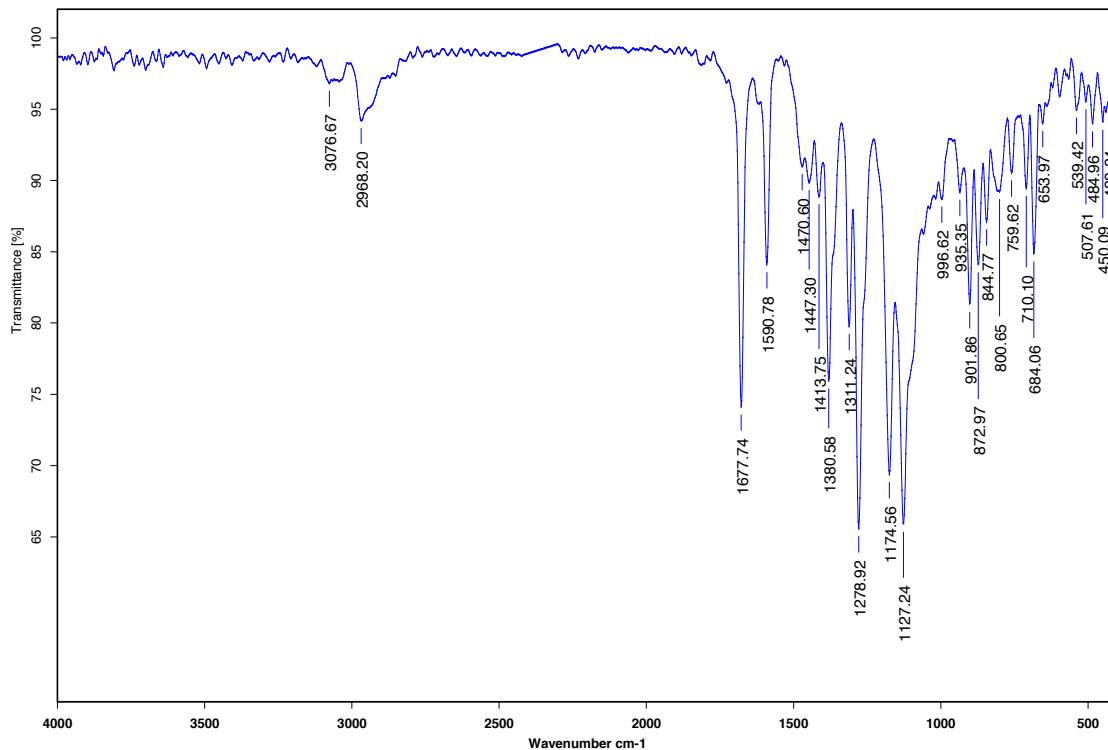
Punto de fusión: **103 °C**

| Compuesto Químico | N (%) | C (%) | H (%) | S (%) | |
|---|-------------|--------------|-------------|-------------|-----------------------|
|  | 3.05 | 47.02 | 2.85 | 6.97 | Teóricos |
| | 2.98 | 47.19 | 2.87 | 6.92 | Experimentales |

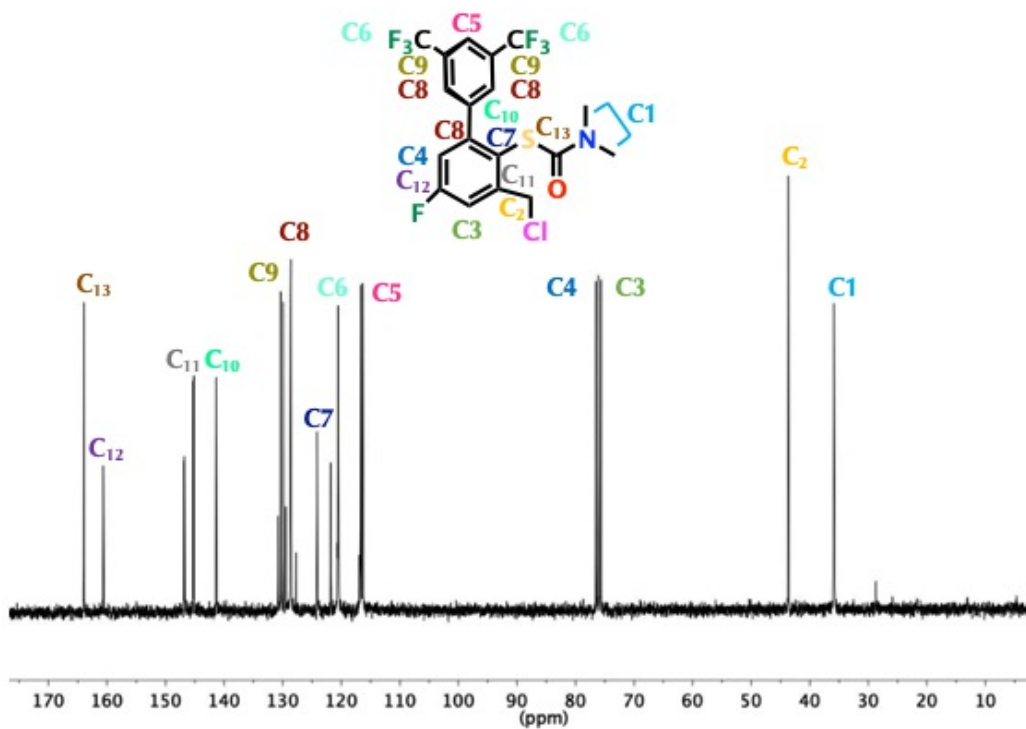
Anexo 9.1 Análisis elemental por combustión de **9**.



Anexo 9.2 Espectro de masas de **9** (FAB⁺). Asignación del **PB** con m/z 460 (ion molecular).



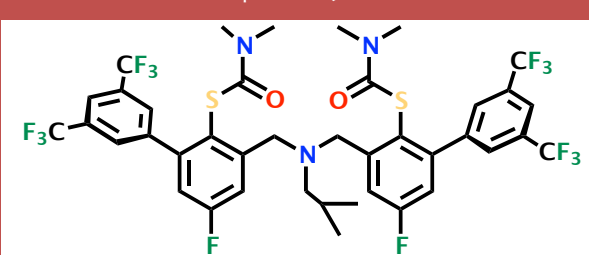
Anexo 9.3 Espectro IR de 9.



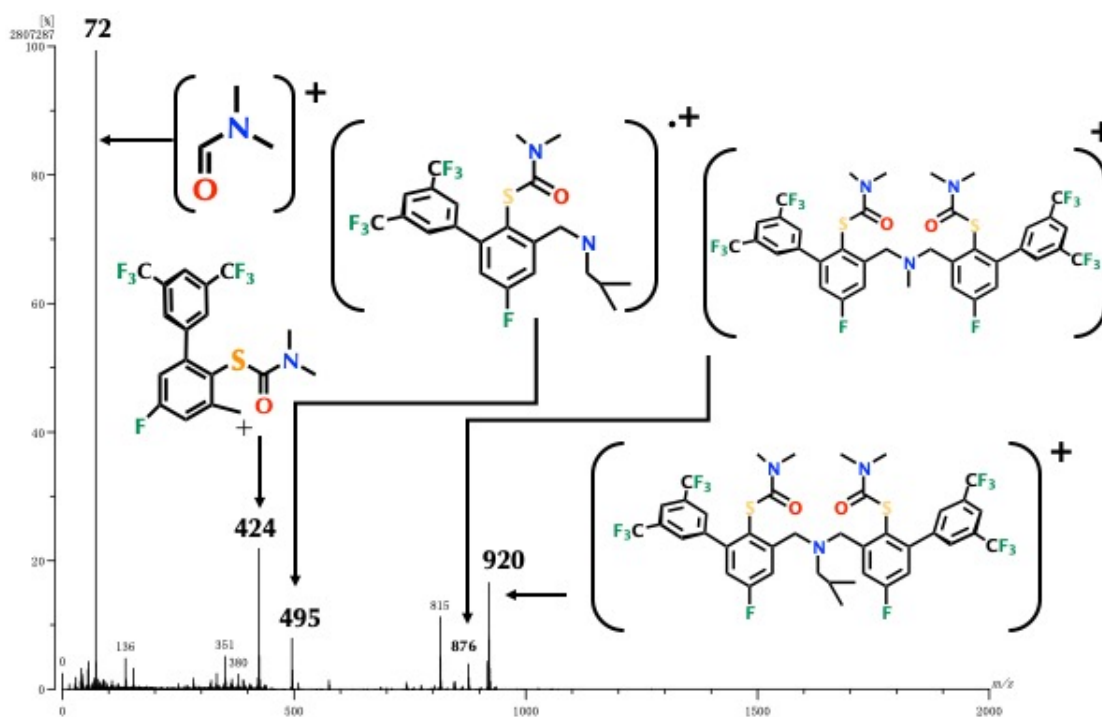
Anexo 9.4 RMN de ¹³C del compuesto 9 (Disolvente: CDCl₃, T.A.).

Caracterización anexa de 10:

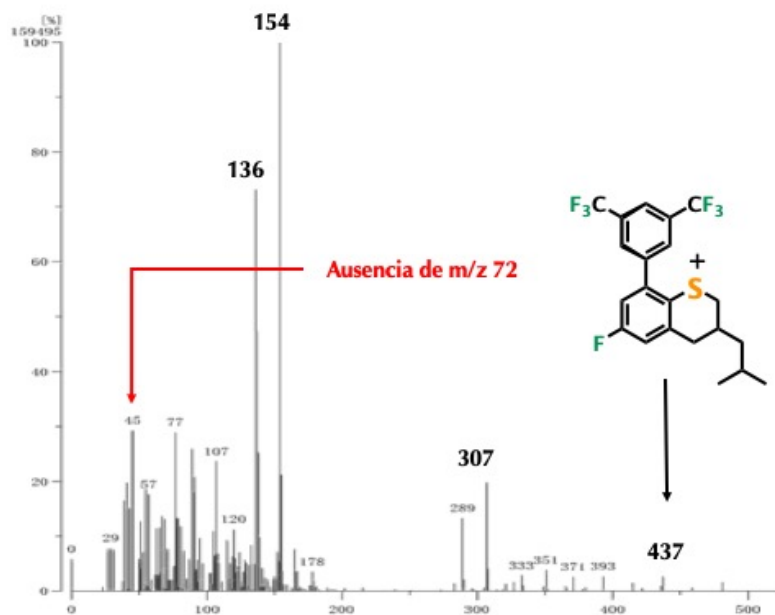
Punto de fusión: 122 °C

| Compuesto Químico | N (%) | C (%) | H (%) | S (%) | |
|---|-------|-------|-------|-------|----------------|
|  | 4.57 | 52.23 | 3.84 | 6.97 | Teóricos |
| | 4.37 | 52.71 | 3.23 | 6.48 | Experimentales |

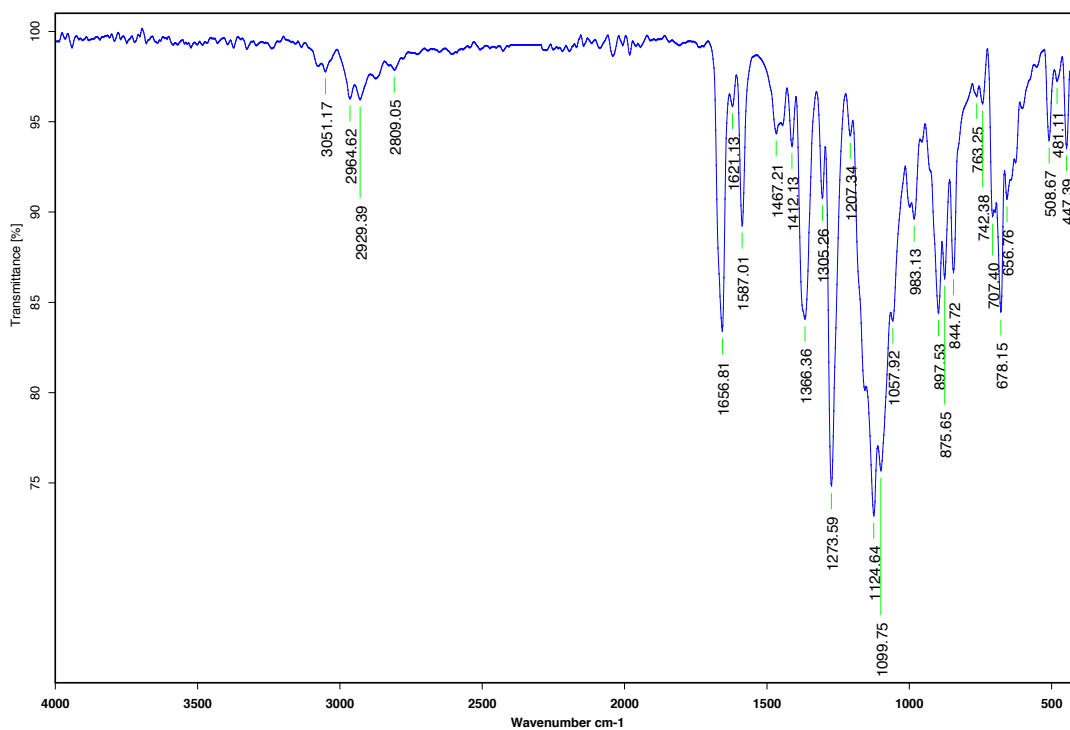
Anexo 10.1 Análisis elemental por combustión de 9.



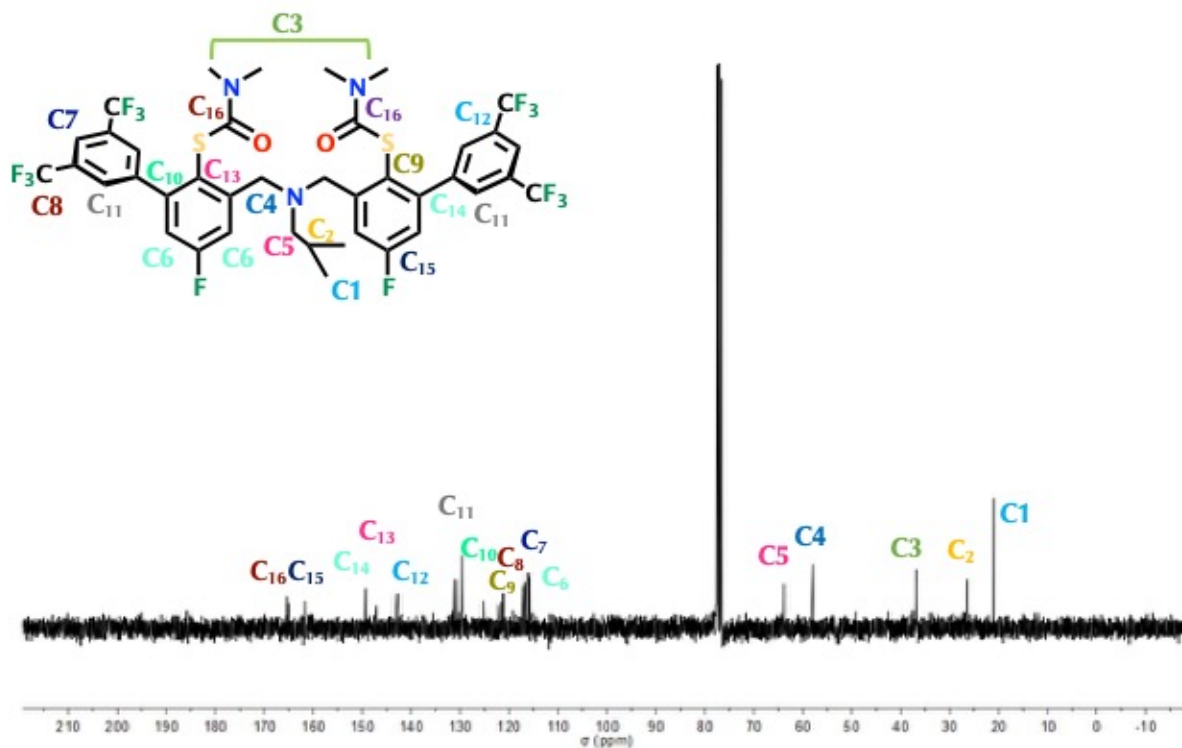
Anexo 10.2 Espectro de masas de 10 (FAB+). Asignación del fragmento PB con m/z 424, se observa el fragmento correspondiente al brazo *S*-tiocarbamato m/z 72, los fragmentos m/z 876 y m/z 495, y el ion molecular esperado M^+ 920 m/z



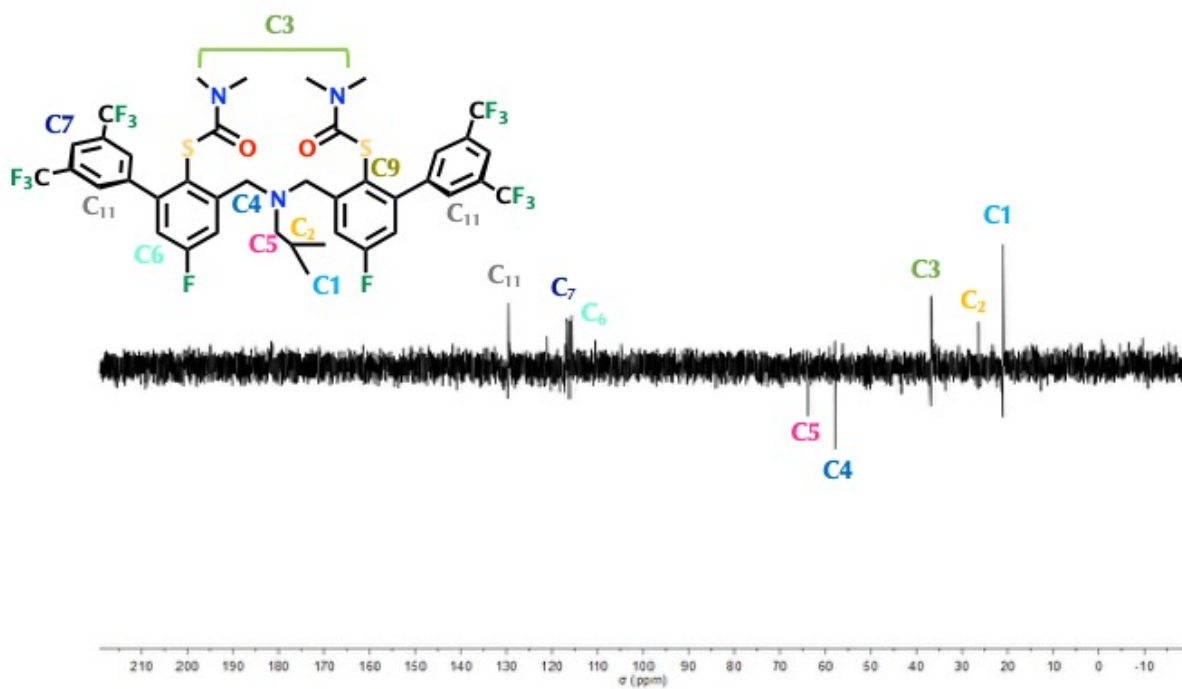
Anexo 10.3 Análisis de la desprotección **10** por espectrometría de masas FAB⁺. Se monitoreó la desprotección al perder el fragmento correspondiente al brazo *S*-tiocarbamato **m/z 72**.



Anexo 10.4 Espectro IR de **10**.



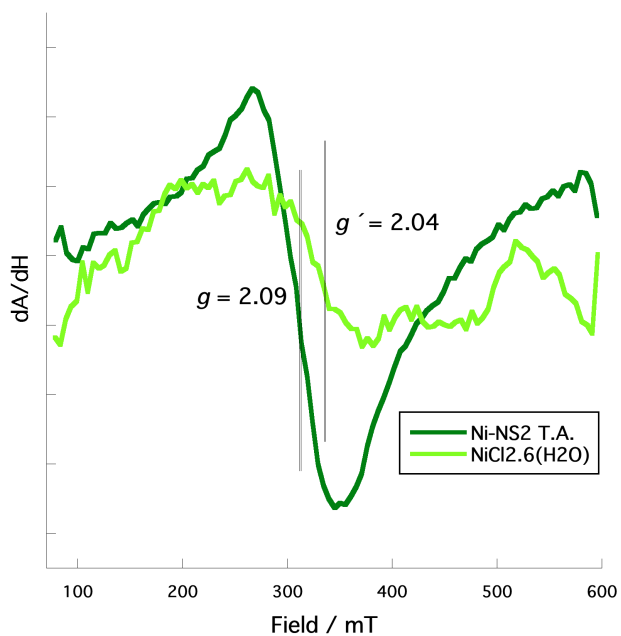
Anexo 10.5 RMN de ^{13}C del compuesto 10 (Disolvente: CDCl_3 , T.A.).



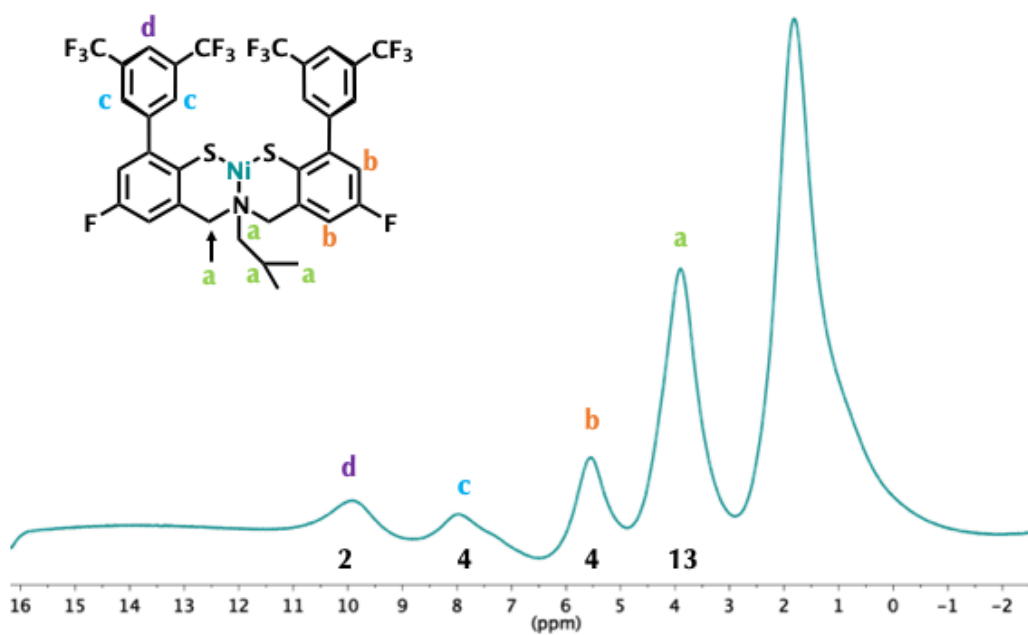
Anexo 10.6 RMN DEPT-135 del compuesto 10 (Disolvente: CDCl_3 , T.A.).

Caracterización anexa de **11**:

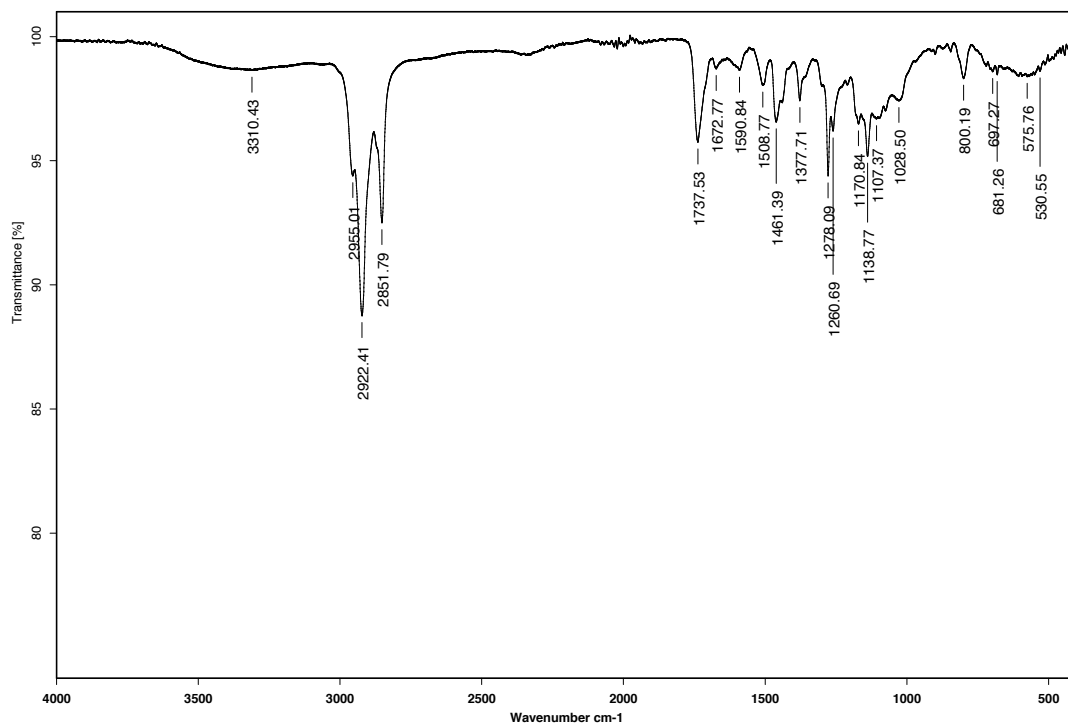
Punto de fusión: **132°C**



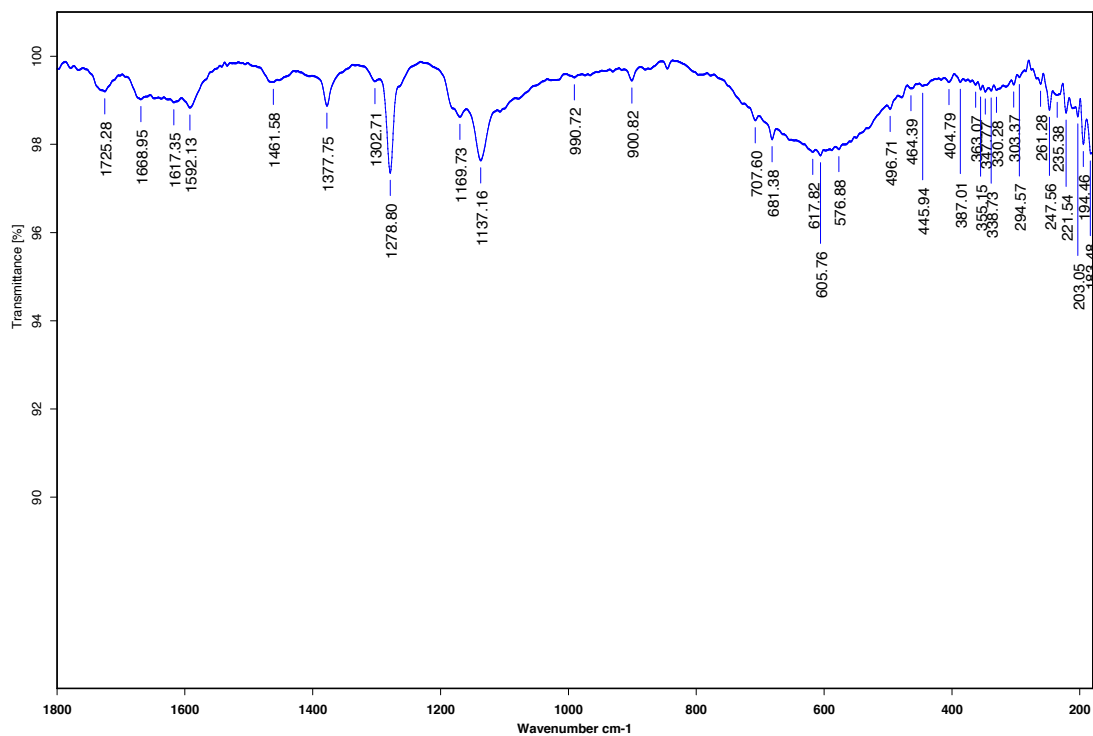
Anexo 11.1 Espectro de RPE a temperatura ambiente en sólido de **11**.



Anexo 11.2 Espectro de RMN ^1H de **11**.



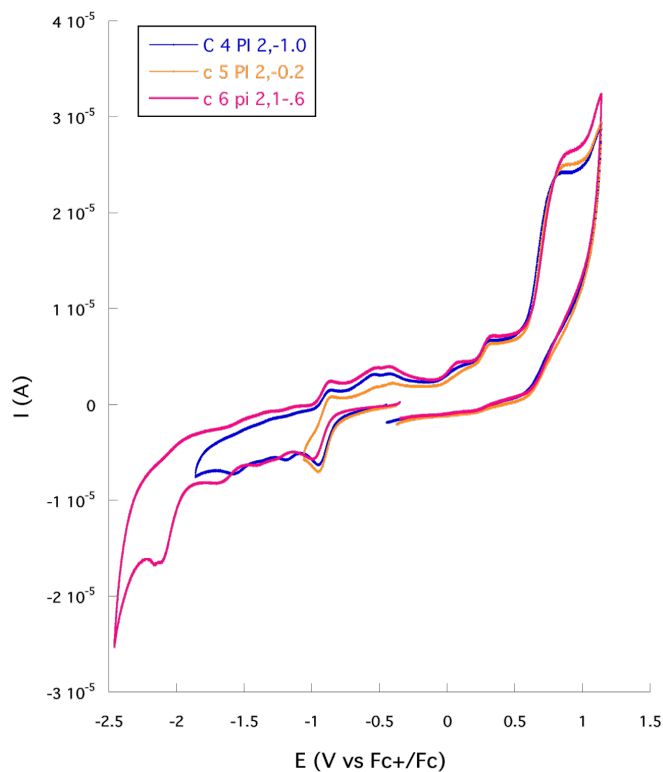
Anexo 11.3 Espectro de ATR medio de 11.



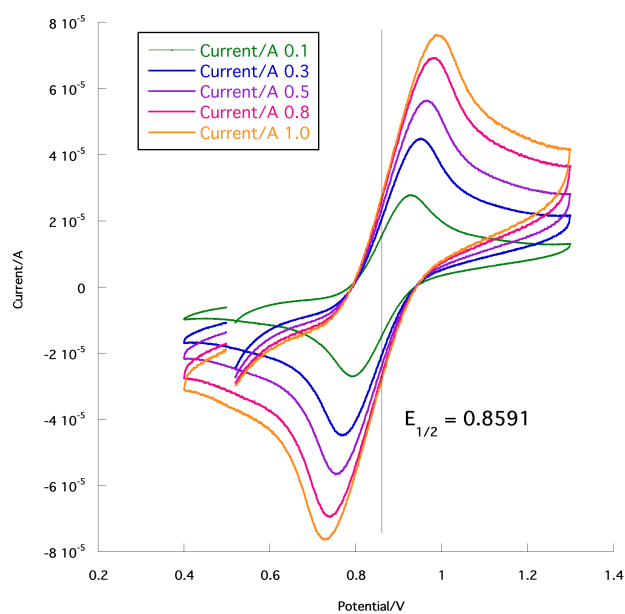
Anexo 11.4 Espectro de ATR lejano de 11.

Caracterización anexa de **12**:

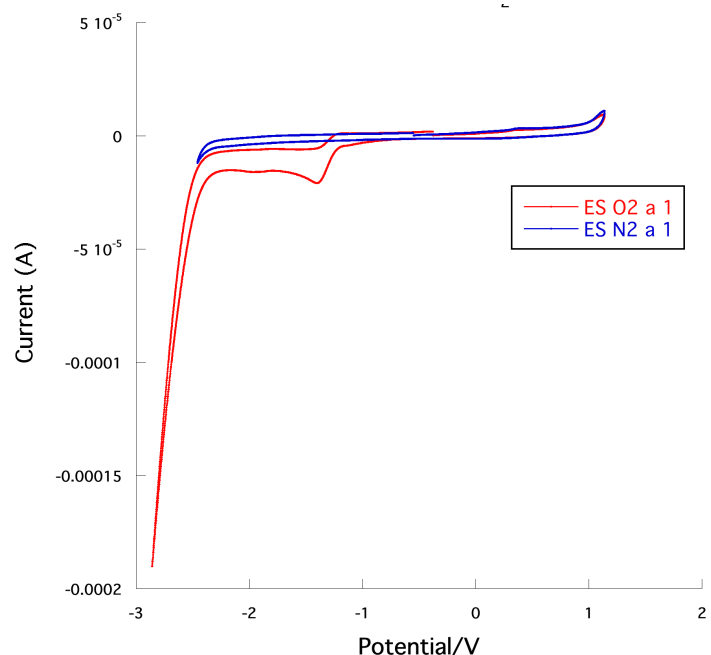
Punto de fusión: **172 °C**



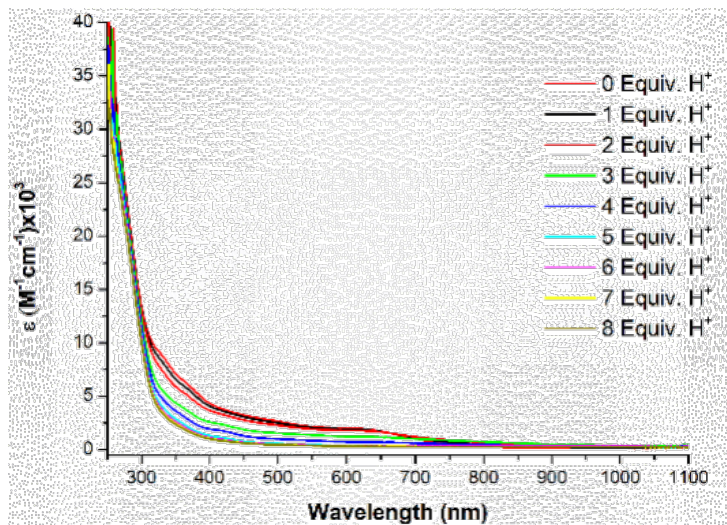
Anexo 12.1 Potenciales de inversión de **12** en sentido catódico



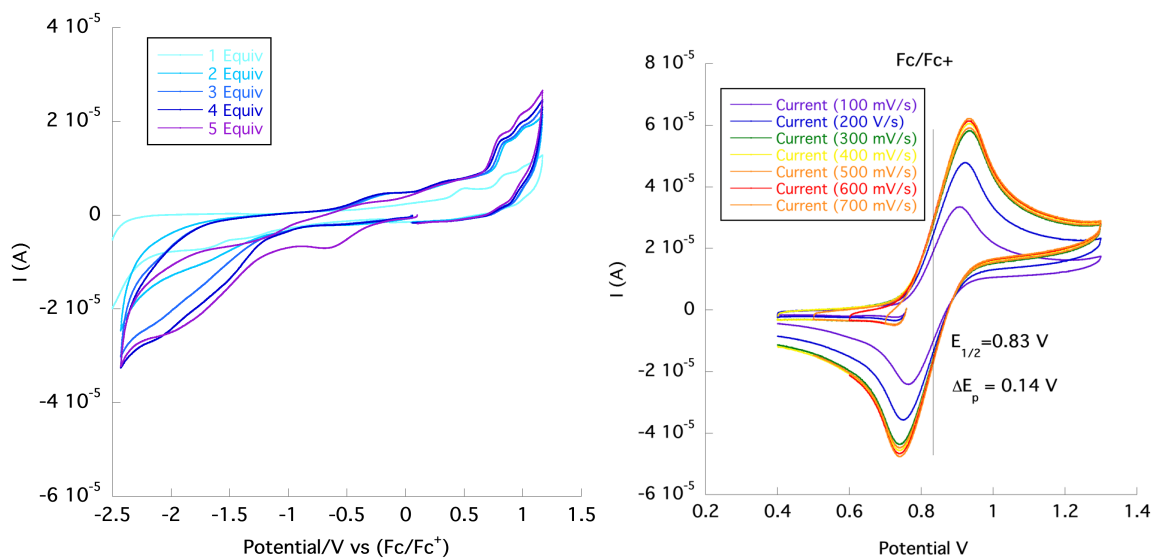
Anexo 12.2 Velocidades de barrido para el sistema Fc^+/Fc con $\Delta E_p = 140$ mV (100 mV/s) en el sistema de las mediciones de **12** a (100, 300, 500, 800 y 1000 mV/s)



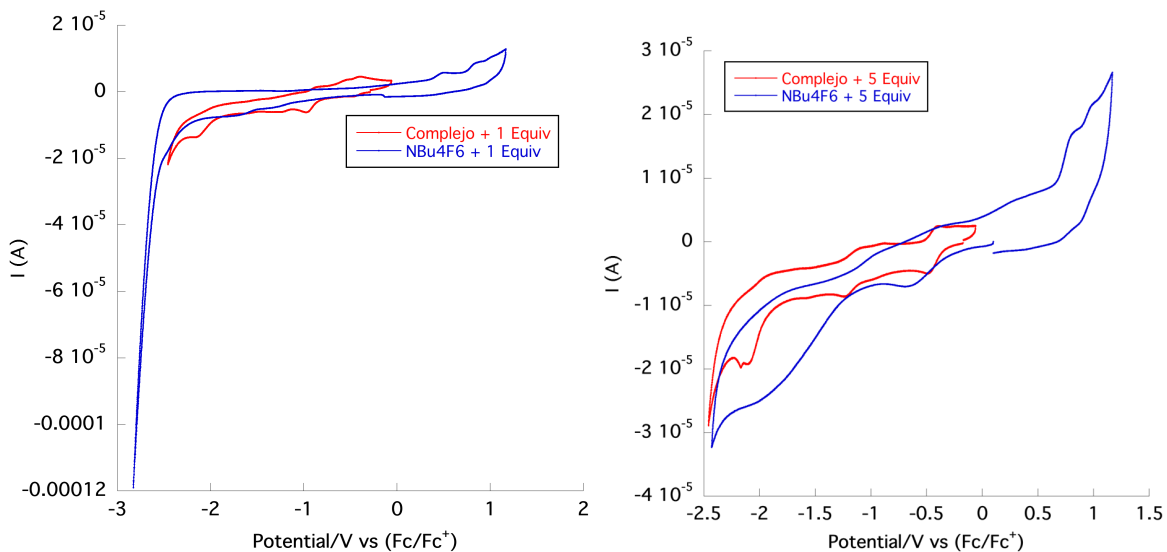
Anexo 12.3 Voltamograma del electrolito estándar bajo atmósfera de nitrógeno (condiciones de medición de 12)



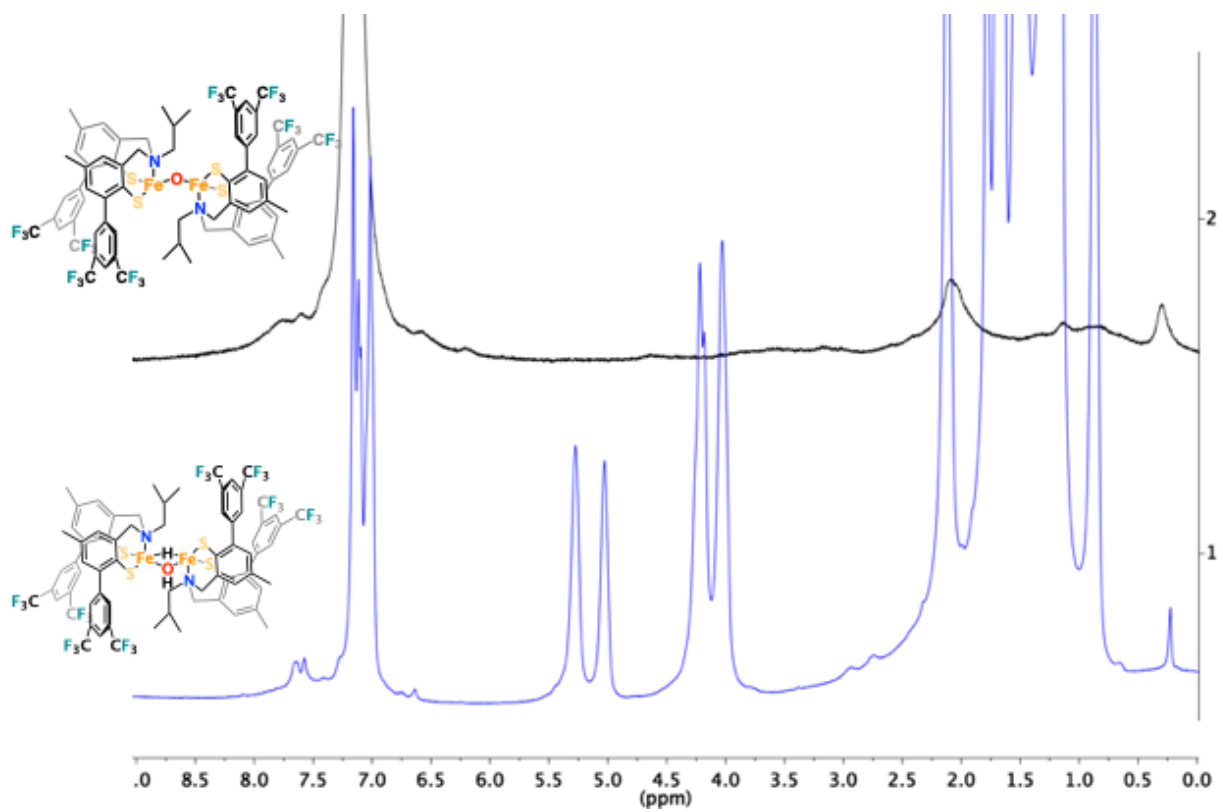
Anexo 12.4 Respuesta de 12 frente a ácido tríflico monitoreado por espectroscopía de absorción electrónica en la región UV-Vis.



Anexo 12.5 Prueba de actividad electrocatalítica de electrolito soporte frente a equivalentes de ácido trifluoroacético. A la izquierda se muestran adiciones consecutivas de ácido trifluoroacético al electrolito soporte (Bu_4NPF_6) y a la derecha se muestra el proceso Fc/Fc^+ en las condiciones que fueron realizadas las mediciones.



Anexo 12.6 A la izquierda se muestra la comparación entre el complejo y electrolito soporte (ES) a un equivalente de ácido trifluoroacético. A la derecha se muestra la misma comparación con 5 equivalentes.



Anexo 12.7 Comparación entre las RMN ^1H de 12 y 12.2.