



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

Complejos metal-oximato de 8-hidroxiquinoleínas como catalizadores esterolíticos

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. Ricardo Ortiz Rico

Dra. Claudia Paola Gómez Tagle Chávez
Facultad de Química, UNAM

Ciudad de México, Septiembre de 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

TÍTULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Complejos metal-oximato de 8-hidroxiquinoleínas como catalizadores esterolíticos

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A

Q. Ricardo Ortiz Rico

Dra. Claudia Paola Gómez Tagle Chávez
Facultad de Química, UNAM



Ciudad de México, Septiembre

2019

El presente trabajo se desarrolló en el Departamento de Química Inorgánica y Nuclear de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, Laboratorio 213 de Posgrado. Los resultados obtenidos se presentaron en el 52° Congreso Mexicano de Química, celebrado en Puerto Vallarta del 26-29 de septiembre de 2017.

Agradecimientos

La realización de este trabajo no hubiera sido posible sin la generosa colaboración de varias personas e instituciones a quienes deseo agradecer.

A mi tutora Claudia Paola Gómez Tagle Chávez por su apoyo, comprensión y paciencia.

A los miembros del jurado de mi examen de grado, Dra. Noráh Barba Behrens, Dr. Rafael Moreno Esparza, Dr. Alberto Rojas Hernández, Dra. Elizabeth Gómez Pérez y Dr. José Ivan Castillo Pérez, por la revisión del informe y sus valiosos comentarios que me ayudaron a mejorarlo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por la oportunidad de estudiar un posgrado, y al Posgrado en Ciencias Químicas por permitirme desarrollar este proyecto

A CONACyT por la beca otorgada en el periodo 2016-2 a 2018-2, con el número de becario 601408 para la realización de mis estudios de posgrado.

A DGAPA-UNAM-PAPIIT por el apoyo económico recibido a través de los Proyectos IN214514 e IN 219718.

A Facultad de Química de la UNAM por los recursos otorgados a través del Proyecto PAIP 5000-9161.

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

A los doctores Anatoly Yatsimirsky, David Díaz y Arturo Jiménez, por el apoyo recibido.

A mis compañeros Karla Trejo, Carlos Lugo, Mayte Martínez, Elizabeth Alpizar, Alejandra López y Tonantzin Cordero del laboratorio por su amistad y su apoyo.

Abreviaturas

NPA	4-nitrofenil acetato.
Abs	Absorbancia
A_0	Absorbancia al tiempo inicial
A_{inf}	Absorbancia al tiempo infinito
AcOEt	Acetato de etilo
ϵ	Coefficiente de absortividad molar
EtOH	Etanol
Hex	Hexano
IR	Infrarrojo
k	Constante de rapidez
k_{obs}	Constante de rapidez observada
k_{OH}	Constante de rapidez de hidrolisis alcalina
k_{corrOH}	$k_{obs} - k_{OH}[OH^-]$
k_{ML}	Constante de rapidez del complejo ML
k_{PhO}	Constante de velocidad de segundo orden para el anión fenolato
k_{Ox}	Constante de velocidad de segundo orden para el anión oximato
k_{MOx}	Constante de velocidad de segundo orden para el anión oximato coordinado
nm	Nanómetros
pK_a	Logaritmo negativo de la constante de disociación ácida
$t_{1/2}$	Tiempo de vida media
Φ_F	Rendimiento cuántico
λ	Longitud de onda
CHES	Ácido 2-(cicloexilamino)-etanosulfónico
MES	Ácido 2-(N-morfolino)-1-etanosulfónico
MeOH	Metanol
MOPS	Ácido 3-morfolinopropano-1-sulfónico
CAPS	Ácido 3-(cicloexilamino)-1-propanosulfónico
NET	Negro de eriocromo T
DMSO	Dimetilsulfóxido.
MeCN	Acetonitrilo.

Resumen

En este trabajo se reporta la reactividad esterolítica frente al sustrato modelo NPA de tres oximas y el efecto catalítico de sus complejos metal-oximato en medio acuoso con 10% disolvente orgánico a 25°C. Estas oximas, derivadas de la 8-hidroxiquinoleína, son capaces de coordinarse a distintos cationes metálicos ya que poseen el mismo sitio de coordinación y sólo difieren en el grupo sustituyente: —H, —CH₃, —NH₂, esto genera distintos efectos electrónicos sobre la oxima, reflejados en su la basicidad y en la reactividad nucleofílica de sus respectivos aniones oximato, considerados como α -nucleófilos. Al coordinarse con los cationes metálicos, la reactividad del anión oximato, se incrementa, en los tres ligantes estudiados, según el catión y el pH empleado. Adicionalmente, con los cambios en el espectro electrónico que se inducen por la desprotonación de los ligantes a distintos valores de pH y la formación de complejos, permitieron identificar las especies cinéticamente activas.

Introducción

Los iones oximato son conocidos por participar en reacciones de ruptura y/o hidrólisis de ésteres carboxílicos y fosfato, y son considerados α -nucleófilos debido a que su reactividad en medios acuosos es superior a la de otros nucleófilos de basicidad similar. En términos generales al incrementarse el pK_a de un nucleófilo aumenta su reactividad, sin embargo en el caso de las oximas, su reactividad, medida por las constantes de velocidad de segundo orden para el anión oximato ($k_{ox} M^{-1}s^{-1}$), aumenta de forma lineal hasta un pK_a alrededor de 8 pero se nivela a valores mayores. Así, las constantes de segundo orden de numerosas oximas con valores de pK_a entre 8.5-12.3, se mantiene constante entre 50-100 $M^{-1}s^{-1}$. Esto ha sido explicado en términos de la desbalance que existe entre la desolvatación que debe sufrir el nucleófilo antes de reaccionar y el ataque nucleofílico en sí. Esto provoca que los nucleófilos más básicos no reaccionen más rápidamente.¹

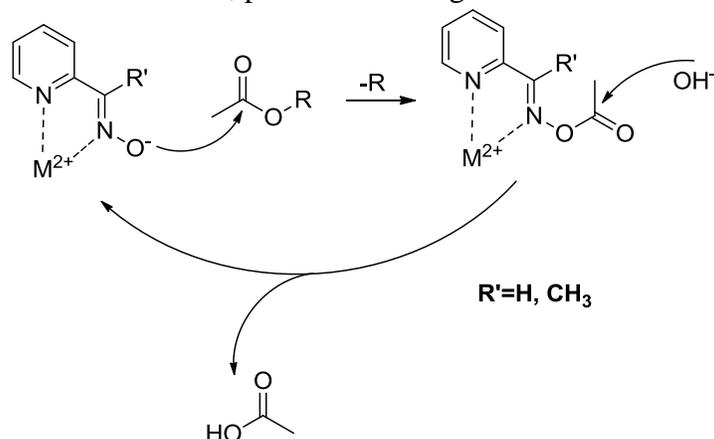
Por otro lado, el reconocimiento de cationes metálicos de transición en disolución acuosa es un campo de estudio de gran relevancia ya que involucra disciplinas, que estudian desde aspectos biológicos, médicos y del medio ambiente. Es por ello que el desarrollo de compuestos que permitan identificarlos y cuantificarlos con alta sensibilidad y precisión ha adquirido gran importancia.²

A pesar de que hay muchos métodos de detección, los métodos que emplean espectrofotometría de UV-Vis y fluorescencia son los más comunes debido a su alta sensibilidad y facilidad de uso.³ En este aspecto, las 8-hidroxiquinoleínas son capaces de formar complejos con diversos cationes metálicos y por ser compuestos aromáticos presentan bandas de absorción en la región del UV-Vis, por lo que son buenas candidatas para su uso como ligantes cuyos complejo metálicos que puedan ser monitoreados fácilmente por métodos espectrofotométricos. La aplicación de derivados de 8-hidroxiquinoleínas con propiedades quelantes hacia cationes metálicos de transición (Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+})⁴ se conoce desde hace varias décadas, sin embargo recientemente se han estudiado otros derivados con este fragmento que se coordinan selectivamente con Zn^{2+} y Cd^{2+} dando una respuesta en fluorescencia.⁵ También han utilizado este tipo de complejos como modelos enzimáticos al formar complejos ternarios, ligante-metal-sustrato con Cu^{2+} .⁶

Hasta el momento, no se ha explorado la posibilidad de sintetizar 8-hidroxiquinoleínas sustituidas en la posición 2 con una doble función, como sensores y catalizadores. En este proyecto se desea explorar esta posibilidad obteniendo derivados de 8-hidroxiquinoleína que contengan grupos con el fragmento oxima, que ha sido empleado como α -nucleófilo coordinado a cationes metálicos y posee una reactividad excepcionalmente grande hacia ésteres de ácidos carboxílicos,⁷ o con el fragmento amidoxima que presenta reactividad como nucleófilo tanto en su forma neutra como en su forma aniónica.⁸

Antecedentes.

La capacidad del ion oximato para hidrolizar ésteres, tanto en su forma libre como en forma de complejos metálicos, ha sido estudiada desde los años 60's,⁹ y se ha establecido que el mecanismo de hidrólisis mediante complejos metal-oximato se lleva a cabo por el mecanismo de sustitución nucleofílica y transcurre de forma catalítica en dos etapas, tal como sucede con un nucleófilo orgánico. El primer paso es un ataque nucleofílico, formando el complejo acilado y posteriormente sucede la desacilación del nucleófilo generalmente por un grupo OH⁻ intramolecular o del medio externo. Esto fue probado mediante estudios cinéticos que mostraron que el centro metálico (Cu²⁺ o Zn²⁺) promueve la desacilación del anión oximato acilado, permitiendo así generar un ciclo catalítico.^{1a}



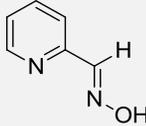
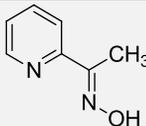
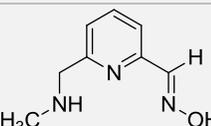
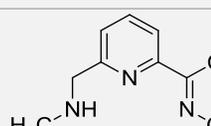
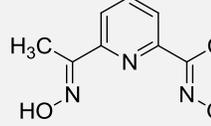
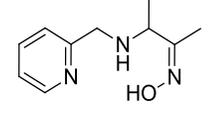
Esquema 1. Mecanismo de hidrólisis catalítica de ésteres carboxílicos mediante complejos metal-oximato. El OH⁻ proviene del medio o de la de esfera de coordinación de Mⁿ⁺.¹

Por otro lado se sabe que la capacidad del oximato como nucleófilo, está directamente relacionada con el valor pK_a de la oxima y del anión oximato coordinado, Tabla 1.

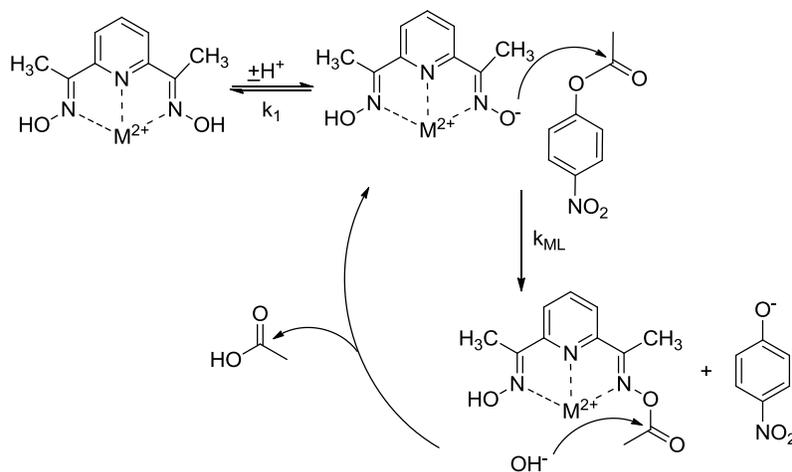
En presencia de cationes metálicos, cuando estos se coordinan al nitrógeno del grupo oxima, su valor de pK_a disminuye al mismo tiempo que la densidad electrónica de este nitrógeno ya no está disponible para el efecto α. Si el valor de pK_a de la oxima es menor que 8, su reactividad es proporcional a su basicidad y cuando se coordina a un catión metálico, su reactividad disminuye reflejándose en menores valores de la constante de velocidad, k_{Ox}. Si la oxima es muy básica, 9 < pK_a < 12 su reactividad ya no depende de su basicidad pues en agua la mayoría de ellas exhibe valores de k_{Ox} entre 50-100 M⁻¹s⁻¹ y si al coordinarse con cationes metálicos su pK_a se conserva en este intervalo no pierde su reactividad, tal es el caso de los complejos metal-oximato con Ni²⁺, Cu²⁺ y Zn²⁺ de las oximas 1-4 (Tabla 1).

Sin embargo, se ha observado que para algunos complejos este no es el caso y la reactividad intrínseca del nucleófilo metal-oximato, k_{MOx} M⁻¹s⁻¹, es mayor a la del ligante libre, lo cual nos indica que el papel que juega el catión metálico no es únicamente modificar el pK_a de la oxima correspondiente. Por ejemplo los complejos de Zn²⁺ de las oximas 2 y 5 (Tabla 1).¹⁰ Recientemente hemos demostrado, en el grupo de investigación, que la reactividad de los complejos metal-oximato no sólo puede ser mayor, sino que puede superar a la del ligante libre por varios órdenes de magnitud llegando a equipararse a la de metaloenzimas hidrolíticas naturales (complejos con Zn²⁺ y Cd²⁺ de la oxima 6).^{7c,7d} A pesar de que este efecto es de gran interés por las posibles aplicaciones, todavía no ha sido comprendido a profundidad, se piensa que puede ser el resultado de: cambios en la solvatación, la estabilidad del complejo y de efectos electrónicos.

Tabla 1. Logaritmos de las constantes de formación y acidez para varias oximas y complejos metal-oximato, y constantes de segundo orden, k_{Ox} $M^{-1}s^{-1}$, en la hidrólisis de NPA en agua a 25°C. Tomados de referencias 7c, 7d y 10.

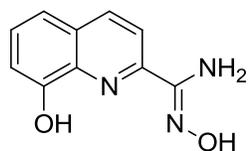
Oxima	Metal	Log K_f	p K_a	k_{Ox} , $M^{-1}s^{-1}$
 1	—		10.0	45
	Cu^{2+}	4.7	3.2	0.003
	Ni^{2+}	4.2	6.2	0.46
	Zn^{2+}	2.2	6.5	9.4
 2	—		10.8	22
	Cu^{2+}	5.9	3.5	0.2
	Ni^{2+}	5.0	6.1	6.5
	Zn^{2+}	2.6	7.0	200 (400)
 3	—		9.9	71
	Cu^{2+}	7	5.1	0.001
	Ni^{2+}	5.3	6.5	0.1
	Zn^{2+}	2.7	7.7	2.5
 4	—		11.1	45
	Cu^{2+}	7	4.4	
	Ni^{2+}	6	6.9	0.2
	Zn^{2+}	3.2	7.8	7.1
 5	—		11.3	130
	Cu^{2+}		2.8	
	Ni^{2+}		0.092	
	Zn^{2+}	8.5	6.0	53.5
	Cd^{2+}		7.1	518
 6	—		11.74	60
	Zn^{2+}	5.04	7.38, 8.17	10900
	Cd^{2+}	4.46	9.37	8700

Un aspecto adicional es que estos complejos metal-oximato, se comportan como catalizadores al desacilarse⁷ tal como muestra el siguiente esquema para los complejos de la oxima **5** (H_2dapd).^{7a-d}

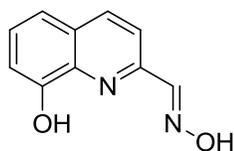


Esquema 2. Reacción de esterólisis del NPA por la oxima **5**.

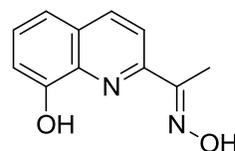
Uno de los factores que no se ha estudiado con detalle son los efectos electrónicos de los grupos sustituyente en el ligante. Estos pueden estudiarse con ligantes que tengan un sitio de coordinación equivalente, que permitan formar complejos estables con varios cationes metálicos en un intervalo amplio de pH y que además tengan una respuesta medible en su espectro electrónico. Así en este trabajo se estudiaron los ligantes **L1**, **L2** y **L3** en los que se varían en los grupos sustituyentes de la oxima (aminoxima, aldioxima, cetoxima) en presencia y ausencia de cationes metálicos de transición, tanto desde el aspecto de reactividad como desde el aspecto de formación de complejos detectables por espectroscopía UV-vis. A diferencia de la oxima H₂dapd, las oximas derivadas de 8-hidroxi-quinoleínas tienen otro anillo aromático el cual induce cambios notables en los espectros UV-vis cuando cambia el estado de protonación y cuando se coordinan los ligantes **L1-L3**.



L1



L2



L3

Hipótesis

Los ligantes **L1**, **L2** y **L3** deben formar complejos similares con cationes metálicos, tales como Zn²⁺, Cd²⁺, Mn²⁺, Cu²⁺, Ni²⁺ y Co²⁺, dado que tienen el mismo sitio de coordinación; así mismo, deben experimentar una disminución del pK_a de los grupos oxima y fenol, acompañados de cambios en sus espectros electrónicos y en la reactividad del anión oximato coordinado. El grupo sustituyente de la oxima (-NH₂, -H, -CH₃) debe dar diferentes efectos electrónicos donando mayor o menor densidad electrónica al ligante y a los complejos metal-oximato, lo cual se debe reflejar en su reactividad esterolítica y se podrá analizar al comparar la reactividad individual de las especies presentes en disolución.

Objetivos generales

Estudiar el cambio en las propiedades ácido-base y de reactividad esterolítica de ligantes derivados de 8-hidroxi-quinoleína en presencia de cationes metálicos, por medio de titulaciones espectrofotométricas, con la finalidad de determinar la capacidad de estos ligantes para coordinar selectivamente los iones metálicos y su capacidad de hidrolizar catalíticamente un éster modelo.

Objetivos particulares

- Realizar la síntesis y caracterización de los ligantes **L1** a **L3**: 8-hidroxi-2-quinolinamidoxima, 8-hidroxi-2-quinolinioxima y 8-hidroxi-2-quinolincetoxima.
- Determinar las constantes de acidez, tanto de los ligantes libres como en forma de complejos metálicos.
- Determinar las constantes de formación de los complejos metálicos.
- Realizar estudios cinéticos de los ligantes **L1-L3** para determinar la nucleofilia del grupo oxima frente al sustrato modelo NPA.
- Realizar estudios cinéticos de los complejos metálicos de **L1-L3** para determinar la nucleofilia del grupo oxima coordinado frente al sustrato modelo NPA.
- Analizar la reactividad en términos de las especies presentes en disolución.

Sección experimental

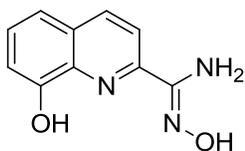
Materiales y métodos. Los reactivos empleados se obtuvieron de Sigma-Aldrich y se emplearon sin mayor purificación: 8-hidroxiquinolein-2-carbonitrilo, 8-hidroxiquinolein-2-carbaldehído, CH_3MgBr clorhidrato de hidroxilamina, amortiguadores biológicos no coordinantes (MES, MOPS, CHES, CAPS) y las sales perclorato o nitrato de los cationes metálicos empleados. Los disolventes empleados fueron Baker grado RA y se secaron de manera secuencial con mallas de 3Å cuando fue necesario. Las disoluciones de los cationes metálicos, $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$, $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$ fueron estandarizados mediante titulaciones complejométricas empleando EDTA y negro de eriocromo T como indicador, y su concentración fue comprobada mediante espectroscopía de absorción atómica. Se empleó, para todas las disoluciones, agua destilada y desionizada mediante un equipo Barnstead nanopure ($18.0\text{ M}\Omega\text{cm}$). Las disoluciones de los ligantes y sustrato se prepararon en acetonitrilo o DMSO seco. Se emplearon para medición de volumen micropipetas Eppendorf Research de volumen variable. Las mediciones de pH para las titulaciones potenciométricas se hicieron en un potenciómetro digital (Thermo Scientific Orion 4-Star Plus con precisión de ± 0.005) conectado a electrodos de vidrio ROSS Ultra 8103BN que se calibró primero con amortiguadores estándar de referencia pH= 4.00, 7.00 y 10.00 a 25°C y posteriormente por concentración determinando el potencial de unión líquida y haciendo la corrección de pH para que el electrodo quede calibrado por concentración molar de iones hidronio.¹¹ Para las mediciones cinéticas y titulaciones de espectroscopía UV-vis se empleó un espectrofotómetro Hewlett-Packard 8453 de arreglo de diodos con compartimiento multicelda termostatado con un recirculador Fisher Scientifics Isotemp 1016S ($\pm 0.1^\circ\text{C}$). Las disoluciones de NaOH y HCl se estandarizaron usando biftalato de potasio seco como patrón primario y se emplearon recién preparadas. Los estudios realizados en disolución acuosa se llevaron en presencia de 10% de disolventes apróticos miscibles con agua (MeCN, DMSO) para asegurar la solubilidad del ligante (es poco soluble por la formación de un puente de hidrógeno intramolecular entre el N de la piridina y el OH del fenol), complejos y sustrato. Los espectros de RMN ^1H , ^{13}C , espectrometría de masas y FTIR fueron obtenidos en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria (USAII) de la Facultad de Química.

Software. Los espectros de RMN se analizaron con el programa MestReNova 7. Los ajustes de los datos cinéticos a las ecuaciones en el programa OriginPro 8.5. Las constantes de equilibrio y acidez se y los diagramas de distribución de especies se calcularon empleando en los programas HyperQuad v5.2.19, HypSpec v1.1.33 y HySS2009.

Estudios de equilibrios en disolución. La determinación de las constantes de formación acumulativas y de acidez se llevó a cabo simultáneamente mediante potencimetría y espectrofotometría UV-vis, titulando disoluciones acuosas del ligante, a fuerza iónica 0.1 M con NaCl en celdas de 10 mL termostatadas a $25\pm 0.1^\circ\text{C}$ y obteniendo espectros de UV-Vis a cada valor de pH. Las constantes de formación de los complejos metálicos con los ligantes neutros se determinaron por separado titulando el ligante a pH fijo con disoluciones de los percloratos metálicos 10 mM.

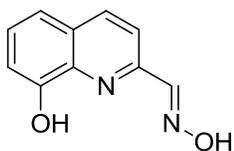
Estudios cinéticos. Las cinéticas de reacción se llevaron a cabo en celdas de cuarzo o de metacrilato grado UV-vis de 3.0 mL con ventana espectral de 220 a 1600 nm, mezclando los volúmenes adecuados a partir de disoluciones stock del ligante, cationes metálicos y amortiguadores biológicos (MOPS, CHES y CAPS), usando como sustrato modelo el NPA y monitoreando la cinética de reacción por la liberación irreversible de 4-nitrofenol mediante espectrofotometría UV-vis. Los datos obtenidos de las curvas cinéticas se ajustaron a una ecuación integral de primer orden mediante mínimos cuadrados para obtener los valores de k_{obs} a un pH determinado.

Síntesis de los ligantes.



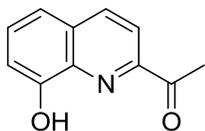
A. 8-hidroxiquinolein-2-amidoxima (L1)¹²

En un vial provisto de agitador magnético se agregaron 45.0 mg (0.65 mmol, 2.2 equiv.) de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, 54.6 mg (0.65 mmol, 2.2 equiv.) de NaHCO_3 y 0.6 mL de agua. La disolución se calentó a 60°C por 5 min y se dejó enfriar a TA. Por otro lado en un matraz bola provisto de agitador magnético se disolvieron 50 mg (0.3 mmol, 1.0 equiv.) de 8-hidroxiquinolein-2-carbonitrilo en 5 mL de etanol y 2.5 mL de THF. Se agregaron 0.5 mL (1.6 equiv.) de la primera disolución en la segunda y se agitó a TA por 20 min. La mezcla de reacción se concentró, se suspendió en 5 mL de hexano y se dejó en reflujo por 5 min. La mezcla de reacción se dejó enfriar a TA y se filtró. El sólido obtenido se recrystalizó de Hexano/Metanol dando 38.4 mg (77% rend.) de un sólido rosa. $R_f=(0.4, \text{Hex}/\text{AcOEt}/\text{MeOH}, 7:2:1)$. ^1H RMN(CDCl_3) δ (ppm): 10.07 (s, 1H), 9.98 (s, 1H), 8.25 (d, $J=8.79$ Hz, 1H), 7.96 (d, $J=8.79$ Hz, 1H), 7.45 (t, $J=7.33$ Hz, 1H), 7.38 (dd, $J=8.24, 1.38$ Hz, 2H), 7.10 (dd, $J=7.56, 1.51$ Hz, 1H), 6.55 (s, 2H). ^{13}C RMN (DMSO- d_6) δ (ppm): 153.35, 150.16, 148.21, 136.67, 136.13, 128.54, 128.01, 117.75, 117.49, 111.50.



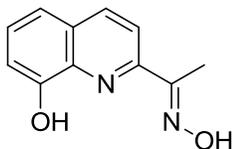
B. 8-hidroxiquinolein-2-aldoxima (L2)¹³

En un matraz bola provisto de agitador magnético se disolvieron, a TA, 50 mg (188.2 mmol, 1.0 equiv.) de 8-hidroxiquinolein-2-carbaldehído en 5 mL de EtOH y se adicionaron 22.2 mg (69.5 mmol, 1.2 equiv.) de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ y 26.2 mg (82.0 mmol, 1.2 equiv.) de CH_3COONa . La mezcla de reacción se llevó a reflujo por 12 h, se dejó enfriar a TA y se filtró. La disolución filtrada se concentró, se suspendió en 5 mL de CHCl_3 seco y se sonicó por 10 min. La suspensión se filtró y se secó bajo presión reducida para obtener 27.3 mg (54% rend.) de un sólido blanco. $R_f=(0.7, \text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}, 9:1)$. ^1H RMN(CDCl_3) δ (ppm): 7.20 (d, 1H), 7.33 (d, 1H), 7.47 (t, 1H), 7.90 (d, 1H), 8.15 (d, 1H), 8.38 (s, 1H). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ (ppm): 153.18, 149.63, 146.41, 136.91, 136.15, 126.93, 131.48, 122.62, 121.10, 112.31.



C. 8-hidroxiquinolein-2-cetona

En un matraz bola de dos bocas, provisto de agitador magnético y bajo atmósfera de N_2 se disolvieron 50 mg (0.3 mmol, 1.0 equiv.) de 8-hidroxiquinolein-2-carbonitrilo en 10 mL de THF anhidro y se llevó a -15°C . Se adicionaron, gota a gota, 0.6 mL de CH_3MgBr 3.0 M (1.8 mmol, 6 equiv.) y se dejó en agitación por 2 h a -15°C y 4 h a TA. La reacción se apagó en la mezcla adicionando 5 mL de una disolución acuosa saturada de NH_4Cl y se extrajo 3 veces con 10 mL AcOEt. La fase orgánica se secó con $\text{Na}_2\text{SO}_4(\text{anh})$, se concentró y se purificó por columna con una mezcla de elución Hexano/EtOH 9:1 para obtener 44.3 mg (89% rend.) de un sólido amarillo. $R_f=(0.54)(\text{Hexano}/\text{EtOH } 9:1)$. ^1H RMN(CDCl_3) δ (ppm): 8.22 (dd, $J=8.5, 46.4$, 2H), 7.53 (t, $J=8.0$, 1H), 7.39 ($J=1.2$, 8.28, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.25 (d, $J=6.8$, 1H), 2.86 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ (ppm): 194.75, 158.24, 154.36, 141.46, 130.26, 129.72, 128.34, 119.63, 116.54, 112.89, 27.42.



D. 8-hidroxiquinolein-2-cetoxima (L3)

En un matraz bola provisto de agitador magnético se disolvieron 50 mg (mmol, equiv.) de 8-hidroxiquinolein-2-cetona en 10 mL de EtOH y se adicionaron 22.2 mg (69.5 mmol, 1.2 equiv.) de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ y 26.2 mg (82.0 mmol, 1.2 equiv.) de CH_3COONa . La mezcla de reacción se llevó a reflujo por 12 h, se dejó enfriar a TA y se filtró. La disolución filtrada se concentró, se suspendió en 5 mL de CHCl_3 seco y se sonicó por 10 min. La suspensión se filtró y se secó bajo presión reducida. El sólido obtenido se disolvió en 100 mL de CHCl_3 seco y se filtró en SEPHADEX G-10 para obtener 39 mg (78% rend.) de un sólido

blanco. $R_f=(0.5)(\text{Hex}/\text{EtOH}, 9:1)$. ^1H RMN(CDCl_3) δ (ppm): 8.12(s, 1H), 8.09 (dd, $J= 8.7, 28.3$ Hz, 2H), 7.47 (t, $J=7.9$ Hz, 1H), 7.34 (dd, $J=1.2, 8.2$, 1H), 7.20 (dd, $J=1.2, 7.6$ Hz, 1H), 2.5 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ (ppm): 157.02, 152.25, 149.72, 137.51, 136.22, 132.26, 128.25, 118.82, 117.76, 110.39.

Valores de pK_a de los ligantes. Los espectros UV-vis de disoluciones acuosas con 10% de MeCN o DMSO de los ligantes **1** a **3** presentan varios máximos de absorción característicos correspondientes a las transiciones $\pi-\pi^*$ y $n-\pi^*$ de los anillos aromáticos del fragmento de 8-hidroxiquinoleina, que se modifican en función del pH debido a la desprotonación del grupo fenol y del grupo oxima, dando intervalos en los que claramente se observan puntos isobésticos. Por ejemplo, en la figura 1 se muestran los espectros UV-vis de la titulación espectrofotométrica del ligante **L1** en los intervalos de pH (a) 2.7-7.0 y (b) 8.0-13.0.

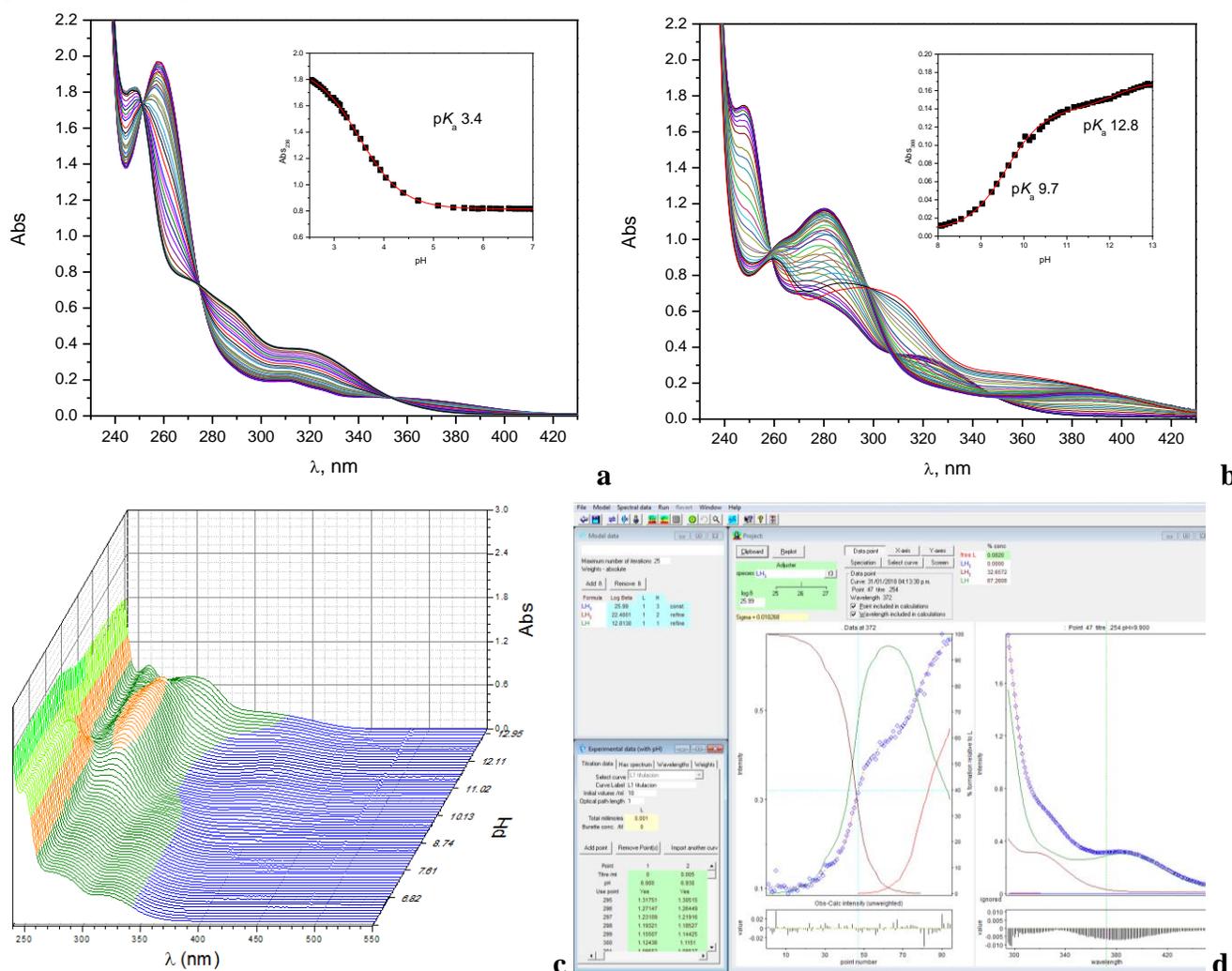


Fig. 1. Titulación espectrofotométrica de **L1** 0.05mM con NaOH, en agua con 10% DMSO, $I= 100$ mM, buffer de fosfatos, 25°C. Espectros electrónicos en función del pH en dos intervalos (a) pH 2.7-7.0, (b) pH 8.0-13.0. En el recuadro, datos a 263 y 388 nm respectivamente y ajuste teórico para los valores de pK_a , (c) La serie completa de espectros, (d) el ajuste de los datos de estos espectros en *HyperSpec*.

En el recuadro se muestra el ajuste de los datos a 263 y 388 nm con los correspondientes ajustes teóricos a las ecuaciones 1 y 2 para uno o dos valores de pK_a evaluados a una longitud de onda en donde Abs es la absorbancia de la disolución, A_{ini} es la absorbancia inicial, A_{fin} es la absorbancia esperada al final de la titulación, A_{media} es la absorbancia de la especie semiprotonada.

$$Abs = \frac{A_{fin} + A_{ini} * 10^{(pK_a - pH)}}{1 + 10^{(pK_a - pH)}} \quad \text{Ecuación 1}$$

$$Abs = \frac{A_{fin} + A_{media} * 10^{(pK_{a2} - pH)} + A_{ini} * 10^{(pK_{a2} + pK_{a1} - 2pH)}}{1 + 10^{(pK_{a2} - pH)} + 10^{(pK_{a2} + pK_{a1} - 2pH)}} \quad \text{Ecuación 2}$$

Estos valores fueron usados como los valores iniciales para hacer los ajustes simultáneos en el intervalo completo de pH a todas las longitudes de onda en el intervalo de 230–450 nm mediante *HypSpec* para todos los ligantes; los valores para **L1**, **L2** y **L3** se resumen en la Tabla 1. De acuerdo a los cambios observados en los espectros, el primer valor de pK_a se aginó a la protonación del nitrógeno de la piridina con los valores reportados para 8–hidroxiquinoleina y algunos derivados. El segundo valor de pK_a corresponde a la desprotonación del grupo fenol y el tercer valor a la desprotonación del grupo oxima los cuales inducen dos secuencias bien diferenciadas de cambios en los espectros UV-vis.

Coordinación de cationes metálicos en disolución: constantes de formación y acidez. Primero, se determinaron las constantes de asociación de los ligantes **L1** a **L3** neutros, manteniendo el pH en 5.5, con Zn^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} y Mn^{2+} que son los cationes metálicos con los que se observaron efectos catalítico sobre la reactividad esterolítica; en la figura 2 se muestra como ejemplo la titulación de **L3** con Zn^{2+} . La coordinación con el catión metálico induce un ligero desplazamiento hipsocrómico (aprox. 10 nm hacia menores longitudes de onda) generalmente debido al medio que solvata a la molécula e incrementos/decrementos a varias longitudes de onda en el mismo sentido en que los induce la protonación. Por ejemplo, en la figura 2 se observan los cambios inducidos por zinc en **L3** en las bandas de los grupo piridina y fenol aproximadamente en 250 y 340 nm, así como la presencia de puntos isobésticos que, generalmente, reflejan la presencia de únicamente dos especies en equilibrio. En particular, los cambios que induce el zinc en la absorbancia son considerablemente mayores con la cetoxima **L3**, que con los ligantes **L1** y **L2**, por lo que debe reflejar un efecto electrónico diferente pese a que la estructura de los ligantes es similar.

El mejor modelo encontrado para ajustar estos datos en *HyperSpec* requiere incluir dos especies, H_2L y $[Zn(HL)]^-$, lo cual es congruente con la presencia de puntos isobésticos y con que a pH 5.5 el ligante está en su forma neutra, pero el ajuste de los datos no permite incluir el complejo con el ligante neutro, $[Zn(H_2L)]$, que sería bidentado y apoyando esto encontramos que en los espectros correspondientes a estas titulaciones, no se observa la banda alrededor de 340 nm correspondiente al fenol protonado, lo cual indica que al formarse el complejo se encuentra desprotonado. Por lo tanto, si a este pH el ligante existe principalmente como la forma neutra, la coordinación del zinc debe implicar la desprotonación del oxígeno fenólico lo cual es razonable porque como ligante tridentado y aniónico debe generar especies metal-oximato más estables.

Posteriormente se realizaron titulaciones espectrofotométricas de mezclas de Zn^{2+} con **L3** (en proporción 1:1 y 1:2 metal:ligante y concentraciones entre 0.05 y 0.2 mM) empleando como titulante NaOH valorado y en presencia de amortiguadores biológicos que no absorben en el intervalo de longitudes de onda en el que se observan cambios para los complejos metálicos en diferentes estados de protonación. Estas titulaciones no se realizaron mediante potenciometría debido a que en esta técnica se requieren concentraciones del orden de 2-10 mM del ligante y catión metálico, pero estos complejos no son solubles en agua a estas concentraciones. En la figura 3 se muestra como ejemplo la titulación de **L3** con zinc.

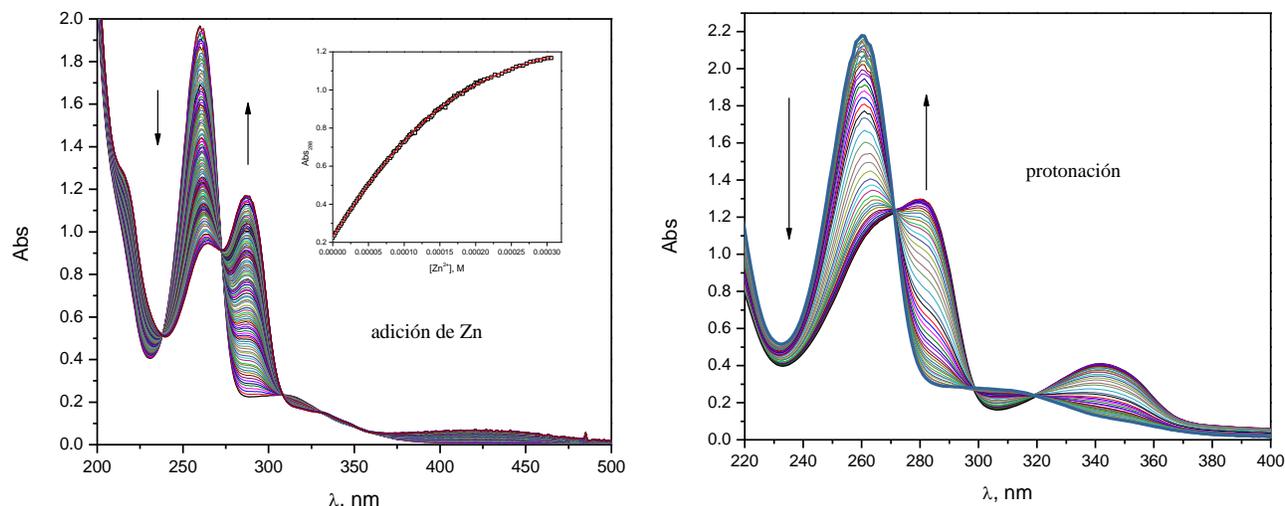


Fig. 2. Titulación espectrofotométrica de **L3** 0.2 mM titulado con $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$ 10.4 mM, a pH 5.38 en agua con 10% MeCN, $I= 100$ mM, buffer 20 mM, 25°C. (a) Espectros electrónicos registrados en una celda de cuarzo de 2 mm de ancho, en función de la concentración de $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$ y en el recuadro el ajuste de los datos de absorbancia a 288 nm y el ajuste teórico para determinar la constante de asociación, (b) ajuste de los datos de estos espectros en *HyperSpec*.

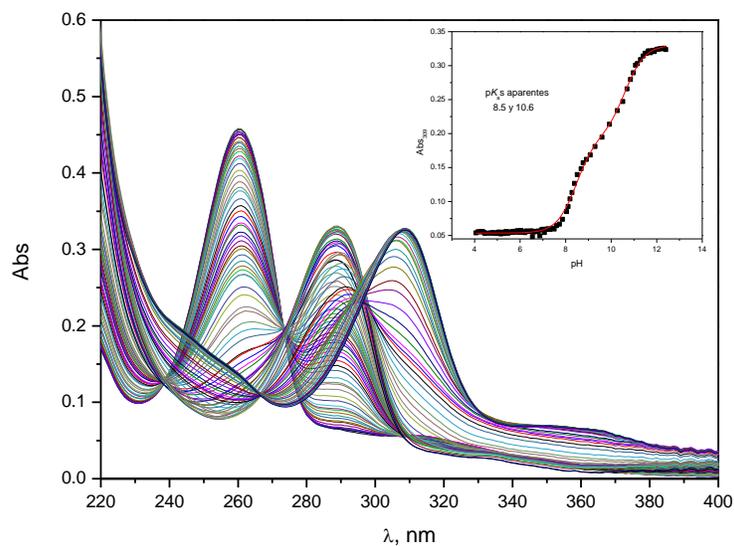


Fig. 3. Titulación espectrofotométrica de **L3** y $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$ 0.05 mM con NaOH estandarizado, en agua 10% MeCN, $I= 100$ mM, buffer 20 mM, 25°C. Los espectros electrónicos fueron registrados en una celda de cuarzo de 2 mm. En el recuadro se muestra el ajuste de los datos de absorbancia a 309 nm y el ajuste teórico con dos valores aparentes de pK_a , 8.5 y 10.6.

Para el ajuste de los datos a todas las longitudes de onda en *HyperSpec* se plantearon varios modelos en los que las constantes de formación obtenidas para los complejos, $[\text{M}(\text{HL})]^-$, se mantuvieron fijas pues su valor se determinó previamente y se eligieron los modelos con mejor ajuste a los datos experimentales. En la Tabla 2 se reúnen las constantes de acidez y de formación para los complejos de zinc y cadmio con **L1**, **L2** y **L3**.

Tabla 2. Valores de pK_a de los ligantes **L1**, **L2** y **L3** y logaritmos de sus constantes de formación de con Zn^{2+} y Cd^{2+} , en agua con 10% de DMSO o MeCN a 25°C, fuerza iónica 0.1 M.

	Equilibrio	pK_a o Log K					
		L1		L2		L3	
1	$H_3L^+ \rightleftharpoons H^+ + H_2L$	3.5 (1)		3.0 (4)		2.7 (1)	
2	$H_2L \rightleftharpoons H^+ + HL^-$	9.7 (1)		9.7 (3)		10.0 (2)	
3	$HL^- \rightleftharpoons H^+ + L^{2-}$	12.8 (2)		11.0 (1)		11.8 (1)	
		Zn^{2+}	Cd^{2+}	Zn^{2+}	Cd^{2+}	Zn^{2+}	Cd^{2+}
4	$M^{2+} + HL^- \rightleftharpoons M(HL)^+$	7.0(2)	6.3(1)	--	6.7(1)	9.0(1)	7.0(1)
5	$M(HL)^+ \rightleftharpoons M(L) + H^+$	11.4(2)	10.7(4)	--	8.6(1)	5.9(1)	9.4(1)
6	$[M(L)(H_2O)] \rightleftharpoons [M(L)(OH)]^- + H^+$	--	--	11.7 (1)	--	7.5(3)	--
7	$[M(L)(H_2O)(OH)]^- \rightleftharpoons [M(L)(OH)_2]^- + H^+$	--	--	12.0 (3)	--	10.8(3)	--
8	$M^{2+} + L^{2-} \rightleftharpoons M(L)$	8.4(3)	8.4(1)	11.4(1)	9.2(1)	15(3)	11.6(2)
9	$M(L) + L \rightleftharpoons M(L_2)^{2-}$	--	--	8.1(1)	--	--	--

Adicionalmente se observó que la adición de zinc induce fluorescencia en **L2** como puede observarse en la figura 4, lo cual es una propiedad que se ha empleado en sensores para zinc cuya detección es más complicada que la de otros cationes porque sus complejos no tienen color.⁶ La fluorescencia de este complejo se estudió excitando a 370nm lo cual produce la aparición de una banda en 510 nm con la adición de zinc.

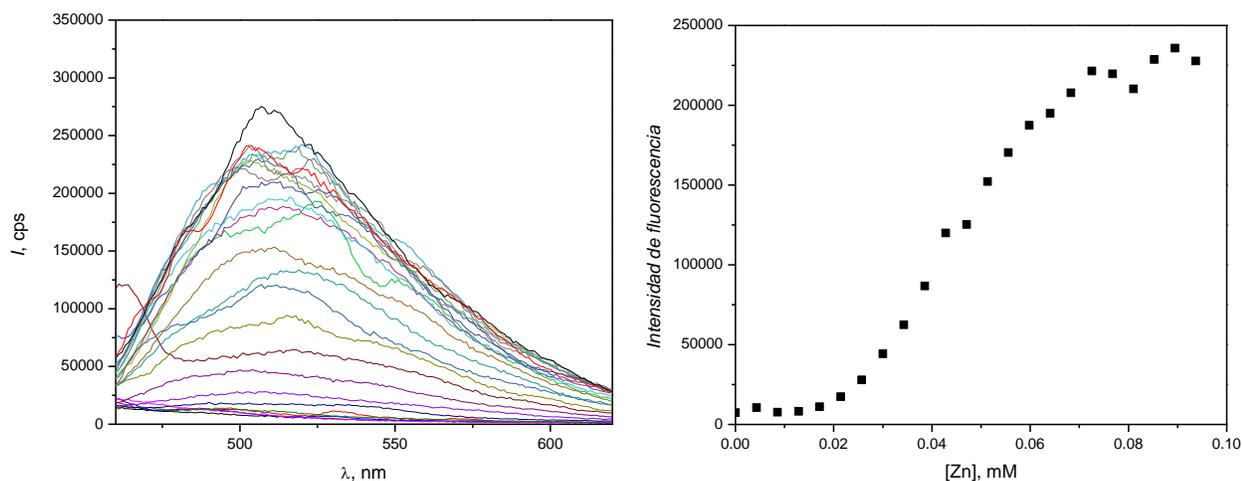


Fig. 4. Titulación fluorométrica de **L2** 0.04 mM titulado con $Zn(ClO_4)_2$ 10.4 mM, a pH 7.25 en agua con 10% MeCN, buffer 10 mM, 25°C. (a) Espectros de fluorescencia con excitación a 370 nm en función de la concentración de $Zn(ClO_4)_2$ y (b) intensidad de fluorescencia inducida a 510 nm.

La forma neutra de la 8-hidroxiquinoleína no substituida (8HQ) presenta una fluorescencia muy débil en agua^{14a} ($\lambda_{excitación}$ 325 nm, $\Phi_F < 2 \times 10^{-4}$) que se incrementa en medios muy ácidos^{14b} o muy básicos^{14c} por la presencia de su forma catiónica (fotoácido) o aniónica (fotobase), y que depende de la transferencia intermolecular del protón del grupo fenol con la consecuente aparición de la forma cetona tautomérica. En el caso de **L2**, no se aprecia fluorescencia en agua, tal como sucede con la 8HQ, pero la adición de zinc causa por un lado que se desprotona el grupo fenol, y por otro que el nitrógeno de la piridina esté coordinado al catión, de manera similar a cuando el nitrógeno se protona, por lo que puede ser la razón de la aparición de la fluorescencia. Además, este complejo **ZnL2** puede tener otras

aplicaciones ya que se ha probado que los complejos metálicos de zinc y cobre con derivados de 8HQ, como clioxinol o nitroxolina, tienen mejor actividad biológica (anticancerígena, antibacteriana, antiparasitaria y antibacterial) que los ligantes libres.¹⁵ El hecho de que la coordinación de los cationes metálicos probados con los ligantes **L1** y **L3** no induzca la fluorescencia, aunque el sitio de coordinación para el catión metálico sea muy similar y hasta cierto punto rígido en los tres casos, indica que el efecto electrónico del -H es diferente al de -CH₃ y -NH₂. En general se ha observado que las aldoximas son menos básicas que las cetoximas correspondientes y sus complejos ligeramente menos estables,⁹⁻¹⁰ pero las amidoximas son más básicas y se esperarían complejos más estables. Por ello llama la atención que el pK_a de **L1** disminuye relativamente poco cuando se coordina con zinc ($\Delta pK_a = 1.4$) comparado con otros sistemas reportados (Tabla 1, $\Delta pK_a \cong 3$). Una posible explicación es que en **L1** el grupo -NH₂ gire y se coordine al zinc en lugar del nitrógeno de la oxima con lo que el efecto de disminución del pK_a sería menor si existen ambas formas coordinadas.

Reactividad de las oximas L1, L2 y L3 hacia NPA

La reactividad esterolítica de cada uno de los ligantes sintetizados se determinó de dos formas empleando NFA como sustrato. En el primer tipo de estudio cinético se varió la concentración del ligante a un valor de pH fijo, y se repitió este estudio a diferentes valores de pH. Esto permite variar la concentración de la forma aniónica (y reactiva) de los grupos oxima ya que a cada valor de pH la fracción de cada especie del ligante es constante (LH₂, LH⁻ y L²⁻), pero al ir cambiando la concentración total del ligante la concentración de cada especie es diferente. En el segundo tipo de estudio cinético se varió el pH a una concentración fija de los ligantes **L1**, **L2** y **L3** y se determinaron las constantes de rapidez experimentales, k_{obs} s⁻¹, en función de la cantidad del anión oximato; estas constantes fueron corregidas por la hidrólisis alcalina de acuerdo a la ecuación 3.

$$k_{corr} = k_{obs} - k_{OH}[OH] \quad \text{Ecuación 3}$$

De esta ecuación puede observarse que al incrementar los valores de pH también se incrementa la concentración del anión OH⁻ que es un nucleófilo fuerte; si la contribución de la hidrólisis alcalina a la ruptura del sustrato es muy grande comparada con la del anión oximato, sólo se observa la hidrólisis alcalina. El intervalo de pH y concentración estudiado para cada ligante dependió de su solubilidad y su reactividad comparada con la hidrólisis alcalina a cada pH.

En la figura 4 se muestra, a manera de ejemplo, el perfil de pH para la determinación de la reactividad de la aldoxima **L2** variando el pH a una concentración fija del ligante. Aquí podemos observar que las constantes de rapidez tienen una tendencia opuesta a la de la especie neutra, H₂L, pero no siguen claramente la tendencia ni de la especie HL⁻ ni de la especie L²⁻, sino algo intermedio entre ambas.

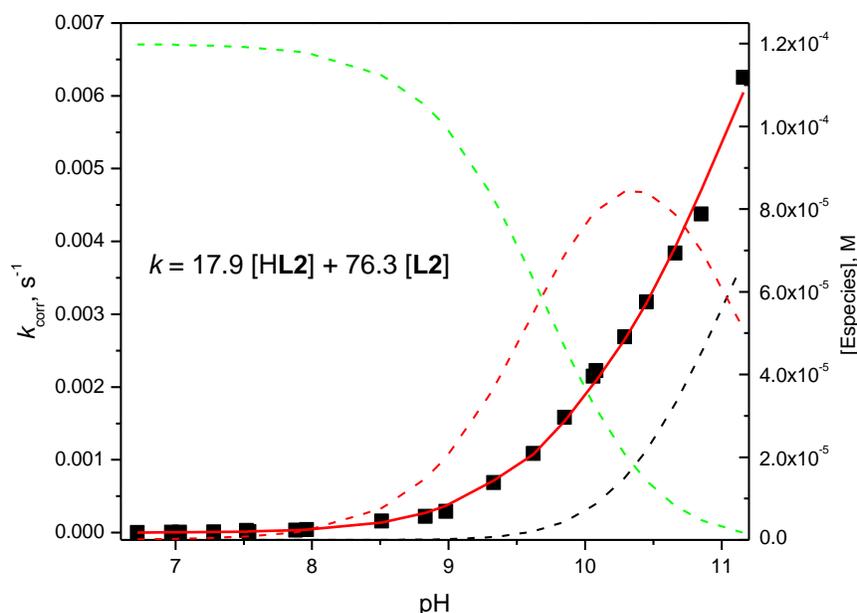


Fig. 5. Perfil de pH, k_{corr} , en función del pH, para la hidrólisis de NPA en presencia de **L2** 0.12 mM, en agua con 10% MeCN, buffer 50 mM, 25°C, sobrepuesto con la distribución de las especies protonadas de **L2** (líneas punteadas). La línea punteada muestra el ajuste teórico a la ecuación 2, en la que se considera como especies reactivas las formas HL^- y L^{2-} del ligante **L2**.

Dado que la constante observada depende de la suma de la contribución de todas las especies nucleofílicas presentes y, en otros trabajos realizados en el grupo, hemos comprobado que las reacciones son de primero orden para el sustrato y para cada una de las especies involucradas, la reactividad observada se analizó en términos de la ecuación general 4.

$$k_{\text{corr}} = k_{H_2L}[H_2L] + k_{HL}[HL] + k_L[L] \quad \text{Ecuación 4}$$

Para ello se calcularon primero las concentraciones de cada forma protonada a cada la concentración del ligante y valor de pH. Luego se determinaron los coeficientes de las constantes individuales mediante una regresión lineal múltiple. Ninguno de los ligantes neutros mostró reactividad, pero la forma monodesprotonada (fenolato) y la forma doblemente desprotonada (oximato) sí mostraron reactividad hacia NPA. Los valores de estas constantes de segundo orden para los ligantes **L1** a **L3** se reúnen en la tabla 3.

En la figura 6 se muestra como ejemplo las constantes corregidas de pseudo primer orden, $k_{\text{corr}} \text{ s}^{-1}$, en función de la concentración del ligante **L3** a diferentes valores de pH. De cada una de estas rectas es posible obtener una constante de segundo orden (aparente porque depende del pH) y después determinar con ellas el valor de los valores de $\text{p}K_a$ a partir de datos cinéticos y la reactividad asociada cada las especies. Además también se efectuó el mismo tipo de análisis global en función de la concentración de cada forma protonada de los ligantes **L1-L3** (H_2L , HL^- y L^{2-}) y analizar estos datos con la ecuación 2.

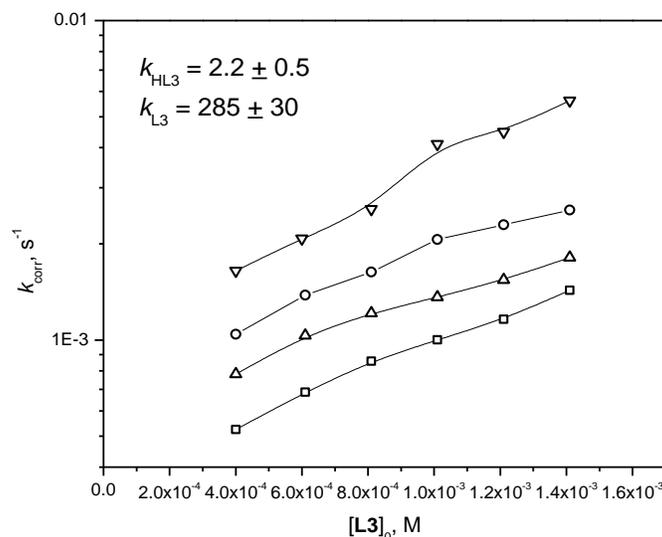


Fig. 6. Constantes observadas de pseudoprimer orden corregidas por la contribución alcalina, $k_{\text{corr}} \text{ s}^{-1}$, para la hidrólisis de NPA en función de la concentración total del ligante **L3** a pH 9.75, 10.06, 10.58 y 10.94, en agua con 10% MeCN, buffer 50 mM, 25°C.

Reactividad de los complejos metal-oximato hacia NPA

Se realizaron estudios cinéticos para determinar la reactividad de los complejos formados entre los ligantes **L1**, **L2** y **L3** con varios cationes metálicos: Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} y La^{2+} . Los efectos catalíticos más relevantes se encontraron con Zn^{2+} y con Cd^{2+} , sin embargo se observó cierta reactividad en presencia de Mn^{2+} y Ni^{2+} . En la figura 7a se muestra como ejemplo la comparación de las curvas cinéticas a pH 8.0 con **L1** 0.5 mM y cationes metálicos 0.3 mM. En el caso de Cu^{2+} el complejo verde que se forma es neutro y precipita, mientras que en presencia de Co^{2+} se forma un complejo azul tan intensamente colorido que no permite evaluar su reactividad con este sustrato y el complejo formado con La^{3+} no modifica la reactividad del ligante.

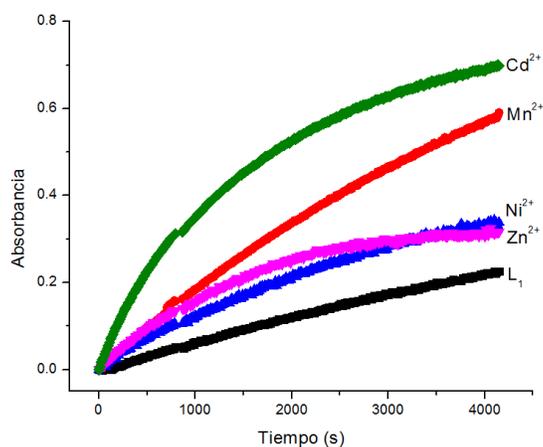


Fig. 7. (a) Curvas cinéticas a 400 nm para la hidrólisis del NPA en presencia de **L1** 0.5 mM y cationes metálicos 0.3 mM a pH=8.0, 10% DMSO en agua, 25°C en agua con 10% DMSO, buffer 50 mM, 25°C.

El efecto catalítico de los cationes metálicos se estudió con mayor detalle realizando perfiles de pH con un ligero exceso del ligante, 0.12 mM, sobre la concentración del catión metálico, 0.1 mM, y variando el pH de la disolución. La reactividad observada en estas condiciones fue analizada de dos formas.

Primero, se hizo un ajuste de los datos cinéticos a la ecuación 5 para determinar el pK_a cinético de la especie activa; este es un pK_a aparente ya que en realidad puede haber la participación de más de una especie y por lo tanto este valor refleja la participación de las especies involucradas en forma de una especie, que puede no ser ninguna de las determinadas por las titulaciones ácido-base, pero tiene un pK_a promedio, sin embargo nos permite establecer que especies podrían participar.

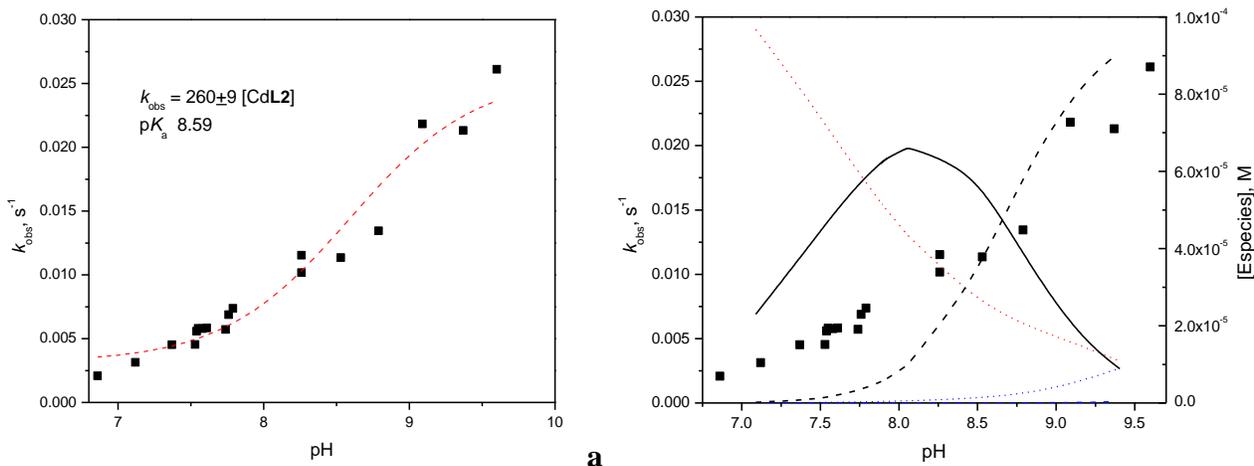
$$k_{\text{corr}} = \frac{k_{ap'}}{(1+10^{(pK_a,ap-pH)})} \quad \text{Ecuación 5}$$

Posteriormente se hizo un análisis cuantitativo en el que se correlacionan las constantes $k_{\text{corr}} \text{ s}^{-1}$ con la concentración y reactividad de cada especie en disolución, para lo que se hace la suposición de que para cada especie el orden de reacción es igual a 1. La ecuación general para la reactividad de los complejos está dada por la ecuación 6, ya que en ningún caso se hicieron mediciones a pH mayores a 10.5 (a mayores valores de pH aparece precipitado cuando la disolución incluye cationes metálicos), las constantes observadas de pseudo primer orden, $k_{\text{obs}} \text{ s}^{-1}$, fueron corregidas por la contribución alcalina, $k_{\text{corr}} \text{ s}^{-1}$, y la contribución de los ligantes es despreciable (menor al 1% de la observada en presencia de los cationes metálicos) porque la concentración de las formas mono y doblemente desprotonada de los ligantes son muy pequeñas.

$$k_{\text{corr}} = k_{\text{MHL}}[\text{MHL}]^+ + k_{\text{ML}}[\text{ML}] + k_{\text{ML(OH)}}[\text{M(L)(OH)}]^- + k_{\text{ML(OH)}_2}[\text{M(L)(OH)}_2]^{2-} + k_{\text{ML}_2}[\text{M(L)}_2]^{2-}$$

Ecuación 6

Así, en la figura 8 se presenta el análisis realizado para el ligante **L2** en presencia de cadmio. El ajuste de los datos a la ecuación 3 nos proporciona un pK_a aparente de 8.6 que nos indica que la especie cinéticamente activa no es el ligante en su forma HL^- ni en su forma L^{2-} , que el catión metálico acidifica al nucleófilo que pueda provenir del ligante y que si únicamente una especie participa, debe tener una constante de segundo orden de $260 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, figura 8a. Este pK_a aparente de 8.6 corresponde, de acuerdo a las titulaciones espectrofotométricas realizadas, a la desprotonación de la especie $[\text{Cd}(\text{HL}_2)]^+$ para dar $[\text{Cd}(\text{L}_2)]$ (Tabla 1), por lo que cabe esperar que esta especie sea la principal responsable de la reactividad observada.



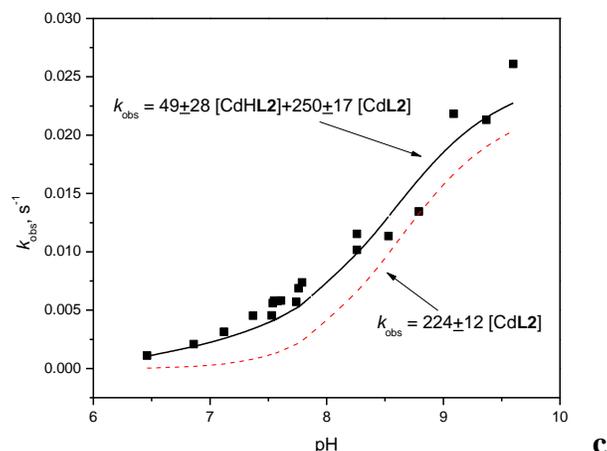


Fig. 8. Análisis de la reactividad observada en presencia de 0.12 mM de **L2** y 0.1 mM de $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$ en agua, buffer 50 mM, 10% MeCN, 25°C. a) Valor de pK_a aparente para una especie cinéticamente activa, b) constantes de velocidad sobrepuestas con la distribución de las especies encontradas en disolución $[\text{Cd}(\text{HL}_2)]^+$ (línea continua) y $[\text{Cd}(\text{L}_2)]$ (línea discontinua), c) constantes de velocidad experimentales y calculadas con dos modelos diferentes, uno que involucra únicamente la especie $[\text{Cd}(\text{L}_2)]$ (línea discontinua) y otro que involucra $[\text{Cd}(\text{L}_2)]$ y $[\text{Cd}(\text{HL}_2)]$ (línea continua).

Al sobreponer las constantes de velocidad con las especies presentes en disolución, figura 8b, observamos que la reactividad no sigue claramente la tendencia de la especie $[\text{Cd}(\text{L}_2)]$ sino que en realidad está entre las especies $[\text{Cd}(\text{HL}_2)]^+$ y $[\text{Cd}(\text{L}_2)]$ por lo que ambas especies podrían participar con reactividad diferente. Por lo tanto se compararon dos modelos de forma cuantitativa, uno en el que participa únicamente la especie $[\text{Cd}(\text{L}_2)]$ que es la que se esperaría fuera cinéticamente activa (Ecuación 4) y otro en el que participan ambas especies, lo cual se hizo mediante una regresión lineal múltiple de acuerdo a la ecuación 8. Las constantes de segundo orden así determinadas fueron $k_{\text{CdL}} = 224 \pm 12 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ si sólo se considera una especie y $k_{\text{CdHL}} = 49 \pm 28$ y $k_{\text{CdL}} = 250 \pm 17 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ si en el modelo se incluyen las dos especies, siendo en ambos casos la especie $[\text{Cd}(\text{L}_2)]$ la que presenta mayor reactividad.

$$k_{\text{corr}} = k_{\text{CdL}}[\text{Cd}(\text{L}_2)] \quad \text{Ecuación 7}$$

$$k_{\text{corr}} = k_{\text{CdHL}}[\text{Cd}(\text{HL}_2)]^+ + k_{\text{CdL}}[\text{Cd}(\text{L}_2)] \quad \text{Ecuación 8}$$

En la figura 9c se comparan las constantes calculadas con los modelos de las ecuaciones 4 y 5 (líneas) con las constantes medidas experimentalmente. De esta comparación es claro que el modelo que involucra ambas especies reproduce mejor los datos experimentales, pero hay dos problemas con la contribución de la especie $[\text{Cd}(\text{HL}_2)]^+$: tiene un gran error en su determinación (50%), el grupo fenolato de la especie está coordinado y el grupo oximato (que es el grupo nucleofílico) está protonado por lo que los resultados no se pueden interpretar de forma directa. Para hacer una determinación confiable de la constante de segundo orden se requieren realizar experimentos adicionales, como variar la concentración y proporción de **L2** y Cd^{2+} a diferentes valores de pH, de manera que se favorezca la presencia de una u otra especie, medir a estas condiciones los valores de k_{obs} e incluirlos en el análisis de la reactividad.

Para el ligante **L3** y Cd^{2+} , el ajuste de los datos a la ecuación 3 nos proporciona un pK_a aparente de 9.24 que nos indica que la especie cinéticamente activa no corresponde a ninguna de las especies que se determinaron por potenciometría y si únicamente esta especie participara, debe tener una constante de segundo orden de $720 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, figura 9a. Al sobreponer las constantes de velocidad con las especies presentes en disolución, figura 8b, observamos que las constantes de velocidad siguen

aproximadamente la tendencia de la especie $[\text{Cd}(\text{L}3)]$, pero se desvía a valores de pH menores a 8.5, por lo que puede haber cierta contribución de la especie $[\text{Cd}(\text{HL}3)]^+$. Al analizar cuantitativamente los datos con la ecuación 8 para **L3**, se determinó que para $[\text{Cd}(\text{HL}3)]^+$ la constante de segundo orden tiene un valor de $105 \pm 60 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ y para $[\text{Cd}(\text{L}3)]$ tiene un valor de $760 \pm 40 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$.

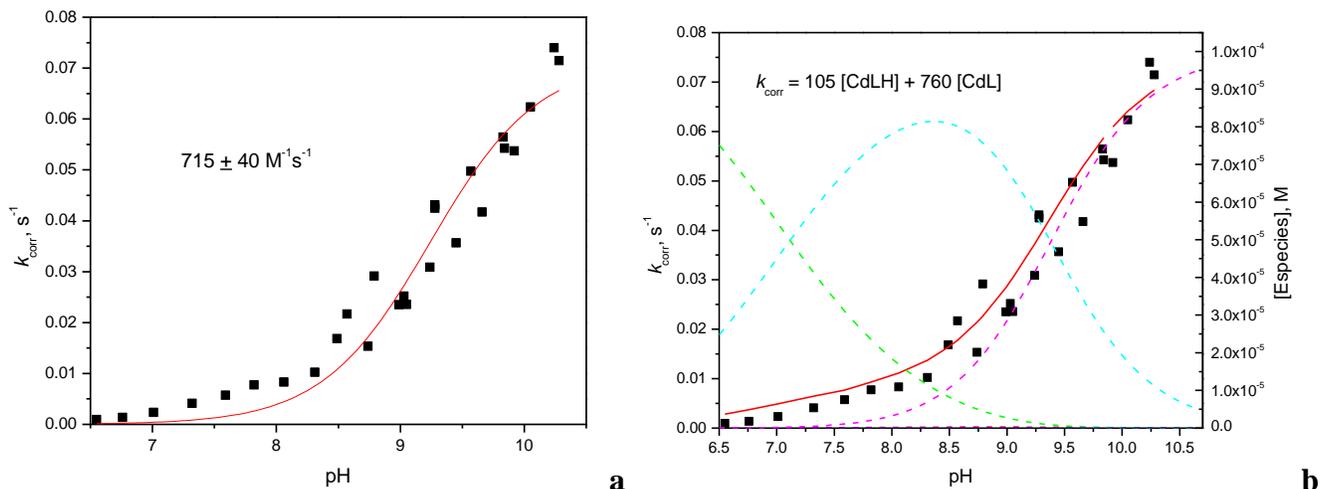


Fig. 9. Análisis de la reactividad observada en presencia de 0.12 mM de **L3** y 0.1 mM de $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$ en agua, buffer 50 mM, 10% MeCN, 25°C. a) pK_a aparente para una especie cinéticamente activa, 9.24; b) constantes corregidas de pseudo primer orden, k_{corr} , sobrepuestas con la distribución de las especies encontradas en disolución: $[(\text{H}_2\text{L}3)]$, $[\text{Cd}(\text{HL}3)]^+$ y $[\text{Cd}(\text{L}3)]$.

En el caso del efecto catalítico de Zn^{2+} con los ligantes **L1** a **L3** se procedió de manera similar para analizar la reactividad. En la figura 10a se presenta el perfil de pH para **L3** en presencia de Zn^{2+} (k_{corr} en función del pH, eje del lado izquierdo) sobrepuesto con la correspondiente distribución de especies a la concentración empleada en cinética. En este caso se observa que las constantes de pseudo primer orden siguen la curva de distribución de la especie $[\text{ZnL}(\text{OH})_2]^{2-}$. La constante de segundo orden para esta especie se determinó a partir de la pendiente de la recta de la gráfica de k_{corr} en función de la concentración molar de especie $[\text{ZnL}(\text{OH})_2]^{2-}$, y aunque la dispersión es grande a valores de pH básicos (en donde aumenta la concentración de esta especie) nos permite hacer una estimación de un valor de $46 \pm 2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, figura 10b.

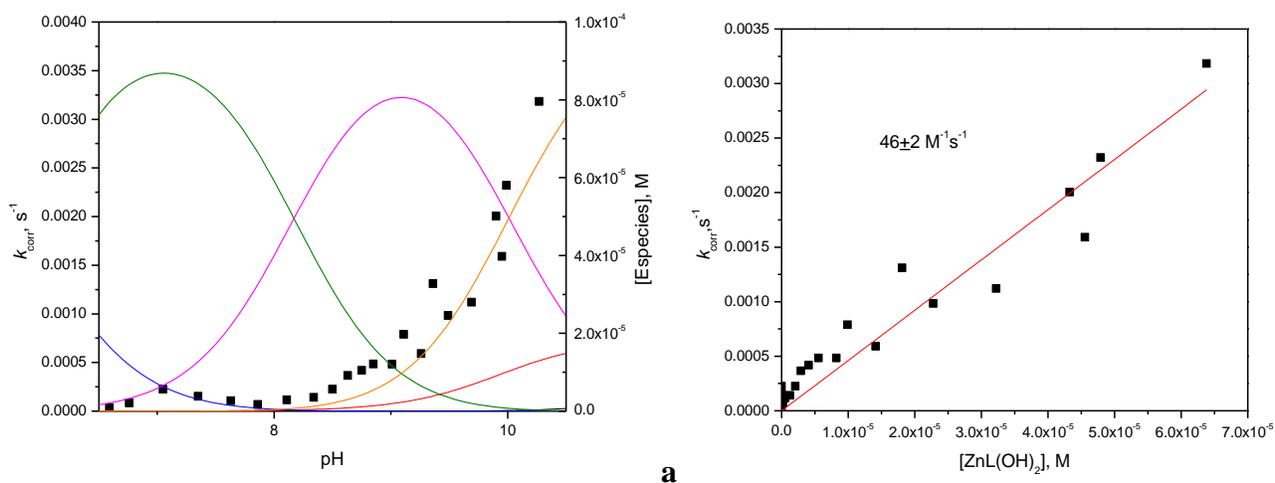


Fig. 10. (a) Perfil de pH para la reactividad observada en función del pH en presencia de **L3** 0.12 mM y $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$ 0.1 mM hacia NPA superpuesto con la distribución de especies a las mismas concentraciones empleadas en cinética, en agua con 10% DMSO o MeCN, buffer 50 mM, 25°C. En orden hacia mayor pH: (—) $[\text{ZnL}]$, (—) $[\text{ZnL}(\text{OH})]^-$, (—) $[\text{ZnL}(\text{OH})_2]^{2-}$, (—) $[\text{HL}]^-$. (b) Correlación de las constantes de pseudo primer orden, $k_{\text{corr}} \text{ s}^{-1}$, en función de la concentración de la especie $[\text{ZnL}(\text{OH})_2]^{2-}$.

En la figura 11a, b y c se ilustra el análisis de la reactividad de **L2** en presencia de Zn^{2+} . Primeramente se supuso que las especies activas deberían tener el grupo oxima desprotonado y se calcularon los valores de pK_a aparentes a partir del perfil de pH con la ecuación 5. En la figura 11a se muestra que de acuerdo a este primer análisis hay dos especies activas en disolución: una con pK_a aparente de 6.6 que podría pensarse corresponde a un complejo metal-oximato, y otra con pK_a de 11.04 que podría pensarse corresponde al ligante libre (Tabla 1). Sin embargo, al comparar las constantes de velocidad con las especies presentes en disolución, figura 11b, encontramos que la reactividad sigue la tendencia de la especie $[\text{Zn}(\text{L2})_2]^{2-}$ entre pH 7.5 y 9.0 y después se nivela y que a mayores valores de pH la única especie que incrementa su concentración es $[\text{Zn}(\text{L2})(\text{OH})]^-$, por lo que sería la única que podría contribuir a la hidrólisis.

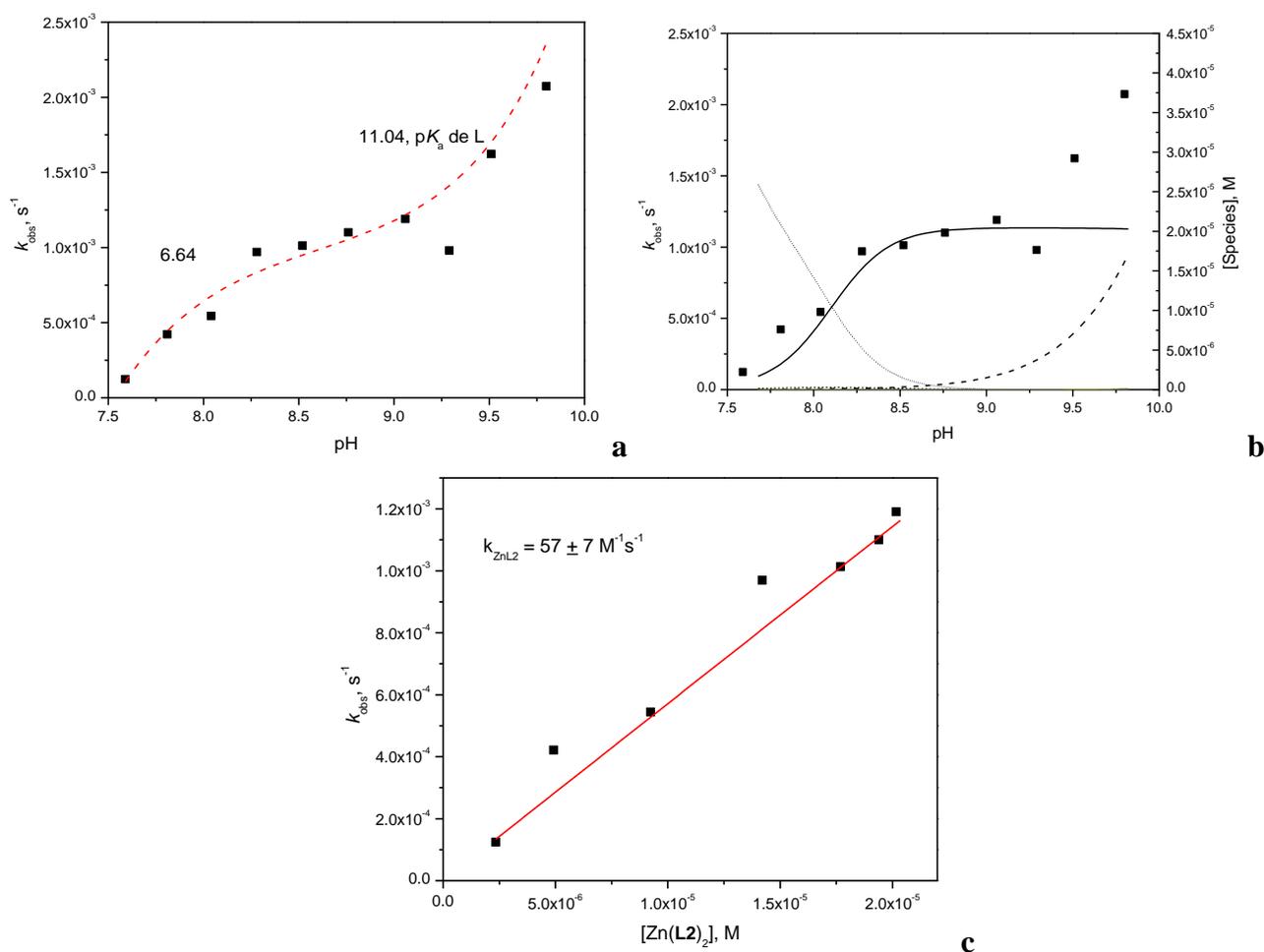


Fig. 11. Análisis de la reactividad observada en presencia de 0.12 mM de **L2** y 0.1 mM de $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$ en agua, buffer 50 mM, 10% MeCN, 25°C . a) Valores de pK_a aparentes para dos especies cinéticamente activas, b) constantes de velocidad sobrepuestas con la distribución de las especies encontradas en disolución $[\text{Zn}(\text{L2})_2]^{2-}$ (línea continua) y $[\text{Zn}(\text{L2})(\text{OH})]^-$ (línea punteada), c) correlación lineal con la especie $[\text{Zn}(\text{L2})_2]$.

El análisis cuantitativo de la constante de rapidez observada, $k_{\text{obs}} \text{ s}^{-1}$, en función de la concentración de la especie que tiene dos ligandos completamente desprotonados, $[\text{Zn}(\text{L2})_2]^{2-}$, nos permite evaluar una constante de segundo orden para la especie, $57 \pm 7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, si se analizan únicamente los datos hasta pH 9.0, figura 11c. Las correlaciones realizadas no permiten incluir a la especie $[\text{Zn}(\text{L2})(\text{OH})]^-$ como especie activa posiblemente porque los datos que se tienen a mayores valores de pH son insuficientes para poder determinar la constante de reactividad de la especie. En estas correlaciones también se

probó incluir a la especie $[\text{Zn}(\text{L2})]^-$ que corresponde a la especie 1:1 metal:ligante pero no se requiere para explicar la reactividad observada. El hecho de que solo se observe reactividad esterolítica del complejo $[\text{Zn}(\text{L2})_2]^{2-}$ puede deberse a que el ligante **L2** que es una aldoxima se acidifique mucho al coordinarse con zinc que es un mejor ácido de Lewis, causando un fuerte decremento en su reactividad absoluta, mientras que para $[\text{Zn}(\text{L2})_2]^{2-}$ esta acidez “se reparte” entre ambos ligantes y por lo tanto se puede observar cierta reactividad. Además, la constante de segundo orden determinada para $[\text{Zn}(\text{L2})_2]^{2-}$ es menor que la del ligante libre, $[\text{L2}^{2-}]$ $76.4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ (Tabla 2), lo cual es congruente con que la oxima se acidifique mucho y pierda su nucleofilia. No obstante se observa un efecto catalítico si se compara el ligante en presencia y ausencia de zinc a pH ligeramente básico (7.5-9.0) porque la fracción del anión oximato del ligante libre sólo empieza a aparecer a partir de pH 9.0 (pK_a 11.04, Tabla 1) mientras que el complejo metal:oximato aparece desde pH 7.5.

En la tabla 3 se reúnen las constantes de segundo orden para las formas activas de los ligantes **L1** a **L3** y de sus complejos metal-oximato con Zn^{2+} y Cd^{2+} .

Tabla 3. Constantes de segundo orden, k_{PhO} , k_{Ox} y k_{MOx} $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$, para las especies activas de los ligantes **L1**, **L2** y **L3** y especies individuales metal-oximato para la hidrólisis del éster 4-nitrofenilacetato en agua, 10% DMSO o MeCN, 25°C .

Especie Reactiva	L1		L2		L3	
	$k \text{ (M}^{-1}\text{s}^{-1}\text{)}$					
HL^-	n.d.		17.9 (1)		2.2 (5)	
L^{2-}	290 (20)		76.4 (3)		285 (30)	
	Zn(II)	Cd(II)	Zn(II)	Cd(II)	Zn(II)	Cd(II)
M(L)	150 (10)	620 (70)	n.d.	250(20)	n.d.	760(40)
M(HL)^+	n.d.	n.d.	n.d.	50(30)	n.d.	105(60)
M(L)(OH)_2^{2-}	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	46(2)	n.d.
$[\text{M(L)}_2]^{2-}$	n.d.	n.d.	57 (7)	n.d.	n.d.	n.d.

Análisis global y conclusiones

Al analizar la reactividad de los ligantes libres **L1**, **L2** y **L3**, en términos de las constantes de segundo orden k_{Ox} $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$, lo primero que observamos es que los aniones oximato se comportan como α -nucleófilos y en el caso de **L1** y **L3** su reactividad es mayor a la que normalmente se observa para otras oximas ($50\text{-}100 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$). Adicionalmente encontramos que en el caso de **L2** y **L3**, la velocidad observada se debe a la suma de las contribuciones del anión fenolato y del anión oximato, pues a pesar del error en las constantes, la curva teórica se ajusta mejor a los datos experimentales cuando se considera la participación del anión fenolato como uno de los nucleófilos presentes en la mezcla de

reacción. Esto es un poco inusual ya que en general los aniones fenolato se consideran nucleófilos “normales” pues su reactividad correlaciona directamente con su basicidad, y de hecho se usan para cuantificar el efecto de α -nucleófilos con pK_a similar, k_{Ox}/k_{PhO} . Por ejemplo, la constante de velocidad para 4-clorofenol hacia NPA es de $0.69 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ mientras que la de la 2,3-butanodiona monoxima es 100 veces mayor, $65.8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ por lo que se concluye que esta oxima se comporta como un α -nucleófilo.¹ En nuestro caso, la reactividad del fenolato de **L2** como nucleófilo (k_{PhO} $17.9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ y pK_a 9.7), es 25 veces mayor que la del 4-clorofenol que tiene un pK_a similar (9.6), mientras que la reactividad del grupo fenolato de **L3** es sólo un poco mayor a la reportada para otros fenoles (k_{PhO} $2.2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ y pK_a 10.0) y en el caso de **L1** no observamos contribución del grupo fenol. Esto es congruente con el incremento de la basicidad del grupo oxima de los ligantes que va en el orden **L2**<**L3**<**L1**, pero no con el pK_a del grupo fenol que es igual para **L1** y **L2** y aumenta 0.3 unidades para **L3**, por lo que podría pensarse que al introducir mayor densidad electrónica por parte del sustituyente en la oxima, el grupo fenol es mejor nucleófilo. Entre los ligantes estudiados, el grupo oxima más básico es el de la amidoxima **L1** que tiene un grupo sustituyente que es mejor electrodonador, sin embargo la reactividad de su anión oximato, aunque corresponde a la de un α -nucleófilo, no aumenta debido a su basicidad y observamos que la reactividad de la cetoxima y de la amidoxima es igual dentro de los límites del error, $285, 290 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, por lo que es posible que efecto de solvatación de la amidoxima en agua sea mayor que en el caso de las oximas, pero no ha sido reportado así. Por su parte, la reactividad de la aldoxima **L2** es tres veces menor, $76.4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, probablemente porque no hay ningún efecto electrónico por parte del H.

Para los complejos metal-oximato se encontraron diferencias en reactividad al emplear los cationes Zn(II) y Cd(II). Para los complejos de zinc se observaron tres formas reactivas $[\text{ZnL}]$, $[\text{ZnLOH}]^-$ y $[\text{ZnL}_2]^{2-}$, mientras que para cadmio se observaron las formas reactivas $[\text{CdLH}]^+$ y $[\text{CdL}]$.

En el caso de zinc se observaron especies reactivas con grupos hidroxilo únicamente para el ligante cetoxima **L3** (aunque sería deseable tener más datos a valores de $\text{pH}>9.0$ con el ligante **L2**). Contrariamente a lo que se había observado con otros complejos zinc-oximato-hidroxilo,⁷ la especie $[\text{ZnL3(OH)}]$ tiene una reactividad seis veces menor que la del ligante libre, por lo que se piensa que la coordinación del grupo fenol resta acidez de Lewis al zinc y, en este caso, los complejos hidroxilo no son más reactivos que los complejos oximato, aunque tienen una reactividad mucho mayor a la de otros nucleófilos. A diferencia de otros estudios en los que se estudió la reactividad de complejos metal-oximato (ver antecedentes), al estudiar la reactividad de **L2** en presencia de zinc se observó reactividad de la especie $[\text{Zn(L2)}_2]^{2-}$. Dado que esta especie incluye a dos ligantes tridentados totalmente desprotonados se esperaría fuera una especie octaédrica y entonces la constante de segundo orden para cada de cada grupo oximato coordinado al zinc es $30 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$; la reactividad de estos oximatos coordinados es 6 veces menor que la del ligante libre, por lo que se piensa que por ser un ligante más ácido y zinc un ácido de Lewis más fuerte que cadmio, sólo tiene reactividad la especie M:L 1:2. En el intervalo de pH estudiado no se identificó otra especie reactiva en presencia de **L2** y zinc, sin embargo sería importante hacer estudios cinéticos el intervalo de $\text{pH } 6.0 < \text{pH} < 7.5$ donde la especie predominante es $[\text{ZnL2}]$ y si no se observa actividad esterolítica sera posible descartarla como especie reactiva y también sería deseable tener más puntos a valores de $\text{pH}>9.0$ para determinar si la especie $[\text{ZnL2(OH)}]$ contribuye a la reactividad. Además, como se encontró que la coordinación del catión Zn(II) enciende la fluorescencia del ligante **L2** por lo que sería interesante estudiar la fluorescencia del complejo en función del pH y de la concentración de **L2**, pues observamos que se forma la especie $[\text{Zn(L2)}_2]^{2-}$, y no es claro cuál especie es la fluorescente. Para **L1** con Zn(II) se observó reactividad únicamente de la especie $[\text{ZnL1}]$, pero debido a que la disminución del pK_a es mucho menor a la esperada y la reactividad también, se puede pensar que existan dos formas de coordinarse a la amidoxima: por el

nitrógeno de la pidridina y/o por el grupo amina, pero no se tiene mayor evidencia experimental de cómo se coordina en disolución acuosa.

Para el cadmio, se observó reactividad de la especie $[\text{Cd}(\text{HL})]^+$ de **L2** y **L3** que no se esperaría tuviera reactividad ya que, de acuerdo a los espectros electrónicos los grupos aldoxima y cetoxima aún no se han desprotonado y el grupo fenolato está coordinado, por lo que no es claro cuál es el nucleófilo. Por el error que hay en las constantes de segundo orden, 50 ± 30 y $105 \pm 60 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, es necesario hacer estudios más detallados para confirmar la reactividad de estas especies en condiciones en las que sean predominantes y/o las diferentes condiciones correspondan a una variación sistemática de su concentración. Finalmente, para los complejos neutros de cadmio con los tres ligantes, $[\text{Cd}(\text{L})]$, se puede hacer una comparación directa de la reactividad de sus complejos metal-oximato que tienen constantes de segundo orden 250, 620 y $760 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ respectivamente, con los ligantes aldoxima, amidoxima y cetoxima que tienen reactividad en el orden **L2**>**L1**≅**L3**, por lo que al formarse un complejo metal-oximato simple, el orden de reactividad de los oximatos coordinados sigue la misma tendencia que para los ligantes correspondientes. La reactividad del complejo de zinc $[\text{ZnL1}]$, $150 \pm 10 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ es menor que la de los complejos de cadmio con los tres ligantes, pero éste se forma a menores valores de pH.

Referencias citadas

- ¹ (a) F. Terrier, P. Mc Cormack, E. Kizilian, J. C. Hallé, P. Demerseman, F. Guir, C. Lion, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1991, 153–158; (b) E. Buncel, C. Cannes, A. P. Chatrousse, F. Terrier, *F. J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*(30), 8766–8767; (c) I.-H. Um, E.-J. Lee, E. Buncel. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*(14), 4859; (c) C. F. Bernasconi, *Adv. Phys. Org. Chem.*, **1992**, *27*, 119–238; (d) W. P. Jencks, S. R. Brant, J. R. Gandler, G. Friedrich, C. Nakamura, *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, *104*, 7045–7051; (e) W. P. Jencks, M. T. Haber, D. Herschlag, K. L. Nazaretian, *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, *108*, 479–483.
- ² a) L. Prodi, F. Bolletta, M. Montakti, N. Zaccheroni, *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *205*, 59. b) B. Valeur, I. Leray, *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *205*, 3. c) J. F. Zhang, Y. Zhou, J. Yoon, J. S. Kim, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 3416.
- ³ L. Basabe-Desmonts, D. N. Reinhoudt, M. Crego-Calama, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 993
- ⁴ R. L. Stevenson, H. Freiser, *Anal. Chem.* **1967**, *39*, 1354.
- ⁵ R. Miyamoto, J. Kawakami, S. Takahashi, S. Ito, M. Nagaki y H. Kitahara, *J. Comput. Chem. Jpn.* **2006**, *5*, 19
- ⁶ V. B. Kenche, I. Zawisza, C. L. Masters, W. Bal, K. J. Barnham, S. C. Drew., *Inorg. Chem.* **2013**, *52*, 4303.
- ⁷ (a) P. Gómez Tagle; A. K. Yatsimirsky, *Polyhedron*, **1997**, *16*, 877–879, (b) A.K. Yatsimirsky.; P. Gómez-Tagle; S. Escalante-Tovar.; L. Ruiz-Ramírez, *Inorg. Chim. Acta*, **1998**, *273*, 167–174; (c) P. Gómez-Tagle, J. C. Lugo-González y A. K. Yatsimirsky, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 7717; (d) P. Gómez-Tagle, J.-C. Lugo-González, A.K. Yatsimirsky, *Inorg. Chem.* **2017**, *56*, *4*, 2060–2069.
- ⁸ J.D. Aubort, R. F. Hudson, *Chem. Commun.* **1969**, *22*, 1342.
- ⁹ (a) J. Suh, H. Han, *Bioinorg. Chem.* **1984**, *187*, 177–187. (b) R. Breslow, D. Chipman, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *7* (18), 4196.
- ¹⁰ F. Mancin; P. Tecilla; U. Tonellato, *J. Org. Chem.* **2000**, *6*, 1045–1050.
- ¹¹ A. Johansson, S. Johansson, *Analyst*, **1978**, *103*(1225), 305–316.
- ¹² S. X. Cai, H. Zhang, J. A. Drewe, P. S. Reddy, S. Kasibhatla, J. D. Kuemmerle, K. P. Ollis, *PCT Int. Appl.* **2002**, 147.
- ¹³ S. Hossain, S. Das, A. Chakraborty, F. Loret, J. Cano, E. Pardo. V. Chandrasekhar, *Dalton Trans.* **2014**, *43*, 10164.
- ¹⁴ (a) M. Goldman, E. L. Wehry, *Anal. Chem.* **1970**, *42*, 1178–1185; (b) Ballard, R. E.; Edwards, J. W. *J. Chem. Soc.* **1964**, 4868–4874; (c) Schulman, S. G. *Anal. Chem.* **1971**, *43*, 285–287.
- ¹⁵ V. Prachayasittikul, S. Prachayasittikul, S. Ruchirawat, V. Prachayasittikul, *Drug Design, Development and Therapy* **2013**, *7*, 1157–1178.