



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**TESIS**

**ESTUDIO ELECTROQUÍMICO DE LA REACCIÓN DEL ION  
SUPERÓXIDO CON  $[\text{Cu}(\text{FEN})_2]^{2+}$  EN DMSO**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICA**

**PRESENTA**

**BERENICE GONZAGA CRUZ**



**MÉXICO, CDMX**

**2020**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

## **JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Profesor: MARTHA AGUILAR MARTÍNEZ

**VOCAL:** Profesor: JOSÉ LUZ GONZÁLEZ CHÁVEZ

**SECRETARIO:** Profesor: JULIO CÉSAR AGUILAR CORDERO

**1er. SUPLENTE:** Profesor: PAULINO GUILLERMO ZERÓN ESPINOSA

**2° SUPLENTE:** Profesor: CLAUDIA INÉS RIVERA CÁRDENAS

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

**LABORATORIO 3C, EDIFICIO A, DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA, FACULTAD DE QUÍMICA,  
UNAM**

## **ASESOR DEL TEMA:**

**Dr. Julio César Aguilar Cordero**

## **SUSTENTANTE (S):**

**Berenice Gonzaga Cruz**

## **AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo fue financiado en parte gracias al apoyo económico brindado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la Universidad Nacional Autónoma de México (DGAPA, UNAM) a través del proyecto PAPIIT IN221918, así como por la Facultad de Química (UNAM), mediante el proyecto PAIP 5000-9031.

También agradezco a los técnicos del Servicio de Análisis Elemental de la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria (USAII) de la Facultad de Química de la UNAM, M. en C. Nayeli López Balbiaux y M. en I. Víctor Hugo Lemus Neri, por los análisis realizados a las muestras empleadas en este trabajo.

Quiero expresar mi gratitud a los miembros del jurado por las sugerencias que me hicieron sobre este trabajo escrito y que ayudaron a mejorar grandemente su calidad en forma y contenido.

# Índice

Lista de abreviaturas	4
Lista de figuras	5
<b>I. Introducción</b>	<b>9</b>
<b>II. Marco teórico</b>	<b>10</b>
<b>II.1. Estudios previos con ADN</b>	<b>10</b>
<b>II.2. Química del catión [Cu(1,10-fenantrolina)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup></b>	<b>12</b>
<b>II.3. Especies reactivas de oxígeno y el ion superóxido</b>	<b>14</b>
<b>II.4. Técnicas instrumentales empleadas en este trabajo</b>	<b>16</b>
<b>II.4.1. Técnicas electroquímicas</b>	<b>16</b>
<b>II.4.1.1. Voltamperometría cíclica</b>	<b>18</b>
<b>II.4.1.2. Cronoamperometría</b>	<b>20</b>
<b>II.4.2. Espectrofotometría</b>	<b>22</b>
<b>III. Objetivos</b>	<b>24</b>
<b>III.1. Objetivos generales</b>	
<b>III.2. Objetivos particulares</b>	
<b>IV. Metodología experimental</b>	<b>24</b>
<b>IV.1. Reactivos</b>	<b>24</b>
<b>IV.2. Instrumentos</b>	<b>25</b>
<b>IV.3. Procedimiento experimental</b>	<b>25</b>
<b>IV.3.1. Experimentos electroquímicos</b>	<b>26</b>
<b>V. Resultados y discusión</b>	<b>26</b>
<b>V.1. Experimentos de electroquímica</b>	<b>26</b>

<b>V.2. Modelado numérico de los resultados obtenidos con las técnicas electroquímicas</b>	<b>39</b>
<b>V.3. Experimentos de espectrofotometría</b>	<b>51</b>
<b>VI. Conclusiones</b>	<b>54</b>
<b>VII. Referencias</b>	<b>55</b>
<b>VIII. Anexo I</b>	<b>59</b>

## Lista de abreviaturas

[Cu(fen) <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	Catión bis(1,10-fenantrolina)cobre(II)
4,7-fen(DIP)	4,7-fenantrolina (diindenoperileno)
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
CA	Cronoamperometría
CV	Voltamperometría cíclica
DMSO	Dimetilsulfóxido
E	Potencial
EEH	Electrodo estándar de hidrógeno
Fen, L	1,10-fenantrolina
k°	Constante estándar heterogénea de transferencia de electrones
MES	ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico
NBT	nitroazul de tetrazolio
ROS	Especies reactivas de oxígeno
s	segundos
SO	Superóxido
SOD	Superóxido dismutasas
t	tiempo
TBAP	Dihidrógenofosfato de tetrabutilamonio
V	Volt

## Lista de figuras

**Figura 1.** Diagrama general del diseño para experimentos electroquímicos

**Figura 2.** Gráfico en forma de onda triangular en experimentos de CV

**Figura 3.** Ejemplo de voltamperograma mostrando los datos básicos que pueden obtenerse de él

**Figura 4.** Cronoamperograma típico obtenido para la reducción de  $[\text{Cu}(\text{fen})_2][\text{PF}_6]_2$   $5.8 \times 10^{-4}$  M en DMSO seco, en presencia de TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, bajo N<sub>2</sub>(g). Electrodo de trabajo: disco de carbono vítreo de 3 mm de diámetro; electrodo de referencia: Ag/AgCl; electrodo auxiliar: barra de grafito.

**Figura 5.** Diagrama general del diseño para un experimento de espectrofotometría

**Figura 6.** Voltamperograma cíclico obtenido en una disolución de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$   $5 \times 10^{-4}$  M a una velocidad de barrido de  $0.1 \text{ V s}^{-1}$  en DMSO seco, en presencia de TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, bajo N<sub>2</sub>(g). Electrodo de trabajo: disco de carbono vítreo de 3 mm de diámetro; electrodo de referencia: Ag/AgCl; electrodo auxiliar: barra de grafito.

**Figura 7.** Izquierda: voltamperogramas cíclicos de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$   $2.2 \times 10^{-4}$  M obtenidos a distintas velocidades de barrido (0.010, 0.025, 0.050, 0.100, 0.250, 0.500, 1.000 y 2.000 V/s) en DMSO seco y en presencia de TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, bajo atmósfera de N<sub>2</sub>(g). Electrodo de trabajo: disco de carbono vítreo de 3 mm de diámetro; electrodo de referencia: Ag/AgCl; electrodo auxiliar: barra de grafito. Derecha: gráficas de  $i_p$  vs.  $v^{1/2}$  para las corrientes de pico anódicas y catódicas.

**Figura 8.** Izquierda: voltamperogramas cíclicos de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$   $5.8 \times 10^{-4}$  M obtenidos a distintas velocidades de barrido (0.010, 0.025, 0.050, 0.100, 0.250, 0.500, 1.000 y 2.000 V/s) en DMSO seco y en presencia de TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M bajo atmósfera de N<sub>2</sub>(g). Electrodo de trabajo: disco de carbono vítreo de 3 mm de diámetro; electrodo de referencia: Ag/AgCl; electrodo auxiliar: barra de grafito. Derecha: gráficas de  $i_p$  vs  $v^{1/2}$  para las corrientes de pico anódicas y catódicas.

**Figura 9.** Izquierda: voltamperogramas cíclicos de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$   $9 \times 10^{-4}$  M obtenidos a distintas velocidades de barrido (0.010, 0.025, 0.050, 0.100, 0.250, 0.500, 1.000 y



2.000 V/s) en DMSO seco en presencia de TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M bajo atmósfera de N<sub>2</sub>(g). Electrodo de trabajo: disco de carbono vítreo de 3 mm de diámetro; electrodo de referencia: Ag/AgCl; electrodo auxiliar: barra de grafito. Derecha: gráficas de  $i_p$  vs  $v^{1/2}$  para las corrientes de pico anódicas y catódicas.

**Figura 10.** Determinación de  $k^\circ$  mediante el método de Nicholson modificado por Lavagnini *et al.* [29] para la electrólisis de los complejos [CuL<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>/[CuL<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, a partir de datos obtenidos usando concentraciones 0.23, 0.58 y 0.92 mM de Cu(II).

**Figura 11.** Voltamperograma cíclico de oxígeno en TBAPF<sub>6</sub> obtenido a 0.1 V/s en DMSO seco y en presencia de TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, bajo atmósfera de N<sub>2</sub>(g). Electrodo de trabajo: disco de carbono vítreo de 3 mm de diámetro; electrodo de referencia: Ag/AgCl; electrodo auxiliar: barra de grafito.

**Figura 12.** Voltamperogramas cíclicos de oxígeno en TBAPF<sub>6</sub> obtenidos a diferentes velocidades de barrido (0.010, 0.025, 0.050, 0.100, 0.250, 0.500, 1.000 y 2.000 V/s) en DMSO seco en presencia de TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M bajo atmósfera de N<sub>2</sub>(g). Electrodo de trabajo: disco de carbono vítreo de 3 mm de diámetro; electrodo de referencia: Ag/AgCl; electrodo auxiliar: barra de grafito.

**Figura 13.** Evaluación de  $k^\circ$  mediante el método de Nicholson modificado por Lavagnini *et al.* [29] para el sistema O<sub>2</sub>/O<sub>2</sub><sup>-</sup> para una concentración de oxígeno igual a 3×10<sup>-4</sup> M.

**Figura 14.** Izquierda: Voltamperogramas cíclicos de [CuL<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> 2.3×10<sup>-4</sup> M en presencia de oxígeno 3×10<sup>-4</sup> M a distintas velocidades de barrido (0.010, 0.025, 0.050, 0.100, 0.250, 0.500, 1.000 y 2.000 V/s), con las mismas condiciones experimentales de la figura 12. Derecha: Gráficas de  $i_p$  vs.  $v^{1/2}$  de las corrientes de pico anódica y catódica del oxígeno.

**Figura 15.** Izquierda: Voltamperogramas cíclicos de [CuL<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> 5.8×10<sup>-4</sup> M en presencia de oxígeno 3×10<sup>-4</sup> M obtenidos a distintas velocidades de barrido (0.010, 0.025, 0.050, 0.100, 0.250, 0.500, 1.000 y 2.000 V/s), bajo las mismas condiciones experimentales de la figura 12. Derecha: Gráficas de  $i_p$  vs  $v^{1/2}$  de las corrientes de pico anódica y catódica del oxígeno.

**Figura 16.** Voltamperogramas cíclicos de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$   $9.2 \times 10^{-4}$  M en presencia de oxígeno  $3 \times 10^{-4}$  M obtenidos a distintas velocidades de barrido (0.010, 0.025, 0.050, 0.100, 0.250, 0.500, 1.000 y 2.000 V/s), bajo las mismas condiciones experimentales de la figura 12. Derecha: Gráficas de  $i_p$  vs  $v^{1/2}$  de las corrientes de pico anódica y catódica del oxígeno.

**Figura 17.** Izquierda: Cronoamperogramas para  $[\text{CuL}_2]^{2+}$   $2.3 \times 10^{-4}$  M bajo atmósfera de  $\text{N}_2(\text{g})$  obtenidos a distintos potenciales. Derecha: Gráfica de corriente vs  $t^{-1/2}$  para el experimento a -0.12 V.

**Figura 18.** Izquierda: Cronoamperogramas para  $[\text{CuL}_2]^{2+}$   $5.8 \times 10^{-4}$  M bajo atmósfera de  $\text{N}_2(\text{g})$  obtenidos a distintos potenciales. Derecha: Gráfica de corriente vs  $t^{-1/2}$  para el experimento a -0.12 V.

**Figura 19.** Izquierda: Cronoamperogramas para  $[\text{CuL}_2]^{2+}$   $9.2 \times 10^{-4}$  M bajo atmósfera de  $\text{N}_2(\text{g})$  obtenidos a distintos potenciales. Derecha: Gráfica de corriente vs  $t^{-1/2}$  para el experimento a -0.12 V.

**Figura 20.** CV de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$   $5.8 \times 10^{-4}$  M,  $v = 0.1 \text{ V s}^{-1}$ , en presencia de oxígeno  $3 \times 10^{-4}$  M.

**Figura 21.** Concentraciones superficiales para el sistema  $\text{O}_2/\text{O}_2^-$ .

**Figura 22.** Concentraciones superficiales para el sistema  $\text{Cu}(\text{fen})_2^{2+}/\text{Cu}(\text{fen})_2^+$ .

**Figura 23.** Concentraciones superficiales para el sistema  $\text{O}_2/\text{O}_2^-$  en presencia de  $\text{Cu}(\text{fen})_2^{2+}/\text{Cu}(\text{fen})_2^+$ .

**Figura 24.** Estructura del compuesto  $[\text{CuL}_2][\text{PF}_6]_2$ .

**Figura 25.** Espectro UV-Vis de  $[\text{CuL}_2]^+$  en un medio amortiguado de MES 25 mM  $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$  4:1 pH: 6.7.

**Esquema 1.** Perfiles de concentración para el sistema  $\text{O}_2/\text{O}_2^-$ .

**Esquema 2.** Perfiles de concentración para el sistema  $\text{Cu}(\text{fen})_2^{2+}/\text{Cu}(\text{fen})_2^+$ .

**Esquema 3.** Parte I. Perfiles de concentración para el sistema  $O_2/O_2^{\cdot-}$  en presencia de  $Cu(fen)_2^{2+}/Cu(fen)_2^+$ .

**Esquema 3.** Parte II. Perfiles de concentración para el sistema  $O_2/O_2^{\cdot-}$  en presencia de  $Cu(fen)_2^{2+}/Cu(fen)_2^+$ .

**Esquema 3.** Parte III. Perfiles de concentración para el sistema  $O_2/O_2^{\cdot-}$  en presencia de  $Cu(fen)_2^{2+}/Cu(fen)_2^+$ .

**A1.** Izquierda: Voltamperogramas simulados para los sistemas  $O_2/O_2^{\cdot-}$  0.3 mM (solo) y  $[CuL_2]^{2+/+}$  calculados a diferentes concentraciones. Derecha: Voltamperogramas experimentales obtenidos para los sistemas  $O_2/O_2^{\cdot-}$  ( $[O_2] = 0.3$  mM) y  $[CuL_2]^{2+/+}$  a diferentes concentraciones.

**A2.** Izquierda: Voltamperogramas simulados para los sistemas  $O_2/O_2^{\cdot-}$  0.3 mM y  $[CuL_2]^{2+/+}$  calculados a diferentes concentraciones en mezclas. Derecha: Voltamperogramas experimentales obtenidos para los sistemas  $O_2/O_2^{\cdot-}$  ( $[O_2] = 0.3$  mM) y  $[CuL_2]^{2+/+}$  en mezclas a diferentes concentraciones.

**A3.** Voltamperogramas simulados para los sistemas  $O_2/O_2^{\cdot-}$  ( $[O_2] = 0.3$  mM) y  $[CuL_2]^{2+/+}$ , ( $[Cu(II)]_0 = 0.23$  mM) calculados a diferentes velocidades de barrido. En el recuadro se muestra una ampliación de la misma figura para mostrar la presencia del prepico catódico a bajas velocidades de barrido, su desaparición a velocidades de barrido altas, y el incremento en la corriente de pico anódica para la oxidación de  $[CuL_2]^+$  a velocidades de barrido relativamente altas. Estos efectos se observan en la figura 14 de este trabajo.

## I. Introducción

Los complejos mononucleares de cobre con la 1,10-fenantrolina (L) presentan actividad catalítica interesante [1]. Sorprendentemente, sin embargo, los estudios sobre la preparación, caracterización y reactividad de dichos compuestos son limitados en número: una búsqueda realizada en la base de datos “Web of Science” de Clarivate Analytics con la cadena TOPIC: (phenanthroline) AND TOPIC: (copper) AND TOPIC: (mononuclear) NOT TOPIC: (zinc) NOT TOPIC: (iron) NOT TOPIC: (manganese) NOT TOPIC: (dinuclear) NOT TOPIC: (mixed) NOT TOPIC: (homodinuclear) NOT TOPIC: (heterodinuclear) NOT TOPIC: (ternary), dio como resultado un total de 180 artículos publicados desde 1990, repartidos de la siguiente forma: 101 tratan temas de química inorgánica en general, 36 son de cristalografía, 36 son multidisciplinarios, 16 de bioquímica o de biología molecular, 14 tratan temas de fisicoquímica, 5 de química orgánica, 5 de biofísica y 9 de química medicinal, química molecular y espectroscopía. En comparación, cuando en la misma base de datos se hace una búsqueda con la cadena TOPIC: (copper) AND TOPIC: (complex\*), se obtienen 108 760 resultados.

La actividad de compuestos de cobre con fenantrolinas permite llevar a cabo reacciones tales como la reducción de oxígeno a agua, adiciones radicálicas y oxidaciones, entre otras. Algunos complejos de cobre y fenantrolina tienen también actividad como nucleasas sintéticas. Así, los catalizadores de cobre moleculares podrían ser alternativas viables al uso de catalizadores de Pt nanoparticulados en celdas de combustibles de baja temperatura y dispositivos relacionados [1], y proporcionan un grado de flexibilidad química que no está disponible en muchos sistemas enzimáticos [2].

El compuesto de coordinación bis(1,10-fenantrolina)cobre(II),  $[\text{CuL}_2]^{2+}$ , y algunos de sus derivados que presentan actividad catalítica como nucleasas sintéticas, se han utilizado como modelos para desarrollar y estudiar metalonucleasas y en el área del diseño de fármacos metalóxicos citotóxicos. Estos compuestos de cobre(II) y fenantrolina, que poseen actividad redox, muestran en algunos casos propiedades de reconocimiento de ADN y ARN, y representan quimiotipos importantes capaces

de anular las secuencias bases nitrogenadas en los ácidos nucleicos en presencia de dióxígeno o de peróxido de hidrógeno [3]. Por su gran utilidad en el estudio del funcionamiento de las metalonucleasas y de las superóxido dismutasas (SOD) artificiales, es importante conocer más acerca de este compuesto, de su comportamiento electroquímico y de su reactividad frente a especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés).

## **II. Marco teórico**

### **II.1. Estudios previos con ADN**

Los ácidos nucleicos son grandes biomoléculas que contienen instrucciones genéticas usadas en el desarrollo y funcionamiento de todos los seres vivos. Estos ácidos nucleicos son el ADN (ácido desoxirribonucleico) y el ARN (ácido ribonucleico). Algunas funciones de estos ácidos nucleicos dependen de sus interacciones con proteínas, ya que son el punto de partida de muchos procesos biológicos [3].

- Replicación
- Transcripción
- Modificaciones específicas del ADN y ARN
- Regulación de la expresión genética
- Recombinación
- Transposición
- Formación de complejos ribonucleicos

Así como hay proteínas que interactúan con los ácidos nucleicos, existen otras moléculas pequeñas (comparando su tamaño con el de los ácidos nucleicos), que pueden reaccionar en sitios específicos a lo largo de la cadena de ADN como modelos de reactividad [4,5]. Algunas de estas moléculas tienen actividad como “nucleasas químicas”, ya que son sintéticas. La primera nucleasa química fue el catión bis(1,10-fenantrolina)cobre(I), y fue descubierta por David Sigman, quien estudió su actividad en presencia de peróxido de hidrógeno y de un agente reductor

[6]. A partir de esta primera molécula, surgieron muchos estudios que demostraban que los complejos de metales de transición pueden unirse al ADN.

Estos complejos son modelos ideales de nucleasas, gracias a su comportamiento redox, sus propiedades fisicoquímicas y a su capacidad de unir y escindir al ADN en condiciones fisiológicas, sin olvidar mencionar que el metal y los ligantes se pueden variar de manera controlada [4,5]. Esto permite obtener agentes de diagnóstico altamente sensibles que ayudan a saber más sobre la estructura del ácido nucleico [4,7]. Entre las aplicaciones de estos agentes de diagnóstico se encuentran las siguientes:

- Agentes quimioterapéuticos
- Sondas químicas sensibles para la estructura de ADN en disolución
- Antitumorales
- Antioxidantes
- Antimicrobianos
- Agentes antiinflamatorios
- Transferencia de electrones en la interacción ADN-drogas

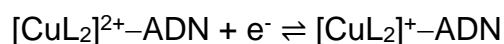
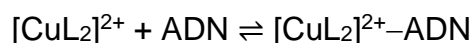
En general, los compuestos de cobre que contienen al ligante 1,10-fenantrolina, interactúan favorablemente con el ADN, ya que pueden intercalarse en su doble hélice gracias al tamaño y a la estructura del ligando y a su posición alrededor del cobre [8]. El compuesto de Sigman presenta una actividad nucleolítica eficiente en presencia de agentes reductores y su estructura tetraédrica se une de forma no covalente, lo que hacía que la interacción no tuviera mucha estabilidad. El mecanismo de acción de esta primera nucleasa química mostraba que el centro metálico alterna entre los estados de oxidación +1 y +2 [9]. Tiempo después se realizaron los mismo estudios pero con el  $[\text{CuL}_2]^{2+}$ , los cuales mostraron mayor afinidad a la unión al ADN gracias a una mayor estabilidad que el que presentaba el  $[\text{CuL}_2]^+$ .

Por otro lado, también se han estudiado a fondo los ligantes ocupados en la síntesis de estos compuestos, considerando su tamaño, así como su estructura y posición

alrededor de la especie metálica, para buscar la posibilidad de desarrollar materiales funcionales avanzados, modificar potenciales redox, afinidad hacia el ADN y especificidad para el reconocimiento de la secuencia de bases del ADN [4].

Después de varios estudios, ahora se sabe que el cobre es el metal de transición contenido en los agentes de diagnóstico más efectivos, mientras que los ligantes más estudiados son la 1,10-fenantrolina, la 4,7-difenil-1,10-fenantrolina (4,7-fen(DIP)) y algunas piridinas [10,11].

El complejo de bis(1,10-fenantrolina)cobre(II) aparentemente se une al ADN mediante la intercalación parcial de una de las dos fenantrolinas del complejo, mientras que la otra tiene una interacción débil en un surco menor del ADN [8].



Como es de suponerse, las reacciones oxidativas de escisión del ADN con complejos de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  en presencia de  $\text{H}_2\text{O}_2$  o de algunos reactivos reductores proceden a través de ciclos redox entre  $\text{Cu}^{\text{II}}$  y  $\text{Cu}^{\text{I}}$ . Por lo tanto, el potencial redox es uno de los factores importantes que reflejan la capacidad de los complejos para escindir el ADN en el proceso oxidativo [4]. Sólo existe un estudio profundo sobre los factores fisicoquímicos/electroquímicos involucrados en la interacción del bis(1,10-fenantrolina)cobre(II) con el ADN [4], pero no hay mucha información sobre el comportamiento electroquímico del compuesto de coordinación.

## II.2. Química del catión $[\text{Cu}(1,10\text{-fenantrolina})_2]^{2+}$

Como ya se mencionó, el cobre es un elemento importante en los organismos vivos: forma parte de varias proteínas, teniendo una gran importancia en el transporte y la activación del oxígeno molecular, siendo un elemento traza en la cadena respiratoria, y aunque los seres humanos no necesitan al cobre para estas funciones, un pequeño cambio en la concentración de este perjudicaría los procesos

en los que participa [12]. Se puede afirmar que, biológicamente, el cobre es un elemento esencial. Aprovechando su presencia natural en los organismos vivos, este elemento ha sido incorporado en varias investigaciones, para ser utilizado, entre otras cosas, como una herramienta en el estudio de ácidos nucleicos.

El cobre es un metal de transición que presenta una configuración electrónica  $[\text{Ar}]3d^{10}4s^1$ , y como característica de un metal típico, presenta diferentes estados de oxidación, lo que le permite formar una gran variedad de compuestos de coordinación. Los compuestos de  $[\text{CuL}_2]^+$  y  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  son los más conocidos, siendo este último el estado de oxidación más estable. Esta estabilidad se debe principalmente a sus propiedades redox, que como se dijo anteriormente, también son un factor importante en la escisión oxidativa del ADN [9]. El  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  está presente en varias vías metabólicas y en diferentes enzimas. Tal es el caso de las enzimas SOD (superóxido dismutasa), entre las cuales destacan las CuZnSOD como las enzimas más eficientes [13,14]. En los humanos, las SOD pueden hallarse en citoplasma, en el espacio extracelular o en la mitocondria, dependiendo del tipo de SOD del que se trate [7]. La función principal de las SOD es catalizar la dismutación del radical superóxido y convertirlo en oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno.

Entre los compuestos que puede formar el cobre, se encuentran varias metalonucleasas o nucleasas químicas que, como ya se mencionó, tienen un papel importante en el estudio de ácidos nucleicos. El catión bis(1,10-fenantrolina)cobre(II),  $[\text{CuL}_2]^{2+}$ , es una de ellas. Se sabe que es un compuesto que tiene una estructura plana, y por sus estudios hechos con el ADN, se conoce cómo se lleva a cabo su unión con este: uno de los anillos de la fenantrolina se une por intercalación parcial y el otro por intercalación débil en el surco menor; esto se atribuye a que la 1,10-fenantrolina tiene una estructura plana y rígida [8]. Este ligante contiene dos átomos donadores de nitrógeno en un sistema heterocíclico conjugado. Es un compuesto neutro y fuerte aceptor  $\pi$ , coordinando al cobre a través de sus átomos de nitrógeno.

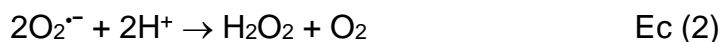
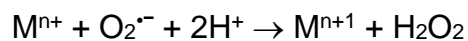
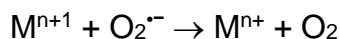


Algunos estudios han demostrado que  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  escinde ácidos nucleicos en presencia de oxígeno molecular (otro tema que se abarcará más adelante) al reducirse a  $\text{Cu}^+$ . De esta aplicación se obtiene, con éxito, una escisión específica tras la incubación de iones  $\text{Cu}^{2+}$  en un entorno químico reductor [4].

### **II.3. Especies reactivas de oxígeno y el ion superóxido**

Las especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), son moléculas derivadas del oxígeno altamente reactivas a causa de la presencia de electrones no apareados en especies radicales, o por la inestabilidad de los enlaces que las forman, como ocurre en los peróxidos. Entre las ROS más comunes se encuentran el ion superóxido ( $\text{SO}$ ), el radical hidroxilo ( $\text{HO}\cdot$ ), el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y el dioxígeno singulete, entre otras. Estas especies pueden encontrarse en los seres vivos naturalmente, ya que se producen continuamente en ellos debido a las reacciones del metabolismo que se llevan a cabo en estos organismos.

Es comprensible que la alta reactividad de las especies reactivas de oxígeno sea un problema en varios procesos fisiológicos, ya que ponen en peligro la integridad celular. Así, el radical anión superóxido participa en varios mecanismos de daño celular, causando daños en proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, entre otras biomoléculas [13]. Debido a que la producción de superóxido es natural en varias reacciones metabólicas, tales como las que ocurren en la cadena transportadora de electrones o en reacciones que lo producen con fines de defensa contra agentes patógenos, es imposible evitar la aparición del superóxido en los organismos vivos. Estos, por lo tanto, han desarrollado estrategias metabólicas para mitigar sus efectos perjudiciales. La primera línea de defensa contra las especies reactivas de oxígeno se encuentran las enzimas superóxido dismutasas (SOD) [15]. Esta familia de enzimas contienen un centro metálico, que puede ser zinc, manganeso, hierro o cobre, capaces de acelerar la dismutación del  $\text{SO}$ , para producir oxígeno y peróxido:



donde M es el centro metálico [16]. Los potenciales redox que presentan diferentes tipos de superóxido dismutasas son aproximadamente de 0.36 V vs. EEH. Este potencial se encuentra entre el de oxidación (-0.16 V) y el de la reducción (0.89 V) de SO [17].

La SOD considerada más importante es la que contiene  $Cu^{2+}$  en su sitio activo y pertenece al grupo “normal copper proteins”. Esta superóxido dismutasa contiene 2 átomos de cobre por molécula de enzima [18].

Las superóxido dismutasas siempre están ligadas a las catalasas, ya que la función de estas últimas es la desproporción del peróxido de hidrógeno a oxígeno y agua, y se puede observar que uno de los productos de la reacción 2 es el peróxido de hidrógeno.

El problema principal al trabajar con SOD es originado por la naturaleza de su actividad enzimática: los radicales libres que actúan como su sustrato solo pueden ser generados dentro del mismo ensayo [19]. Debido a la inestabilidad del  $O_2^{\cdot-}$  en disolución acuosa, su detección directa resulta muy difícil de lograr, si bien esto se ha intentado resolver utilizando moléculas detectoras tales como el ferricitocromo c, entre otros, los cuales no son específicos para el radical SO [15,16].

Existen varias formas de llevar a cabo el estudio de la actividad de SOD. Entre estos ensayos, el más conocido es el que utiliza citocromo c como eliminador e indicador del radical superóxido y xantina oxidasa como fuente del radical. Aquí la SOD compite con el citocromo c por el  $O_2^{\cdot-}$ , y una unidad de actividad de SOD se define como la cantidad de la enzima que causa una inhibición del 50 % de la tasa inicial de reducción del citocromo. Cuando el  $O_2^{\cdot-}$  es el único aceptor de electrones presente, entonces este es el mediador de la reducción del citocromo c, y el 100 % de esta reducción es capaz de ser inhibida por la actividad de la SOD; de esta

manera, la SOD señala su presencia al inhibir la reducción del citocromo c [16]. Existen otros ensayos, como una prueba cualitativa basada en NBT, una medida directa mediante un ensayo con ferrocitocromo y una determinación inmunológica de SOD, siendo esta última considerada la más eficiente, pero económicamente más costosa [16,19].

A pesar de esto, el principio general para el estudio de SOD, consiste en generar  $O_2^{\cdot-}$  de forma enzimática o no enzimática en un medio de prueba que contiene un indicador, el cual reacciona con el radical, mientras que el contenido de SOD se calcula a partir del cambio de la reacción del indicador [19].

Como es de esperarse, puede haber una sobreproducción de SO o inclusive una SOD endógena que no pueda eliminar eficientemente a SO. Es por ello que el diseño de un catalizador de baja masa molecular estable, no tóxico y capaz de catalizar la dismutación del superóxido, se ha vuelto una tarea importante [17].

## **II.4. Técnicas instrumentales empleadas en este trabajo**

### **II.4.1. Técnicas electroquímicas**

La electroquímica es una rama de la química que estudia la transformación entre la energía eléctrica y la energía química. La corriente eléctrica es el flujo de electrones a través de un conductor eléctrico y puede obtenerse a través del paso de electrones de un elemento a otro en un proceso químico. Estas interacciones se llevan a cabo en reacciones conocidas como de óxido-reducción o redox [20].

Existen muchas ventajas de las reacciones electroquímicas sobre las reacciones químicas correspondientes, ya que la corriente y el voltaje ofrecen un grado de libertad ajustable [21]. Las reacciones electroquímicas se estudian en dispositivos llamados celdas electroquímicas, que contienen conductores eléctricos (electrónicos) llamados electrodos. Las celdas electroquímicas más comúnmente usadas para el estudio de las reacciones electroquímicas son las celdas de tres electrodos, que contienen un electrodo de trabajo, uno de referencia y un contraelectrodo. En el trabajo con las reacciones electroquímicas, el interés se

centra en la zona formada por la unión del electrodo de trabajo y la disolución bajo estudio, la cual puede ser muy estrecha, y se conoce como interfase electrificada [22].

El arreglo experimental básico para llevar a cabo estos experimentos se muestra en la figura 1. Este arreglo está formado básicamente por un generador de señales, que está conectado a un potencióstato, el cual es parte de un circuito de control, en donde también se encuentra la celda electroquímica, conformada como ya se mencionó por un electrodo de trabajo (Trab, sobre el cual ocurre la reacción de interés), un electrodo de referencia (Ref, que permite conocer el potencial de electrodo del electrodo de trabajo) y un electrodo auxiliar o contraelectrodo (Aux, que permite cerrar el circuito eléctrico con el electrodo de trabajo). Este circuito se encuentra conectado a un convertidor de corriente y enseguida a un sistema de adquisición de datos que nos da la respuesta del sistema a la perturbación aplicada.

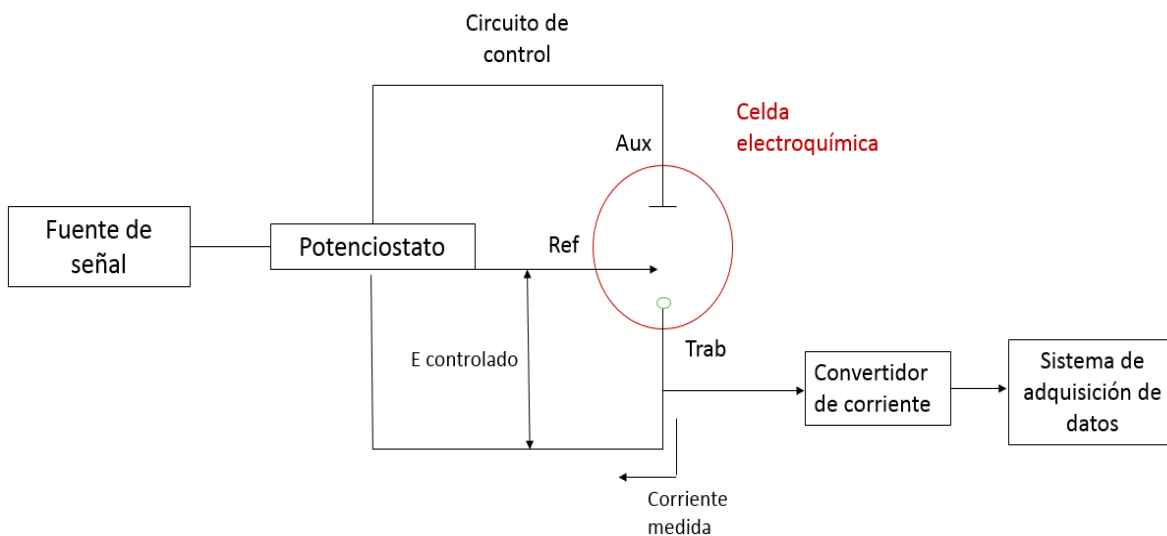


Figura 1. Diagrama general del diseño para experimentos electroquímicos.

### II.4.1.1. Voltamperometría cíclica

La voltamperometría es la rama de las técnicas electroanalíticas que está basada en la medición de la corriente como una función del potencial aplicado en una celda electroquímica [21]. El electrodo de trabajo que se ocupa en este caso está polarizado, lo que significa que se le aplica un voltaje superior al pronosticado por la ecuación de Nernst para que así pueda haber una oxidación o una reducción de alguna sustancia electroactiva sobre la superficie del electrodo.

La cantidad mensurable en las voltamperometrías es la corriente eléctrica causada por los procesos de transferencia de carga que ocurren a través de las interfases conductor electrónico-conductor iónico en el sistema, cuando se aplica la señal de excitación de potencial variable [21]. El método electroanalítico más común de entre todas las voltamperometrías existentes es la voltamperometría cíclica.

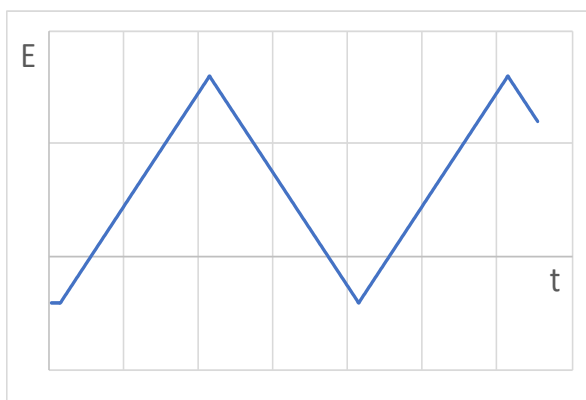


Figura 2. Gráfico en forma de onda triangular en experimentos de CV.

El experimento de voltamperometría cíclica (CV, por sus siglas en inglés) consiste en aplicar un potencial en forma de onda triangular (figura 2) al electrodo de trabajo colocado en una disolución quiescente, consiguiendo así la respuesta de corriente eléctrica [23].

Esta corriente eléctrica, que se registra entre el electrodo auxiliar y el electrodo de trabajo como una función del potencial aplicado, dando como resultado un gráfico de corriente contra potencial, conocido como voltamperograma, como el que se muestra en la figura 3.

En el voltamperograma mostrado en la figura 3, el potencial de electrodo aplicado comienza en un valor  $E_1$ , comúnmente elegido para corresponder con un flujo de corriente despreciable. El valor del potencial de inicio se elige a un valor en el cual las especies químicas que se están estudiando no puedan ser oxidadas o reducidas. Posteriormente el potencial va variando de manera lineal hasta alcanzar un valor  $E_2$ , un potencial de inversión, a partir del cual se invierte la dirección de exploración,

generalmente hasta que el potencial del electrodo alcance su valor original. El valor  $E_2$  se selecciona de modo que el intervalo de potencial ( $E_2-E_1$ ) contenga un proceso de oxidación o reducción de interés. Si esto produce una nueva reacción química y la consiguiente formación de nuevas especies químicas, entonces el “barrido” inverso puede extenderse más allá de  $E_1$  para permitir su caracterización, o volver a invertirse para iniciar un segundo barrido de potencial [24].

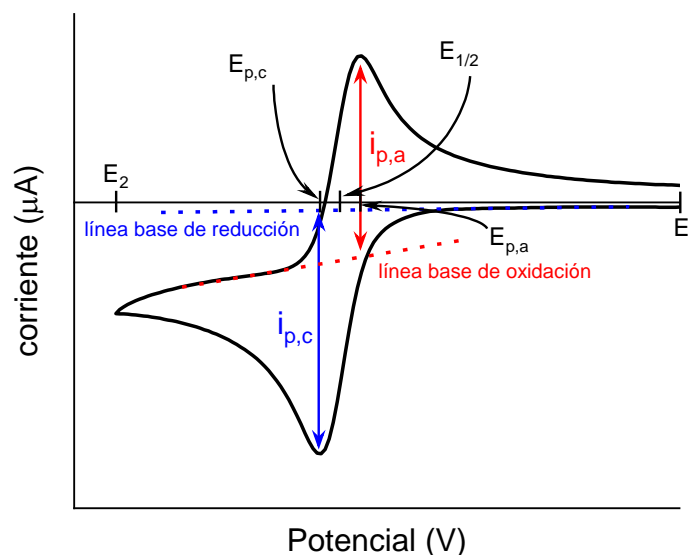


Figura 3. Ejemplo de voltamperograma mostrando los datos básicos que pueden obtenerse de él.

Donde:

$E_p$  = Potencial de pico (a, anódico; c, catódico)

$i_p$  = Corriente de pico (a, anódico; c, catódico)

$E_{1/2}$  = Potencial de media onda

La voltamperometría cíclica permite obtener información cualitativa sobre procesos electroquímicos en diversas condiciones, realizar una caracterización electroquímica de diversos compuestos y conocer intermediarios en reacciones redox [25], además de realizar análisis cuantitativos bajo las circunstancias adecuadas.

### II.4.1.2. Cronoamperometría

La cronoamperometría es una de las técnicas electroquímicas más simples, ya que la corriente se mide en función del tiempo luego de una variación del potencial del electrodo, desde un valor de potencial de electrodo donde solo una especie electroactiva es estable en disolución, ya sea en su forma oxidada o reducida, hasta otro en el que esta especie es transformada sobre el electrodo de trabajo [25], reduciéndose al disminuir el potencial de electrodo, u oxidándose al incrementarlo, respectivamente.

Usando esta técnica se pueden realizar varios experimentos. Uno de los más utilizados es el llamado *experimento de Cottrell*, donde el transporte de materia ocurre únicamente por difusión. La respuesta en un experimento de Cottrell puede modelarse usando la ecuación 3, conocida como *ecuación de Cottrell*, correspondiendo a la corriente límite de difusión que depende de la raíz cuadrada del inverso multiplicativo del tiempo. Este comportamiento se debe a la expansión gradual de la capa de difusión asociada con el agotamiento de especie electroactiva sobre la superficie del electrodo y al interior de la capa de difusión conforme transcurre el experimento [26].

$$I(t) = nFAC\sqrt{D/\pi t} \quad \text{Ec. (3)}$$

donde

$F$  = Constante de Faraday

$A$  = Área del electrodo

$C$  = Concentración del analito

$D$  = Coeficiente de difusión

$t$  = tiempo

La respuesta de este modelo es una curva de corriente-tiempo, que refleja el cambio del gradiente de concentración en la superficie del electrodo con respecto al tiempo. Durante este tiempo (como se muestra en la figura 4), se impone un potencial

constante a un electrodo y el resultado es que la concentración interfacial de la especie consumida es fija y nula sobre la superficie del electrodo, mientras que la pendiente del perfil de concentración contra distancia a través de la interfase y dentro de la capa de difusión cambia con el tiempo, disminuyendo paulatinamente, [27].

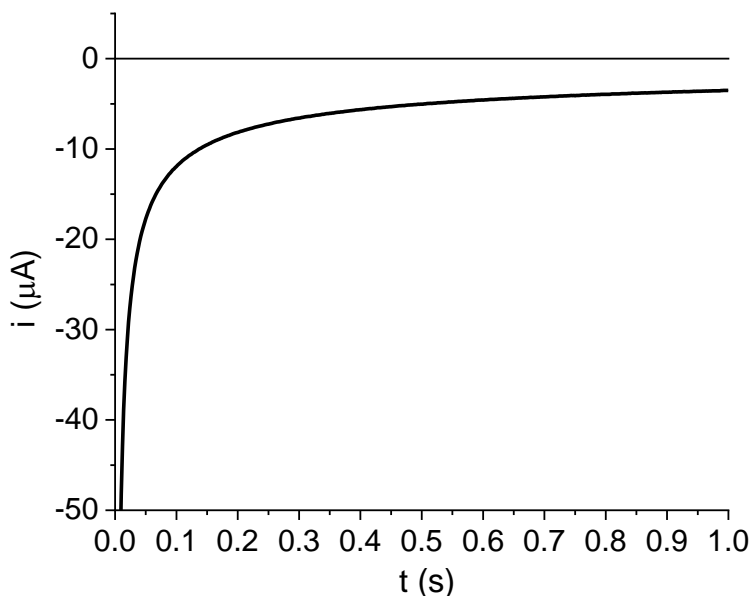


Figura 4. Cronoamperograma típico obtenido para la reducción de  $[\text{Cu}(\text{fen})_2][\text{PF}_6]_2$   $5.8 \times 10^{-4}$  M en DMSO seco, en presencia de  $\text{TBAPF}_6$  0.1 M, bajo  $\text{N}_2(\text{g})$ . Electrodo de trabajo: disco de carbono vítreo de 3 mm de diámetro; electrodo de referencia:  $\text{Ag}/\text{AgCl}$ ; electrodo auxiliar: barra de grafito.

Durante el experimento cronoamperométrico, el espesor de la capa de difusión aumenta con el tiempo [20], coincidiendo con el volumen de disolución que experimenta fenómenos de difusión significativos. Una de las principales aplicaciones de esta técnica es la obtención del coeficiente de difusión de una especie electroactiva.



## II.4.2. Espectrofotometría

La espectrofotometría es una técnica de análisis cualitativo y cuantitativo, que se basa en medir la absorción de radiación electromagnética ocasionada por alterar el estado energético de las moléculas.

Esta radiación electromagnética se puede describir como un flujo de partículas (fotones), puede presentarse como campos eléctricos y magnéticos que experimentan oscilaciones sinusoidales en ángulos rectos entre sí y respecto a la dirección de propagación [29]. Estas propagaciones sinusoidales están polarizadas en un plano perpendicular al campo magnético, y conociendo su distancia lineal entre dos puntos equivalentes cualesquiera en ondas sucesivas se obtiene su longitud de onda, la cual es inversamente proporcional a la energía de la misma, en consecuencia, el intervalo de energías que abarca el espectro de radiaciones electromagnéticas es muy amplio.

La espectrofotometría es una herramienta que depende del análisis cuantitativo de las moléculas en función de la cantidad de luz absorbida por los compuestos que la conforman. La Ley de Lambert y Beer expresa que esa luz absorbida por el compuesto es directamente proporcional al camino recorrido por la radiación electromagnética y a la concentración de la disolución [29].

$$A = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc \quad \text{Ec. (4)}$$

Donde:

**A:** Absorbancia

**P<sub>0</sub>:** Potencia radiante que incide en la muestra

**P:** Potencia radiante que transmite la muestra

**b:** Longitud de trayectoria de la muestra

**c:** Concentración del absorbente

**ε:** Absortividad molar

Las mediciones se llevan a cabo con espectrofotómetros, que pueden medir la intensidad de un haz de luz en función de su color (longitud de onda). Las características generales de los espectrofotómetros son: (1) una fuente de energía radiante, (2) Un celda que contenga la muestra, (3) un dispositivo que aísla la región restringida del espectro para efectuar las mediciones, (4) un detector de radiación que convierte la energía radiante en una señal eléctrica y (5) un equipo que procesa las señales y despliega resultados [23]. Tal como se muestra en la figura 5.

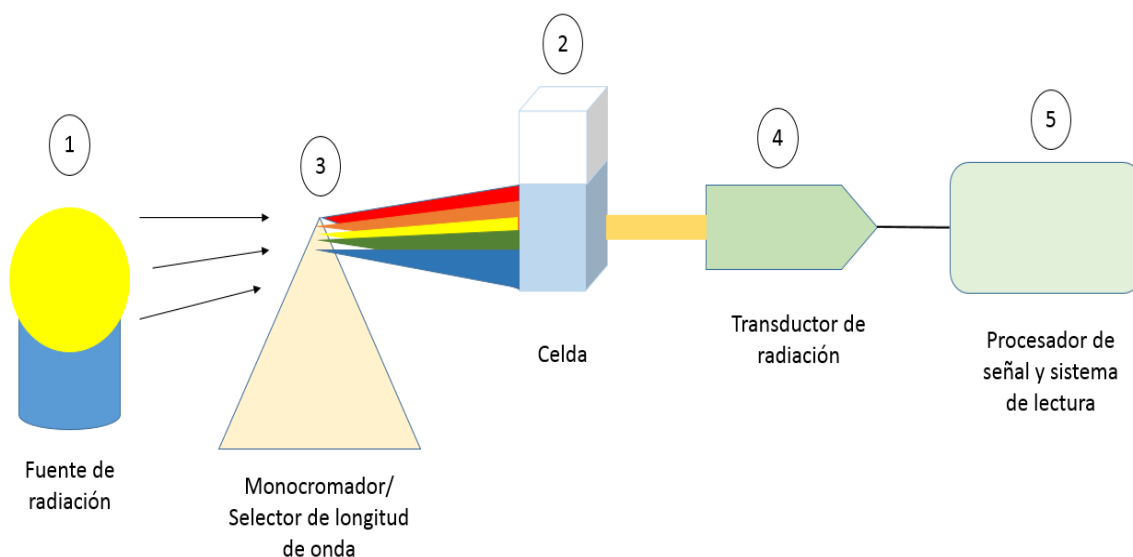


Figura 5. Diagrama general del diseño para un experimento de espectrofotometría

Esta técnica se usa ampliamente para la determinación cuantitativa de una gran cantidad de especies. Se utiliza también para la determinación de grupos funcionales en moléculas orgánicas, especialmente de aquellos con un alto grado de conjugación, y de moléculas bioquímicas, gracias a que las moléculas de interés biológico tienen una variedad de cromóforos intrínsecos, además de los que están asociados con otros cromóforos en la forma de cofactores, grupos prostéticos y sustratos. Permite el análisis de muestras bioquímicas, de semiconductores y de nanopartículas, y la determinación de metales en compuestos de coordinación. Puede ser utilizada como técnica de indicación y medición del color, esto gracias a las propiedades que tienen algunos compuestos de cambiar de color en función del

pH de la disolución en la que se encuentran. También se usa para dar seguimiento a la cinética de algunos procesos químicos y bioquímicos.

### **III. Objetivos**

#### **III.1. Objetivos generales**

- Estudiar la reacción del ion superóxido con el ion  $[\text{Cu}(\text{fen})_2]^{2+}$  en DMSO mediante el uso de técnicas electroquímicas.

#### **III.2. Objetivos particulares**

- Preparar y caracterizar por análisis elemental y espectrofotometría UV-Visible el compuesto  $[\text{Cu}(\text{fen})_2][\text{PF}_6]_2$
- Realizar la caracterización del ion  $[\text{Cu}(\text{fen})_2]^{2+}$  mediante cronoamperometría, voltamperometría cíclica y espectrofotometría.
- Caracterización electroquímica y estudio de la reacción del ion superóxido con el ion  $[\text{Cu}(\text{fen})_2]^{2+}$  por voltamperometría cíclica.
- Realizar un modelado numérico de los resultados obtenidos para las reacciones electroquímicas estudiadas.

### **IV. Metodología experimental**

#### **IV.1. Reactivos**

Todos los reactivos utilizados para el presente trabajo, fueron adquiridos en Sigma-Aldrich, con un grado de pureza R.A., y fueron usados sin purificación adicional.

En los experimentos electroquímicos (CV y CA), para lograr una disolución estable del anión superóxido fue necesario la purificación (secado) del DMSO, utilizado como disolvente en los experimentos, siguiendo el pretratamiento recomendado por Ready [27], con malla molecular de 4 Å para eliminar la mayor cantidad posible de impurezas de bajo punto de fusión, dejando la malla molecular activada en el

disolvente por 30 minutos, en un frasco cerrado, el mismo día que se realizaba la experimentación.

Para los experimentos de espectrofotometría se usó un buffer de MES 25 mM en una mezcla H<sub>2</sub>O/EtOH 4:1 a pH = 7.

## IV.2. Instrumentos

El agua desionizada (18.2 MΩ cm) que se ocupó durante la experimentación se obtuvo del equipo PURELAB Ultra de ELGA. Se usó una balanza semimicroanalítica METTLER TOLEDO XP105DR.

Los electrodos utilizados fueron un electrodo de disco de carbono vítreo (electrodo de trabajo, 3 mm de diámetro, 0.071 cm<sup>2</sup>) de la marca CHinstruments, una barra de grafito como contraelectrodo (ca. 2.6 cm<sup>2</sup>) y un electrodo de referencia de plata/cloruro de plata saturado con KCl, sumergido en un puente salino conteniendo el electrolito soporte. Se utilizó un potenciostato PalmSens 3, el cual se operó con una computadora usando el programa PSTrace 5.3.

Las determinaciones de pH fueron hechas con un pHmetro marca Thermo Scientific. Se utilizó un espectrofotómetro de la marca OceanOptics modelo USB4000.

## IV.3. Procedimiento experimental

La síntesis del compuesto dihexafluorofosfato de bis(1,10-fenantrolina)cobre(II), [Cu(fen)<sub>2</sub>][PF<sub>6</sub>]<sub>2</sub>, se realizó de acuerdo con el artículo publicado por Segoviano Garfias *et al.* (2017) [28]. El compuesto se preparó en metanol, combinando en disolución la cantidad estequiométrica apropiada de nitrato de cobre(II) y de ligante (1,10-fenantrolina), con la adición posterior de hexafluorofosfato de amonio, que permite la precipitación del compuesto en forma de la sal correspondiente. La disolución se mantuvo bajo agitación por 12 horas, y luego en reposo, a temperatura ambiente, por aproximadamente 48 horas, hasta que se verificó la precipitación del complejo, que se filtró para recoger el producto.

### IV.3.1. Experimentos electroquímicos

Como electrolito soporte se preparó una disolución de hexafluorofosfato de tetrabutilamonio 100 mM en DMSO seco. Se preparó una disolución de 10 mM del complejo en DMSO, y a partir de esta se tomaron alícuotas de 200, 500 y 800 microlitros, los cuales se añadieron a 10 mL de la disolución del electrolito soporte contenido en la celda, para obtener diferentes concentraciones.

Los experimentos de CV se realizaron a distintas velocidades de barrido, en un intervalo de potenciales comprendido entre 0.4 y -1.3 V.

## V. Resultados y discusión

### V.1. Experimentos de electroquímica

La respuesta de corriente para un sistema electroquímico rápido en un electrodo sólido estacionario pequeño, es provocada por una señal de potencial en forma de onda triangular, tomando el potencial de equilibrio como:

$$E_{eq} = E^{\circ} + \frac{0.058}{n} \log \frac{C_{Ox}^{sol}}{C_{Red}^{sol}} \quad \text{Ec. (5)}$$

Este potencial se determinó experimentalmente, midiendo la diferencia de potencial entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia. Para que se lleve a cabo la reacción electroquímica es necesario que el potencial del electrodo sea diferente del potencial de equilibrio, es decir, es necesario aplicar un sobrepotencial; esto provoca que el sistema óxido-reductor establezca un nuevo estado de equilibrio.

El equilibrio estudiado con la ecuación 6 relaciona el potencial de semicelda con el potencial estándar de la especie y las actividades relativas del par redox en el sistema de equilibrio:

$$E = E^{\circ} + \frac{RT}{F} \ln \frac{[Cu^{II}]}{[Cu^I]} = E^{\circ} + 2.3026 \frac{RT}{F} \log \frac{[Cu^{II}]}{[Cu^I]} \quad \text{Ec. (6)}$$

El equilibrio electroquímico se alcanza en la superficie del electrodo; el establecimiento de este equilibrio se debe a que la especie  $[CuL_2]^+$  cede electrones

al electrodo al mismo tiempo que la especie  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  los puede aceptar, y el valor del potencial estándar del par depende de los valores relativos de las constantes de velocidad de estas dos semirreacciones (que dependen del potencial de electrodo) en condiciones de corriente nula.

La transferencia de electrones en la interfase disolución-electrodo ocurre gracias a las diferencias de energía de los electrones que aparecen entre el conductor electrónico y la disolución. En esta última, los niveles energéticos electrónicos de las especies electroactivas son diferentes entre sí debido a la diferencia de energías de organización para la formación de las especies solvatadas. Antes de que tenga lugar la transferencia de electrones desde el electrodo hacia la disolución, el nivel de Fermi en el conductor electrónico es más alto que el nivel energético electrónico del orbital vacante en el ion  $[\text{CuL}_2]^{2+}$ , por lo tanto, es energéticamente favorable que los electrones salgan del nivel de Fermi y se unan a las especies de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$ , convirtiéndolas en iones  $[\text{CuL}_2]^+$ .

Antes de presentar los resultados obtenidos de los diferentes voltamperogramas, es necesario explicar que es lo que sucede con el cobre durante el experimento. Los primeros experimentos se realizaron a un intervalo de potencial de 0.4 a -0.4 V; el voltamperograma de la figura 6 muestra un experimento a una velocidad de 0.1 V/s. Cuando se barre el potencial durante el experimento, la concentración de la especie  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  en disolución cerca del electrodo cambia con el tiempo de acuerdo con el potencial dado por la ecuación de Nernst. A valores de potencial de electrodo más bajos que el potencial formal del par redox, la especie de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  se reduce a  $[\text{CuL}_2]^+$  en la superficie del electrodo. Esto ocurre porque los electrones en el electrodo tienen una energía más alta que la del LUMO del complejo de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$ , y se transfiere un electrón a este para producir la especie correspondiente de  $[\text{CuL}_2]^+$ . La fuerza impulsora para esta reacción electroquímica es nuevamente la diferencia de energía entre el electrón y el LUMO del complejo de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$ .

A medida que el potencial se barre de forma negativa (catódicamente) del punto A al D en la figura 6,  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  se reduce a  $[\text{CuL}_2]^+$  cerca del electrodo. El valor de la corriente catódica máxima (punto C en la curva, correspondiente a  $i_{p,c}$ ) es dictado

por el valor máximo del gradiente de concentración de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  existente entre la superficie del electrodo y el límite más lejano a este de la *capa de difusión* (que es el volumen de disolución en la región cercana a la superficie del electrodo, y que contiene  $[\text{CuL}_2]^+$ ), en donde la concentración de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  tiene prácticamente el mismo valor que en el interior de la disolución.

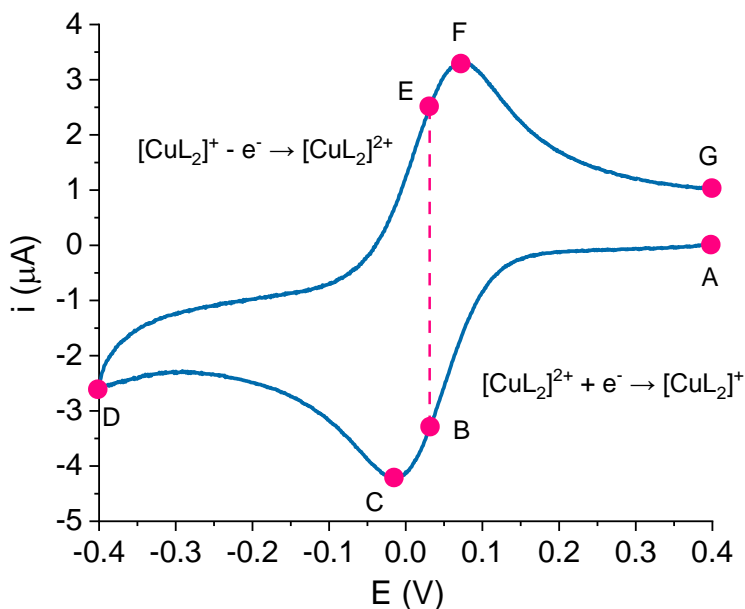


Figura 6. Voltamperograma cíclico obtenido en una disolución de  $[\text{CuL}_2]^{2+} 5 \times 10^{-4} \text{ M}$  a una velocidad de barrido de  $0.1 \text{ V s}^{-1}$  en DMSO seco, en presencia de  $\text{TBAPF}_6$   $0.1 \text{ M}$ , bajo  $\text{N}_2(\text{g})$ . Electrodo de trabajo: disco de carbono vítreo de  $3 \text{ mm}$  de diámetro; electrodo de referencia:  $\text{Ag}/\text{AgCl}$ ; electrodo auxiliar: barra de grafito.

La capa de difusión continúa creciendo conforme se lleva a cabo el barrido de potencial, gracias al cual el potencial del electrodo es cada vez más bajo que el potencial formal. El crecimiento continuo de la capa de difusión ralentiza el transporte de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  hacia el electrodo. Por lo tanto, al barrer el potencial a tasas de cambio menores, el flujo de esta especie disminuye, lo que resulta en una reducción continua de la corriente a medida que continúa el barrido ( $\text{C} \rightarrow \text{D}$ ), y que depende del inverso de la raíz cuadrada del tiempo.

Cuando se alcanza el potencial de inversión del barrido de potencial (punto D en la figura 6) la dirección de exploración del potencial de electrodo se invierte, y el potencial se barre ahora en la dirección positiva (anódica). Mientras se agota la concentración de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  en la superficie del electrodo, la concentración de  $[\text{CuL}_2]^+$  en la misma aumenta satisfaciendo la ecuación de Nernst. El  $[\text{CuL}_2]^+$  presente en la superficie del electrodo se oxida de nuevo a  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  a medida que el potencial aplicado se vuelve más alto. En los puntos B y E de la figura 6, las concentraciones de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  y  $[\text{CuL}_2]^+$  en la superficie del electrodo son iguales entre sí, y el potencial correspondiente es el potencial de media onda,  $E_{1/2}$ , que es igual a la mitad de la suma de los valores de potenciales de pico.

Con ayuda de la figura 6 ya se entiende lo que ocurre en la reacción de cobre(II/I), que es lo mismo que se observa en los voltamperogramas cíclicos que se muestran en las figuras 7, 8 y 9, donde se estudian, además, diferentes concentraciones y velocidades de barrido. La ecuación de Randles-Sevcik (Ec. 7) describe, para sistemas rápidos, el efecto de la velocidad de exploración del potencial sobre la corriente de pico:

$$i_p = 0.4463nFAC \left( \frac{nFvD}{RT} \right)^{1/2} \quad \text{Ec. (7)}$$

Esta corriente de pico depende entonces de la concentración de la especie electroactiva ( $C$ ), del valor del coeficiente de difusión ( $D$ ) de la misma, y de la velocidad de barrido ( $v$ ), así como del número de electrones intercambiados ( $n$ ). Esta ecuación permite discriminar procesos en los que la velocidad de reacción está limitada por la difusión, en cuyo caso la gráfica  $i_p$  vs.  $v^{1/2}$  corresponderá a la de una línea recta.

Como se observa en las figuras 7 a 9, las corrientes de pico varían linealmente con la velocidad de barrido, lo que indica que el sistema se encuentra controlado por la difusión del analito desde el seno de la disolución hasta la superficie del electrodo. Los coeficientes de difusión obtenidos para cada especie, obtenidos utilizando la ecuación de Randles-Sevcik son, respectivamente,  $D_{\text{Cu(I)}} = 1.08 \times 10^{-6} \pm 1.4 \times 10^{-7}$   $\text{cm}^2/\text{s}$  y  $D_{\text{Cu(II)}} = 1.23 \times 10^{-6} \pm 1.8 \times 10^{-7}$   $\text{cm}^2/\text{s}$ .



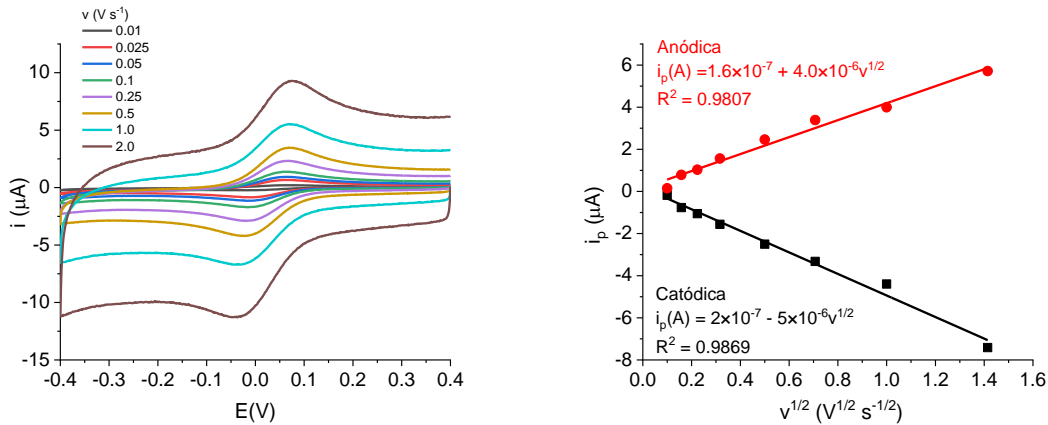


Figura 7. Izquierda: voltamperogramas cíclicos de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$   $2.2 \times 10^{-4} \text{ M}$  obtenidos a distintas velocidades de barrido (0.010, 0.025, 0.050, 0.100, 0.250, 0.500, 1.000 y 2.000 V/s) en DMSO seco y en presencia de  $\text{TBAPF}_6$  0.1 M, bajo atmósfera de  $\text{N}_2(\text{g})$ . Electrodo de trabajo: disco de carbono vítreo de 3 mm de diámetro; electrodo de referencia:  $\text{Ag}/\text{AgCl}$ ; electrodo auxiliar: barra de grafito. Derecha: gráficas de  $i_p$  vs.  $v^{1/2}$  para las corrientes de pico anódicas y catódicas.

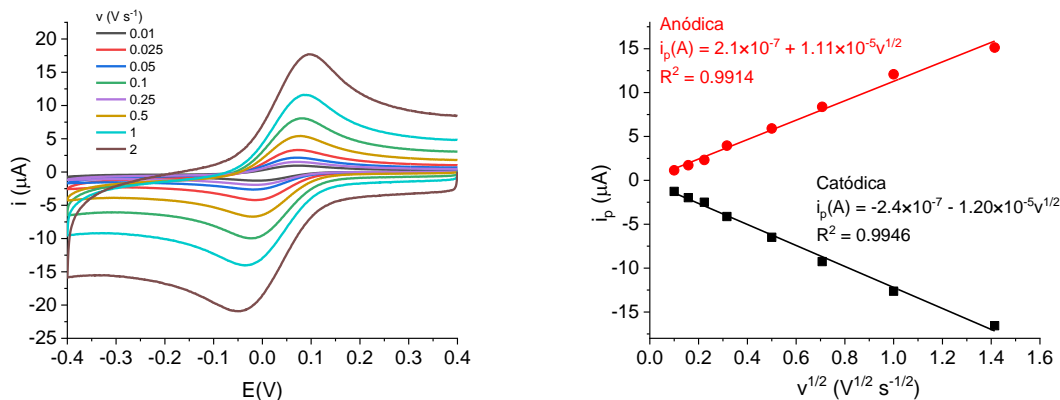


Figura 8. Izquierda: voltamperogramas cíclicos de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$   $5.8 \times 10^{-4} \text{ M}$  obtenidos a distintas velocidades de barrido (0.010, 0.025, 0.050, 0.100, 0.250, 0.500, 1.000 y 2.000 V/s) en DMSO seco y en presencia de  $\text{TBAPF}_6$  0.1 M bajo atmósfera de  $\text{N}_2(\text{g})$ . Electrodo de trabajo: disco de carbono vítreo de 3 mm de diámetro; electrodo de referencia:  $\text{Ag}/\text{AgCl}$ ; electrodo auxiliar: barra de grafito. Derecha: gráficas de  $i_p$  vs  $v^{1/2}$  para las corrientes de pico anódicas y catódicas.

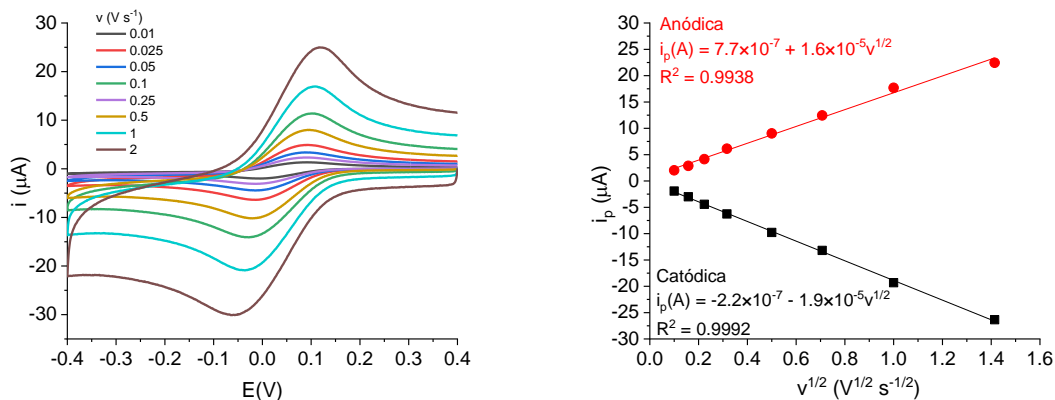


Figura 9. Izquierda: voltamperogramas cíclicos de [CuL<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> 9.2×10<sup>-4</sup> M obtenidos a distintas velocidades de barrido (0.010, 0.025, 0.050, 0.100, 0.250, 0.500, 1.000 y 2.000 V/s) en DMSO seco en presencia de TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M bajo atmósfera de N<sub>2</sub>(g). Electrodo de trabajo: disco de carbono vítreo de 3 mm de diámetro; electrodo de referencia: Ag/AgCl; electrodo auxiliar: barra de grafito. Derecha: gráficas de i<sub>p</sub> vs v<sup>1/2</sup> para las corrientes de pico anódicas y catódicas.

La voltamperometría cíclica nos permite conocer algunos parámetros cinéticos de las reacciones de transferencia de electrones. El método de Nicholson, empleado para establecer el valor de la constante estándar aparente de transferencia de electrones, conocida como k<sup>o</sup>, se basa en la separación de potenciales de pico catódico y anódico medida por voltamperometría cíclica, según la ecuación 8:

$$\Psi = k^o \left( \frac{\pi D n v F}{RT} \right)^{-1/2} \quad \text{Ec. 8}$$

donde D es el coeficiente de difusión de la sustancia transformada; n el coeficiente estequiométrico de los electrones en la reacción heterogénea de intercambio de electrones; v es la velocidad de barrido de potencial; F es la constante de Faraday; R la constante universal de los gases; T la temperatura absoluta y Ψ es una función evaluada numéricamente [29]. El valor de k<sup>o</sup> fue determinado directamente a partir de la pendiente observada en un gráfico  $\Psi = f([\pi D n v F / RT]^{-1/2})$ , empleando los coeficientes de difusión determinados experimentalmente, trabajando con tres valores de concentración distintos (0.23, 0.58 y 0.92 mM) del complejo de cobre(II).

El valor de  $k^\circ$  obtenido para el sistema  $[\text{CuL}_2]^{2+/+}$  es  $k^\circ = 5.8 \times 10^{-3} \pm 2.7 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$  (o  $7.4 \times 10^{-3} \pm 2.4 \times 10^{-4} \text{ cm s}^{-1}$ , si no se toma en cuenta el resultado obtenido para la concentración más alta, que dio lugar a un valor más pequeño que las otras dos concentraciones, quizás por algún error experimental, como se observa en la figura 10).

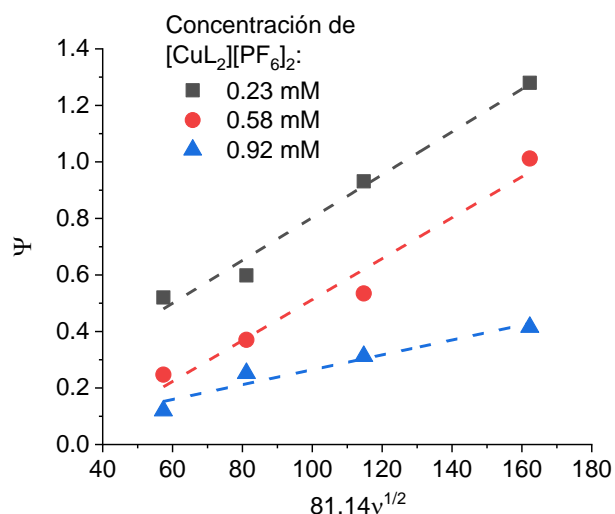


Figura 10. Determinación de  $k^\circ$  mediante el método de Nicholson modificado por Lavagnini *et al.* [29] para la electrólisis de los complejos  $[\text{CuL}_2]^{2+}/[\text{CuL}_2]^+$ , a partir de datos obtenidos usando concentraciones 0.23, 0.58 y 0.92 mM de Cu(II).

Los siguientes experimentos de voltamperometría cíclica, hechos con el fin de estudiar la reducción de oxígeno y la oxidación posterior del superóxido producido, se realizaron en un intervalo de potencial comprendido entre 0.15 y -1.3 V. La figura 11 muestra los resultados obtenidos en un experimento realizado con una velocidad de barrido de 0.1 V/s. El intervalo de potencial se escogió a partir de los experimentos de cobre, ya que se cubre el intervalo de potencial de la reacción de cobre y el intervalo de potencial de aparición del ion superóxido. El barrido de potencial comienza con una corriente igual a cero en el punto A, donde hay  $\text{O}_2$  presente, disuelto en DMSO. A medida que el potencial cambia del valor mostrado en el punto A al del punto C, el  $\text{O}_2$  se reduce a  $\text{O}_2^{\cdot-}$ . El barrido de potencial se invierte en el punto C, y a partir de un valor de potencial cercano a -0.88 V y hasta alcanzar nuevamente los 0.15 V vs. Ag/AgCl, el  $\text{O}_2^{\cdot-}$  se oxida a  $\text{O}_2$ . En los voltamperogramas

de la figura 12 se muestran los mismos experimentos realizados a una velocidad de 0.1 V/s a diferentes velocidades de barrido.

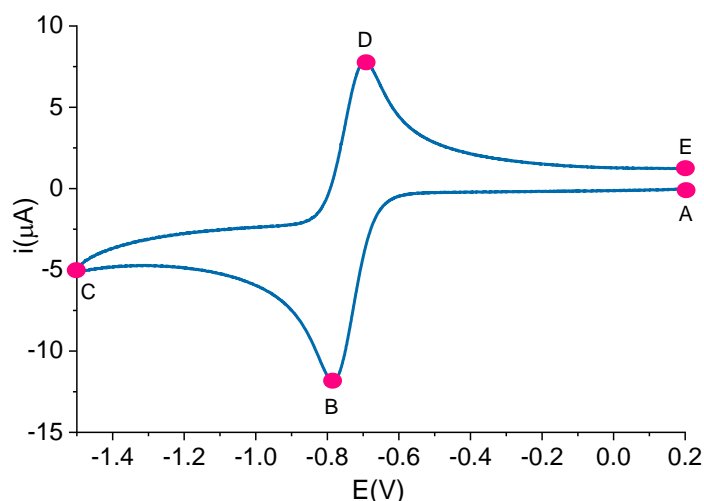


Figura 11. Voltamperograma cíclico de oxígeno en TBAPF<sub>6</sub> obtenido a 0.1 V/s en DMSO seco y en presencia de TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M, bajo atmósfera de N<sub>2</sub>(g). Electrodo de trabajo: disco de carbono vítreo de 3 mm de diámetro; electrodo de referencia: Ag/AgCl; electrodo auxiliar: barra de grafito.

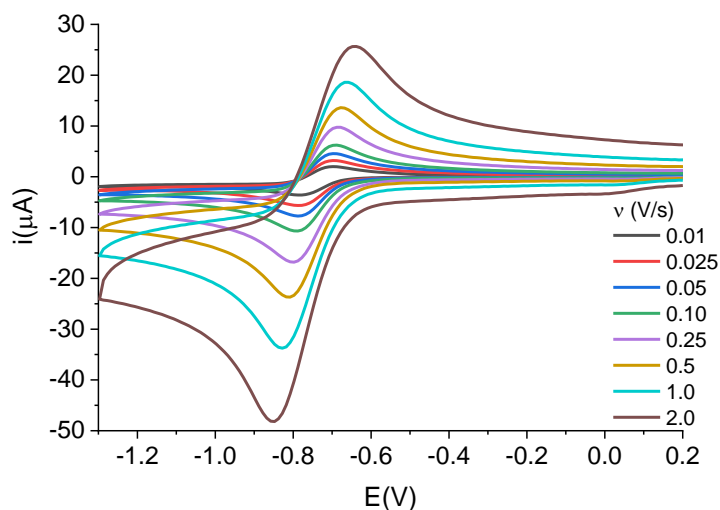


Figura 12. Voltamperogramas cíclicos de oxígeno en TBAPF<sub>6</sub> obtenidos a diferentes velocidades de barrido (0.010, 0.025, 0.050, 0.100, 0.250, 0.500, 1.000 y 2.000 V/s) en DMSO seco en presencia de TBAPF<sub>6</sub> 0.1 M bajo atmósfera de N<sub>2</sub>(g). Electrodo de trabajo: disco de carbono vítreo de 3 mm de diámetro; electrodo de referencia: Ag/AgCl; electrodo auxiliar: barra de grafito.

Los coeficientes de difusión obtenidos para el oxígeno y el superóxido, obtenidos utilizando la ecuación de Randles-Sevcik son, respectivamente,  $D_{\text{Oxígeno}} = 4.3 \times 10^{-5} \pm 3.8 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$  y  $D_{\text{Superóxido}} = 1.6 \times 10^{-5} \pm 4.8 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ .

Al igual que con el sistema del cobre, empleando ahora los datos de la figura 12, se obtuvieron los coeficientes de difusión del oxígeno y el SO determinados experimentalmente, se obtuvo la  $k^0$  de este sistema (figura 13):

$$k^0 = 1.49 \times 10^{-2} \pm 0.3 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$$

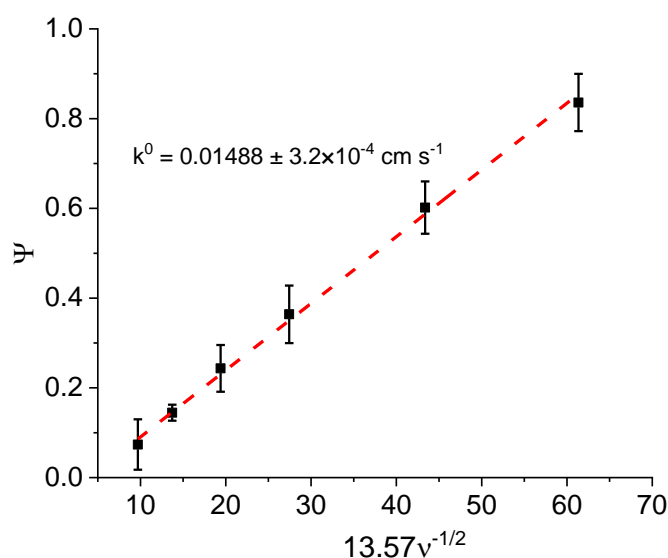


Figura 13. Evaluación de  $k^0$  mediante el método de Nicholson modificado por Lavagnini *et al.* [29] para el sistema  $\text{O}_2/\text{O}_2^{\cdot-}$  para una concentración de oxígeno igual a  $3 \times 10^{-4} \text{ M}$ .

Experimentos similares sobre el efecto de la velocidad de barrido en los voltamperogramas del par  $\text{O}_2/\text{O}_2^{\cdot-}$  se realizaron después, añadiendo  $[\text{Cu}(\text{fen})_2][\text{PF}_6]_2$  al medio electrolítico. El propósito de estas pruebas es llevar a cabo un estudio de la reacción del  $[\text{Cu}(\text{fen})_2]^+$  con el superóxido. Las figuras 14, 15 y 16 muestran los experimentos realizados usando concentraciones del compuesto de  $2.3 \times 10^{-4}$ ,  $5.8 \times 10^{-4}$  y  $9.2 \times 10^{-4} \text{ M}$ , respectivamente, en presencia de oxígeno a distintas velocidades de barrido. Las corrientes de pico anódica y catódica para el par  $\text{O}_2/\text{O}_2^{\cdot-}$  varían linealmente con la raíz cuadrada de la velocidad de barrido, lo que indica que las reacciones electroquímicas se encuentran limitadas por la

difusión de los analitos desde el seno de la disolución hasta la superficie del electrodo. A bajas velocidades de barrido se observa un prepico catódico para la reducción de oxígeno, y a velocidades relativamente altas se puede ver que el pico anódico del sistema Cu(II)/Cu(I) reaparece, sobre todo para las concentraciones más altas. Más adelante se propone una hipótesis sobre el mecanismo de reacción que explica la forma de estos voltamperogramas.

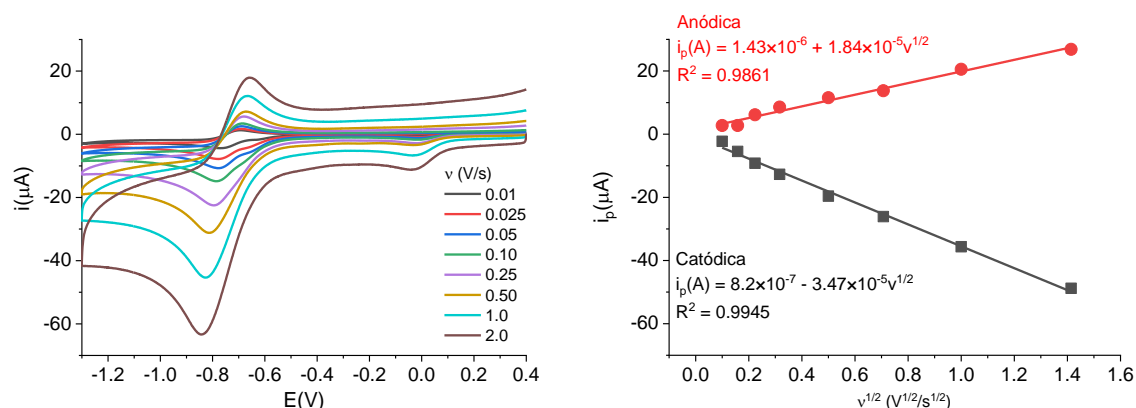


Figura 14. Izquierda: Voltamperogramas cíclicos de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$   $2.3 \times 10^{-4} \text{ M}$  en presencia de oxígeno  $3 \times 10^{-4} \text{ M}$  a distintas velocidades de barrido (0.010, 0.025, 0.050, 0.100, 0.250, 0.500, 1.000 y 2.000 V/s), con las mismas condiciones experimentales de la figura 12. Derecha: Gráficas de  $i_p$  vs.  $v^{1/2}$  de las corrientes de pico anódica y catódica del oxígeno.

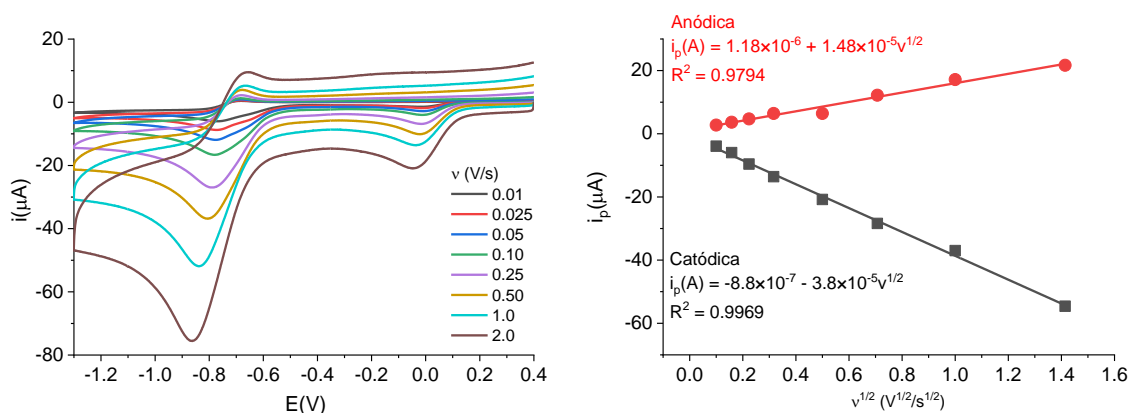


Figura 15. Izquierda: Voltamperogramas cíclicos de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$   $5.8 \times 10^{-4} \text{ M}$  en presencia de oxígeno  $3 \times 10^{-4} \text{ M}$  obtenidos a distintas velocidades de barrido (0.010, 0.025, 0.050, 0.100, 0.250, 0.500, 1.000 y 2.000 V/s), bajo las mismas condiciones experimentales de la figura 12. Derecha: Gráficas de  $i_p$  vs  $v^{1/2}$  de las corrientes de pico anódica y catódica del oxígeno.

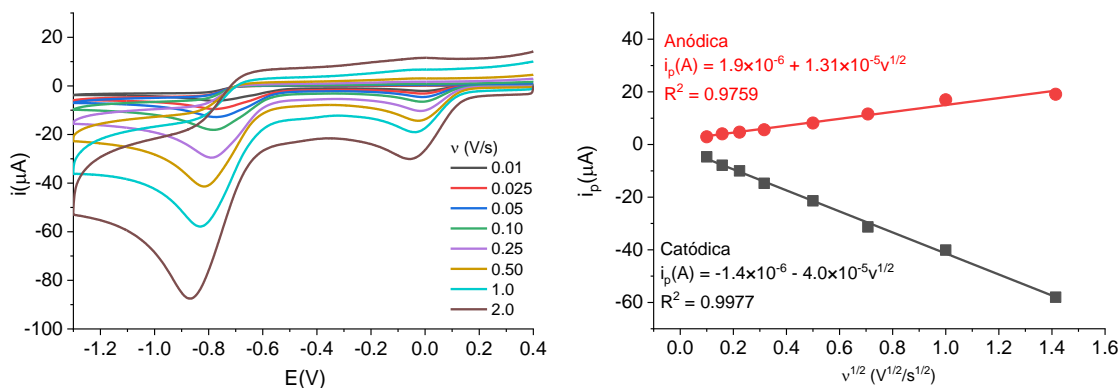


Figura 16. Voltamperogramas cíclicos de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$   $9.2 \times 10^{-4}$  M en presencia de oxígeno  $3 \times 10^{-4}$  M obtenidos a distintas velocidades de barrido (0.010, 0.025, 0.050, 0.100, 0.250, 0.500, 1.000 y 2.000 V/s), bajo las mismas condiciones experimentales de la figura 12. Derecha: Gráficas de  $i_p$  vs  $v^{1/2}$  de las corrientes de pico anódica y catódica del oxígeno.

Para los experimentos cronoamperométricos, la función de perturbación impuesta en la celda electroquímica consiste en un pulso de potencial desde un valor inicial de potencial de electrodo ( $E_i$ ), en la cual no ocurre reacción alguna. El potencial salta, una vez iniciado el experimento, hasta un valor tal que el compuesto de cobre(II),  $[\text{Cu}(\text{fen})_2]^{2+}$ , es reducido por completo en la superficie del electrodo a la forma de cobre(I),  $[\text{Cu}(\text{fen})_2]^+$ , lo cual puede representarse de la siguiente manera:



Bajo estas condiciones,  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  es convertido a  $[\text{CuL}_2]^+$  tan pronto alcanza la superficie del electrodo, de forma que la rapidez de transformación de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  y la consecuente velocidad de formación de  $[\text{CuL}_2]^+$  están controlados solo por la velocidad de difusión de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  a la superficie del electrodo, dada por la influencia del gradiente de concentración correspondiente.

En la figuras 17 a 19 se muestran los cronoamperogramas de los diferentes experimentos a distintos potenciales de barrido, así como el tratamiento de los datos obtenidos para un potencial final de -0.12 V, en el cual la corriente varía linealmente con  $t^{-1/2}$ , indicando que el proceso se encuentra controlado por difusión del analito. El coeficiente de difusión obtenido para la especie sistema  $[\text{CuL}_2]^{2+}$ , calculado

utilizando la ecuación de Cottrell es  $D_{\text{Cu(II)}} = 3.6 \times 10^{-6} \pm 1.1 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ , del mismo orden de magnitud y muy cercano al calculado a partir de los resultados voltamperométricos.

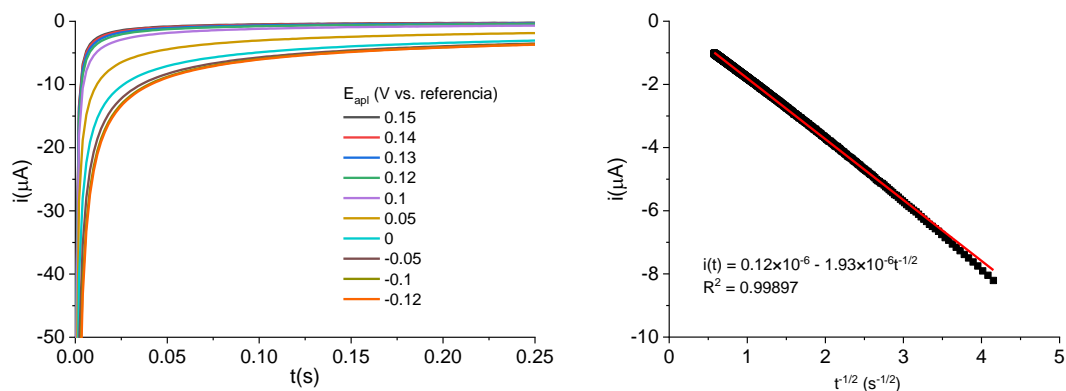


Figura 17. Izquierda: Cronoamperogramas para  $[\text{CuL}_2]^{2+} 2.3 \times 10^{-4} \text{ M}$  bajo atmósfera de  $\text{N}_2(\text{g})$  obtenidos a distintos potenciales. Derecha: Gráfica de corriente vs  $t^{-1/2}$  para el experimento a  $-0.12 \text{ V}$ .

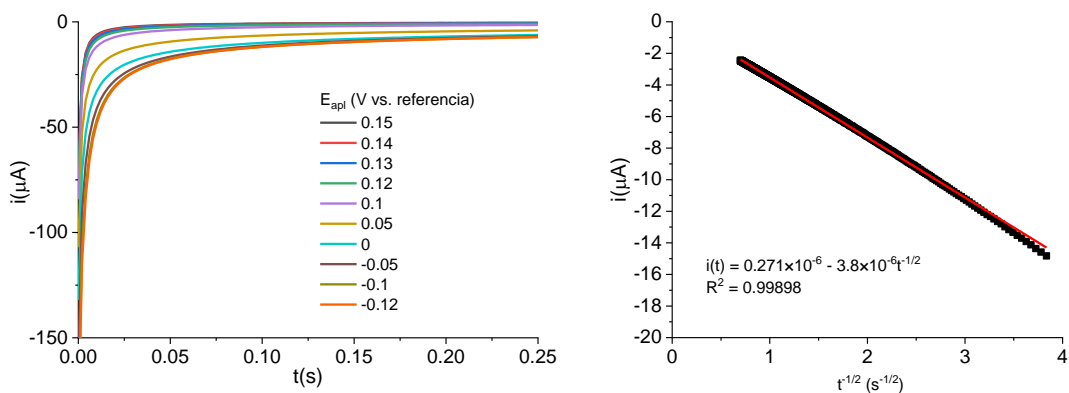


Figura 18. Izquierda: Cronoamperogramas para  $[\text{CuL}_2]^{2+} 5.8 \times 10^{-4} \text{ M}$  bajo atmósfera de  $\text{N}_2(\text{g})$  obtenidos a distintos potenciales. Derecha: Gráfica de corriente vs  $t^{-1/2}$  para el experimento a  $-0.12 \text{ V}$ .



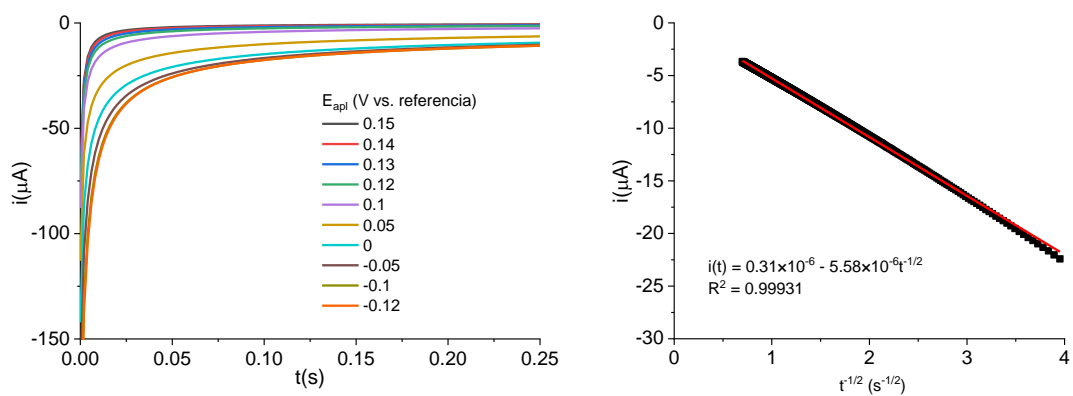
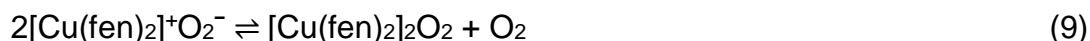
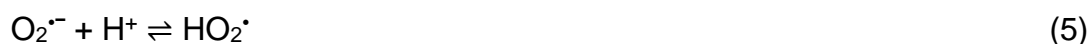


Figura 19. Izquierda: Cronoamperogramas para  $[\text{CuL}_2]^{2+}$   $9.2 \times 10^{-4} \text{ M}$  bajo atmósfera de  $\text{N}_2(\text{g})$  obtenidos a distintos potenciales. Derecha: Gráfica de corriente vs  $t^{-1/2}$  para el experimento a  $-0.12 \text{ V}$ .

## V.2. Modelado numérico de los resultados obtenidos con las técnicas electroquímicas

Para proponer un posible mecanismo para la reacción de  $[\text{Cu}(\text{fen})_2]^+$  y el ion superóxido, se utilizó el software de simulación DigiElch 8, el cual es un programa de análisis numérico de datos electroquímicos que puede usarse para simular el comportamiento electroquímico de diferentes sistemas reaccionantes.

El mecanismo de reacción propuesto que se utilizó para simular los voltamperogramas experimentales de las mezclas  $\text{O}_2/[\text{CuL}_2]^{2+}$  involucra a las siguientes reacciones:

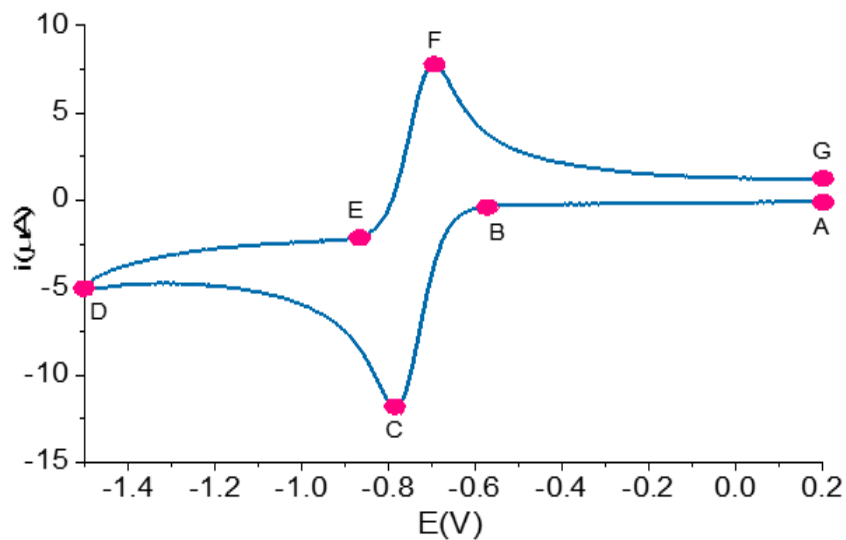


Para entender cómo podría llevarse a cabo la reacción entre el complejo  $[\text{CuL}_2]^+$  y el ion superóxido, primero se realizó la simulación de los voltamperogramas del sistema  $\text{O}_2/\text{O}_2^{\cdot -}$ , cuya respuesta en experimentos de voltamperometría cíclica se encuentra representada en la figura 11 y en la reacción 3 del mecanismo de reacción anterior. En el esquema 1 se observan los gráficos de los perfiles de concentración obtenidos a partir de la simulación para la reducción de

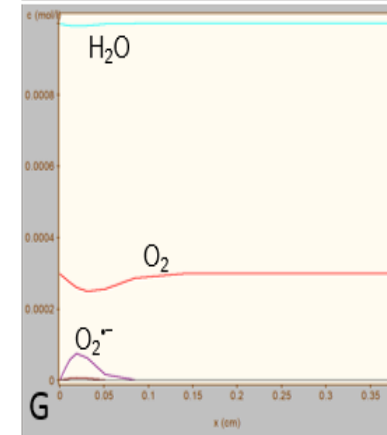
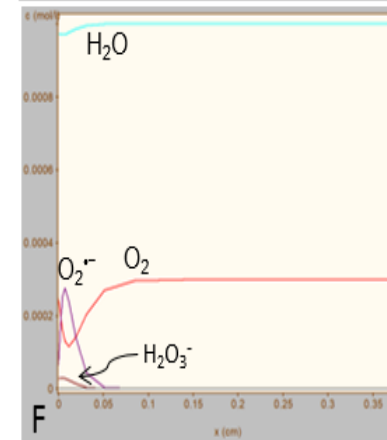
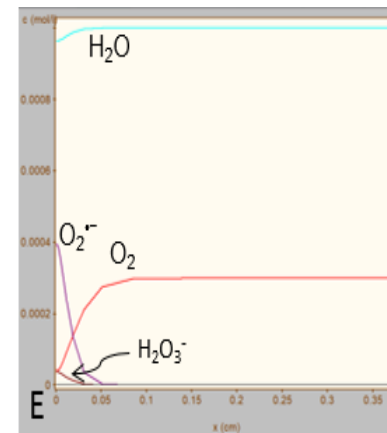
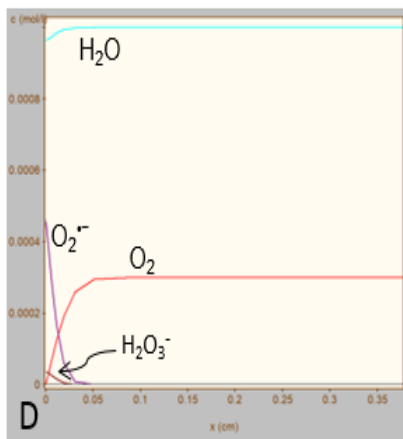
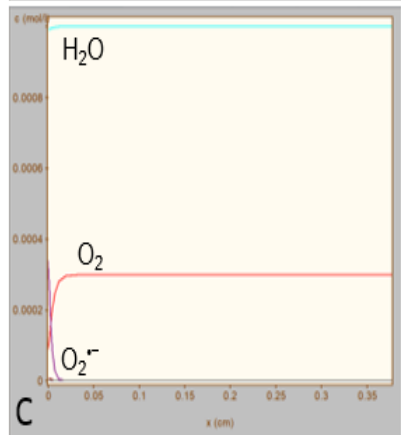
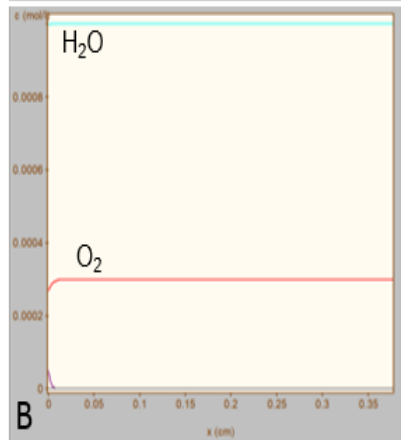
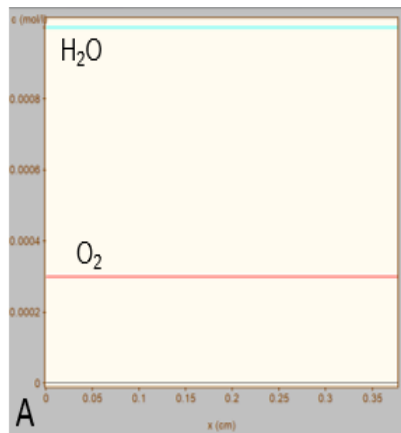
oxígeno/oxidación de ion superóxido. Desde el inicio del barrido hay en el medio una pequeña cantidad de H<sub>2</sub>O que sufre una autoprotólisis (reacción 1). Del punto A al B de la figura 11 (incluida en el esquema 1, para facilidad de consulta), se ve que la concentración de O<sub>2</sub>, inicialmente igual a 3×10<sup>-4</sup> M, comienza a disminuir por la reducción del dioxígeno al ion-radical superóxido; en el punto C, la concentración de dioxígeno en la superficie del electrodo se hace prácticamente nula; del punto C al D continúa la reducción de O<sub>2</sub> a O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, y la concentración de O<sub>2</sub> va disminuyendo conforme el potencial de electrodo se hace más bajo, mientras que la del O<sub>2</sub><sup>•-</sup> va en aumento hasta llegar a un valor mayor que el de 3×10<sup>-4</sup> M, debido a la presencia de las reacciones 4 (de formación de un aducto agua-superóxido) y 5 (protonación del superóxido, aunque parece que su contribución es despreciable), y a la posterior dismutación del superóxido protonado (reacción 11). Al pie del pico anódico, en el punto E, comienza a llevarse a cabo la oxidación del superóxido, transformándose nuevamente en dioxígeno y desapareciendo prácticamente de la superficie del electrodo en el punto F, es decir, en el potencial de pico anódico. Desde dicho punto y hasta G, la concentración del oxígeno sobre el electrodo se incrementa paulatinamente conforme el potencial aumenta, mientras que la concentración del oxígeno aumenta para alcanzar nuevamente la concentración original.

A continuación, se estudió la reacción electroquímica del complejo [Cu(fen)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> en el mismo disolvente, lo cual se muestra en el esquema 2. En el punto A se observa la presencia de [Cu(fen)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>; en el punto B (correspondiente al valor del potencial de media onda) las concentraciones de las especies de Cu<sup>II</sup> y Cu<sup>I</sup> son prácticamente iguales sobre la superficie del electrodo, y a partir de este punto y hacia el punto C, la concentración del oxidante del par disminuye mientras que la del reductor aumenta. En el punto D se invierte el barrido de potencial, mientras se continúa con la reducción del Cu(II). Al pie del pico anódico, entre los puntos D y E, comienza la oxidación de Cu(I), y nuevamente, al alcanzar el punto E, las concentraciones de Cu(II) y Cu(I) se igualan sobre el electrodo. En el punto F, la transformación de [Cu(fen)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> alcanza su mayor rapidez, y pasando ese punto y hasta G, la concentración de Cu(I) sobre la superficie del electrodo disminuye conforme el potencial aumenta, mientras que la de Cu(II) crece hasta alcanzar su valor inicial.

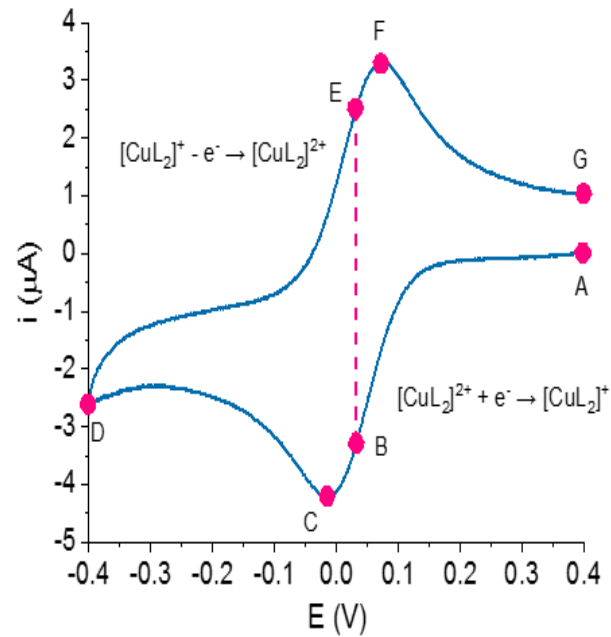
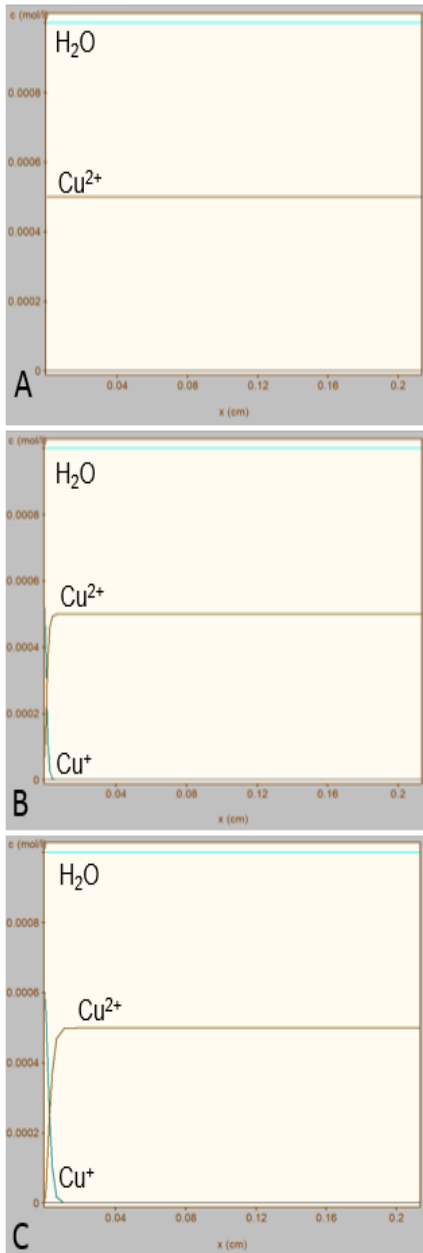
Esquema 1. Perfiles de concentración para el sistema  $O_2/O_2^{\cdot-}$



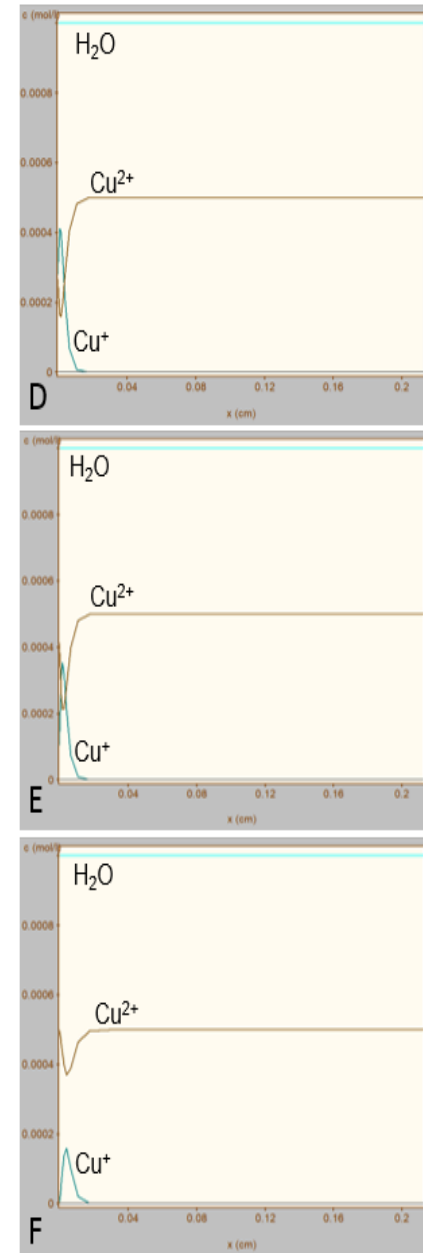
●  $O_2$     ●  $O_2^{\cdot-}$     ●  $H_2O$     ●  $H_2O_3^-$



Esquema 2. Perfiles de concentración para el sistema  $\text{Cu}(\text{fen})_2^{2+}/\text{Cu}(\text{fen})_2^+$



●  $\text{Cu}^{2+}$       ●  $\text{Cu}^+$       ●  $\text{H}_2\text{O}$



Finalmente, el voltamperograma de la figura 20 muestra el resultado obtenido tras un experimento voltamperométrico en una disolución que contiene  $O_2$  0.3 mM y  $[Cu(fen)_2]^{2+}$  0.58 mM, realizado a una velocidad de barrido de 0.1 V/s. Desde el comienzo del barrido, se encuentra presente en el medio una pequeña cantidad de agua que, como lo muestra la reacción 1, sufre autoprotólisis. Se observa que en el punto A la corriente es prácticamente nula, y que al llegar al punto B, el  $[Cu(fen)_2]^{2+}$  comienza a reducirse. A medida que el potencial disminuye del punto A al punto D, el  $[Cu(fen)_2]^{2+}$  se reduce a  $[Cu(fen)_2]^+$ , un proceso representado en la reacción 2. A partir del punto E, el dióxigeno disuelto comienza a reducirse al ion superóxido  $O_2^{\cdot-}$ . Esta reducción (representada por la reacción 3) se lleva a cabo del punto E hasta la base del pico I. Al mismo tiempo, a partir del punto E, donde comienza la aparición del ion superóxido, una parte puede reaccionar con las moléculas de agua que no se disociaron, y otra con los protones obtenidos de la disociación de agua, tal y como las reacciones 4 y 5.

En el punto F se observa la aparición de un hombro en el pico de reducción, probablemente asociado a la formación de un compuesto de coordinación entre la especie de Cu(I) y el ion superóxido como se muestra en la reacción 6.

Al llegar el barrido, al potencial de inversión (punto H), se observa un pequeño cambio en la corriente, el cual se ve como un pico, esto puede ser asociado a que una parte del superóxido que no reacciono, se siga reduciendo y pase a peróxido, esto representado en la reacción 7. Al mismo tiempo el peróxido formado reacciona con protones del medio como se observa en la reacción 8

Por ultimo del punto H al J se observa que el compuesto de coordinación formado en la reacción 6 dismuta obteniendo un compuesto coordinado y oxígeno como se muestra en la reacción 9. En el punto J, el barrido termina con la aparición del peróxido y la aparición de los productos correspondientes en la reacción 10.

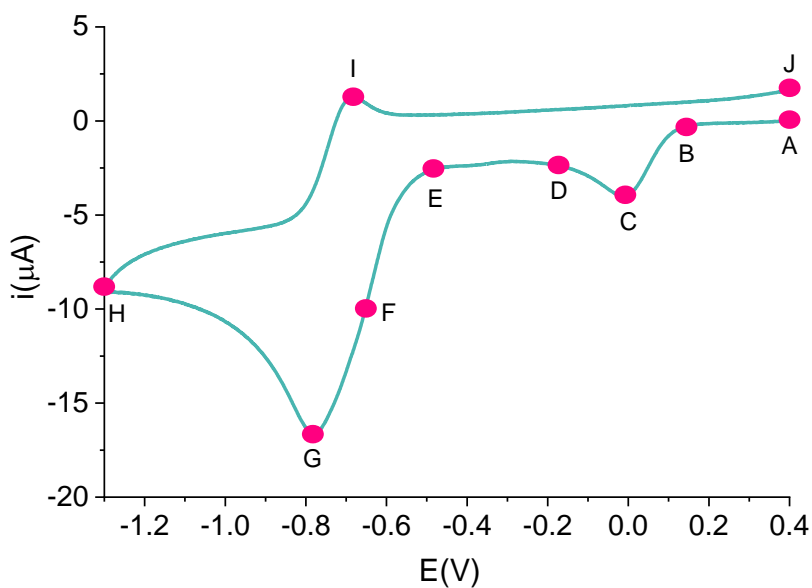
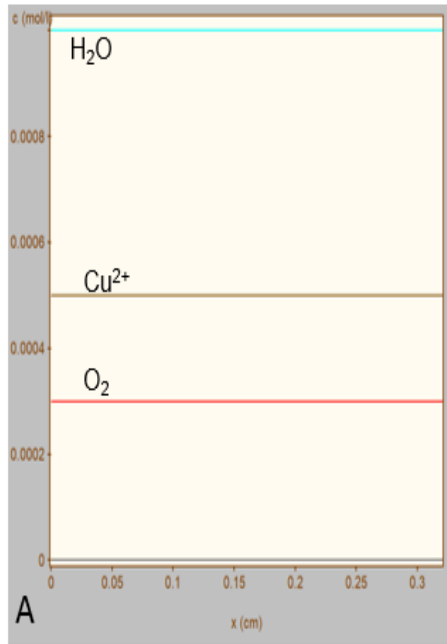


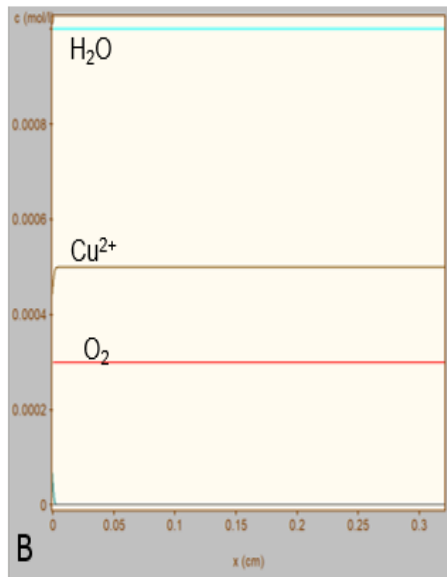
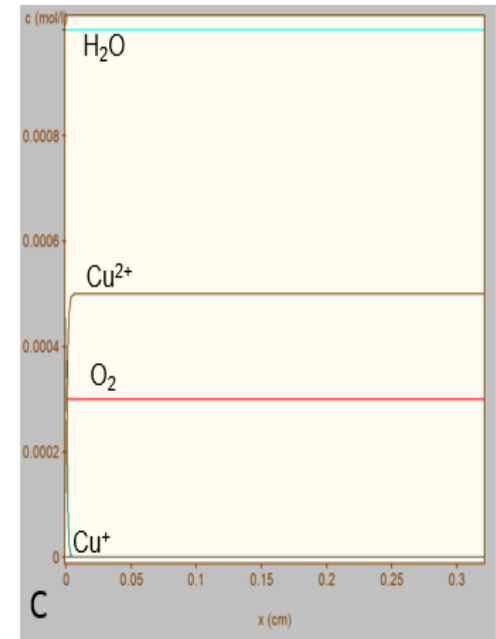
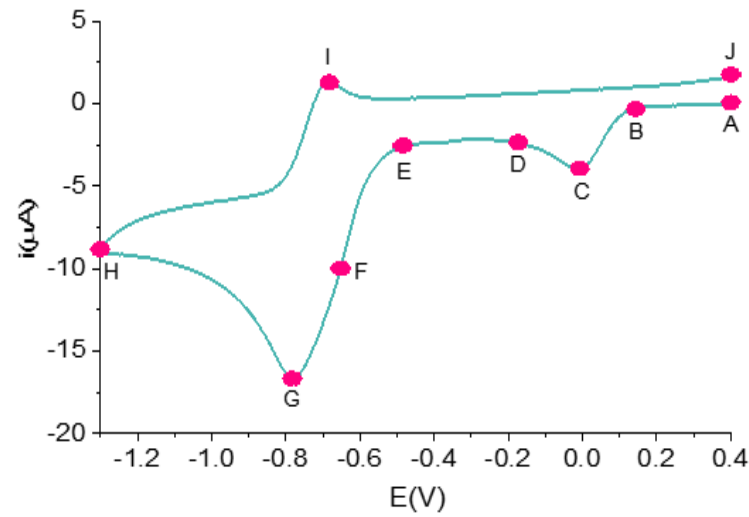
Figura 20. CV de  $[\text{CuL}_2]^{2+}$   $5.8 \times 10^{-4}$  M,  $v = 0.1 \text{ V s}^{-1}$ , en presencia de oxígeno  $3 \times 10^{-4}$  M.

**Tabla de reacciones de transferencia electrónica y reacciones químicas del mecanismo propuesto**

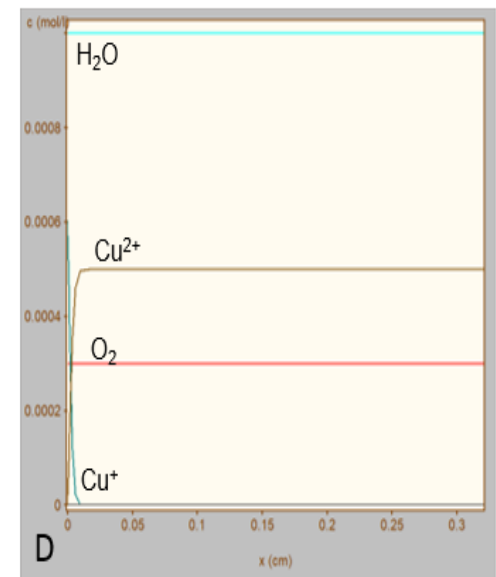
<b>Reacciones de transferencia electrónica</b>	
	$[\text{Cu}(\text{fen})_2]^{2+} + e^- \rightleftharpoons [\text{Cu}(\text{fen})_2]^+$
	$\text{O}_2 + e^- \rightleftharpoons \text{O}_2^{\cdot -}$
	$\text{O}_2^{\cdot -} + e^- \rightarrow \text{O}_2^{2-}$
	$\text{O}_2^{2-} - 2e^- \rightarrow \text{productos}$
<b>Reacciones químicas</b>	
	$\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{OH}^-$
	$\text{O}_2^{\cdot -} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O}_3^-$
	$\text{O}_2^{\cdot -} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{HO}_2$
	$[\text{Cu}(\text{fen})_2]^+ + \text{O}_2^{\cdot -} \rightleftharpoons [\text{Cu}(\text{fen})_2]^+ \cdot \text{O}_2^{\cdot -}$
	$\text{O}_2^{2-} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{HO}_2^-$
	$2[\text{Cu}(\text{fen})_2]^+ \cdot \text{O}_2^{\cdot -} \rightleftharpoons [\text{Cu}(\text{fen})_2]_2\text{O}_2 + \text{O}_2$
	$2\text{HO}_2^{\cdot} \rightarrow \text{O}_2 + \text{HO}_2^-$



Esquema 3. Parte I. Perfiles de concentración para el sistema O<sub>2</sub>/O<sub>2</sub><sup>-</sup> en presencia de Cu(fen)<sub>2</sub><sup>2+</sup>/Cu(fen)<sub>2</sub><sup>+</sup>



- |  |                                  |
|--|----------------------------------|
| ● O <sub>2</sub>                             | ● Cu <sup>2+</sup>               |
| ● O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>               | ● Cu <sup>+</sup>                |
| ● O <sub>2</sub> <sup>2-</sup>               | ● CuO <sub>2</sub> <sup>•</sup>  |
| ● H <sub>2</sub> O                           | ● CuO <sub>2</sub> <sup>-</sup>  |
| ● H <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>-</sup> | ● Cu <sub>2</sub> O <sub>2</sub> |

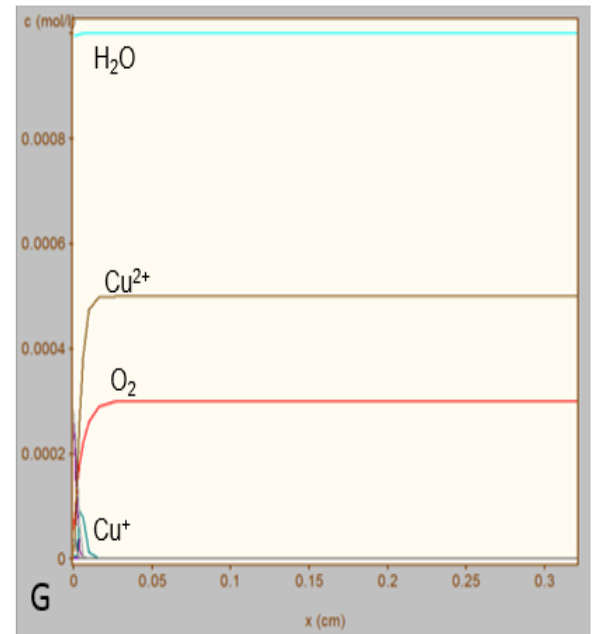
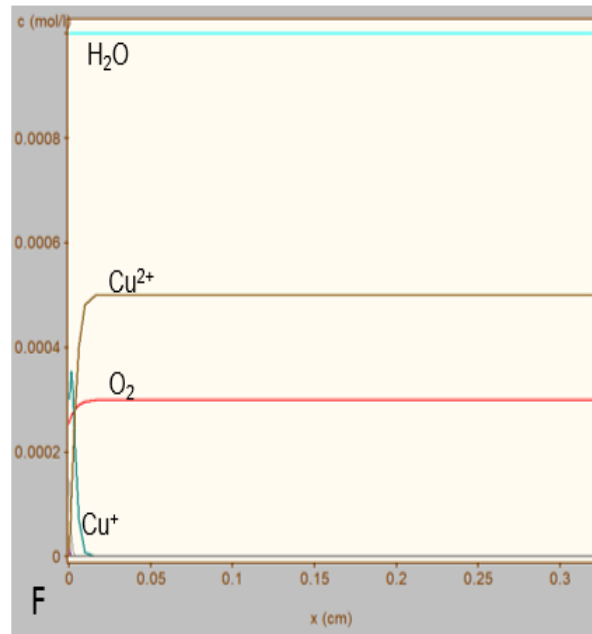
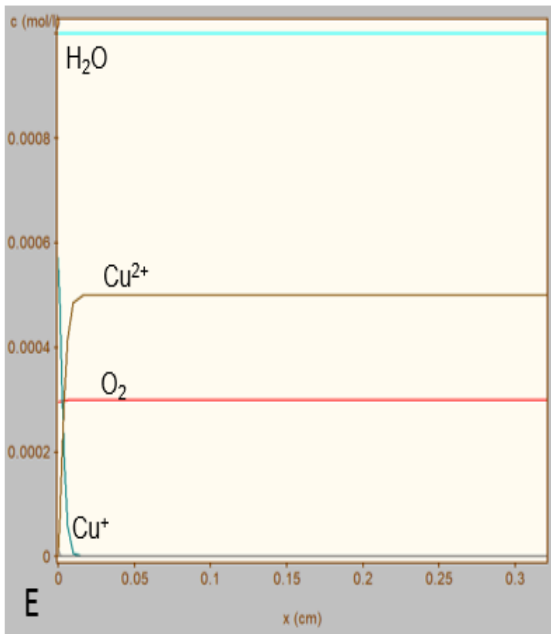
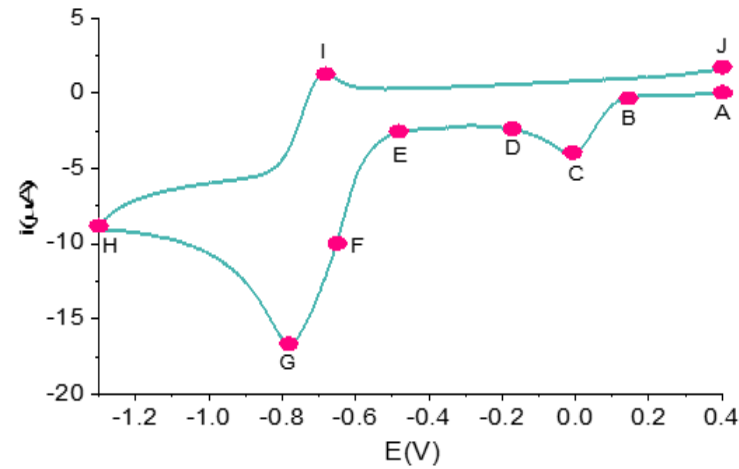




Esquema 3. Parte II. Perfiles de concentración para el sistema  $O_2/O_2^{\cdot-}$  en presencia de  $Cu(fen)_2^{2+}/Cu(fen)_2^+$

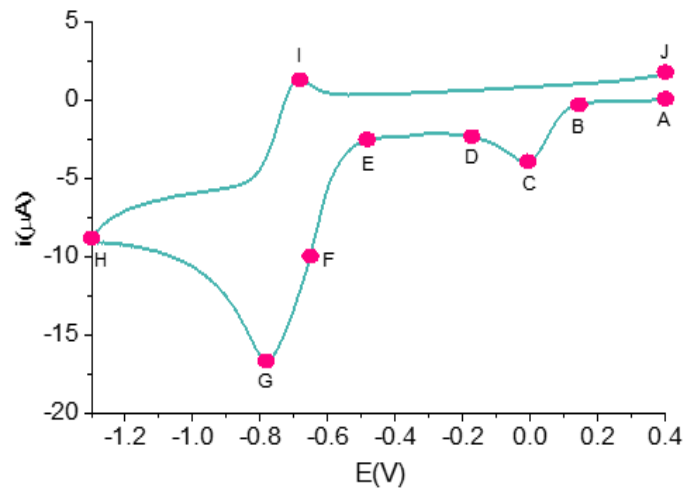
- $O_2$
- $O_2^{\cdot-}$
- $O_2^{2-}$
- $H_2O$
- $H_2O_3^-$

- $Cu^{2+}$
- $Cu^+$
- $CuO_2^{\cdot}$
- $CuO_2^-$
- $Cu_2O_2$

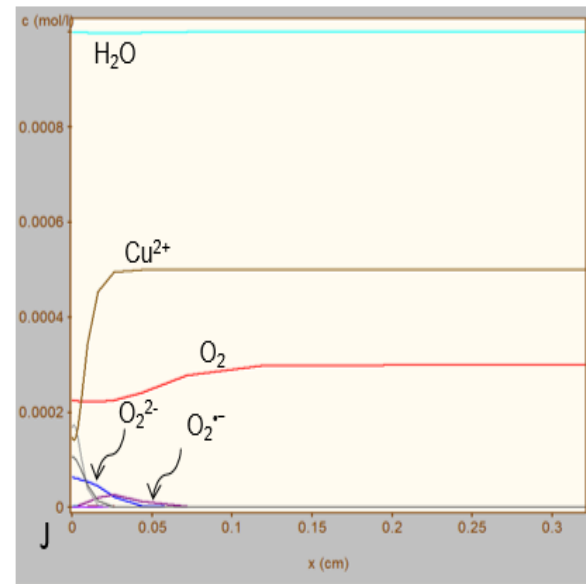
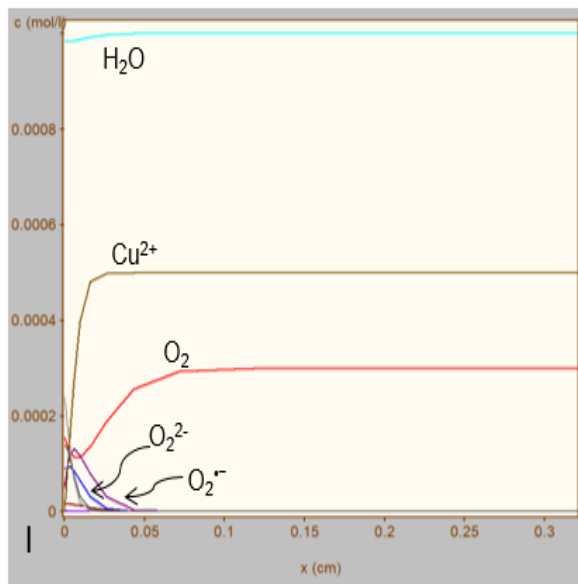
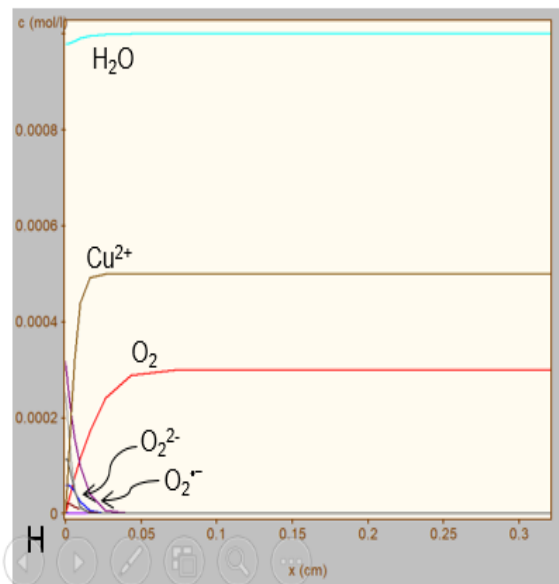


Esquema 3. Parte III. Perfiles de concentración para el sistema  $O_2/O_2^{\cdot-}$  en presencia de  $Cu(fen)_2^{2+}/Cu(fen)_2^+$

- $O_2$
- $O_2^{\cdot-}$
- $O_2^{2-}$
- $H_2O$
- $H_2O_3^-$



- $Cu^{2+}$
- $Cu^+$
- $CuO_2^{\cdot-}$
- $CuO_2^-$
- $Cu_2O_2$



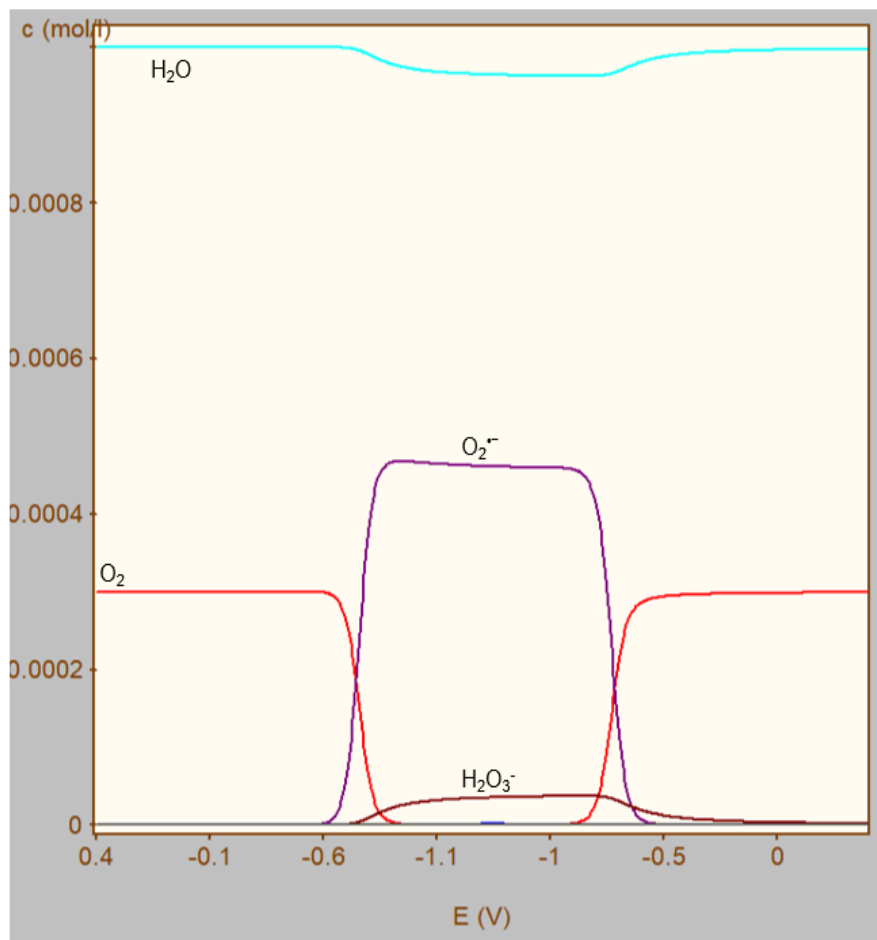
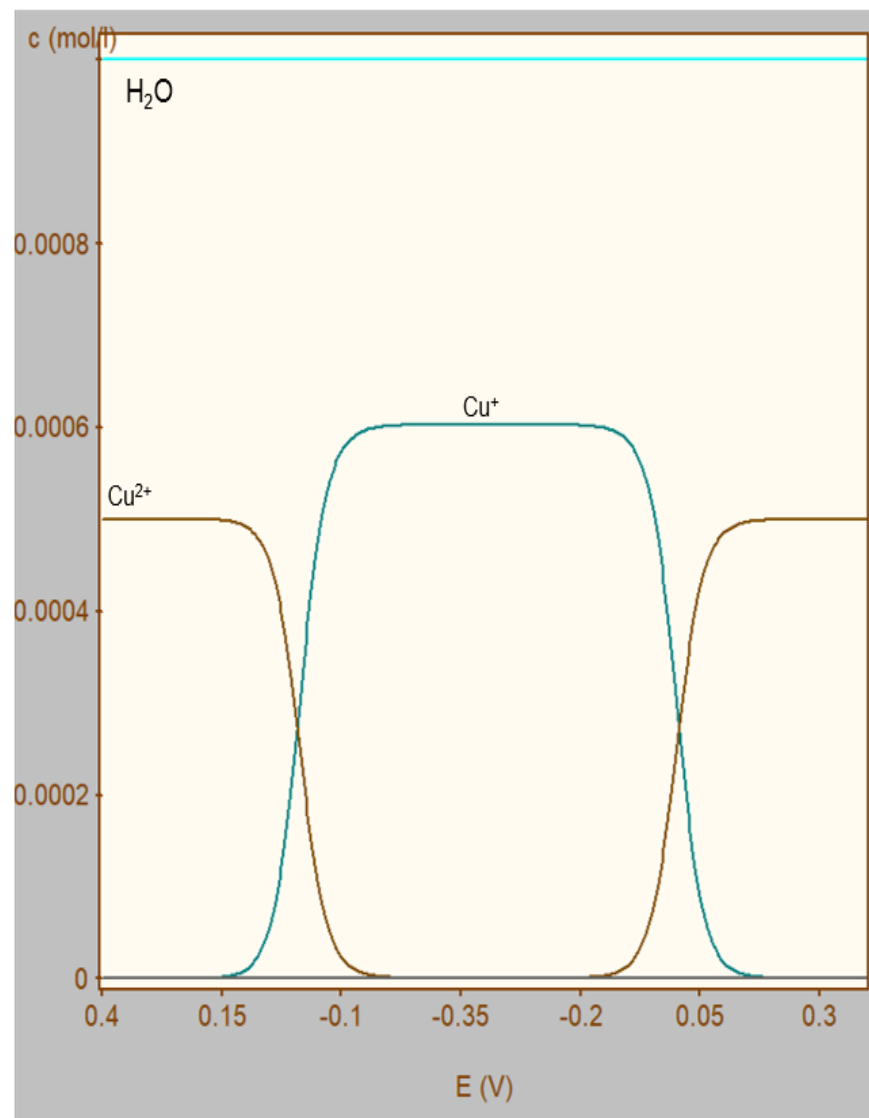


Figura 21. Concentraciones superficiales para el sistema  $O_2/O_2^{\bullet-}$

●  $O_2$     ●  $O_2^{\bullet-}$     ●  $H_2O$     ●  $H_2O_3^{\bullet-}$

Figura 22. Concentraciones superficiales para el sistema  $\text{Cu}(\text{fen})_2^{2+}/\text{Cu}(\text{fen})_2^+$

●  $\text{Cu}^{2+}$       ●  $\text{Cu}^+$       ●  $\text{H}_2\text{O}$



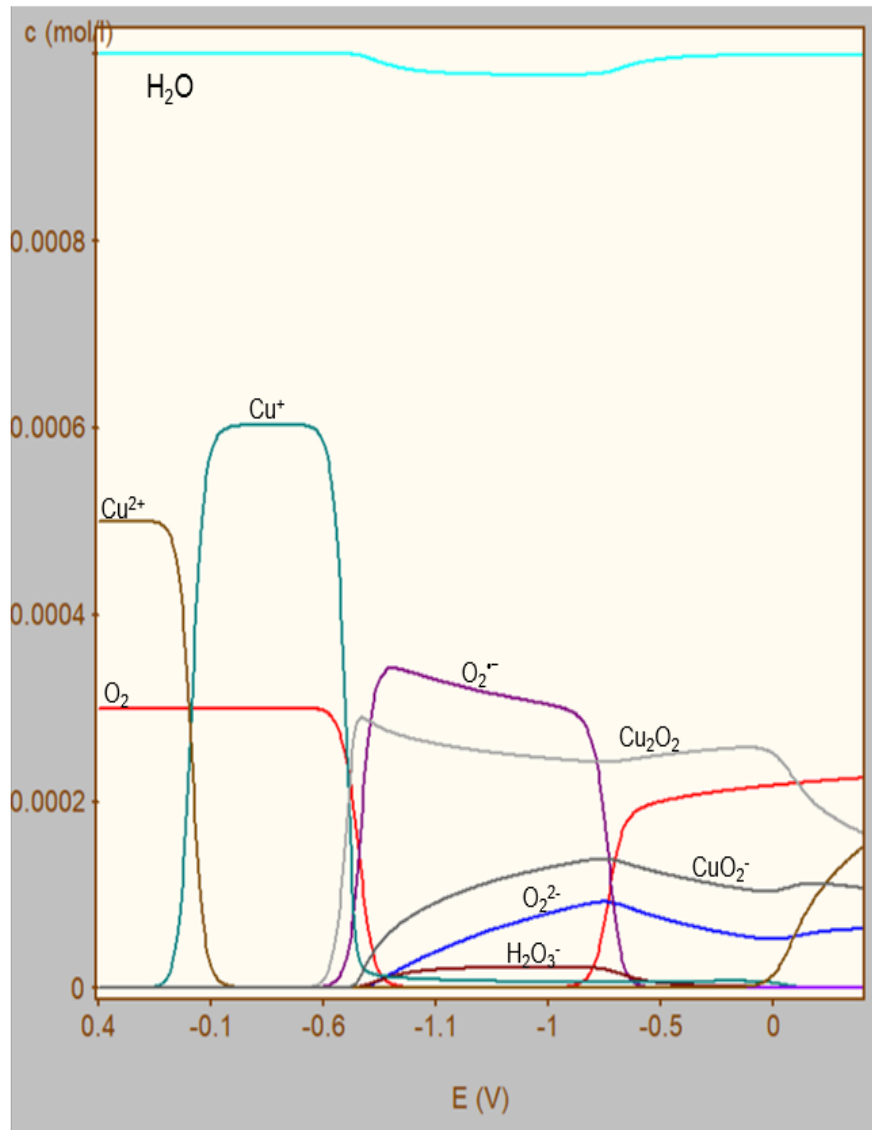


Figura 23. Concentraciones superficiales para el sistema  $\text{O}_2/\text{O}_2^{\bullet-}$  en presencia de  $\text{Cu}(\text{fen})_2^{2+}/\text{Cu}(\text{fen})_2^+$

- $\text{O}_2$
- $\text{O}_2^{\bullet-}$
- $\text{O}_2^{2-}$
- $\text{H}_2\text{O}$
- $\text{H}_2\text{O}_3^-$
- $\text{Cu}^{2+}$
- $\text{Cu}^+$
- $\text{CuO}_2^-$
- $\text{Cu}_2\text{O}_2$

### V.3. Experimentos de espectrofotometría

Los resultados obtenidos en la caracterización del compuesto  $[\text{CuL}_2][\text{PF}_6]_2$  por análisis elemental se indican a continuación:

[CuL <sub>2</sub> ][PF <sub>6</sub> ] <sub>2</sub> 713.89 uma		
Elemento	Masa atómica (uma)	Número de átomos en el compuesto
H	1.008	16
C	12.011	24
Cu	63.546	1
N	14.007	4
F	18.998	12
P	30.974	2
		713.89
Calculado	H	2.3 %
	C	40.4 %
	Cu	8.9 %
	N	7.8 %
	F	31.9
	P	8.7 %
		100.0 %
Experimental	H	2.7 %
	C	47 %
	N	10.9 %
	H <sub>ratio</sub>	1.17
	C <sub>ratio</sub>	1.16
	N <sub>ratio</sub>	1.39

Correspondiendo a los valores teóricos con los experimentales de acuerdo con la estructura siguiente:

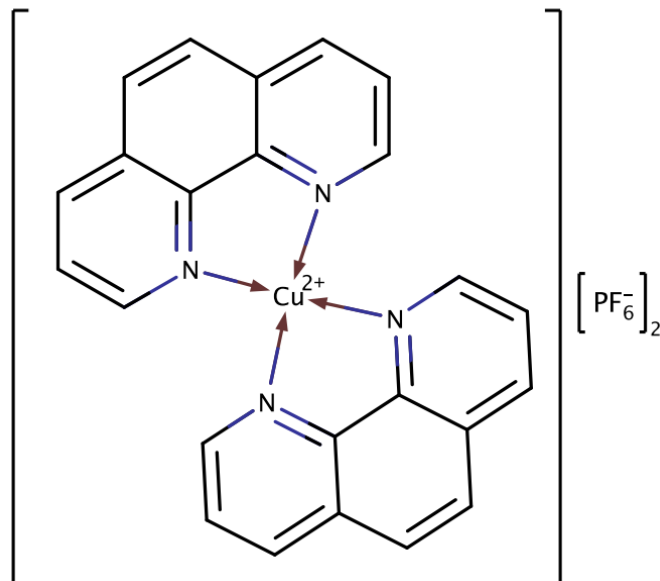


Figura 24. Estructura del compuesto  $[\text{CuL}_2][\text{PF}_6]_2$

Para el experimento de espectrofotometría se realizó un modelo experimental, en el cual se pudiera llevar a cabo la reacción en la celda. Esto se logró preparando dos disoluciones:

Disolución 1:

200  $\mu\text{L}$  Ácido ascórbico 2 mM

1 mL DMSO

Aforo con buffer

Disolución 2:

1 mL compuesto 2 mM

Aforo con buffer

Buffer: MES 25 mM  $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$  4:1 pH: 6.7

El espectro muestra un máximo de absorción de 434.9 nm, como se muestra en la figura 22.

Absorbancia: 0.9665

l: 0.5 L

$\epsilon = 6819.92 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$

Obteniendo una concentración de  $2.83 \times 10^{-4} \text{ M}$

Pureza: 1.01

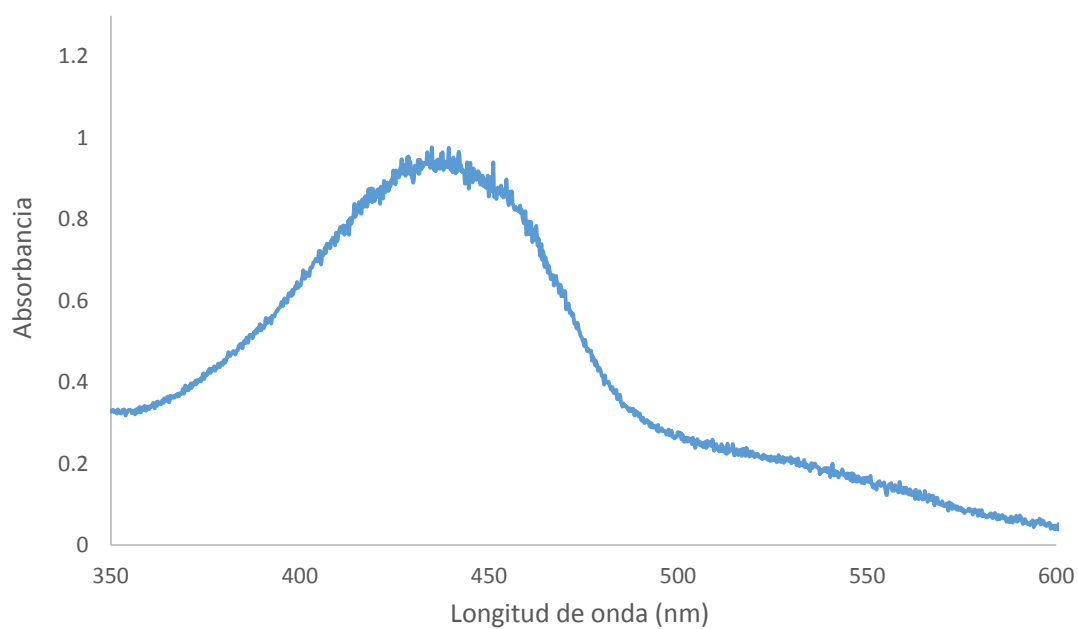


Figura 25. Espectro UV-Vis de  $[\text{CuL}_2]^+$  en un medio amortiguado de MES 25 mM  $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$  4:1 pH: 6.7



## VI. Conclusiones

El estudio electroquímico de  $[\text{Cu}(\text{fen})_2]^{2+}$  nos permitió conocer distintos parámetros mediante las diferentes técnicas empleadas. Por voltamperometría cíclica se obtuvieron los coeficientes de difusión del sistema Cu(II/I) y del sistema oxígeno/superóxido, se hizo el análisis de sus voltamperogramas, y se obtuvo el parámetro cinético de su constante estándar para la transferencia de electrones  $k^\circ$ . Con los resultados obtenidos y la simulación que se hizo para el mecanismo, se concluye que estos dos sistemas se tratan de reacciones reversibles. El coeficiente de difusión obtenido para Cu(II/I) y para el sistema oxígeno/superóxido por voltamperometría cíclica fue comparada con el coeficiente de difusión obtenido por experimentos de cronoamperometría. Por otro lado, para comprobar la identidad del compuesto de coordinación preparado, se realizó un estudio de espectrofotometría para determinar la pureza del compuesto y se verificó por análisis elemental la composición del mismo.

Para el sistema  $[\text{CuL}_2]^{2+/+}$  en presencia de oxígeno, se realizaron los experimentos de voltamperometría cíclica, obteniendo los coeficientes de difusión y la  $k^\circ$  del sistema oxígeno/superóxido. Se propuso un mecanismo para este sistema con apoyo de los resultados experimentales y el programa de simulación. En este mecanismo se propone la formación de complejos entre el compuesto de cobre(I) y los iones superóxido y peróxido, sin los cuales no es posible reproducir en particular el incremento en la corriente de pico de reducción del oxígeno en presencia de concentraciones variables del compuesto de coordinación. Estos complejos han sido identificados en algunos trabajos hechos sobre el uso de compuestos de coordinación de cobre con distintos tipos de ligantes nitrogenados para la oxidación de distintas sustancias empleando peróxido de hidrógeno.

Los resultados mostrados en este trabajo representan una contribución a los estudios del funcionamiento mimético como superóxido dismutasa del compuesto preparado.

## VII. Referencias

- [1] McCrory, C. C., Ottenwaelder, X., Stack, T. D. P., & Chidsey, C. E. (2007). Kinetic and mechanistic studies of the electrocatalytic reduction of O<sub>2</sub> to H<sub>2</sub>O with mononuclear Cu complexes of substituted 1,10-phenanthrolines. *The Journal of Physical Chemistry A*, 111 (49), 12641-12650.
- [2] Gewirth, A., Butcher, D., Tornow, C., Thorseth, M., & Tse, E. (2013, March). Hybrid Assemblies for the Electrocatalysis of Oxygen and Nitrogen Reduction: Mechanistic Studies and the Design of New Catalysts. In Meeting Abstracts (No. 37, pp. 1309-1309). The Electrochemical Society.
- [3] Keene, F. R., Smith, J. A., & Collins, J. G. (2009). Metal complexes as structure-selective binding agents for nucleic acids. *Coordination Chemistry Reviews*, 253(15-16), 2021-2035.
- [4] Hirohama, T., Kuranuki, Y., Ebina, E., Sugizaki, T., Arii, H., Chikira, M. & Palaniandavar, M. (2005). Copper (II) complexes of 1,10-phenanthroline-derived ligands: studies on DNA binding properties and nuclease activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 99 (5), 1205-1219.
- [5] Prisecaru, A., McKee, V., Howe, O., Rochford, G., McCann, M., Colleran, J., & Kellett, A. (2013). Regulating bioactivity of Cu<sup>2+</sup> bis-1,10-phenanthroline artificial metallonucleases with sterically functionalized pendant carboxylates. *Journal of Medicinal Chemistry*, 56 (21), 8599-8615.
- [6] Sigman, D. S., Mazumder, A., & Perrin, D. M. (1993). Chemical Nucleases. *Chemical Reviews*, 93 (6), 2295-2316.
- [7] Tabassum, S., Amir, S., Arjmand, F., Pettinari, C., Marchetti, F., Masciocchi, N., & Pettinari, R. (2013). Mixed-ligand Cu (II)–vanillin Schiff base complexes; effect of coligands on their DNA binding, DNA cleavage, SOD mimetic and anticancer activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 60, 216-232.
- [8] Ni, Y., Lin, D., & Kokot, S. (2006). Synchronous fluorescence, UV–visible spectrophotometric, and voltammetric studies of the competitive interaction of bis (1,

10-phenanthroline) copper (II) complex and neutral red with DNA. *Analytical Biochemistry*, 352 (2), 231-242.

[9] Dey, D., Bose, A., Pramanik, N., & Basu, S. (2008). Magnetic field effect on photoinduced electron transfer between  $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$  and DNA. *The Journal of Physical Chemistry A*, 112 (17), 3943-3946.

[10] Ji, L. N., Zou, X. H., & Liu, J. G. (2001). Shape-and enantioselective interaction of Ru (II)/Co (III) polypyridyl complexes with DNA. *Coordination Chemistry Reviews*, 216, 513-536.

[11] Hartshorn, R. M., & Barton, J. K. (1992). Novel dipyrrophenazine complexes of ruthenium (II): exploring luminescent reporters of DNA. *Journal of the American Chemical Society*, 114 (15), 5919-5925.

[12] Balboa Benavente, S. (2007). Química de coordinación de iones metálicos en estado de oxidación II derivados de alfa-hidroxicarboxilatos. Memoria para optar al grado de Doctor por la Universidad de Santiago de Compostela.

[13] <http://www.worthington-biochem.com/SODBE/default.html>, revisada el 15 de noviembre de 2019.

[14] Fridovich, I. (1995). Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annual Review of Biochemistry*, 64 (1), 97-112.

[15] Fridovich, I. (1997). Superoxide anion radical ( $\text{O}^{\cdot-}$ ), superoxide dismutases, and related matters. *Journal of Biological Chemistry*, 272 (30), 18515-18517.

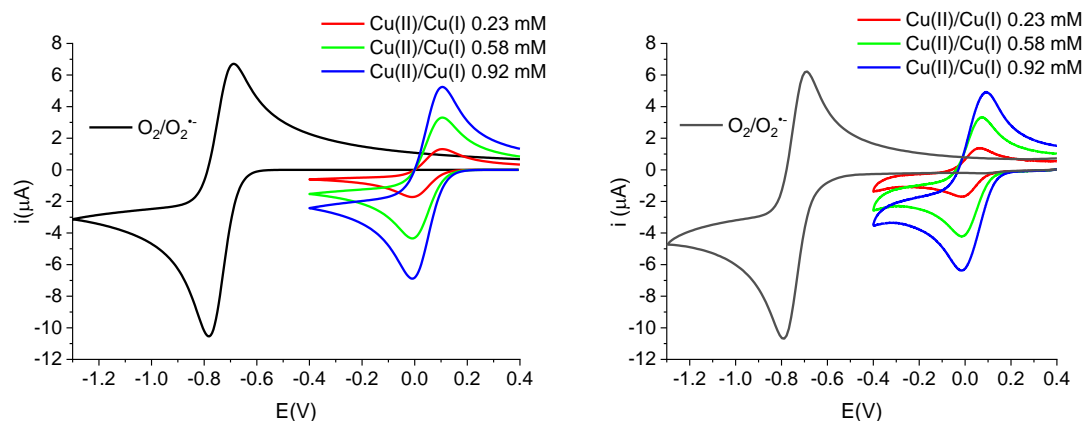
[16] Beyer Jr, W. F., & Fridovich, I. (1987). Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry*, 161 (2), 559-566.

[17] Eckshtain, M., Zilbermann, I., Mahammed, A., Saltsman, I., Okun, Z., Maimon, E., & Gross, Z. (2009). Superoxide dismutase activity of corrole metal complexes. *Dalton Transactions*, (38), 7879-7882.

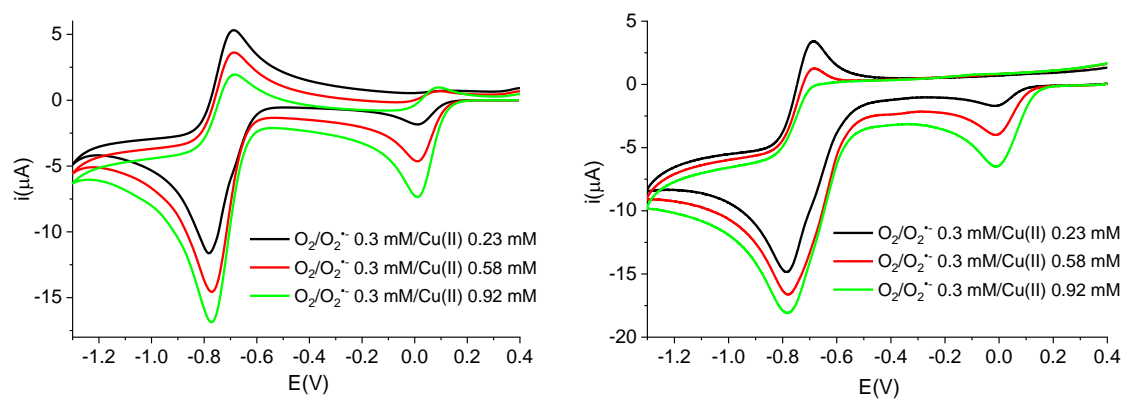
- [18] Canalizo Hernández, M. (2003). Estudio de un compuesto mimético de superóxido dismutasa (SOD). Universidad Nacional Autónoma de México.
- [19] Flohe, L. (1984). Superoxide dismutase assays. In *Methods in Enzymology* Vol. 105, pp. 93-104. Academic Press.
- [20] Vassos, B. H., Ewing, G. W., & García Ferrer, C. A. (1987). *Electroquímica analítica*. Limusa: 2000.
- [21] Elgrishi, N., Rountree, K. J., McCarthy, B. D., Rountree, E. S., Eisenhart, T. T., & Dempsey, J. L. (2017). A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. *Journal of Chemical Education*, 95 (2), 197-206.
- [22] Bockris, J. O. M., & Reddy, A. K. (1980). *Electroquímica moderna* (Vol. 2). Reverté.
- [23] Skoog, D. A., Holler, F. J., & Nieman, T. A. (2001). *Principios de análisis instrumental* (No. 543.4/ 5). McGraw-Hill Interamericana de España.
- [24] Lefrou, C., Fabry, P., & Poignet, J. C. (2012). *Electrochemistry: the basics, with examples*. Springer Science & Business Media.
- [25] Bard, A. J., Faulkner, L. R., Leddy, J., & Zoski, C. G. (1980). *Electrochemical methods: fundamentals and applications*. (Vol. 2). New York: Wiley.
- [26] Girault, H. H. (2004). *Analytical and physical electrochemistry*. EPFL press.
- [27] Reddy, T. B. (1971). The purification of dimethylsulphoxide for electrochemical experimentation. *Pure and Applied Chemistry*, 25 (2). DOI: 10.1351/pac197125020457.
- [28] Segoviano-Garfias, J. J., Nájera-Lara, M., de la Luz Pérez-Arredondo, M., López-Ramírez, V., Rubio-Jimenez, C. A., Ramírez-Vázquez, J. A., & Moreno-Esparza, R. (2017). Spectrophotometric determination of formation constants of copper (II) complexes with 2,2'-bipyridyl, 1,10-phenanthroline and their halides in methanol. *Journal of Molecular Structure*, 1147, 217-225.

- [29] Lavagnini, I., Antiochia, R., & Magno, F. (2004). An extended method for the practical evaluation of the standard rate constant from cyclic voltammetric data. *Electroanalysis*, 16 (6), 505-506.
- [30] McCord, J. M., & Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *Journal of Biological Chemistry*, 244 (22), 6049-6055.
- [31] Basolo, F., Busch, R. H., & Johnson, R. (1980). *Química de los compuestos de coordinación: la química de los complejos metálicos*. Reverté.
- [32] Huheey, J. E., Keiter, E. A., & KEITER, R. (2005). *Química Inorgánica: Principios de estructura y reactividad*. Oxford.
- [33] Rayner-Canham, G., Escalona García, R. L., & Escalona y García, H. J. (2000). *Química inorgánica descriptiva*. Pearson Educación.
- [34] Rizvi, M. A. (2015). Complexation modulated redox behavior of transition metal systems. *Russian Journal of General Chemistry*, 85 (4), 959-973.
- [35] Compton, R. G., & Banks, C. E. (2011). *Understanding voltammetry*. World Scientific.
- [36] Bedioui, F., Gutiérrez, S., & Alatorre, A. (2000). *Electroquímica: Voltametrías sobre electrodo sólido*. Editorial de la Universidad de Santiago de Chile.
- [37] Holguín Quiñones, S., & Montoya Vega, F. (1988). *Fundamentos de electroquímica* (No. 541.37 H65). Instituto Politécnico Nacional.

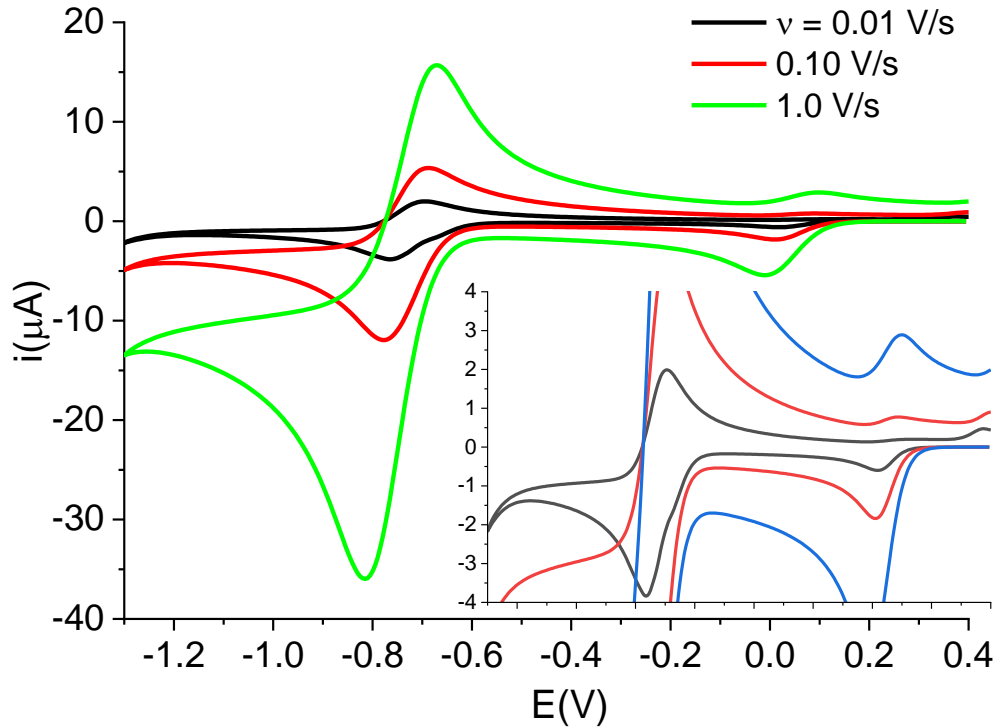
**Anexo I. Voltamperogramas simulados y comparación con los resultados experimentales y datos usados para las simulaciones de los voltamperogramas.**



A1. Izquierda: Voltamperogramas simulados para los sistemas  $\text{O}_2/\text{O}_2^{\bullet-}$  0.3 mM (solo) y  $[\text{CuL}_2]^{2+/+}$  calculados a diferentes concentraciones. Derecha: Voltamperogramas experimentales obtenidos para los sistemas  $\text{O}_2/\text{O}_2^{\bullet-}$  ( $[\text{O}_2] = 0.3 \text{ mM}$ ) y  $[\text{CuL}_2]^{2+/+}$  a diferentes concentraciones.



A2. Izquierda: Voltamperogramas simulados para los sistemas  $\text{O}_2/\text{O}_2^{\bullet-}$  0.3 mM y  $[\text{CuL}_2]^{2+/+}$  calculados a diferentes concentraciones en mezclas. Derecha: Voltamperogramas experimentales obtenidos para los sistemas  $\text{O}_2/\text{O}_2^{\bullet-}$  ( $[\text{O}_2] = 0.3 \text{ mM}$ ) y  $[\text{CuL}_2]^{2+/+}$  en mezclas a diferentes concentraciones.



A3. Voltamperogramas simulados para los sistemas  $O_2/O_2^{\bullet-}$  ( $[O_2] = 0.3$  mM) y  $[CuL_2]^{2+/+}$ , ( $[Cu(II)]_0 = 0.23$  mM) calculados a diferentes velocidades de barrido. En el recuadro se muestra una ampliación de la misma figura para mostrar la presencia del prepico catódico a bajas velocidades de barrido, su desaparición a velocidades de barrido altas, y el incremento en la corriente de pico anódica para la oxidación de  $[CuL_2]^+$  a velocidades de barrido relativamente altas. Estos efectos se observan en la figura 14 de este trabajo.

**A4. Tabla de valores de parámetros de las reacciones de transferencia electrónica y químicas del mecanismo propuesto. Para todas las reacciones de intercambio electrónico, se tomó  $\alpha = 0.5$ . Los valores de coeficientes de difusión se tomaron de los obtenidos en el presente trabajo, y que se mencionan a lo largo del texto.**

<b>Reacciones de transferencia electrónica</b>	<b><math>E^0</math> (V)</b>	<b><math>k^0</math> (cm s<sup>-1</sup>)</b>
$[\text{Cu}(\text{fen})_2]^{2+} + e^- \rightleftharpoons [\text{Cu}(\text{fen})_2]^+ *$	0.05	0.006
$\text{O}_2 + e^- \rightleftharpoons \text{O}_2^{\cdot-} *$	-0.73	0.015
$\text{O}_2^{\cdot-} + e^- \rightarrow \text{O}_2^{2-}$	-1.2	0.0001
$\text{O}_2^{2-} - 2e^- \rightarrow \text{productos}$	0.4	0.01
<b>Reacciones químicas</b>	<b><math>K_{\text{eq}}</math></b>	<b><math>k_f</math></b>
$\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{OH}^-$	$10^{-22}$	$10^{-10}$
$\text{O}_2^{\cdot-} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O}_3^-$	$10^2$	$10^2$
$\text{O}_2^{\cdot-} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{HO}_2 **$	$10^5$	$10^6$
$[\text{Cu}(\text{fen})_2]^+ + \text{O}_2^{\cdot-} \rightleftharpoons [\text{Cu}(\text{fen})_2]^+ \cdot \text{O}_2^{\cdot-}$	$10^6$	$10^5$
$\text{O}_2^{2-} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{HO}_2^-$	$10^{12}$	$10^{10}$
$2[\text{Cu}(\text{fen})_2]^+ \cdot \text{O}_2^{\cdot-} \rightleftharpoons [\text{Cu}(\text{fen})_2]_2\text{O}_2 + \text{O}_2$	$10^6$	$10^{12}$
$2\text{HO}_2^* \rightarrow \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2 **$	---	$10^6$

\* Datos obtenidos en este trabajo

\*\* Datos extraídos de Chin, D.-H., Chiericato, G., Nanni, E.J., Sawyer, D.T. (1982) J. Am. Chem. Soc., 104, 1296-1299.