



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

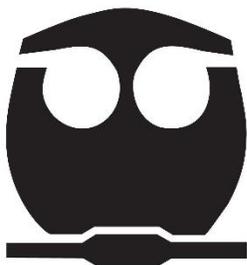
**α -Nucleófilos metal-oximato. Efectos de
solvatación en mezclas MeCN-H₂O**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA**

PRESENTA :

TONANTZIN CORDERO FERNÁNDEZ



CD. MX.

2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Lena Ruiz Azuara
VOCAL: Claudia Paola Gómez Tagle Chávez
SECRETARIO: Juan Arturo Mendoza Nieto
1ER. SUPLENTE: Adrián Espinoza Guillen
2DO. SUPLENTE: Sergio Santiago Rozenel Domenella

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA

Laboratorio 213 del Edificio B, Departamento de Química Inorgánica y Nuclear, División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

ASESOR DEL TEMA:

Dra. Claudia Paola Gómez Tagle Chávez

SUSTENTANTE:

Tonantzin Cordero Fernández

Agradecimientos

Agradezco el apoyo recibido de DGAPA-UNAM-PAPIIT a través de los Proyectos IN214514 e IN219718.

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

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

Índice

Abreviaturas y símbolos	3
Resumen	4
1. Introducción	5
2. Antecedentes	9
3. Hipótesis	24
4. Objetivos	25
4.1 Objetivo general:	25
4.2 Objetivos particulares:	25
5. Metodología	26
5.2 Equipos	29
5.3 Programas	29
5.4 Síntesis del ligante HOxAPy	30
5.5 Condiciones generales de trabajo	31
5.6 Titulaciones potenciométricas	32
5.7 Estudios cinéticos	33
5.8 Diagrama general del procedimiento experimental	35
6. Resultados	36
6.1 Determinación de los valores de pK_w en mezclas MeCN-H ₂ O	36
6.2 Determinación de las constantes de disociación ácida del ligante HOxAPy en 30 y 50% v/v MeCN-H ₂ O	36
6.3 Determinación de las constantes de formación acumulativas ($\log\beta$) de los complejos del ligante HOxAPy con Cd(II) y Zn(II) en mezclas 30 y 50% v/v MeCN-H ₂ O	44
6.3.1. Complejos del ligante HOxAPy con Cd(II)	44
6.3.2. Complejos del ligante HOxAPy con Zn(II)	48
6.4. Estudios cinéticos. Determinación de la constante de hidrólisis alcalina, k_{OH} , en mezclas con 30 y 50% v/v MeCN	51
6.5. Determinación de los coeficientes de absorptividad (ϵ) del 4-nitrofenol en mezclas MeCN-H ₂ O	55

6.6. Estudios cinéticos. Reactividad esterolítica del anión oximato de HOxAPy, k_{Ox} , en mezclas de MeCN-H ₂ O -----	58
6.6.1 Determinación de k_{Ox} del ligante HOxAPy en mezclas de MeCN-H ₂ O adicionando 0.5 equivalentes de base -----	58
6.6.2 Determinación de k_{Ox} del ligante HOxAPy considerando la hidrólisis alcalina, pK_a del ligante y pK_w en mezclas de MeCN-H ₂ O -----	61
6.6.3 Determinación de las constantes de reactividad intrínseca del nucleófilo 4-clorofenol k_{ClPhO^-} en mezclas 30 y 50% MeCN-H ₂ O -----	64
6.7. Estudios cinéticos. Reactividad esterolítica de los complejos del ligante HOxAPy con metales divalentes Cd(II) y Zn(II) hacia el 4-NFA en mezclas 30 y 50% MeCN-H ₂ O -----	66
Complejos del ligante HOxAPy con Cd en mezclas MeCN-H ₂ O -----	66
Complejos del ligante HOxAPy con Zn en mezclas MeCN-H ₂ O -----	71
Estudios cinéticos en la mezcla 30% v/v MeCN-H ₂ O -----	72
Estudios cinéticos en la mezcla 50% v/v MeCN-H ₂ O -----	78
7. Análisis global de resultados -----	84
8. Conclusiones -----	89
9. Bibliografía -----	90
Apéndices -----	95

Abreviaturas y símbolos

Abs	Absorbancia
A_0	Valor límite de la absorbancia al tiempo inicial
A_{inf}	Valor límite de la absorbancia al tiempo infinito
ε	Coefficiente de absorción molar
HOxAPy	3-(hidroximino)-N-(piridina-2-ilmetil)-butan-2-amina
k_{obs}	Constante de rapidez observada
k_{OH}	Constante de rapidez de hidrólisis alcalina
k_{corr}	Constante de rapidez corregida ($k_{obs}-k_{OH}[OH]$)
k_{Ox}	Constante de reactividad intrínseca o constante de oximólisis
k_{ML}	Constante de rapidez de hidrólisis debido al complejo ML
k_{calc}	Constantes de rapidez calculadas o teóricas
nm	Nanómetros
pK_a	Logaritmo de la constante de disociación ácida
β	Constante de formación acumulativa
4-NFA	4-nitrofenil acetato
4-ClPhOH	4-clorofenol
MeCN	Acetonitrilo
DMSO	Dimetil sulfóxido
MES	Ácido 2-(N-morfolino) etanosulfónico
MOPS	Ácido 3-(N-morfolino) propanosulfónico
EPSP	Ácido 4-(2-Hidroxietil)-1-piperazina propanosulfónico
CHES	Ácido 2-(Ciclohexilamino) etanosulfónico
CAPS	Ácido 3-(Ciclohexilamino) propanosulfónico

Resumen

El principal objetivo del presente trabajo fue el de estudiar la reactividad de un α -nucleófilo libre y coordinado con cationes metálicos, el anión oximato de la oxima HOxAPy y de sus complejos con Cd(II) y Zn(II), hacia el éster 4-NFA en dos mezclas acuosas con 30 y 50% v/v MeCN-H₂O, con las cuales se busca comparar la reactividad intrínseca de las especies presentes en medios con menor contenido de agua, ya que anteriormente observamos que al coordinarse con cationes metálicos su reactividad no disminuye como una consecuencia de la menor densidad electrónica sobre el átomo en posición alfa al sitio nucleofílico sino que, por el contrario, aumenta. Además, es un mejor modelo de metalohidrolasa, en el sentido de que el sitio activo de las enzimas naturales está en un medio con bajo contenido de agua.

Para lograr esta comparación, primero se sintetizó y caracterizó un lote del ligante HOxAPy (AE, FTIR y RMN-¹H) y se obtuvieron, mediante titulaciones potenciométricas, los valores de pK_a del grupo oxima del ligante HOxAPy en 30% (pK_a: 12.93) y 50% (pK_a: 13.30) MeCN-H₂O, asimismo se realizaron las titulaciones potenciométricas de los complejos del ligante HOxAPy con los cationes metálicos Cd(II) y Zn(II), obteniendo las constantes de formación sucesivas para cada complejo presente en cada porcentaje de acetonitrilo, debido a que no necesariamente se forman las mismas especies y la cantidad de cada una presente en disolución depende de estos valores. Después, se realizaron estudios cinéticos de los que obtuvimos a diferentes condiciones las constantes de rapidez; se estudió la dependencia de estas constantes del pH y de la concentración. Después se correlacionó la reactividad observada con la cantidad e identidad de cada especie presente en disolución y se obtuvieron los valores de las constantes de velocidad de segundo orden para todas las especies presentes, tanto del anión oximato como de cada complejo metálico, en las dos mezclas acuosas de acetonitrilo. En la mezcla 30% MeCN-H₂O se obtuvieron los siguientes resultados: k_{OH} 6.9 M⁻¹ s⁻¹, k_{Ox} : 54 M⁻¹s⁻¹, k_{CdL} : 4500 M⁻¹s⁻¹, k_{ZnL} : 410 M⁻¹s⁻¹ y $k_{ZnL(OH)}$:2460 M⁻¹s⁻¹; mientras que en la mezcla 50% MeCN-H₂O los valores fueron: k_{OH} :3.5 M⁻¹ s⁻¹, k_{Ox} : 37 M⁻¹s⁻¹, k_{CdL} : 3100 M⁻¹s⁻¹, k_{ZnL} : 190 M⁻¹ s⁻¹, $k_{ZnL(OH)}$:340 M⁻¹ s⁻¹ y $k_{ZnL(OH)_2}$: 400 M⁻¹ s⁻¹.

Se encontró que en 30 y 50%, el efecto catalítico del anión oximato y de sus complejos metálicos es menor que en agua, pero los complejos metálicos presentan reactividad esterolítica a menores valores de pH.

1. Introducción

La química biomimética es un área de la química que busca imitar el funcionamiento de algunos sistemas biológicos con sistemas químicos, entre ellos las enzimas, que son los catalizadores más eficientes y limpios que existen en la naturaleza [Sgobbi & Machado, 2018], con la finalidad de lograr aplicaciones prácticas. Por ejemplo, las hidrolasas son metaloenzimas que catalizan la hidrólisis de diversos tipos de ésteres carboxílicos [Wille, Kaltenbach, Thiermann, & Worek, 2013] y fosfatos. En la Fig. 1.1. se muestran algunos ejemplos.

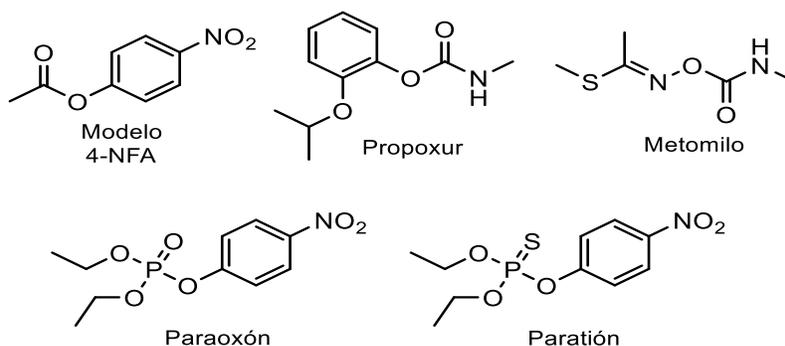


Fig. 1.1. Ejemplos de ésteres carboxílicos y fosfatos.

Por su parte, muchos de los compuestos organofosforados que se utilizan como pesticidas son ésteres fosfato. Si bien estos compuestos en la agricultura sirven para proteger cultivos y árboles frutales contra una gran variedad de insectos y plagas [Han, Balakrishnan, vanLoon, & Buncel, 2006], son nocivos para el medio ambiente y pueden alterar los ecosistemas con consecuencias severas para los seres humanos. Su mecanismo de hidrólisis es similar al de los ésteres carboxílicos y corresponde a un proceso de adición y eliminación, como se muestra en la Fig. 1.2.

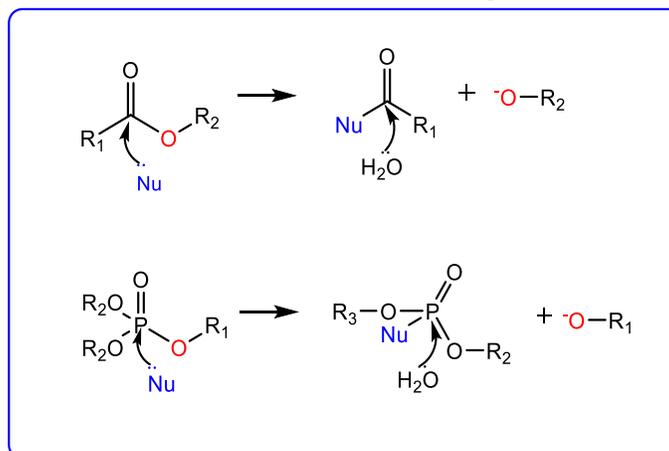


Fig. 1.2. Mecanismo general de la hidrólisis de ésteres carboxílicos y fosfatos.

Si bien hay enzimas naturales que pueden degradar los triésteres fosfatos, sería más adecuado tener enzimas artificiales que puedan ayudar a degradarlos. Este grupo de compuestos también pertenecen a varias armas químicas, [Singh, Karpichev, Tiwari, Kuca, & Ghosh, 2015], como sarín, soman, tabun, etc. Su toxicidad radica en que son potentes inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) encargada de la transmisión del impulso nervioso. Durante una intoxicación por un compuesto organofosforado, se forma un enlace químico entre el átomo de fósforo y el átomo de oxígeno del grupo hidroxilo de la serina, que es el sitio nucleofílico encargado de la enzima AChE impidiendo el correcto funcionamiento de la AChE [Kalisiak, Ralph, Zhang, & Cashman, 2011; Terrier, et al., 1991].

En la Fig. 1.3 se ilustra la reacción que se lleva a cabo en la inhibición de la AChE y como la oxima 2-PAM funciona en la reactivación de la AChE.

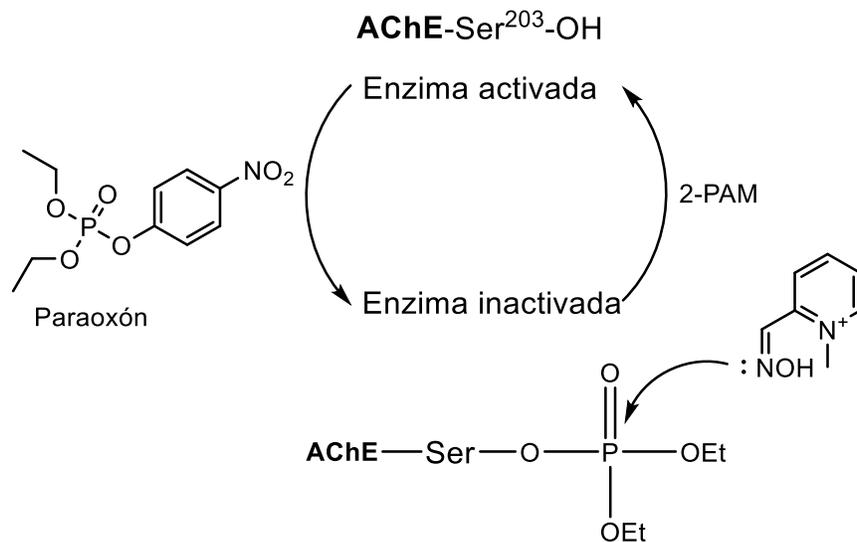


Fig. 1.3. Inhibición de la AChE con paraoxón y su reactivación con un antídoto (oxima, 2-PAM), [Tang et al., 2019].

Una buena razón para emplear oximas, es que la terapia de intoxicación por estos venenos se basa en la administración de anticolinérgicos y de los llamados reactivadores de AChE, principalmente oximas, (de hecho sólo la 2-PAM que es catiónica está aprobada por la FDD para administrarse), que deben ser capaces de efectuar un desplazamiento rápido del residuo organofosforado del sitio activo, restaurando la actividad enzimática, [Worek, Thiermann, & Wille, 2016; Worek & Thiermann, 2013; Tang, et al., 2019; Yatsimirsky, Gómez-Tagle, Escalante-Tovar, & Ruiz-Ramírez, 1998].

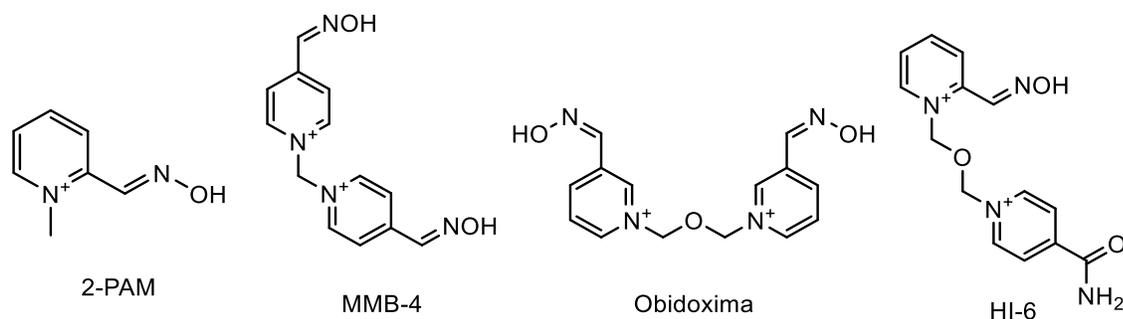


Fig. 1.4. Oximas utilizadas como antidotos para intoxicación por compuestos organofosforados.

Desde un punto de vista químico, las oximas son α -nucleófilos, es decir, son nucleófilos que cuya reactividad es mayor a la esperada por su basicidad. Aunque ésta es un parámetro termodinámico, se puede relacionar con el parámetro cinético de reactividad que a su vez recae, en aspectos termodinámicos del complejo activado en el estado de transición. Por esta razón pueden utilizarse eficazmente para la descomposición nucleofílica de neurotoxinas, antidotos para neurotóxicos y, en general, degradación de compuestos organofosforados [Um, Lee, Bae, & Buncel, 2005].

En nuestro grupo de trabajo se han realizado algunos estudios de la reactividad de nucleófilos coordinados con cationes metálicos, en particular empleando ligantes oximatos, buscando imitar las características de mecanismo catalíticos de varias metaloenzimas hidrolíticas para aplicarlo en el desarrollo de catalizadores similares a enzimas hidrolíticas, [Yatsimirsky, et al., 1998]. El mecanismo general de las enzimas hidrolíticas involucra el ataque nucleofílico hacia el sustrato por parte de un nucleófilo R-OH o R-SH coordinado, producido por la desprotonación del alcohol o de agua coordinada a pH cercano a la neutralidad, lo cual es complicado considerando que el pK_a de un alcohol es del orden de 18 y el del agua mayor a 15. El mecanismo de los complejos metal-oximato estudiados se da en 3 pasos: el primero consiste en la desprotonación del grupo oxima, para generar el nucleófilo, el segundo es el ataque nucleofílico al grupo carbonilo y la ruptura del éster con la liberación del grupo saliente del sustrato y tercero la hidrólisis del nucleófilo acilado/fosforilado con la participación de un OH⁻ o molécula de H₂O externa, que permite la regeneración del nucleófilo y cerrar el ciclo catalítico, como se muestra en la Fig. 1.5. Adicionalmente se ha buscado y logrado que el catalizador esterolítico sea de fácil síntesis y bajo costo, que se forme *in situ* y que opere en forma catalítica en medio acuoso a 25°C.

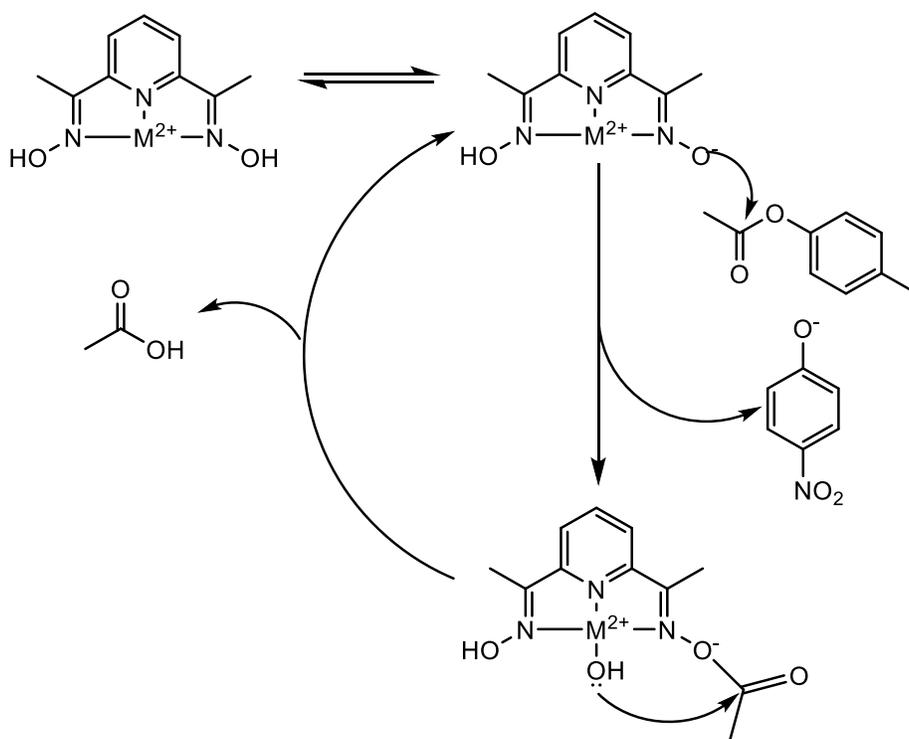


Fig. 1.5 Esquema del mecanismo catalítico para la ruptura del 4-NFA por medio de complejos-oximato [Yatsimirsky, et al., 1998].

Desde el punto de vista de la fisicoquímica orgánica se han realizado estudios cinéticos que demuestran que la reactividad esterolítica de los α -nucleófilos se modifica conforme se incrementa la fracción de un disolvente orgánico aprótico en mezclas acuosas en reacciones de ruptura del 4-NFA: a porcentajes de disolvente entre 10 y 50%, la reactividad de los α -nucleófilos decrece, pero al ir a medios con 60-90% de disolvente aprótico, la reactividad aumenta rápidamente; se sabe también que el efecto α depende fuertemente del centro electrofílico de los ésteres [Um, et al., 2005]; sin embargo, no se sabe nada de cómo cambia la reactividad de los α -nucleófilos coordinados a cationes metálicos. Algo que generalmente no se considera y en este caso es relevante, ya que el sitio activo de las enzimas está inmerso en un globo proteico que tiene un bajo contenido de agua, lo cual, causa que tanto el nucleófilo como el sustrato estén menos solvatados.

Así, en este trabajo se busca, además de imitar el sitio activo de una metaloenzima mediante la formación de los complejos metal-oximato, estudiar y entender cómo se modifica la reactividad de estos complejos en mezclas acuosas de acetonitrilo, como ejemplo de un disolvente orgánico aprótico completamente miscible con agua.

2. Antecedentes

Existe una gran variedad de especies nucleofílicas (bases, aminas, oxianiones, etc.), que pueden catalizar la ruptura de diferentes ésteres tipo: carboxílicos, fosfatos y sulfatos.

En la década de los 80s la hidrólisis de ésteres carboxílicos se explicaba por medio de dos mecanismos [Neuvonen, 1987] que son:

- ❖ Catálisis base general: La base ayuda al agua en el ataque al carbonilo.
- ❖ Catálisis nucleofílica: La base ataca al éster directamente formando un intermediario inestable que se hidroliza rápidamente.

Actualmente, se sabe que las reacciones de hidrólisis de diferentes ésteres se dan por medio de reacciones de sustitución nucleofílica bimolecular (S_N2), este tipo de reacciones son comunes en química orgánica, procesos biológicos, bioquímicos, etc.

Al respecto también se sabe cómo se genera el estado de transición, Fig. 2.1. esquema general en la que el átomo central o especie electrofílica se representa con A, el grupo saliente normalmente es una especie muy electronegativa X, y el nucleófilo que se representa por :Nu [Hamlin, Swart, & Bickelhaupt, 2018].

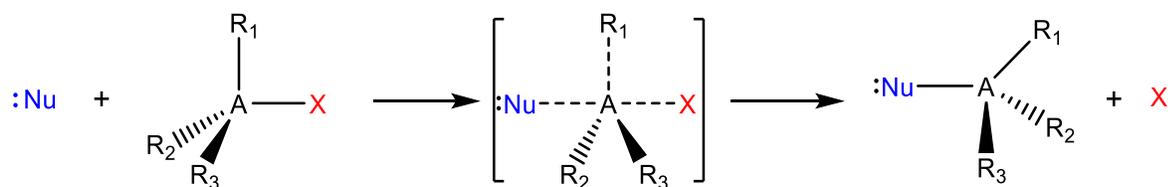


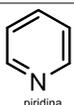
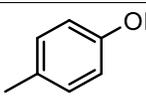
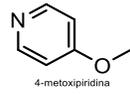
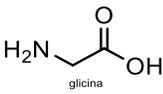
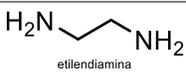
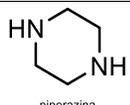
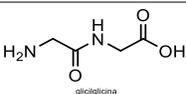
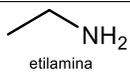
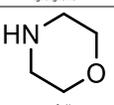
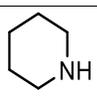
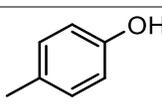
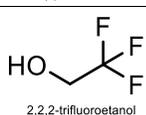
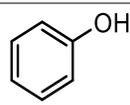
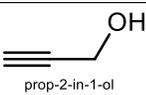
Fig. 2.1. Esquema general de una reacción de sustitución nucleofílica bimolecular (S_N2).

Las reacciones de S_N2 dependen fuertemente del nucleófilo, por lo que en el siguiente apartado se mencionaran los tipos de nucleófilos y la reactividad que presentan en reacciones de hidrólisis de ésteres utilizando como modelo el 4-NFA.

En 1933 Ingold, propuso la definición de nucleófilo, como “especie que dona o comparte electrones con un núcleo atómico diferente”. Mientras que Swain & Scott propusieron que un nucleófilo: es la especie reactiva que comparte un par de electrones para formar un nuevo enlace entre sí y otro átomo [Bunnett, 1962].

Investigadores como Kirsch, Jencks & Gilchrist, se dedicaron a estudiar reacciones de sustitución nucleofílica hacia el 4-NFA, utilizando nucleófilos como: alcoholes, aminas, piridinas, imidazoles, etc. En la tabla 2.1 se enlistan algunos resultados de estos nucleófilos, [Jencks & Gilchrist, 1962; Kirsch & Jencks, 1963].

Tabla 2.1. Valores de pK_a y constantes de rapidez de segundo orden (k_{nuc}) de diferentes nucleófilos normales [Jencks & Gilchrist, 1968].

Nucleófilo	pK_a	$k_{nuc}, M^{-1}s^{-1}$	Nucleófilo	pK_a	$k_{nuc}, M^{-1}s^{-1}$
 piridina	5.52	0.0028	 <i>p</i> -cresol	10.07	1.9
 4-metoxipiridina	6.33	0.027	 glicina	9.76	2.6
 etilendiamina	7.42 10.18	0.093 8.9	 piperazina	10.10	7.2
 glicilglicina	8.25	0.17	 etilamina	10.97	16
 morfolino	8.87	0.63	 piperidina	11.42	48
 <i>p</i> -cresol	9.28	0.68	 2,2,2-trifluoroetanol	12.37	64
 fenol	9.86	0.97	 prop-2-in-1-ol	13.55	180

En la Fig. 2.2 se muestra la gráfica tipo Brønsted de los nucleófilos mencionados en la tabla 2.1.

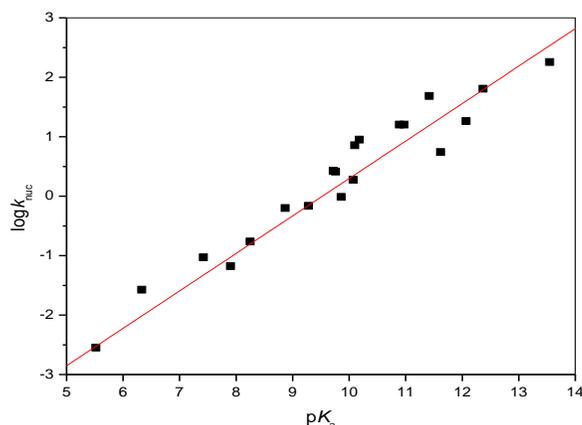


Fig. 2.2. Gráfica tipo Brønsted de nucleófilos normales.

La gráfica de tipo Brønsted se obtiene con la siguiente ecuación:

$$\log k_{\text{nu}} = \beta_{\text{nuc}} \cdot \text{p}K_{\text{a}} + c \quad \text{Ecuación de Brønsted.}$$

k_{nuc} : Constante de rapidez de segundo orden del nucleófilo.

$\text{p}K_{\text{a}}$: Constante de disociación ácida del nucleófilo.

β_{nuc} : Parámetro de Brønsted indicador de transferencia de electrones en reacciones de sustitución nucleofílica [Salah, Goumont & Boubaker, 2017].

De manera cuantitativa se observa una tendencia lineal en esta gráfica de Brønsted, demostrando que la basicidad de los nucleófilos correlaciona directamente con su nucleofilia. Sin embargo, esta dependencia solo se observa para los llamados "nucleófilos normales" [Jencks & Gilchrist, 1968].

Sin embargo, un gran número de estudios experimentales demostraron que hay varios tipos de nucleófilos, (ión nitrito, ión hipoclorito, hidrazinas, etc.), que presentaban mayor reactividad comparada a la esperada con respecto a su basicidad o polarizabilidad este hecho fue llamado "efecto α " [Edwards & Pearson, 1961], que explica la mejora en la reactividad de algunos nucleófilos hacia una variedad de centros electrofílicos, los cuales tienen uno o más pares de electrones no enlazados en el átomo adyacente al centro nucleofílico y por lo tanto pueden proporcionar densidad electrónica durante el ataque nucleofílico [Nigst, Antipova, & Mayr, 2012]. Esta definición solo se toma en cuenta la estructura de los llamados α -nucleofilos [Um, Moon, Shin, & Dust, 2018].

Los α -nucleófilos más conocidos y estudiados son: peróxidos, hidrazinas, hidroxibenzotriazoles, ácidos hidroxámicos, oximas, hidroxilaminas, etc. En la Fig. 2.3 se ilustran algunas estructuras de estos nucleófilos [Shin, Yeo, Kim, & Um, 2013].

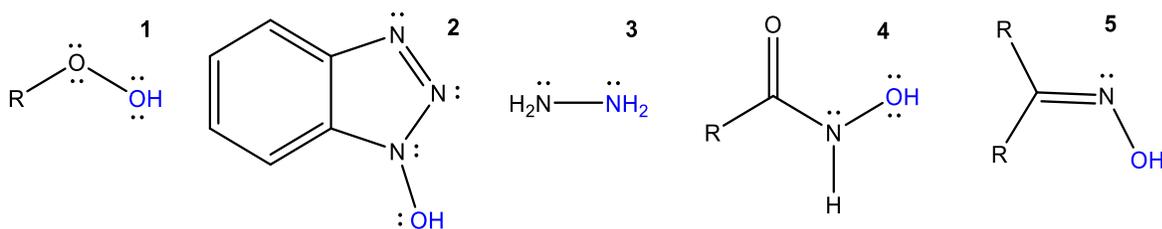


Fig.

2.3. Ejemplos de α -nucleófilos. (1) peróxidos, (2) hidroxibenzotriazoles, (3) hidrazinas, (4) ácidos hidroxámicos, y (5) oximas.

Actualmente, se sabe que en el efecto α están involucrados una serie de factores y entre las principales están:

- ❖ La desestabilización del estado basal; que implica la repulsión electrostática del par de electrones libres adyacentes al centro nucleofílico [Um, Lee, & Buncel, 2001].
- ❖ La estabilización del estado de transición, que se refiere a la disminución relativa en la energía activación del complejo activado en el estado de transición (E_a) en reacciones de α -nucleófilos [Tarkka & Buncel, 1995].
- ❖ La hibridación del centro electrofílico, ya que el efecto α aumenta y se incrementa el carácter s del centro electrofílico ($sp^3 < sp^2 < sp$), aunque existen algunas excepciones [Um I.-H. , Lee, Bae, & Buncel, 2005].
- ❖ El efecto del disolvente en el medio de reacción, dado que en reacciones de sustitución nucleofílica surge una solvatación diferente de los α -nucleófilos [Ghosh, Satnami, Sinha, & Vaidya, 2005].

Por otra parte, los valores de $\beta_{nuc} \geq 1$ en la correlación de Brønsted se atribuyen a la formación del enlace en el estado de transición, el cual, se asocia con un gran efecto α . Edwards enfatiza que la magnitud β_{nuc} puede solamente ser relacionada a el efecto α cuando los sustratos son similares. Mientras que Buncel y Um concluyen que la magnitud del efecto α depende fuertemente de la naturaleza del disolvente en el sistema [Nigst, et al., 2012].

La definición más aceptada recientemente del efecto α es la desviación positiva que exhiben los α -nucleófilos en la gráfica de tipo Brønsted, Fig. 2.4, donde se observa la alta reactividad de un α -nucleófilo comparada con nucleófilos normales [Zoltewicz & Deady, 1972]. Estas desviaciones son reconocidas como indicadores importantes de características mecanísticas que intervienen en reacciones de acilación, fosforilación, sulfurilación, así como transferencia de protones [Buncel, Cannes, Chatrouse, & Terrier, 2002].

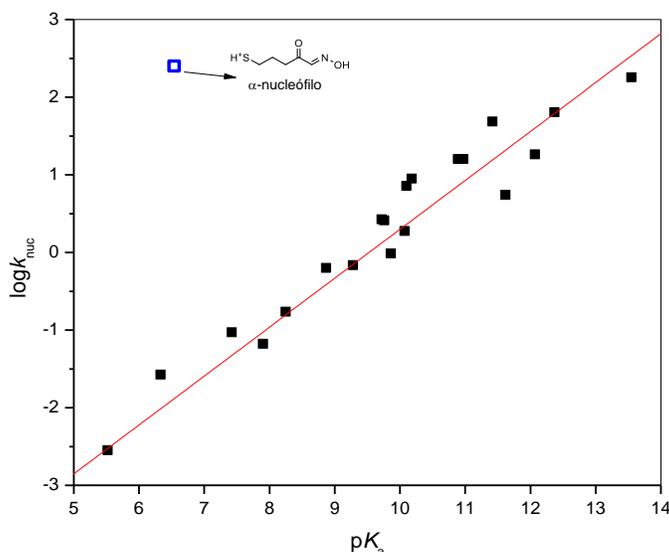
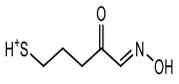
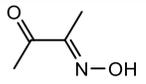
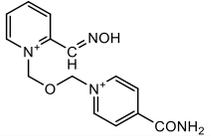
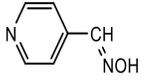
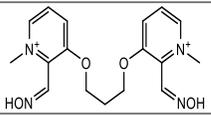
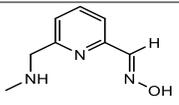
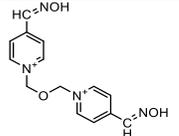
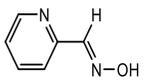
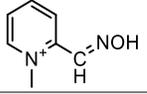
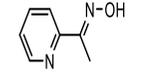
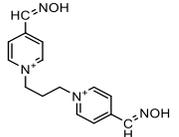
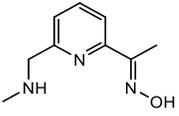
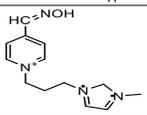
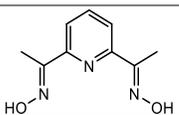
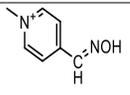
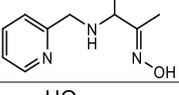
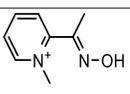
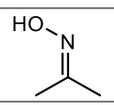


Fig. 2.4. Gráfica de Brønsted de (•) nucleófilos normales y (□) un α -nucleófilo.

Las oximas que son utilizadas como reactivadores de la acetilcolinesterasa, son capaces de hidrolizar varios ésteres carboxílicos y fosfatos. Los aniones oximato exhiben una mejora en la rapidez de reacciones con diferentes ésteres, [Han, Balakrishnan, vanLoon, & Buncel, 2006]. En la tabla 2.2. se enlistan varias oximas estudiadas previamente en reacciones de hidrólisis hacia el 4-NFA, que es un éster modelo que permite comparar su reactividad.

Tabla 2.2 Valores de pK_a y constantes de segundo orden de oximólisis de varias oximas hacia el 4-NFA, [Terrier, et al., 1991], [Mancin, Tecilla & Tonellato, 2000], [Yatsimirsky, et al., 1998].

Oxima	pK_a	k_{OxI} $M^{-1} s^{-1}$	Oxima	pK_a	k_{OxI} $M^{-1} s^{-1}$
	6.54	2.40	 BDMO	9.42	65.5
	7.13	11.8		9.65	65.0
	7.33 9.02	34.5 63.3		9.90	71.0
	7.46 8.17	22.3 39.6		10.00	45.0
	7.70	21.0		10.80	22.0
	7.79 8.55	32.1 48.0		11.10	45.0
	8.05	35.0		11.30	130.0
	8.27	61.0		11.74	60.0
	9.00	55.0		12.40	61.7

Como se observa la reactividad de aniones oximatos se caracteriza por la no linealidad que presenta en la gráfica logarítmica de tipo Brønsted de las constantes de segundo orden de oximólisis vs pK_a de oxima; hay un efecto de nivelación cuando los valores de pK_a son aproximadamente >8 para el sustrato de 4-NFA [Gómez-Tagle, Lugo-González, & Yatsimirsky, 2013]. Este fenómeno se ejemplifica en la Fig. 2.5, utilizando los valores de la tabla 2.2.

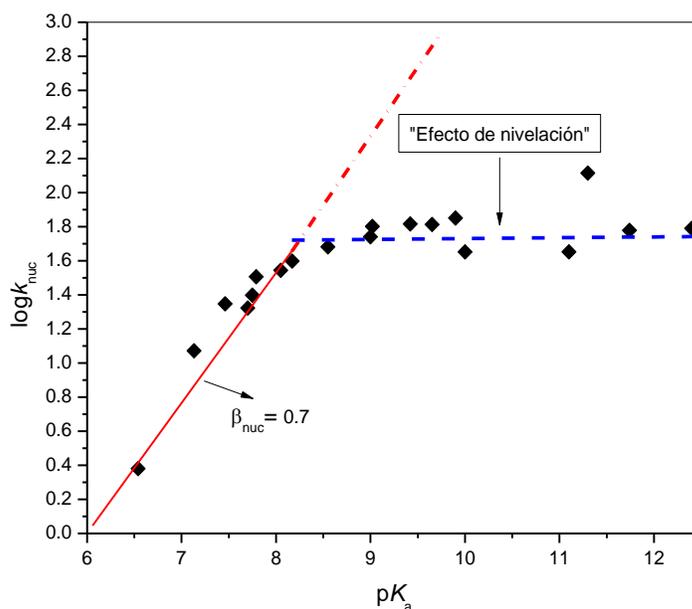


Fig. 2.5 Gráfica de Brønsted de diferentes oximas en reacciones hacia el 4-NFA.

Las primeras explicaciones razonables que surgieron para el *efecto de nivelación* observado en la reactividad de oximatos explicaban por medio de modelos propuestos por Jencks y Bernasconi para la tendencia de curvatura observada en gráficos de tipo Brønsted (Fig. 2.5). Ellos propusieron que el efecto de saturación o nivelación resulta de una especial necesidad por la desolvatación parcial de los oximatos previa al ataque nucleofílico, esto es menos importante para bases débiles comparadas con las bases fuertes. La falta de sincronización entre dos eventos concurrentes en un proceso tiene que ser referido como un desbalance, actualmente esta explicación se conoce como *desbalance solvatacional* o *Solvational imbalance*, pero únicamente se ha estudiado con nucleófilos orgánicos [Buncel, et al., 2002].

Por otro lado, Suh y Breslow fueron los primeros en estudiar la reactividad hacia el 4-NFA utilizando oximas (2-piridíndoxima y 2-acetilpiridíndoxima) coordinadas a los cationes metálicos Zn(II) y Cu(II). En sus estudios reportaron que la catálisis en la hidrólisis del 4-NFA es poco eficiente en presencia de Cu(II), Ni(II) o Zn(II), porque la reactividad de los complejos es menor a la de los aniones oximatos [Suh, 1992].

Posteriormente nuestro grupo de trabajo comprobó que este mecanismo es válido para distintos complejos oximatos, como la 2,6-diacetilpiridina dioxima (H_2dap), y recientemente el ligante HOxAPy en presencia de diferentes cationes metálicos.

En la Fig. 2.6 se ilustra el ciclo catalítico de hidrólisis del 4-NFA del complejo oximato de la HOxAPy, el cual consiste en la desprotonación del grupo oxima para generar al anión oximato. En seguida, el anión oximato ataca al centro electrofílico en este caso el grupo carbonilo del éster para formar al intermediario que posteriormente es hidrolizado por agua o iones OH^- liberando un equivalente de acetato y generando nuevamente el ciclo catalítico, [Lugo-González, Gómez-Tagle, Huang, & del Campo, 2017; Yatsimirsky, et al., 1998].

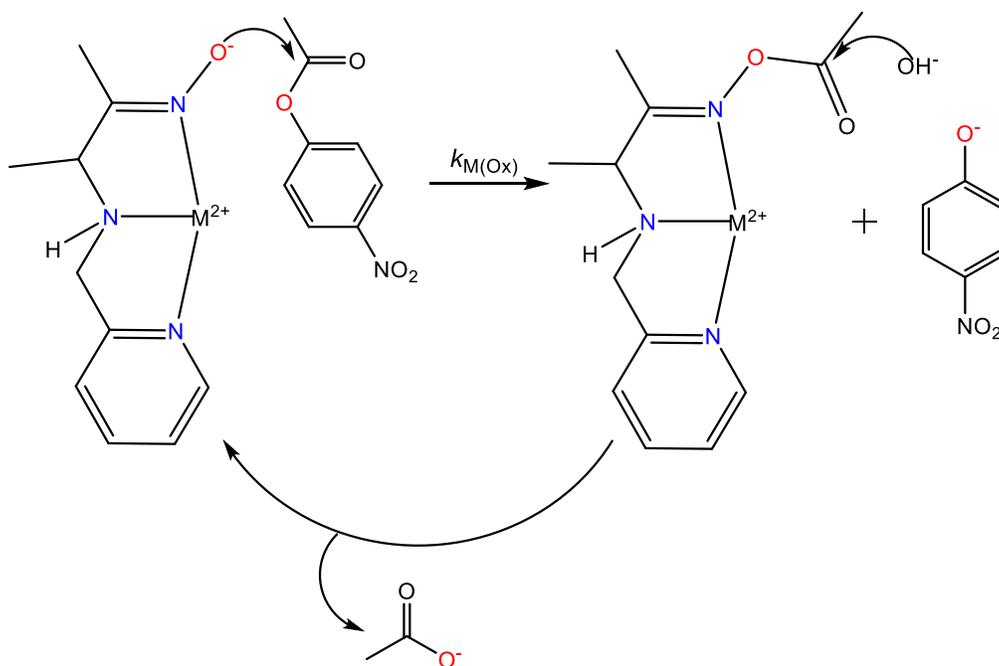


Fig. 2.6. Reacción de hidrólisis del 4-NFA con complejos oximatos.

Otro efecto de la coordinación de oximas a metales de transición, es el incremento drástico del carácter ácido, el cual favorece la formación de aniones oximato a menores valores de pH, [Kukushkin, Tudela, & Pombeiro, 1996]. Por otro lado, al disminuir el pK_a de la oxima ésta puede perder su alta nucleofilia y dejar de ser un buen nucleófilo ya que el par de electrones adyacentes ya no puede aportar densidad electrónica en el estado de transición. Esto depende fuertemente de la acidez de Lewis del catión metálico al que se encuentre coordinado, y por ello los complejos metal-oximato de $Cu(II)$ tienen muy pequeña reactividad. Anteriormente se había concluido que el papel del catión metálico era únicamente generar mayor

fracción del oximato a pH cercano a la neutralidad, sin embargo hay casos, como los complejos metal-oximato del ligante HOxAPy con Zn(II) y Cd(II), los cuales presentan una reactividad mayor, y por lo tanto el catión metálico debe tener otras funciones.

Algunos aspectos importantes de la reactividad de oximas coordinadas [Gómez-Tagle, et al., 2013;Lugo-González, et al, 2017]:

- ❖ Los cationes metálicos catalizan la hidrólisis de O-Acyl convirtiendo oximas de reactivos estequiométricos a catalizadores.
- ❖ La reactividad del complejo oximato en algunas ocasiones puede ser mayor incluso en comparación al α -nucleófilo ya desprotonado (anión oximato).
- ❖ Se logra una concentración mucho mayor del nucleófilo oximato desprotonado a valores cercanos a la neutralidad al coordinarse a cationes metálicos, lo cual es particularmente importante para oximas muy básicas.

En particular la oxima HOxAPy al formar compuestos de coordinación con Cd(II) y Zn(II), muestran una reactividad nucleofílica hacia el 4-NFA que sobrepasa por más de tres órdenes de magnitud la de los oximatos libres, este hecho se observa en la Fig. 2.7 en una gráfica de Brønsted, [Lugo-González, et al., 2017]. Como esta reactividad no tiene precedente en la literatura, se ha planteado que el catión metálico, además de disminuir el pK_a de la oxima, también contribuye a remover el *desbalance solvatacional* alrededor del sitio nucleofílico.

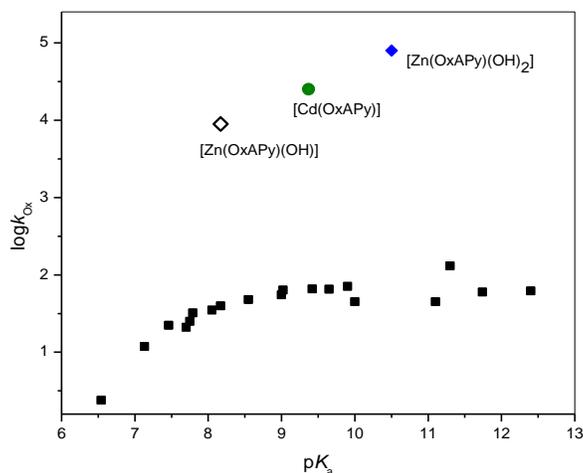


Fig. 2.7 Gráfica de Brønsted con (•) iones oximatos y de los complejos metálicos formados con el ligante HOxAPy con Cd(II) o Zn(II), donde se observa la remoción del *desbalance solvatacional*.

Por otra parte, el efecto del *desbalance solvatacional* puede ser removido utilizando medios de reacción menos solvatados alrededor de los α -nucleófilos (ácidos hidroxámicos y oximas), esto se ha comprobado utilizando mezclas de disolventes como DMSO y MeCN.

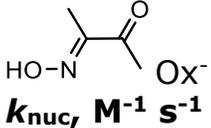
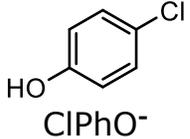
El efecto del disolvente en el efecto α es un tema controversial, debido a que se realizaron estudios de reacciones en fase gas del hidroperóxido (HOO^-) y el anión hidróxido (OH^-) con metil-formiato donde se concluye que el efecto α no existe en procesos de fase gaseosa [Buncel & Um, 1986]. En contraste estudios computacionales muestran que los α -nucleófilos exhiben una baja energía de activación en comparación de los nucleófilos normales, (HOO^- vs MeO^- o EtO^-) en reacciones en gas fase con metil formiato, indicando que los α -nucleófilos son más reactivos que los nucleófilos normales [Kim, Min & Um, 2013; Um, Moon, Shin, & Dust, 2018; Zhao, et al., 2015] incluso en fase gas.

Por otro lado, investigadores como Buncel y Terrier, consideraban que la escasa capacidad de los disolventes dipolares apróticos para el enlace de hidrógeno hacia razonable anticipar que el estado basal de un oxianión será más propenso al ataque nucleofílico en medios con una gran cantidad de DMSO, es decir, evitando la necesidad de una costosa energía de desolvatación antes de la formación del enlace, sería menor el efecto de desincronización.

Los resultados obtenidos evidencian el desacoplamiento de la desolvatación de nucleófilos y la formación de enlaces para la transferencia de acilos involucrando oximatos en disolución acuosa, pero no en medios de reacción ricos en DMSO: el efecto α desaparece para nucleófilos muy básicos en disolución acuosa y se restaura en medios con altos porcentajes de DMSO o MeCN [Buncel, et al., 2002].

Posteriormente, los investigadores Buncel y Um desde el año 1986 se han dedicado a estudiar ampliamente el efecto del disolvente en el efecto α , cambiando la composición de DMSO o MeCN para reacciones del 4-NFA con un oximato Ox^- (BDMO) que es un α -nucleófilo y el 4-clofenoxido, que es un nucleófilo normal con valores de $\text{p}K_{\text{a}}$ s similares 9.44 y 9.38 respectivamente [Um, Park, & Buncel, 2000]. En la tabla 2.3 se muestran algunos valores obtenidos de las investigaciones de Um y Buncel: [Um & Buncel, 2000]; [Um et al, 2001].

Tabla 2.3 Constantes de segundo orden de la 2,3-butanodiona monoxima y 4-clorofenol hacia el 4-NFA en mezclas de DMSO-H₂O y MeCN-H₂O.

%mol	 $k_{nuc}, M^{-1} s^{-1}$	 $k_{nuc}, M^{-1} s^{-1}$	Efecto α k_{Ox-}/k_{ClPhO-}
H₂O	65.8	0.685	96
DMSO			
10	77.8	0.653	119
20	130	0.760	183
30	309	1.36	227
40	740	2.86	264
50	1680	5.90	285
60	3850	13.6	283
70	8200	34.7	236
80	17200	94.8	181
90	40500	334	121
MeCN			
10	37.2	0.385	96.6
20	29.5	0.255	116
30	29.2	0.197	148
40	35.6	0.198	180
50	45.6	0.217	210
60	67.5	0.266	254
70	122	0.391	312
80	263	0.712	369
90	1070	2.12	505

De estos valores se observa que las constantes de segundo orden k_{nuc} para la hidrólisis del 4-NFA de un oximato (α -nucleófilo) en dos diferentes disolventes, DMSO y MeCN, presentan tendencias diferentes. En el DMSO se observa que conforme incrementa la fracción molar del disolvente se incrementan las constantes de segundo orden, mientras que en el MeCN se observa que la adición del disolvente hasta un 40% genera la disminución de las constantes de segundo orden y por arriba de este porcentaje incrementa la reactividad nuevamente, en la Fig. 2.8 se presentan de manera gráfica estas tendencias.

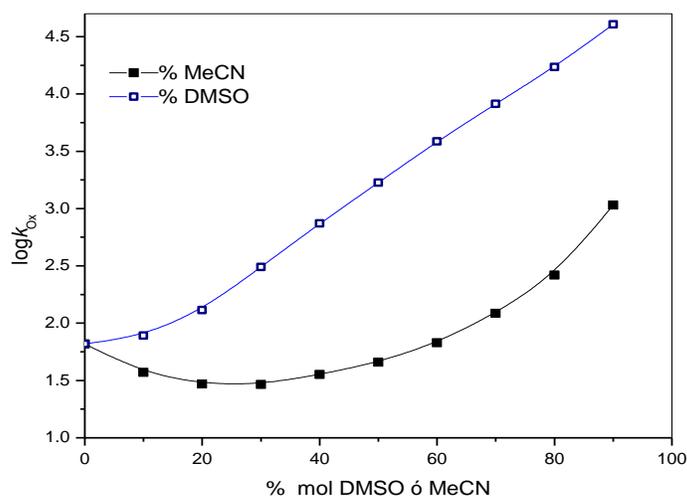


Fig. 2.8. Gráfica $\log k_{ox}$ vs %mol DMSO o MeCN para reacciones del 4-NFA con la oxima (BDMO), [Um et al. 2001; Um et al., 2006].

Es bien sabido que el extremo negativo del dipolo en los disolventes apróticos dipolares como MeCN y DMSO está expuesto, mientras que el positivo está dentro de la molécula. Dado que los aniones serían fuertemente desestabilizados en tales disolventes apróticos dipolares, uno podría esperar una aceleración significativa de la rapidez para las reacciones aniónicas de nucleófilos tras la adición de MeCN o DMSO al medio de reacción. Sin embargo, el DMSO es altamente polarizable mientras que el MeCN no, por lo tanto, el DMSO puede estabilizar fuertemente aniones polarizables o estados de transición aniónicos, los cuales son altamente polarizables, dependiendo de la polarizabilidad e interacciones de dispersión de carga, mientras que el MeCN no presenta fuertes interacciones. La diferencia en las propiedades de los disolventes MeCN y DMSO son responsables del comportamiento de la rapidez de reacción. Otra diferencia que contribuye es la formación de enlaces de hidrógeno.

En la Fig. 2.9, se presenta de manera gráfica el efecto del disolvente en el efecto α (k_{Ox-}/k_{ClPhO-}). Con el DMSO un comportamiento de campana donde la máxima reactividad se da en 50% mol DMSO, y a porcentajes mayores el efecto α decae. Por otra parte, mientras mayor sea el porcentaje de MeCN en el medio de reacción, mayor es el efecto α . Por lo tanto, el efecto del disolvente también ayuda a remover el *desbalance solvatacional* de los α -nucleófilos, aunque depende de la naturaleza del disolvente.

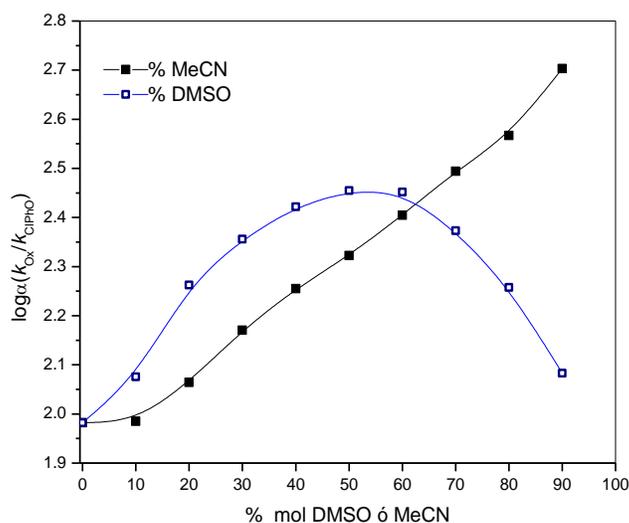


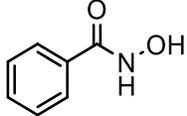
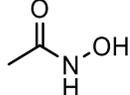
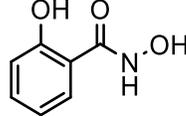
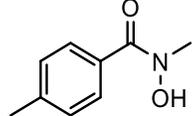
Fig. 2.9 Gráfica del efecto del disolvente en el efecto α en mezclas acuosas de disolventes (□) DMSO y (•) MeCN para reacciones hacia el 4-NFA [Um et al. 2001; Um et al., 2006].

La mejora de la reactividad en el efecto α comparada con un nucleófilo normal, resulta de la desestabilización del estado basal y la estabilización del estado de transición del efecto α en el sistema. El estado basal del Ox^- y $CIPHO^-$ pueden también desestabilizarse bajo la adición de MeCN en el medio, consecuencia de la repulsión entre el dipolo negativo del MeCN y de las especies aniónicas (nucleófilo desprotonado).

Estas tendencias del efecto del disolvente en la rapidez de reacción y en el efecto α en mezclas de disolventes del DMSO y MeCN se cumplen para diferentes sustratos como el 4-nitrofenil benzoato, [Um, et al.,2006], *O*-4-nitrofenil tiobenzoatos, 4-nitrofenil bencenesulfonato y 4-nitrofenil difenilfosfato, etc. La diferencia es la magnitud de la rapidez de reacción o del efecto α . [Kim et al., 2013; Um, Hwang, & Buncl, 2006].

Otras contribuciones que se han realizado, es el estudio del efecto del disolvente en α -nucleófilos (ácidos hidroxámicos) para reacciones del 4-NFA, utilizando dos disolventes diferentes DMF y 1,4-dioxano, estos resultados se presentan en la tabla 2.4; sin embargo, para fines prácticos sólo se presentará el gráfico del efecto α para el ión *N*-metil 4-metoxi benzohidroxamato HA^- (Fig. 2.10), donde se observa la misma tendencia en DMSO y MeCN, mencionado anteriormente.

Tabla 2.4. Constantes de segundo orden hacia el 4-NFA de ácidos hidroxámicos en mezclas de disolventes (MeCN, DMSO, DMF, 1,4-dioxano) [Ghosh, et al., 2005] [Shrivastava & Ghosh, 2008]:

%v/v	 $k_{nuc}, M^{-1} s^{-1}$	 $k_{nuc}, M^{-1} s^{-1}$	 $k_{nuc}, M^{-1} s^{-1}$	 HA $k_{nuc}, M^{-1} s^{-1}$
H₂O	67.8	8.08	59.0	12.2
MeCN				
10	86.2	42.2	8.69	6.86
20	63.3	37.9	6.37	---
30	49.4	36.8	3.56	11.5
50	45.7	27.6	1.52	21.4
80	138.1	57.5	2.41	24.2 ^{70%}
DMSO				
10	74.9	160.7	170.1	13.8
20	83.3	554.5	189.7	---
30	96.3	910.7	168.8	32.1
50	236.7	3863	178.5	33.1
80	13535	17000	366.6	36.9 ^{70%}
DMF				
10	39.6	112.5	6.30	n.d.
20	41.9	259.3	7.00	n.d.
30	47.4	490.0	7.78	n.d.
50	57.5	2780	11.8	n.d.
80	80.3	13300	43.9	n.d.
1,4-dioxano				
10	128.3	51.9	7.72	n.d.
20	307.3	74.1	7.55	n.d.
30	696.4	81.57	2.94	n.d.
50	1176	112.1	2.73	n.d.
80	89860	360.7	9.92	n.d.

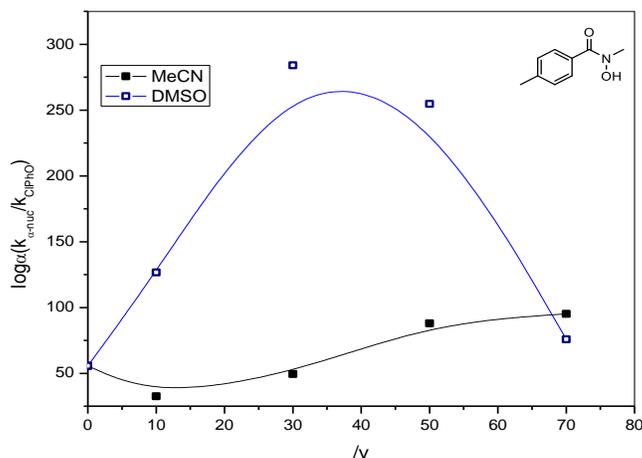


Fig. 2.10 Gráfica del efecto del disolvente en el efecto α en mezclas acuosas de disolventes (□) DMSO y (•) MeCN para reacciones hacia el 4-NFA, [Shrivastava & Ghosh, 2008].

Por lo tanto, los ácidos hidroxámicos también presentan el mismo comportamiento en mezclas de MeCN-H₂O y DMSO-H₂O, en la rapidez de reacción y en el efecto α .

Sin embargo, hasta la fecha no hay estudios reportados para α -nucleófilos coordinados a cationes metálicos en medios no acuosos o en mezclas de disolventes apróticos. Por lo tanto, en este trabajo se busca observar si los complejos metálicos de la HOxAPy con Cd(II) o Zn(II) presentan el mismo comportamiento que un α -nucleófilo en medios acuosos con diferentes proporciones de un disolvente aprótico y determinar cómo se modifica la reactividad esterolítica de estos complejos metálicos que alteran la basicidad y solvatación del medio. Se espera que las interacciones del nucleófilo con el disolvente faciliten el ataque nucleofílico hacia el sustrato 4-NFA. Si el catión metálico modifica la solvatación del nucleófilo, removiendo el *desbalance solvatacional* presente en agua, este efecto se debería reflejar en un cambio en la rapidez de reacción.

3. Hipótesis

En mezclas acuosas de acetonitrilo se esperará que:

- ❖ El pK_a del ligante oxima HOxAPy aumentará al incrementarse el contenido de acetonitrilo en el disolvente.
- ❖ La reactividad del anión oximato de HOxAPy será mayor que la observada en disolución acuosa al incrementarse el contenido de acetonitrilo en el medio.
- ❖ Se modificarán las constantes de asociación entre los cationes metálicos y el ligante, formando especies diferentes de complejos metal-oximato que podrían ser catiónicos, neutros o aniónicos.
- ❖ Las constantes de velocidad del anión oximato y de las especies posiblemente formadas $[ML]^+$, $[ML(OH)]$, $[ML(OH)_2]$ serán modificadas dependiendo de la cantidad de acetonitrilo en la mezcla.

4. Objetivos

4.1 Objetivo general:

- ❖ Cuantificar el efecto del catión metálico en la basicidad y en la solvatación de las especies activas, mediante el estudio de la reactividad de la oxima HOxAPy, así como la estabilidad y reactividad de sus complejos metálicos con Zn(II) y Cd(II), hacia el 4-nitrofenil acetato (4-NFA), en mezclas acuosas con acetonitrilo como disolvente orgánico aprótico.

4.2 Objetivos particulares:

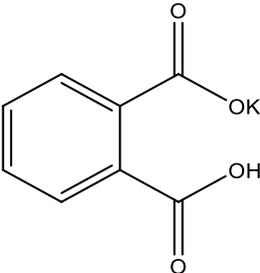
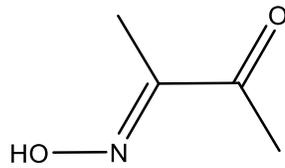
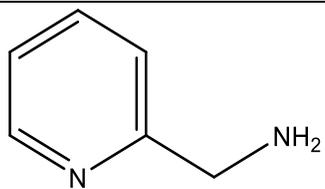
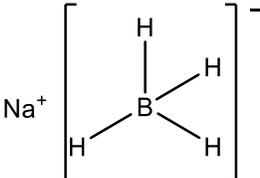
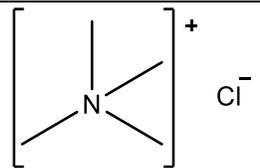
- ❖ Determinar la reactividad de HOxAPy, hacia el sustrato 4-NFA en las mezclas 30 y 50% MeCN-H₂O, y verificar si en estos medios se comporta como α -nucleófilo.
- ❖ Determinar las constantes de disociación ácida del α -nucleófilo HOxAPy en mezclas 30 y 50% MeCN-H₂O.
- ❖ Determinar las constantes de formación y acidez de los complejos metal-oximato de la HOxAPy con los cationes metálicos Cd(II) y Zn(II) en las mezclas 30 y 50% MeCN-H₂O.
- ❖ Determinar la reactividad de los complejos metal-oximato de la HOxAPy hacia el éster 4-NFA con los cationes Cd(II) y Zn(II) en las mezclas 30 y 50% MeCN-H₂O.
- ❖ Determinar la reactividad individual de las especies metal-oximato presentes en las mezclas 30 y 50% MeCN-H₂O.
- ❖ Analizar el efecto del disolvente aprótico en las composiciones con 30 y 50% de acetonitrilo para el oximato libre y el oximato coordinado los cationes Cd(II) y Zn(II).

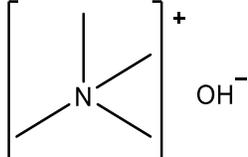
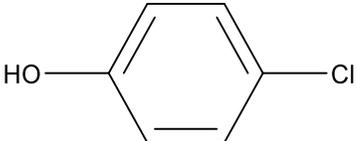
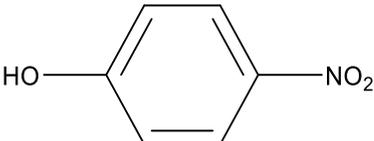
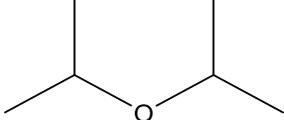
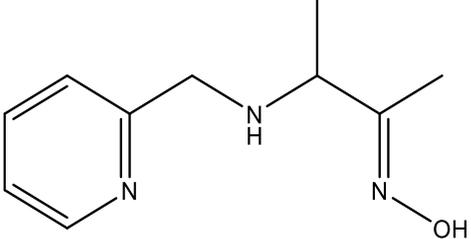
5. Metodología

5.1 Reactivos y disolventes

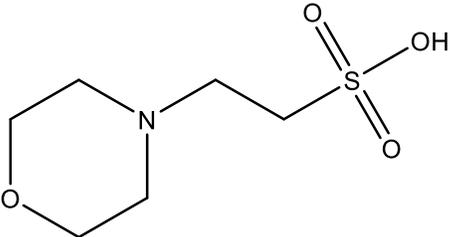
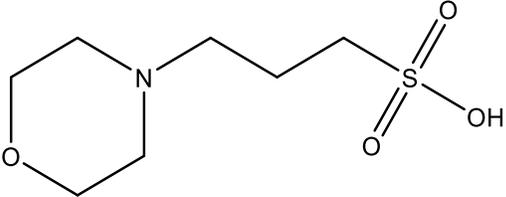
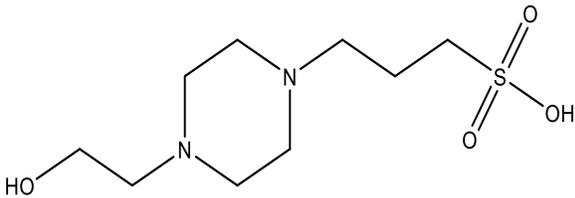
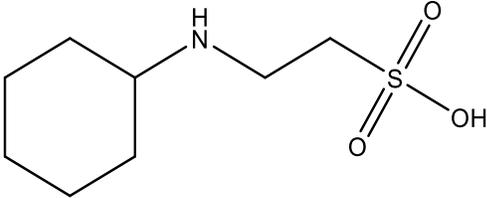
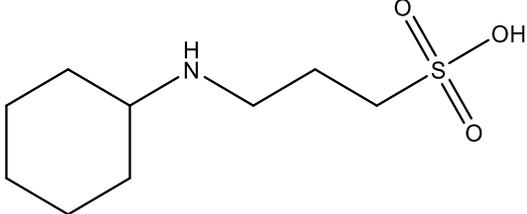
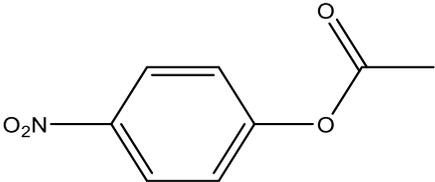
En la tabla 5.1.1 se resumen los reactivos utilizados:

Tabla 5.1.1. Estructuras y características principales de los reactivos utilizados.

Reactivos	
HCl	<p>Ácido Clorhídrico J. T. Baker 37% m/m Masa molar: 36.46 g/mol</p>
NaOH	<p>Hidróxido de sodio J. T. Baker Masa molar: 40.01 g/mol</p>
NaCl	<p>Cloruro de sodio J. T. Baker Masa molar: 58.44 g/mol</p>
	<p>Biftalato de potasio Sigma Aldrich $\geq 99.95\%$ Masa molar: 204.22 g/mol</p>
	<p>2,3-Butanodiona monoxima Sigma Aldrich $\geq 98\%$ Masa molar: 101.1 g/mol</p>
	<p>2-Aminometil-piridina Sigma Aldrich $\geq 99\%$ Masa molar: 108.14 g/mol</p>
	<p>Borohidruro de sodio Sigma Aldrich $\geq 99\%$ Masa molar: 37.83 g/mol</p>
	<p>Cloruro de tetrametilamonio Sigma Aldrich Masa molar: 109.60 g/mol</p>

	<p>Hidróxido de tetrametilamonio Sigma Aldrich ≥97% Masa molar: 181.23 g/mol</p>
	<p>4-clorofenol Sigma Aldrich ≥99% Masa molar: 128.56 g/mol</p>
	<p>4-nitrofenol Sigma Aldrich Grado espectrofotométrico Masa molar: 139.11 g/mol</p>
Disolventes	
<p>$\text{H}_3\text{C}-\text{C}\equiv\text{N}$ MeCN</p>	<p>Acetonitrilo J. T. Baker Grado HPLC ≥99.9% Masa molar: 41.05 g/mol</p>
<p>CH_3OH</p>	<p>Metanol J. T. Baker ≥99% Masa molar: 32.04 g/mol</p>
	<p>Éter isopropílico Sigma Aldrich ≥99% Masa molar: 102.17 g/mol</p>
<p>CH_2Cl_2</p>	<p>Diclorometano J. T. Baker ≥99% Masa molar: 84.93 g/mol</p>
Ligante	
 <p>HOxAPy</p>	<p>3-(hidroximino)-<i>N</i>-(piridin-2ilmetil) butan-2-amina Masa molar: 193.23 g/mol</p>
Sales de cationes metálicos	
<p>$\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$</p>	<p>Perclorato de cadmio(II) hexahidratado Alfa Aesar Masa molar: 419.39 g/mol</p>
<p>$\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$</p>	<p>Perclorato de zinc(II) hexahidratado Sigma Aldrich Masa molar: 372.38 g/mol</p>

Amortiguadores

 <p style="text-align: center;">MES</p>	<p>Ácido 2-(N-morfolino) etanosulfónico Sigma Aldrich ≥99% Masa molar: 195.24 g/mol Intervalo de pH: 5.5-6.7 pK_a (25 °C): 6.1</p>
 <p style="text-align: center;">MOPS</p>	<p>Ácido 3-(N-morfolino) propanosulfónico Sigma Aldrich ≥99.5% Masa molar: 209.26 g/mol Intervalo de pH: 6.5-7.9 pK_a (25 °C): 7.2</p>
 <p style="text-align: center;">EPPS</p>	<p>Ácido 4-(2-Hidroxietil)-1-piperazina propanosulfónico Sigma Aldrich ≥99.5% Masa molar: 252.33 g/mol Intervalo de pH: 7.3-8.7 pK_a (25 °C): 8.0</p>
 <p style="text-align: center;">CHES</p>	<p>Ácido 2-(Ciclohexilamino) etanosulfónico Sigma Aldrich ≥99% Masa molar: 207.29 g/mol Intervalo de pH: 8.6-10 pK_a (25 °C): 9.3</p>
 <p style="text-align: center;">CAPS</p>	<p>Ácido 3-(Ciclohexilamino) propanosulfónico Sigma Aldrich ≥98% Masa molar: 221.32 g/mol Intervalo de pH: 9.7-11.1 pK_a (25 °C): 10.4</p>
Sustrato	
 <p style="text-align: center;">4-NFA</p>	<p>4-Nitrofenil acetato Sigma Aldrich ≥99% Masa molar: 181.15 g/mol</p>

5.2 Equipos

Las mediciones de pH y titulaciones potenciométricas se llevaron a cabo, con un electrodo de vidrio Orión, ROSS™ con potenciómetro Orión Modelo 710A con precisión de ± 0.005 unidades de pH. El potenciómetro fue calibrado a pH 4.00, 7.00 y 10.00 con amortiguadores estándar de referencia con una precisión ± 0.01 a 25 °C (Sigma-Aldrich).

Los estudios cinéticos se realizaron con un equipo UV-vis, Marca Hewlett Packard 8453 con ventana espectral de 190 nm a 1100 nm, resolución 1 nm, precisión de longitud de onda ± 0.5 nm, con arreglo de diodos, transportador de multiceldas y sistema de control de temperatura utilizando un baño de recirculación de agua marca Fischer Scientifics Isotemp 1016 S ± 0.1 °C, y se utilizaron celdas de cuarzo con una longitud de paso óptico de 1 cm con capacidad de 3.5 mL.

Las medidas de volúmenes en celda y titulaciones se realizaron con micropipetas Eppendorf Research o Gilson de volúmenes variables 1-10 μL , 10-100 μL y 100-1000 μL .

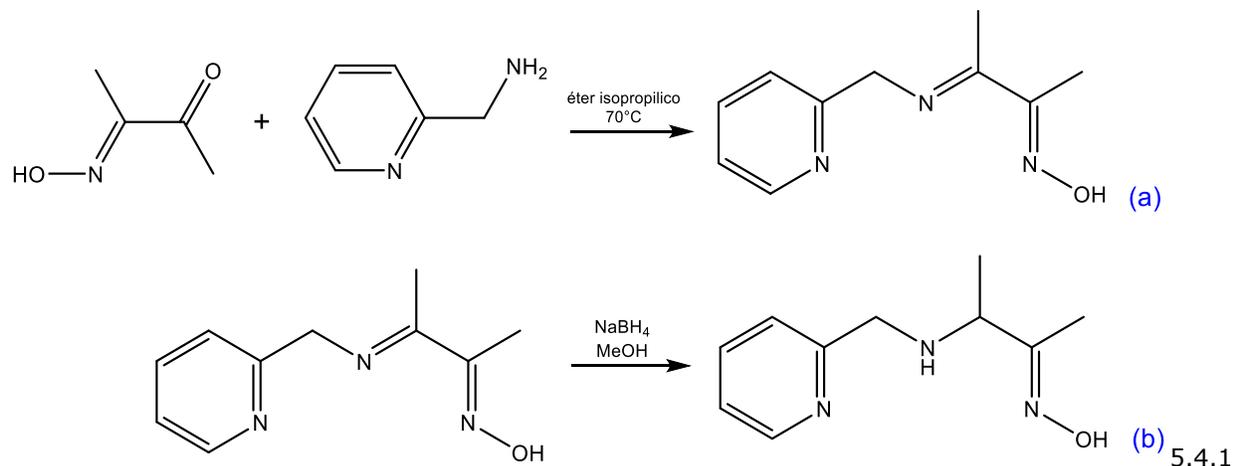
Los espectros de RMN- ^1H se obtuvieron con el espectrómetro Varian Gemini de 300 MHz, de la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria, (USAI), Facultad de Química, UNAM.

5.3 Programas

El análisis de los datos obtenidos de titulaciones potenciométricas y curvas cinéticas se llevaron a cabo mediante ajustes no lineales iterados por el método de mínimos cuadrados en el programa OriginPro 8.5.0. La determinación de constantes de acidez (K_a) y constantes acumulativas de formación (β) para las especies presentes en las disoluciones con ligante o ligante y cationes metálicos, fueron obtenidas con el programa *Hyperquad 2008*. Los diagramas de distribución de especies se calcularon mediante el programa *Hyss 2008* y las correlaciones de la reactividad con las especies presentes se hicieron mediante regresiones lineales múltiples en OriginPro 8.5.0. Los espectros de RMN- ^1H fueron analizados con el programa MestReNova 2009.

5.4 Síntesis del ligante HOxAPy

El ligante 3-(hidroximino)-N-(piridina-2-ilmetil)-butan-2-amina, (HOxAPy) fue sintetizado, de acuerdo con lo reportado previamente en la literatura, [Gómez-Tagle, et al., 2013], mediante la condensación de la 2,3-butanodionamonoxima con 2-aminometil-piridina para dar la imina (a) que posteriormente se reduce con borohidruro de sodio en metanol para dar el producto deseado (b) como se muestra en el esquema 5.4.1



Esquema de síntesis de la HOxAPy: (a) imina producto de la condensación; (b) aminoxima producto de la reducción.

(a) *N*-hidroxi-*N*-(piridin-2-ilmetil)butano-2,3-diimina: Se hicieron reaccionar 1.00 g (9.9 mmol) de 2,3-butanodiona monoxima con 0.95 mL (9.3 mmol) 2-aminometilpiridina en 10.0 mL de éter isopropílico manteniéndolos en reflujo con agitación constante durante 2 h (68-70°C). La imina resultante es un sólido blanco cristalino que se lavó con éter isopropílico frío y se secó al aire, con un rendimiento del 85% (1.50 g, 7.84 mmol). La caracterización de la imina fue satisfactoria. A. E. calculado/(experimental)% C 62.81 (62.60±0.11) H 6.85 (6.56±0.23) N 21.97 (22.02±0.02); FTIR (reflectancia, cm⁻¹) 3145w, 3031w, 2686b, 1637m, 1600m, 1573m, 1482m, 1356s, 1251m, 1129m, 997m, 744s, 678s, 634s. RMN-¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ [multiplicidad, constante de acoplamiento (*J*): 11.56 (s, 1H), 8.51 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 7.90 – 7.70 (m, 1H), 7.55 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.32 – 7.21 (m, 1H), 4.70 (s, 2H), 2.14 (s, 3H), 1.99 (s, 3H).

(b) *3*-(hidroximino)-*N*-(piridina-2-ilmetil)-butan-2-amina: A 1.00 g (5.23 mmol) de la imina (i) se le adicionan lentamente y en pequeñas porciones 0.20 g (5.30 mmol) de borohidruro de sodio previamente disueltos en 10 mL de metanol en un baño de hielo durante 45 min, y se agitó 1 h más permitiendo llegar a temperatura ambiente. Pasado este tiempo se añadió

1.0 mL de H₂O desionizada y se dejó en agitación 45 min para finalmente evaporar el metanol hasta obtener un aceite. El residuo se extrajo 5 veces con diclorometano, se juntaron las fracciones y se evaporó el diclorometano hasta obtener un aceite. De este aceite se obtiene el ligante HOxAPy como un sólido blanco cristalino después de refrigerarlo 12 h, con un rendimiento del 90% (0.91g, 4.71 mmol). La caracterización del ligante HOxAPy fue satisfactoria. A.E. calculado/(experimental)% C 62.15 (61.790±0.07) H 7.82 (7.57±0.02) N 21.74 (21.60±0.01); FTIR (reflectancia, cm⁻¹) 3309w, 2848b, 1597m, 1572w, 1473m, 1438m, 1314m, 1216w, 1122m, 970m, 900m, 781m, 765s, 621m; RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ [multiplicidad, constante de acoplamiento (J)]: 9.99 (s, 1H), 8.54 (d, J = 4.2 Hz, 1H), 7.72 - 7.56 (m, 1H), 7.35 - 7.26 (m, 1H), 7.20 - 7.12 (m, 1H), 3.83 (d, J = 2.1 Hz, 2H), 3.46 (q, J = 6.7 Hz, 1H), 2.31 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 1.87 (s, 4H), 1.25 (d, J = 6.7 Hz, 4H); potenciometría [pK_{a1} 11.79, pK_{a2} 6.84 y pK_{a3} 1.58, y masa molar 193.0 g/mol (teórica 193.23 g/mol)].

5.5 Condiciones generales de trabajo

Los experimentos cinéticos y titulaciones potenciométricas se realizaron a temperatura constante de 25°C. Todas las disoluciones acuosas fueron preparadas con agua destilada y desionizada con una resistividad de 18.0 ± 0.1 MΩ·cm.

Los amortiguadores utilizados fueron de tipo biológico no-coordinantes: MES (5.5-6.7), MOPS (6.5-7.9), EPPS (7.3-8.7), CHES (8.6-10) y CAPS (9.7-11.1), y se prepararon frescos, a una concentración de 125 mM y ajustando el pH requerido con pequeñas adiciones de NaOH concentrado.

Se emplearon disoluciones stock de las sales de Cd(ClO₄)₂·6H₂O y Zn(ClO₄)₂·6H₂O en concentraciones 50 mM, las cuales fueron previamente estandarizadas por medio de titulaciones complejométricas utilizando una disolución de EDTA disódico (Ácido etilendiaminotetraacético, sal disódica) y como indicador metalocrómico negro de eriocromo T.

La disolución stock del sustrato 4-NFA se hizo en acetonitrilo a una concentración de 2.5 mM. Las disoluciones stock del ligante HOxAPy se prepararon en agua a concentraciones de 10 y 50mM.

Las disoluciones de NaOH empleadas para las titulaciones potenciométricas se utilizaron frescas, no pasando de 3 días de preparación, y fueron estandarizadas usando como patrón primario biftalato de potasio. Las disoluciones de HCl son estandarizadas con NaOH como patrón secundario.

5.6 Titulaciones potenciométricas

Las titulaciones potenciométricas fueron realizadas en celdas de vidrio con volúmenes iniciales de 10 y 25 mL, a temperatura constante de 25°C y con flujo de N₂, para evitar la formación de carbonatos. Estas determinaciones se hicieron en mezclas 30 y 50% v/v de MeCN en H₂O.

La determinación de los valores de pK_w en estos dos medios, 30 y 50% MeCN-H₂O, se realizó por medio de titulaciones potenciométricas de HCl utilizando NaOH como titulante. Se prepararon disoluciones de HCl 10mM estandarizado, manteniendo la fuerza iónica con NaCl 100 mM, 30% (7.5 mL) o 50% (12.5 mL) de MeCN y H₂O desionizada, siendo el volumen total de 25 mL. Los valores de pK_w se calcularon ajustando los datos de potenciometría a la siguiente ecuación [Johansson, 1978], y en la figura 5.6.1, se muestra el ajuste de los datos a cada porcentaje de acetonitrilo. De este ajuste se obtienen el valor experimental de K_w en este medio y el parámetro f que nos da la corrección que hay que hacer para tener una calibración por la concentración molar de H⁺ en lugar de la actividad del ion H⁺. Esto es deseable para la determinación de constantes de asociación y acidez en presencia de metales en términos de la concentración y no de la actividad de cada especie.

$$V = \frac{(V_{eq} * [NaOH]) + (K_w * V_0 * 10^{pH}) - \left(\frac{V_0 * f}{10^{pH}}\right)}{[NaOH] + \frac{f}{10^{pH}} - (K_w * 10^{pH})}$$

Ecuación 1

En donde:

V: Es el volumen añadido

V_{eq}: Volumen en el punto de equivalencia

[NaOH]: Concentración de hidróxido de sodio

K_w: Constante de producto iónico del medio de reacción

V₀: Volumen inicial

pH: -log[H⁺]

f: Parámetro de desplazamiento

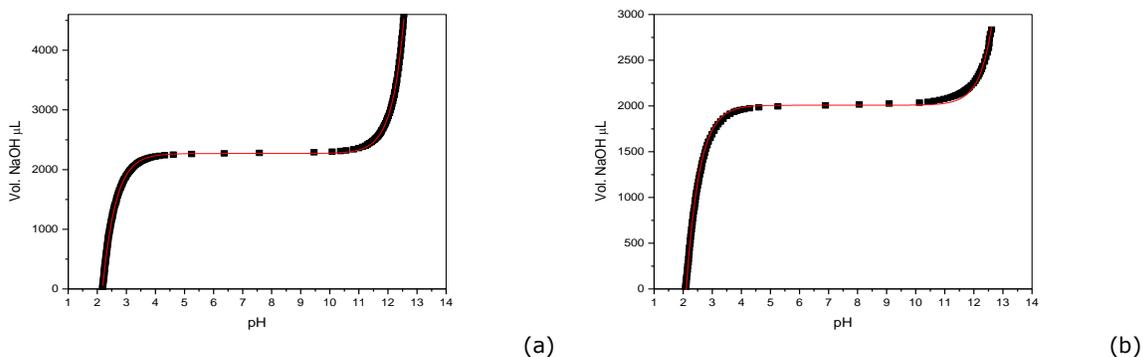


Fig. 5.6.1. Titulaciones potenciométricas de HCl 10 mM en mezclas (a) 30 y (b) 50% MeCN-H₂O a 25 °C.

Los valores obtenidos de pK_w para cada medio, fueron utilizados para la determinación de las constantes de formación ($\log\beta$) del ligante HOxAPy o de sus complejos metálicos y para estudios de especiación.

Las titulaciones potenciométricas del ligante HOxAPy se realizaron a concentraciones de 10 mM, manteniendo la fuerza iónica con cloruro de tetrametilamonio 100 mM, y también en medios con 30 ó 50% de MeCN. Lo mismo se realizó con las titulaciones con los complejos de Zn(II) y Cd(II) manteniendo una relación 1:1 metal ligante.

5.7 Estudios cinéticos

En los estudios cinéticos se empleó como sustrato el éster 4-nitrofenilacetato (4-NFA), y se determinó la reactividad tanto del ligante oximato libre como de sus complejos metal-oximato variando la cantidad de acetonitrilo presente en la disolución.

Típicamente, una disolución para monitorear la reacción se preparó mezclando las cantidades adecuadas de disolución stock del ligante HOxAPy, disoluciones stock de los metales, disolución de amortiguador, cantidad de acetonitrilo MeCN, para tener las mezclas 30 ó 50%, y el resto de agua desionizada para completar un volumen total 2500 μL , incluyendo el volumen que se agrega de acetonitrilo con el sustrato, que se adiciona justo antes de iniciar el monitoreo de la reacción: Se tomó la lectura del pH de la disolución antes y después de la reacción para asegurar que el pH fuera constante. Se siguió la reacción espectrofotométricamente a las longitudes de onda de 317 y 400 nm, debido a que a estas longitudes de onda tienen un máximo de absorción el 4-nitrofenol y 4-nitrofenolato, respectivamente, que se genera en la hidrólisis de ésteres.

Los valores de k_{obs} se calcularon por dos métodos. El método de rapidezces iniciales se utilizó cuando la reacción de hidrólisis se siguió hasta el 10% de conversión del sustrato y el método integral se utilizó cuando la hidrólisis del sustrato fue casi completa. La siguiente ecuación determina la constante de rapidez observada (k_{obs}), por el método integral, en la Fig. 5.7.1. se muestra el ejemplo con este ajuste de datos obtenidos para una curva cinética de primer orden, donde se obtiene la constante de rapidez de pseudo-primer orden k_{obs} .

$$A^{400} = A_0 + (A_{inf} - A_0)(1 - e^{-k_{obs}t})$$

Ecuación 2

A^{400} : Absorbancia medida a 400 nm

A_0 : Absorbancia inicial

A_{inf} : Absorbancia infinita

k_{obs} : Constante de rapidez observada

t: Tiempo

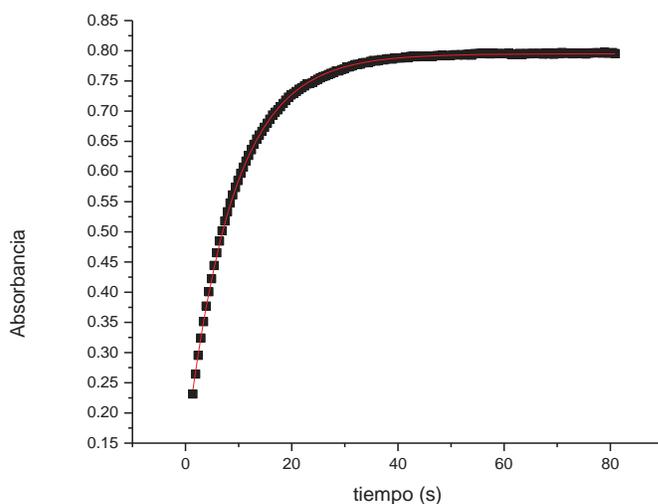
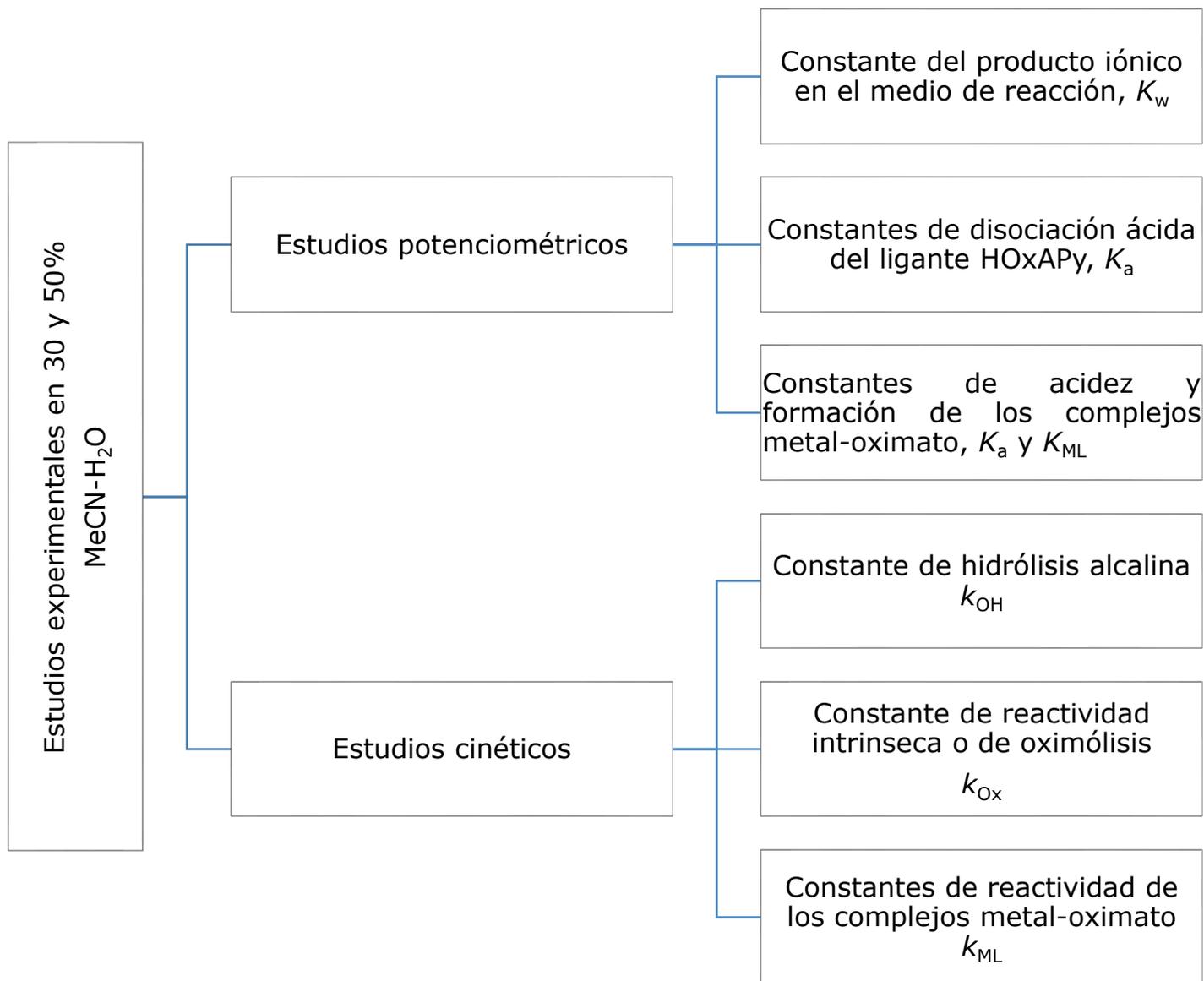


Fig. 5.7.1 Ejemplo del ajuste de los datos cinéticos con una ecuación de primero orden para la hidrólisis de 4-NFA en 50% MeCN-H₂O a 25°C.

En los estudios cinéticos se varió la concentración del ligante, de los cationes metálicos, su proporción y el pH para determinar la reactividad del ligante oximato libre y de sus complejos metal-oximato con los cationes divalentes Cd(II) y Zn(II). Estos estudios se hicieron tanto en 30 como en 50% de acetonitrilo en agua.

5.8 Diagrama general del procedimiento experimental



6. Resultados

6.1 Determinación de los valores de pK_w en mezclas MeCN-H₂O

Debido a que los valores de pK_w en las mezclas MeCN en H₂O se utilizan en la determinación de los valores de pK_a del ligante HOxAPy en estos medios y en las constantes de formación acumulativas ($\log\beta$) de sus complejos metálicos con Cd(II) o Zn(II), así como en los estudios de distribución especies, estos fueron determinados experimentalmente a las condiciones de trabajo.

Los valores de pK_w en las mezclas empleadas con 30% y 50% v/v de acetonitrilo se obtuvieron por medio de titulaciones potenciométricas de HCl 10 mM estandarizado realizadas por triplicado en un volumen de 25 mL empleando como titulante NaOH y NaCl como electrolito soporte. Se emplearon también hidróxido de tetrametilamonio como base y cloruro de tetrametilamonio como electrolito soporte para asegurar que estuvieran completamente disociados, y se comprobó que se obtiene el mismo resultado.

En la tabla 6.1.1 se resumen los valores de pK_w para cada porcentaje de MeCN, y sus respectivas gráficas se encuentran en la Fig. 5.6.1.

Tabla 6.1.1 Valores de pK_w en mezclas MeCN-H₂O.

MeCN-H ₂ O	pK_w
30%	14.78
50%	15.13

6.2 Determinación de las constantes de disociación ácida del ligante HOxAPy en 30 y 50% v/v MeCN-H₂O

Las constantes de disociación ácida para HOxAPy fueron previamente reportadas por nuestro grupo, sin embargo, como se empleó un nuevo lote de ligante se verificó la metodología y se tituló nuevamente el ligante HOxAPy por triplicado en medio acuoso en concentración 10 mM, fuerza iónica de 100 mM con NaCl, temperatura constante de 25 °C, flujo de N₂ y NaOH recién estandarizado. En la fig. 6.2.1 se muestra la titulación del ligante HOxAPy, graficando el volumen añadido de NaOH contra el valor de pH, donde se observan de dos puntos de equivalencia, debido a una doble desprotonación pertenecientes a los grupos amina y oxima del ligante HOxAPy.

El ajuste de los datos potenciométricos se realizó con en el programa *Hyperquad 2008*, los valores obtenidos se reúnen en la tabla 6.2.1 y podemos observar que los valores determinados en este trabajo coinciden con los previamente reportados [Lugo-González, et al., 2017] dentro de los límites del error.

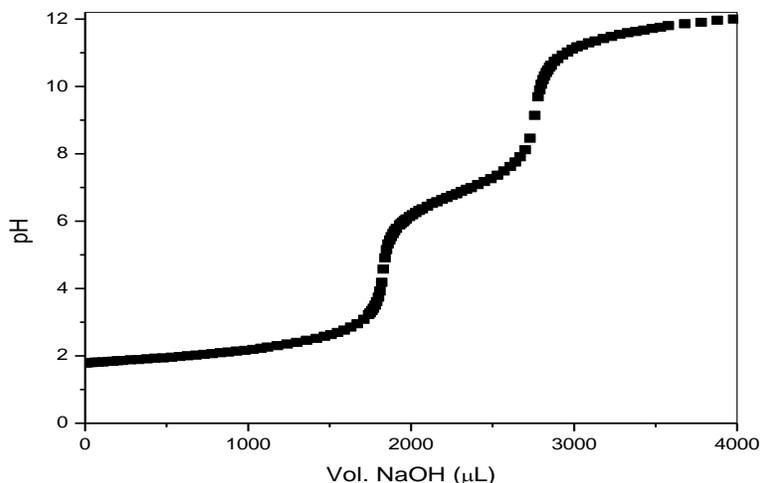


Fig. 6.2.1. Titulación potenciométrica del ligante HOxAPy 10 mM, HCl 30mM, fuerza iónica de 100mM con NaCl en H₂O a 25°C.

Posteriormente, las titulaciones potenciométricas del ligante HOxAPy en mezclas MeCN-H₂O se realizaron por triplicado empleando 10mM de ligante con un equivalente de HCl estandarizado, fuerza iónica constante de 100 mM fijada con (CH₃)₄NCl y la cantidad necesaria de MeCN para obtener una disolución con 30% o 50% v/v, bajo flujo de N₂ para evitar la formación de carbonatos a pH básico y a una temperatura constante de 25 °C y adicionando NaOH recién estandarizado como titulante.

En la Fig. 6.2.2 se muestran las titulaciones del ligante HOxAPy en los diferentes medios de reacción H₂O, 30 y 50% v/v MeCN (pH de la disolución en función de la cantidad de equivalentes de OH⁻ adicionados). Si se comparan visualmente, se observa un incremento en el pH final de las curvas de titulación en el orden: H₂O < 30% MeCN < 50% MeCN por lo tanto, se plantea que la desprotonación del grupo oxima en el ligante HOxAPy se lleva a valores mayores de pH conforme incrementa la cantidad de acetonitrilo presente en el medio aunque hay que tener presente que el pH de neutralidad depende del pK_w en el medio y también se modifica por el contenido de MeCN.

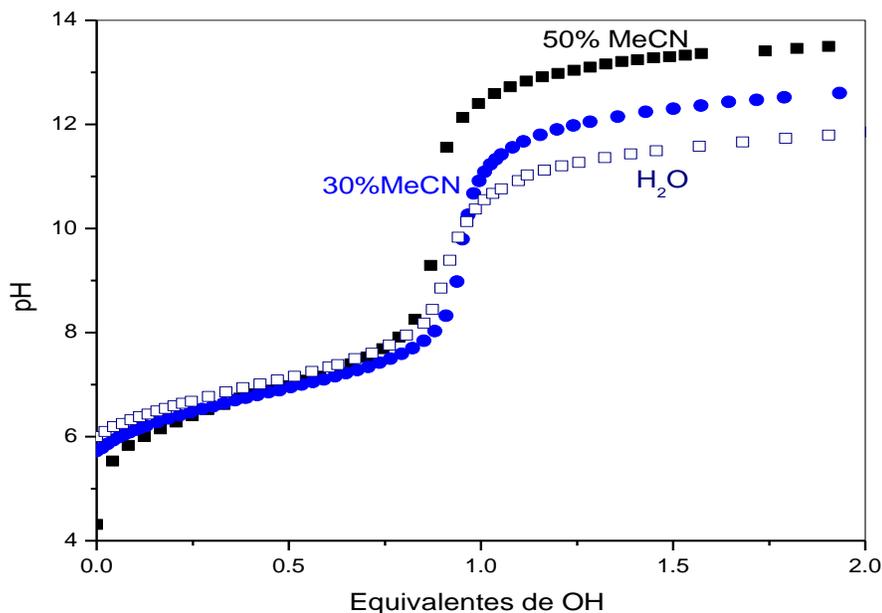


Fig. 6.2.2. Titulaciones potenciométricas del ligante HOxAPy 10 mM, HCl 10mM, fuerza iónica de 100mM con $(\text{CH}_3)_4\text{NCl}$ en (■) 50%MeCN- H_2O , (●) 30% MeCN- H_2O y (□) H_2O a 25°C.

Los datos de las titulaciones del ligante HOxAPy en mezclas MeCN- H_2O fueron importados al programa *Hyperquad 2008* para su análisis y ajuste, el cual se realizó con un modelo que incluye dos desprotonaciones sucesivas. En las figuras 6.2.3 y 6.2.4 se describen, a manera de ejemplo, un ajuste realizado con el programa *Hyperquad 2008*. En la parte superior izquierda se encuentran los valores logarítmicos de las constantes de formación acumulativas ($\log\beta$) y la estequiometría de las especies a las que corresponden. Estos valores son determinados mediante iteraciones por mínimos cuadrados dentro del programa, siguiendo los datos experimentales de la titulación potenciométrica. En la parte inferior izquierda se encuentran las cantidades de ligante y protón en milimoles, al igual que la concentración molar del titulante. A lado derecho se muestra la curva de titulación del ligante HOxAPy, los rombos son los valores experimentales, la línea discontinua cerca de la curva representa el ajuste calculado con esos valores de las constantes; también aparece la distribución de las especies presentes del ligante en los medios MeCN- H_2O como las diferentes líneas continuas, y el porcentaje de concentración de cada especie en el punto en el que se encuentra el cursor líneas punteadas aparece en el recuadro de color blanco.

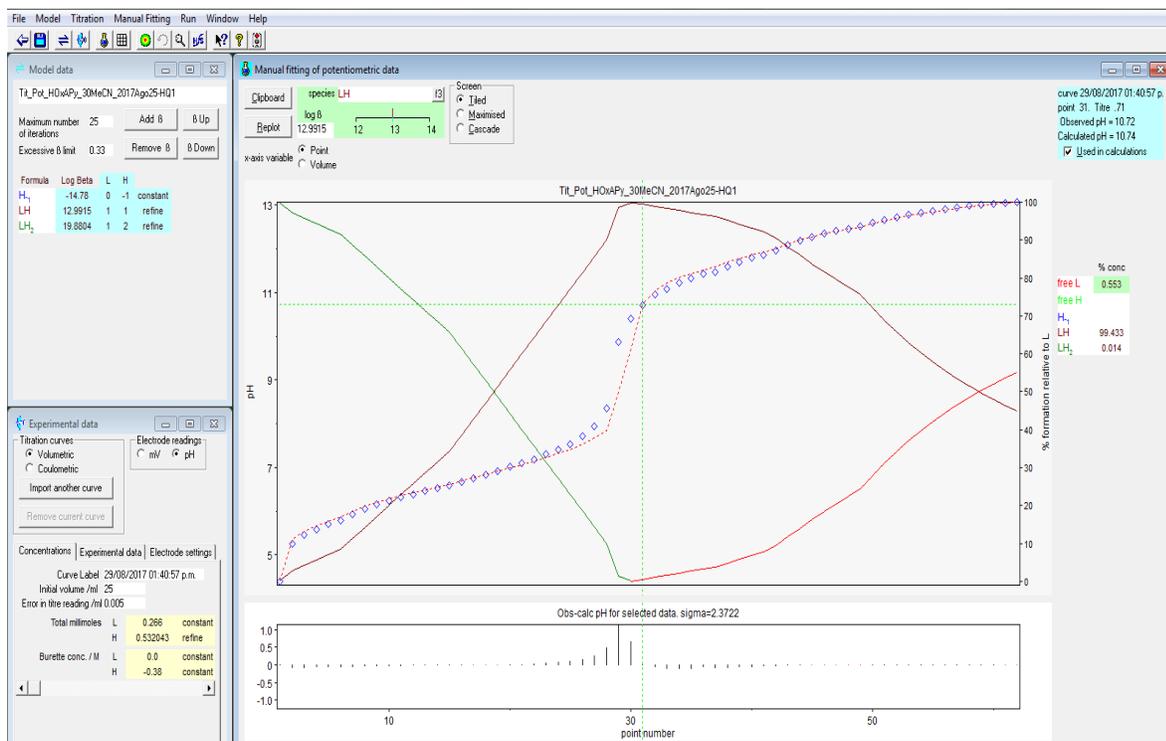


Fig. 6.2.3. Determinación de valores de pK_a del ligante HOxAPy en 30% MeCN-H₂O, con el programa Hyperquad 2008.

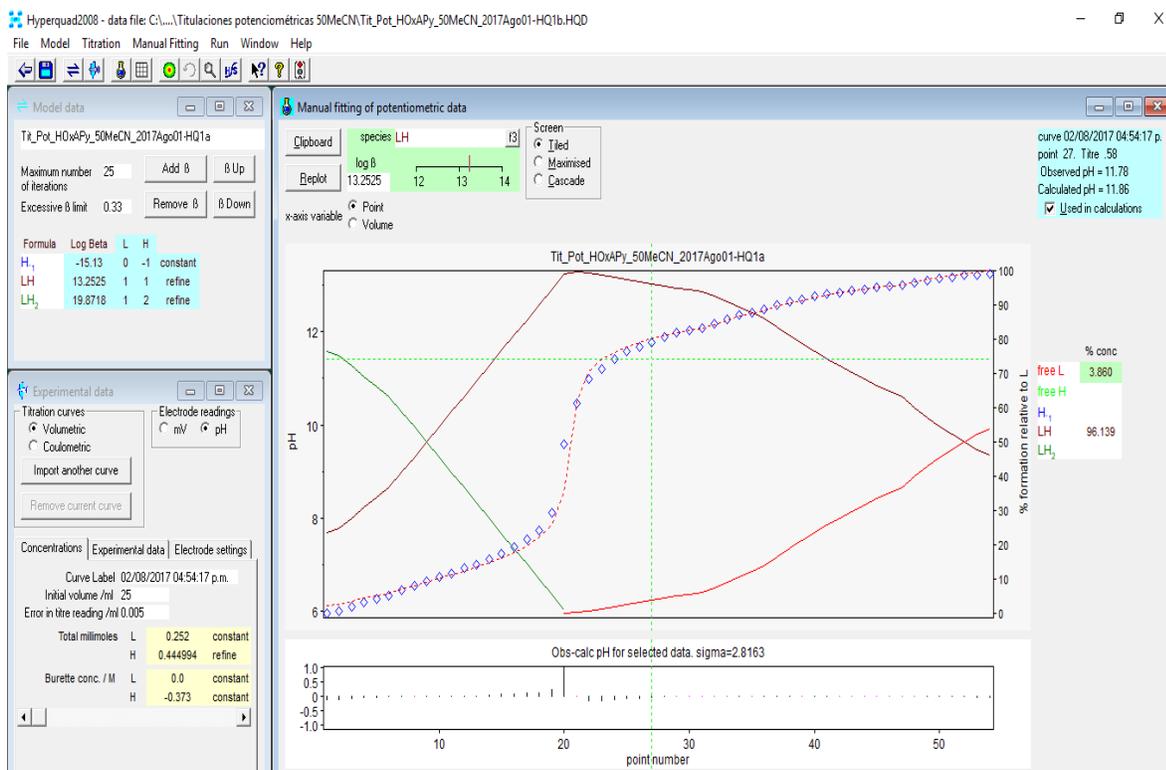


Fig. 6.2.4. Determinación de valores de pK_a del ligante HOxAPy en 50% MeCN-H₂O, con el programa Hyperquad 2008.

En la tabla 6.2.1 se reúnen los valores obtenidos de las constantes de formación acumulativas (β) del ligante HOxAPy, su promedio y los valores de pK_a en las mezclas con 30 y 50% de acetonitrilo, así como los previamente reportados. Se observa que los valores obtenidos son mayores al incrementar el contenido del disolvente orgánico, sin embargo, los valores de pK_w también son mayores y cambian de 13.9 en agua a 14.78 en 30% y 15.13 en 50% de MeCN. Estos valores se asignaron a los grupos amina y oxima del ligante. Los valores de protonación de la amina, son muy similares en los tres medios, pero como el pH de neutralidad es mayor al incrementar el contenido de MeCN, en realidad esta amina es más ácida. Por el contrario, en el caso del anión oximato, éste se forma a un valor de pH mayor aun considerando que cambia el valor de pK_w , lo cual indica que el grupo oximato es más sensible al cambio del medio.

Tabla 6.2.1. Valores logarítmicos de las constantes de formación acumulativas ($\log\beta$) y valores de pK_a del ligante HOxAPy en H₂O y mezclas acuosas con 30 y 50% v/v MeCN.

Especie	Titulación 1 $\log \beta$	Titulación 2 $\log \beta$	Titulación 3 $\log \beta$	Promedio $\log \beta$	pK_a
H₂O					
HOxAPy	---	---	---	11.79±0.01	11.79
H ₂ OxAPy	---	---	---	18.64±0.02	6.85
30% MeCN					
HOxAPy	12.99	12.85	12.95	12.93±0.06	12.93
H ₂ OxAPy	19.88	19.71	19.65	19.75±0.09	6.82
50% MeCN					
HOxAPy	13.25	13.40	13.31	13.30±0.07	13.30
H ₂ OxAPy	19.87	20.10	20.01	20.00±0.09	6.70

Los datos reportados de los pK_a del ligante HOxAPy en medio acuoso son: 11.74±0.01 y 6.96±0.05, [Lugo-González et al., 2017].

Se han reportado algunos estudios en los que se han determinado los valores de pK_a de distintas aldoximas en mezclas de disolventes apróticos miscibles con agua (MeCN, DMSO, 1,4-dioxano, DMF, etc.) aunque hay más datos en mezclas acuosas de DMSO. En la Fig. 6.2.5. se muestran las estructuras de algunas oximas reportadas [Terrier , Rodriguez-Dafonte, Le Guével, & Moutiers, 2006], y en la tabla 6.2.2 sus valores de pK_a obtenidos en mezclas acuosas con 30 y 50% de DMSO, así como los valores de pK_a para la cetoxima 2,3-butanodiona monoxima (estructura **5** de la Fig. 6.2.5) en mezclas 30 y 50% MeCN-H₂O, que son las mismas condiciones utilizadas en el presente trabajo.

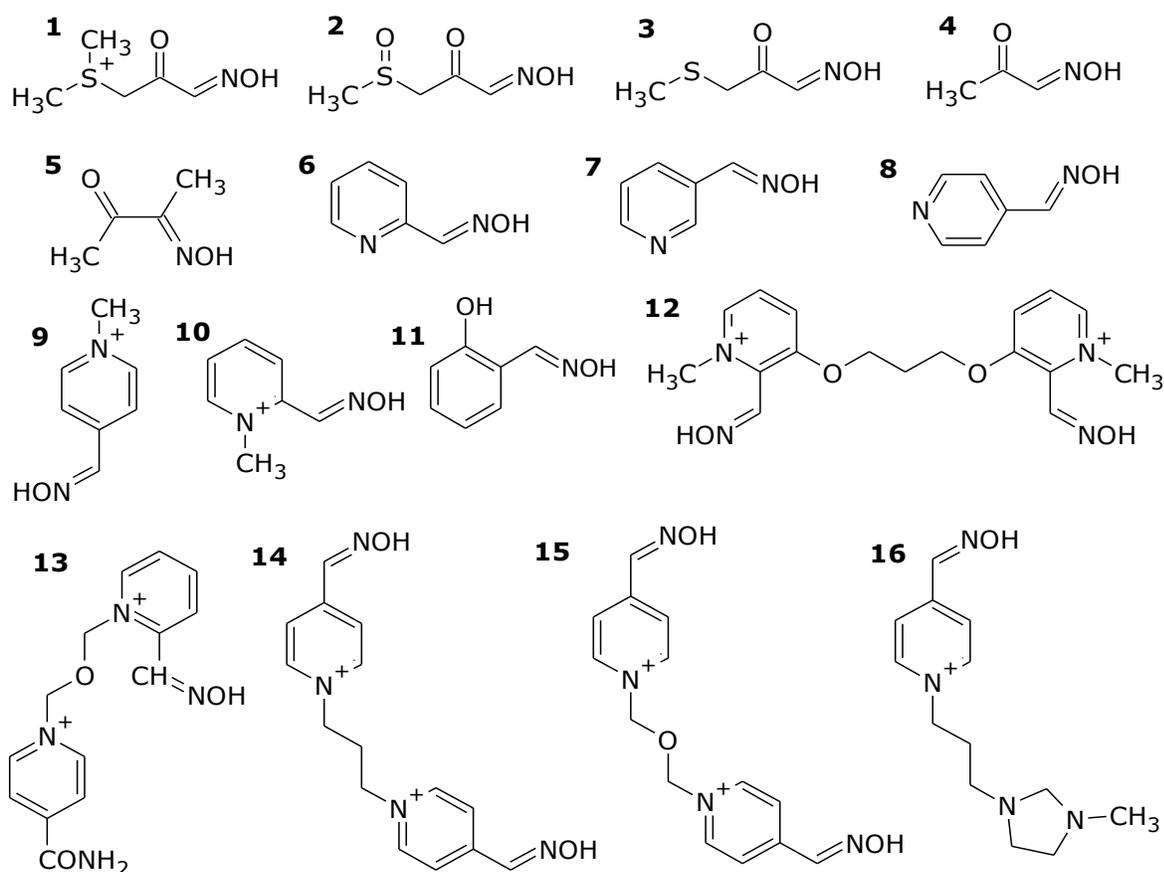


Fig. 6.2.5. Oximas que han reportado en la literatura sus valores de pK_a en mezclas de DMSO-H₂O y en el caso de la **5** también en la mezcla MeCN-H₂O.

Tabla 6.2.2. Valores de pK_a de distintas aldoximas tanto en H_2O como en mezclas acuosas con % v/v 30 y 50 DMSO o con MeCN a porcentajes cercanos a los trabajados [Terrier, et al., 2006][Um et al., 2001].

Oximas	% v/v DMSO- H_2O			ΔpK_a
	H_2O	30%	50%	
1	6.54	6.78	6.78	0.24
2	7.74	7.98	8.41	0.67
3	8.16	8.49	9.21	1.05
4	8.30	8.70	9.37	1.07
5	9.30	9.97	10.62	1.32
6	9.85	10.43	11.19	1.34
7	9.95	10.62	11.43	1.48
8	9.55	10.22	10.98	1.43
9	8.27	8.70	9.22	0.95
10	7.75	8.28	8.38	0.63
11	9.20	9.65	10.12	0.92
12	7.33	7.71	8.05	0.72
	9.02	9.03	9.29	0.27
13	7.13	7.03	7.20	0.07
14	7.79	8.04	8.38	0.59
	8.55	8.83	9.28	0.73
15	7.46	7.59	8.00	0.54
	8.17	8.49	8.70	0.53
16	8.05	8.58	8.68	0.63
	% v/v MeCN- H_2O *			
	H_2O	34.56%	48%	ΔpK_a
5	9.35	10.9	12.05	2.7

De la tabla 6.2.2 es claro que la tendencia general es que el pK_a de estas oximas incrementa a mayor porcentaje de disolvente, y para la mayoría de las aldoximas este cambio en agua hasta 50% de disolvente está entre 0.24-1.48 unidades sin importar si la aldoxima es alifática o aromática. Sin embargo, para la cetoxima **5**, este cambio es notablemente mayor en acetonitrilo ya que aumenta 2.7 unidades.

En el caso particular de la cetoxima **5**, 2,3-butanodiona monoxima, se ha mostrado que la basicidad que exhibe depende de su solvatación y está relacionada con su nucleofilia hacia 4-NFA [Terrier, et al., 2006]. Se observa que para porcentajes hasta 50% de MeCN, los valores de pK_a y la nucleofilia de su anión disminuyen y llegan a un mínimo, mientras que a mayores porcentajes de MeCN el anión está menos solvatado por agua y por lo tanto aumenta su nucleofilia hasta valores mayores de los que exhibe en agua.

Cabe resaltar que en altos porcentajes de disolvente aprótico vuelven a ser directamente proporcionales la nucleofilia y la basicidad. [Um et al., 2001] como se ejemplifica en la Fig. 6.2.6 con la línea punteada que siguen los valores de pK_a y reactividad de las oximas con valores de pK_a mayores a 8.5 cuando se miden en 70% DMSO.

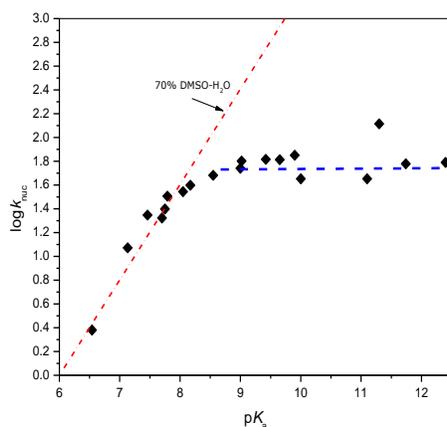


Fig. 6.2.6. Gráfica de saturación de α -nucleófilos y la gráfica donde se observa que en DMSO pierde el efecto de saturación al volverse lineal la tendencia.

Así, esta recuperación de la proporcionalidad directa entre la nucleofilia y la basicidad para varios α -nucleófilos muy básicos cuando hay menos agua en el medio de reacción, ha servido para apoyar la explicación que hasta el momento se tiene de la nivelación de la reactividad en coordenadas de Brønsted: hay una desincronización entre la desolvatación que requiere el α -nucleófilo previa al ataque nucleofílico y el ataque nucleofílico [Buncel, et al., 2002], es decir, el ataque nucleofílico puede ser muy rápido pero no sucede hasta que el α -nucleófilo se desolvate. Por lo tanto, cuando el medio de reacción es agua, mientras más básicos son los α -nucleófilos, su desolvatación es más difícil y no pueden exhibir la reactividad que correspondería a su basicidad. Por esta razón, en el caso de las oximas, se observa una "nivelación" de la reactividad cuando tienen valores de pK_a mayores a 8.

Dado que el ligante HOxAPy es una cetoxima, en las mezclas de acuosas de MeCN se observaron diferentes cambios en los valores de pK_a dependiendo del grupo que se protone. El pK_a del grupo amina se mantiene prácticamente constante (en términos del error experimental), mientras que el grupo oxima presenta un aumento en su valor de pK_a conforme incrementa el porcentaje de MeCN dando un cambio de 1.5 unidades, el cual no es tan fuerte como en el caso de la cetoxima **5** de la que se derivó, pero coincide con los valores

más grandes para las aldoximas. No obstante, observamos que la desprotonación de HOxAPy para dar la especie oximato que es la especie reactiva, se da a mayores valores de pH, (pK_a 11.79, 12.93, 13.30 en H₂O, 30 y 50% MeCN) por lo tanto, debe haber cambios en la reactividad asociados a la solvatación.

6.3 Determinación de las constantes de formación acumulativas ($\log\beta$) de los complejos del ligante HOxAPy con Cd(II) y Zn(II) en mezclas 30 y 50% v/v MeCN-H₂O

De los estudios en disolución acuosa (Lugo-González, et al., 2017), se sabe que la reactividad observada depende de la cantidad e identidad de las especies presentes en disolución, tanto del ligante libre como del ligante complejoado en diferentes estados de protonación, pues que no todas las especies se comportan como nucleófilos. Por esta razón es importante determinar cómo se modifica la distribución de las especies al añadir un disolvente aprótico y la estabilidad de los complejos metálicos para posteriormente poder analizar cómo se modifica su reactividad, ya que este tipo de estudios únicamente están reportados únicamente para algunas moléculas orgánicas que se comportan como α -nucleófilos, pero no se sabe cómo se comportan en presencia de cationes metálicos. Así pues, las constantes de formación acumulativas ($\log\beta$) de los complejos del ligante HOxAPy con cationes metálicos divalentes en mezclas acuosas de acetonitrilo se determinaron mediante titulaciones potenciométricas.

6.3.1. Complejos del ligante HOxAPy con Cd(II)

Se hicieron titulaciones potenciométricas por triplicado del ligante HOxAPy 10 mM con un equivalente de Cd(ClO₄)₂ y de HCl estandarizado, a una fuerza iónica constante de 100mM fijada con (CH₃)₄NCl, y cantidad necesaria de MeCN para tener las mezclas de 30 o 50% en v/v MeCN-H₂O, bajo flujo de N₂, temperatura constante de 25 °C titulando con disoluciones de NaOH fresco y estandarizado. En la figura 6.3.1.1 se muestran como ejemplo tres curvas de titulación de la mezcla equimolar de HOxAPy con Cd(II) en función de los equivalentes de OH adicionados, en agua, 30 y 50% de agua con acetonitrilo.

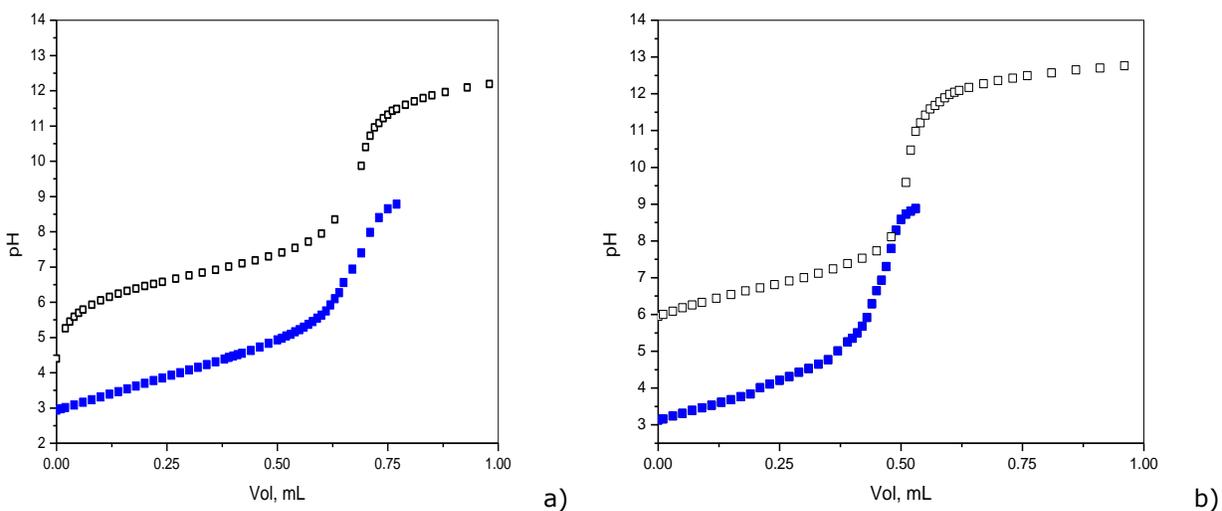


Fig. 6.3.1.1. Titulaciones potenciométricas del ligante (□) HOxAPy 10 mM, y una mezcla del ligante y cadmio (■) HOxAPy 10 mM y $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$ 10mM con un equivalente de HCl, fuerza iónica 100 mM con $(\text{CH}_3)_4\text{NCl}$ en (a) 30%MeCN- H_2O , y (b)50% MeCN- H_2O

En las figuras 6.3.1.2 y 6.3.1.3 se muestra el ajuste de los datos de las titulaciones potenciométricas de la HOxAPy con Cd(II) en 30% MeCN y 50% MeCN respectivamente.

Lo primero a resaltar de estos valores, es que el esquema de formación de iones complejos entre el ligante HOxAPy y Cd(II) es simple pues, a pesar de que el medio con mayor cantidad de disolvente aprótico facilita la asociación de las especies, únicamente se observa la formación de complejos 1:1.

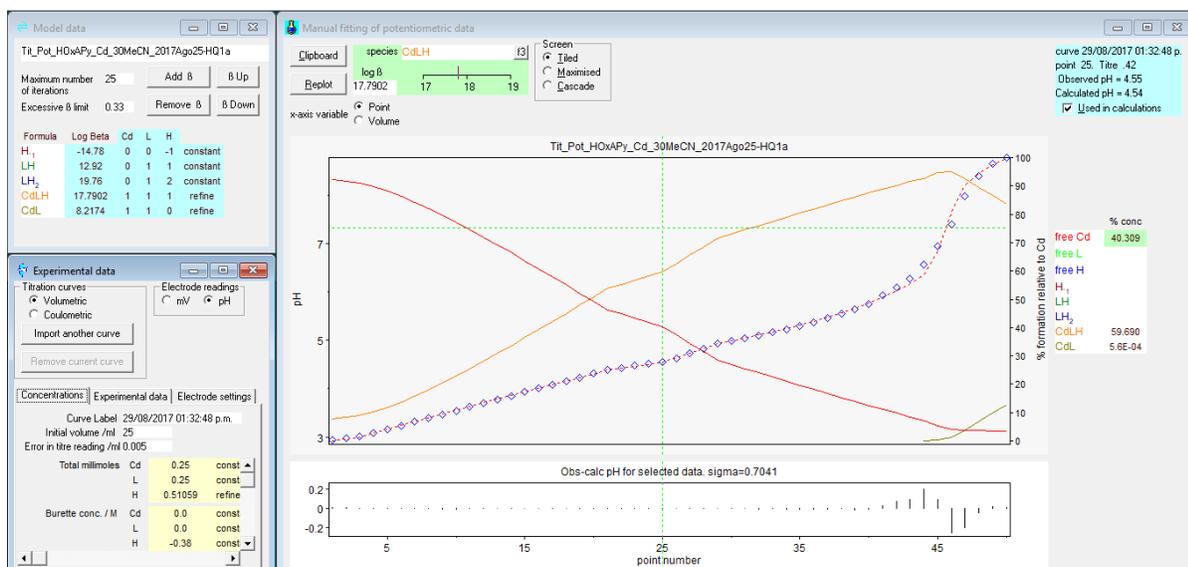


Fig. 6.3.1.2. Determinación de constantes de formación de complejos del ligante HOxAPy con Cd (II) en 30% MeCN-H₂O, con el programa Hyperquad 2008.

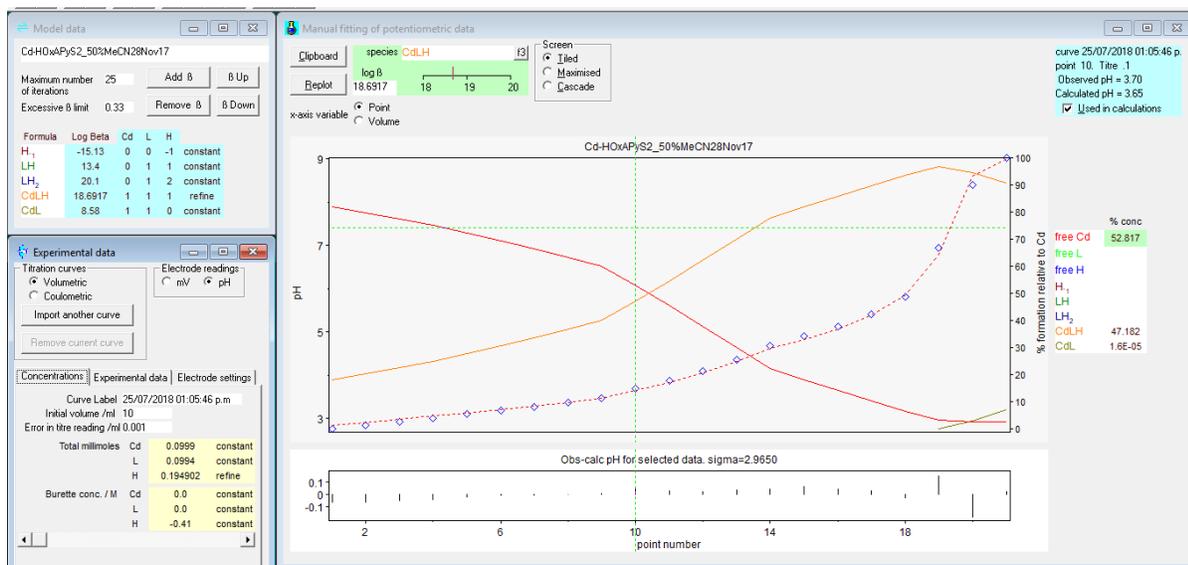


Fig. 6.3.1.3. Determinación de constantes de formación de complejos del ligante HOxAPy con Cd (II) en 50% MeCN-H₂O, con el programa Hyperquad 2008.

Por otro lado, se observa que las constantes de formación entre el ligante y el catión metálico son ligeramente mayores, tanto con el ligante neutro como con el ligante aniónico, por lo que los valores de pK_a de desprotonación del complejo, $CdHL^{2+} \rightarrow CdL^+ + H^+$, tienen valores de 9.4 en agua, 9.5 en 30% y 10.0 en 50% de acetonitrilo. Si se considera que los valores del pH de neutralidad en estas condiciones son 6.95, 7.39 y 7.58 debido al cambio en el pK_w , el aumento en el pK_a de los complejos corresponde directamente al cambio del pK_w en estas mezclas.

Tabla 6.3.1.1 Valores logarítmicos de las constantes de formación acumulativas (β) de los complejos del ligante HOxAPy con Cd(II) en H₂O y mezclas acuosas con 30 y 50% v/v MeCN.

Especie	Titulación 1 log β	Titulación 2 log β	Titulación 3 log β	Promedio log β
H₂O				
[CdHL] ²⁺	---	---	---	16.20*
[CdL] ⁺	---	---	---	6.83*
30% MeCN				
[CdHL] ²⁺	17.46	17.60	17.79	17.62±0.14
[CdL] ⁺	8.02	8.08	8.22	8.11±0.08
50% MeCN				
[CdHL] ²⁺	18.68	18.72	18.69	18.70±0.01
[CdL] ⁺	8.83	8.68	8.58	8.70±0.10

* Datos obtenidos de la referencia: [Lugo-González et al., 2017].

En la figura 6.3.1.4 se presentan los diagramas de distribución de especies empleando los valores promedio de las constantes que se reúnen en la tabla 6.3.1.1. Así, si se compara la distribución de las especies con catión metálico en función del pH, ésta es muy parecida en agua y en 30 o 50% de acetonitrilo.

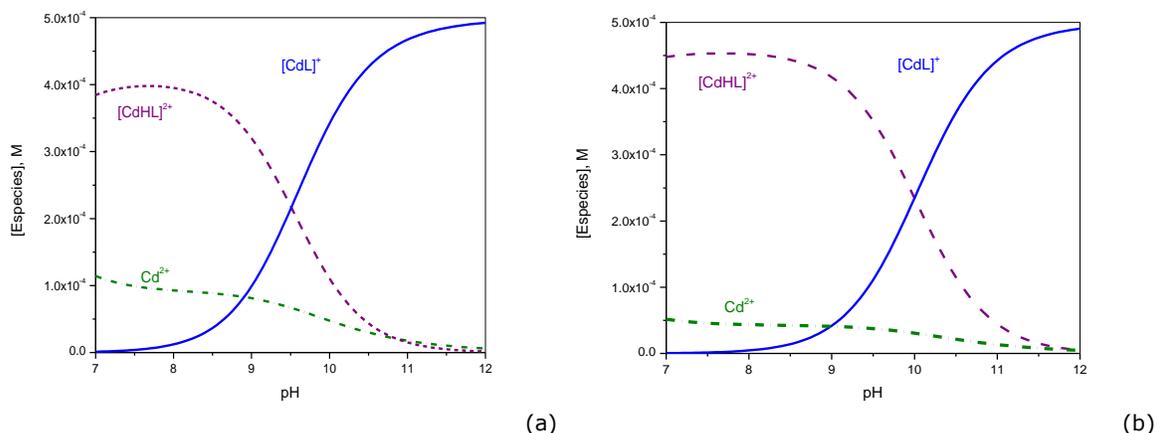


Fig.6.3.1.4. Diagrama de distribución de especies para los complejos de la HOxAPy con Cd(II), (a) en 30% MeCN-H₂O y (b) en 50% MeCN-H₂O.

Finalmente, es importante resaltar que, en todos los casos, agua o mezclas con acetonitrilo, la presencia del catión acidifica notablemente al ligante libre. En agua, el pK_a del ligante cambia de 11.79 para (HL) a 9.37 cuando está coordinado (CdHL), $\Delta=2.42$ unidades; de 12.93 para (HL) a 9.51 cuando está coordinado (CdHL), $\Delta=3.42$ unidades cuando está en 30% de acetonitrilo y de 13.30 para (HL) a 10.0 cuando está coordinado (CdHL), $\Delta=3.30$ unidades cuando está en 50% de acetonitrilo. Esto es debido a que

el cambio en el valor de pK_a por coordinación con el catión metálico es aproximadamente una unidad de pH mayor cuando está en las mezclas de acetonitrilo que en agua. En otras palabras, el efecto de acidificación de la oxima, cuando el anión oximato se coordina con Cd(II), es mayor cuando se encuentra en mezclas con 30 y 50% de acetonitrilo, lo cual debería reflejarse en su reactividad.

6.3.2. Complejos del ligante HOxAPy con Zn(II)

Al igual que con Cd(II), en el caso de Zn(II) se hicieron titulaciones potenciométricas por triplicado del ligante HOxAPy 10 mM con un equivalente de $Zn(ClO_4)_2$ y de HCl estandarizado, a una fuerza iónica constante de 100mM fijada con $(CH_3)_4NCl$, y cantidad necesaria de MeCN para tener las mezclas de 30% o 50% en v/v MeCN- H_2O , bajo flujo de N_2 , temperatura constante de 25 °C titulando con disoluciones de NaOH fresco y estandarizado. Se hicieron además titulaciones empleando otras proporciones metal:ligante en el intervalo 2-10 mM. En la figura 6.3.2.1 se muestran tres curvas de titulación de la mezcla equimolar de HOxAPy con Zn(II) en función de los equivalentes de OH adicionados, en agua, 30 y 50% de agua con acetonitrilo, donde se observa un comportamiento similar entre las curvas. Sin embargo, los cambios en pH son más pronunciados en presencia de acetonitrilo y aparentemente hay más puntos de inflexión que en medio acuoso, lo cual puede estar relacionado con la presencia de especies metal-oximato diferentes a mayores valores de pH.

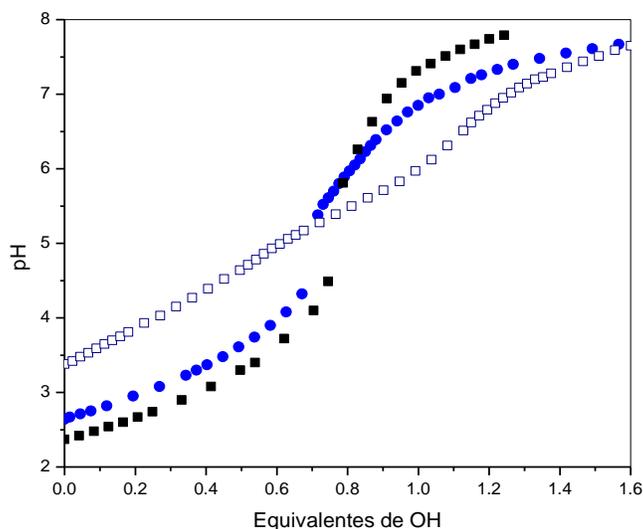


Fig. 6.3.2.1. Titulaciones potenciométricas del ligante HOxAPy 10 mM, $Zn(ClO_4)_2$, 10mM HCl 10mM, fuerza iónica de 100mM con $(CH_3)_4NCl$ en (■) 50%MeCN- H_2O , (●) 30% MeCN- H_2O y (□) H_2O a 25°C.

En las figuras 6.3.2.2 y 6.3.2.3 se muestran los ajustes de las titulaciones potenciométricas de HOxAPy con Zn(II) respectivamente en 30% MeCN y 50% MeCN realizados en el programa Hyperquad, mientras que en la figura 6.3.2.4 se presentan los diagramas de distribución de especies empleando los valores promedio de las constantes que se reúnen en la tabla 6.3.2.1.

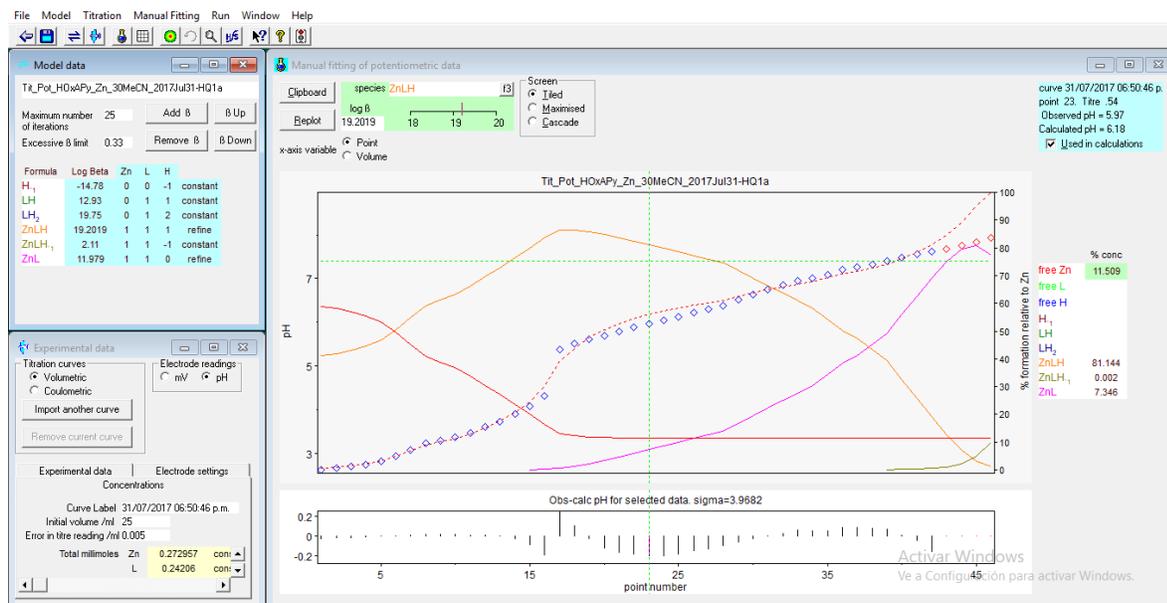


Fig. 6.3.2.2 Determinación de constantes de formación de complejos del ligante HOxAPy con Zn (II) en 30% v/v en MeCN-H₂O, con el programa Hyperquad 2008.

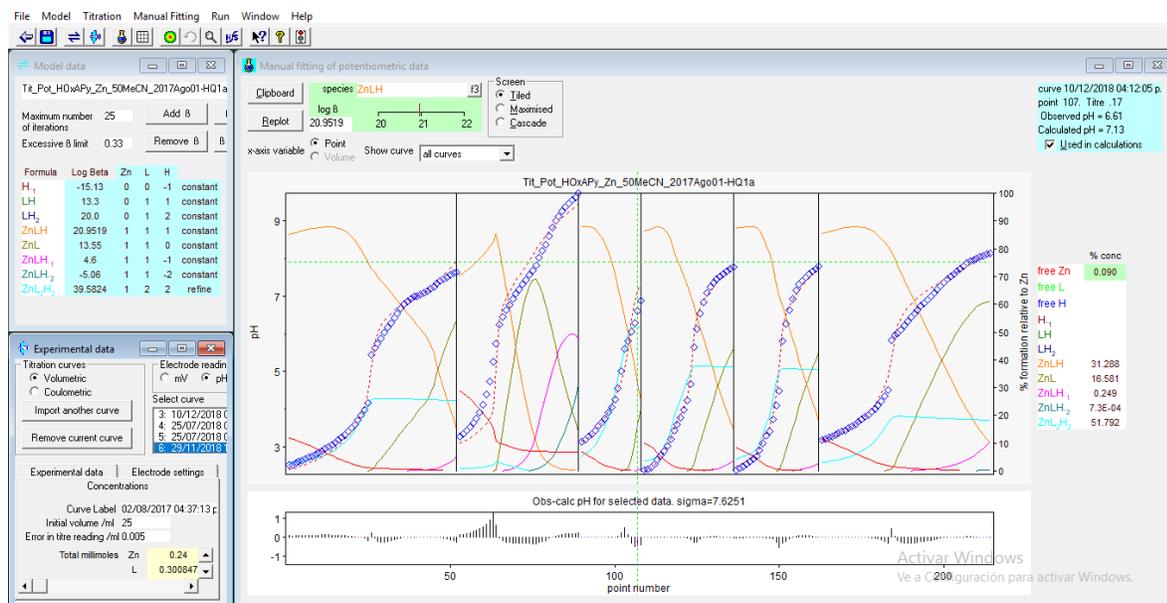


Fig. 6.3.2.3 Determinación de constantes de formación de complejos del ligante HOxAPy con Zn (II) en 50% v/v en MeCN-H₂O, con el programa Hyperquad 2008.

Tabla 6.3.2.1 Valores logarítmicos de las constantes de formación acumulativas (β) de los complejos del ligante HOxAPy con Zn(II) en H₂O y mezclas acuosas con 30 y 50% v/v MeCN.

Especie	Titulación 1 log β	Titulación 2 log β	Titulación 3 log β	log β
H₂O				
[ZnHL] ²⁺	---	---	---	16.78*
[ZnL] ⁺	---	---	---	9.4*
[Zn(L)(OH)]	---	---	---	1.23*
[Zn(L)(OH) ₂] ⁻	---	---	---	19.01*
[Zn(HL) ₂]	---	---	---	32.46*
30% MeCN				
[ZnHL] ²⁺	18.73	19.20	19.40	19.20
[ZnL] ⁺	11.90	11.97	11.97	11.98
[Zn(L)(OH)]	2.1	2.11	2.11	2.11
50% MeCN				
[ZnHL] ²⁺	20.19	20.95	20.23	20.18
[Zn(HL) ₂] ²⁺	40.23	40.23	40.31	40.23
[ZnL] ⁺	13.55	13.55	13.65	13.55
[Zn(L)(OH)]	3.91	4.66	3.84	4.6
[Zn(L)(OH) ₂] ⁻	24.30	25.20	25.60	25.20

*Datos obtenidos de la referencia: [Lugo-González et al., 2017].

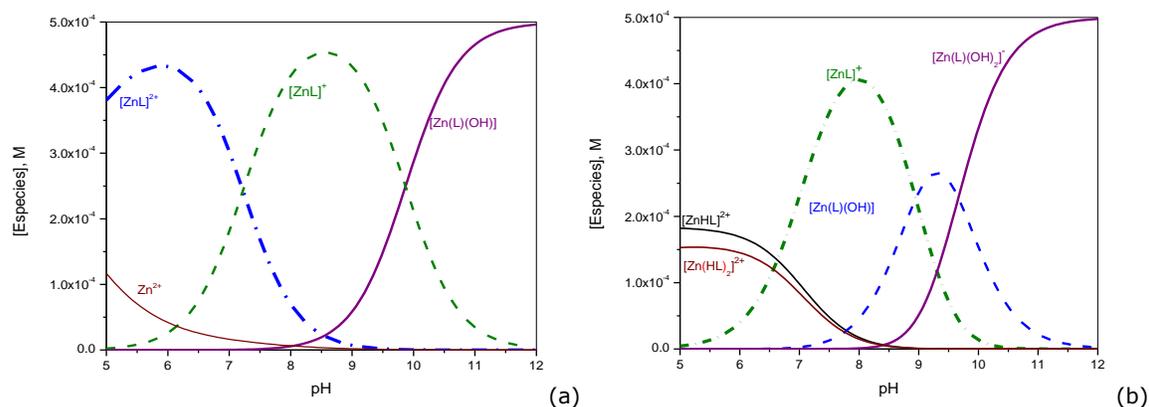


Fig.6.3.2.4 Diagrama de distribución de especies para los complejos de la HOxAPy con Zn(II) obtenido empleando los valores promedio de log β y pK_as de la HOxAPy de la Tabla 6.2.1 (a) en 30% MeCN-H₂O y (b) en 50% MeCN-H₂O.

En el caso de los complejos que forma HOxAPy, la situación es un poco diferente que en el caso de Cd(II). En primer lugar, además de las especies ML y MHL con estequiometría 1:1 con el ligante protonado y desprotonado, se forman hidroxocomplejos del tipo [ZnL(OH)] y [ZnL(OH)₂]⁻ por

desprotonación de moléculas de agua coordinadas al catión metálico. Estas especies se observan antes en disolución acuosa, y en las mezclas con disolvente orgánico [Lugo-González et al., 2017]. Para las titulaciones realizadas en 30% de acetonitrilo, sólo encontraron las especies $[\text{ZnHL}]^{2+}$, $[\text{ZnL}]^+$ y $[\text{ZnL}(\text{OH})]$ a las condiciones probadas, pero no se hicieron titulaciones en concentraciones 1 mM. En las titulaciones con 50% de acetonitrilo sí fue necesaria la especie $[\text{ZnL}(\text{OH})_2]^-$ para un buen ajuste de los datos potenciométricos. Sin embargo, por las constantes obtenidas, se espera que esta especie sólo se forme en medios básicos, donde el hidróxido metálico puede empezar a precipitar.

Lo primero a resaltar de estos valores, es que el esquema de formación de iones complejos entre el ligante HOxAPy y Cd(II) es simple, a pesar de que el medio con mayor cantidad de disolvente aprótico facilita la asociación de las especies, observándose únicamente la formación de complejos 1:1.

6.4. Estudios cinéticos. Determinación de la constante de hidrólisis alcalina, k_{OH} , en mezclas con 30 y 50% v/v MeCN

La constante de hidrólisis alcalina se determinó porque el grupo OH^- es un nucleófilo fuerte cuya reactividad depende del medio y del sustrato. En la literatura hay reportes de la hidrólisis alcalina del éster carboxílico empleado en este estudio, 4-nitrofenil acetato, y una constante de segundo orden aceptada k_{OH} de $14.12 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ en agua a 25°C [Lugo González, et al., 2017]. Sin embargo, dado que se desea medir y comparar la reactividad del anión del ligante HOxAPy y sus complejos metálicos en agua y en mezclas con 30 y 50% de acetonitrilo, y su reactividad depende del pH resulta más razonable determinarla.

La constante de rapidez observada para una reacción es la suma de las contribuciones de los nucleófilos presentes. En caso de considerar a todas las dependencias de primer orden, la ecuación que incluye la contribución de todos los nucleófilos presentes en disolución tendría la siguiente forma:

$$k_{\text{obs}} = k_{\text{OH}}[\text{OH}^-] + k_{\text{Nu}_1}[\text{Nu}_1] + k_{\text{Nu}_2}[\text{Nu}_2] + k_{\text{Nu}_3}[\text{Nu}_3]$$

Ecuación 3

en la que Nu_1 , Nu_2 , Nu_3 , etc. representan otros nucleófilos además de OH^- . A medida que se incrementa el pH de la disolución, aumenta la concentración de los iones OH^- , y por lo tanto su contribución a la hidrólisis del sustrato. Entonces es necesario restarla para poder relacionar la constante de rapidez observada, k_{obs} , con la reactividad de los otros nucleófilos. Por esta razón, se

decidió determinarla en cada medio a las condiciones de trabajo, y contar con el valor propio valor en 30 y 50% de acetonitrilo.

Para ello se hicieron reacciones de hidrólisis de 4-NFA a diferentes concentraciones de NaOH y $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$. De las curvas cinéticas se obtuvieron las constantes observadas de pseudo primer orden, k_{obs} , por el método integral para cada concentración de la base. Estos valores se presentan en la tabla 6.4.1 para las dos mezclas de 30 y 50% MeCN- H_2O . Al graficar los valores de k_{obs} en función de la concentración de NaOH, (Fig. 6.4.1), se encuentra que el comportamiento es lineal tanto para el 30% como para el 50% de MeCN, y los datos se pueden ajustar con una recta que pasa por el origen. La siguiente ecuación representa este comportamiento donde la pendiente de la recta es la constante de hidrólisis alcalina k_{OH} de cada mezcla tabla 6.4.1.

$$k_{\text{obs}} = k_{\text{OH}}[\text{OH}^-] + b$$

Ecuación 4

Los valores determinados para k_{OH} ($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$) fueron de 6.92 ± 0.21 y 3.49 ± 0.16 respectivamente en los medios con 30 y 50% de MeCN. Al determinar esta constante, pero empleando $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$ como base fuerte y $(\text{CH}_3)_4\text{NCl}$ como electrolito soporte ya que sabemos que se encuentran completamente disociados incluso en medios completamente orgánicos, Fig. 6.4.2, obtuvimos un valor de k_{OH} de $3.46 \pm 0.09 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, que es igual al determinado con NaOH en este medio dentro de los límites del error. Esta disminución en la constante de hidrólisis alcalina es considerable ya que el valor en agua es cercano a $15 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, por lo que encontramos que el OH^- es un nucleófilo menos fuerte en estos medios. Resultados similares han sido reportados en la literatura. Se han reportado valores de 4.68 y $5.56 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ para k_{OH} respectivamente en mezclas acuosas con 30% y 50% mol de MeCN [Um, Yoon, Lee, Moon, & Kwon, 1997] que corresponden a 42.61% y 51.74% en v/v respectivamente [Cunningham, Vidulich, & Kay, 1967].

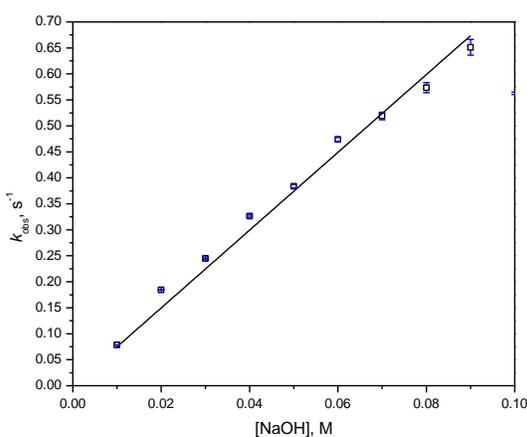
En las tablas 6.4.1 y 6.4.2 se resumen los valores de las constantes de rapidez, $k_{\text{obs}} \text{ s}^{-1}$, para la hidrólisis del 4-NFA en función de la concentración nucleófilo OH^- en 30 y 50% de MeCN respectivamente. Dado que estas gráficas son lineales, el valor de la constante de hidrólisis alcalina, $k_{\text{OH}} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, se obtuvo de la pendiente de la gráfica. El error en las constantes se muestra en forma de la desviación estándar, siendo típicamente de 1-2%, por lo que se omitió de las gráficas subsecuentes.

En la tabla y Fig. 6.4.2 se presentan los datos obtenidos en 50% MeCN con dos hidróxidos diferentes: NaOH y $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$. En este medio observamos

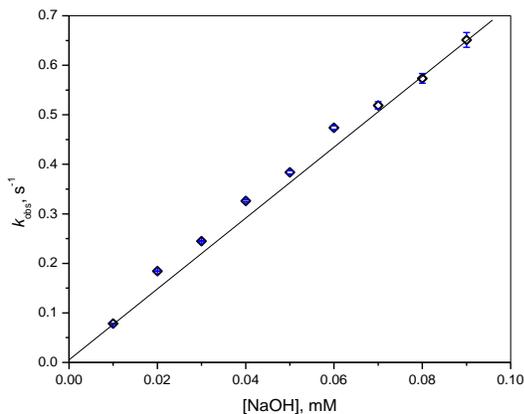
que disminuye la solubilidad de las sales, como NaCl, a concentraciones cercanas a 100 mM. Así observamos que al determinar las constantes de hidrólisis alcalina en el intervalo de 70-100 mM, las mediciones con NaOH tienen mayor dispersión que las realizadas con $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$, que es soluble en acetonitrilo puro o en agua. De aquí concluimos que, aunque el valor de la constante de hidrólisis alcalina es igual dentro de los límites del error ($3.5 \pm 0.2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) es necesario emplear sales de tetrametil o tetrabutilamonio al trabajar en 50%v/v de acetonitrilo-agua.

Tabla 6.4.1. Concentraciones de las bases NaOH y constantes de rapidez observadas de pseudo primer orden, k_{obs} (s^{-1}) y sus desviaciones estándar (ds) del ligante HOxAPy en 30% v/v MeCN- H_2O . Constantes de hidrólisis alcalina k_{OH} en mezclas MeCN- H_2O , determinadas con NaOH.

MeCN-H_2O		
$[\text{OH}^-], \text{M}$	$30\% k_{\text{obs}} \times 10^2, \text{s}^{-1}$ $[\text{NaOH}], \text{M}$	$10^3 \pm \text{ds}$
0.01	7.85	0.134
0.02	18.45	0.341
0.03	24.48	1.24
0.04	32.62	1.91
0.05	38.38	3.23
0.06	47.40	3.89
0.07	51.90	7.20
0.08	57.35	9.79
0.09	65.12	15.0
0.1	56.26	2.21
$k_{\text{OH}}, \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$	6.9 ± 0.2	



(a)



(b)

Fig.6.4.1. Constantes de rapidez observadas de pseudo primer orden, k_{obs} (s^{-1}), del ligante HOxAPy para la hidrólisis alcalina del 4-NFA variando la concentración de NaOH en un intervalo de 0.01-0.1M a 25 °C, (a) en 30% MeCN- H_2O $r^2=0.9970$ y (b) en 50% MeCN- H_2O $r^2=0.9970$.

Tabla 6.4.2. Constantes de rapidez observadas, k_{obs} (s^{-1}), en función de la concentración de la base en presencia del ligante HOxAPy en 50% v/v MeCN-H₂O y constantes de hidrólisis alcalina, k_{OH} ($s^{-1}M^{-1}$) determinadas con NaOH y (CH₃)₄NOH.

MeCN-H₂O		
[OH ⁻], M	50% $k_{obs} \times 10^2, s^{-1}$ [NaOH], M	50%, $k_{obs} \times 10^2, s^{-1}$ [(CH ₃) ₄ NOH], M
0.01	4.10	4.19
0.02	8.36	8.44
0.03	162.2	11.58
0.04	12.84	159.3
0.05	17.02	20.29
0.06	19.17	22.57
0.07	24.59	25.81
0.08	31.45	27.67
0.09	25.34	33.45
0.1	32.40	35.74
$k_{OH}, M^{-1}s^{-1}$	3.5 ± 0.2	3.5 ± 0.1

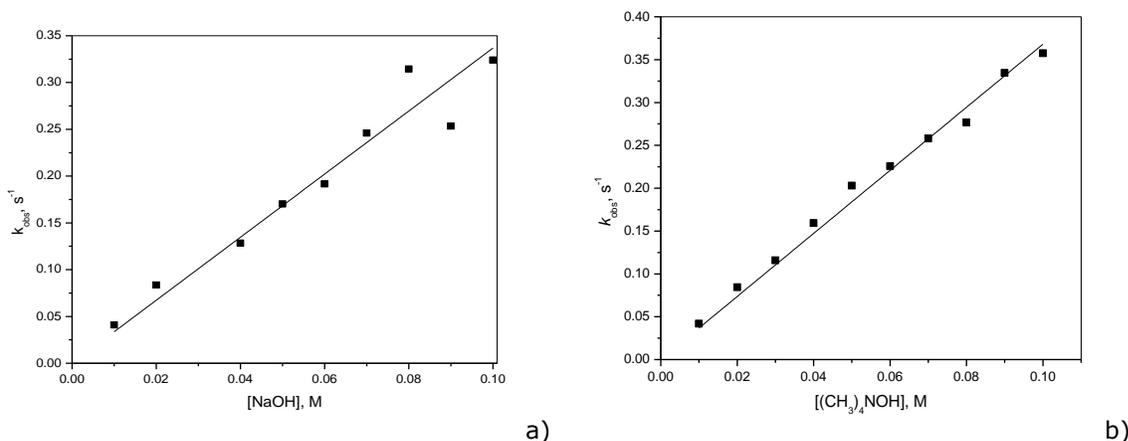


Fig.6.4.2. Constantes observadas de pseudo primer orden k_{obs} (s^{-1}) del ligante HOxAPy para la hidrólisis alcalina del 4-NFA variando la concentración de (a) NaOH con una $r^2=0.9794$ y (b) (CH₃)₄NOH $r^2=0.9928$ en un intervalo de 0.01-0.1M a 25 °C en 50% MeCN-H₂O.

En la figura 6.4.3, se muestra la gráfica de los valores experimentales de k_{OH} ($M^{-1}s^{-1}$) obtenidos en este trabajo y los reportados por Um y colaboradores [Um, Yoon, Lee, Moon, & Kwon, 1997] donde se observa que entre 0 y 50% de acetonitrilo, se observa una disminución en la constante de hidrólisis alcalina; nuestros valores siguen esta misma tendencia y pueden ser incorporados en esta gráfica por lo que las mediciones que realizamos

coinciden con lo que otros autores han observado y la forma en la que estamos midiendo es adecuada.

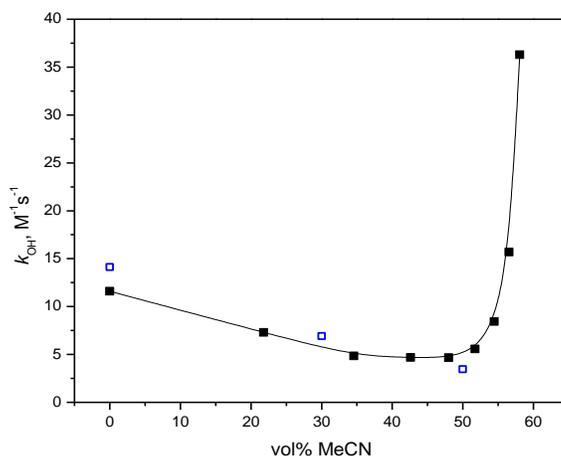


Fig. 6.4.3. Gráficos de valores k_{OH} en MeCN reportados por Um et al., 1997 y su comparación con datos (□) obtenidos en este trabajo.

6.5. Determinación de los coeficientes de absorción (ϵ) del 4-nitrofenol en mezclas MeCN-H₂O

El método de rapidez inicial se utiliza cuando es menor al 10% la reacción de hidrólisis que se lleva a cabo, esto sucede generalmente a valores menores de pH fisiológico. Por lo que se necesitan los valores de coeficientes de absorción (ϵ) del 4-nitrofenol en ambas mezclas de MeCN-H₂O. Las titulaciones espectrofotométricas se realizan con 4-nitrofenol, porque el 4-NFA al reaccionar con el ligante HOxAPy y sus complejos formados con Cd(II) y Zn(II) generan la ruptura del acetato formando el 4-nitrofenol.

En la parte experimental se realizaron titulaciones espectrofotométricas de UV-Vis teniendo las siguientes condiciones: 0.05 mM de 4-nitrofenol, fuerza iónica de 90 mM con NaCl, 10 mM de amortiguador biológico MOPS pH=7, cantidad necesaria de MeCN para el 30 o 50%v/v de las mezclas MeCN-H₂O y se utilizó NaOH previamente estandarizado como titulante.

Para poder calcular la cantidad de producto, 4-nitrofenol, que se libera por la reacción de hidrólisis, es necesario conocer el coeficiente de extinción molar y el valor del pK_a en los medios empleados. En las Fig. 6.5.1 y 6.5.2 se muestran los cambios espectrales que se observan con las titulaciones de 4-nitrofenol en 30 y 50% MeCN-H₂O con la adición de NaOH y (CH₃)₄NOH respectivamente. La primera banda, correspondiente al 4-nitrofenol, aparece en ambas mezclas a una longitud de onda de 317nm, y su intensidad va

disminuyendo conforme se agrega NaOH. Simultáneamente va apareciendo un máximo de absorción a 400nm debido a la formación de la base conjugada, 4-nitrofenolato. La presencia de puntos isobéuticos nos indican que hay una alta probabilidad de que únicamente existan dos especies en disolución y podemos atribuirle a la forma neutra y a la forma aniónica del producto. Por otro lado, la longitud de onda a la que aparecen estos máximos es igual a la que se observa en agua, por lo tanto, se puede determinar la formación del producto o el consumo del sustrato a las mismas longitudes de onda en los tres medios; esto además implica que el efecto de solvatación no afecta sensiblemente la protonación del producto.

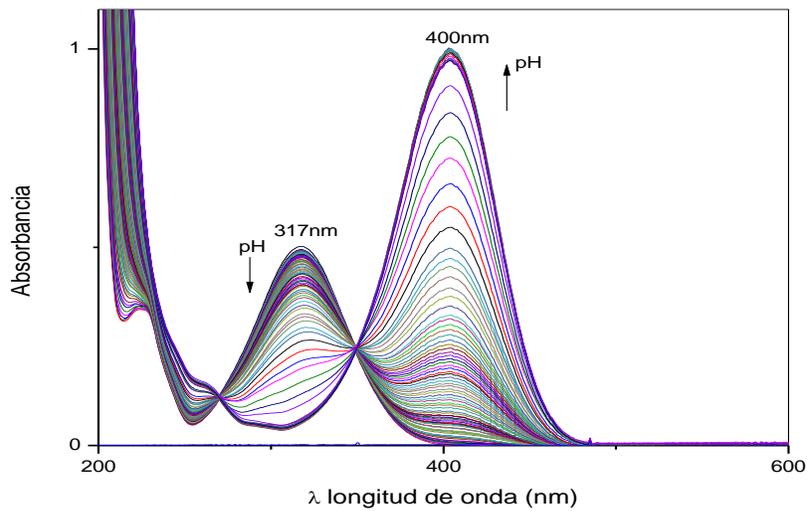


Fig. 6.5.1 Titulación espectrofotométrica de UV-Vis del 4-nitrofenol 0.05 mM en 30% MeCN-H₂O, fuerza iónica 90 mM con NaCl y 10 mM de MOPS a 25°C.

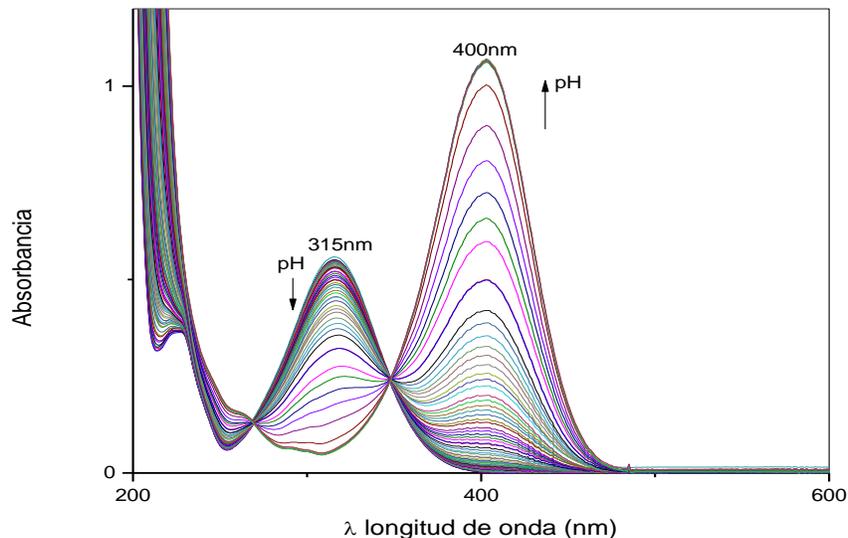


Fig. 6.5.2. Titulación espectrofotométrica de UV-Vis del 4-nitrofenol 0.05 mM en 50% MeCN-H₂O, fuerza iónica 90 mM con NaCl y 10 mM de MOPS a 25°C.

En las Fig. 6.5.3 y 6.5.4 se muestran las gráficas de los coeficientes de absorptividad molar en función del pH para 4-nitrofenol y 4-nitrofenolato, a 315 y 400 nm respectivamente. A partir de estos datos se determinó el valor de pK_a del 4-nitrofenol en cada mezcla de MeCN-H₂O, mediante la siguiente ecuación:

$$\varepsilon = \left(\frac{A_0 + A_{ini} * 10^{(pK_a - pH)}}{1 + 10^{pK_a - pH}} \right)$$

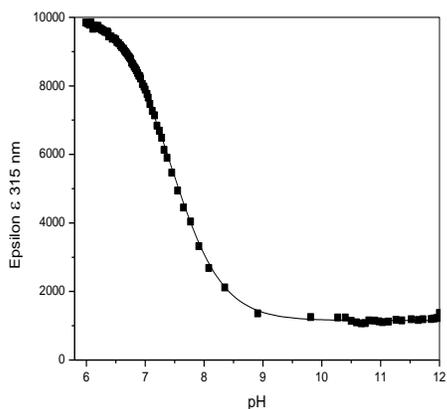
ε : Coeficiente de absorptividad

A_{fin} : Absorbancia final

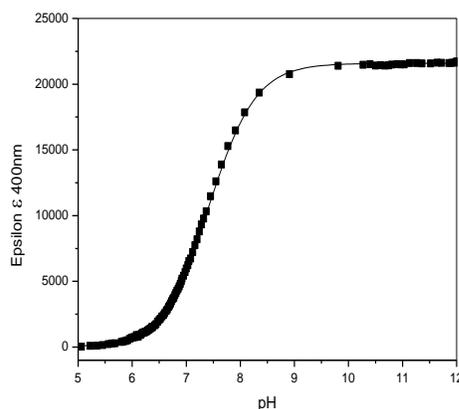
A_0 : Absorbancia inicial

pK_a : -logaritmo de la constante de disociación ácida, K_a

pH: $-\log[H^+]$

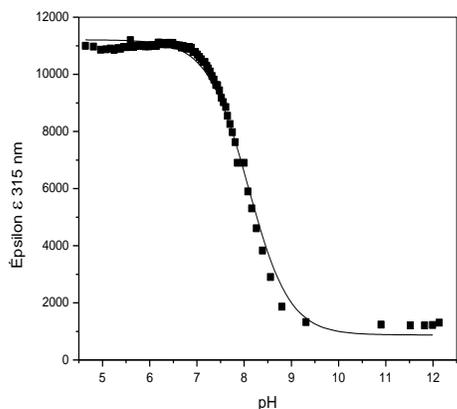


(a)

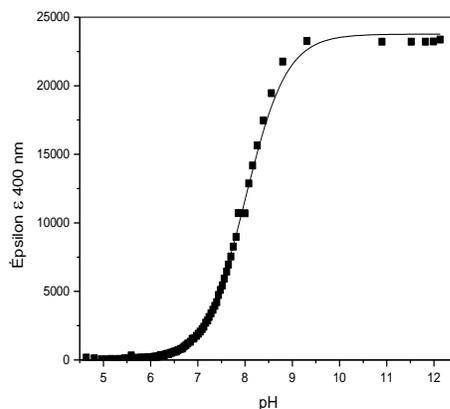


(b)

Fig. 6.5.3. Gráficas del coeficiente de extinción molar, $\varepsilon \text{ mol}^{-1}\text{Lcm}^{-1}$, en función del pH para 4-nitrofenol (a) 315 nm y (b) 400 nm para 4-nitrofenolato en 30% v/v MeCN-H₂O a 25°C.



(a)



(b)

Fig. 6.5.4. Gráficas del coeficiente de extinción molar, $\varepsilon \text{ mol}^{-1}\text{Lcm}^{-1}$, en función del pH para 4-nitrofenol a (a) 315 nm y (b) 400 nm para 4-nitrofenol en 50% v/v MeCN-H₂O a 25°C.

Tabla 6.5.1. Valores de pK_a del 4-nitrofenol en medio acuoso y mezclas MeCN-H₂O y DMSO-MeCN.

pK_a del 4-nitrofenol en mezclas de disolventes			
Disolvente	H₂O	30%	50%
MeCN	7.01*	7.43	8.01
DMSO	7.12*	7.22*	7.29*

* Datos de la referencia: [Terrier, et al., 1995]

Al comparar los valores de pK_a del 4-nitrofenol en mezclas acuosas de DMSO y en mezclas acuosas de MeCN, encontramos que tienen la misma tendencia: el valor de la constante de disociación ácida aumenta conforme se incrementa la cantidad de disolvente aprótico. Esto se debe a que los disolventes tienen bajas constantes dieléctricas, lo que incrementa las fuerzas electrostáticas entre los iones facilitando la formación de especies moleculares.

6.6. Estudios cinéticos. Reactividad esterolítica del anión oximato de HOxAPy, k_{ox} , en mezclas de MeCN-H₂O

La determinación de la reactividad intrínseca del ligante HOxAPy hacia el 4-NFA en mezclas MeCN-H₂O, se realizó determinando las constantes de rapidez, k_{obs} s⁻¹, para la hidrólisis de 4-NFA en presencia del ligante HOxAPy variando la concentración total de la base, NaOH o (CH₃)₄NOH, en un intervalo de 1-10 mM de HOxAPy.

6.6.1 Determinación de k_{ox} del ligante HOxAPy en mezclas de MeCN-H₂O adicionando 0.5 equivalentes de base

Como primera aproximación, y para validar si este procedimiento podía darnos resultados confiables, se determinaron las constantes de rapidez, k_{obs} s⁻¹, variando la concentración del ligante HOxAPy y adicionando 0.5 equivalentes de base estandarizada, NaOH o (CH₃)₄NOH dependiendo del medio. A estas condiciones se espera que el ligante funcione como amortiguador en el medio de reacción y siempre se tenga el 50% del ligante en su forma aniónica, que es la forma reactiva como nucleófilo. Este método se ha empleado con frecuencia cuando se trabaja en disolventes no acuosos o en mezclas de disolventes, y generalmente no se hace ninguna corrección por la posible contribución a la hidrólisis por parte del hidróxido libre [Um et al., 2001].

En las tablas 6.6.1.1 y 6.6.1.2, se presentan los valores de las constantes de rapidez obtenidas, las concentraciones empleadas de ligante HOxAPy y de su anión oximato en cada porcentaje de acetonitrilo, sin corrección por la contribución alcalina.

Tabla 6.6.1.1. Concentraciones de HOxAPy y constantes observadas de primer orden hacia el 4-NFA en 30% MeCN-H₂O.

[HOxAPy]_{Total} × 10³, M	[HOxAPy]_{Eq} × 10³, M	k_{obs} × 10², s⁻¹
0.5	0.25	0.17
1.0	0.50	0.40
2.0	1.00	1.17
4.0	2.00	2.79
6.0	3.00	4.60
8.0	4.00	7.75
10.0	5.00	9.56

Tabla 6.6.1.2. Concentraciones de HOxAPy y constantes observadas de primer orden hacia el 4-NFA en 50% MeCN-H₂O.

[HOxAPy]_{Total} × 10³, M	[HOxAPy]_{Eq} × 10³, M	k_{obs}, s⁻¹
0.50	0.25	1.34
0.75	0.38	1.55
1.00	0.50	3.07
1.00	0.50	3.46
1.25	0.63	2.56
1.50	0.75	3.38
1.75	0.88	4.47
2.00	1.00	6.64
2.75	1.37	9.11
4.00	2.00	15.5
4.00	2.00	14.3
5.25	2.63	24.9
6.00	3.00	28.2
7.50	3.75	41.1
8.00	4.00	43.9
10.00	5.00	65.8

Los datos de las tablas 6.6.1.1 y 6.6.1.2 se presentan también en forma gráfica en las Figs. 6.6.1.1 y 6.6.1.2, en donde se observan tendencias lineales. Estos datos se ajustaron a la ecuación de una recta en donde la pendiente corresponde a la constante de reactividad intrínseca del anión oximato o de oximólisis, k_{ox} M⁻¹s⁻¹, que se resumen en la tabla 6.6.1.3. Las

gráficas así obtenidas no pasan por el origen y los valores así obtenidos de las constantes de k_{Ox} , lo cual no es razonable si el único nucleófilo presente es el anión oximato y la concentración calculada es el 50% de la concentración total. Si bien para este método no se requiere conocer el valor de la constante de disociación ácida en el medio que se emplea, sino únicamente adicionar base para formar el 50% de la especie desprotonada, encontramos que no resulta adecuado para el estudio que se pretende hacer. Por esta razón se decidió tomar en cuenta la contribución alcalina del medio y calcular la concentración del anión empleando los valores de pK_a y pK_w en cada medio, como se muestra en la siguiente sección.

Tabla 6.6.1.3 Constantes de velocidad de segundo orden para el ligante HOxAPy en mezclas MeCN-H₂O determinadas con la adición de 0.5 eq de base.

MeCN-H ₂ O	$k_{Ox}, M^{-1} s^{-1}$
30%	20.18±1.1
50%	12.81±0.7

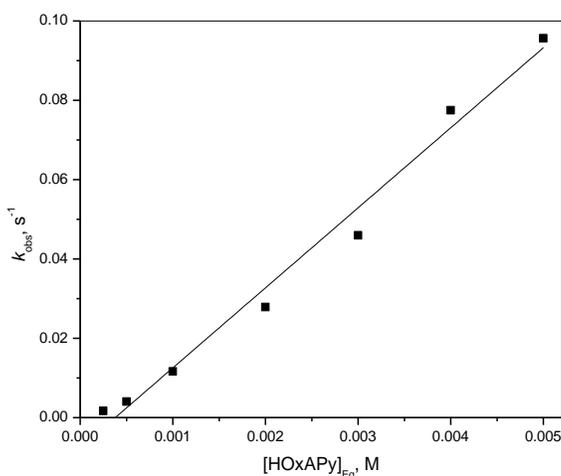


Fig.6.6.1.1. Constantes observadas de pseudo primer orden k_{obs} (s^{-1}) del ligante HOxAPy al equilibrio para la hidrólisis del 4-NFA, variando la concentración de HOxAPy en un intervalo de 0.5-10 mM y utilizando 0.5 equivalentes de base, NaOH o $(CH_3)_4NOH$, a 25 °C en 30% MeCN-H₂O. El ajuste lineal tiene una r^2 :0.9827.

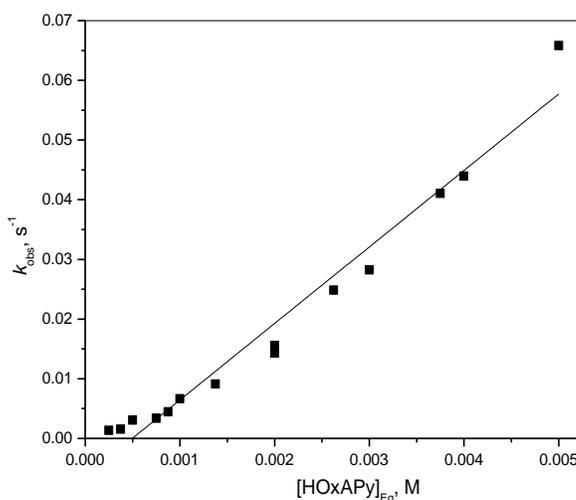


Fig.6.6.1.2. Constantes de rapidez observadas de pseudo primer orden k_{obs} (s^{-1}) del ligante HOxAPy al equilibrio para la hidrólisis del 4-NFA variando la concentración de HOxAPy en un intervalo de 0.5-10 mM y utilizando 0.5 equivalentes de base, NaOH o $(CH_3)_4NOH$, a 25 °C en 50% MeCN- H_2O . El ajuste lineal tiene una $r^2:0.9634$.

6.6.2 Determinación de k_{ox} del ligante HOxAPy considerando la hidrólisis alcalina, pK_a del ligante y pK_w en mezclas de MeCN- H_2O

El segundo método utilizado para calcular las constantes de rapidez de segundo orden del ligante HOxAPy en mezclas de MeCN- H_2O , toma en cuenta la contribución alcalina, la cual, se determina por medio de la constante de hidrólisis alcalina previamente calculada para cada porcentaje de MeCN y por la concentración de los nucleófilos OH^- presentes en el medio, así como la concentración de la forma aniónica para cada contribución y pH en particular.

Para corregir las constantes en ambas mezclas de MeCN- H_2O se calcularon las concentraciones de OH^- y se restaron a la constante de rapidez determinada de acuerdo con la ecuación 5:

$$k_{corr} = k_{obs} - k_{OH}[OH]$$

Ecuación 5

Posteriormente se calculó la concentración del ligante libre $OxAPy^-$ y en función de ésta se graficaron las constantes corregidas previamente calculadas. Estos datos se presentan en las tablas 6.4.1 y 6.4.2.

Tabla 6.6.2.1. Constantes de rapidez corregidas, $k_{\text{corr}} \text{ s}^{-1}$, en función de la concentración del anión, para la hidrólisis de 4-NFA en 30% MeCN-H₂O.

[HOxAPy]_{Total} × 10³, M	[OxAPy]_{libre} × 10³, M	$k_{\text{corr}} \times 10^5, \text{ s}^{-1}$
0.5	0.0086	3.21
1.0	0.0313	81.7
2.0	0.1100	570
4.0	0.3602	1730
6.0	0.6918	3170
8.0	1.0600	6020
10.0	1.4500	7560

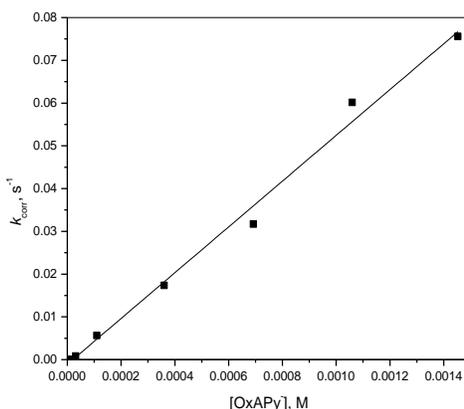


Fig.6.6.2.1. Constantes de rapidez observadas de pseudo primer orden $k_{\text{obs}} (\text{s}^{-1})$ del ligante HOxAPy para la hidrólisis del 4-NFA variando la concentración de OxAPy⁻ y utilizando medio equivalente de (CH₃)₄NOH a 25 °C en 30% MeCN-H₂O. El ajuste lineal tiene una $r^2:0.9910$.

Tabla 6.6.2.2. Constantes de rapidez corregidas, $k_{\text{corr}} \text{ s}^{-1}$, en función de la concentración del anión, para la hidrólisis de 4-NFA en 50% MeCN-H₂O.

[HOxAPy]_{Total}, × 10³M	[OxAPy]_{libre}, × 10⁵M	$k_{\text{corr}} \times 10^4, \text{ s}^{-1}$
0.50	0.8287	6.30
0.75	1.716	5.20
1.00	2.855	17.7
1.00	3.006	20.9
1.25	4.713	8.30
1.50	6.548	13.7
1.75	8.324	21.8
2.00	10.77	40.8
2.75	18.79	57.6
4.00	35.1	111
4.00	35.33	97.8
5.25	54.79	193
6.00	67.75	221
7.50	94.51	339
8.00	104.00	365
10.00	143.00	572

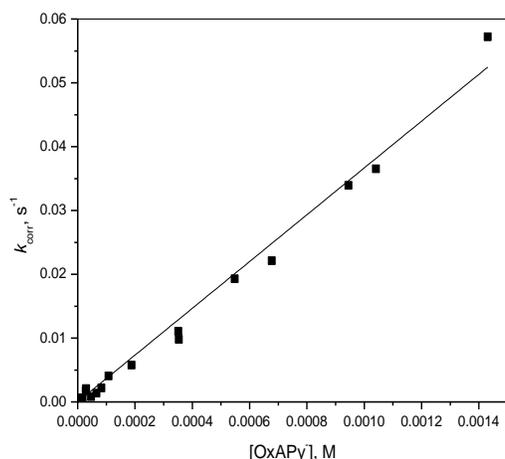


Fig.6.6.2.2. Constantes observadas de pseudo primer orden k_{obs} (s^{-1}) del ligante HOxAPy para la hidrólisis del 4-NFA variando la concentración de OxAPy⁻ y utilizando medio equivalente de $(CH_3)_4NOH$ a 25°C en 50% MeCN-H₂O. El ajuste lineal tiene una $r^2:0.9918$.

En las Figs. 6.6.2.1 y 6.6.2.2 se observan que las gráficas de ambas mezclas de MeCN-H₂O tienen una tendencia lineal, y por esta razón son ajustadas con la ecuación de la recta, donde la pendiente es la constante de oximólisis k_{ox} y estos valores se enlistan en la tabla 6.6.2.3.

Tabla 6.6.2.3. Constantes intrínsecas de segundo orden para el ligante HOxAPy considerando la contribución alcalina en mezclas MeCN-H₂O.

MeCN-H ₂ O	k_{ox} M ⁻¹ s ⁻¹
0	60.00±2.00*
30%	53.54±2.1
50%	36.67±0.8

*Datos de la referencia: [Lugo-González, et al., 2017]

Las constantes intrínsecas de reactividad esterolítica del ligante HOxAPy, k_{ox} M⁻¹s⁻¹, en mezclas de MeCN-H₂O fueron determinadas por dos métodos y encontramos que los valores son diferentes, siendo mejores los valores determinados por el segundo método, debido a la calidad de los ajustes, y adicionalmente son similares a los reportados en literatura para otros α -nucleófilos.

Finalmente, se determinaron las constantes de reactividad intrínseca del nucleófilo 4-clorofenol, que se considera un nucleófilo normal (sin efecto α) para poder compararlos con los valores obtenidos en mezclas MeCN-H₂O, tanto del anión HOxAPy como de sus complejos metal-oximato.

6.6.3 Determinación de las constantes de reactividad intrínseca del nucleófilo 4-clorofenol k_{CIPhO^-} en mezclas 30 y 50% MeCN-H₂O

Los estudios cinéticos para determinar la constante intrínseca de reactividad del 4-clorofenol hacia el 4-NFA, se realizaron utilizando las siguientes condiciones: un intervalo de concentraciones de 1-20 mM del nucleófilo y 0.5 equivalentes de (CH₃)₄NOH.

En las tablas 6.6.3.1 y 6.6.3.2, se muestran los valores obtenidos de k_{obs} para el 4-clorofenol hacia el 4-NFA en las mezclas con 30 y 50% MeCN-H₂O, estos datos se presentan también en forma gráfica en las Figs. 6.6.3.1 y 6.6.3.2. Las constantes muestran una dependencia lineal respecto a la concentración del 4-clorofenol y se ajustaron a la ecuación de una recta en la que el valor de la pendiente es la constante de segundo orden, $k_{\text{CIPhO}^-} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, sin embargo, la ordenada al origen es positiva, lo cual se atribuye a la constante de hidrólisis alcalina, aunque no se esperaría contribución ya que todo el hidróxido fue consumido para la formación del anión.

Tabla 6.6.3.1. Concentraciones del 4-clorofenol y constantes de rapidez observadas de primer orden hacia el 4-NFA en 30% MeCN-H₂O.

[4-CIPhOH]_{total} × 10³ M	[4-CIPhOH]_{Eq} × 10³ M	$k_{\text{obs}} \times 10^3, \text{ s}^{-1}$
1.0	0.50	0.27
2.5	1.25	0.51
5.0	2.50	0.98
10.0	5.00	1.28
12.5	6.25	1.56
15.0	7.50	1.92
17.5	8.75	1.97
20.0	10.00	2.31

Tabla 6.6.3.2. Constantes de rapidez observadas hacia el 4-NFA, $k_{\text{obs}} \text{ s}^{-1}$, en función de la concentración de 4-clorofenolato, en 50% MeCN-H₂O.

[4-CIPhOH]_{total} × 10³ M	[4-CIPhOH]_{Eq} × 10³ M	$k_{\text{obs}} \times 10^4, \text{ s}^{-1}$
1.0	0.50	1.90
2.5	1.25	3.20
5.0	2.50	6.70
7.5	3.75	9.80
10.0	5.00	11.8
12.5	6.25	14.3
15.0	7.50	17.2

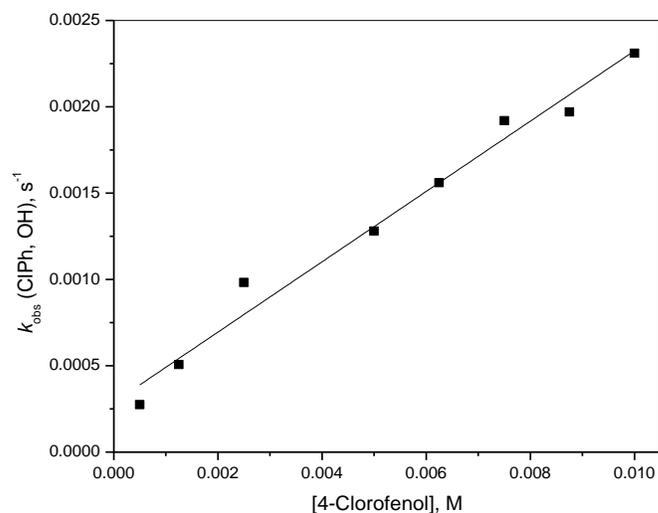


Fig.6.6.3.1. Constantes observadas de pseudo primer orden, k_{obs} (s^{-1}), para el anión 4-clorofenolato en la hidrólisis del 4-NFA, variando la concentración de 4-clorofenol y utilizando 0.5 equivalente de $(CH_3)_4NOH$ a 25 °C en 30% MeCN- H_2O . El ajuste lineal tiene una $r^2:0.9776$.

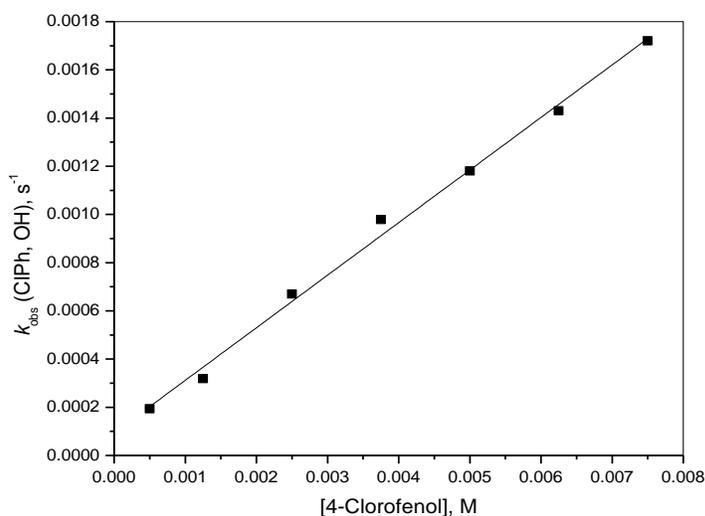


Fig.6.6.3.2. Constantes de rapidez observadas de pseudo primer orden k_{obs} (s^{-1}) del 4-clorofenol para la hidrólisis del 4-NFA variando la concentración de 4-clorofenol y utilizando medio equivalente de $(CH_3)_4NOH$ a 25 °C en 50% MeCN- H_2O . El ajuste lineal tiene una $r^2:0.9946$.

Tabla 6.6.9 Constantes intrínsecas de reactividad, k_{CIPh} $M^{-1}s^{-1}$, del nucleófilo 4-clorofenol en mezclas MeCN- H_2O .

MeCN- H_2O	$k_{CIPh}, M^{-1} s^{-1}$ reportado	$k_{CIPh}, M^{-1} s^{-1}$ experimental
30%	0.197*	0.20±0.01
50%	0.217*	0.22±0.01

*Datos de la referencia: [Um, et al., 2001]

En la tabla anterior se presenta la comparación de los datos experimentales obtenidos por este método, con los reportados en la literatura. En este caso encontramos que son iguales dentro de los límites del error, pero aparece una contribución alcalina no esperada, por lo que volvemos a encontrar que este método no es tan exacto como calcular la concentración exacta del anión a cada concentración empleada y corregir por la constante de hidrólisis alcalina. Dado que la constante nucleofílica de 4-clorofenol en estos medios se requiere para comparar y establecer si el anión oximato se comporta o no como α -nucleófilo en estos medios, no se realizó otra determinación de su reactividad, pero en el caso del ligante HOxAPy se utilizarán en lo sucesivo los valores de las constantes intrínsecas k_{Ox} que se calcularon tomando en cuenta la contribución de la hidrólisis alcalina y una adecuada especiación.

6.7. Estudios cinéticos. Reactividad esterolítica de los complejos del ligante HOxAPy con metales divalentes Cd(II) y Zn(II) hacia el 4-NFA en mezclas 30 y 50% MeCN-H₂O

Se realizaron estudios cinéticos para determinar la reactividad de los complejos formados del ligante con Cd(II) o Zn(II), y cuál es la especie reactiva en estos medios MeCN-H₂O.

Los experimentos fueron realizados con concentraciones de metal-ligante 1:1, pH constante y cantidad necesaria de MeCN para tener 30 ó 50% v/v en la disolución.

Complejos del ligante HOxAPy con Cd en mezclas MeCN-H₂O

Las constantes del complejo $[CdL]^+$ k_{CdL} en las mezclas de MeCN-H₂O, se determinaron por medio de estudios cinéticos en los cuales se utilizaron las siguientes concentraciones: 0.5 mM de Cd(ClO₄)₂, 0.5 mM HOxAPy, 25 mM de amortiguador biológico y cantidad suficiente de MeCN para tener las mezclas 30 ó 50% MeCN-H₂O en un volumen total de 2500 μ L.

En presencia del ligante HOxAPy y cadmio se observaron efectos catalíticos en el intervalo de pH entre 7.0 – 8.5, por lo tanto se investigó qué especies son predominantes en este intervalo de pH y a las concentraciones empleadas en cinética. En el diagrama de especies del ligante HOxAPy con Cd(II), (Fig. 6.7.1), podemos observar que se encuentran presentes en mayor proporción los complejos $[CdHL]^{2+}$ y $[CdL]^+$, sin embargo la

concentración de la especie $[\text{CdHL}]^{2+}$ decrece al aumentar el pH mientras que la de la especie $[\text{CdL}]^+$ incrementa por lo que se le atribuye reactividad esterolítica hacia el 4-NFA, tanto en mezclas de MeCN- H_2O como en H_2O .

Por lo tanto, en las disoluciones con HOxAPy y cadmio, se puede atribuir la reactividad esterolítica hacia el 4-NFA a dos especies: al ligante libre L^- y al complejo $[\text{CdL}]^+$. En las condiciones utilizadas el ligante libre L^- se encuentra presente a concentraciones muy bajas, alrededor de 10^{-11} - 10^{-7} M, mientras que el complejo $[\text{CdL}]^+$ está presente en mayores concentraciones, siendo predominante a $\text{pH} \geq 7$.

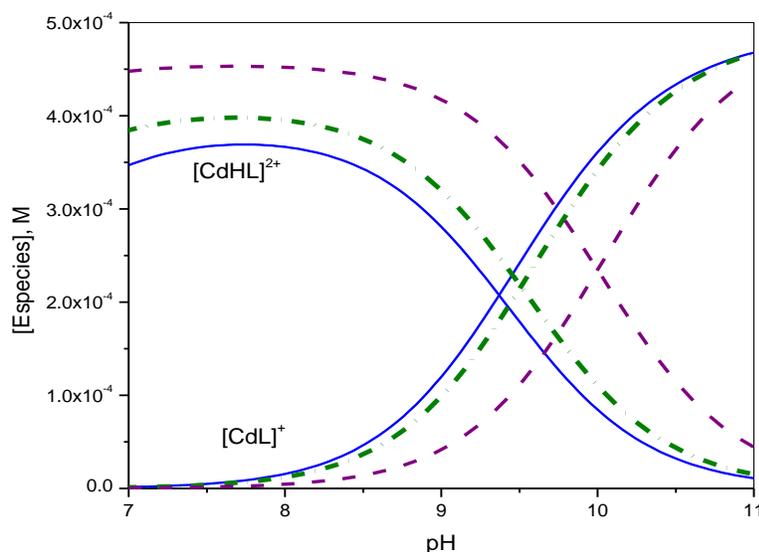


Fig. 6.7.1. Diagrama de distribución de especies de los complejos $[\text{CdHL}]^{2+}$ y $[\text{CdL}]^+$ en medio acuoso (líneas continuas), 30% MeCN- H_2O (•••) y 50% MeCN- H_2O (-·-·-).

Las constantes de rapidez, $k_{\text{obs}} \text{ s}^{-1}$, a estas condiciones se calcularon por el método integral (Ecuación 2) y posteriormente fueron corregidas por la contribución alcalina (k_{OH}) y del ligante libre (k_{Ox}) para los porcentajes 30 y 50% de MeCN, estos valores se enlistan en las tablas 6.7.1 y 6.7.2. respectivamente, al igual que los valores de las k_{corr} .

$$k_{\text{corr}} = k_{\text{obs}} - k_{\text{OH}}[\text{OH}] - k_{\text{L}}[\text{L}]$$

Ecuación 6

Vale la pena mencionar que la concentración del ligante libre es muy pequeña (10^{-11} - 10^{-7} M) por lo que su contribución a la hidrólisis del NFA puede despreciarse y los valores de k_{corr} también se pueden obtener omitiendo la contribución k_{Ox} . y empleando las siguientes ecuaciones:

$$k_{\text{corr}} = k_{\text{obs}} - 6.9[\text{OH}]$$

Ecuación 7a (30% MeCN-H₂O)

$$k_{\text{corr}} = k_{\text{obs}} - 3.46[\text{OH}]$$

Ecuación 7b (50% MeCN-H₂O)

Las concentraciones del complejo [CdL]⁺ a cada una de las condiciones de pH y concentración en las que se obtuvieron curvas cinéticas y constantes de rapidez, $k_{\text{obs}} \text{ s}^{-1}$, para las dos mezclas de acetonitrilo (Tablas 6.7.1 y 6.7.2) Se calcularon con ayuda del programa *Hyss 2009*, utilizando las constantes de protonación y de formación determinadas mediante titulaciones potenciométricas del ligante HOxAPy con el catión divalente Cd en mezclas de MeCN-H₂O.

Finalmente, se graficaron los valores de k_{corr} en función de la concentración del complejo [CdL]⁺ para ambas mezclas, las cuales se muestran en las Fig. 6.7.2 y 6.7.4. Su tendencia es lineal y los datos fueron ajustados con la ecuación de una recta, donde la pendiente es igual al valor de la constante de reactividad intrínseca de segundo orden para el complejo de [CdL]⁺ k_{CdL} , estos valores se encuentran en la tabla 6.7.3 y se incluyen para su comparación, los valores de las constantes para la especie [CdL]⁺ en medio acuoso.

Por otra parte, en las Figs. 6.7.3 y 6.7.5 se muestran las constantes de rapidez corregidas (k_{corr}) sobrepuestas en el diagrama de distribución de especies del ligante con Cd(II) en cada porcentaje de MeCN, junto con una ampliación de la zona en la que se pudo medir reactividad. En estas gráficas se puede observar que la distribución de la especie [CdL]⁺ sigue la tendencia observada en reactividad tanto en las mezclas de MeCN-H₂O como en H₂O.

Tabla 6.7.1. Concentraciones de [CdOxAPy]⁺ y constantes de rapidez corregidas k_{corr} hacia el 4-NFA en 30% MeCN-H₂O.

pH	[CdOxAPy], ×10 ⁶ M	$k_{\text{obs}} \times 10^2, \text{ s}^{-1}$	$k_{\text{OH}}, \times 10^7 \text{ s}^{-1}$	$k_{\text{corr}} \times 10^2, \text{ s}^{-1}$
6.96	1.39	2.04	1.05	2.04
7.14	2.11	1.14	1.59	1.14
7.39	3.74	1.33	2.82	1.33
7.61	6.17	2.16	4.68	2.16
7.94	15.2	11.9	10.0	11.9
8.18	22.2	8.60	17.4	8.60
8.37	33.6	14.5	26.9	14.5
8.63	66.7	31.0	48.9	30.9

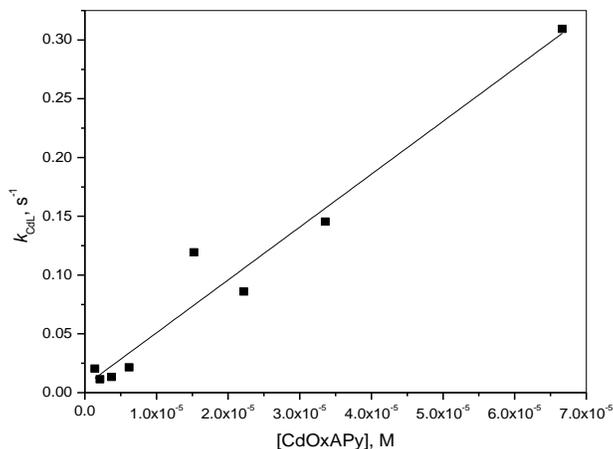


Fig.6.7.2. Constantes corregidas de pseudo primer orden k_{corr} (s^{-1}) del $[\text{CdL}]^+$ para la hidrólisis del 4-NFA variando el pH del medio a 25 °C en 30% MeCN- H_2O . El ajuste lineal tiene una $r^2=0.9757$.

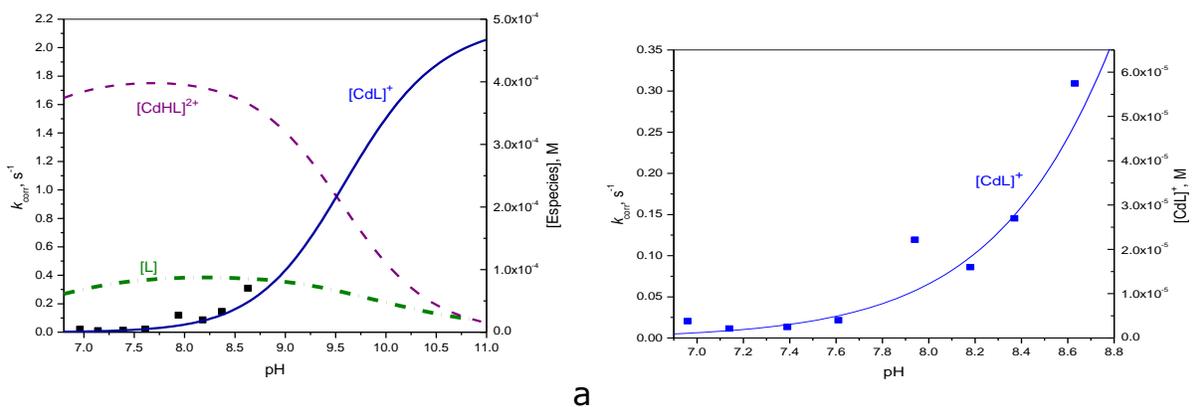


Fig.6.7.3. (a) Diagrama de distribución de especies del ligante HOxAPy y Cd^{2+} en 30% MeCN- H_2O , sobreponiendo las constantes de rapidez corregidas de primer orden (\bullet) k_{corr} , s^{-1} hacia el 4-NFA. Las especies presentes son (...) L, (---) $[\text{CdHL}]^{2+}$ y (línea continua) $[\text{CdL}]^+$, 0.5 mM HOxAPy, 0.5 mM $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$ en 30% MeCN- H_2O . (b) ampliación de las constantes de rapidez corregidas k_{corr} , s^{-1} sobrepuestas con la especie $[\text{CdL}]^+$ (línea continua)

Tabla 6.7.2. Concentraciones de $[\text{CdL}]^+$ y constantes de rapidez corregidas k_{corr} hacia el 4-NFA en 50% MeCN- H_2O .

pH	$[\text{CdOxAPy}] \times 10^7, \text{M}$	$k_{\text{obs}} \times 10^2, \text{s}^{-1}$	$k_{\text{OH}} \times 10^8, \text{s}^{-1}$	$k_{\text{corr}} \times 10^2, \text{s}^{-1}$
7.06	5.15	0.27	2.89	0.27
7.25	8.02	0.29	4.48	0.29
7.43	12.18	0.34	6.78	0.34
7.75	25.48	1.04	14.17	1.04
7.91	36.79	1.56	20.49	1.56
8.16	65.10	2.02	36.43	2.02
8.30	89.44	2.89	50.29	2.89
8.54	153.40	4.54	87.39	4.54

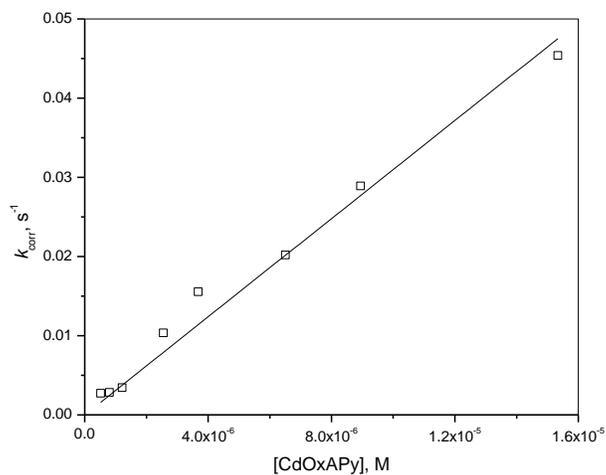


Fig.6.7.4. Constantes corregidas de pseudo primer orden k_{corr} , s^{-1} del $[CdL]^+$ para la hidrólisis del 4-NFA variando el pH del medio a 25 °C en 50% MeCN-H₂O. El ajuste lineal tiene una $r^2:0.9904$.

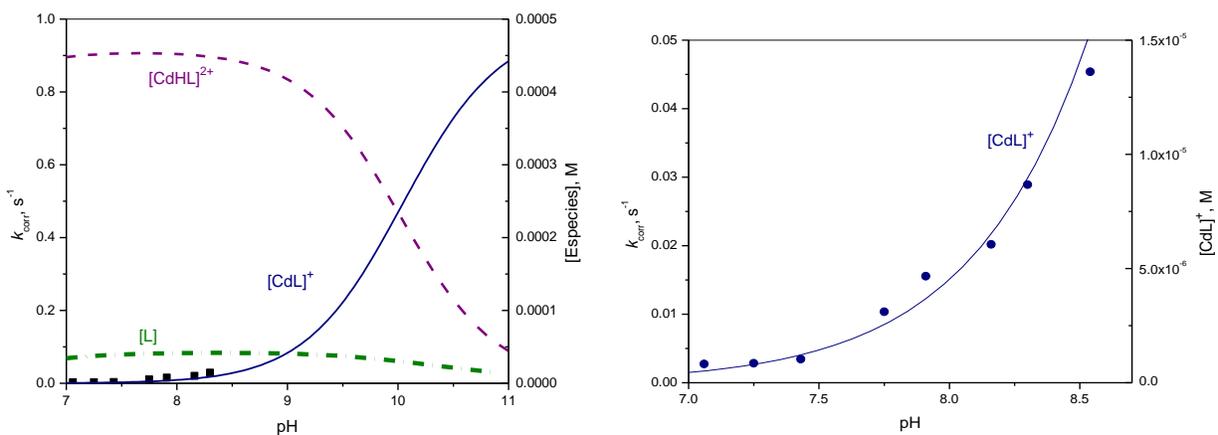


Fig.6.7.5. (a) Diagrama de distribución de especies del ligante HOxAPy y Cd^{2+} en 50% MeCN-H₂O, sobreponiendo las constantes de rapidez corregidas de primer orden k_{corr} , s^{-1} (\bullet) hacia el 4-NFA. Las especies presentes son ($\bullet\bullet\bullet$) L, ($\bullet\text{---}$) $[CdHL]^{2+}$ y (línea continua) $[CdL]^+$. (b) ampliación de las constantes de rapidez corregidas k_{corr} , s^{-1} sobrepuestas con la especie $[CdL]^+$ (línea continua).

Tabla 6.7.3. Constantes intrínsecas de segundo orden del complejo CdOxAPy k_{CdL} en mezclas MeCN-H₂O.

MeCN-H ₂ O	k_{CdL} , $M^{-1} s^{-1}$
0	$10900 \pm 600^*$
30%	4500 ± 370
50%	3100 ± 110

*Datos tomados de la referencia: [Lugo-González, et al., 2017]

De estos resultados podemos decir que la reactividad esterolítica debida al complejo $[\text{CdL}]^+$ presentó el mismo comportamiento tanto en H_2O como en las mezclas de $\text{MeCN}-\text{H}_2\text{O}$, en cuanto a que la reactividad del complejo en 30 y 50% de MeCN (4500 y $3100 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) es dos órdenes de magnitud mayor que la del ligante libre L^- (53 y $37 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) y a que la coordinación del anión oximato con el catión metálico $\text{Cd}(\text{II})$ incrementa la rapidez de reacción en la hidrólisis del 4-NFA comparada al oximato libre, por lo tanto, la presencia del catión metálico facilita la interacción del sustrato y del oximato más allá de disminuir el valor del pK_a del nucleófilo, tal y como sucede en el sitio activo de las enzimas.

Sin embargo, se observa que al aumentar la cantidad de acetonitrilo (disolvente aprótico) la constante de segundo orden disminuye fuertemente pues su valor disminuye de 10900 a 4500 y luego a $3100 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ al pasar de agua a 30 y 50% respectivamente.

Si comparamos la reactividad de los nucleófilos libres con la del complejo en agua y en 30 y 50% de acetonitrilo encontramos que la reactividad intrínseca de OH^- disminuye 50 y 76%, la de OxAPy^- esta disminuye 12 y 38%, y la de la especie reactiva $[\text{CdL}]^+$ disminuye 60 y 70%, por lo tanto la reactividad de OH^- y del complejo se ven más fuertemente afectadas que las del ligante libre, lo cual se debe a efectos de solvatación.

Complejos del ligante HOxAPy con Zn en mezclas MeCN-H₂O

Las constantes de rapidez de pseudo primer orden de los complejos del ligante HOxAPy con $\text{Zn}(\text{II})$, se determinaron por medio de estudios cinéticos, los cuales, tuvieron las siguientes condiciones: 0.5 mM de HOxAPy y $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$, 25 mM de amortiguadores biológicos (MES, MOPS, CHES, CAPS), MeCN necesario para el 30 ó 50% v/v y finalmente 0.05 mM de 4-NFA.

En presencia del ligante HOxAPy y zinc se observaron efectos catalíticos en un intervalo de pH más amplio que en el caso de cadmio y desde pH ácido, $5.0 - 11.0$, por lo tanto se investigó qué especies son predominantes en este intervalo de pH y a las concentraciones empleadas en cinética. En el diagrama de especies del ligante HOxAPy con $\text{Zn}(\text{II})$ para cada medio (Fig. 6.7.1), podemos observar que se encuentran presentes los complejos $[\text{ZnL}]^+$, $[\text{ZnL}(\text{OH})]$ y $[\text{ZnL}(\text{OH})_2]^-$, los cuales, se esperaría que fueran activas.

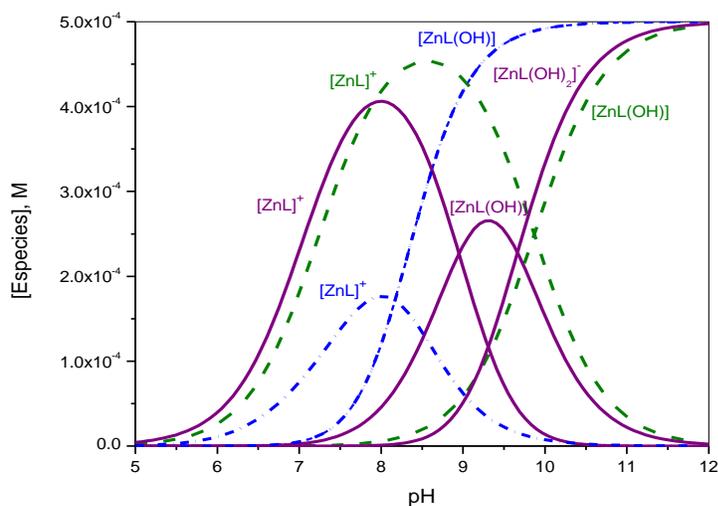


Fig. 6.7.8. Diagrama de distribución de especies de los complejos del ligante HOxAPy con Zn(II) en (---) medio acuoso, (- -) 30% MeCN-H₂O y (línea continua) 50% MeCN-H₂O.

Estudios cinéticos en la mezcla 30% v/v MeCN-H₂O

Las constantes de rapidez, $k_{\text{obs}} \text{ s}^{-1}$, en presencia de HOxAPy y zinc se calcularon por el método integral a todos los valores de pH (Ecuación 2) y posteriormente fueron corregidas únicamente por la contribución alcalina (k_{OH}) en los porcentajes 30 y 50% de MeCN (Ecuaciones 7a y 7b) y los valores obtenidos se enlistan en las tablas 6.7.1 y 6.7.2. Las concentraciones en que se encuentra presente, el ligante libre en las condiciones empleadas en cinética en las mezclas de MeCN-H₂O son del orden de 10^{-14} a 10^{-10} por lo que su contribución es despreciable. Por otro lado, si bien normalmente las reacciones en medio ácido son extremadamente lentas y se suele usar el método de velocidades iniciales, en nuestro caso se usó el método integral incluso a pH 5.0 y se monitoreó tanto la formación del anión 4-nitrofenolato a 400 nm como el producto 4-nitrofenol pues, aunque su coeficiente de extinción es menor que el de su anión, la mayor parte del producto se encuentra protonado en el intervalo de pH 5-7.

En la tabla 6.7.4 se presentan los valores de pH, k_{obs} , $k_{\text{OH}}[\text{OH}]$ y k_{corr} para la mezcla de 30% MeCN-H₂O, y en las fig. 6.7.9 y 6.7.10 se muestran estos datos en forma gráfica (k_{corr} en función del pH de reacción) en coordenadas normales y en coordenadas logarítmicas para que se aprecie la tendencia observada a valores de pH ácido.

Tabla 6.7.4. Valores de pH y sus constantes de rapidez corregidas k_{corr} hacia el 4-NFA en 30% MeCN-H₂O.

pH	$k_{\text{obs}} \times 10^3, \text{s}^{-1}$	$k_{\text{OH}^-} \times 10^9, \text{s}^{-1}$	$k_{\text{corr}} \times 10^3, \text{s}^{-1}$	pH	$k_{\text{obs}} \times 10^2, \text{s}^{-1}$	$k_{\text{OH}^-} \times 10^6, \text{s}^{-1}$	$k_{\text{corr}} \times 10^2, \text{s}^{-1}$
5.19	2.79	1.80	2.79	8.62	21.71	4.79	21.71
5.33	3.35	2.50	3.35	8.71	24.49	5.89	24.49
5.47	4.42	3.40	4.42	8.79	26.17	7.08	26.17
5.60	4.79	4.60	4.79	8.93	27.86	9.77	27.86
5.96	12.3	10.5	12.28	8.94	32.28	10.00	32.28
6.11	18.1	14.8	18.1	8.99	35.14	11.20	35.14
6.24	24.9	20.0	24.95	9.14	26.19	15.90	26.19
6.50	37.2	36.3	37.16	9.18	35.53	17.40	35.53
6.74	60.6	63.1	60.6	9.41	35.19	29.50	35.19
6.86	81.8	83.2	81.8	9.43	57.01	30.90	57.00
6.98	111.7	110.0	111.7	9.54	58.29	39.80	58.29
7.08	111.1	138.0	111.1	9.60	49.77	45.70	49.77
7.11	122.2	148.0	122.2	9.70	61.24	57.60	61.24
7.28	125.5	219.0	125.5	9.87	89.27	85.10	89.26
7.55	190.6	407.0	190.6	9.89	86.10	89.10	86.09
7.75	242.2	646.0	242.2	9.91	59.76	93.30	59.75
7.93	240.5	977.0	240.5	9.95	61.40	102.00	61.39
8.17	222.4	1700	222.4	10.11	99.13	148.00	99.11
8.33	304.2	2460	304.2	10.38	98.88	275.00	98.85
8.37	227.0	2690	227.0	10.48	117.4	347.00	117.4
8.53	330.9	3890	330.9	10.70	102.0	576.00	101.9

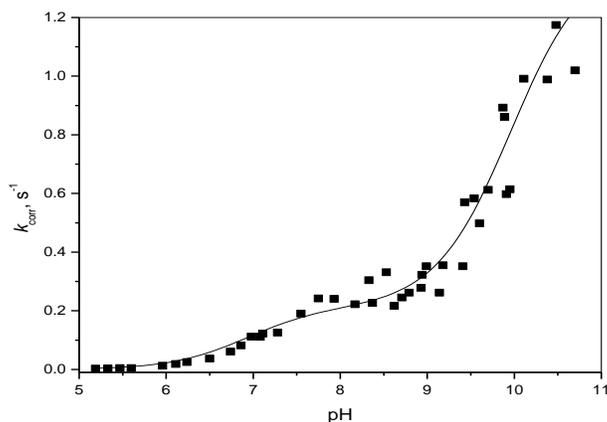


Fig. 6.7.9. Constantes de rapidez corregidas de primer orden k_{corr} (s^{-1}) para diferentes valores de pH en la mezcla 30% MeCN-H₂O. La línea continua es el ajuste para determinar los valores de $\text{p}K_{\text{a}}$ de las especies reactivas.

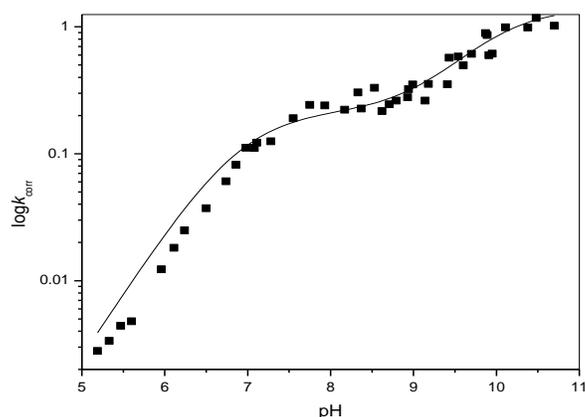


Fig. 6.7.10. Gráfica logarítmica de k_{corr} (s^{-1}) vs pH, en la que se puede apreciar de manera más clara la reactividad catalítica de 2 especies presentes en el medio 30% MeCN- H_2O .

Lo primero que puede observarse es que se observa reactividad esterolítica a valores de pH menores al fisiológico (desde pH 5.0) y que al aumentar el pH, se observan dos “saltos” en la gráfica, lo que indica que hay dos especies reactivas con diferentes valores de $\text{p}K_a$, por lo que se procedió a analizar la reactividad observada en términos de las especies presentes en disolución.

La rapidez de reacción se debe a la suma de las contribuciones de todas las especies nucleofílicas presentes en el medio de reacción, los cuales son: la de hidrólisis alcalina, la del ligante HOxAPy y la de los del ligante con zinc. Si todas las contribuciones son de primer orden, que resulta lógico suponer por lo determinado en este trabajo para el ligante libre y para el complejo de cadmio, la constante de rapidez se puede expresar por la ecuación 8 dado que para las k_{corr} ya se realizó la corrección de las k_{obs} por la contribución alcalina y del ligante libre ($6.9[\text{OH}] + 53.5[\text{L}]$).

$$k_{\text{obs}} = a[\text{ZnHL}] + b[\text{ZnL}] + c[\text{Zn(L)(OH)}]$$

Ecuación 8

En la Fig. 6.7.11 se presentan las k_{corr} sobrepuestas en el diagrama de especies del ligante con Zn(II). Aquí observamos que la tendencia en reactividad es la que presentan las especies $[\text{ZnL}]^+$ y $[\text{Zn(L)(OH)}]$ por lo que probablemente estas sean las especies reactivas. Esto es además congruente con que en la tendencia en reactividad se observaron dos valores de $\text{p}K_a$ cinéticos, los cuales pueden ser de la desprotonación de $[\text{ZnHL}]^{2+}$ y de la desprotonación de una molécula de agua de la especie $[\text{ZnL(H}_2\text{O)}]^+$. Por su parte, no se espera que el complejo $[\text{ZnHL}]^{2+}$ pueda ser una especie cinéticamente activa pues no hay un nucleófilo en su fórmula y la

concentración de esta especie disminuye al aumentar el pH contrariamente a lo observado con la reactividad.

Los valores de los coeficientes a, b y c de la ecuación 8 se determinaron mediante una regresión lineal múltiple. Para ello se calcularon las concentraciones de cada una de estas tres especies a cada una de las condiciones de concentración y pH empleadas en cinética, empleando el programa *HySS* y el conjunto de constantes de acidez y de formación de complejos con zinc previamente determinadas por potenciometría.

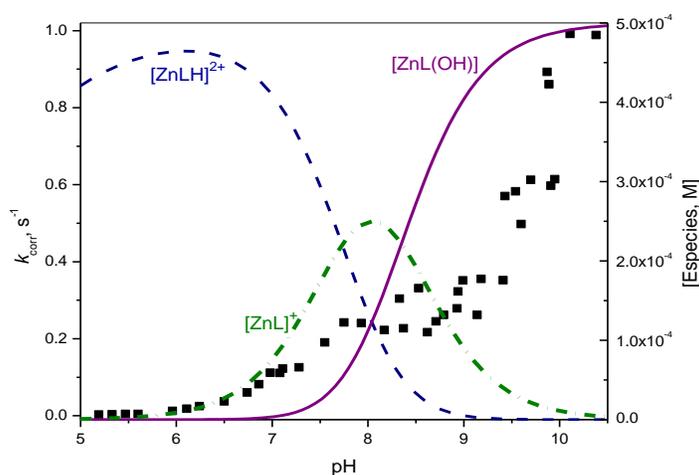


Fig.6.7.11. Diagrama de distribución de especies del ligante HOxAPy y Zn^{2+} en 30% MeCN- H_2O , sobreponiendo las constantes de rapidez corregidas de primer orden k_{corr} , s^{-1} (\bullet) hacia el 4-NFA. Las especies presentes son: (---) $[ZnHL]^{2+}$, (-.-) $[ZnL]^+$ y (línea continua) $[ZnL(OH)]$.

Los resultados obtenidos con el ajuste nos indican que si se emplean las tres especies, como se indica en la ecuación 8, el error de la constante para complejo $[ZnHL]^{2+}$ es varias veces mayor que el de la constante, o tiene un valor negativo si se hace la regresión incluyendo por pares esta especie y $[ZnL]^+$ o $[ZnL(OH)]$, por tanto, esto quiere decir que el complejo $[ZnHL]^{2+}$ no presenta reactividad esterolítica en estas condiciones.

Por lo tanto, no se consideró la especie $[ZnHL]^{2+}$ y la constante de rapidez de reacción se calculó con la ecuación 9 en la mezcla 30% MeCN- H_2O .

$$k_{corr} = 410[ZnL] + 2460[ZnL(OH)]$$

Ecuación 9

Para verificar si este modelo puede reproducir la reactividad observada, se calcularon las constantes de rapidez con la ecuación 9 (k_{calc}) y se compararon con las determinadas experimentalmente. Estos valores se presentan en la tabla 6.7.5.

Tabla 6.7.5. Constantes de rapidez de primer orden corregidas y calculadas (k_{corr} , k_{calc}) y concentraciones molares de los complejos $[\text{ZnHOxAPy}]^{2+}$, $[\text{Zn(OxAPy)(OH)}]$ y $[\text{ZnOxAPy}]^+$, hacia el 4-NFA en 30% MeCN-H₂O.

pH	$k_{\text{corr}} \times 10^3,$ s ⁻¹	ZnLH $\times 10^4,$ M	ZnLOH $\times 10^6,$ M	ZnL $\times 10^6,$ M	$k_{\text{calc}} \times 10^3,$ s ⁻¹
5.19	2.79	4.00	7.76×10^{-5}	3.7	1.53
5.33	3.35	4.11	1.52×10^{-4}	5.3	2.18
5.47	4.42	4.20	2.96×10^{-4}	7.4	3.07
5.6	4.79	4.27	5.47×10^{-4}	10.2	4.21
5.96	12.3	4.33	2.91×10^{-3}	23.6	9.79
6.11	18.1	4.29	5.77×10^{-3}	33.1	13.7
6.24	25.0	4.23	0.01	44.0	18.2
6.50	37.2	3.99	0.03	75.5	31.3
6.74	60.6	3.61	0.09	119.0	49.3
6.86	81.8	3.36	0.14	146.0	60.6
6.98	111.7	3.07	0.23	176.0	73.3
7.08	111.1	2.82	0.33	203.0	84.7
7.11	122.2	2.74	0.37	211.0	88.3
7.28	125.5	2.27	0.67	259.0	109
7.55	190.6	1.56	1.59	332.0	141
7.75	242.2	1.12	2.87	377.0	163
7.93	240.5	0.802	4.70	408.0	180
8.17	222.4	0.493	8.73	437.0	202
8.33	304.2	0.350	12.90	448.0	217
8.37	227.0	0.320	14.30	450.0	221
8.53	330.9	0.224	20.80	453.0	239
8.62	217.1	0.182	25.50	453.0	239
8.71	244.9	0.147	31.30	451.0	250
8.79	261.7	0.121	37.40	448.0	264
8.93	278.6	0.080	50.50	439.0	277
8.94	322.8	0.084	51.60	438.0	306
8.99	351.4	0.074	57.30	433.0	308
9.14	261.9	0.050	77.60	416.0	320
9.18	355.2	0.045	83.90	410.0	363
9.41	351.9	0.024	128.00	368.0	376
9.43	570.0	0.022	133.00	364.0	467

9.54	582.9	0.016	159.00	339.0	477
9.60	497.7	0.014	174.00	324.0	531
9.70	612.4	9.90×10^{-3}	201.00	297.0	563
9.87	892.6	5.62×10^{-3}	250.00	249.0	618
9.89	860.9	5.24×10^{-3}	256.00	243.0	717
9.91	597.5	4.89×10^{-3}	261.00	238.0	729
9.95	613.9	4.24×10^{-3}	273.00	226.0	741
10.11	991.1	2.36×10^{-3}	317.00	182.0	765
10.38	988.5	8.20×10^{-4}	382.00	118.0	856
10.48	1174	5.44×10^{-4}	402.00	98.3	988
10.70	1020	2.14×10^{-4}	436.00	64.3	1028

En las siguientes gráficas (Figs. 6.7.12 y 6.7.13) se presenta esta comparación de los valores de k_{corr} (▪) vs pH con los valores de las constantes de rapidez calculadas k_{calc} (la línea continua), tanto en coordenadas normales para las constantes como en forma logarítmica (para que sea evidente la tendencia a pH 5-7), y puede observarse que el modelo de especies reactivas con sus respectivas constantes de segundo orden de la ecuación 10 permite reproducir adecuadamente los datos experimentales obtenidos en este trabajo.

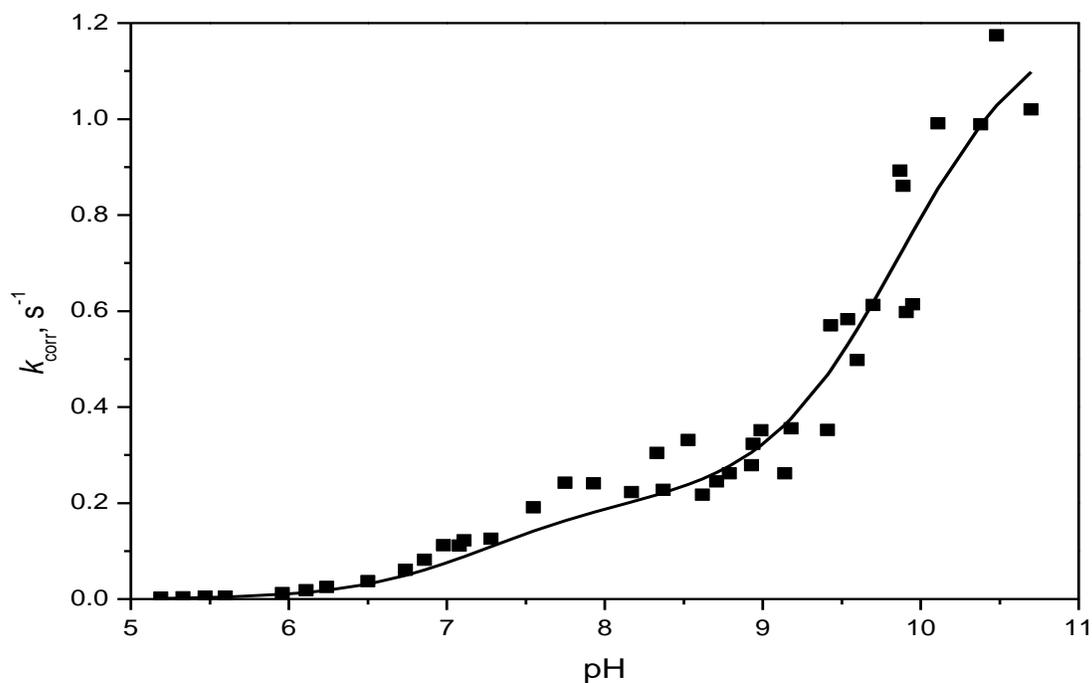


Fig. 6.7.12. Ajuste teórico de constantes de rapidez calculadas (línea continua) k_{calc} , s^{-1} y constantes de rapidez corregidas k_{corr} , s^{-1} hacia el 4-NFA en 30% MeCN-H₂O.

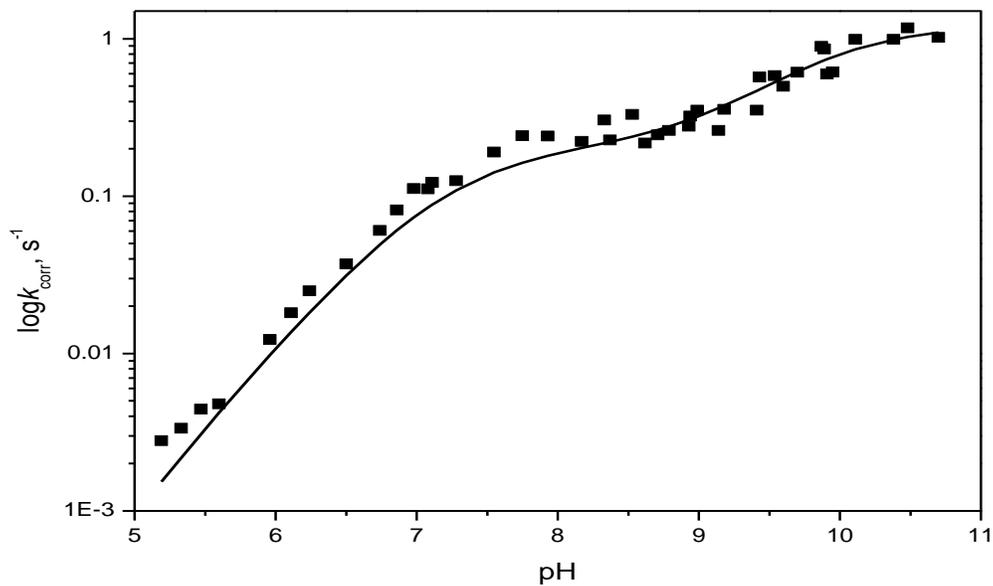


Fig. 6.7.13. Ajuste teórico en escala logarítmica de las constantes de rapidez calculadas (línea continua) $k_{\text{calcul}}, \text{s}^{-1}$ y constantes de rapidez corregidas k_{corr} hacia el 4-NFA en 30% MeCN-H₂O.

El ajuste teórico que se realizó con la ecuación 10 es bastante bueno al cumplir con la tendencia experimental del trabajo, por esta razón, se decidió mostrar el ajuste en coordenadas logarítmicas (Fig. 6.7.13), mostrando que es bueno y eficiente, el modelo obtenido en este trabajo para las especies reactivas $[\text{ZnL}]^{2+}$ y $[\text{Zn(L)(OH)}]$ hacia el 4-NFA en 30% MeCN-H₂O.

Estudios cinéticos en la mezcla 50% v/v MeCN-H₂O

Los estudios cinéticos de los complejos del ligante HOxAPy con Zn(II) en la mezcla de 50% v/v MeCN-H₂O en disolución, también se presentaron como reacciones de primer orden, por lo tanto, las constantes de rapidez k_{obs} fueron obtenidas por medio del ajuste de las curvas cinéticas con la ecuación 2. Estas constantes fueron corregidas por la contribución alcalina a las condiciones de reacción, dado que al igual que en el 30% MeCN, la contribución del ligante libre es despreciable, y se realizó la corrección con la ecuación 7b.

Los valores de las constantes de rapidez corregidas, $k_{\text{corr}} \text{s}^{-1}$, para cada valor de pH se enlistan en la tabla 6.7.6, y se muestran en forma gráfica en las figuras Figs. 6.7.14 y 6.7.1 (coordenadas normales y logarítmicas para que sea clara la tendencia observada a valores de pH entre 5-7). En estas figuras se puede apreciar que, al igual que en 30% de acetonitrilo, se observa reactividad esterolítica desde pH 5, por lo que se procedió a analizarla en función de las especies presentes en disolución.

Tabla 6.7.6. Valores de pH y sus constantes de rapidez corregidas k_{corr} hacia el 4-NFA en 50% MeCN-H₂O.

pH	$k_{\text{obs}} \times 10^3, \text{s}^{-1}$	$k_{\text{OH}} \times 10^8, \text{s}^{-1}$	$k_{\text{corr}} \times 10^3, \text{s}^{-1}$
5.58	3.72	0.0958	3.72
5.76	7.02	0.1450	7.02
6.04	4.96	0.276	4.96
6.15	14.7	0.356	14.7
6.45	28.4	0.710	28.4
6.61	41.8	1.03	41.8
6.79	54.1	1.55	54.1
7.00	59.5	2.52	59.5
7.04	62.7	2.76	62.7
7.23	82.8	4.28	82.8
7.23	73.8	4.28	73.8
7.52	70.7	8.35	70.7
7.79	77.1	15.5	77.1
7.98	98.8	24.1	98.8
8.05	92.3	28.3	92.3
8.92	106	210	106
9.65	172	1130	172
10.28	203	4800	203
10.31	201	5150	200
10.40	190	6330	189
11.21	203	48000	202

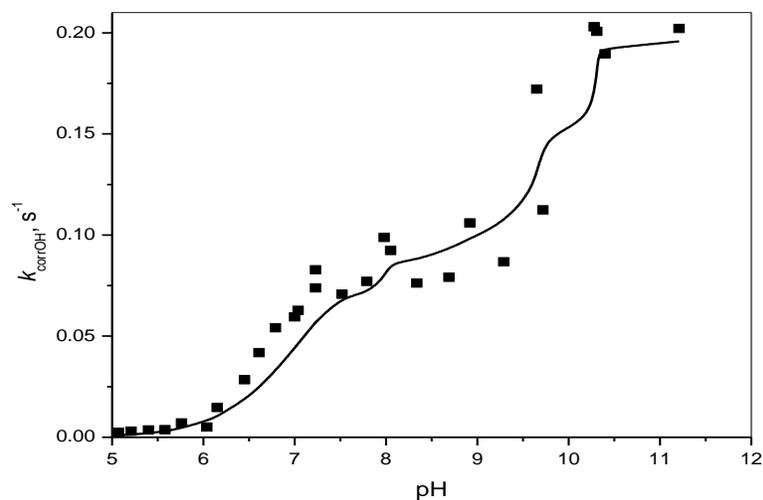


Fig. 6.7.14. Constantes de rapidez corregidas de primer orden k_{corr} (s^{-1}) para diferentes valores de pH en la mezcla 50% MeCN-H₂O. La línea continua es el ajuste para determinar los valores de $\text{p}K_{\text{a}}$ de las especies reactivas.

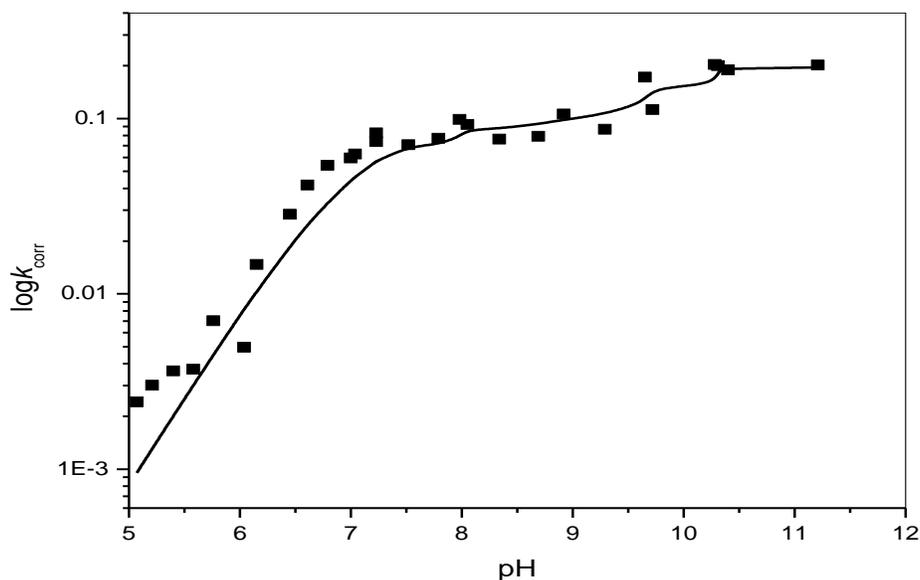


Fig. 6.7.15. Gráfica logarítmica de k_{corr} , (s^{-1}) vs pH, en la que se puede apreciar aparentemente la reactividad catalítica de 3 especies presentes en el medio 50% MeCN- H_2O .

La reactividad esterolítica en la mezcla del 50% MeCN- H_2O , debe ser la suma de las contribuciones de las especies nucleofílicas presentes en el medio de reacción: el ligante desprotonado $OxAPy^-$, los iones OH^- y los complejos del ligante con zinc. En la Fig. 6.7.16 se observa que las especies metal-ligante que son predominantes, y posiblemente activas en este medio, son: $[ZnL]^+$, $[Zn(L)(OH)]$ y $[Zn(L)(OH)_2]^-$.

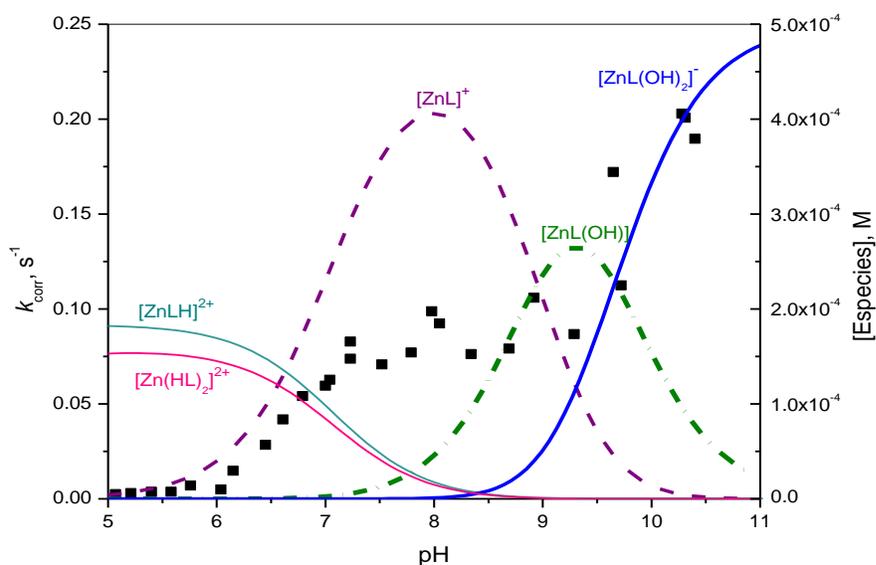


Fig.6.7.16. Diagrama de distribución de especies del ligante HOxAPy y Zn^{2+} en 50% MeCN- H_2O , sobreponiendo las constantes de rapidez corregidas de primer orden (\bullet) k_{corr} , s^{-1} hacia el 4-NFA. Las especies presentes son: (líneas continuas delgadas) $[ZnHL]^2+$ y $[Zn(HL)_2]^2+$, (---) $[ZnL]^+$, (-.-.-) $[ZnL(OH)]$ y (línea continua gruesa) $[Zn(L)(OH)_2]^-$.

La determinación de las constantes de segundo orden que miden la reactividad intrínseca de cada complejo metálico, y que en la ecuación 10 están representadas por los coeficientes a, b, c, d y e, se realizó por medio de una regresión lineal múltiple.

$$k_{\text{corr}} = a[\text{ZnHL}] + b[\text{ZnL}] + c[\text{Zn(L)(OH)}] + d[\text{Zn(L)(OH)}_2] + e[\text{Zn(HL)}_2]$$

Ecuación 10

Para ello se calcula, a cada condición de concentración y pH empleada en cinética, la concentración de cada especie con el programa *HySS*, y se expresa el valor de la constante k_{corr} en función de las constantes de segundo orden para cada complejo y su concentración, de acuerdo a la ecuación 10. Las concentraciones de los complejos $[\text{ZnL}]^{2+}$, $[\text{ZnL(OH)}]$ y $[\text{Zn(L)(OH)}_2]^-$ empleadas para este ajuste se incluyen en la tabla 6.7.7.

Al hacer un análisis cualitativo con el diagrama de distribución de especies sobrepuesto con las constantes de rapidez corregidas k_{corr} (Fig. 6.7.16), aparentemente la reactividad observada puede atribuirse a las especies: $[\text{ZnL}]^+$, $[\text{Zn(L)(OH)}]$ y $[\text{Zn(L)(OH)}_2]^-$, debido a que su concentración aumenta tal como se observa el incremento en la constante de rapidez al incrementarse el pH del medio de reacción.

Al hacer el análisis cuantitativo, con la ecuación 10, que incluye a las especies $[\text{Zn(HL)}_2]$ y $[\text{ZnHL}]^{2+}$, los valores obtenidos para las constantes a y b son negativos o bien tienen un error varias veces mayor a la constante, por lo tanto se concluyó que estas dos especies no atribuyen reactividad catalítica y, finalmente, la rapidez de reacción quedó expresada con la ecuación 11 que sólo incluye las especies $[\text{ZnL}]^+$, $[\text{Zn(L)(OH)}]$ y $[\text{Zn(L)(OH)}_2]^-$:

$$k_{\text{corr}} = 190[\text{ZnL}] + 340[\text{Zn(L)(OH)}] + 400[\text{Zn(L)(OH)}_2]$$

Ecuación 11

Para comprobar este modelo, se calcularon las constantes de rapidez, $k_{\text{calc}} \text{ s}^{-1}$, y fueron graficadas junto con los valores experimentales de k_{corr} (Fig. 6.7.17), de donde resulta claro que los valores calculados con el modelo de la ecuación 11 reproducen adecuadamente los resultados experimentales de este trabajo. En la gráfica 6.7.18 se muestran estos mismos datos en coordenadas logarítmicas en donde se puede apreciar que este modelo reproduce razonablemente los datos a valores de pH ácidos que son poco visibles en coordenadas normales porque las constantes de rapidez son mucho menores, aunque se observa una ligera desviación para los datos entre pH 6.5 y 7.

Tabla 6.7.7. Constantes de rapidez de primer orden corregidas y calculadas (k_{corr} , k_{calc}) y concentraciones molares de los complejos $[\text{ZnL}]^{2+}$, $[\text{Zn(L)(OH)}]$ y $[\text{Zn(L)(OH)}_2]^-$, hacia el 4-NFA en 50% v/v MeCN-H₂O.

pH	$k_{\text{corr}} \times 10^3,$ s⁻¹	$\text{ZnL} \times 10^4,$ M	$\text{ZnL(OH)}_2 \times 10^{10},$ M	$\text{ZnL(OH)},$ $\times 10^6$ M	$k_{\text{calc}} \times 10^3,$ s⁻¹
5.58	3.72	0.159	0.0056	0.0068	3.05
5.76	7.02	0.236	0.019	0.015	4.54
6.04	4.96	0.431	0.013	0.053	8.30
6.15	14.70	0.542	0.26	0.086	10.44
6.45	28.43	0.976	1.9	0.31	18.85
6.61	41.79	1.30	5.4	0.59	25.11
6.79	54.10	1.73	16.0	1.20	33.63
7.00	59.54	2.30	56.0	2.58	45.09
7.04	62.68	2.41	70.6	2.97	47.37
7.23	82.81	2.94	206	5.60	58.30
7.23	73.79	2.94	206	5.60	58.30
7.52	70.74	3.53	782	11.9	71.81
7.79	77.09	3.60	961	13.40	73.79
7.98	98.76	3.92	2750	23.60	83.37
8.05	92.32	4.06	9010	43.50	93.27
8.92	105.9	3.23	14300	154.0	120.5
9.65	172.2	1.21	1120000	266.0	158.9
10.28	202.9	0.368	2470000	217.0	178.9
10.31	200.6	0.0452	3990000	96.60	192.0
10.4	189.6	0.0399	4050000	91.40	192.3
11.21	202.1	0.0274	4200000	77.20	193.4

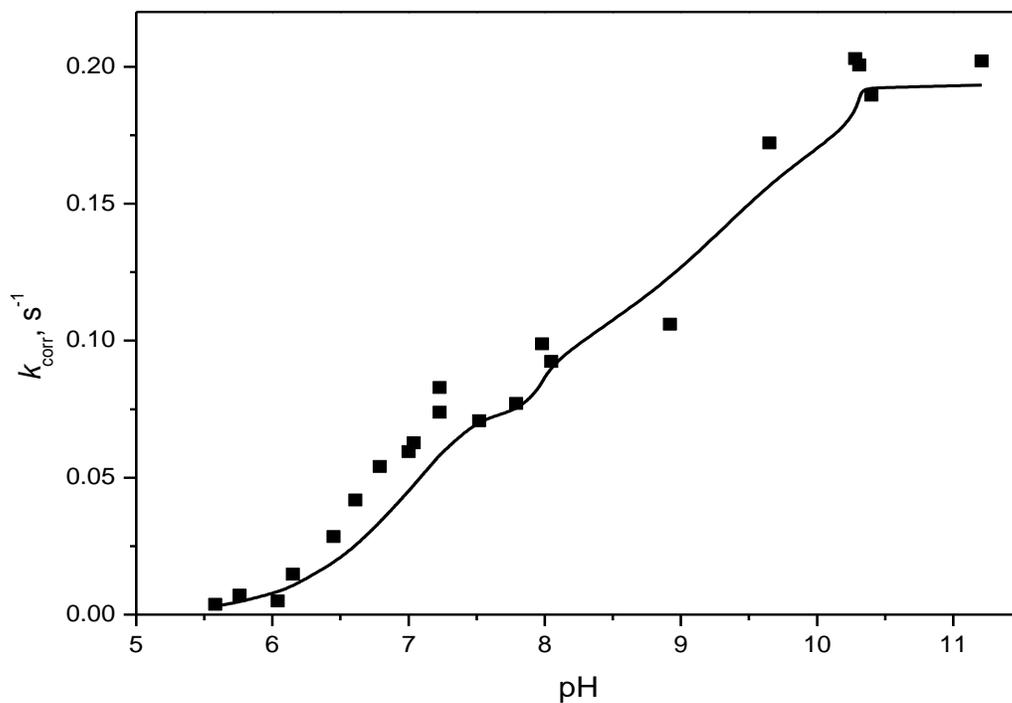


Fig. 6.7.17. Ajuste teórico de constantes de rapidez calculadas (línea continua) k_{calc} (s^{-1}) y constantes de rapidez corregidas k_{corr} (s^{-1}) hacia el 4-NFA en 50% MeCN- H_2O .

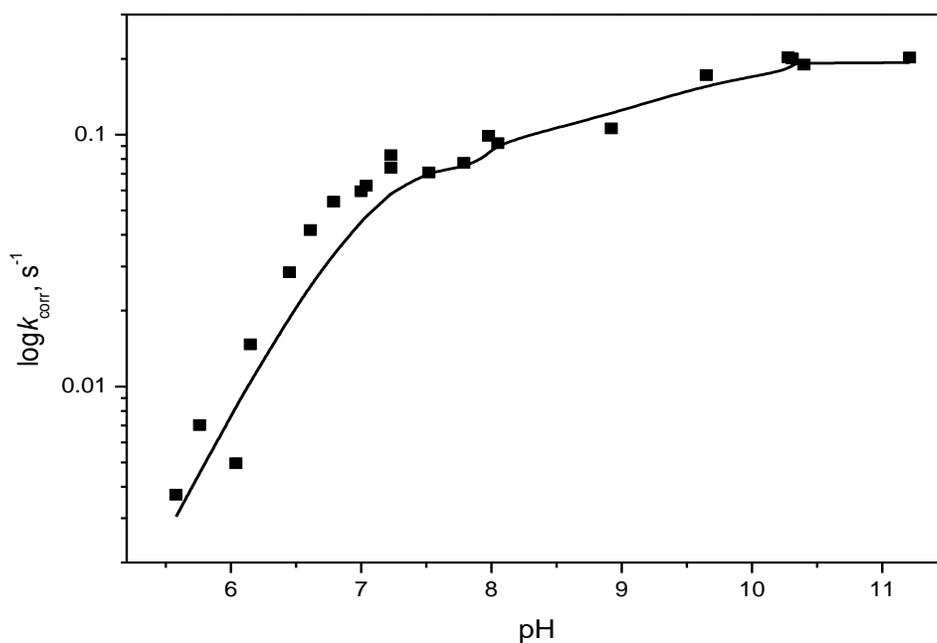


Fig. 6.7.18. Ajuste teórico en escala logarítmica de las constantes de rapidez calculadas (línea continua) k_{calc} (s^{-1}) y constantes de rapidez corregidas k_{corr} (s^{-1}) hacia el 4-NFA en 50% MeCN- H_2O .

7. Análisis global de resultados

Las constantes de disociación ácida del ligante HOxAPy en 30 y 50% v/v de MeCN-H₂O aumentaron al incrementarse la cantidad de acetonitrilo en el medio, por lo tanto, la desprotonación del grupo oxima se lleva a cabo a valores de pH más básicos, como puede verse de la tabla 7.1 y comparando con su valor en agua, 11.74.

En la tabla 7.1 se enlistan los valores determinados de las constantes de equilibrio para los complejos metálicos formados del ligante HOxAPy con los cationes divalentes Cd²⁺ y Zn²⁺ en las mezclas de MeCN-H₂O. Las constantes de asociación con el ligante protonado son mayores y por lo tanto una mayor fracción del ligante está coordinada con zinc, en 50% de MeCN aparece una especie con un catión y dos ligantes neutros que no se forma en medios con mayor porcentaje de agua.

Por otro lado, el aumento del porcentaje de acetonitrilo en la mezcla afecta de diferente forma los valores de pK_a de los complejos metal-oximato. Al incrementar el porcentaje de acetonitrilo, el valor de pK_a del complejo con Cd²⁺ es mayor, siguiendo la misma tendencia que la acidez del ligante, cambia de 9.5 a 10.0. Sin embargo, en el caso del Zn²⁺, el pK_a de los complejos disminuye al pasar de 30 a 50% de MeCN, de 7.2 a 6.6 (disminuye 0.6 unidades) el primer pK_a y de 9.9 a 9.0 (disminuye 0.9 unidades) el segundo pK_a. Esto quiere decir, que la interacción entre el ligante y el zinc es mucho más fuerte que en agua y por lo tanto en este medio se incrementa su carácter como ácido de Lewis compensando incluso el cambio en el pK_a que sufre el ligante (aumenta 0.4 unidades).

Tabla 7.1 Constantes de disociación ácida del ligante HOxAPy y de sus complejos metálicos con Cd(II) y Zn(II).

Reacción	logK o pK_a			
	% v/v MeCN-H₂O			
	30%		50%	
$HL \leftrightarrow L + H^+$	12.93±0.09		13.30±0.07	
	Cd(II)	Zn(II)	Cd(II)	Zn(II)
$M^{2+} + HL \rightarrow M(HL)^{2+}$	4.70	6.27	5.40	6.88
$M(HL)^{2+} + ML^+ + H^+ \leftrightarrow M^{2+} + M(HL)_2$	---	---	---	6.50
$M(HL)(H_2O)_2^{2+} \rightarrow ML(H_2O)_2^+ + H^+$	9.51	7.22	10.00	6.63
$ML(H_2O)_2^+ \rightarrow ML(H_2O)(OH) + H^+$	---	9.87	---	8.95
$ML(H_2O)(OH) + H_2O \rightarrow ML(OH)_2^- + H^+$	---	---	---	9.66

Estos cambios, si bien no modifican la identidad de las especies reactivas encontradas en agua, sí modifican la acidez y la estabilidad de los complejos metal-oximato, por lo tanto, modifican sensiblemente la cantidad de las especies en disolución a unas condiciones dadas. Por esta razón es de suma importancia calcular la concentración de las especies presentes en estos medios para, posteriormente, asignar la reactividad en la hidrólisis del 4-NFA a cada una de estas especies a partir de los datos cinéticos. Es muy importante destacar que uno de los efectos más importantes del catión metálico, ya sea Cd(II) o Zn(II), al coordinarse con el ligante HOxAPy o anión oximato es disminuir drásticamente su basicidad en cualquier medio de reacción, ya sea en mezclas de MeCN-H₂O o sólo en H₂O.

Es importante mencionar que, al cambiar el medio de reacción de agua a mezclas de MeCN-H₂O, el ligante HOxAPy se sigue comportando como un α -nucleófilo en la ruptura del 4-NFA, ya que su reactividad es mucho mayor que la del anión 4-clorofenol que tiene igual basicidad. Sin embargo, la reactividad esterolítica intrínseca del grupo oximato, k_{ox} , es menor en estos medios. Esto quiere decir que la reactividad observada es menor porque al mismo pH la oxima se disocia menos y además porque el anión oximato generado es menos reactivo.

Por otra parte, el medio de reacción al tener un disolvente aprótico causa un cambio en la solvatación presente alrededor del α -nucleófilo, tanto en el estado basal como en el estado de transición. El hecho de que el anión oximato sea menos reactivo en estos medios está relacionado con una modificación en la solvatación del estado basal del nucleófilo, por ello para observar una remoción del fenómeno del *desbalance solvatacional* es necesario que se modifique la solvatación del complejo en el estado de transición. [Um et al., 2006; Buncl et al., 2002]. Por esto, la reactividad del grupo oximato en un medio con hasta 50% de MeCN sigue estando nivelada a pesar de ser mayor el pK_a del oximato. Las constantes de rapidez de oximólisis se presentan en la tabla 7.1.

También se determinaron las constantes de rapidez de la ruptura del 4-NFA para los complejos metal-oximato con los cationes divalentes Cd(II) y Zn(II), estos valores se resumen en la tabla 7.2. De estos valores es claro que la especie responsable de la hidrólisis del 4-NFA en el caso del complejo con Cd(II) es la misma en las mezclas de disolventes y en H₂O, [CdL]⁺, e involucra al ligante desprotonado. En contraste, en el caso de los complejos de Zn(II) hay más especies reactivas. La especie reactiva equivalente con zinc, [ZnL]⁺, no se forma en agua, pero sí en medios con mayor porcentaje de acetonitrilo, y su reactividad es alrededor de 10 veces menor que la

especie de cadmio. La principal especie reactiva, que además aparece en todos los medios de reacción, es $[ZnL(OH)]$. La reactividad de la especie $[ZnL(OH)_2]^-$ fue claramente determinada en agua, sin embargo, únicamente se observó en 50% de MeCN. La reactividad intrínseca de ambas especies hidroxilo es menor al aumentar el porcentaje de disolvente, pero todavía es mayor que la reactividad del anión oximato libre. Esto puede explicarse considerando que el efecto del catión metálico es cada vez menor en la solvatación del complejo como una entidad, y por lo tanto su contribución para desaparecer el efecto del *desbalance solvatacional* es menor, promoviendo que el nucleófilo coordinado oxima exhiba una reactividad proporcional a su basicidad en agua.

En todos los casos, la reactividad esterolítica del complejo del ligante HOxAPy con Cd(II) es mayor que con las formadas con Zn(II), esto se debe en parte a que el complejo con Cd(II) es una especie catiónica, por lo tanto, se encuentra menos solvatada en el medio, lo que hace más fácil el ataque nucleofílico tanto en diferentes porcentajes de MeCN y en su ausencia. Sin embargo, en estos medios se puede comparar la reactividad de las especies catiónicas con ambos metales, y se observa que la reactividad intrínseca de la especie es menor en presencia de zinc. De hecho, la reactividad del complejo de cadmio disminuye un 30% al pasar del 30 al 50% de MeCN, mientras que la reactividad del complejo de zinc disminuye el 50%, lo cual nuevamente refleja que el zinc se comporta como un ácido de Lewis más fuerte en estos medios.

Tabla 7.2. Constantes de rapidez intrínsecas de segundo orden del ligante HOxAPy y de sus complejos metálicos hacia el 4-NFA.

Especies	k_{ox} o k_{ML} , $M^{-1} s^{-1}$					
	% v/v MeCN-H ₂ O					
	H ₂ O*		30%		50%	
L^-	60±2.00		53.54±2.10		36.67±0.83	
ML^+	$Cd(II)$	$Zn(II)$	$Cd(II)$	$Zn(II)$	$Cd(II)$	$Zn(II)$
$ML(OH)$	10 900	---	4500±370	410±70	3100±110	190±20
$ML(OH)_2^-$	---	8910	---	2460±90	---	340±37
	---	79433	---	---	---	400±20

*Datos publicados en la referencia [Lugo-González, et al., 2017].

En la gráfica tipo Brønsted, $\log k_{Nu}$: en función del pK_a del nucleófilo, (Fig. 7.1) se muestra que, cuando las oximas son poco básicas, la reactividad es proporcional a su basicidad, hasta pK_a aproximadamente 8. Sin embargo, existe una nivelación en la reactividad que presentan varias oximas con valores de pK_a mayores a 8. Los datos obtenidos en este trabajo para ligante HOxAPy, reflejan que estas especies siguen en esta zona de nivelación en 30 y 50% v/v MeCN-H₂O.

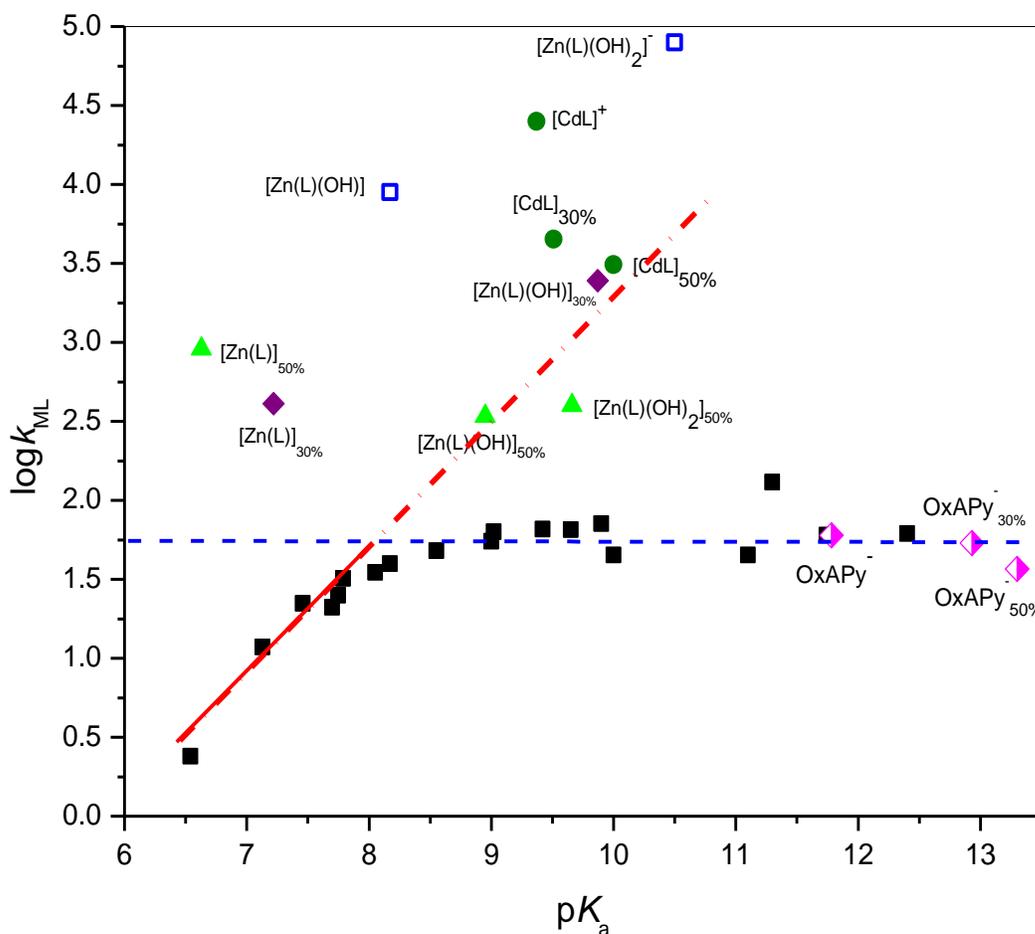


Fig. 7.1. Gráfica de Brønsted (•) diferentes oximas, (●) complejos de Cd(II), (□) complejos de Zn(II) en H₂O, (◇) oximato libre

En la gráfica de Brønsted se aprecia la reactividad de todas las especies estudiadas en este trabajo hacia el 4-NFA en dos porcentajes diferentes de acetonitrilo, donde se observa que los complejos metálicos con Cd(II) o Zn(II), incrementan la reactividad del ligante HOxAPy, lo que genera un incremento en la rapidez de reacción en la hidrólisis del 4-NFA.

Por otra parte, el anión oximato coordinado a cationes metálicos aumenta su reactividad esterolítica sobrepasando la reactividad máxima que presentan los α -nucleófilos (la nivelación en la reactividad de los aniones oximato

alrededor de $50 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) debido a que el *desbalance solvatacional* que causa la nivelación en la reactividad de los aniones oximato, desaparece en presencia de los cationes metálicos.

En general, la reactividad de los complejos metal-oximato en 30 y 50% de MeCN siguen la tendencia esperada al quitarse el efecto del *desbalance solvatacional* que sufren los aniones oximatos muy básicos en agua y que no les permite exhibir una reactividad tan grande como la esperada por su basicidad. La única especie que sale de esta correlación en los medios con acetonitrilo es la especie $[\text{ZnL}]^+$, cuya reactividad aumenta entre 30 y 300 veces con respecto a la esperada por su basicidad. Por su parte, todos los complejos metal-oximato en agua son mucho más reactivos de lo que se podría esperar por su basicidad y salen de esta tendencia, es decir, debe haber efectos adicionales a la remoción del *desbalance solvatacional* que aparecen con la coordinación de la oxima al nucleófilo.

Así, en este trabajo se comprobó que las funciones de los cationes metálicos al coordinarse con α -nucleófilos son varias: disminuir su basicidad, aumentar la reactividad esterolítica del complejo comparada con la del α -nucleófilo libre y modificar la solvatación del nucleófilo (complejos metal-oximato). Se encontró además que el efecto de solvatación al adicionar un disolvente aprótico miscible con agua es más fuerte para los nucleófilos OH^- y complejos metal-oximato que para el ligante libre. Resultaría por lo tanto interesante medir la reactividad en medios con mayor contenido de acetonitrilo ya que es probable que así como la disminución en la reactividad de los complejos metal-oximato sigue la tendencia observada para el nucleófilo OH^- , se esperaría que su reactividad aumente mucho a porcentajes de 70 – 90% de acetonitrilo.

8. Conclusiones

- ❖ La desprotonación del grupo oxima del ligante HOxAPy en mezclas de MeCN-H₂O se lleva a cabo a valores de pH mayores en comparación con el H₂O, por lo que al aumentar el volumen de acetonitrilo disminuye la constante de disociación ácida (K_a) del grupo oxima.
- ❖ El ligante HOxAPy presenta reactividad hacia el éster carboxílico 4-NFA en mezclas de MeCN-H₂O, por lo tanto, se comporta como un α -nucleófilo.
- ❖ Los complejos metálicos formados del ligante HOxAPy con Cd(II) en 30 y 50% MeCN-H₂O son $[CdHL]^{2+}$ y $[CdL]^+$, estos también se forman en medio acuoso, aunque con mayor estabilidad en las mezclas de MeCN-H₂O.
- ❖ Los complejos del ligante HOxAPy con el catión metálico Zn(II) formados en ambos porcentajes de acetonitrilo son diferentes, en 30% se forman las especies $[Zn(HL)]^{2+}$, $[ZnL]^+$ y $[Zn(L)(OH)]$, mientras en el 50% se encuentran las especies mencionadas junto con $[Zn(L)(OH)_2]^-$ y $[Zn(L)_2]^{2+}$. Las especies similares en ambos medios son más estables conforme aumenta la cantidad de acetonitrilo.
- ❖ La basicidad del ligante HOxAPy disminuye drásticamente al coordinarse con los cationes metálicos Cd(II) y Zn(II) en las mezclas MeCN-H₂O al igual que en H₂O. Esto demuestra que una función del catión metálico es disminuir la basicidad de la oxima sin importar el medio de reacción.
- ❖ El complejo $[CdL]^+$ incrementa la rapidez de reacción comparada con el anión oximato libre en la ruptura del 4-NFA en las mezclas MeCN-H₂O.
- ❖ Los complejos con Zn(II) en 30% MeCN son $[ZnL]^+$ y $[Zn(L)(OH)]$; en 50% además se encontró el $[Zn(L)(OH)_2]^-$, los cuales mejoran de manera significativa la reactividad esterolítica comparada al anión oximato.
- ❖ El ciclo catalítico de hidrólisis del 4-NFA con los complejos de Zn(II) en mezclas 30 y 50% MeCN-H₂O se lleva a cabo a valores menores de pH fisiológico.
- ❖ El aumento en la reactividad esterolítica de los complejos metálicos de Cd(II) o Zn(II) comparada al anión oximato libre en las mezclas MeCN-H₂O, remueve el fenómeno del *desbalance solvatacional* presente en los α -nucleófilos (oximas).

9. Bibliografía

- ❖ Buncel, E., & Um, I.-H. [1986]. "The Solvent Effect on the α -Effect". *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 595-595.
- ❖ Buncel, E., Cannes, C., Chatrousse, A. P., & Terrier, F. [2002]. "Reactions of Oximate α -Nucleophiles with Esters: Evidence from Solvation Effects for Substantial Decoupling of Desolvation and Bond Formation". *J. Am. Chem. Soc.*, 124(30), 8766-8767.
- ❖ Bunnett, J. F. [1963]. "Nucleophilic reactivity". *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 14(1), 271-290.
- ❖ Cunningham, G., Vidulich, G., & Kay, R. [1967]. "Several Properties of Acetonitrile-Water, Acetonitrile-Methanol, and Ethylene Carbonate-Water Systems". *J. Chem. Eng. Data*, 12(3), 336-337.
- ❖ Edwards, J. O., & Pearson, R. G. [1962]. "The Factors Determining Nucleophilic Reactivities". *J. Am. Chem. Soc.*, 84(1), 16-24.
- ❖ Ghosh, K., Satnami, M., Sinha, D., & Vaidya, J. [2005]. "Solvent effects on the nucleophilic substitution reactions of *p*-nitrophenyl acetate with hydroxamate ions". *J. Mol. Liq.*, 116(1), 55-60.
- ❖ Gómez-Tagle, P., Lugo-González, J. C., & Yatsimirsky, A. K. [2013]. "Oximate metal complexes breaking the limiting esterolytic reactivity of oximate anions". *Chem. Commun.*, 49(70), 7717-7719.
- ❖ Hamlin, T., Swart, M., & Bickelhaupt, F. [2018]. "Nucleophilic Substitution (SN2): Dependence on Nucleophile, Leaving Group, Central Atom, Substituents, and solvent". *ChemPhysChem*, 19(11), 1315-1330.
- ❖ Han, X., Balakrishnan, V. K., VanLoon, G. W., & Buncel, E. [2006]. "Degradation of the Pesticide Fenitrothion as Mediated by Cationic Surfactants and α -Nucleophilic Reagents". *Langmuir*, 22(21), 9009-9017.
- ❖ Jencks, W., & Gilchrist, M. [1962]. "The Nucleophilic Reactivity of Alcohólate Anions Toward *p*-Nitrophenyl Acetate". *J. Am. Chem. Soc.* 84(15), 2910-2913.
- ❖ Jencks, W., & Gilchrist, M. [1968]. "Nonlinear Structure-Reactivity Correlations. The Reactivity of Nucleophilic Reagents toward Esters". *J. Am. Chem. Soc.*, 90(10), 2622-2637.

- ❖ Johansson, A., & Johansson, S. [1978]. "Automatic titration by stepwise addition of equal volumes of titrant. Part III. Use of linear equations to calculate equivalence volumes in acid-base titrations". *Analyst*, 103(1225), 305-316
- ❖ Kalisiak, J., Ralph, E., Zhang, J., & Cashman, J. [2011]. "Amidine-Oximes: Reactivators for Organophosphate Exposure". *J. Med. Chem.*, 54(9), 3319-3330.
- ❖ Kim, M. Y., Min, S. W., & Um, I. H. [2013]. "Nucleophilic Substitution Reactions of Phenyl Y-Substituted-Phenyl Carbonates with Butane-2,3-dione Monoximate and 4-Chlorophenoxide: Origin of the α -Effect". *Bull. Korean Chem. Soc*, 34(1), 49-53.
- ❖ Kirsch, J. F., & Jencks, W. P. [1964]. "Nonlinear Structure-Reactivity Correlations. The Imidazole-Catalyzed Hydrolysis of Esters". *J. Am. Chem. Soc.*, 86(5), 837-846.
- ❖ Kukushkin, V., Tudela, D., & Pombeiro, A. [1996]. "Metal-ion assisted reactions of oximes and reactivity of oxime-containing metal complexes". *Coord. Chem. Rev.*, 156, 333-362.
- ❖ Livia F. Sgobbi, S. A. [2018]. "Functionalized polyacrylamide as an acetylcholinesterase-inspired biomimetic device for electrochemical sensing of organophosphorus pesticides". *Int. J. Biosens. Bioelectron.*, 100, 290-297.
- ❖ Lugo-González, J. C., Gómez-Tagle, P., Huang, X., M. Del Campo, J., & Yatsimirsky, A. K. [2017]. "Substrate Specificity and Leaving Group Effect in Ester Cleavage by Metal Complexes of an Oximate Nucleophile". *Inorg. Chem.*, 56(4), 2060-2069.
- ❖ Mancin, F., Tecilla, P., & Tonellato, U. [2000]. "Activation of Oximic Nucleophiles by Coordination of Transition Metal Ions". *Eur. J. Org. Chem*, 2000(6), 1045-1050.
- ❖ Neuvonen, H. [1987]. "Kinetics and Mechanisms of Reactions of Pyridines and Imidazoles with Phenyl Acetates and Trifluoroacetates in Aqueous Acetonitrile with Low Content of Water: Nucleophilic and General Base Catalysis in Ester Hydrolysis". *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 2(2), 159-167.
- ❖ Nigst, T., Antipova, A., & Mayr, H. [2012]. "Nucleophilic Reactivities of Hydrazines and Amines: The Futile Search for the α -Effect in Hydrazine Reactivities". *J. Org. Chem.*, 77(18), 8142-8155.

- ❖ Salah, S., Goumont, R., & Boubaker, T. [2017]. "Use of the Brønsted β_{nuc} parameters in Mechanistic interpretation". *J. Tun. Chem. Soc.*, 19, 20-25.
- ❖ Sgobbi, L., & Machado, S. [2018]. "Functionalized polyacrylamide as an acetylcholinesterase-inspired biomimetic device for electrochemical sensing of organophosphorus pesticides". *Int. J. Biosens. Bioelectron.*, 100, 290-297.
- ❖ Shin, M., Yeo, S. E., Kim, M. Y., & Um, I.-H. [2013]. "Origin of the α -Effect in Detoxification of Paraoxon and Parathion by Hydrogen Peroxide Anion". *Bull. Korean Chem. Soc.*, 34(12), 3855-3858.
- ❖ Shrivastava, A., & Ghosh, K. [2008]. "Solvent effect on the α -effect for reaction of p-nitrophenyl diphenylphosphinate with N-methyl 4-methoxy benzohydroxamate ion". *J. Mol. Liq.*, 141, 99-101.
- ❖ Singh, N., Karpichev, Y., Tiwari, A., Kuca, K., & Ghosh, K. [2015]. "Oxime functionality in surfactant self-assembly: An overview on combating toxicity of organophosphates". *J. Mol. Liq.*, 208, 237-252.
- ❖ Suh, J. [1992]. "Model Studies of Metalloenzymes Involving Metal Ions as Lewis Acid Catalysts". *Acc. Chem. Res.* 1992, 25(7), 273-279.
- ❖ Tang, S., Wong, P., Cannon, J., Yang, K., Bowden, S., Bhattacharjee, S., & Choi, S. [2019]. "Hydrophilic scaffolds of oxime as the potent catalytic inactivator of reactive organophosphate". *Chem.-Biol. Interact.*, 297, 67-79.
- ❖ Tarkka, R., & Buncl, E. [1995]. "Origin of the Bell-Shaped α -Effect-Solvent Composition Plots. pK_a -Solvent Dependence of the α -Effect at a Phosphorus Center". *J. Am. Chem. Soc.*, 117(5), 1503-1507.
- ❖ Terrier, F., Rodriguez-Dafonte, P., Le Guével, E., & Moutiers, G. [2006]. "Revisiting the reactivity of oximate α -nucleophiles with electrophilic phosphorus centers. Relevance to detoxification of sarin, soman and DFP under mild conditions". *Org. Biomol. Chem.*, 4(23), 4352-4363.
- ❖ Terrier, F., MacCormack, P., Kizilian, E., Hallé, J.-C., Demerseman, P., Guir, F., & Lion, C. [1991]. "Non-linear Bronsted Correlations: Evidence for a Levelling Off in the Reactivity of Oximate Ions in Aqueous Solution". *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 2(1), 153-158.
- ❖ Terrier, F., Moutiers, G., Xiao, L., Guével, E., & Guir, F. [1995]. "Nonlinear Bronsted Relationships in the Reactions of Phenoxide Ions

- with Bis(4-nitrophenyl) Phenylphosphonate in H₂O-Me₂SO Mixtures. Solvation Effects". *J. Org. Chem*, 60(6), 1748-1764.
- ❖ Um, I.-H., Moon, H.-J., Shin, Y.-H., & Dust, J. M. [2018]. "Medium effect on the α -effect for nucleophilic substitution reactions of *p*-nitrophenyl acetate with benzohydroxamates and *m*-chlorophenoxide in DMSO-H₂O mixtures as contrasts with MeCN-H₂O mixtures: comparing two very different polar aprotic solvent". *Can. J. Chem.*, 96(10), 922-928.
 - ❖ Um, I.-H., Hwang, S. J., & Buncl, E. [2006]. "Solvent Effect on the α -Effect: Ground-State versus Transition-State Effects; a Combined Calorimetric and Kinetic Investigation". *J. Org. Chem.*, 71(3), 915-920.
 - ❖ Um, I.-H., Shin, Y.-H., Han, J.-Y., & Buncl, E. [2006]. "Medium effects on the α -effect in DMSO-H₂O mixtures-Comparative studies of *p*-nitrophenyl benzoate and acetate-Dissection of ground-state and transition-state effects". *Can. J. Chem.*, 84(11), 1550-1556.
 - ❖ Um, I.-H., Lee, J.-Y., Bae, S.-Y., & Buncl, E. [2005]. "Effect of modification of the electrophilic center on the α -effect". *Can. J. Chem*, 83(9), 1365-1371.
 - ❖ Um, I.-H., Lee, E.-J., & Buncl, E. [2001]. "Solvent Effect on the α -Effect for the Reactions of Aryl Acetates with Butane-2,3-dione Monoximate and *p*-Chlorophenoxide in MeCN-H₂O Mixtures". *J. Org. Chem.*, 66(14), 4859-4864.
 - ❖ Um, I. H., & Buncl, E. [2000]. "The origin of the α -effect: Dissection of ground-state and transition- state contributions". *J. Org. Chem.*, 65(2), 577-582.
 - ❖ Um, I.-H., Park, Y.-M., & Buncl, E. [2000]. "The effect of solvent on the α -effect: The MeCN-H₂O solvent system". *Chem. Commun.*,(19), 1917-1918.
 - ❖ Um, I.-H., Yoon, H.-W., Lee, J.-S., Moon, H.-J., & Kwon, D.-S. [1997]. "Effect of Solvent on the α -Effect: Nucleophilic Substitution Reactions of *p*-Nitrophenyl Acetate with *m*-Chlorophenoxide and Benzohydroxamates in MeCN-H₂O Mixtures of Varying Compositions". *J. Org. Chem.*, 62(17), 5939-5944.
 - ❖ Wille , T., Kaltenbach, L., Thiermann, H., & Worek, F. [2013]. "Investigation of kinetic interactions between approved oximes and

human acetylcholinesterase inhibited by pesticide carbamates". *Chem.-Biol. Interact.*, 206(3), 569-572.

- ❖ Worek, F., & Thiermann, H. [2013]. "The value of novel oximes for treatment of poisoning by organophosphorus compounds". *J. Pharmacol. Ther.*, 139(2), 249-259.
- ❖ Worek, F., Thiermann, H., & Wille, T. [2016]. "Oximes in organophosphate poisoning: 60 years of hope and despair". *Chem.-Biol. Interact.* 259(1), 93-98.
- ❖ Yatsimirsky, A. K., Gómez-Tagle, P., Escalante-Tovar, S., & Ruiz-Ramírez, L. [1998]. "Kinetics and mechanism of ester hydrolysis by metal complexes of 2,6-diacetylpyridine dioxime". *Inorganica Chim. Acta*, 273(1-2), 167-174.
- ❖ Zhao, W.-Y., Yu, J., Ren, S.-J., Wei, X.-G., Qiu, F.-Z., & Li, P.-H. [2015]. "Probing the Reactivity of Microhydrated α -Nucleophile in the Anionic Gas-Phase SN2 Reaction". *J. Comput. Chem.*, 36(11), 844-852.
- ❖ Zoltewicz, J., & Deady, L. [1972]. "A Search for the α Effect among Heteroaromatic Nitrogen Nucleophiles". *J. Am. Chem. Soc.*, 94(8), 2765-2769.

Apéndices

Determinación de la constante de rapidez observada k_{obs} , por el método integral

La ecuación cinética (1) para la reacción de hidrólisis del éster 4-NFA es la siguiente:

$$\frac{d[4 - NF^-]}{dt} = k[4 - NFA][Nuc] \quad (1)$$

La ecuación (1) es considerada de orden uno para cada especie, donde $[Nuc]$ es la concentración del nucleófilo libre o coordinado a cationes metálicos. En presencia de metales la concentración del nucleófilo no cambia con el tiempo, por lo que funciona catalíticamente y se tiene una condición de pseudo primer orden, por esta razón la rapidez de la formación del 4-nitrofenol es igual:

$$\frac{d[4 - NF^-]}{dt} = k_{obs}[4 - NFA] = -\frac{d[4 - NFA]}{dt} \quad (2)$$

Se integra la ecuación diferencial para $t=0$ se obtiene:

$$\int \frac{d[4 - NF^-]}{dt} = -k_{obs}dt \quad (3)$$

$$[4 - NFA] = [4 - NFA]_0 e^{-k_{obs}t} \quad (4)$$

Se realiza el balance de masas del 4-NFA:

$$[4 - NFA] = [4 - NFA]_0 - [4 - NF^-] \quad (5)$$

Por lo que para obtener una dependencia en función de la concentración del 4-NFA inicial se sustituye la concentración del 4-NFA en la ecuación (4) y se despeja la concentración del 4-NF⁻:

$$[4 - NFA]_0 - [4 - NF^-]_0 = [4 - NFA]_0 e^{-k_{obs}t} \quad (6)$$

$$[4 - NF^-] = [4 - NFA]_0 - [4 - NFA]_0 e^{k_{obs}t} \quad (7)$$

$$[4 - NF^-] = [4 - NFA]_0(1 - e^{-k_{obs}t}) \quad (8)$$

Se considera la Ley de Lambert-Beer que relaciona el producto del coeficiente de absorción molar, la concentración y la longitud de paso óptico en el medio con la absorbancia:

$$A = \epsilon l C \quad (9)$$

Tomando en cuenta que se utilizó una celda con paso óptico de 1 cm de longitud, y que la absorbancia del 4-NF⁻ se monitoreó a una longitud de onda de 400 nm, la absorbancia de la especie en función de la concentración queda de la siguiente manera:

$$A^{400} = A_{4-NF^-}^{400} [4 - NF^-] \quad (10)$$

Luego se despeja la concentración del 4-NF⁻ de la ecuación (10), se sustituye en la ecuación (8), se despeja la absorbancia a 400 nm y se obtiene la siguiente ecuación:

$$A^{400} = A_{4-NF^-}^{400} [4 - NFA]_0 (1 - e^{-k_{obs}t}) \quad (11)$$

Al tiempo infinito, hay una conversión completa del 4-NFA inicial, por lo que queda:

$$A^{400} = A^{400}(1 - e^{-k_{obs}t_{\infty}}) \quad (12)$$

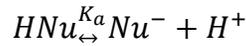
Sin embargo, la lectura se realiza a un tiempo (t_0), por lo que habrá una concentración inicial del producto debido al tiempo de transformación no monitoreado (A_0), por lo tanto, la ecuación final queda de la siguiente manera:

$$A^{400} = A_0 + (A_{inf} - A_0)(1 - e^{-k_{obs}t_i}) \quad (13)$$

Donde el tiempo instrumental (t_i) es: $t_i = t - t_0$

Determinación de la constante de disociación ácida de los nucleófilos

Se calcula el valor de la constante de disociación ácida de los nucleófilos, considerando el siguiente equilibrio:



En la cual, la constante de disociación ácida se expresa de la siguiente forma:

$$K_a = \frac{[Nu^-][H^+]}{[HNu]} \quad (14)$$

Se realiza el balance de masa:

$$[HNu]_0 = [HNu] + [Nu^-] \quad (15)$$

De acuerdo a la Ley de Lambert-Beer, la absorbancia de la disolución, para una celda de 1 cm de paso óptico está dada por:

$$Abs = \varepsilon_1([HNu]_0 - [Nu^-]) + \varepsilon_2[Nu^-] \quad (16)$$

Despejando del balance de masa el nucleófilo protonado, $[HNu]$, se sustituye en la ecuación (16) y se obtiene:

$$Abs = \varepsilon_1([HNu]_0 - [Nu^-]) + \varepsilon_2[Nu^-] \quad (17)$$

Se despeja de la ecuación (14) la concentración del nucleófilo desprotonado, $[Nu^-]$, se sustituye en la ecuación (17) y se asocian términos para obtener la siguiente ecuación:

$$Abs = \varepsilon_1[HNu]_0 + (\varepsilon_2 - \varepsilon_1) \frac{[H^+][Nu^-]}{K_a} \quad (18)$$

Se sustituye en el balance de masa la especie $[Nu^-]$ de la ecuación (14) y queda la siguiente expresión:

$$\begin{aligned} [HNu]_0 &= \frac{[H^+][Nu^-]}{K_a} + [Nu^-] = [Nu^-] \left(\frac{[H^+]}{K_a} + 1 \right) \\ [Nu^-] &= \frac{[HNu]_0}{\left(\frac{[H^+]}{K_a} + 1 \right)} \end{aligned} \quad (19)$$

Por último, se sustituye la ecuación (19) en la (18) generando la siguiente ecuación:

$$Abs = \varepsilon_1[HNu]_0 + (\varepsilon_2 - \varepsilon_1) \left(\frac{[H^+]}{K_a} \right) \frac{[Nu]_0}{\left(\frac{[H^+]}{K_a} + 1 \right)}$$

$$Abs = \frac{\varepsilon_1 \left[[HNu]_0 \left(\frac{[H^+]}{K_a} + 1 \right) + (\varepsilon_2 - \varepsilon_1) \left(\frac{[H^+][HNu]_0}{K_a} \right) \right]}{\left(\frac{[H^+]}{K_a} + 1 \right)}$$

$$Abs = \frac{\varepsilon_1[HNu]_0 + \varepsilon_2[HNu]_0 \left(\frac{[H^+]}{K_a} \right)}{\left(\frac{[H^+]}{K_a} + 1 \right)} \quad (20)$$

A la ecuación (20) se le aplica logaritmo, se sustituye el producto del coeficiente de absorptividad y la concentración por la absorbancia, obteniendo la siguiente ecuación:

$$Abs = \frac{(k_{nuc} + k_0)10^{pK_a - pH}}{1 + 10^{pK_a - pH}} \quad (21)$$