



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO**

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

MEDIOS DE REACCIÓN SUPRAMOLECULARES EN LA HIDRÓLISIS DE  
ÉSTERES CATALIZADA POR COMPLEJOS METAL-OXIMATO

**TESIS**

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS**

PRESENTA

Q. ALEJANDRA PILAR LÓPEZ PACHECO

DRA. CLAUDIA PAOLA GÓMEZ-TAGLE CHÁVEZ  
FACULTAD DE QUÍMICA

CIUDAD DE MÉXICO, AGOSTO, 2020



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

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

**MEDIOS DE REACCIÓN SUPRAMOLECULARES EN LA  
HIDRÓLISIS DE ÉSTERES CATALIZADA POR COMPLEJOS  
METAL-OXIMATO**

**T E S I S  
PARA OPTAR POR EL GRADO DE**

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**P R E S E N T A**

**Q. ALEJANDRA PILAR LÓPEZ PACHECO**



Ciudad de México, agosto de 2020

**MIEMBROS DEL JURADO:**

**PRESIDENTE:** Dra. Lena Ruiz Azuara  
**VOCAL:** Dra. Silvia Elena Castillo Blum  
**VOCAL:** Dra. Patricia Guadarrama Acosta  
**VOCAL:** Dr. Hugo Morales Rojas  
**SECRETARIO:** Dr. Alejandro Dorazco González

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

LABORATORIO 213, DEPARTAMENTO DE QUÍMICA INORGÁNICA Y NUCLEAR,  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO, FACULTAD DE QUÍMICA,  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

ASESORA

DRA. CLAUDIA PAOLA GÓMEZ TAGLE CHÁVEZ

SUSTENTANTE

Q. ALEJANDRA PILAR LÓPEZ PACHECO

## Agradecimientos

---

Agradezco a CONACyT por la beca otorgada en el periodo 2019-1 a 2020-2 con Número de Apoyo:719553.

Agradezco el apoyo recibido por parte de DGAPA-UNAM-PAPIIT a través del Proyecto IN219718.

Agradezco el apoyo de la Facultad de Química de la UNAM a través del Proyecto PAIP 50000-9161.

Al programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas por permitir el desarrollo del proyecto.

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

# Índice

---

Símbolos y abreviaturas .....	1
Resumen.....	2
1. Introducción.....	3
2. Antecedentes.....	5
3. Hipótesis .....	19
4. Objetivos .....	20
5. Metodología .....	22
5.1. Reactivos.....	22
5.2 Equipo.....	28
5.3 Software.....	29
5.4 Condiciones generales.....	29
5.5 Titulaciones potenciométricas .....	30
5.6 Titulaciones espectrofotométricas.....	31
5.7 Estudios cinéticos .....	31
5.8 Síntesis de los ligantes .....	32
6.Resultados y Discusión .....	39
6.1 Estudios Cinéticos en medios supramoleculares .....	39
<b>Piridinamidoxima hacia NPA en presencia de CTAB y dendrímeros PAMAM</b> .....	39
<b>Piridinamidoxima y cadmio hacia NPA en presencia de CTAB.....</b>	44
<b>Piridinamidoxima y cadmio hacia NPA en presencia de dendrímeros PAMAM</b> .....	50
<b>Piridinamidoxima y cadmio hacia paraoxón y paratión en presencia de</b> <b>CTAB.....</b>	55
<b>Piridinamidoxima y cadmio hacia paraoxón y paratión en presencia de</b> <b>dendrímeros PAMAM.....</b>	61
<b>Piridinamidoxima y zinc hacia NPA en presencia de CTAB .....</b>	64
<b>Piridinamidoxima y zinc hacia NPA en presencia de dendrímeros PAMAM</b> .....	67
<b>Piridinamidoxima y zinc hacia paraoxón y paratión en presencia de CTAB.</b> .....	70

Piridinamidoxima y zinc hacia paraoxón y paratión en presencia de dendrímeros PAMAM.....	72
6.2 Modificación del ligante PyAmOx .....	73
Análisis de las rutas de síntesis y caracterización del ligante .....	73
Titulaciones potenciométricas de PyAmOx-NF .....	86
Titulaciones espectrofotométricas .....	92
Estudios cinéticos .....	94
Estudios cinéticos con metales .....	100
6.3 Modificación covalente de un dendrímero .....	104
7. Análisis de los resultados cinéticos en medios supramoleculares .....	114
8. Modificación del ligante PyAmOx.....	122
9. Conclusiones.....	124
10. Referencias.....	126
Apéndice I .....	130
Determinación de $k_{obs}$ a partir de método integral .....	130
Determinación de la $k_{obs}$ a partir del método de rapidez inicial.....	132
Determinación de la constante de disociación ácida de los nucleófilos..	132
Apéndice II .....	135
Procedimiento experimental de la síntesis de la figura 6.2.1. ....	135

## Símbolos y abreviaturas

---

Abs	Absorbancia
$A_{inf}$	Valor de la absorbancia al tiempo infinito
$A_o$	Valor límite de la absorbancia al tiempo inicial
APCI	Ionización química a presión atmosférica
CAPS	Ácido 3-(ciclohexilamino)-1-propanosulfónico
CHES	Ácido 2-(ciclohexilamino)-etanosulfónico
CTAB	Bromuro de hexadeciltrimetilamonio
EPPS	Ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinpropanosulfónico
G0	Dendrímero PAMAM de generación cero
G1	Dendrímero PAMAM de generación uno
G4	Dendrímero PAMAM de generación cuatro
IR	Infrarrojo
$k$	Constante de rapidez
$k_{corr}$	$k_{obs} - k_{OH}[OH]$
$k_{ML}$	Constante de rapidez de hidrólisis debida al complejo ML
$k_{obs}$	Constante de rapidez observada
$k_{OH}$	Constante de rapidez de hidrólisis alcalina
MES	Ácido 2-(N-morfolino)-1-etanosulfónico
MOPS	Ácido 3-morfolinopropano-1-sulfónico
NBS	N-bromosuccinimida
NET	Negro de eriocromo T
nm	nanómetros
NP	p-nitrofenol
NPA	p-nitrofenilacetato
PAMAM	Poliamidoamida
$pK_a$	Logaritmo de la constante de disociación ácida
PyAmOx	2-Piridinamidoxima
PyAmOx-NF	6-Formamidometil-2-piridinamidoxima
$t_{1/2}$	Tiempo de vida media
$\epsilon$	Coefficiente de absortividad molar

## Resumen

---

Se realizó un estudio comparativo entre la reactividad de complejos del ligante 2-piridinamidoxima (PyAmOx) con los cationes metálicos divalentes Zn(II) y Cd(II), como catalizadores de la hidrólisis del éster carboxílico modelo 4-nitrofenil acetato (NPA) en ausencia y presencia de medios supramoleculares de reacción como dendrímeros tipo poliamidoamina con grupos terminales amina (PAMAM-NH<sub>2</sub>) de diferentes generaciones y el tensoactivo catiónico bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB). Se determinaron las condiciones de reacción óptimas para los estudios cinéticos, se encontró que la reactividad de estos complejos metal-amidoximato se ve modificada por la presencia de los dendrímeros y el tensoactivo y que factores como el catión metálico empleado, el pH, la concentración de las especies reactivas, el tipo de dendrímero y la generación de éste son responsables del efecto catalítico observado. Se observó un incremento de hasta 2 órdenes de magnitud en la velocidad de reacción cuando se utilizan dendrímeros de generación 4 en presencia de complejos tanto de Zn(II) como de Cd(II).

Por otro lado, se realizó la síntesis y caracterización del ligante PyAmOx-NF, análogo a PyAmOx, pero en su estructura se incorporó un grupo donador adicional para incrementar la estabilidad de los complejos metálicos, se obtuvieron sus constantes de disociación ácida y se estudió su reactividad hacia NPA obteniéndose una constante de segundo orden  $k_{\text{PyAmOx}} = 61.2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  y un  $\text{p}K_{\text{a}}$  para la amidoxima de 12.40.

Se estudió el efecto de metales como Zn(II) y Cd(II) sobre la reactividad del ligante PyAmOx-NF hacia NPA y se comparó la reactividad observada con la de los complejos del ligante PyAmOx, obteniéndose que los complejos del ligante PyAmOx-NF presentan menor reactividad debido a posibles reacciones entre los mismos complejos formados en disolución acuosa.

# 1. Introducción

---

En las últimas décadas, el diseño y la síntesis de catalizadores capaces de hidrolizar ésteres carboxílicos y fosfato de interés ambiental y/o biológico ha recibido una considerable atención, ya que se busca que estos catalizadores sean selectivos, eficientes y sobre todo que funcionen en agua y a temperatura ambiente [1].

En la naturaleza los mejores catalizadores que tenemos son las enzimas, que en general incrementan la velocidad de las reacciones en las que participan entre  $10^6$  y  $10^9$  veces respecto a la misma reacción no catalizada [2]. Basándonos en el funcionamiento de metaloenzimas hidrolíticas, hemos desarrollado catalizadores con complejos metálicos con actividad catalítica que mimetizan estas enzimas, demostrando ser una buena alternativa por tener reactividad en agua a  $25^\circ\text{C}$ , formarse *in situ*, por ser de bajo costo, por ser más sencillos estructuralmente y más estables en disolución acuosa [3].

El funcionamiento de los catalizadores que hemos diseñado se basa en la inclusión de grupos nucleofílicos (en las enzimas estos grupos nucleofílicos son serina, agua o cisteína) en ligantes mono, bi y tridentados, y su activación mediante su coordinación con cationes metálicos de transición [4]. Con algunos de estos complejos metal-nucleófilo, en los que los nucleófilos son grupos oxima y amidoxima incorporados en el ligante, se probaron varios cationes metálicos divalentes (Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Cd) y hemos demostrado que los complejos de mayor reactividad son los de zinc y cadmio llegando a tener una reactividad similar o mayor a la de enzimas naturales hacia el mismo sustrato modelo [5- 8].

Las oximas y amidoximas son nucleófilos que presentan una reactividad mayor a la que se esperaría por su basicidad, por lo que se consideran  $\alpha$  nucleófilos [9]. Cuando estos grupos se coordinan con cationes metálicos, su  $pK_a$  disminuye notablemente, permitiendo que a valores menores de pH tengamos una mayor fracción de la especie desprotonada que actúa como nucleófilo y en consecuencia se observa un incremento en la reactividad. Por varios años se pensó que este era

el único efecto de los cationes metálicos en estos sistemas, sin embargo, como demostramos recientemente, no es el único papel que juega el catión metálico y de hecho es más interesante [7,10]. El hecho de que se coordine al ligante genera un cambio en la solvatación global del nucleófilo, contribuyendo a remover el efecto de nivelación (*leveling off*) en la reactividad nucleofílica de nucleófilos oximatos básicos en coordenadas de Brønsted (ver Antecedentes) y además proporciona asistencia electrofílica estabilizando la carga negativa que se desarrolla en el estado de transición después del ataque nucleofílico. La suma de estos factores permite alcanzar con nuestros sistemas una reactividad sin precedentes en agua, a temperatura ambiente y a valores de pH cercanos a la neutralidad [10].

Además de la activación de los nucleófilos, otro aspecto importante de las enzimas es que, por su estructura, permiten un acercamiento entre el sustrato y los nucleófilos mediante interacciones supramoleculares, por lo que, para incrementar el efecto catalítico, se ha intentado imitar este aspecto empleando tensoactivos [11], dendrímeros [12] o polímeros [13], que han demostrado modificar la velocidad de las reacciones hacia diferentes sustratos.

En un estudio anterior, se comprobó que complejos metal-amidoximato del ligante 2-piridinamidoxima funcionan como catalizadores para la hidrólisis de ésteres carboxílicos (4-nitrofenil acetato, NPA,) y ésteres fosfato paraoxón y paratión, mostrando un incremento de al menos un orden de magnitud en su reactividad en presencia de metales como Cd(II) y Zn(II), respecto a la hidrólisis alcalina; mientras que la presencia de cationes metálicos como Co(II), Cu(II), Mn(II) y Ni(II) no modificó significativamente la reactividad hacia los mismos sustratos [14].

Aunque se tienen efectos catalíticos relevantes con zinc y cadmio, algunos aspectos a mejorar en este sistema fueron que los complejos son poco estables debido a que los ligantes empleados son bidentados, además una vez realizado el ataque nucleofílico la amidoxima se acetila y sería necesario que un nucleófilo adicional regenere el nucleófilo del complejo para cerrar el ciclo catalítico, particularmente en la hidrólisis catalítica de ésteres fosfato.

Un inconveniente para aplicaciones prácticas de estos sistemas es que la solubilidad en agua de los sustratos de interés ambiental, como los pesticidas organofosforados, es muy baja [15], por lo que sería de interés estudiar estos sistemas en algún medio supramolecular para ver cómo se modifica la velocidad de las reacciones, ya que se sabe que las oximas y amidoximas interactúan de forma no covalente con medios supramoleculares de reacción (ya sea mediante puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y/o electrostáticas) [16][17], y éstos podrían modificar, además de la solubilidad, la forma en que se activan los sustratos y/o la selectividad hacia éstos.

Por lo tanto, en este trabajo se estudió el efecto de dos medios supramoleculares de reacción, el tensoactivo catiónico CTAB y dendrímeros de tipo poliamidoamina (PAMAM) al interactuar de forma no covalente con complejos metal-amidoximato del ligante 2-piridinamidoxima tanto con Zn(II) como con Cd(II), ya que presentan mayores efectos catalíticos que otros cationes metálicos en ausencia del medio supramolecular, en la hidrólisis del éster carboxílico modelo NPA y los ésteres fosfato de interés ambiental paraoxón y paratión. Además, se trabajó en la modificación covalente de un dendrímero para incorporar en su estructura una piridinoxima con grupos oxima y/o amidoxima y comparar su reactividad. Finalmente se modificó el ligante 2-piridinamidoxima adicionando un grupo coordinante adicional con lo que se buscó mayor estabilidad de los complejos en disolución e incorporar un segundo nucleófilo (oxima) en la estructura de este ligante.

## 2. Antecedentes

---

El efecto  $\alpha$  originalmente se definió como el incremento en la nucleofilia cuando el átomo adyacente al sitio nucleofílico tiene un par de electrones libres [9], sin embargo, se ha estudiado que en realidad involucra diferentes factores que dependen de las interacciones entre el sustrato y el nucleófilo así como el medio de reacción: la desestabilización del estado basal del nucleófilo, la estabilización del estado de transición, la estabilización de los productos y la solvatación de los nucleófilos y del estado de transición [18].

Otra definición propuesta del efecto  $\alpha$  es que es cualquier nucleófilo que presente una desviación positiva (respecto a una línea recta) en un gráfico de Brønsted [19], en el que se compara la reactividad de un nucleófilo en función de su  $pK_a$  (logaritmos de las constantes de segundo orden para la hidrólisis de un sustrato determinado en función del  $pK_a$  del nucleófilo). De acuerdo con esta definición, es necesario establecer un nucleófilo de referencia o “nucleófilo normal” que tenga la misma basicidad pero que tenga un comportamiento lineal en el mismo intervalo de basicidad en un gráfico de Brønsted.

Los nucleófilos que presentan el efecto  $\alpha$  son llamados  $\alpha$ -nucleófilos y entre ellos se encuentran la hidroxilamina, hidrazina, ácidos hidroxámicos, aniones de peróxidos y peróxido de hidrógeno, aniones oximato y amidoximato, las estructuras correspondientes a estos nucleófilos se muestran en la figura 2.1. [9][18].

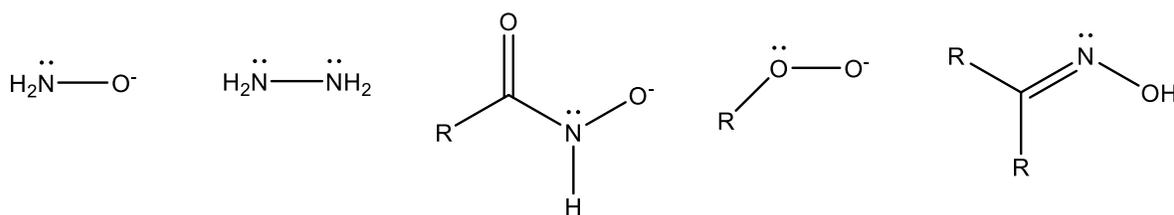


Figura 2.1. Ejemplos de  $\alpha$ -nucleófilos.

La reactividad de estos  $\alpha$ -nucleófilos en general es directamente proporcional a su basicidad en coordenadas logarítmicas, sin embargo, en el caso de oximas, amidoximas o ácidos hidroxámicos, a partir de cierto valor de  $pK_a$ , aunque éste aumente, la reactividad ya no crece proporcionalmente como se esperaría, sino que alcanza un valor máximo y se mantiene constante, a ese comportamiento se le conoce como efecto de nivelación de la reactividad [10].

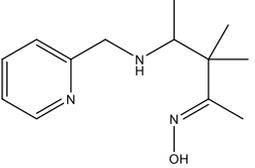
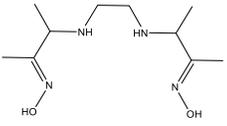
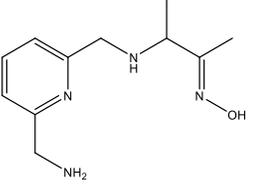
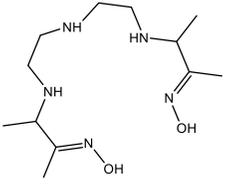
En la tabla 2.1 se muestran los valores de  $pK_a$  y las respectivas constantes de velocidad de segundo orden para el nucleófilo,  $k_{\text{Nu}}$  ( $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) en el caso de algunas oximas y amidoximas, en la hidrólisis del éster carboxílico 4-nitrofenilacetato (NPA) empleado como sustrato. Estas constantes de velocidad se encuentran entre 2 y 70

$M^{-1}s^{-1}$  para valores de  $pK_a$  entre 6.5 y 12.4 siendo generalmente mayores que la constante de hidrólisis alcalina,  $k_{OH}$   $14.5 M^{-1}s^{-1}$ , hacia el mismo sustrato.

Tabla 2.1. Estructura,  $pK_a$  y constante de segundo orden hacia la hidrólisis de NPA por diferentes oximas a 25°C en agua.

No.	Oxima	$pK_a$	$k_{Nu}$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	No.	Oxima	$pK_a$	$k_{Nu}$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )
1		6.54	2.4 [20]	8		11.3	8
2		7.13	11.8 [21]	9		11.45	42.3 [24]
3		7.75	25 [21]	10		11.74	60 [6]
4		8.27	61 [21]	11		12.4	61.7 [25]
5		9.9	71 [22]	12		8.90	34.2 [14]
6		10	45 [22]	13		12.18	57 [14]
7		11.1	45 [22]	14		11.73	67.6 [10]

Continuación Tabla 2.1.

No.	Oxima	pK <sub>a</sub>	k <sub>Nu</sub> (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	No.	Oxima	pK <sub>a</sub>	k <sub>Nu</sub> (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
15		11.3	47.86 <sup>[10]</sup>	17		12.13	37.8 <sup>[26]</sup>
16		12.0	64.56 <sup>[10]</sup>	18		11.85	38.27 <sup>[27]</sup>

En la figura 2.2 se muestra un gráfico de Brønsted en el que se grafica el logaritmo de la constante de segundo orden para la hidrólisis de NPA en función del pK<sub>a</sub> de las oximas de la tabla 2.1, la línea continua representa la zona en la que la reactividad es proporcional al pK<sub>a</sub>, mientras que la línea punteada representa la reactividad límite para los oximatos más básicos, es decir, la nivelación de la reactividad.

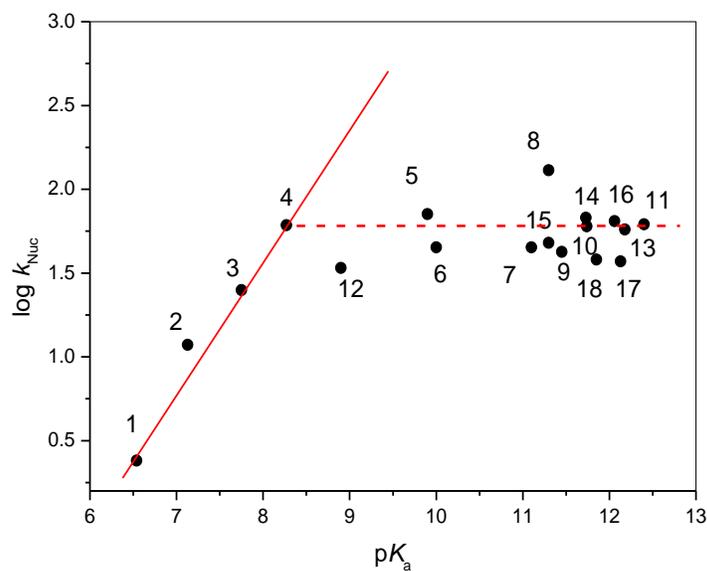


Figura 2.2. Gráfico de Brønsted para las oximas de la tabla 2.1.

Así, al estudiar diferentes oximas y amidoximas la reactividad de los aniones oximato con valores de  $pK_a$  mayores que 8, alcanza un valor máximo cuando se utiliza como sustrato NPA. Las constantes de velocidad tienen valores alrededor de  $50 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  y no llegan a superar  $150 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ , incluso con los oximatos más básicos [6-8]. Si la reactividad fuera directamente proporcional a la basicidad, una oxima de  $pK_a$  10 ya debería tener una constante al menos un orden de magnitud mayor; es decir, las oximas más básicas no pueden mostrar en agua la gran reactividad que se esperaría por su basicidad. Este efecto de nivelación observado en agua, se ha atribuido a un desbalance en la solvatación del nucleófilo, que se produce por la necesidad del nucleófilo entrante de desolvatarse antes de realizar el ataque nucleofílico. Esto se vuelve más evidente para los oximatos más básicos [28]: la reacción en agua no puede transcurrir más rápidamente porque los aniones más básicos están más fuertemente solvatados. Este efecto de desbalance en la solvatación se comprobó al analizar la reactividad de algunas oximas en mezclas acuosas de disolventes orgánicos apróticos, encontrándose que el efecto de nivelación desaparece en estas mezclas cuando hay cambios en la solvatación de estos nucleófilos [29].

Al estudiar la reactividad de oximatos coordinados a cationes metálicos, los primeros reportes que se realizaron fueron utilizando complejos de Cu(II), Zn(II) y Ni(II) de la 2-piridinaldoxima y 2-acetilpiridínoxima [30][31], en los cuales se estableció que:

- Los cationes metálicos acidifican el grupo oximato.
- La disminución del  $pK_a$  de la oxima puede llegar a ser tan grande que el oximato coordinado puede dejar de ser un buen nucleófilo.
- La hidrólisis de NPA sigue un mecanismo catalítico.
- La reactividad es diferente para cada catión metálico [32][33].

En estos primeros estudios de la reactividad de oximas coordinadas con cationes metálicos, se planteó que la causa de que el efecto  $\alpha$  desapareciera era la disminución de la densidad electrónica sobre el átomo nucleofílico, debida a que el

átomo  $\alpha$  estaba coordinado y no tenía pares electrónicos que donar. Si esto fuera cierto cabría esperar que la máxima reactividad observada a valores de pH por debajo del  $pK_a$  del nucleófilo fuera igual o menor a la reactividad del nucleófilo libre, es decir, que el principal efecto de los cationes metálicos fuera la acidificación del nucleófilo. En estudios más recientes realizados en el grupo de trabajo se encontró que el mecanismo catalítico se cumple en otros complejos metal-oximato (Figura 2.3) [7][10].

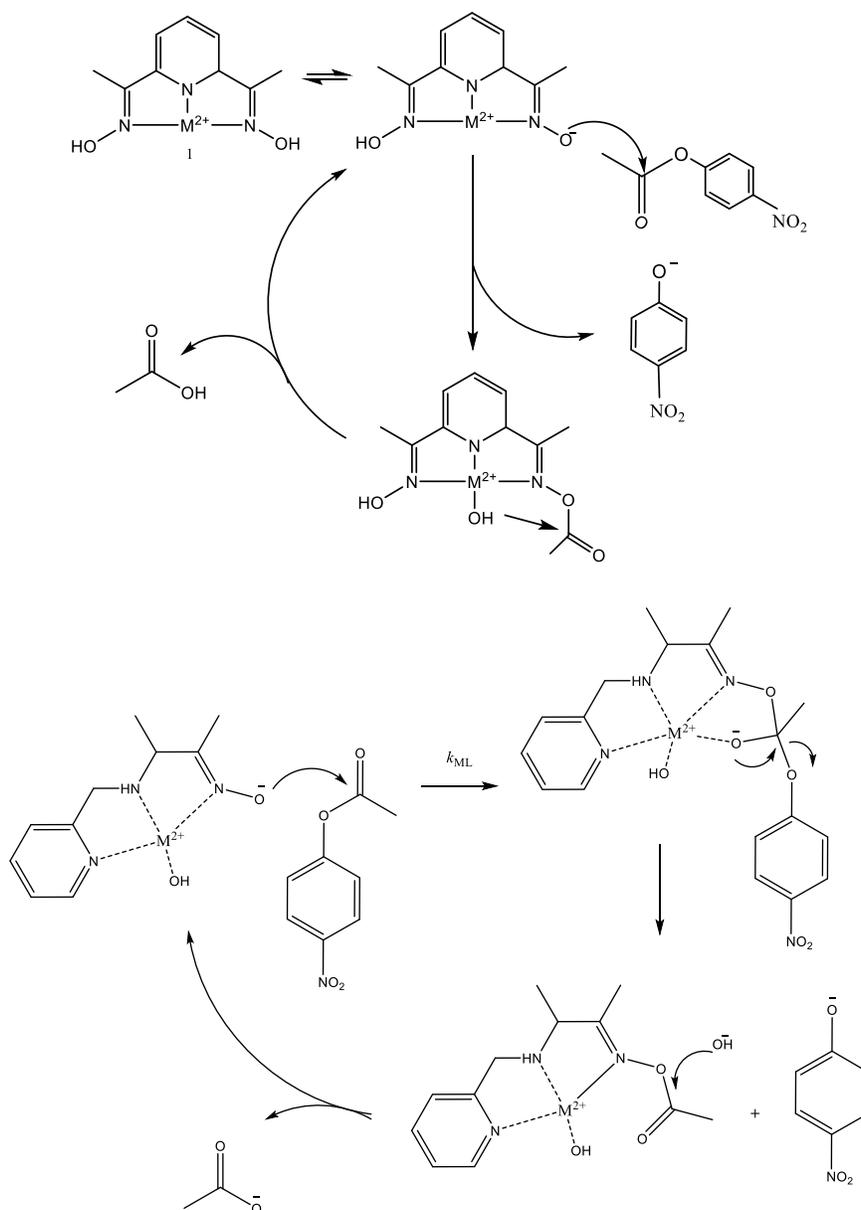


Figura. 2.3. Mecanismos catalíticos para la ruptura de NPA por complejos metal-oximato.[7] [10]

Como puede observarse en estas figuras, el primer paso de estos mecanismos es la desprotonación de la oxima para generar el anión oximato, una vez generado, se lleva a cabo el ataque nucleofílico al grupo carbonilo del éster, formando un intermediario tetraédrico acilado que es hidrolizado posteriormente por iones  $\text{OH}^-$  del medio, liberando a la disolución un equivalente de acetato y regenerando el nucleófilo [22][23][31].

Es importante destacar que, a diferencia de los primeros complejos metal-oximato, hay algunos de estos complejos que se comportan como  $\alpha$ -nucleófilos a pesar de estar coordinados y tienen constantes de segundo orden incluso 4-5 veces mayores que la del anión oximato, lo cual mostraba que la función del catión metálico no era únicamente la de acidificarlo. Más recientemente encontramos que el catión metálico, además de acidificar el grupo oximato, disminuye la solvatación alrededor del nucleófilo, y la reactividad de los complejos puede ser hasta 10000 veces mayor que la del nucleófilo libre, lo cual permitió lograr efectos de aceleración tan grandes que pueden compararse a los de enzimas como albúmina humana,  $\alpha$ -quimiotripsina y anhidrasa carbónica hacia el mismo sustrato, e incluso estos complejos pueden hidrolizar ésteres fosfato [7,10], actuando como enzimas artificiales, esto permite su aplicación en hidrólisis de sustratos de interés biológico o ambiental como pesticidas o ADN.

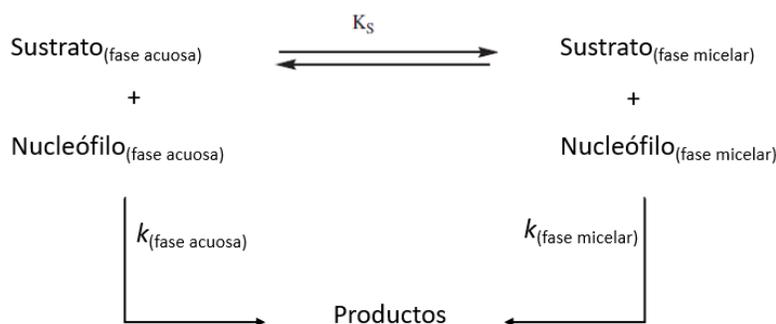
Una vez establecida la importancia de la solvatación en la reactividad, se puede pensar que modificando el medio de reacción, como se hizo con los co-disolventes orgánicos, podemos lograr incrementar la velocidad de reacción al utilizar algún medio supramolecular de reacción, además de que los sustratos ésteres fosfato de interés ambiental son poco solubles en agua y estos medios permiten el acercamiento entre el sustrato y el catalizador.

### **Estudios cinéticos en sistemas micelares**

Uno de los medios clásicos y estudiado durante muchos años fueron los sistemas micelares, ya que son de los medios de reacción más favorables para la ruptura nucleofílica de ésteres [34]. Las micelas pueden funcionar como microrreactores

acercando a los reactivos y/o generando una modificación de las constantes tanto de equilibrio como de velocidad para una determinada reacción [35].

Uno de los modelos más usados para analizar datos cinéticos en micelas es el modelo de la pseudofase micelar, en este modelo la reacción puede ocurrir en una, o en ambas pseudofases presentes en el sistema: la fase acuosa y la fase micelar [35]. La posibilidad de que ocurra en una o en otra fase está determinada por la distribución de los reactivos y productos entre las dos pseudofases. En el caso de una reacción bimolecular, cuando se quiere comparar la reactividad en agua y en la pseudofase micelar, es necesario conocer las constantes de velocidad de segundo orden en ambas pseudofases y la concentración de cada especie en cada pseudofase [36], como se muestra en el diagrama a continuación:



Existen algunos reportes de hidrólisis de ésteres por oximas y sus complejos con metales como zinc o níquel en presencia del tensoactivo catiónico CTAB [37][38], por ejemplo, las oximas **5** y **6** mostradas en la tabla 2.1. y las oximas **19** y **20** forman micelas y mostraron reactividad esterolítica hacia el éster **21** (4-nitrofenilhexanoato). Las constantes observadas de primer orden, así como el efecto catalítico relativo a la hidrólisis alcalina en agua se muestran en la tabla 2.2.

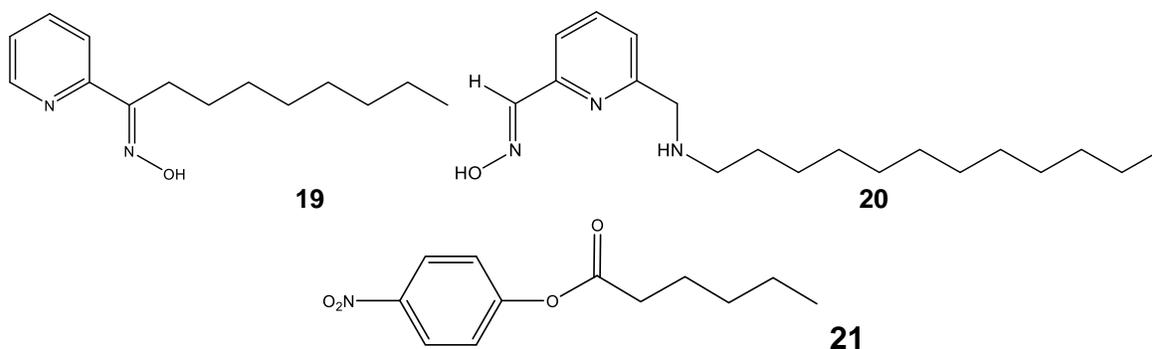


Tabla 2.2. Constantes observadas de primer orden para la hidrólisis del éster **21**, por las oximas indicadas [oxima]= 0.8 -1.1 mM [Metal]=2[oxima], en presencia de [CTAB]=0.016 M. pH 4, (buffer de acetatos 5 mM) a 25°C y efecto catalítico relativo  $k_{CTAB}/k_0$  respecto a la hidrólisis del buffer  $k_0$ .

Oxima	Metal	$k, s^{-1}$	$k_{CTAB}/k_0$
<b>5</b>	Zn	$7.8 \times 10^{-4}$	0.44 [38]
	Ni	$3.2 \times 10^{-3}$	1.1 [38]
<b>6</b>	Ni	$1.80 \times 10^{-3}$	260 [37]
<b>19</b>	Ni	0.12	400,000 [37]
<b>20</b>	Zn	$7.4 \times 10^{-3}$	2000 [38]
	Ni	$4.3 \times 10^{-3}$	120 [38]

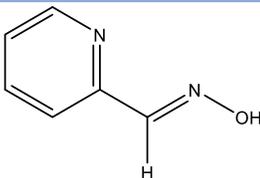
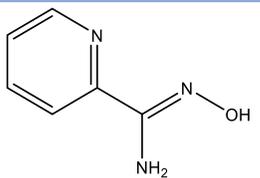
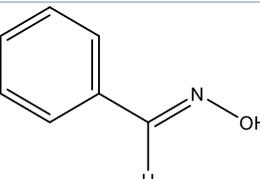
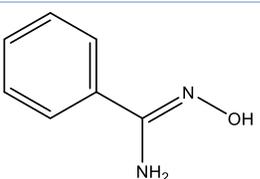
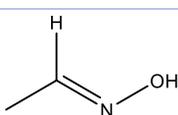
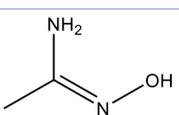
Lo que podemos notar de los estudios reportados, es que el tensoactivo acelera la velocidad de las reacciones estudiadas, llegando a observarse incrementos muy grandes respecto a la hidrólisis alcalina. Estos efectos son más relevantes cuando en la estructura de la oxima se incorpora una cadena alifática hidrofóbica como en las oximas **19** y **20**, que son las que presentan los mayores efectos catalíticos, esto debido a que tanto el nucleófilo como el sustrato se encuentran en la superficie de la micela, permitiéndoles estar mucho más cerca y por lo tanto incrementar la velocidad de la reacción.

A pesar de que son sistemas muy reactivos, tienen varias desventajas: son sistemas muy ácidos, debido a que el metal acidifica tanto el grupo oxima que su reactividad, si la analizamos en una gráfica de Brønsted, ya no se encuentra en la zona de nivelación, si no que la reactividad es proporcional a su basicidad, además de que el pH óptimo en el que se observan los mayores efectos catalíticos es pH 4, lo que

los hace imprácticos para aplicaciones reales donde se requiere un pH más cercano a la neutralidad. Otra de las grandes desventajas es que para observar estos efectos catalíticos se empleó un sustrato modificado con un fragmento alifático hidrofóbico y además se requieren utilizar concentraciones relativamente altas de tensoactivo (mayores que su concentración micelar crítica CMC) y estas pueden variar en un amplio rango dependiendo del tensoactivo utilizado, además la formación de micelas depende fuertemente de la temperatura [39].

Una solución que recientemente planteamos al problema de la acidificación de estas oximas en presencia de metales es usar amidoximas, que son más básicas que las oximas análogas, en la tabla 2.3. se muestra una comparación del  $pK_a$  que corresponde a la desprotonación del oxígeno de la oxima de algunas aldoximas y su amidoxima análoga.

Tabla 2.3. Valores de  $pK_a$  de aldoximas y amidoximas [14][40-42]

Aldoxima	$pK_a$	Amidoxima	$pK_a$
	10.04		12.18
	11.20		12.36
	11.82		13.21

Además de su basicidad, se comprobó recientemente que complejos metálicos de Zn(II) y Cd(II) de 2-piridinamidoxima (PyAmOx) presentan reactividad hacia NPA y ésteres fosfato como paraoxón y paratión [14]. El  $pK_a$  de los complejos metal-amidoximato y las constantes de segundo orden para la hidrólisis de los diferentes sustratos, así como el efecto catalítico de los complejos metal-amidoximato respecto al amidoximato libre se muestran en la tabla 2.4 y 2.5.

Tabla 2.4. Constantes de acidez ( $pK_a$ ) y constantes velocidad de segundo orden para la hidrólisis de NPA, por PyAmOx y sus complejos metálicos, en agua a 25°C, y efecto catalítico relativo  $k_{ML}/k_L$  respecto al amidoximato libre. [14]

Especie	$pK_a$	$k (M^{-1}s^{-1})$	$k_{ML}/k_L$
OH <sup>-</sup>	14	14.5	
PyAmOx <sup>-</sup>	12.18	57	
[ZnPyAmOx] <sup>+</sup>	8.40	490	8.6
[Zn(PyAmOx) <sub>2</sub> ]	7.81	50	0.8
[Zn <sub>2</sub> (PyAmOx) <sub>2</sub> OH] <sup>+</sup>	7.50	160	2.8
[CdPyAmOx] <sup>+</sup>	9.13	700	12
[NiPyAmOx(OH) <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	8.57	30	0.52

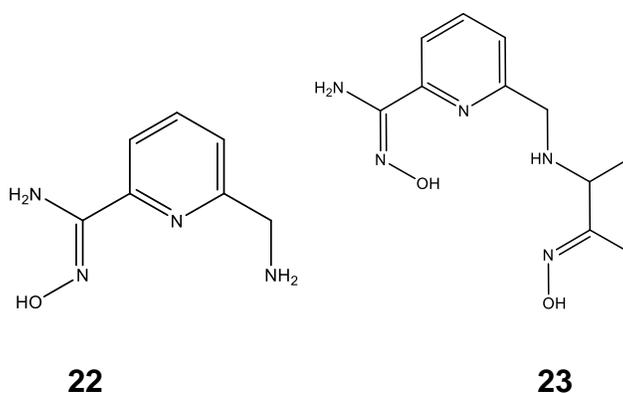
Tabla 2.5. Constantes de velocidad de segundo orden para la hidrólisis de paraoxón y paratión, por PyAmOx y sus complejos metálicos, en agua a 25°C, y efecto catalítico relativo  $k_{ML}/k_L$  respecto al amidoximato libre. [14]

Especie	Paraoxón		Paratión	
	$k (M^{-1}s^{-1})$	$k_{ML}/k_L$	$k (M^{-1}s^{-1})$	$k_{ML}/k_L$
OH <sup>-</sup>	$8 \times 10^{-3}$		$2.5 \times 10^{-4}$	
PyAmOx <sup>-</sup>	$1.71 \times 10^{-3}$		$3.3 \times 10^{-4}$	
[ZnPyAmOx] <sup>+</sup>	0.08	47	0.014	42
[Zn(PyAmOx) <sub>2</sub> ]	$2.62 \times 10^{-3}$	1.5	$6.59 \times 10^{-3}$	20
[Zn <sub>2</sub> (PyAmOx) <sub>2</sub> OH] <sup>+</sup>	0.03	8	$7.56 \times 10^{-4}$	2.3
[CdPyAmOx] <sup>+</sup>	0.071	42	0.100	303

Lo que se encontró fue que los metales acidifican entre 3 y 3.5 unidades de  $pK_a$  el grupo amidoxima, pero por ser muy básica no hay problema y nos permiten observar una reactividad considerable a pH 7. Además, la presencia de cationes metálicos incrementa hasta 300 veces la velocidad de las reacciones respecto al amidoximato libre, este incremento depende del sustrato utilizado y del metal, ya que se hallaron mayores efectos catalíticos con cadmio y con paratión a pesar de que es el sustrato más difícil de hidrolizar. Sin embargo, la desventaja de esta amidoxima es que forma complejos poco estables en disolución, por lo cual la precipitación del hidróxido correspondiente al catión metálico limita los estudios en función del pH y además

no se observó un mecanismo catalítico sino un régimen estequiométrico. Vale la pena mencionar que, aunque estos sistemas no son catalíticos, la reactividad y simplicidad de los mismos los hace mejores agentes detoxificantes, que los que actualmente se emplean comercialmente. Por ejemplo, el agente Dekon-139 tiene una constante de segundo orden de  $0.0037 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  a pH 10 y  $37^\circ\text{C}$  hacia paraoxón como sustrato [43] mientras que el complejo [CdPyAmOx] tiene una constante diez veces mayor,  $0.035 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  a pH 8.5 y  $25^\circ\text{C}$ .

No obstante, sería deseable incorporar en la estructura algún grupo donador adicional para mejorar la estabilidad de los complejos y también incorporar un nucleófilo adicional que ayude a la desacilación del intermediario formado con el sustrato, como las amidoximas **22** y **23**.



Además, se ha estudiado muy poco el comportamiento de amidoximas y sus complejos metálicos en la hidrólisis de ésteres carboxílicos y fosfato y, hasta donde sabemos, no hay ningún reporte de su reactividad en medios micelares, por lo que resultaría interesante comparar como se ve afectada la reactividad de estos complejos en presencia de un tensoactivo catiónico como CTAB, adicionalmente sería interesante poder comparar este efecto con el de otro medio supramolecular por ejemplo dendrímeros, ya que estos pueden considerarse en cierta forma análogos a las micelas, pero poseen ciertas características particulares que han permitido su estudio y aplicación en distintos campos, desde catálisis [44][45], hasta encapsulación y entrega de fármacos [46-49] ofreciendo algunas ventajas sobre los tensoactivos.

## Dendrimeros PAMAM

Una de las principales características de los dendrimeros es que, a diferencia de las micelas que se crean en condiciones de equilibrio, poseen una estructura molecular bien definida, poseen ramificaciones y cavidades internas simétricas, lo que permite la inclusión de moléculas huésped, por lo que pueden servir como un sistema receptor que interactúa simultáneamente con múltiples moléculas [50], además pueden ser empleados a bajas concentraciones mientras que los tensoactivos requieren concentraciones por encima de su concentración micelar crítica.

La síntesis de los dendrimeros tipo PAMAM fue reportada por primera vez por Tomalia y colaboradores [51], se describe un proceso de dos pasos, el primero es una adición de Michael exhaustiva sobre un núcleo inicial de amoniacos o etilendiamina con acrilato de metilo, seguido de una amidación exhaustiva de los ésteres resultantes con grandes excesos de etiléndiamina como se muestra en la Figura 2.4

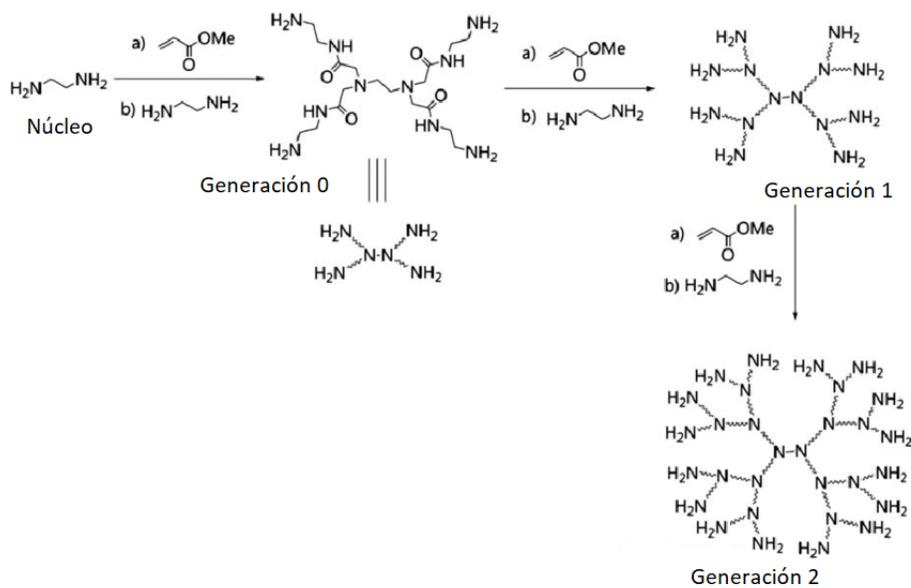


Figura 2.4. Esquema de síntesis de dendrimeros PAMAM con núcleo de etilendiamina y con terminales amino.

A partir de este primer reporte, se ha realizado la síntesis de dendrimeros de diferentes núcleos y de diferentes terminales [52-54], además se pueden modificar los grupos terminales para tener una superficie que cumpla con una función en específico, por ejemplo, tener una superficie más o menos hidrofóbica modificando

la solubilidad [55] o incluso agregar un grupo que pueda servir como catalizador para alguna reacción [56]. Sin embargo, debe mencionarse que la síntesis de dendrímeros PAMAM de alta generación y sin defectos a gran escala sigue siendo un desafío, ya que las técnicas de purificación tales como precipitación, diálisis o HPLC, muchas veces no permiten separar los dendrímeros defectuosos de los dendrímeros intactos debido a sus composiciones químicas y propiedades fisicoquímicas similares, por lo tanto la síntesis de dendrímeros PAMAM sin defectos a gran escala no es en absoluto trivial y constituye un desafío técnico muy exigente [57].

En el área de catálisis, la inmovilización de los grupos catalíticos sobre una estructura dendrímica, ya sea en su parte interna o en la periferia, modifica la velocidad de una reacción, la activación de los sustratos o la selectividad hacia éstos [58]. Esto los convierte en sistemas bastante útiles, ya que estos efectos positivos de los dendrímeros pueden tener su origen en el aislamiento del sitio de reacción, en la estabilización del estado de transición o bien en efectos dieléctricos [59].

En particular se ha estudiado la hidrólisis de NPA en presencia de dendrímeros poliamidoamina (PAMAM) con grupos amino terminales, y lo que se encontró fue que las aminas terminales son capaces de hidrolizar este éster (reacción de aminólisis), y las constantes de velocidad observadas son mayores que las que se obtienen al usar los mismos equivalentes de la amina N-acetil etiléndiamina, que sería su análogo no dendrímérico; este efecto fue atribuido a una estabilización del estado de transición [60] como se muestra en la figura 2.4.

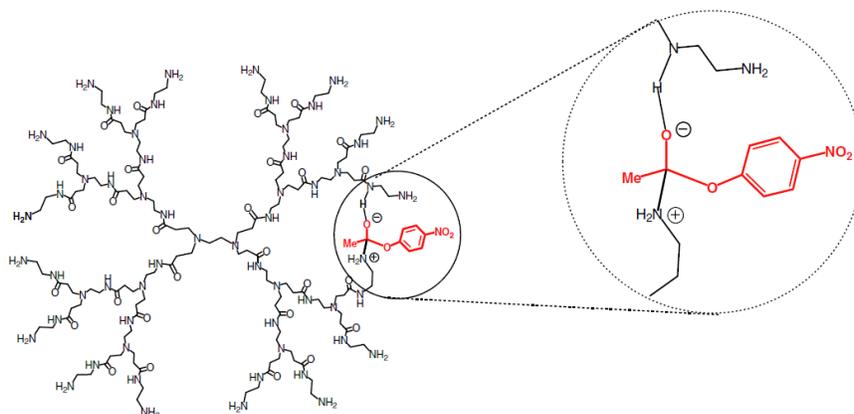


Figura 2.4. Estado de transición propuesto por Twyman y colaboradores [59] en la hidrólisis de NPA por un dendrímero PAMAM de generación 2 a pH 8.5.

La aminólisis es más relevante cuando los grupos amino terminales se encuentran desprotonados y por lo tanto pueden actuar como nucleófilos. Por otro lado, como estos dendrímeros son policationes en disolución acuosa neutra, un cambio en el pH o en el medio puede modificar sus propiedades y estructura debido al estado de la protonación de los grupos amino tanto internos como terminales [50][61].

Anteriormente, en el grupo de trabajo se realizó la modificación covalente de un dendrímero PAMAM G0 con 2,3-butanodiona monoxima (BDM), logrando tener en las terminales del dendrímero un grupo oxima y éste presentaba una reactividad considerable hacia NPA, sus complejos con cationes metálicos como Zn(II), Cd(II) y Cu(II) son muy estables, y además presentan una reactividad mayor a la del ligante libre, habiendo una notable diferencia entre la reactividad de BDM y este dendrímero modificado [27], por lo que se espera que sea posible modificar las terminales con diferentes cetonas para incorporar a las terminales del dendrímero piridinoximas y poder comparar la reactividad de estos sistemas.

Por lo tanto, es interesante estudiar el efecto de dendrímeros de este tipo sobre la reactividad de complejos metal-amidoximato cuando interaccionan de forma no covalente y comparar este efecto con el de un tensoactivo catiónico, Finalmente, sería muy interesante realizar además una modificación covalente que permita incluir en las terminales del dendrímero la estructura de este ligante para poder realizar comparaciones de la reactividad de estos sistemas.

### 3. Hipótesis

---

Los complejos de zinc y cadmio del ligante PyAmOx, presentarán una mayor reactividad esterolítica en presencia del tensoactivo catiónico CTAB y dendrímeros de tipo PAMAM-NH<sub>2</sub>, ya que se mejorará la interacción con los sustratos.

Al agregar una amina como grupo donador adicional a la estructura del ligante, los complejos metálicos que se formen serán más estables, y la presencia de un nucleófilo adicional ayudará a la regeneración del catalizador, modificando de esta forma la reactividad tanto del ligante como de sus complejos metálicos.

## 4. Objetivos

---

### 4.1 Objetivo principal

Evaluar el efecto de dendrímeros PAMAM-NH<sub>2</sub> y el tensoactivo catiónico CTAB en la hidrólisis de ésteres carboxílicos y fosfatos como sustratos, catalizada en presencia de complejos metal-oximato de ligantes tipo PyAmOx, al interactuar con éstos de forma no covalente, determinando parámetros cinéticos y termodinámicos de los que depende su reactividad esterolítica.

### 4.2 Objetivos particulares

- Establecer las condiciones óptimas de pH y concentración de nucleófilo libre o coordinado, de tensoactivo y de dendrímero para llevar a cabo la hidrólisis de los sustratos de interés.
- Evaluar la reactividad esterolítica del ligante PyAmOx hacia los diferentes sustratos en presencia de CTAB y dendrímeros de diferentes generaciones.
- Evaluar la reactividad esterolítica de los complejos de PyAmOx con cadmio y zinc hacia los diferentes sustratos en presencia de CTAB y dendrímeros.
- Realizar un análisis de la reactividad en función de las especies presentes en disolución.
- Comparar el efecto catalítico de los medios supramoleculares hacia los diferentes sustratos
- Realizar la síntesis del ligante PyAmOx-NH<sub>2</sub> (Estructura **22**) y caracterizarlo por técnicas espectroscópicas convencionales (análisis elemental, resonancia magnética nuclear, espectroscopía infrarrojo y UV-vis).
- Determinar los valores de pK<sub>a</sub> del ligante PyAmOx-NH<sub>2</sub> mediante titulaciones potenciométricas y espectrofotométricas.
- Evaluar la reactividad esterolítica del ligante PyAmOx-NH<sub>2</sub> en función del pH hacia NPA.
- Estudiar la reactividad esterolítica del ligante PyAmOx-NH<sub>2</sub> en presencia de cationes metálicos a pH fijo y a pH variable hacia NPA.

- Determinar, para los cationes metálicos con mayor actividad, la constante de formación de los complejos metal-ligante mediante titulaciones potenciométricas y espectrofotométricas.
- Realizar la modificación covalente de un dendrímero PAMAM para incorporar en su estructura una amidoxima y comparar su reactividad.

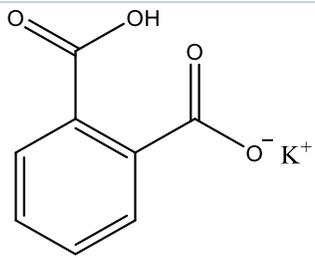
## 5. Metodología

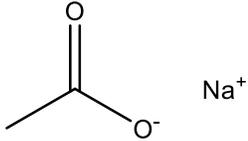
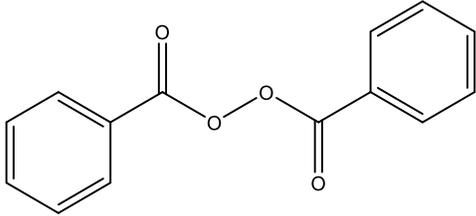
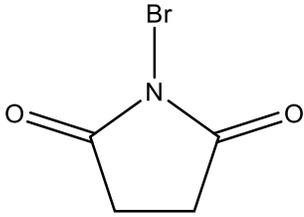
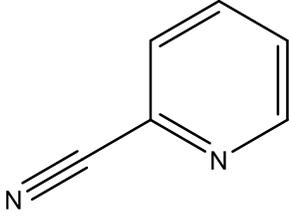
### 5.1. Reactivos

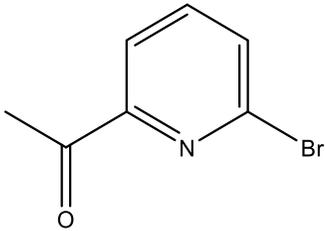
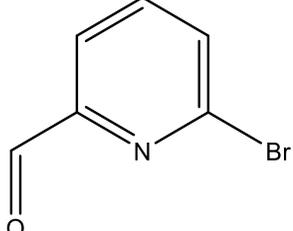
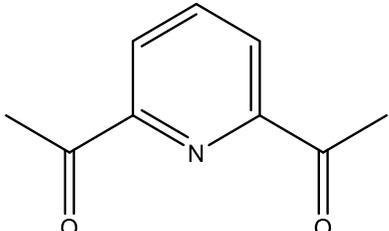
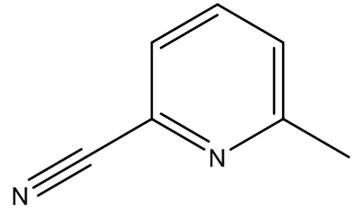
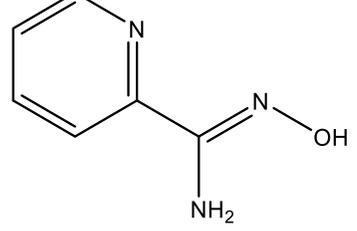
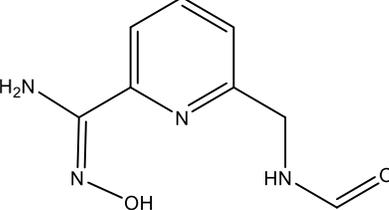
Se utilizó en todos los experimentos agua destilada y desionizada obtenida mediante el equipo Nanopure Barnstead con una resistividad de  $18.2 \pm 0.1 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$

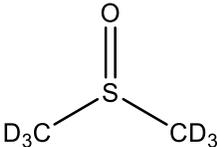
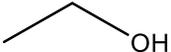
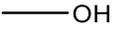
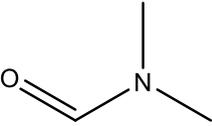
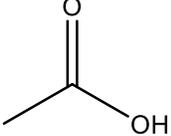
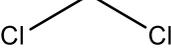
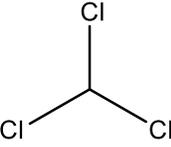
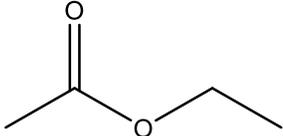
En la tabla 5.1.1. se enlistan los reactivos utilizados, así como su estructura y sus principales características.

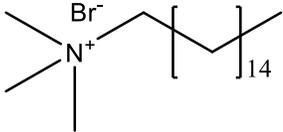
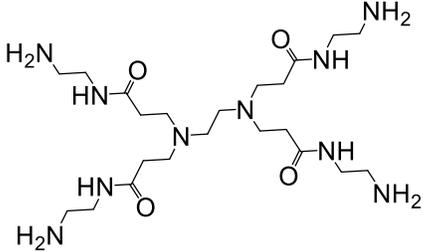
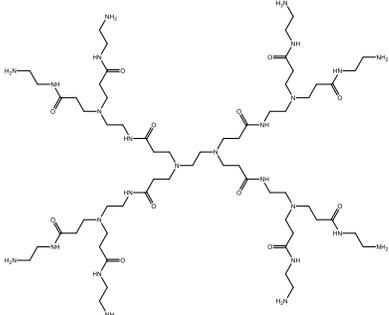
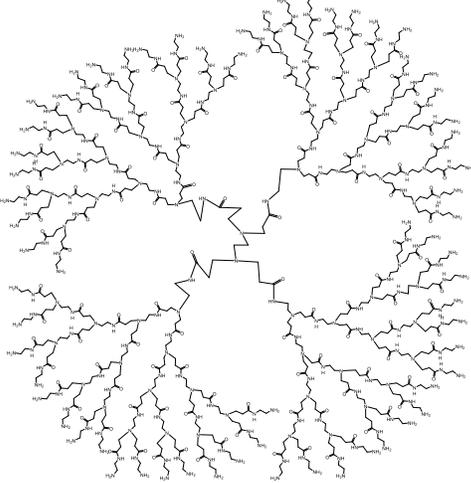
Tabla 5.1.1. Estructura y principales características de los reactivos utilizados.

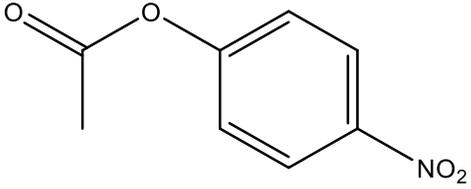
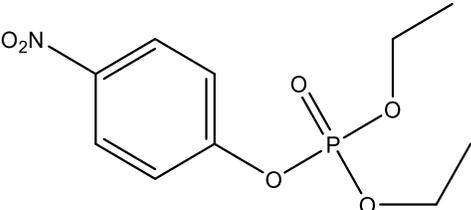
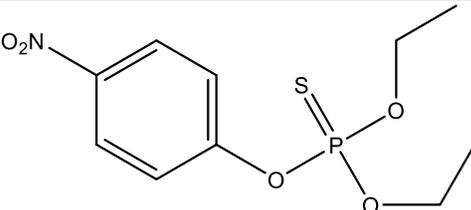
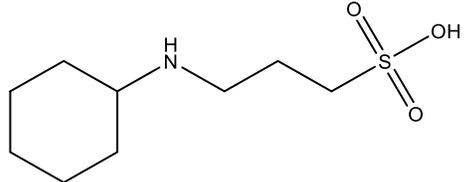
Reactivos	
<b>HCl</b>	Ácido clorhídrico J. T. Baker Masa molar: 36.46 g/mol
<b>NaOH</b>	Hidróxido de sodio J. T. Meyer Masa molar: 40.00 g/mol
<b>NaCl</b>	Cloruro de sodio J. T. Baker Masa molar: 58.44
	Biftalato de potasio Sigma Aldrich 99.5% Masa molar: 204.22 g/mol
<b>NH<sub>2</sub>OH·HCl</b>	Hidroxilamina (Clorhidrato) Aldrich Masa molar: 69.49 g/mol
<b>NH<sub>2</sub>OH</b>	Hidroxilamina (50% peso en agua) Sigma Aldrich Masa molar: 33.03 g/mol

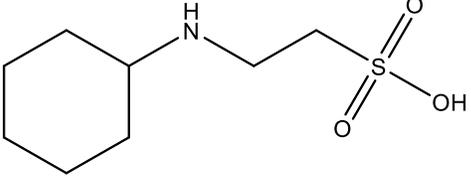
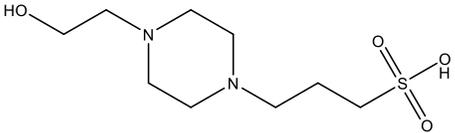
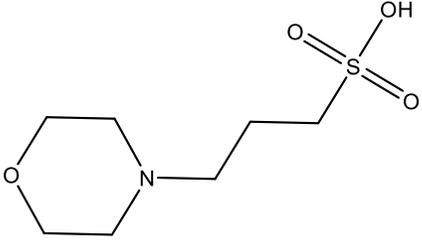
<p style="text-align: center;"><b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O</b></p>	<p style="text-align: center;">Carbonato de sodio monohidratado Sigma Aldrich ≥ 99.5% Masa molar: 124 g/mol</p>
<p style="text-align: center;"><b>CuI</b></p>	<p style="text-align: center;">Yoduro de cobre (I) Sigma Aldrich 99% Masa molar: 190.45 g/mol</p>
<p style="text-align: center;"><b>NaCN</b></p>	<p style="text-align: center;">Cianuro de sodio Sigma Aldrich 99% Masa molar: 190.45 g/mol</p>
<p style="text-align: center;"><b>Zn</b></p>	<p style="text-align: center;">Zinc (polvo) Sigma Aldrich &lt;150 μm, 99.995% Masa molar: 65.39 g/mol</p>
	<p style="text-align: center;">Acetato de sodio Sigma Aldrich ≥99% Masa molar: 82.03 g/mol</p>
	<p style="text-align: center;">Luperox® A75, Peróxido de benzoilo Sigma Aldrich 75% Masa molar: 242.23 g/mol</p>
	<p style="text-align: center;">N-Bromosuccinimida Sigma Aldrich 99% Masa molar: 177.98 g/mol</p>
	<p style="text-align: center;">2-Cianopiridina Sigma Aldrich 99% Masa molar: 104.11 g/mol</p>

	<p>2-acetil-6-bromopiridina Sigma Aldrich 97% Masa molar: 200.03 g/mol</p>
	<p>6-Bromo-2-piridincarboxaldehido Sigma Aldrich 97% Masa molar: 200.03 g/mol</p>
	<p>2,6-diacetilpiridina Sigma Aldrich 99% Masa molar: 163.17 g/mol</p>
	<p>2-Ciano-6-metilpiridina Sigma Aldrich 97% Masa molar: 118.14 g/mol</p>
<b>Ligantes</b>	
 <p style="text-align: center;"><b>PyAmOx</b></p>	<p>2-Piridinamidoxima Se preparó a partir de 2-cianopiridina e hidroxilamina (sección 5.8)</p>
 <p style="text-align: center;"><b>PyAmOx-NF</b></p>	<p>6-Formamidometil-2-piridinamidoxima Sintetizado en este trabajo (sección 5.8)</p>

<b>Disolventes</b>	
 <p><b>DMSO-d<sub>6</sub></b></p>	<p>Dimetilsulfóxido-d<sub>6</sub> Sigma Aldrich 99.9% Masa molar: 84.17 g/mol</p>
 <p><b>CH<sub>3</sub>CN</b></p>	<p>Acetonitrilo J.T.Baker (R.A.) Masa molar 41.05 g/mol</p>
 <p><b>CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-OH</b></p>	<p>Etanol J.T.Baker 96% Masa molar 46.07 g/mol</p>
 <p><b>CH<sub>3</sub>-OH</b></p>	<p>Metanol J.T.Baker 96% Masa molar 32.04 g/mol</p>
 <p><b>DMF</b></p>	<p>Dimetilformamida Sigma Aldrich 99.9% Masa molar: 73.09 g/mol</p>
 <p><b>CH<sub>3</sub>COOH</b></p>	<p>Ácido acético glacial J.T.Baker</p>
 <p><b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></b></p>	<p>Diclorometano ALVI (Q.P.)</p>
 <p><b>CHCl<sub>3</sub></b></p>	<p>Cloroformo J.T.Baker (R.A.)</p>
	<p>Acetato de etilo MALLINCK (Q.P.)</p>

 <p><b>CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub></b></p>	<p>n-Hexano ALVI (Q.P.)</p>
 <p><b>CTAB</b></p>	<p>Bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) Sigma Aldrich ≥ 98% Masa molar: 364.45</p>
 <p><b>GO</b></p>	<p>Dendrímtero PAMAM Núcleo de etilendiamina, Generación 0.0 Disolución, 20% peso en metanol Sigma Aldrich Masa molar: 516.68 g/mol</p>
 <p><b>G1</b></p>	<p>Dendrímtero PAMAM Núcleo de etilendiamina, Generación 1.0 Disolución, 20% peso en metanol Sigma Aldrich Masa molar: 1429.85 g/mol</p>
 <p><b>G4</b></p>	<p>Dendrímtero PAMAM Núcleo de etilendiamina, Generación 4.0 Disolución, 10% peso en metanol Sigma Aldrich Masa molar: 14214.17g/mol</p>

<b>Sustratos</b>	
 <b>NPA</b>	<p>4-Nitrofenil acetato  Sigma Aldrich <math>\geq 99.0\%</math>  Masa molar: 181.15 g/mol</p>
 <b>Paraoxón</b>	<p>Paraoxón  Sigma Aldrich grado analítico  Masa molar: 275.20 g/mol</p>
 <b>Paratión</b>	<p>Paratión  Sigma Aldrich  Masa molar: 291.26 g/mol</p>
<b>Sales de los cationes metálicos</b>	
<b><math>\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}</math></b>	<p>Nitrato de cadmio (II) tetrahidratado  Sigma Aldrich  Masa molar: 419.39 g/mol</p>
<b><math>\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}</math></b>	<p>Nitrato de zinc (II) hexahidratado  Sigma Aldrich  Masa molar: 419.39 g/mol</p>
<b>Amortiguadores</b>	
 <b>CAPS</b>	<p>Ácido 3-(ciclohexilamino)1-propanosulfónico  Sigma Aldrich <math>\geq 98\%</math>  Masa molecular: 221.32 g/mol  pKa (25°C): 10.4  Intervalo de pH: 9.7-11.1</p>

 <p style="text-align: center;"><b>CHES</b></p>	<p>Ácido 2-(Ciclohexilamino)etanosulfónico</p> <p>Sigma Aldrich <math>\geq 99\%</math></p> <p>Masa molecular: 207.29 g/mol</p> <p>pKa (25°C): 9.3</p> <p>Intervalo de pH: 8.6-10.0</p>
 <p style="text-align: center;"><b>EPPS</b></p>	<p>Ácido 4-(2-hidroxietyl)-1piperazinpropanosulfónico</p> <p>Sigma Aldrich <math>\geq 99.5\%</math></p> <p>Masa molecular 252.33 g/mol</p> <p>pKa (25°C): 8.0</p> <p>Intervalo de pH: 7.3-8.7</p>
 <p style="text-align: center;"><b>MOPS</b></p>	<p>Ácido 3-(N-morfino) propanosulfónico</p> <p>Sigma Aldrich <math>\geq 99.5\%</math></p> <p>Masa molar: 209.26 g/mol</p> <p>pKa (25°C): 7.2</p> <p>Intervalo de pH: 6.5-7.9</p>

## 5.2 Equipo

Las mediciones de volumen se realizaron con micropipetas Eppendorf Research de volúmenes variables. Las mediciones de pH se efectuaron con un electrodo de vidrio Orion 8103BN y un potenciómetro Orion modelo 710A con una precisión de  $\pm 0.005$  unidades de pH. El potenciómetro se calibró con amortiguadores estándar de referencia a 25°C, pH 4.00, 7.00 y 10.00 (Aldrich, con una precisión de  $\pm 0.01$ ). Los estudios cinéticos y las titulaciones espectrofotométricas se realizaron en celdas de plástico Eppendorf® UVette® con capacidad de 0.5 a 1.0 mL y ventana espectral de 220 a 1600 nm en un espectrofotómetro UV-vis Hewlett Packard 8453 con arreglo de diodos (ventana espectral de 190-1100 nm, resolución de 1 nm, precisión de longitud de onda  $<1 \pm 0.5$ ), el cual cuenta con un transportador multicelda con temperatura regulada por un recirculador marca Fisher Scientifics Isotemp 1016S ( $\pm 0.1^\circ\text{C}$ ).

La caracterización de los ligantes y de los intermediarios mediante resonancia magnética nuclear ( $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN) se realizó mediante Unidad de Servicios de Apoyo la Investigación y a la Industria (USAII) de la Facultad de Química. Los espectros de FTIR por reflectancia se obtuvieron en un equipo *Nicolet iS5*, el cual cuenta con accesorio *iD5* para ATR de la marca *Thermo Scientific* del laboratorio 213 de posgrado.

### 5.3 Software

Todos los ajustes lineales y no lineales se realizaron mediante el programa *Origin Pro 8.5.0*. Las constantes de equilibrio fueron calculadas utilizando los programas *Hyperquad 2008* versión 5.2.19 (Potenciometría) e *HypSpec* versión 1.1.33 (Espectrofotometría). Los diagramas de distribución de especies se generaron utilizando el programa *HySS 2008* versión 4.0.31. Los espectros de RMN- $^1\text{H}$  se analizaron mediante el programa *MestReNova 2012*.

### 5.4 Condiciones generales

Todos los experimentos se realizaron a temperatura constante de  $25.0 \pm 0.1$  °C mediante baño recirculador de agua.

Se prepararon disoluciones stock del ligante y sales de los cationes metálicos empleados en agua en concentraciones entre 2.5-25 mM. Las disoluciones stock de los sustratos se prepararon en acetonitrilo en concentraciones entre 2.5-5.0 mM. Los amortiguadores utilizados son poco coordinantes con los cationes metálicos y no absorben entre las longitudes de onda 250 y 600 nm, se prepararon disoluciones stock de concentración 500 mM y se ajustó el pH al valor requerido. Se prepararon también disoluciones stock del tensoactivo CTAB y de los dendrímeros PAMAM en agua en concentraciones entre 2.5 y 10 mM

Las disoluciones de NaOH se emplearon frescas y se estandarizaron con biftalato de potasio y fenolftaleína como indicador. Las disoluciones de HCl se normalizaron con NaOH estandarizada con fenolftaleína como indicador. Las disoluciones de los cationes metálicos se estandarizaron con disolución de EDTA y con negro de

eriocromo T (NET) como indicador y posteriormente mediante absorción atómica en la USAII.

### 5.5 Titulaciones potenciométricas

Las titulaciones potenciométricas se realizaron a 25°C en una celda de vidrio bajo flujo de N<sub>2</sub>, para evitar la formación de carbonatos y utilizando volúmenes iniciales de 10 mL.

Para poder calcular las constantes de formación se determinó el pK<sub>w</sub> experimental del agua mediante una titulación potenciométrica de HCl 10 mM con NaOH 0.25 M. Los datos obtenidos se grafican y se ajustan en el programa *OriginPro* 8.5.0 mediante la ecuación (1) [62] como se muestra en la figura 5.5.1.

$$V = \frac{(V_{eq}*[NaOH])+(K_w*V_0*10^{pH})\frac{V_0*f}{10^{pH}}}{[NaOH]+\frac{f}{10^{pH}}(K_w+10^{pH})} \quad (1)$$

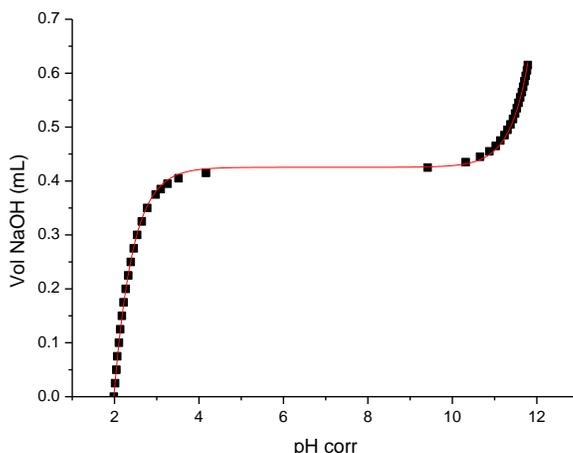


Figura 5.5.1. Curva de titulación potenciométrica de HCl 0.1 M, la línea continua representa el ajuste a la ecuación 1. El valor obtenido fue de pK<sub>w</sub>=14.14.

Las determinaciones de las constantes de acidez del ligante PyAmOx-NF se efectuaron a fuerza iónica constante impuesta con NaCl 100 mM. Se utilizaron disoluciones con concentraciones variables de ligante entre 6-10 mM, en todos los casos se agregó HCl de tal manera que hubiera un equivalente de ácido por cada equivalente de ligante y se titularon con disoluciones estandarizadas de NaOH; una

vez terminada la titulación, se comprobó la reversibilidad del sistema mediante una titulación de la misma disolución con HCl estandarizado hasta regresar al pH inicial. Los datos obtenidos se analizaron con el programa *Hyperquad 2008* para obtener las constantes de formación expresadas como  $pK_a$  o  $\log \beta$ .

### 5.6 Titulaciones espectrofotométricas

Las titulaciones espectrofotométricas se realizaron a 25°C en una celda de vidrio bajo flujo de  $N_2$  y se efectuaron a fuerza iónica constante impuesta con NaCl 100 mM. Se utilizaron concentraciones variables de ligante entre 0.1-0.5 mM. Se obtuvieron los espectros en función del pH mediante titulaciones de disoluciones ligante con NaOH estandarizado hasta pH 13 o hasta observar precipitado utilizando amortiguador en concentraciones entre 10 y 50 mM.

### 5.7 Estudios cinéticos

La reactividad de los ligantes en presencia y ausencia de medios supramoleculares se midió frente a los diferentes sustratos espectrofotométricamente mediante la aparición de 4-nitrofenolato en 400 nm en medio acuoso amortiguado con 50 mM de MOPS, CHES, EPPS o CAPS y con 2% de MeCN a 25°C utilizando un volumen total de 500  $\mu$ L. Los datos cinéticos se ajustaron a una ecuación cinética integrada de primer orden para NPA (2) como se muestra en la figura 5.7.1 o utilizando velocidades iniciales en el caso de paraoxón y paratión y se obtuvieron las constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ).

$$A^{400} = A_0 + (A_{inf} - A_0)(1 - e^{(-k_{obs}t)}) \quad (2)$$

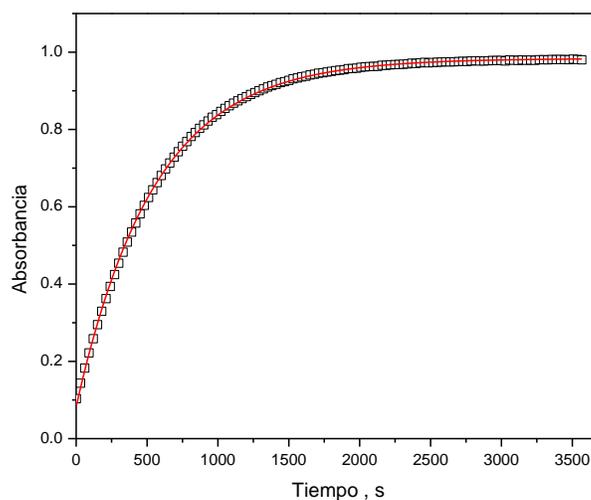


Figura 5.7.1. Ejemplo de curva cinética de la hidrólisis de NFA, la línea continua representa el ajuste a la ecuación 2.

En presencia de medios supramoleculares (dendrimeros y tensoactivo), se estudió la dependencia del pH, la concentración de dendrimeros y tensoactivo y la concentración de metal:ligante para establecer el efecto catalítico relativo de estos medios sobre la reactividad del ligante PyAmOx y sus complejos con cadmio y zinc.

Con el ligante PyAmOx-NF se estudió la dependencia del pH, la concentración y las variaciones en las concentraciones metal:ligante para establecer la reactividad del ligante y el efecto de cationes divalentes de metales de transición.

Las constantes de formación obtenidas en las titulaciones junto con los datos cinéticos permitieron conocer la especie o especies reactivas en el sistema, así como su reactividad expresada como una constante de segundo orden ( $k'$ ,  $s^{-1}M^{-1}$ ).

## 5.8 Síntesis de los ligantes

### Síntesis de 2-Piridinamidoxima (PyAmOx)

El ligante 2-piridinamidoxima (PyAmOx) se preparó de acuerdo con un procedimiento ya reportado [63] mediante la reacción entre 2-cianopiridina con hidroxilamina, el esquema de reacción se muestra en la figura 5.8.1.

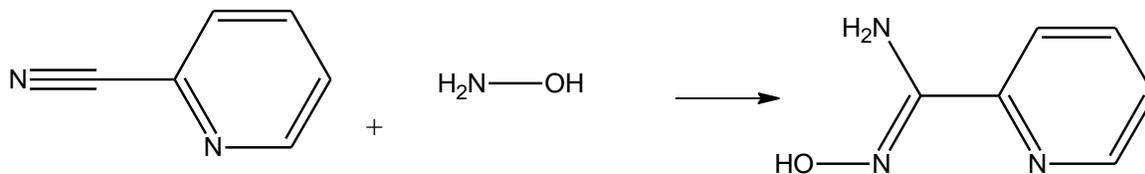


Figura 5.8.1. Esquema de reacción para la síntesis de PyAmOx.

A 1.05 g (0.015 mol) de clorhidrato de hidroxilamina se le agregaron 0.95 g (7.5 mmol) de  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  en 5 mL de agua y se calentó a  $60^\circ\text{C}$ , después se añadió 1.50 g (0.0145 mol) de 2-cianopiridina y 5 mL de etanol. La temperatura de la mezcla se elevó a  $85^\circ\text{C}$  y se mantuvo por 2 horas. Se evaporó el disolvente y se lavó el producto con agua muy fría.

Se obtuvo el ligante PyAmOx como un polvo blanco, con un rendimiento de 85% y se caracterizó satisfactoriamente mediante técnicas espectroscópicas convencionales. A.E. calculado/(experimental)% C 52.55 ( $52.76 \pm 0.04$ ), H 5.15 ( $5.20 \pm 0.09$ ) N 30.64 ( $30.52 \pm 0.04$ ); FTIR (KBr, reflectancia,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3468s, 3249s, 3071b, 2782m, 1648s, 1592m, 1550s, 1484s, 1446w, 956m, 743;  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  9.93 (s, 1H), 8.56 (ddd,  $J = 4.9, 1.7, 1.0$  Hz, 1H), 7.82 (d,  $J = 51.2$  Hz, 2H), 7.40 (ddd,  $J = 7.2, 4.9, 1.7$  Hz, 1H), 5.84 (s, 2H);  $^{13}\text{C}$  RMN (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  149.42, 119.35, 136.58, 124.04, 148.21, 149.98.

## Modificación del ligante PyAmOx

Inicialmente se buscaba obtener el ligante PyAmOx-NH<sub>2</sub> mediante el esquema de reacción que se muestra en la figura 5.8.2.

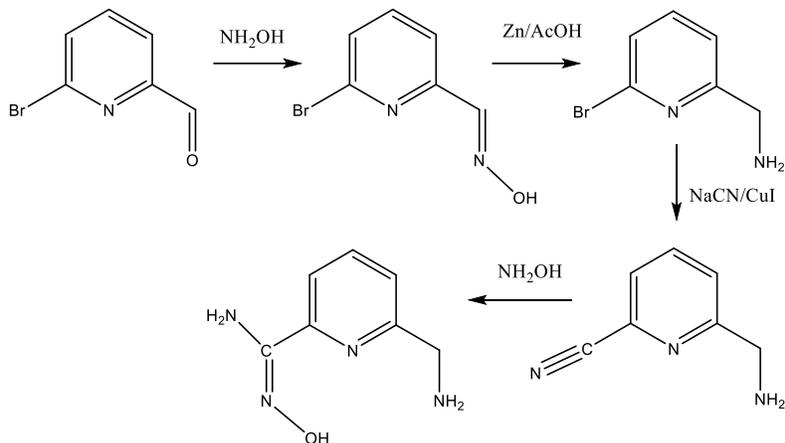
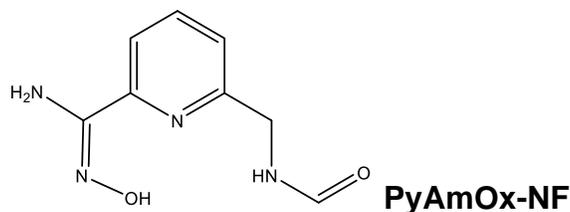


Figura 5.8.2. Esquema de reacción para la síntesis de PyAmOx-NH<sub>2</sub>

Sin embargo, como se detalla en la sección de resultados (6.2), el ligante obtenido no fue el esperado, sino que se obtuvo la amina formilada:



El procedimiento experimental se detalla a continuación:

Se disolvió 1 g (5.37 mmol) de 6-bromo-2-piridincarboxaldehído en 10 mL de etanol y se agregaron 0.7471 g de clorhidrato de hidroxilamina (10.74 mmol) y 0.6615 g de acetato de sodio (8.05 mmol) y se mantuvo en agitación durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de este tiempo se agregó MgSO<sub>4</sub>, se filtró sobre algodón y se concentró para obtener un sólido blanco. Este sólido se suspendió en una mezcla de 2% de metanol en diclorometano y se filtró en una columna corta de sílica. Se evaporó el disolvente y se obtuvo la aldoxima como un sólido blanco (rendimiento cuantitativo).

Se tomó 1 g (4.97 mmol) de la aldoxima y se agregaron 5 mL de ácido acético glacial y 3 mL de agua, luego se añadieron 333 mg de Zn metálico (previamente lavado con HCl y secado con acetona) cada 2 horas hasta completar 3 equivalentes de Zn (14.9 mmol), esto se realizó en agitación y a temperatura ambiente durante 6 horas. Después se filtró sobre celita, se evaporó a sequedad y se obtuvo un aceite amarillo, luego se agregaron 5 mL de agua y se neutralizó con NaOH formándose un precipitado de hidróxido de zinc que se separó por filtración. Una vez precipitado todo el hidróxido, se llevó la disolución a pH 10, se realizaron extracciones con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , se juntaron las fracciones y se secaron con  $\text{MgSO}_4$ , se evaporó a sequedad y se obtuvo un aceite amarillo correspondiente a la amina (rendimiento 50%).

Se tomaron 320 mg (1.71 mmol) del aceite obtenido del paso anterior, se disolvieron en 5 mL de DMF seca y se agregaron 126 mg de NaCN (1.5 equivalentes de NaCN) y 327 mg de CuI (0.5 equivalentes), se burbujeó nitrógeno y se mantuvo en reflujo por 16 horas (155°C). Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se agregaron 20 mL de agua para terminar la reacción, se dejó en agitación 10 minutos y luego se filtró. A la fase acuosa se le hicieron extracciones con acetato de etilo (5x30mL), se juntaron y se secaron con  $\text{MgSO}_4$ , luego se evaporó el disolvente hasta sequedad y se obtuvo un aceite amarillo que se purificó mediante una columna de sílica (Hexano: Acetato de etilo 1:5) obteniéndose un sólido blanco (Rendimiento 20%).

Del nitrilo obtenido en el procedimiento anterior se tomaron 180 mg (1.35 mmol) y se disolvieron en 8 mL de una mezcla de etanol/agua 1:1 y se agregaron 95.5  $\mu\text{L}$  de hidroxilamina (1.4 mmol, disolución 50% en agua), luego se calentó esta mezcla a 90°C por 4 horas, se dejó enfriar y se evaporó a sequedad, luego se agregó acetato de etilo y se filtró sobre sílica, finalmente se hizo una recristalización con metanol/acetato de etilo y se obtuvo un sólido blanco correspondiente a la amidoxima (Rendimiento 80%).

Todas las reacciones se siguieron mediante placas TLC y en algunos casos por espectroscopia de infrarrojo. La caracterización y el análisis detallado de esta ruta de síntesis, así como la caracterización de cada uno de los intermediarios se muestra en la sección de resultados. (6.3).

## Modificación covalente de un dendrímico PAMAM

Para realizar la modificación covalente de un dendrímico se planteó inicialmente seguir el esquema de reacción que se muestra en la figura 5.8.3.

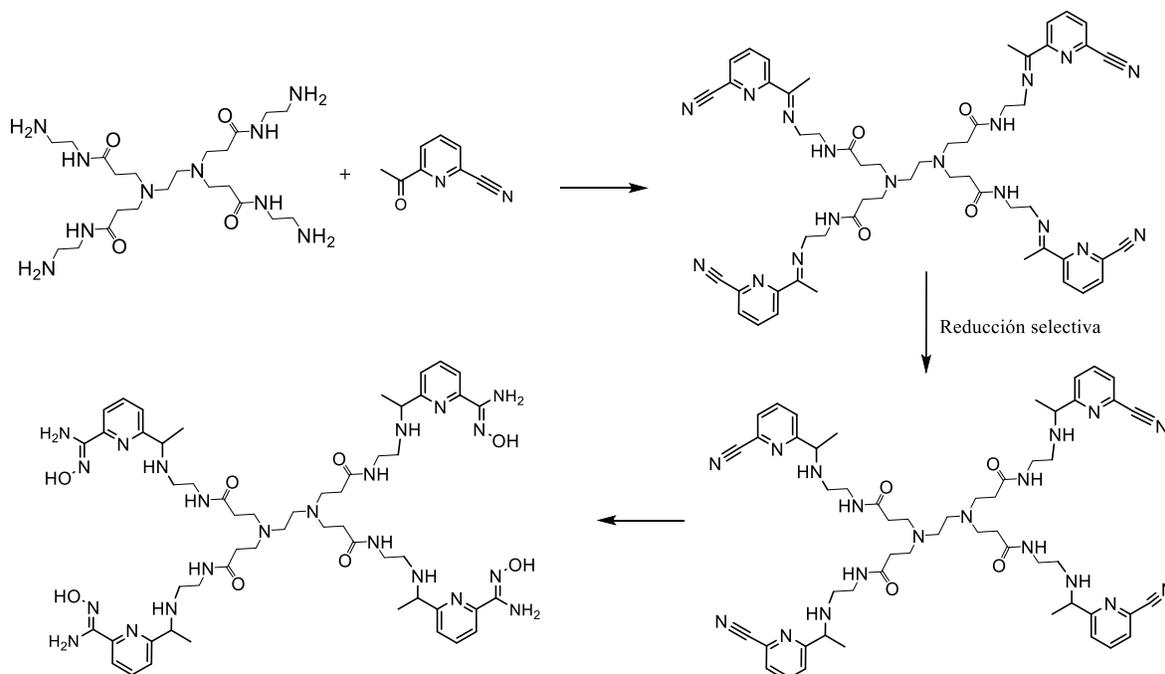


Figura 5.8.3. Esquema de reacción para la modificación covalente de un dendrímico PAMAM G0 con una amidoxima.

Para obtener 2-acetil-6-cianopiridina se partió de 2-acetil-6-bromopiridina, mediante la reacción de 2-acetil-6-bromopiridina con cianuro de sodio y yoduro de cobre(I), el esquema de reacción se muestra en la figura 5.8.4.

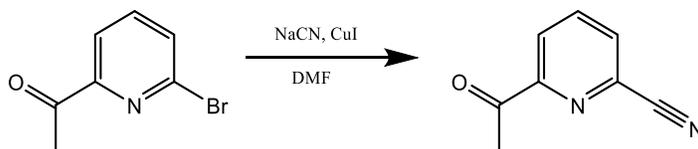


Figura 5.8.4. Esquema de reacción para la síntesis de 2-acetil-6-cianopiridina.

A 400 mg (2 mmol) de 2-acetil-6-bromopiridina se le agregaron 98 mg (2 mmol) de NaCN y 380.9 mg (2mmol) de CuI y se disolvieron en 6mL de DMF en atmósfera de N<sub>2</sub>, la mezcla se calentó en reflujo a una temperatura de 155°C por 16 horas. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se agregaron 20 mL de agua, se filtró y se realizaron extracciones con acetato de etilo. La purificación del producto se realizó

utilizando una columna de sílica y se eluyó con una mezcla de hexano y acetato de etilo en proporción 3:1. Mediante cromatografía en placas TLC se identificaron las fracciones que contenían el producto deseado, se juntaron y se evaporó el disolvente. (Rendimiento 30%).

Posteriormente se realizó la condensación del dendrímero PAMAM G0 con 2-acetil-6-cianopiridina como se muestra en la figura 5.8.3. Se tomaron 100 mg (0.68 mmol) de 2-acetil-6-cianopiridina y se disolvieron en 3 mL de metanol seco, se agregaron 500  $\mu$ l (0.113 mmol) de una disolución dendrímero PAMAM G0 20% peso en metanol y la reacción se mantuvo en agitación a 40° C por 72 horas. Se evaporó el disolvente y para purificar el producto se realizó un filtrado en una columna pequeña de sílica y se eluyó con una mezcla de hexano y acetato de etilo en proporción 3:1, se identificaron las fracciones mediante placas TLC, se juntaron y se evaporó el disolvente. Al producto anterior se le agregó un equivalente de borohidruro de sodio por cada imina formada sin embargo no se obtuvo el producto deseado. En la sección 6.3 se abordará con detalle todas las modificaciones realizadas en esta síntesis y la caracterización de los intermediarios, ya que no se logró incorporar la amidoxima en el dendrímero.

Para verificar si se podía hacer la condensación de la amina del dendrímero con la cetona aromática se buscó incorporar una oxima en lugar de una amidoxima. Partiendo de 2,6-diacetilpiridina se obtuvo la 2,6-diacetilpiridina monoxima mediante la reacción de 2,6-diacetilpiridina con un equivalente de hidroxilamina, el esquema de reacción se muestra en la figura 5.8.5; se empleó esta monoxima libre y O-acilada en la síntesis.

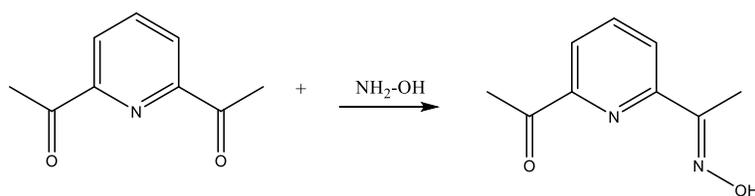


Figura 5.8.5. Esquema de reacción para la síntesis de 2,6-diacetilpiridina monoxima.

En 12.5 mL de etanol se disolvieron 500 mg (3.06 mmol) de 2,6-diacetilpiridina y posteriormente se agregaron 12.5 mL de agua y 218.2  $\mu$ L (3.06 mmol) de

hidroxilamina (disolución 50% en peso en agua) y se calentó a 90° C por 3 horas. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se evaporó el etanol de la mezcla formándose un precipitado blanco, posteriormente se purificó el producto utilizando una columna de sílica y se eluyó con 20% acetato de etilo en hexano. Mediante cromatografía en placas TLC se identificaron las fracciones que contenían el producto deseado, se juntaron y se evaporó el disolvente. (Rendimiento 50%)

Posteriormente se realizó la condensación del dendrímero PAMAM G0 con 2,6-diacetilpiridina monoxima obtenida en el paso anterior como se muestra en la figura 5.8.6.

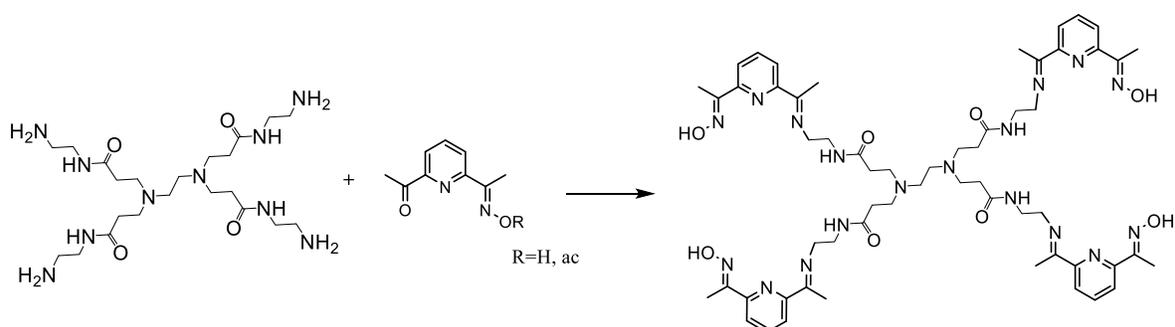


Figura 5.8.6. Esquema de reacción para la condensación de 2,6-diacetilpiridina monoxima con el dendrímero G0.

A 105 mg (0.589 mmol) de 2,6-diacetilpiridina monoxima se le agregaron 200  $\mu$ l (0.068 mmol) de una disolución dendrímero PAMAM G0 20% peso en metanol y se agregaron 2 mL de metanol seco, la reacción se mantuvo en agitación a 40° C por 30 horas. Se evaporó la mitad de disolvente y se dejó enfriar hasta obtener un precipitado amarillo que se separó por filtración, se lavó con metanol frío y luego con acetato de etilo. Al usar exceso de la oxima, el sólido obtenido contenía una mezcla de 2,6-diacetilpiridina monoxima y la condensación con el dendrímero, por lo que se intentó hacer la reducción de la imina utilizando la mezcla, sin embargo, no se obtuvo el producto esperado. La caracterización de los intermediarios obtenidos, así como el análisis de la ruta de síntesis se muestra en la sección de resultados (6.3).

## 6. Resultados y Discusión

### 6.1 Estudios Cinéticos en medios supramoleculares

#### Piridinamidoxima hacia NPA en presencia de CTAB y dendrímeros PAMAM

Se llevó a cabo la hidrólisis de NPA con el ligante PyAmOx en presencia del tensoactivo catiónico CTAB. A partir de los datos de absorbancia en función del tiempo, se obtuvieron constantes de primer orden ( $k_{\text{corr}} = k_{\text{obs}} - k_{\text{OH}}$ ) mediante las velocidades iniciales. En la figura 6.1.1 se muestra un gráfico de las constantes observadas en función del pH en presencia y ausencia del tensoactivo, en la tabla 6.1.1 se muestran los valores de las constantes obtenidas, así como el efecto catalítico relativo de CTAB respecto al ligante libre ( $k_{\text{obsCTAB}} / k_{\text{obs,sin CTAB}}$ ).

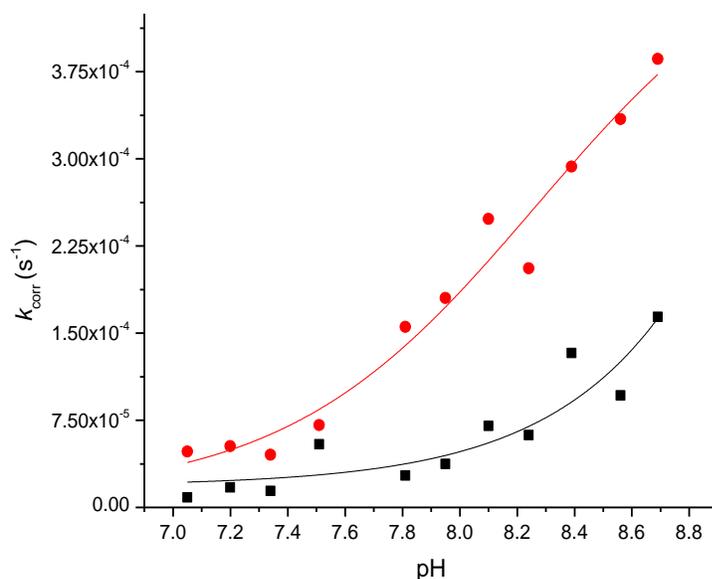


Figura 6.1.1. Constantes observadas de primer orden corregidas por la contribución de la hidrólisis alcalina ( $k_{\text{corr}}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función del pH. Concentración total de [L]=0.5 mM en (■) ausencia y (●) presencia de CTAB 5 mM.

Tabla 6.1.1. Constantes observadas de primer orden corregidas por la contribución alcalina ( $k_{\text{corr}}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función del pH. Concentración total de [L]=0.5 mM en ausencia y presencia de CTAB 5 mM, y efecto catalítico relativo ( $k_{\text{obsCTAB}}/k_{\text{obs,sin CTAB}}$ ).

pH	$k_{\text{corr}} \times 10^4 \text{ (s}^{-1}\text{)}$		$k_{\text{obsCTAB}}/k_{\text{obs,sin CTAB}}$
	Sin CTAB	Con CTAB	
7.05	0.10	0.49	5.0
7.20	0.19	0.55	2.9
7.34	0.16	0.48	2.9
7.51	0.58	0.74	1.3
7.81	0.34	1.63	4.7
7.95	0.47	1.90	4.0
8.10	0.84	2.62	3.1
8.24	0.81	2.25	2.8
8.39	1.59	3.20	2.0
8.56	1.35	3.73	2.8
8.69	2.17	4.39	2.0

Lo que podemos observar es que entre pH 7 y 7.5 en presencia del tensoactivo se observa un incremento en la reactividad. En este intervalo de pH, después de descartar la contribución del medio de reacción, el único nucleófilo presente que puede ser responsable de esta reactividad es a la amidoxima neutra. Esta reactividad ha sido observada para algunas amidoximas; por ejemplo, en estas condiciones la benzamidoxima neutra tiene una constante de segundo orden de  $0.088 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  [64], por lo que se esperaría que PyAmOx presente una reactividad similar debida al grupo amidoxima. A valores de pH entre 7.5 y 8.7 observamos otro incremento de la reactividad con cierta dispersión, pero como está muy lejos del  $pK_a$  de la amidoxima en agua, se propone que ésta sigue protonada en el medio micelar y el cambio observado podría deberse a que a partir de pH 7.5 se cambia el amortiguador de MOPS a EPPS y este podría tener su propia contribución.

En general la presencia de tensoactivo CTAB nos permite observar un incremento de las constantes observadas de aproximadamente 3 veces. Al aumentar el pH no se esperaría que hubiera un cambio sobre la protonación del tensoactivo ya que mantiene su forma catiónica en todo el intervalo, la constante de hidrólisis alcalina

de NPA en CTAB es aproximadamente 5 veces menor en el medio micelar que en agua y por lo tanto el incremento observado debe reflejar la interacción del tensoactivo la amidoxima como nucleófilo y el sustrato permitiendo que estos se acerquen y que la velocidad aumente.

Posteriormente se estudió cómo cambia la constante de velocidad en función de la concentración de tensoactivo y además de dendrímero PAMAM de generación 4. Para esto, se utilizó una concentración de PyAmOx constante y se mantuvo el pH fijo en 7.00, debido a que a este pH casi todos los grupos amino terminales del dendrímero se encuentran protonados y mantiene una estructura globular en disolución (los valores de  $pK_a$  reportados para los grupos amino terminales de los dendrímeros PAMAM están entre 7.96 y 9.95 [49], por lo que en pH 7, la concentración total de grupos amino protonados es por lo menos el 95% de la concentración total de dendrímero utilizada).

Las constantes observadas de primer orden, obtenidas de las velocidades iniciales, en función de la concentración total de dendrímero G4 o tensoactivo se muestran en la figura 6.1.2 A. Se presentan en escala logarítmica para poder realizar una comparación más detallada.

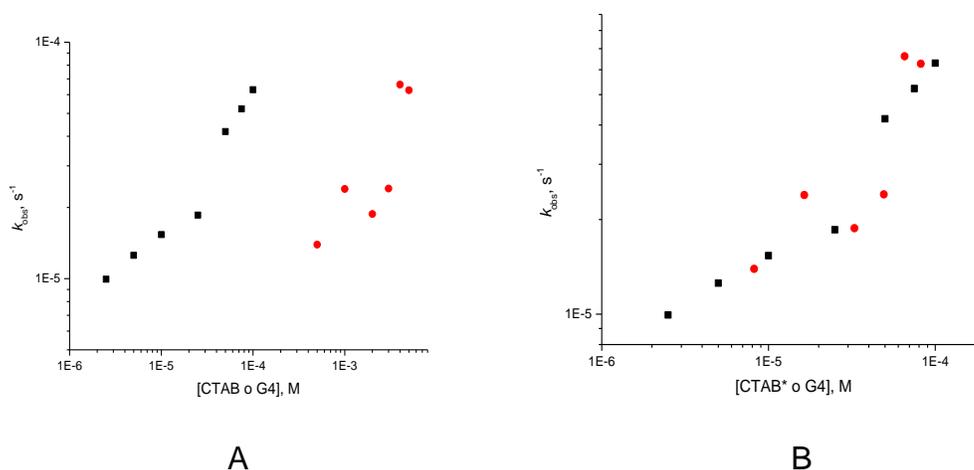


Figura 6.1.2. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C, pH=7.00 (MOPS 50 mM) en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración de (■) dendrímero PAMAM G4 o (●) CTAB. Concentración total de [L]=0.5 mM. A) Gráfica en función de la concentración molar de CTAB B) Gráfica en función de la concentración de micelas de CTAB,  $[CTAB^*]=[CTAB]/\text{número de agregación}$ .

Primero podemos notar que en ambos medios supramoleculares la reacción nucleofílica está catalizada como cabría esperar ya que ambos medios son catiónicos, sin embargo, al comparar la concentración molar utilizada, el dendrímero tiene un efecto aparente mucho mayor al que tiene el tensoactivo, ya que la cantidad necesaria de dendrímero es al menos 10 veces menor que la que se necesita de CTAB para alcanzar constantes de rapidez de valores similares. Sin embargo, para hacer un análisis más detallado es necesario comparar el efecto del tensoactivo y del dendrímero considerando que ambos forman una micela o especie de micela-molecular. El dendrímero tiene 64 grupos amino por cada molécula de dendrímero mientras que el tensoactivo CTAB tiene número de agregación de 60 moléculas por micela [65]. Así, para calcular la concentración de micelas de CTAB presentes,  $[CTAB^*]$ , es necesario dividir la concentración total de tensoactivo entre 60. En la figura 6.1.2 B se muestran las constantes observadas de primer orden en función de  $[CTAB^*]$  y se comparan con las obtenidas con el dendrímero G4, obteniéndose que el efecto real de ambos medios es muy similar. En el caso del dendrímero observamos un perfil menos disperso, probablemente debido a que las interacciones de la estructura globular del dendrímero con el ligante y el sustrato son más definidas, mientras que en los medios micelares hay más equilibrios presentes, incluyendo el de la formación de las micelas de CTAB.

El efecto catalítico en estos medios se debe a la suma de varios factores estando entre los principales el incremento en la concentración efectiva del sustrato y nucleófilo, la estabilización de un estado de transición aniónico y el cambio del  $pK_a$  del nucleófilo. A este valor de pH, la contribución del ligante desprotonado a la hidrólisis de NPA en agua puede despreciarse ya que su concentración es del orden de  $10^{-9}$  M, lo cual da una constante de rapidez  $k_{obs}$  ( $s^{-1}$ ) de  $3.7 \times 10^{-7}$  para PyAmOx. Aunque debemos considerar que el  $pK_a$  del ligante pudiera disminuir hasta 2 órdenes de magnitud dentro del medio supramolecular [66], esta especie es muy básica y en este caso la constante de rapidez  $k_{obs}$  del ligante desprotonado sería entre  $2 \times 10^{-6}$  y  $2 \times 10^{-5} s^{-1}$ , a pH 7, la cual sigue siendo pequeña al compararla con las constantes de velocidad observadas en presencia de cationes metálicos, por lo tanto a pH 7 tenemos como única contribución la reactividad de la especie neutra

de la amidoxima que sería muy cercana a  $4.4 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$  (tomando como referencia el valor reportado para benzamidoxima [64]).

A estas condiciones se pueden realizar comparaciones de reactividad en presencia y ausencia de los cationes metálicos, ya que, aunque el tensoactivo y los dendrímeros contribuyen a aumentar la reactividad observada, se esperaría que el efecto fuera mayor cuando se trabaja con metales por la formación de los complejos.

## Piridinamidoxima y cadmio hacia NPA en presencia de CTAB

El primer caso que se estudió fue el ligante PyAmOx en presencia de Cd(II), ya que en disolución encontramos que sólo forma una especie reactiva, lo que facilita la interpretación de los resultados, por lo tanto, se estudió la reactividad de esta especie en presencia del tensoactivo catiónico CTAB, manteniendo el pH constante y variando la concentración de ligante y metal en proporción 1:1.

Con NPA como sustrato, los datos de absorbancia en función del tiempo se ajustaron a la ecuación (2) (sección 5.7) y se obtuvieron constantes de primer orden  $k_{obs}$  ( $s^{-1}$ ). En la figura 6.1.3 se muestran gráficos en escala logarítmica a distintos valores de pH de las constantes observadas en función de la concentración total de ligante y cadmio ( $[L] = [Cd]$ ) y en la tabla 6.1.2 se muestran los valores de las constantes obtenidas.

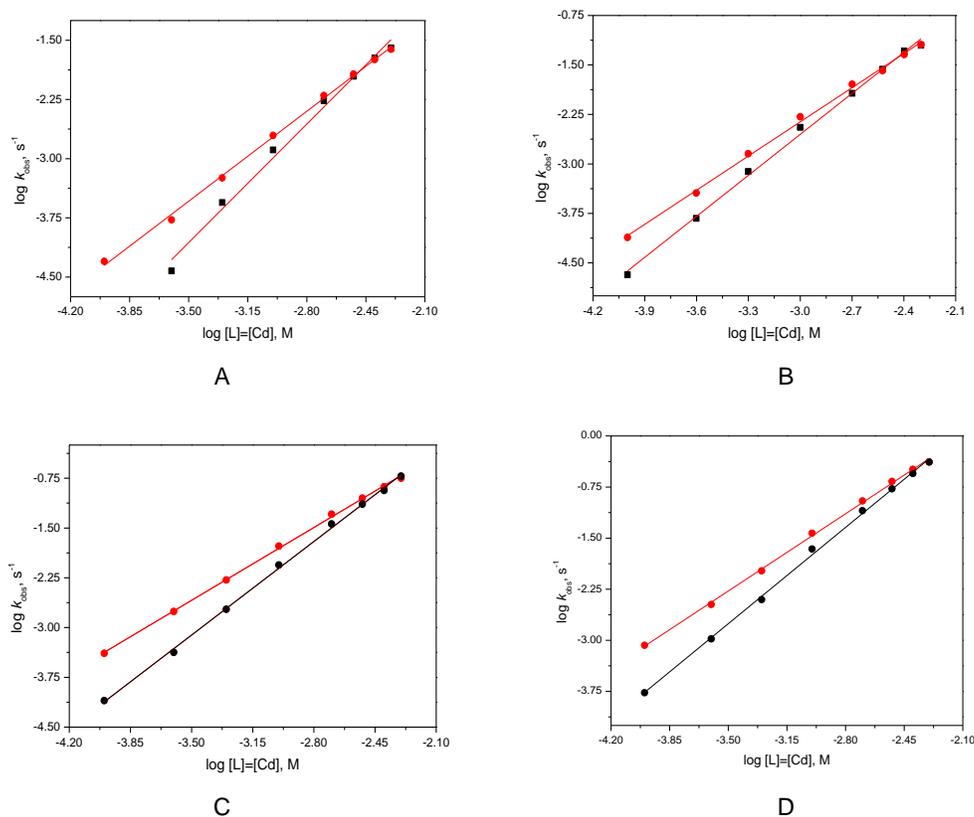


Figura 6.1.3. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua (MOPS, EPPS 50 mM, 2% MeCN) para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración total de  $[L]=[Cd]$  para diferentes valores de pH: A) 7.00 B) 7.53 C) 8.06 D) 8.53, (■) ausencia y (●) presencia de CTAB 5 mM.

Tabla 6.1.2. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración total de  $[L]=[Cd]$  para diferentes valores de pH en ausencia y presencia de CTAB 5 mM.

$[L]=[Cd]$ (mM)	$k_{obs} \times 10^4$ (s <sup>-1</sup> )							
	pH 7.00		pH 7.53		pH 8.06		pH 8.53	
	sin CTAB	con CTAB	sin CTAB	con CTAB	sin CTAB	con CTAB	sin CTAB	con CTAB
0.1	n.d.	0.05	0.02	0.08	0.08	0.41	0.17	0.85
0.25	0.04	0.17	0.15	0.36	0.42	1.75	1.05	3.36
0.5	0.28	0.57	0.77	1.43	1.88	5.21	3.96	10.50
1.0	1.30	1.97	3.59	5.17	8.76	16.90	21.90	37.50
2.0	5.40	6.30	11.70	16.10	36.40	51.10	80.20	111.00
3.0	11.10	11.80	27.30	25.95	72.50	89.10	167.60	215.00
4.0	18.80	18.00	51.50	45.60	116.00	132.0	281.00	324.00
5.0	25.20	24.30	63.00	64.60	191.00	178.00	415.00	415.00

Se puede observar que al utilizar CTAB hay un incremento en la reactividad observada hacia NPA así como un cambio en la pendiente de los gráficos: ésta disminuye y se acerca a un valor de 1 en presencia de CTAB, lo que puede atribuirse a que el complejo es más estable dentro de las micelas. Dado que las constantes de formación del complejo no son muy grandes en agua, y no fue posible determinar las constantes de formación de los complejos metálicos dentro de las micelas, no es posible cuantificar cuánto complejo hay dentro de las micelas y hacer un análisis cuantitativo del cambio de la reactividad del complejo en el medio micelar; adicionalmente, sería deseable estudiar un sistema más desplazado hacia la formación del complejo tanto en agua como en el medio micelar para que las contribuciones de cada uno fueran mayores.

Sin embargo, en términos generales observamos que cuando la concentración de metal:ligante es mucho menor que la concentración de tensoactivo, notamos un incremento en la reactividad de hasta 5 veces (Tabla 6.1.3) con una concentración de tensoactivo 50 mayor que que la concentración total de metal y ligante y este incremento es equivalente en todos los valores de pH estudiados.

Asimismo, en la tabla 6.1.3 se puede notar que conforme incrementa la concentración de metal y ligante, el efecto sobre la reactividad del tensoactivo va disminuyendo hasta ya no tener una diferencia significativa.

Tabla 6.1.3. Efecto catalítico relativo de CTAB 5 mM ( $k_{\text{obsCTAB}}/k_{\text{obs,sin CTAB}}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración total de  $[L]=[Cd]$  para diferentes valores de pH.

[L]=[Cd] (mM)	$k_{\text{obs CTAB}}/k_{\text{obs sin CTAB}}$			
	pH 7.00	pH 7.53	pH 8.06	pH 8.53
0.10		3.67	5.17	4.98
0.25	4.44	2.43	4.14	3.20
0.50	2.05	1.86	2.77	2.65
1.00	1.53	1.44	1.93	1.71
2.00	1.17	1.38	1.40	1.39
3.00	1.07	0.95	1.23	1.29
4.00	0.96	0.88	1.14	1.15
5.00	0.96	1.02	0.93	1.00

Para estudiar con más detalle el efecto del pH se utilizó una concentración fija de ligante y cadmio en presencia y ausencia de tensoactivo, se realizó una variación del pH y se calcularon las constantes observadas de primer orden en función del pH que se muestran en la tabla 6.1.4 y gráficamente en la figura 6.1.4.

De la tabla 6.1.4 podemos observar que el efecto catalítico, a excepción del pH más bajo, es prácticamente el mismo a lo largo del intervalo de pH estudiado, ya que al utilizar CTAB las constantes observadas son alrededor de 3 veces mayores que cuando no se utiliza tensoactivo, con esto podemos decir que el efecto de CTAB no depende del pH lo cual se esperaría ya que al ser una sal de amonio, permanece en forma catiónica en todo el intervalo estudiado, esto mientras se tenga una concentración mayor a la CMC. Además, los datos de las constantes observadas en función del pH permitieron calcular el  $pK_a$  aparente de la especie cinéticamente activa mediante un ajuste a la ecuación (27) (apéndice I) que tiene un valor de 8.88 en presencia de tensoactivo y un valor de 8.90 en disolución acuosa.

Tabla 6.1.4. Constantes observadas de primer orden corregidas por la contribución de la hidrólisis alcalina ( $k_{\text{corr}}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función del pH. Concentración total de  $[L]=[Cd]=0.1$  mM en ausencia y presencia de CTAB 5 mM y efecto catalítico relativo de CTAB 5 mM ( $k_{\text{obsCTAB}}/k_{\text{obs, sin CTAB}}$ ).

pH	$k_{\text{corr}} \times 10^7 \text{ (s}^{-1}\text{)}$		$k_{\text{obsCTAB}}/k_{\text{obs sin CTAB}}$
	Con CTAB	Sin CTAB	
6.70	39	49	0.8
6.85	454	93	4.9
7.02	5630	1010	5.6
7.14	5080	1680	3.0
7.31	7070	1690	4.2
7.45	9090	2370	3.8
7.60	13600	4860	2.8
7.77	16000	6780	2.4
7.92	29500	7730	3.8
8.06	36100	10700	3.4
8.20	47400	12900	3.7
8.35	58600	17300	3.4
8.51	67100	20400	3.3
8.65	86600	28200	3.1
8.79	107000	35000	3.1
8.95	135000	40900	3.3

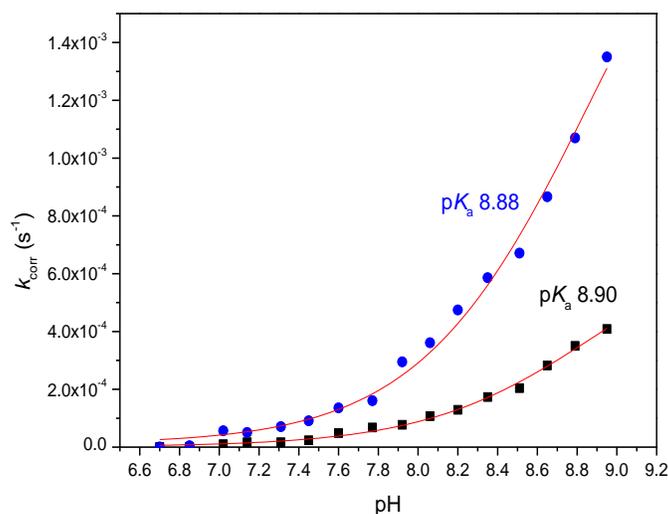


Figura 6.1.4. Constantes observadas de primer orden corregidas por la contribución de la hidrólisis alcalina ( $k_{\text{corr}}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función del pH. Concentración total de  $[L]=[Cd]=0.1$  mM en (■) ausencia y (●) presencia de CTAB 5 mM.

Se puede observar que, al utilizar tensoactivo, el  $pK_a$  del nucleófilo coordinado prácticamente no cambió, por lo que la especie cinéticamente activa debe seguir siendo la misma incluso en presencia del tensoactivo, sin embargo, muestra una reactividad mayor al estar en presencia de las micelas. Este efecto puede ser debido a factores diferentes a la disminución del  $pK_a$  del nucleófilo: al aumento de la concentración efectiva por proximidad del sustrato y del nucleófilo, a una mayor solubilidad del sustrato en el medio micelar, a que se estabiliza el estado de transición, etc.

Se estudió también el efecto de la concentración de tensoactivo sobre la reactividad, y se obtuvieron las constantes observadas en función de la concentración de CTAB que se muestran en la figura 6.1.5. y en la tabla 6.1.5. Se encontró que cuando se utiliza CTAB por debajo de su concentración micelar crítica (CMC=1 mM) [67] hay un efecto pequeño sobre la reactividad, sin embargo, cuando se trabaja por encima de esta concentración, se presenta un incremento significativo en la reactividad, aunque en el intervalo estudiado no se llegó a un valor máximo debido a que el tensoactivo se usó entre 2 y 10 veces en exceso con respecto de la concentración del metal y ligante; tampoco se observó una nivelación de la reactividad.

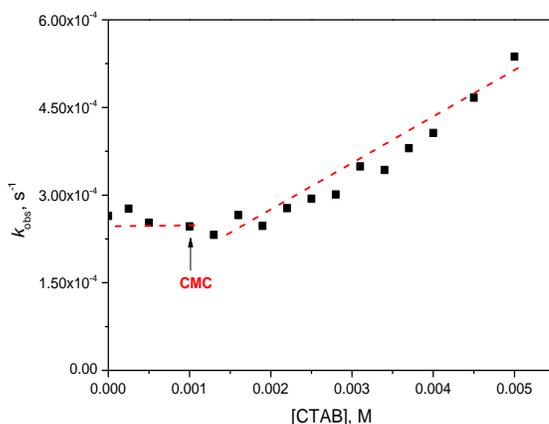


Figura 6.1.5. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05mM en función de la concentración de CTAB. Concentración total de  $[L]=[Cd]=0.5$  mM, pH 7.00, MOPS 50 mM. Se observa un cambio en la pendiente después de la CMC del tensoactivo.

Tabla 6.1.5. Constantes observadas de primer orden ( $k_{\text{obs}}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración de CTAB. Concentración total de  $[L]=[Cd]=0.5$  mM, pH 7.00, MOPS 50 mM.

[CTAB] (mM)	$k_{\text{obs}} \times 10^4$ (s <sup>-1</sup> )
0.0	26.40
0.25	27.70
0.5	25.30
1.0	24.60
1.3	23.20
1.6	26.60
1.9	24.70
2.2	27.80
2.5	29.40
2.8	30.10
3.1	34.90
3.4	34.30
3.7	38.00
4.0	40.60
4.5	46.70
5.0	53.70

Por lo tanto, de los estudios podemos decir que unas buenas condiciones de trabajo para observar el efecto catalítico utilizando tensoactivo, incluyen emplear una concentración de la especie reactiva al menos 50 veces más pequeña que la de tensoactivo, una concentración de tensoactivo por encima de su CMC y un valor de pH en el que el complejo metal oximato sea suficientemente reactivo ( $pK_a$  8.90). Así, encontramos que hay un incremento de la reactividad de hasta 5 veces cuando se utiliza CTAB ya que las micelas permiten por una parte que la solubilidad del sustrato incremente, por lo tanto, que se vea este incremento en la reactividad del nucleófilo; y por otro lado, el tensoactivo permite un mayor acercamiento y concentración efectiva entre el sustrato y el nucleófilo mediante interacciones hidrofóbicas con el sustrato y electrostáticas con el nucleófilo generando un aumento de la reactividad nucleofílica, y es posible que puedan estabilizar el estado de transición.

## Piridinamidoxima y cadmio hacia NPA en presencia de dendrímeros PAMAM

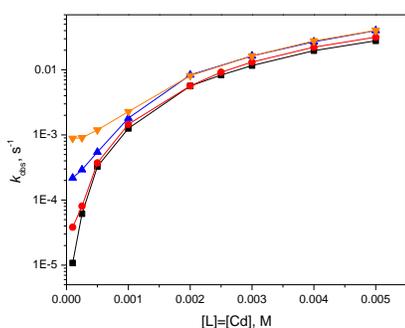
Para poder determinar el efecto de los dendrímeros PAMAM sobre la reactividad del complejo metal-oximato, se realizó, al igual que con el tensoactivo, una variación de la concentración metal:ligante en proporción 1:1 a valores de pH entre 7 y 8 (ya que se busca que las aminas terminales de los dendrímeros estén protonadas), manteniendo la concentración de dendrímero constante, los valores de las constantes observadas de primer orden en presencia y en ausencia de dendrímeros de distintas generaciones en función de la concentración total de ligante y cadmio ( $[L] = [Cd]$ ) se muestran en la tabla 6.1.6 y en escala logarítmica en la figura 6.1.6.

Tabla 6.1.6. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración total de  $[L]=[Cd]$  para diferentes valores de pH en ausencia y presencia de dendrímeros de diferentes generaciones 0.5 mM.

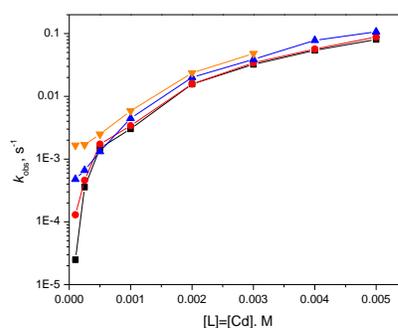
[L]=[Cd] (mM)	$k_{obs} \times 10^4 \text{ (s}^{-1}\text{)}$							
	pH 7.16				pH 7.56			
	sin Dend.	G0	G1	G4	sin Dend.	G0	G1	G4
0.10	0.11	0.38	2.18	8.85	0.25	1.30	4.77	16.6
0.25	0.62	0.81	2.92	9.06	3.58	4.58	6.62	16.9
0.50	3.28	3.72	5.45	11.9	14.9	17.3	13.2	24.9
1.00	12.6	14.6	18.1	22.8	30.3	34.0	44.7	58.5
2.00	56.3	56.6	83.4	81.2	157	157	200	236
2.50	83.2	91.9						
3.00	116	132	163	163	323	343	388	480
4.00	196	223	270	279	540	567	781	
5.00	279	319	401	402	807	885	1070	

Continuación Tabla 6.1.6.

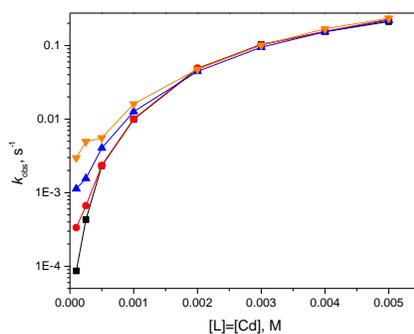
[L]=[Cd] (mM)	$k_{obs} \times 10^4 (s^{-1})$			
	pH 8.12			
	sin Dend.	G0	G1	G4
0.10	0.86	3.35	11.3	29.7
0.25	4.30	6.65	15.6	49.5
0.50	23.2	23.5	40.4	55.5
1.00	99.1	100	126	160
2.00	481	493	445	476
3.00	1040	1020	946	1000
4.00	1540	1550	1540	1680
5.00	2110	2270	2200	2350



A



B



C

Figura 6.1.6. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua (buffer 50 mM, 2% MeCN) para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración total de [L]=[Cd] (■) ausencia y presencia de dendrímero 0.5 mM, (●) G0, (▲) G1, (▼) G4, para diferentes valores de pH: A) 7.16 (MOPS) B) 7.56 (MOPS) C) 8.12 (EPPS).

Además, se calculó el efecto catalítico relativo para los distintos valores de pH y las diferentes generaciones de dendrímero, estos valores se muestran en la tabla 6.1.7.

Tabla 6.1.7. Efecto catalítico relativo de dendrímeros de diferente generación 0.5 mM ( $k_{\text{obs Dendrímero}}/k_{\text{obs, sin Dendrímero}}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración total de  $[L]=[Cd]$  para diferentes valores de pH

[L]=[Cd] (mM)	$k_{\text{obs Dendrímero}}/k_{\text{obs sin Dendrímero}}$								
	pH 7.16			pH 7.56			pH 8.12		
	G0	G1	G4	G0	G1	G4	G0	G1	G4
0.1	3.55	20.24	82.12	5.20	19.15	66.62	3.88	13.08	34.38
0.25	1.31	4.75	14.73	1.28	1.85	4.73	1.55	3.63	11.51
0.5	1.13	1.66	3.63	1.16	0.89	1.67	1.01	1.74	2.39
1.0	1.16	1.44	1.81	1.12	1.48	1.93	1.01	1.28	1.62
2.0	1.01	1.48	1.44	1.00	1.28	1.51	1.02	0.93	0.99
3.0	1.13	1.40	1.40	1.06	1.20	1.49	0.98	0.91	0.97
4.0	1.13	1.37	1.42	1.05	1.45		1.01	1.00	1.09
5.0	1.14	1.44	1.44	1.10	1.32		1.08	1.04	1.11

A partir de los datos obtenidos se pueden notar tres cosas:

- La presencia de dendrímeros de todas las generaciones estudiadas incrementan la reactividad del complejo cadmio-amidoximato, este incremento es mayor conforme se incrementa la generación de dendrímero utilizada. Sin embargo, es necesario determinar la constante de aminólisis hacia NPA por parte de los dendrímeros en las mismas condiciones, ya que debe tener su propia contribución.
- Cuando la concentración de cadmio y ligante es mucho menor respecto a la concentración de dendrímero, se tiene el mayor incremento sobre la reactividad, llegando a ser de alrededor de 2 órdenes de magnitud con el dendrímero G4 a pH 7.16, mientras que cuando la relación de concentraciones de dendrímero y complejo se acerca a 1, la diferencia en reactividad es mínima, probablemente debido a que la fracción de nucleófilo que no está incluida en el dendrímero comienza a ser mayor y por lo tanto la contribución de fuera es más importante que la que está dentro del dendrímero y en consecuencia el efecto de los dendrímeros es poco evidente.

- A diferencia del tensoactivo CTAB, en el caso de los dendrímeros PAMAM-NH<sub>2</sub>, el pH tiene un efecto sobre la reactividad, ya que, al incrementarlo, la diferencia de reactividad es cada vez menor, a pH 8.12 el incremento es de menos de la mitad que a pH 7.16, por lo que el pH óptimo es cercano a la neutralidad. Esto es congruente con que mientras más básico es el pH, hay menos terminales amino protonadas en el dendrímero y esto cambia su estructura en disolución.

Por otro lado, se estudió el efecto de la concentración de dendrímero sobre la reactividad a pH fijo, se obtuvieron las constantes observadas en función de la concentración de dendrímero G1 y G4 y los valores se muestran en la tabla 6.1.8 y 6.1.9 y en la figura 6.1.7.

Tabla 6.1.8. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración de dendrímero G1. Concentración total de [L]=0.1 [Cd]=0.1 mM, pH 7.00, MOPS 50 mM.

[G1] × 10 <sup>5</sup> (M)	$k_{obs} \times 10^5$ (s <sup>-1</sup> )	[G1] × 10 <sup>5</sup> , (M)	$k_{obs} \times 10^5$ (s <sup>-1</sup> )	[G1] × 10 <sup>5</sup> (M)	$k_{obs} \times 10^5$ (s <sup>-1</sup> )
0.0	1.40	8.80	6.00	25.0	12.3
2.5	3.90	10.0	4.10	32.5	10.9
5.0	2.40	12.5	6.10	40.0	12.3
7.0	5.10	15.0	10.4	42.5	14.1
7.5	3.90	20.0	6.70	45.0	20.1
8.0	5.00	20.0	8.50	50.0	14.9

Tabla 6.1.9. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración de dendrímero G4. Concentración total de [L]=0.5 [Cd]=0.1 mM, pH 7.00, MOPS 50 mM.

[G4] × 10 <sup>6</sup> (M)	$k_{obs} \times 10^6$ (s <sup>-1</sup> )	[G4] × 10 <sup>6</sup> (M)	$k_{obs} \times 10^6$ (s <sup>-1</sup> )	[G4] × 10 <sup>6</sup> (M)	$k_{obs} \times 10^6$ (s <sup>-1</sup> )
0.0	39.0	6.5	44.7	46.0	121
1.0	38.0	7.0	54.3	52.0	150
1.5	43.8	7.5	48.1	58.0	160
2.0	36.8	8.0	52.6	64.0	180
2.5	48.0	8.5	53.9	76.0	200
3.0	42.1	10.0	59.5	82.0	190
3.5	43.3	16.0	84.7	88.0	199
4.0	51.0	22.0	83.6	94.0	230
4.5	44.4	28.0	107	100	284
5.0	44.3	34.0	113	106	230
5.5	50.3	40.0	147		

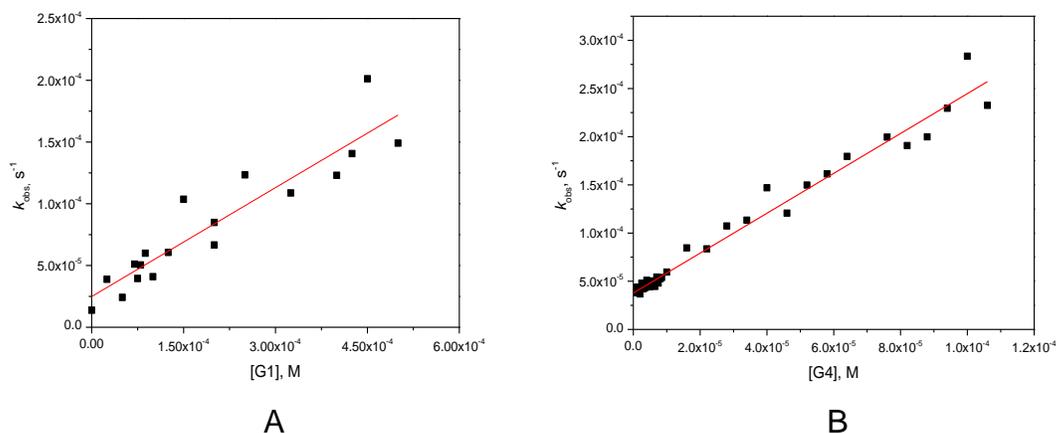


Figura 6.1.7. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración de dendrímero A) G1, concentración total de [L]=[Cd]=0.1 mM, B) G4, concentración total de [L]=0.5 mM, [Cd]=0.1 mM, pH 7.00, MOPS 50 mM.

Lo que podemos observar en el caso de ambas generaciones de dendrímero es que, al incrementar la concentración de estos, manteniendo la concentración de metal y ligante constante, hay un incremento en la reactividad de hasta 5 veces con las concentraciones utilizadas sin observarse una saturación, sin embargo, la

concentración de dendrímero G1 necesaria para lograr un incremento similar al del dendrímero G4 es 6 veces mayor, lo cual refleja que los reactivos se incluyen mejor en dendrímeros más ramificados y/o que el número de aminas presentes protonadas y desprotonadas tiene participación en la reacción de ruptura de NPA, ya que la contribución por aminólisis debe ser diferente dependiendo de la generación del dendrímero.

El estudio de la hidrólisis del éster carboxílico modelo NPA mediante el complejo de PyAmOx con cadmio, permitió establecer las condiciones óptimas tanto de concentración de los reactivos y dendrímero como de pH para realizar los estudios de hidrólisis de otros sustratos con dendrímeros, ya que mientras los complejos tienen mayor reactividad a valores de pH mayores, al usar los dendrímeros es preferible utilizar valores de pH cercanos a 7. A este valor de pH los grupos amina terminales de los dendrímeros se encuentran casi totalmente protonados y permiten una mejor inclusión de las especies reactivas y el sustrato, al incrementar el pH los grupos amino del dendrímero se desprotonan y la estructura se vuelve más compacta [50], por lo que en estos casos los dendrímeros no contribuyen a que haya un incremento en la reactividad. Además, el efecto de los dendrímeros es mucho más importante cuando se utilizan en concentraciones al menos 5 veces menores que la concentración de la especie reactiva; también observamos que la generación del dendrímero tiene un papel muy importante ya que a mayor generación, los dendrímeros son más grandes y favorecen que los reactivos se incluyan, por lo que mayor es el efecto sobre la reactividad.

#### **Piridinamidoxima y cadmio hacia paraoxón y paratión en presencia de CTAB.**

Una vez establecidas las condiciones óptimas de concentración de tensoactivo, se estudió la hidrólisis de los sustratos de interés ambiental como paraoxón y paratión. Estos sustratos son triésteres fosfato cuya hidrólisis alcalina es mucho más lenta que la de NPA: mientras que a pH 7.0 el tiempo de vida media para el NPA es de 132 h ( $1.45 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ ) el tiempo de vida media de paraoxón es de 27.5 años y el de paratión de 880 años [7].

Como primer punto se investigó si el catión metálico en presencia del tensoactivo CTAB tenía un efecto en la reactividad. Para ello se obtuvieron curvas cinéticas midiendo el cambio en la absorbancia a 400 nm en función del tiempo para los dos sustratos, y se obtuvieron las constantes de rapidez observadas  $k_{obs}$  ( $s^{-1}$ ), encontrándose que en el intervalo de concentraciones utilizadas de cadmio, entre 2 y 16 mM, no hay un incremento de la reactividad ni en disolución acuosa ni en presencia de micelas de CTAB, cuando no se utiliza el ligante PyAmOx, por lo que debe existir el complejo  $[CdPyAmOx]^+$  para que se lleve a cabo la hidrólisis y que el tensoactivo pueda modificar esta reactividad, un ejemplo de esto se muestra en la figura 6.1.8 dónde se puede observar que la contribución del tensoactivo con cadmio es prácticamente despreciable comparada con el caso cuando se utiliza PyAmOx.

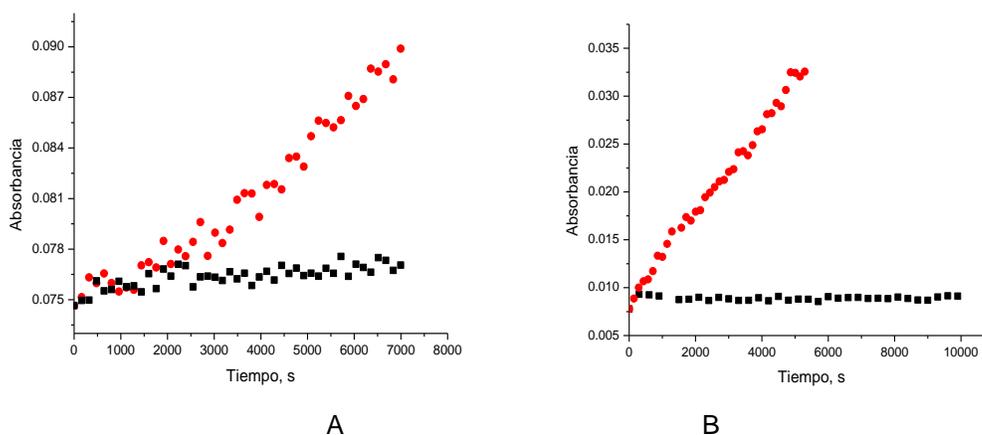


Figura 6.1.8. Gráficos de absorbancia a 400 nm en función del tiempo a pH 7.15 (MOPS 50 mM) y concentración de CTAB constante (5 mM) para la hidrólisis de A) Paraoxón y B) Paratión. (■)  $[Cd]=10$  Mm, (●)  $[Cd]=[PyAmOx]=10$  mM.

Una vez establecido que el metal con el tensoactivo prácticamente no contribuyen a la hidrólisis de paraoxón y paratión, se realizó una variación de la concentración metal:ligante en proporción 1:1 a diferentes valores de pH, manteniendo la concentración de tensoactivo constante y mayor a su CMC para la hidrólisis de paraoxón y paratión; a partir de los datos cinéticos se calcularon las constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) por el método de las velocidades iniciales en presencia y en ausencia de CTAB, las constantes obtenidas en función de la concentración total de ligante y cadmio ( $[L]=[Cd]$ ) se muestran en la figura 6.1.9 y en la tabla 6.1.10. se muestran los valores de las constantes obtenidas, así como el efecto catalítico ( $k_{obsCTAB}/k_{obs sin CTAB}$ ).

Tabla 6.1.10. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de paraoxón 0.05 mM en función de la concentración total de  $[L]=[Cd]$  en presencia y ausencia de CTAB 5 mM MOPS y EPPS 50 mM.

$[L]=[Cd]$ (mM)	pH 7.00			pH 7.53			pH 8.05		
	$k_{obs} \times 10^6$ (s <sup>-1</sup> )		$k_{obsCTAB} / k_{obs \text{ sin CTAB}}$	$k_{obs} \times 10^6$ (s <sup>-1</sup> )		$k_{obsCTAB} / k_{obs \text{ sin CTAB}}$	$k_{obs} \times 10^6$ (s <sup>-1</sup> )		$k_{obsCTAB} / k_{obs \text{ sin CTAB}}$
	sin CTAB	con CTAB		sin CTAB	con CTAB		sin CTAB	con CTAB	
2		2.41		1.89	8.99	4.8	7.77	42.0	5.41
4	0.93	6.62	7.2	6.53	16.0	2.4	22.7	76.6	3.38
6	2.57	9.56	3.7	11.1	21.0	1.9	37.0	122	3.29
8	4.66	12.3	2.6	15.2	25.4	1.7	75.2	134	1.78
10	4.28	11.2	2.6	20.0	31.3	1.6	108	177	1.63
12	7.47	13.8	1.9	27.6	35.9	1.3	129		
14	8.23	16.5	2.0	31.2	38.7	1.2	157		
16	9.18	14.7	1.6	36.6	43.3	1.2	170		

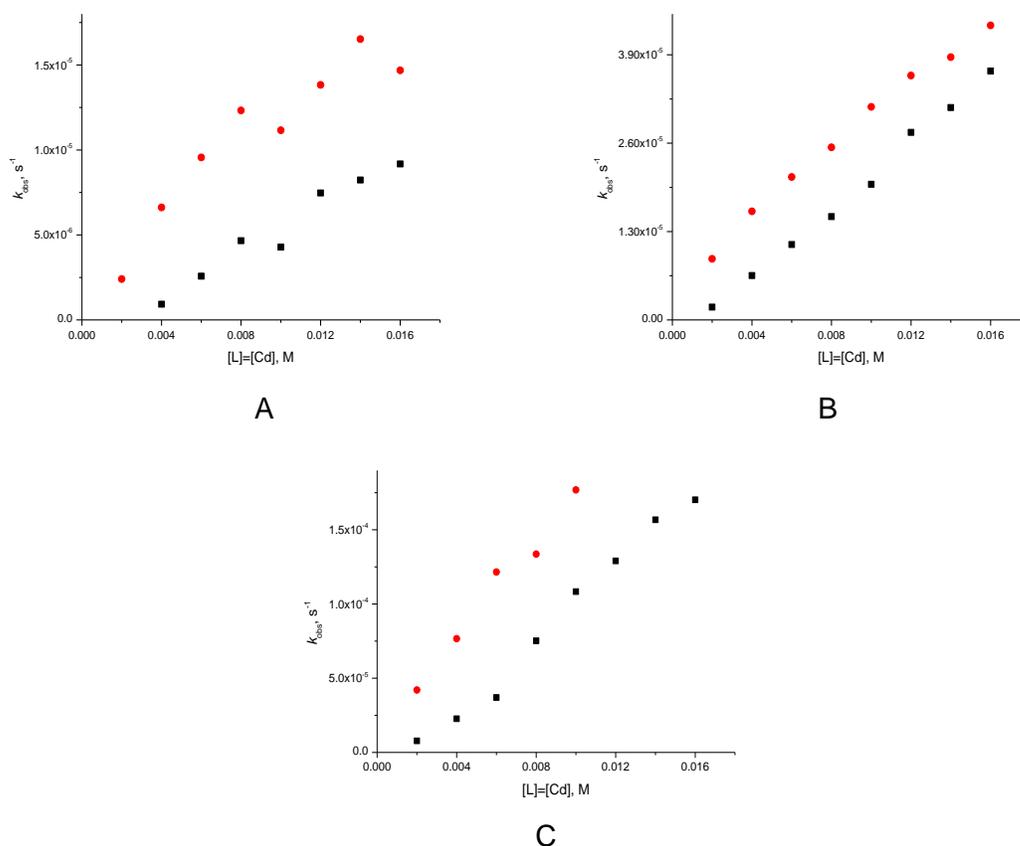


Figura 6.1.9. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua (buffer 50 mM, 2% MeCN) para la hidrólisis de paraoxón 0.05 mM en función de la concentración total de  $[L]=[Cd]$  para diferentes valores de pH: A) 7.00 (MOPS), B) 7.53 (MOPS), C) 8.05 (EPPS), (■) ausencia y (●) presencia de CTAB 5 mM.

Lo que podemos observar de estos resultados es que el tensoactivo si incrementa la velocidad de reacción, este incremento llega a ser de alrededor de 5 veces cuando se tiene mayor exceso de tensoactivo y va disminuyendo conforme se incrementa la concentración total de metal y ligante, sin embargo también podemos observar que, a diferencia del efecto observado sobre la hidrólisis de NPA, en la hidrólisis de paraoxón aún empleando concentraciones de metal y ligante iguales o mayores a las de tensoactivo: este incremento en la rapidez todavía es significativo incluso cuando se tiene  $[L]=[Cd]$  2 veces mayor que la de CTAB si se compara con la rapidez en ausencia de CTAB. Esto quiere decir que la contribución a la reactividad observada por parte del complejo que está en el medio micelar es relevante, aunque en la disolución haya una concentración igual o mayor, además de que el tensoactivo solubiliza mejor este sustrato. Este hecho es interesante pues mientras que con NPA, que es un sustrato más activado, el efecto del tensoactivo es prácticamente despreciable a concentraciones de complejo cercanas a las de tensoactivo, con paraoxón, que también es un sustrato neutro pero menos soluble y menos activado, el efecto es mayor.

Se realizaron determinaciones equivalentes empleando con paratión como sustrato, variando la concentración metal:ligante en proporción 1:1 a diferentes valores de pH, manteniendo la concentración de tensoactivo constante; las constantes observadas de primer orden en presencia y en ausencia de CTAB se calcularon mediante las velocidades iniciales y se muestran graficadas en función de la concentración total de ligante y cadmio ( $[L] = [Cd]$ ) en la figura 6.1.10, en la tabla 6.1.11 se muestran los valores de las constantes obtenidas así como el efecto catalítico ( $k_{obsCTAB}/k_{obs sin CTAB}$ ).

Tabla 6.1.11. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de paratión 0.05 mM en función de la concentración total de  $[L]=[Cd]$  en presencia y ausencia de CTAB 5 mM, MOPS 50 mM.

$[L]=[Cd]$ (mM)	pH 7.00			pH 7.53		
	$k_{obs} \times 10^6$ ( $s^{-1}$ )		$k_{obsCTAB} / k_{obs \text{ sin CTAB}}$	$k_{obs} \times 10^6$ ( $s^{-1}$ )		$k_{obsCTAB} / k_{obs \text{ sin CTAB}}$
	sin CTAB	con CTAB		sin CTAB	con CTAB	
2	0.2	3.2	22	2.5	7.6	3.0
4	1.7	6.2	3.7	5.1	10.1	2.0
6	4.3	10.0	2.3	7.3	14.5	2.0
8	6.0	8.7	1.5	11.1	17.0	1.5
10	7.1	7.7	1.1	16.9	14.8	0.9
12	11.3	8.1	0.7	23.1	13.2	0.6
14	11.6	8.0	0.7			
16	15.6	8.3	0.5			

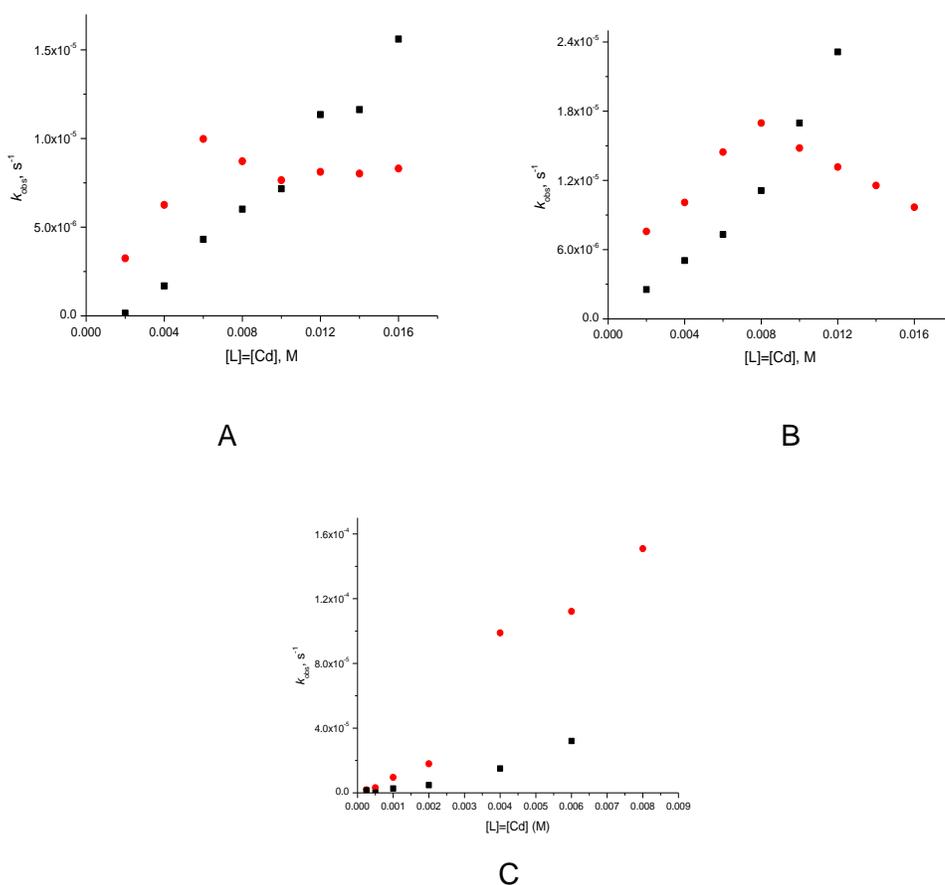


Figura 6.1.10. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua (MOPS 50 mM, 2% MeCN) para la hidrólisis de paratión 0.05 mM en función de la concentración total de  $[L]=[Cd]$  para diferentes valores de pH: A) 7.00 B) 7.53 C) 8.05. (■) ausencia y (●) presencia de CTAB 5 mM.

A valores de pH 7.0 y 7.5 la fracción desprotonada del complejo es menor al 5% ( $pK_a$  8.90 en agua), sin embargo, la reactividad observada aumenta en presencia de tensoactivo si las concentraciones de metal y ligante son menores a la de tensoactivo, de manera similar a lo observado con los otros sustratos. Posteriormente, al incrementar estas concentraciones, la proporción de tensoactivo disminuye y la contribución a la hidrólisis de las especies activas en el medio micelar es menor, y sumada a la contribución de las especies en la disolución da un efecto total en el que la rapidez se mantiene constante o incluso disminuye. Este comportamiento es diferente a pH 8.0 en donde a baja concentración de metal y ligante se comporta de manera similar a lo observado con otros sustratos, pero al incrementar la concentración del complejo en presencia de CTAB se observa un aumento más pronunciado en la rapidez de hidrólisis.

Así, la dependencia de la rapidez de reacción en función del pH en presencia de un tensoactivo catiónico en todo el intervalo de pH refleja que, cuando el sustrato es paratión, resaltan como factores involucrados: el reparto del sustrato en ambas fases (el paratión es el sustrato empleado menos soluble en agua) y la interacción del complejo activo con el sustrato en ambos medios, los cuales deben estar favorecidos en el medio micelar con paratión y contribuyen a incrementar la reactividad observada. Vale la pena mencionar que en disolución acuosa, observamos que la interacción entre el complejo de PyAmOx con Cd(II) y paratión es más fuerte que con los otros sustratos, incrementando la rapidez de hidrólisis 1.5 veces más que en el caso de paraoxón ( $k_{CdL \text{ paraoxón}} = 0.071 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ,  $k_{CdL \text{ paratión}} = 0.10 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ). [14]

## Piridinamidoxima y cadmio hacia paraoxón y paratión en presencia de dendrímeros PAMAM.

La reactividad del complejo de cadmio hacia paraoxón y paratión se estudió con los dendrímeros de generación mayor y a un pH de 7.00, ya que en estas condiciones fue donde se observó que los dendrímeros tienen el mayor efecto sobre la reactividad pues la mayor parte de los grupos amina de la superficie están protonados y además disminuye una posible contribución vía aminólisis a la ruptura de estos sustratos por parte de los dendrímeros.

Al igual que con el tensoactivo, se comprobó que el cadmio en presencia de dendrímeros no presenta reactividad hacia estos sustratos si no se encuentra el ligante presente, en la figura 6.1.11 se muestra como ejemplo la parte inicial de la curva cinética de hidrólisis cuando está presente y ausente el ligante, utilizando paraoxón y paratión como sustratos y el dendrímero G4.

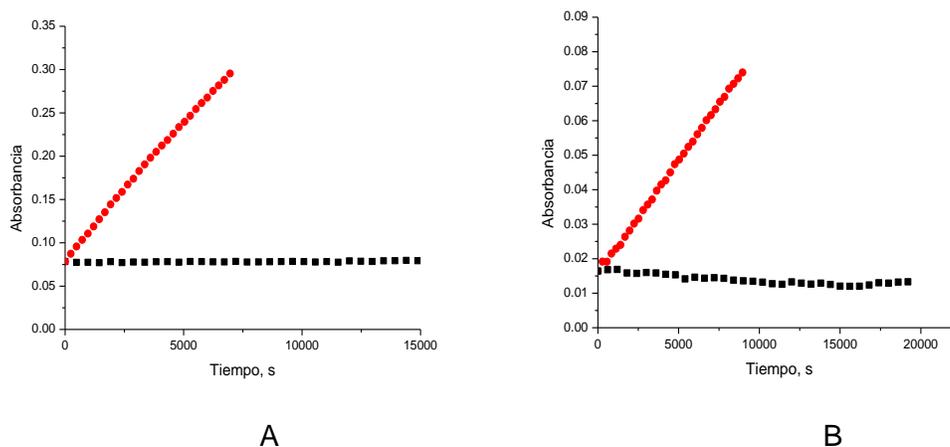


Figura 6.1.11. Gráficos de absorbancia a 400 nm en función del tiempo a pH 7.00 (MOPS 50 mM) y concentración de dendrímero G4 constante (0.5 mM) para la hidrólisis de A) Paraoxón y B) Paratión. (■) [Cd]=10 Mm, (●) [Cd]=[PyAmOx]=10 mM.

Al establecer que el cadmio y los dendrímeros no presentan reactividad hacia los sustratos incluso con el dendrímero G4, se realizó una variación de la concentración metal:ligante en proporción 1:1 manteniendo el pH fijo en 7.00 y utilizando una concentración de dendrímero constante, se calcularon las constantes observadas de primer orden utilizando las velocidades iniciales en presencia y en ausencia de dendrímeros G1 y G4 para la hidrólisis de paraoxón y paratión, estas constantes en

función de la concentración total de ligante y cadmio ( $[L] = [Cd]$ ) se muestran en las figuras 6.1.12 y 6.1.13 y en las tabla 6.1.12. y 6.1.13 se muestran los valores de las constantes obtenidas, así como el efecto catalítico ( $k_{obs \text{ Dendrímtero}} / k_{obs \text{ sin Dendrímtero}}$ ).

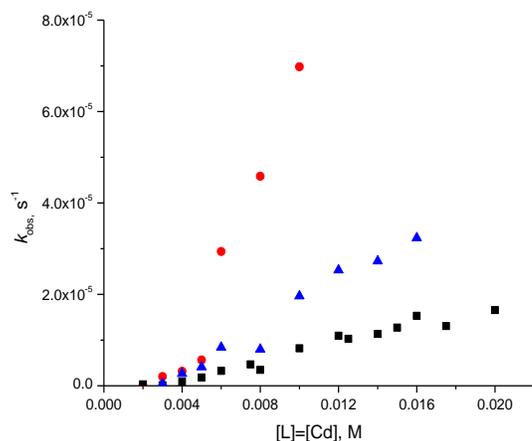


Figura 6.1.12. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua pH 7.00 (MOPS 50 mM, 2% MeCN) para la hidrólisis de paraoxón 0.05 mM en función de la concentración total de  $[L]=[Cd]$  para diferentes generaciones de dendrímtero ( $\blacktriangle$ )  $[G1]=1$  mM ( $\bullet$ )  $[G4]=0.5$  mM ( $\blacksquare$ ) ausencia de dendrímtero.

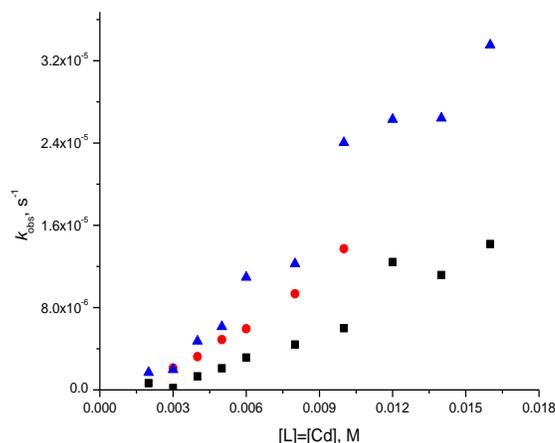


Figura 6.1.13. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua pH 7.00 (MOPS 50 mM, 2% MeCN) para la hidrólisis de paratión 0.05 mM en función de la concentración total de  $[L]=[Cd]$  para diferentes generaciones de dendrímtero ( $\blacktriangle$ )  $[G1]=1$  mM ( $\bullet$ )  $[G4]=0.5$  mM ( $\blacksquare$ ) ausencia de dendrímtero.

Tabla 6.1.12. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de paraoxón 0.05 mM en función de la concentración total de [L]=[Cd] en presencia y ausencia de dendrímero [G1]=1 mM o [G4]=0.5 mM, pH 7.00 (MOPS 50 mM).

[L]=[Cd] (mM)	Sin dendrímero	G1		G4	
	$k_{obs} \times 10^6$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{obs} \times 10^6$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{obsG1} / k_{obs \text{ sinG1}}$	$k_{obs} \times 10^6$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{obsG4} / k_{obs \text{ sinG4}}$
2	0.31			0.11	0.3
3	0.13	0.4	3.5	2.0	15.6
4	0.92	2.2	2.4	3.2	3.5
5	1.81	4.1	2.3	5.6	3.1
6	3.26	8.4	2.6	29.4	9.0
8	3.47	8.0	2.3	45.8	13.2
10	8.19	19.6	2.4	69.8	8.5
12	11.0	25.3	2.3		
14	11.4	27.3	2.4		
16	15.3	32.4	2.1		

Tabla 6.1.13 Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de paratión 0.05 mM en función de la concentración total de [L]=[Cd] en presencia y ausencia de dendrímero [G1]=1 mM o [G4]=0.5 mM, pH 7.00 (MOPS 50 mM).

[L]=[Cd] (mM)	Sin dendrímero	G1		G4	
	$k_{obs} \times 10^6$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{obs} \times 10^6$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{obsG1} / k_{obs \text{ sinG1}}$	$k_{obs} \times 10^6$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{obsG4} / k_{obs \text{ sinG4}}$
2	0.66	1.7	2.6		
3	1.8	2.0	1.1	2.1	1.2
4	1.3	4.7	3.6	3.2	2.5
5	2.1	6.1	2.9	4.9	2.3
6	3.2	10.9	3.5	5.9	1.9
8	4.4	12.3	2.8	9.3	2.1
10	6.0	24.0	4.0	13.7	2.3
12	12.4	26.3	2.1		
14	11.2	26.4	2.4		
16	14.2	33.5	2.4		

Lo primero que podemos notar es que, para ambos sustratos, los dendrímeros incrementan la velocidad de reacción al menos 2 veces, siendo este incremento más relevante cuando se usa el dendrímero G4, incluso cuando la concentración utilizada es la mitad que la del dendrímero G1 y el efecto catalítico llega a ser igual o incluso mayor que en el caso de paraoxón: observamos un efecto catalítico de hasta 15 veces respecto a la reacción del complejo en ausencia de dendrímero. Es importante señalar que, a diferencia de NPA, al utilizar estos sustratos podemos utilizar concentraciones grandes de metal y ligante y aún observar un efecto catalítico al utilizar los dendrímeros, lo cual implica que la contribución de los nucleófilos en el dendrímero es importante, aunque la concentración del complejo fuera del dendrímero también aumente.

### Piridinamidoxima y zinc hacia NPA en presencia de CTAB

Se realizaron estudios cinéticos con el ligante PyAmOx en presencia de Zn(II) manteniendo el pH constante y en presencia de CTAB en concentración constante, variando la concentración de ligante y metal en proporción 1:1. Para NPA los datos de absorbancia en función del tiempo se ajustaron a la ecuación 2 (Sección 5.7) y se obtuvieron constantes de primer orden ( $k_{obs}$ ). En la figura 6.1.14 se muestran gráficos de las constantes observadas en función de la concentración total de ligante y zinc ( $[L] = [Zn]$ ) en presencia y en ausencia de CTAB 5 mM. En la tabla 6.1.14 se muestran los valores de estas constantes, así como el efecto catalítico ( $k_{obsCTAB}/k_{obs}$  sin CTAB).

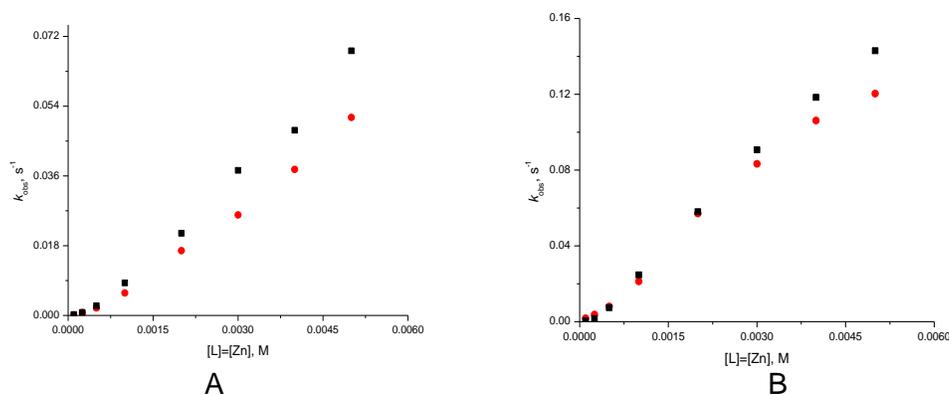


Figura 6.1.14. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua (MOPS 50 mM, 2% MeCN) para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración total de  $[L]=[Zn]$  para diferentes valores de pH: A) 7.00 B) 7.53 (■) ausencia y (●) presencia de CTAB 5 mM.

Tabla 6.1.14. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración total de  $[L]=[Cd]$  en presencia y ausencia de CTAB 5 mM, MOPS 50 mM.

$[L]=[Zn]$ (mM)	pH 7.01			pH 7.53		
	$k_{obs} \times 10^3$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{obs} \times 10^3$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{obsCTAB} /$ $k_{obs \text{ sin CTAB}}$	$k_{obs} \times 10^3$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{obs} \times 10^3$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{obsCTAB} /$ $k_{obs \text{ sin CTAB}}$
	sin CTAB	Con CTAB		sin CTAB	Con CTAB	
0.10	0.23	0.15	0.67	0.48	1.78	3.71
0.25	0.78	0.72	0.93	1.54	3.74	2.43
0.50	2.49	1.92	0.77	7.40	7.98	1.08
1.00	8.41	5.80	0.69	24.70	21.23	0.86
2.00	21.20	16.73	0.79	58.03	57.06	0.98
3.00	37.44	25.95	0.69	90.69	83.28	0.92
4.00	47.78	37.69	0.79	118.4	106.2	0.90
5.00	68.29	51.10	0.75	143.0	120.4	0.84

Lo que se puede observar, es que cuando se utiliza CTAB, la rapidez observada disminuye a pH 7 y 7.5, implicando que la suma de las contribuciones de todos los nucleófilos presentes en la fase acuosa y en fase micelar es menor que cuando únicamente se tiene la fase acuosa.

El hecho de que haya cambios en función de la concentración del ligante PyAmOx y del Zn(II) implica que hay una fracción importante del ligante y/o el complejo en la fase micelar, aunque sea pequeña, ya que su concentración llega a ser igual que la concentración de CTAB. Esto puede reflejar varias posibilidades: que el ligante neutro sea más soluble en la fase micelar y/o que la constante de formación del complejo sea mayor en la fase micelar y en consecuencia haya menor cantidad del complejo en disolución acuosa, que el complejo sea más soluble en la fase micelar pero menos activo, etc. Sin embargo, es claro que el comportamiento es diferente que en el caso del complejo del mismo ligante pero con cadmio y hay que tener presente que en el caso de zinc se observan dos complejos cinéticamente activos.

Debido a que en algunos casos esta diferencia es pequeña, se estudió también el cambio de la reactividad en función de la concentración de CTAB para dos diferentes concentraciones de ligante y metal (Figura 6.1.15) los valores de estas constantes se muestran en la tabla 6.1.15.

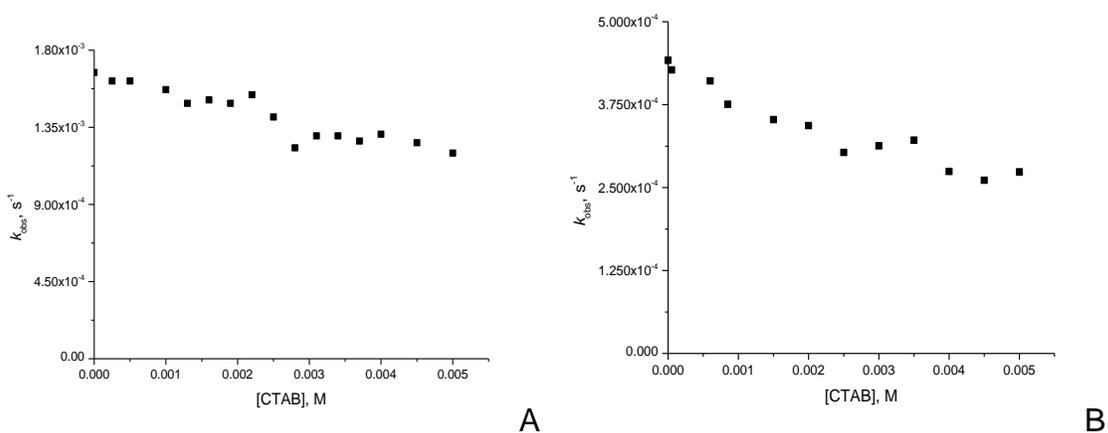


Figura 6.1.15. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración de CTAB, pH 7.00, MOPS 50 mM. A) Concentración total de  $[L]=[Zn]=0.5$  mM, B) Concentración total de  $[L]=0.5$  mM,  $[Zn]=0.1$  mM.

Tabla 6.1.15. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración de CTAB, pH 7.00, MOPS 50 mM.

[CTAB] (mM)	$k_{obs} \times 10^3$ ( $s^{-1}$ )	
	$[L]=[Zn]=0.5$ mM	$[L]=0.5$ mM $[Zn]=0.1$ mM
0.0	1.67	0.44
0.3	1.62	0.43
0.5	1.62	0.39
1.0	1.57	0.47
1.3	1.49	0.44
1.6	1.51	0.41
1.9	1.49	0.38
2.2	1.54	0.44
2.5	1.41	0.35
2.8	1.23	0.34
3.1	1.30	0.30
3.4	1.30	0.31
3.7	1.27	0.32
4.0	1.31	0.27
4.5	1.26	0.26
5.0	1.20	0.27

Lo que podemos observar es que un incremento en la concentración de tensoactivo disminuye suavemente la reactividad observada, por lo que en este caso CTAB está

teniendo un papel de inhibidor para la hidrólisis de NPA, y debido a que la solubilidad de NPA y otros factores son iguales que cuando se emplea cadmio, con el que se tiene un resultado diferente, debe haber diferencia en las especies reactivas que se forman entre PyAmOx y zinc.

A diferencia del complejo  $[\text{CdPyAmOx}]^+$ , que es el único complejo activo que se forma con cadmio, el zinc puede formar más especies en disolución con el ligante. Entre las especies complejas que tienen reactividad en disolución acuosa se encuentran  $[\text{ZnL}]^+$ ,  $[\text{ZnL}_2]$  y  $[\text{Zn}_2\text{L}_2\text{OH}]^-$ , y se puede notar que estas tienen distintas cargas, por lo que la interacción del tensoactivo catiónico CTAB es diferente con cada una. En agua, las especies  $[\text{ZnL}_2]$  y  $[\text{Zn}_2\text{L}_2\text{OH}]^-$  son las menos reactivas y la contribución principal a la hidrólisis de NPA es debida al complejo  $[\text{ZnL}]^+$ , pero al incluirse las especies con 2 ligantes en la micela catiónica, que además son neutra y aniónica, la distribución de las especies podría modificarse de tal forma que aumente la concentración de las especies menos reactivas en la fase micelar.

### **Piridinamidoxima y zinc hacia NPA en presencia de dendrímeros PAMAM**

Se realizaron estudios cinéticos con el ligante PyAmOx en presencia de Zn(II) y en presencia de dendrímeros de diferente generación en concentración constante, variando la concentración de ligante y metal en proporción 1:1. Se mantuvo el pH constante cercano a 7.0, ya que es donde los dendrímeros permiten una mejor interacción del sustrato y el nucleófilo. Para NPA los datos de absorbancia en función del tiempo se ajustaron a la ecuación 2 (sección 5.7) y se obtuvieron constantes de primer orden ( $k_{\text{obs}}$ ). En la figura 6.1.16 se muestran gráficos de las constantes observadas en función de la concentración total de ligante y zinc ( $[\text{L}]=[\text{Zn}]$ ) en presencia de diferentes generaciones de dendrímero. En las tablas 6.1.16 y 6.1.17 se muestran los valores de estas constantes, así como el efecto catalítico ( $k_{\text{obs con Dendrímero}}/k_{\text{obs sin Dendrímero}}$ ).

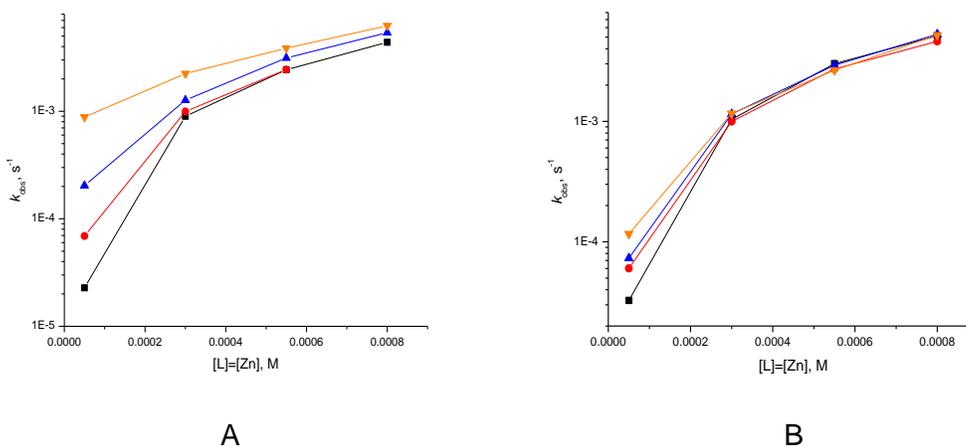


Figura 6.1.16. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua (MOPS 50 mM, 2% MeCN) para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración total de [L]=[Zn] pH 7.16, (■) ausencia y presencia de dendrímero (●) G0, (▲) G1, (▼)G4, para diferentes valores de pH: A) [Dendrímtero]=0.5 mM B) [Dendrímtero]=0.1 mM

Tabla 6.1.16. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración total de [L]=[Zn], pH=7.16, en ausencia y presencia de dendrímeros de diferentes generaciones [Dendrímtero]=0.5 mM.

[L]=[Zn] (mM)	sin dendrímero	G0		G1		G4	
	$k_{obs} \times 10^3$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{obs} \times 10^3$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{obsG0} / k_{obs \text{ sinG0}}$	$k_{obs} \times 10^3$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{obsG1} / k_{obs \text{ sinG1}}$	$k_{obs} \times 10^3$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{obsG4} / k_{obs \text{ sinG4}}$
0.05	0.02	0.07	3.0	0.20	8.9	0.88	38.7
0.30	0.90	1.00	1.1	1.27	1.4	2.24	2.5
0.55	2.43	2.44	1.0	3.13	1.3	3.86	1.6
0.80	4.38			5.38	1.2	6.24	1.4

Tabla 6.1.17. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración total de [L]=[Zn], pH=7.16, en ausencia y presencia de dendrímeros de diferentes generaciones [Dendrímtero]= 0.1 mM.

[L]=[Zn] (mM)	sin dendrímero	G0		G1		G4	
	$k_{obs} \times 10^3$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{obs} \times 10^3$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{obsG0} / k_{obs \text{ sinG0}}$	$k_{obs} \times 10^3$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{obsG1} / k_{obs \text{ sinG1}}$	$k_{obs} \times 10^3$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{obsG4} / k_{obs \text{ sinG4}}$
0.05	0.03	0.06	1.85	0.07	2.24	0.12	3.57
0.30	1.04	1.00	0.96	1.15	1.11	1.16	1.12
0.55	3.01	2.72	0.90	2.92	0.97	2.66	0.88
0.80	5.12	4.61	0.90	5.28	1.03	5.19	1.01

En el caso de los dendrímeros vemos un claro incremento de las constantes observadas cuando se utilizan dendrímeros de las diferentes generaciones. Al igual que con cadmio, a mayor generación de dendrímero el incremento en la reactividad es mayor, además puede notarse que al tener una mayor dilución de las especies reactivas, existe un mayor incremento de la reactividad. Esto puede ser debido a que, conforme el dendrímero se satura del complejo, la contribución de las especies que están en el medio acuoso comienza a ser más importante, por lo que ya no se observan diferencias significativas en la reactividad a concentraciones altas, por lo tanto, se requiere una concentración menor de complejo que de dendrímero para que haya una mayor inclusión y, en consecuencia, tener un efecto catalítico mucho mayor.

Para poder comparar el efecto de los dendrímeros con el del tensoactivo en la hidrólisis de NPA, se hizo una variación de la concentración de los dendrímeros que presentaron mayor efecto catalítico hacia NPA manteniendo la concentración total de ligante y metal constante. Se obtuvieron las constantes de primer orden ( $k_{obs}$ ) en función de la concentración de dendrímero, que se muestran en la figura 6.1.17 y en la tabla 6.1.18.

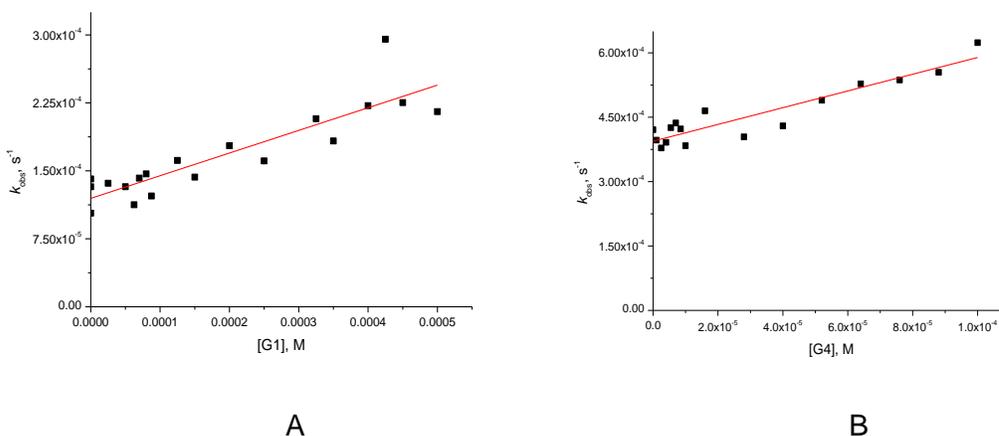


Figura. 6.1.17. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración de dendrímero A) G1 (concentración total de  $[L]=[Cd]=0.1$ ) y B) G4 (concentración total de  $[L]=0.5$  mM  $[Cd]=0.1$ mM), pH 7.00, MOPS 50 mM.

Tabla 6.1.18. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración de dendrímero G1 (concentración total de [L]=[Cd]=0.1) y G4 (concentración total de [L]=0.5 mM [Cd]=0.1mM), pH 7.00, MOPS 50 mM.

[G1] (mM)	$k_{obs} \times 10^4$ (s <sup>-1</sup> )	[G4] (mM)	$k_{obs} \times 10^4$ (s <sup>-1</sup> )	[G1] (mM)	$k_{obs} \times 10^4$ (s <sup>-1</sup> )	[G4] (mM)	$k_{obs} \times 10^4$ (s <sup>-1</sup> )
0.000	1.26	0.0000	4.21	0.200	1.78	0.0280	4.04
0.025	1.36	0.0010	3.97	0.250	1.61	0.0400	4.30
0.050	1.33	0.0025	3.78	0.325	2.08	0.0520	4.90
0.063	1.13	0.0040	3.91	0.350	1.83	0.0640	5.28
0.070	1.42	0.0055	4.26	0.400	2.22	0.0760	5.37
0.080	1.47	0.0070	4.37	0.425	2.95	0.0880	5.55
0.088	1.22	0.0085	4.23	0.450	2.25	0.1000	6.24
0.125	1.62	0.0100	3.84	0.500	2.15		
0.150	1.43	0.0160	4.65				

A diferencia de CTAB, donde la reactividad disminuyó cuando se tienen presentes complejos de PyAmOx con zinc, podemos notar que con los dendrímeros sucede lo contrario. Al incrementar la concentración tanto de dendrímero G1 como de G4, observamos un incremento de las constantes observadas por lo que podemos pensar que en este caso los dendrímeros incluyen en sus ramas mejor a las especies con zinc para que tengan una mejor interacción con el sustrato y por lo tanto incrementar la velocidad de la reacción.

#### **Piridinamidoxima y zinc hacia paraoxón y paratión en presencia de CTAB.**

Al igual que con cadmio, se comprobó que la contribución del zinc en presencia de CTAB no tenía un efecto significativo sobre la reactividad por lo que esta contribución se consideró despreciable.

Se midió la reactividad del ligante PyAmOx en presencia de zinc hacia paraoxón y paratión en presencia de CTAB, se obtuvieron las constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) mediante las velocidades iniciales en función de la concentración total de ligante y zinc ([L]=[Zn]) manteniendo el pH constante.

En la figura 6.1.18 se muestran gráficos de las constantes observadas de primer orden en función de la concentración de total de ligante y zinc en presencia y ausencia de CTAB para la hidrólisis de paraoxón.

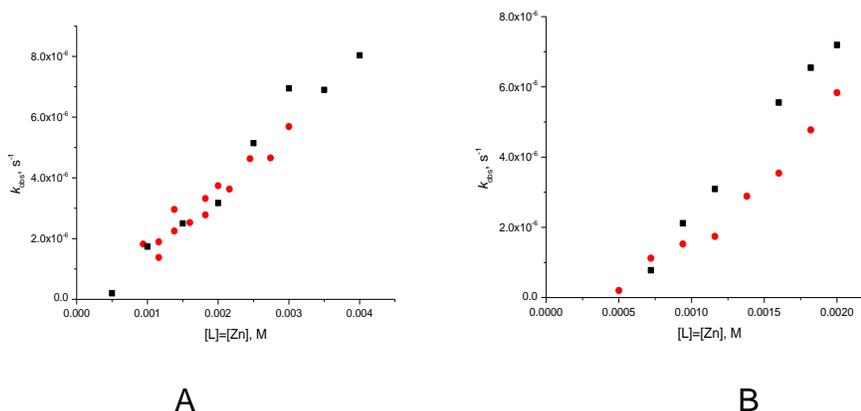


Figura 6.1.18. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua (MOPS 50 mM, 2% MeCN) para la hidrólisis de paraoxón 0.05 mM en función de la concentración total de  $[L]=[Zn]$  (■) ausencia y (●) presencia de CTAB 5 mM, para diferentes valores de pH: A) 7.16 mM B) 7.50

Lo que podemos notar es que el tensoactivo no tiene un efecto positivo sobre la reactividad observada, ya que a pH 7.16 las constantes observadas son prácticamente las mismas o ligeramente menores cuando se utiliza o no el tensoactivo, y en pH 7.50, se puede apreciar claramente que CTAB disminuye la reactividad como en el caso de NPA, lo que nuevamente nos lleva a pensar que esta disminución en la reactividad está relacionada con la interacción y distribución de los complejos de zinc en CTAB, ya que hay más especies reactivas que en el caso de cadmio.

Además, sucede lo mismo cuando se usa paratión como sustrato como podemos ver en la figura 6.1.19 donde se muestra un gráfico de las constantes observadas de primer orden en función de la concentración de total de ligante y zinc en presencia y ausencia de CTAB para la hidrólisis de paratión.

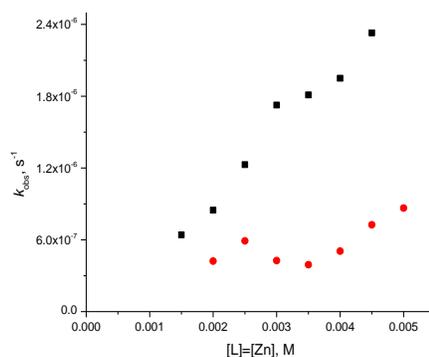


Figura 6.1.19. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua, pH 7.50 (MOPS 50 mM, 2% MeCN) para la hidrólisis de paratión 0.05 mM en función de la concentración total de  $[L]=[Zn]$  (■) ausencia y (●) presencia de CTAB 5 mM.

En el caso de paratión, a pH 7.16 los complejos de zinc con el ligante PyAmOx en presencia del tensoactivo catiónico hidrolizan muy poco este sustrato, por lo que la determinación de las constantes es más complicada, sin embargo, en pH7.50 podemos notar que hay una disminución más notoria de la reactividad cuando se utiliza CTAB.

Los resultados obtenidos de estos estudios nos llevan a pensar que, este efecto de inhibición cuando se utiliza el tensoactivo, el ligante PyAmOx y zinc, debe deberse a la interacción del tensoactivo con los complejos y de los complejos con los sustratos, ya que se nota una mayor diferencia en la reactividad cuando se utiliza paratión en presencia de CTAB que cuando se usa paraoxón o NPA donde la diferencia es mínima y el efecto es contrario al observado con cadmio.

### **Piridinamidoxima y zinc hacia paraoxón y paratión en presencia de dendrímeros PAMAM.**

Al igual que con CTAB, se comprobó que la contribución del zinc en presencia de dendrímeros no tenía un efecto significativo sobre la reactividad por lo que esta contribución se consideró despreciable.

Se midió la reactividad del ligante PyAmOx en presencia de zinc hacia paraoxón y paratión en presencia del dendrímero G4 al ser el que presenta el mayor efecto catalítico, se obtuvieron las constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) mediante

las velocidades iniciales en función de la concentración total de ligante y zinc ( $[L]=[Zn]$ ) manteniendo el pH constante.

En la figura 6.1.20 se muestran gráficos de las constantes observadas de primer orden en función de la concentración de total de ligante y zinc en presencia y ausencia de dendrímero G4 para la hidrólisis de paraoxón y paratión.

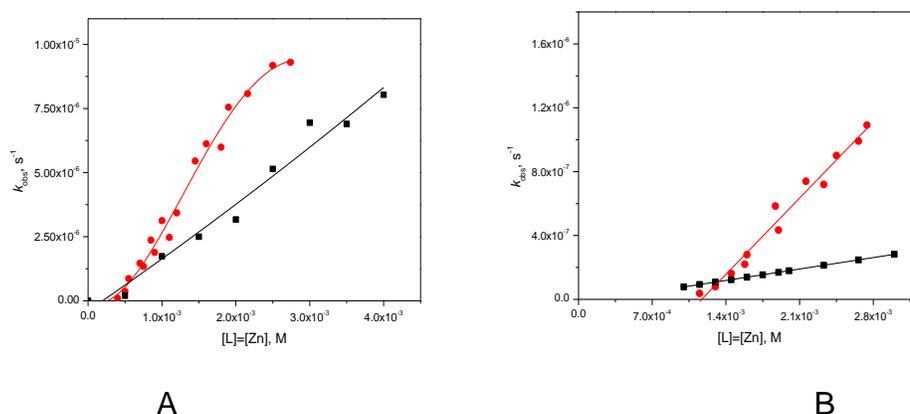


Figura 6.1.20. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua pH 7.15 (MOPS 50 mM, 2% MeCN) en función de la concentración total de  $[L]=[Zn]$  (■) ausencia y (●) presencia de dendrímero G4 0.5 mM A) Paraoxón 0.05 mM B) Paratión 0.05 mM.

En el caso de los ésteres fosfato, al utilizar el dendrímero, observamos un incremento que es de alrededor de 2 veces respecto a cuando no se utiliza dendrímero, esto nos indica que los complejos se incluyen mejor en el dendrímero que en el tensoactivo, por lo que podemos observar este incremento en la reactividad incluso en ésteres fosfato.

## 6.2 Modificación del ligante PyAmOx

### Análisis de las rutas de síntesis y caracterización del ligante

Al analizar los resultados del efecto de CTAB y los dendrímeros PAMAM en la reactividad de los sistemas, vemos que sería deseable que los complejos que se forman fueran más estables en disolución acuosa. Por ello, se propuso la síntesis del ligante PyAmOx-NH<sub>2</sub>, buscando tener un grupo donador adicional para obtener un ligante tridentado con el mismo grupo reactivo que proporcionara una mayor estabilidad al formar los complejos. Inicialmente se propuso la síntesis que se muestra en la figura 6.2.1.

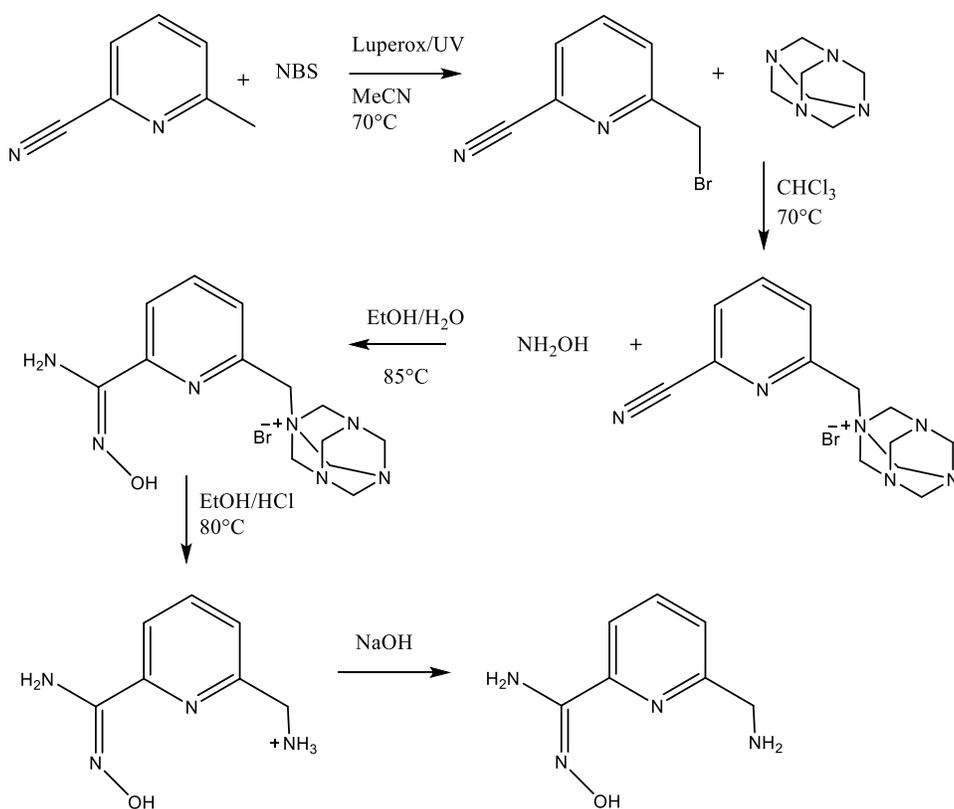


Figura 6.2.1 Esquema de síntesis de PyAmOx-NH<sub>2</sub> a partir de 2-ciano-6metilpiridina.

Del esquema de síntesis anterior surgieron complicaciones en la síntesis, ya que desde la primera reacción se tienen diferentes subproductos porque se pueden formar múltiples sustituciones de bromo en diferentes posiciones y además no reacciona toda la materia prima, esto pudo deberse principalmente a que no se utilizó CCl<sub>4</sub> como disolvente, que es en el que se realizaban clásicamente las bromaciones con NBS [68], a pesar de este problema, se logró separar el producto deseado para continuar la síntesis y formar el aducto con hexametilentetramina y posteriormente la reacción con hidroxilamina, estas reacciones se realizaron sin complicaciones. Sin embargo, al llevar a cabo la hidrólisis ácida para obtener la amina notamos que las condiciones eran demasiado fuertes para la amidoxima y ésta se descomponía, y se realizó la hidrólisis del aducto antes de formar la amidoxima para evitar que se descompusiera, no obstante, tampoco es posible debido a que el nitrilo también se hidroliza formando la amida correspondiente o incluso el ácido carboxílico (los detalles experimentales de esta síntesis se muestran en el apéndice II). Por estas razones se decidió que esta ruta no era viable y se optó

por realizar la síntesis mostrada en la figura 5.8.2, partiendo de 6-bromo-2-piridincarboxaldehído.

El primer paso de esta síntesis es la reacción con hidroxilamina como se muestra en la figura 6.2.2.

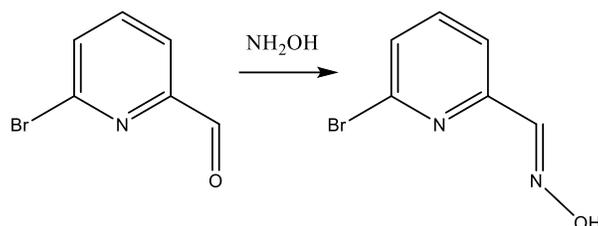


Figura 6.2.2. Esquema de reacción para la síntesis de 6-bromo-2-piridinaldoxima

Esta reacción se hizo siguiendo un procedimiento ya reportado [69], Por lo que se obtuvo 6-bromo-2-piridinaldoxima y se obtuvieron los espectros de IR y de  $^1\text{H}$  RMN tanto del aldehído como de la oxima para asegurarnos que se llevó a cabo la reacción. FTIR (reflectancia,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3206b, 3102s, 3004s, 2904m, 2784m, 1798s, 1890w, 1584s, 1548s, 1496m, 1440s, 1392s, 1310m, 1160s, 1122s, 1082w, 788s, 708s;  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  11.89 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.81-7.74 (m, 2H), 7.63 (dd,  $J = 6.9, 1.9$  Hz, 1H). Los espectros de IR y de  $^1\text{H}$  RMN se muestran en la figura 6.2.3 y 6.2.4.

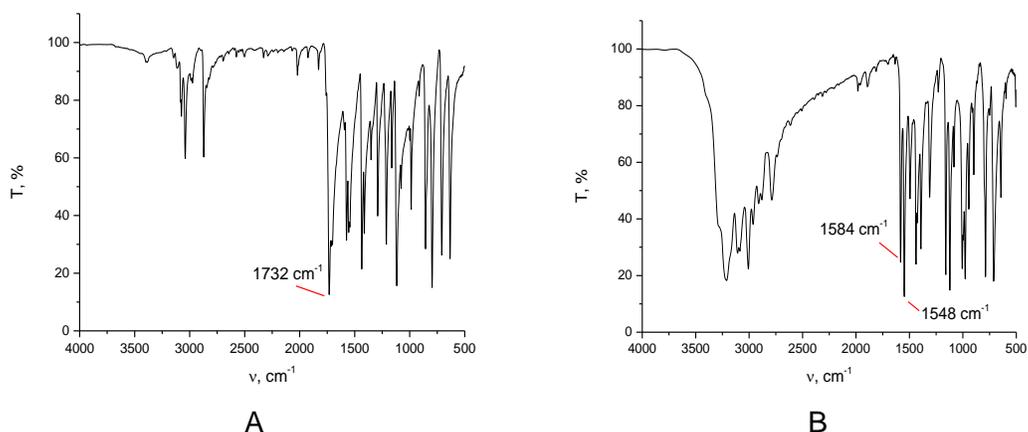


Figura 6.2.3. Espectros de IR A) 6-bromo-2-piridincarboxaldehído B) 6-bromo-2-piridinaldoxima

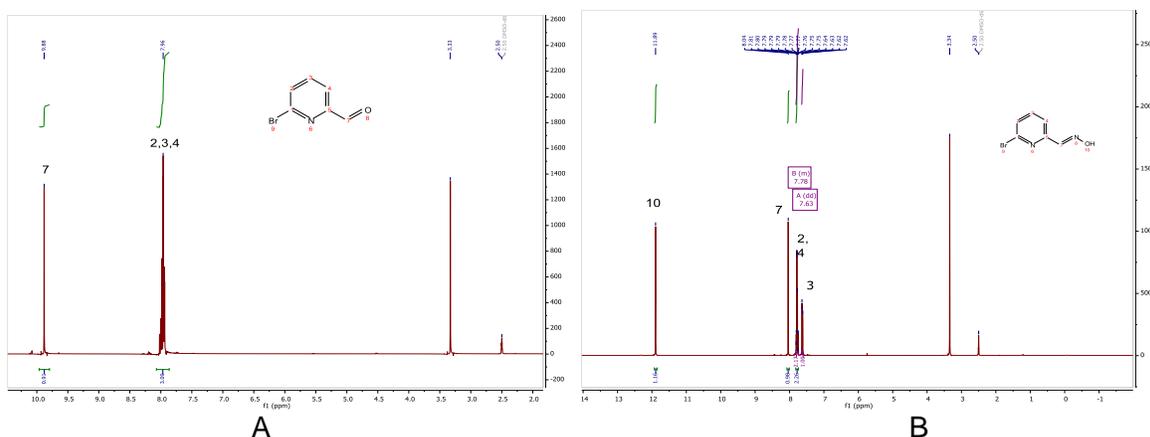


Figura 6.2.4. Espectros de  $^1\text{H}$  RMN de A) 6-bromo-2-piridincarboxaldehído B) 6-bromo-2-piridinaldoxima.

El siguiente paso de la síntesis fue la reducción de la aldoxima con zinc para formar la amina conforme se muestra en la figura 6.2.5.

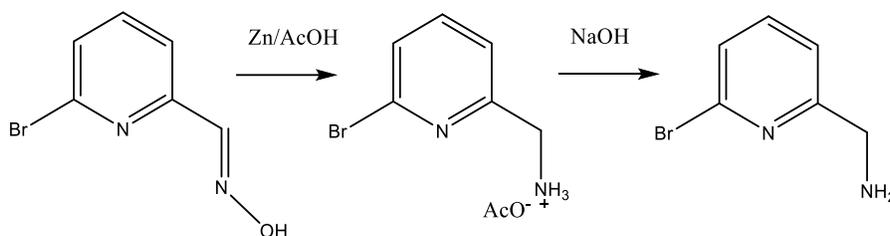


Figura 6.2.5. Esquema de reacción para la síntesis de 6-bromo-2-picolilamina.

La reducción de la aldoxima, al igual que la reacción anterior, ya se encuentra reportada hasta la formación del acetato [67], por lo que solo se agregó una base para obtener la amina en su forma neutra y para la 6-bromo-2-picolilamina se obtuvieron los espectros de IR y de  $^1\text{H}$  RMN. En el espectro de resonancia se pueden observar los protones correspondientes a la piridina disustituída y el grupo metileno, sin embargo, no se observan las señales correspondientes a la amina, (aunque podrían estar debajo de la señal del agua) y se observa además una señal en 3.16 pm que no pertenece al compuesto, tiene una integración de 0.36 protones y se asignó a residuo de metanol. FTIR (reflectancia,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3348b, 3050b, 2911b, 1582s, 1550s, 1435s, 1402s, 1153w, 1112m, 983m, 909w, 777m, 664w;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  7.70 (td,  $J = 7.7, 3.7$  Hz, 1H), 7.47 (td,  $J = 7.8, 3.3$  Hz, 2H), 3.77 (s, 2H). Los espectros de IR y de  $^1\text{H}$  RMN se muestran en la figura 6.2.6.

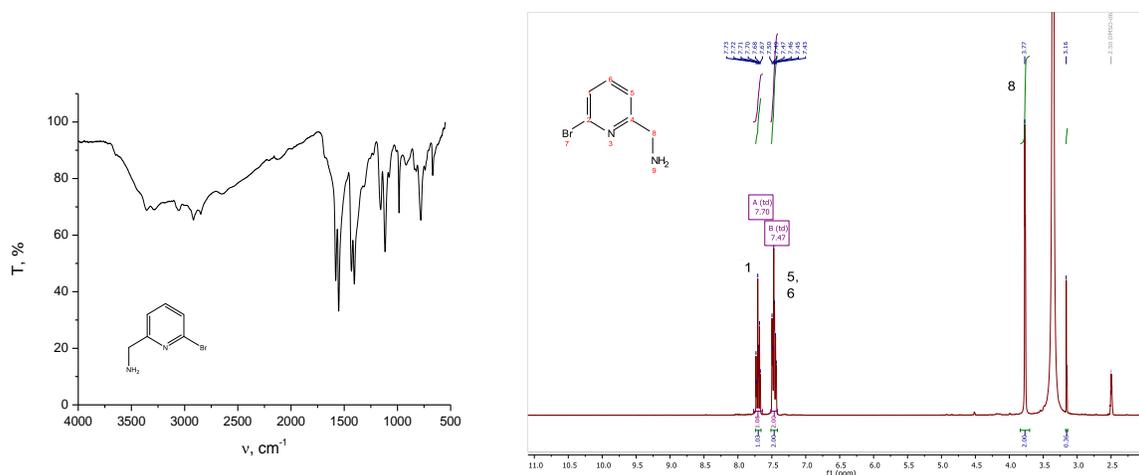


Figura 6.2.6. A) Espectro de IR de 6-bromo-2-picolilamina B) Espectros de  $^1\text{H}$  RMN de 6-bromo-2-picolilamina

Una vez formada la amina el siguiente paso fue la formación del nitrilo, esta reacción es la de menor rendimiento, sin embargo, la metodología utilizada nos permitió obtener el mayor rendimiento posible siguiendo el procedimiento clásico de cianación de bromuros aromáticos con Cu(I) [70]. El esquema de síntesis se muestra en la figura 6.2.7.

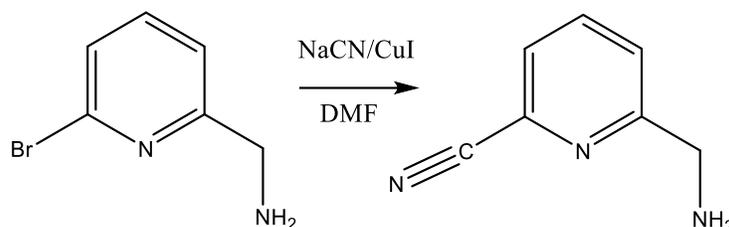


Figura 6.2.7. Esquema de reacción para la síntesis de 2-ciano-6-picolilamina.

En este caso, a pesar de la purificación por columna, el producto no se obtuvo completamente puro, pero se observa la presencia del nitrilo mediante la banda característica de la vibración  $\text{C}\equiv\text{N}$  que es una banda muy fina alrededor de  $2200\text{ cm}^{-1}$  y por RMN se observaba que conservaba los protones aromáticos y los del metileno como se muestra en la figura 6.2.8. FTIR (reflectancia,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3275b, 3067m, 2917w, 2238m, 1637s, 1587s, 1537m, 1453m, 1368s, 1217m, 1089w, 990m, 808w, 694w.  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.70 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.03 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.92 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.64 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 4.45 (d,  $J = 6.0$  Hz, 2H).

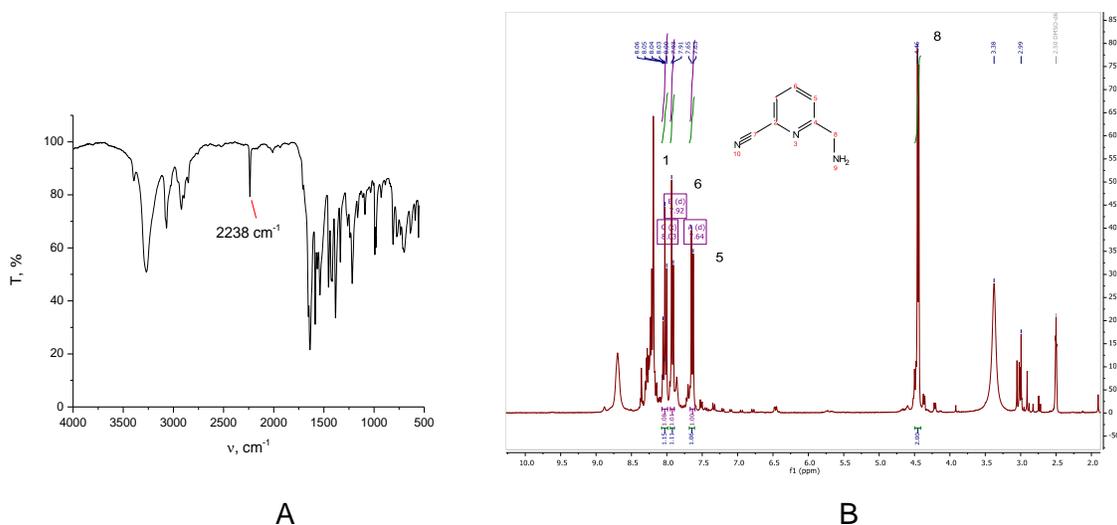


Figura 6.2.8. A) Espectro de IR de 2-ciano-6picolilamina b) Espectros de  $^1\text{H}$  RMN de 2-ciano-6picolilamina.

En el espectro de  $^1\text{H}$  RMN se observaron dos señales entre 8 y 9 ppm con integración para 1 protón cada una, sin embargo, en este paso consideramos que podrían deberse a algún subproducto y ya que por IR observamos el nitrilo necesario para condensar la hidroxilamina, se decidió utilizar el compuesto así para la siguiente reacción y hacer la purificación al final.

Se realizó la última reacción como se muestra en la figura 6.2.9.

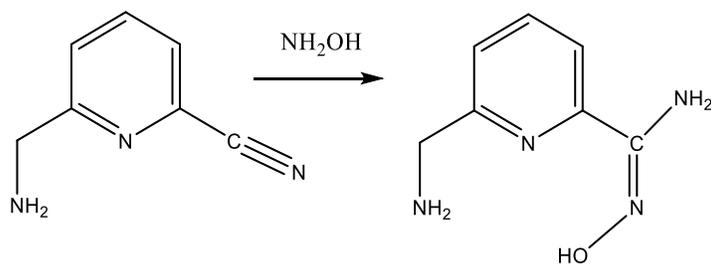


Figura 6.2.9. Esquema de reacción para la síntesis de PyAmOx-NH<sub>2</sub>

Al realizar esa reacción pudimos obtener un producto mucho más puro que en la reacción anterior, que se caracterizó después de su purificación mediante técnicas espectroscópicas convencionales, pero no resultó ser el producto de la figura 6.2.9 como se plantea a continuación.

Por espectroscopía de infrarrojo (Figura 6.2.10) es claro que la banda que correspondía al nitrilo desaparece y se observan las bandas en 2509 y 3393  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponden a la amina de la amidoxima, así como una zona ancha entre 2700 y 3000  $\text{cm}^{-1}$ , que se forma por los puentes de hidrógeno formados por la oxima y además se tiene la banda que corresponde a la vibración C=N alrededor de 1600  $\text{cm}^{-1}$ . FTIR (reflectancia,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3509s, 3393s, 3292s, 3079b, 2779b, 1739w, 1646s, 1589w, 1526s, 1473m, 1389s, 1223m, 1175w, 957w, 810w, 719w.

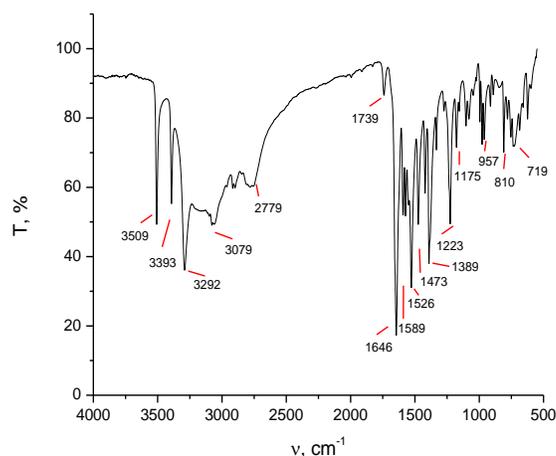


Figura 6.2.10. Espectro de infrarrojo de PyAmOx-NH<sub>2</sub>

Al analizar el espectro de <sup>1</sup>H RMN (Figura 6.2.11) podemos observar que la integración corresponde a los 10 protones esperados en la molécula: <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.88 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.20 – 8.18 (m, 1H), 7.82 – 7.70 (m, 2H), 7.32 (dd, *J* = 7.1, 1.6 Hz, 1H), 6.01 (s, 2H), 4.46 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H). Sin embargo, la multiplicidad de algunas señales no corresponde con lo esperado, por ejemplo, se tiene un doblete para los protones del carbono del metileno cuando se esperaría un singulete, además, no es razonable que las señales en 8.74 y 8.19 ppm correspondan a la amina alifática y no habría razón para que no fueran protones equivalentes si fueran asignados a esta amina.

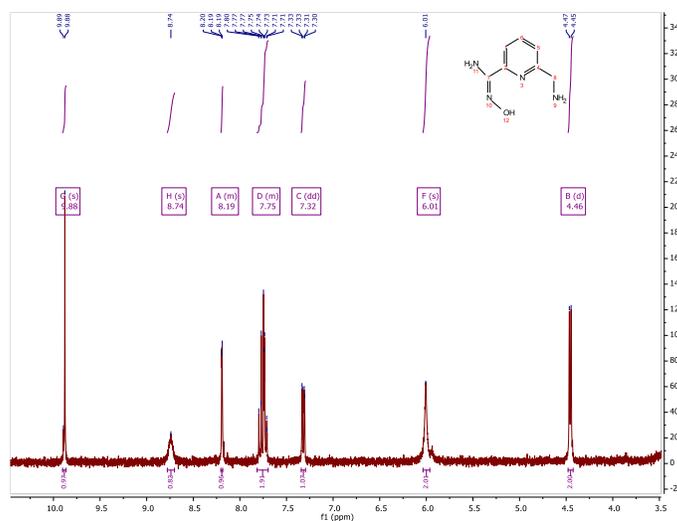


Figura 6.2.11. Espectro de  $^1\text{H}$  RMN de PyAmOx-NH $_2$

Asimismo, se obtuvo el espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN que se muestra en la figura 6.2.12.

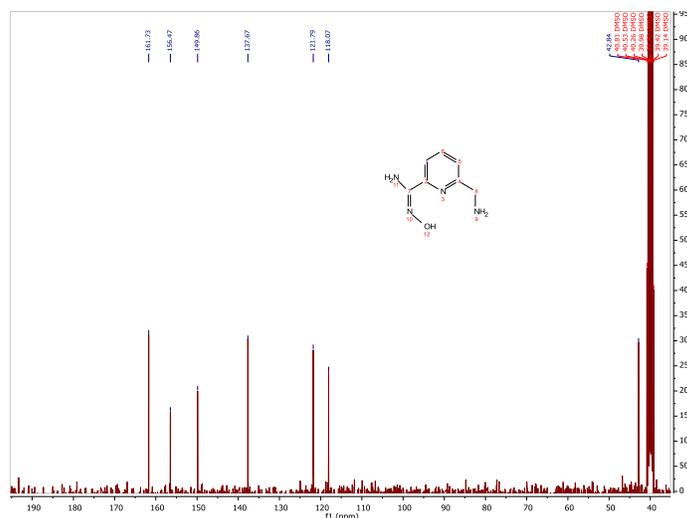


Figura 6.2.12. Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN de PyAmOx-NH $_2$

En este espectro se observan aparentemente 7 tipos de carbonos, que son los esperados para el compuesto PyAmOx-NH $_2$  y aparecen en un desplazamiento químico que corresponde 1 a un carbono alifático, 5 a carbonos aromáticos y 1 al carbono de la amidoxima.  $^{13}\text{C}$  NMR (76 MHz, DMSO)  $\delta$  161.73, 156.47, 149.86, 137.67, 121.79, 118.07, 42.84, A pesar de que en  $^{13}\text{C}$  se encontró que no se observaron más carbonos, aún no era clara la asignación de protones en el espectro de  $^1\text{H}$  RMN, por lo que se obtuvo el espectro de masas por APCI que se muestra en la figura 6.2.13.

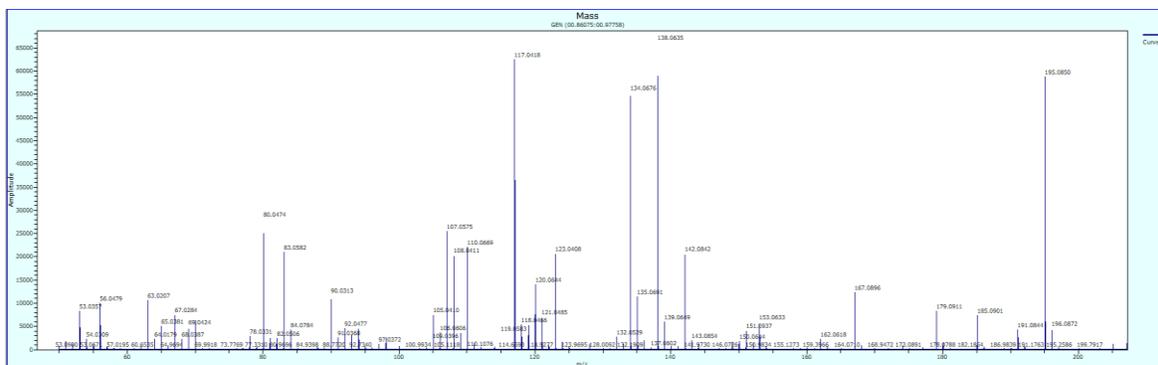


Figura 6.2.13. Espectro de masas por APCI de PyAmOx-NH<sub>2</sub>

Lo que podemos notar en este espectro, es que hay una fragmentación muy grande, no obstante, se alcanza a notar un fragmento en  $m/z=167.0896$  que es muy cercano al calculado para el ligante ( $m/z=167.09$ ), pero hay un pico que tiene una abundancia mucho mayor en  $m/z=195.0850$ .

Además, se obtuvo el análisis elemental, que tampoco concuerda con la fórmula esperada para el ligante PyAmOx-NH<sub>2</sub>, los resultados obtenidos se muestran en la tabla 6.2.1.

Tabla 6.2.1. Análisis elemental del ligante PyAmOx-NH<sub>2</sub>

Fórmula: C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O		Peso molecular: 166.18 g/mol	
Elemento	%Teórico	%Experimental	Fórmula Experimental
C	50.59	48.670	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>
H	6.07	5.070	
N	33.71	28.135	

Debido a las inconsistencias obtenidas por los métodos espectroscópicos en la caracterización, se decidió revisar en los pasos de síntesis las posibles reacciones secundarias que pudieran estar ocurriendo y plantear un producto que si fuera consistente con los datos espectroscópicos. Así, por un lado lo que encontramos fue que se puede llevar a cabo la formilación de aminas utilizando DMF y catalizadores de Cu(II) y Cu(I) en condiciones muy similares a las utilizadas para incorporar el nitrilo [71], por lo que además del producto de formilación se pueden obtener algunos otros subproductos que se muestran en la figura 6.2.14.

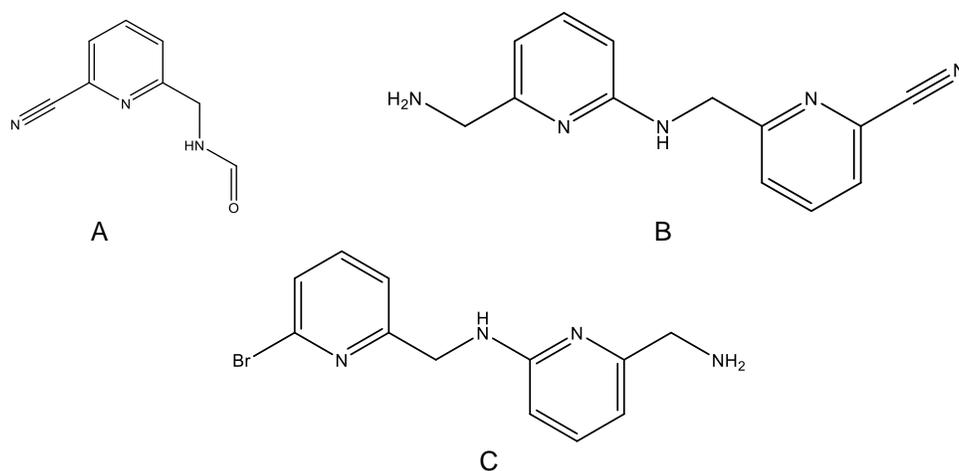
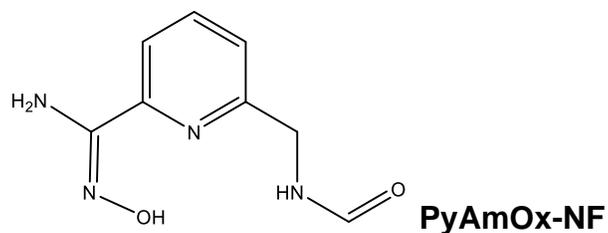


Figura 6.2.14. A) Producto de formilación con DMF de 2-ciano-6-picolilamina, B y C) posibles subproductos de la reacción de cianación.

La formación de estos productos explica que el rendimiento de la reacción sea tan bajo, ya que se consume mucho reactivo cuando reacciona con él mismo, pero además nos permite plantear la formilación de la amina explica las señales de  $^1\text{H}$  RMN que se observan en 8.70 y 8.19 ppm se pueden asignar a la amina y al protón del formilo, la multiplicidad del doblete del metileno es congruente con su acoplamiento al protón de la amina y también se observan las mismas señales después de la reacción con hidroxilamina, por lo tanto, la estructura final propuesta para el ligante obtenido se muestra a continuación:



Con esta estructura podemos hacer la asignación de las señales de  $^1\text{H}$  RMN como se muestra en la figura 6.2.15.

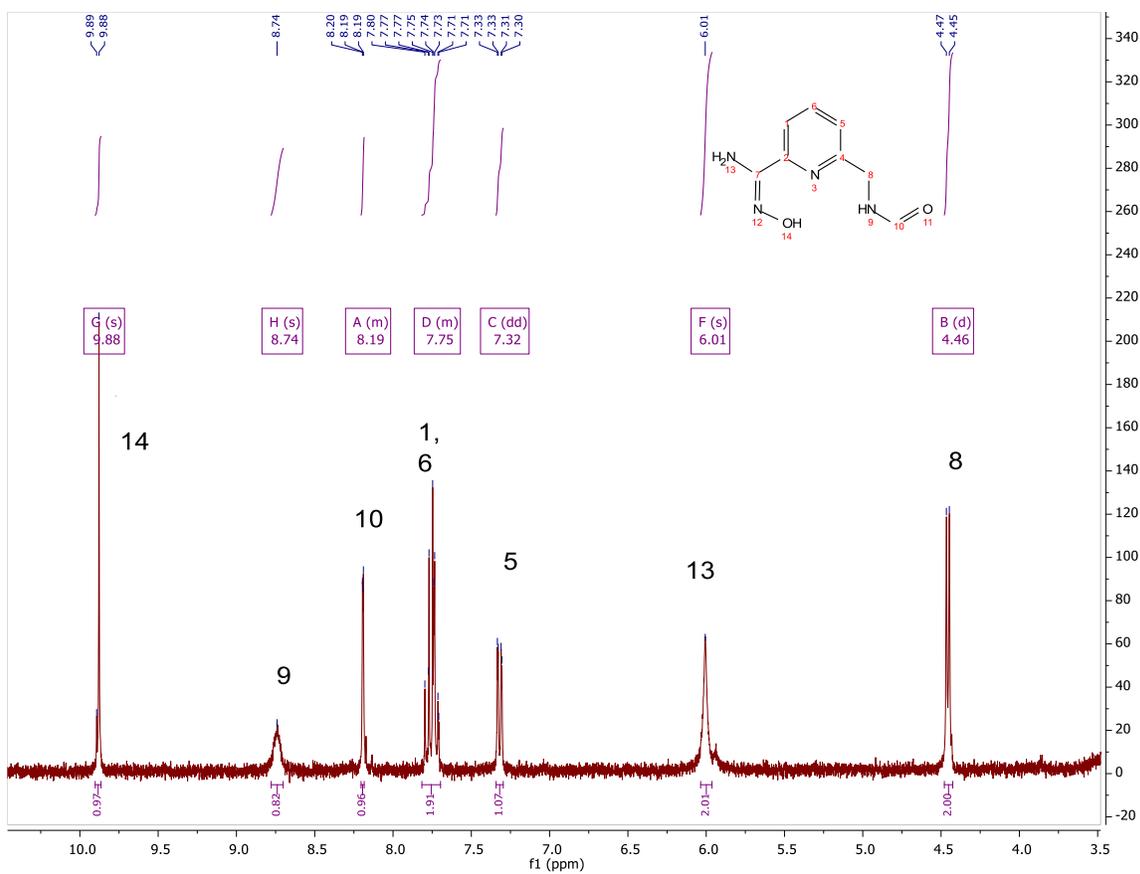
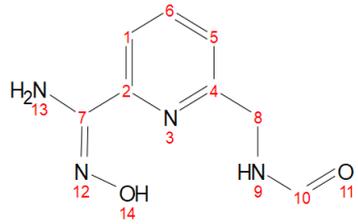


Figura 6.2.15. Espectro de  $^1\text{H}$  RMN y asignación de las señales para el ligante PyAmOx-NF.

Además, al hacer una ampliación del espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN, pudimos notar la presencia de 8 tipos de carbonos, lo cual concuerda con la estructura propuesta, los desplazamientos químicos experimentales y calculados mediante el programa MestReNova V2012 así como la asignación para cada carbono se presentan en la tabla 6.2.2 y en la figura 6.2.16 se muestra el espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN ampliado donde se pueden apreciar mejor las señales del ligante PyAmOx-NF, ya que dos señales se esperan en desplazamientos químicos muy cercanos (Carbonos marcados con los números 2 y 7 del esquema mostrado en la tabla 6.2.2.).

Tabla 6.2.2. Asignación de las señales de los carbonos del ligante PyAmOx-NF.

	Número de Carbono	$\delta$ (ppm) Calculado	$\delta$ (ppm) Experimental
	1	117.39	118.07
	2	148.49	149.83
	4	158.24	156.47
	5	122.27	121.79
	6	136.46	137.67
	7	151.50	149.86
	8	45.41	42.84
	10	162.54	161.73

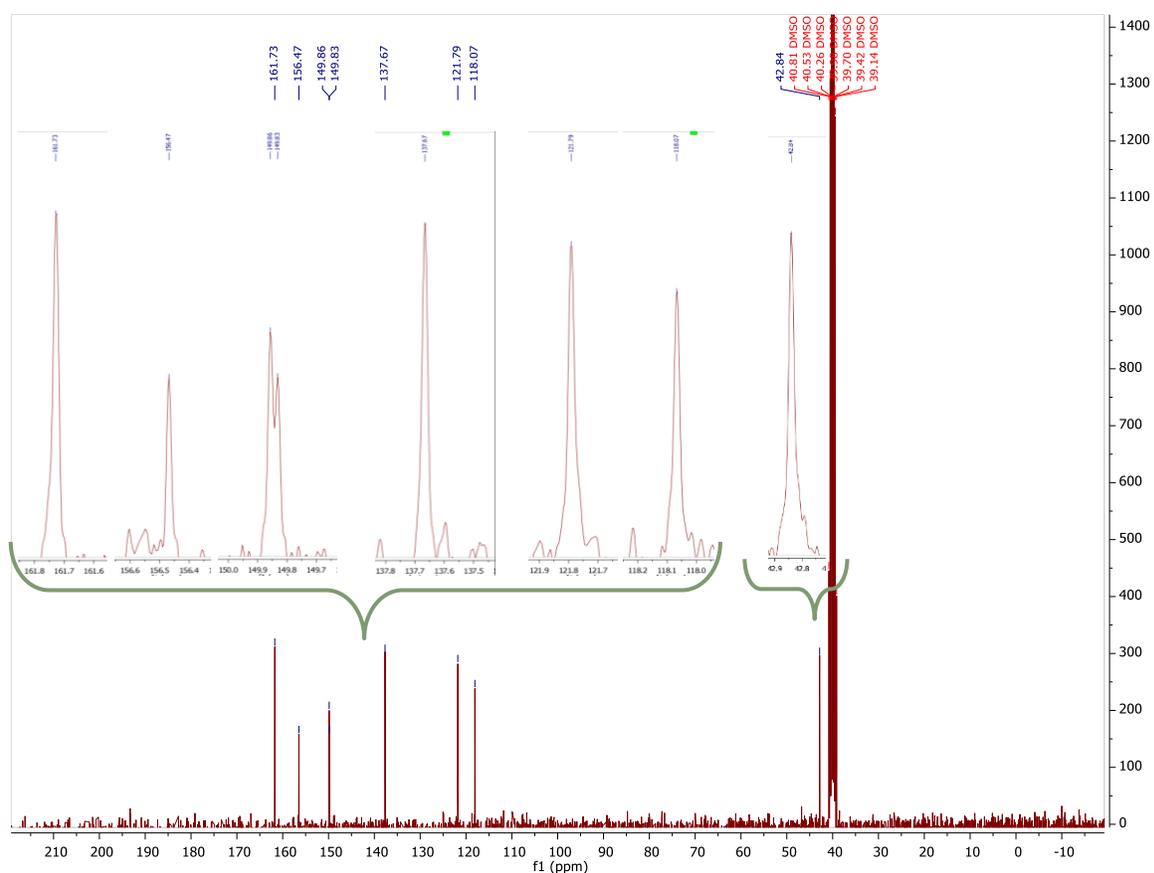


Figura 6.2.16. Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN ampliado del ligante PyAmOx-NF.

Asimismo, cuando se calcula la relación  $m/z$  esperada de este ligante tenemos un valor de  $m/z$  del producto protonado ( $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2 + \text{H}$ ) de 195.0804, el cual coincide con el pico observado experimentalmente  $m/z=195.0850$ , por lo que, finalmente se

revisó el análisis elemental nuevamente y se calcularon los porcentajes para esta nueva estructura propuesta que se muestran en la tabla 6.2.3.

Tabla 6.2.3. Análisis elemental del ligante PyAmOx-NF

Fórmula: C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>		Peso molecular: 194.19 g/mol
Elemento	%Teórico	%Experimental
C	49.5	48.670
H	5.2	5.070
N	28.9	28.135

Con los resultados obtenidos podemos notar que el análisis elemental es mucho más cercano para esta estructura que para la que se esperaba inicialmente, por lo que todos los análisis coinciden en que la amina está formilada.

Aunque el compuesto obtenido no fuera el planeado, se tienen características que lo hacen interesante, ya que tiene una amina secundaria que puede funcionar como donador y además un grupo aldehído que se puede usar para una posterior condensación. Como finalmente lo que nos interesaba era tener una amidoxima y un grupo donador adicional que aumentara la estabilidad del ligante al formar complejos metálicos, se utilizó este compuesto (pensando en que fuera fragmento de otro) para realizar los estudios cinéticos y estudiar cómo se afecta la reactividad de la amidoxima en presencia de este grupo y cationes metálicos, por lo tanto, se midió su reactividad hacia NPA y se realizaron titulaciones potenciométricas y espectrofotométricas para obtener más información del comportamiento como nucleófilo y sus equilibrios ácido base en disolución acuosa.

## Titulaciones potenciométricas de PyAmOx-NF

Mediante titulaciones potenciométricas y espectrofotométricas se determinaron los valores de  $pK_a$  del ligante, en la figura 6.2.17 se muestra una curva de titulación del ligante PyAmOx-NF y se grafica el valor de pH en función del volumen de NaOH agregado.

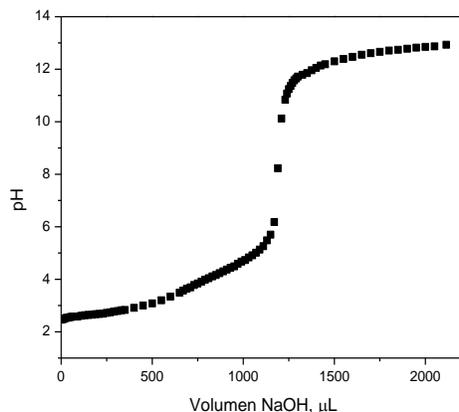
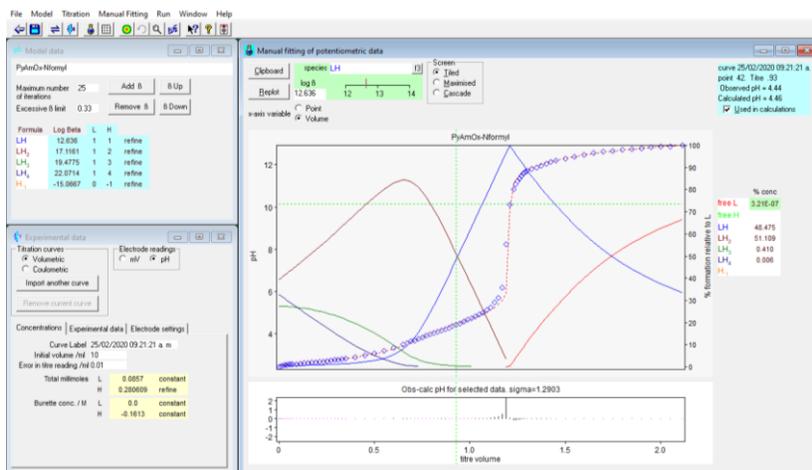
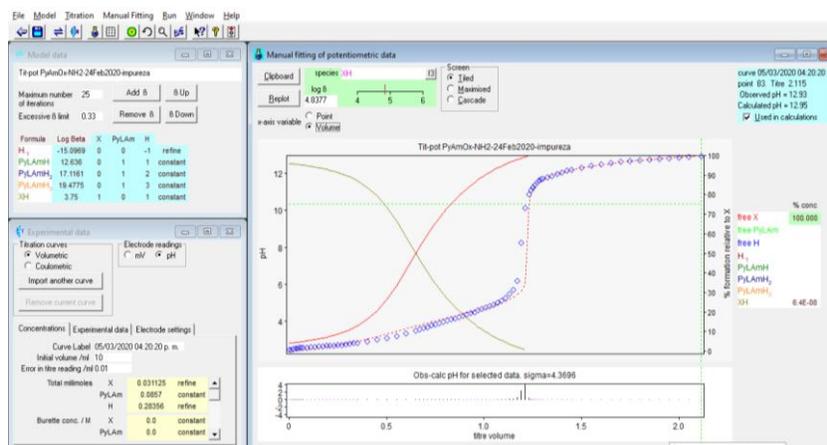


Figura 6.2.17. Titulación potenciométrica del ligante PyAmOx-NF 8.57 mM en agua a 25°C bajo flujo de  $N_2$ . Fuerza iónica impuesta con NaCl 100 mM.

La figura 6.2.18 muestra el ajuste realizado con el programa *Hyperquad 2008*, en el cual los rombos azules representan los datos experimentales y la línea punteada roja representa el ajuste al modelo planteado. Del lado superior izquierdo se observan los valores de las constantes y en la parte inferior izquierda las cantidades experimentales de los reactivos utilizados.



A



B

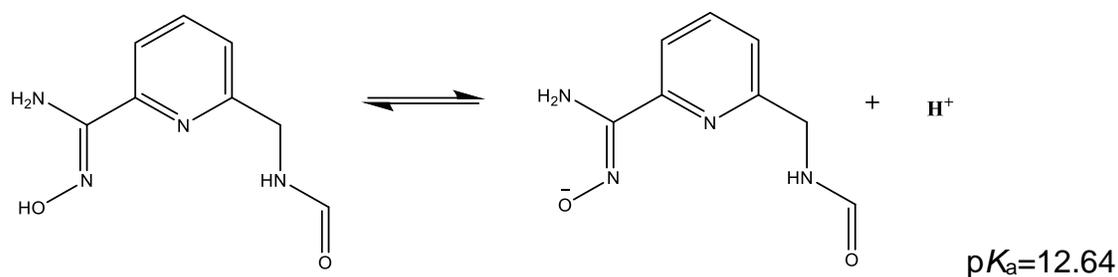
Figura 6.2.18. Ajuste de titulación potenciométrica de PyAmOx-NF mediante el programa *Hyperquad 2008*. A) Ajuste sin impureza B) Ajuste con impureza de ácido.

Debido a que en esta titulación aparentemente se requieren 4 valores de  $pK_a$  para ajustarla y no tiene mucho sentido, se analizó la posibilidad de que en esta titulación potenciométrica hubiera una impureza de ácido, como podría ser el ácido fórmico. El valor de  $pK_a$  de la impureza es muy cercano al reportado para este ácido (3.75) y los valores de las constantes de acidez del ligante no se modificaron. Así, los valores de constantes acumulativas de formación ( $\beta$ ) se muestran en la tabla 6.2.4 así como los valores de  $pK_a$  que de aquí se pueden calcular.

Tabla 6.2.4. Logaritmos de las constantes de formación acumulativas y valores de  $pK_a$  obtenidos en la titulación potenciométrica.

Especie	$\log \beta$	
HL	$12.64 \pm 0.02$	$pK_{a3} = 12.64$
H <sub>2</sub> L	$17.12 \pm 0.01$	$pK_{a2} = 4.48$
H <sub>3</sub> L	$19.48 \pm 0.03$	$pK_{a1} = 2.36$

A partir de las constantes obtenidas podemos proponer, con base en lo que hemos observado para otros ligantes [41], el equilibrio para la disociación ácida del grupo amidoxima del ligante PyAmOx-NF que se muestra a continuación; este valor concuerda con el valor esperado para un grupo amidoxima.



Una vez terminada esta titulación, para comprobar la estabilidad del compuesto en disolución acuosa y medio básico, se conservó la disolución a pH 13 por 24 horas. Pasado este tiempo se encontró que el pH disminuyó hasta un valor de 12, por lo que se adicionó más NaOH para reajustar el pH a 13 y se tituló esta misma disolución con HCl estandarizado. En la figura 6.2.19 se muestra la curva de titulación del ligante PyAmOx-NF con HCl y se grafica el valor de pH en función del volumen de HCl agregado.

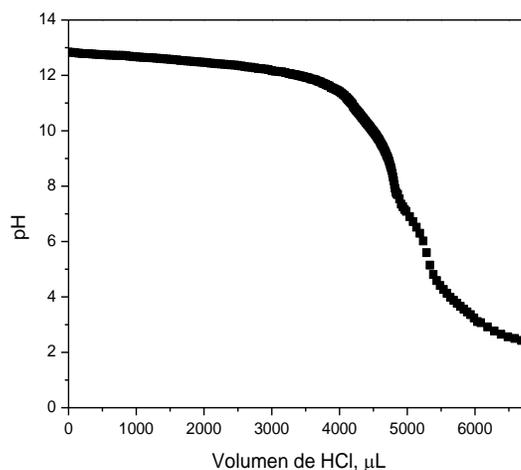


Figura 6.2.19. Titulación potenciométrica del ligante PyAmOx-NF con HCl después de la titulación con NaOH, en agua a 25°C bajo flujo de N<sub>2</sub>.

Lo primero que podemos notar es que la forma de la curva no es igual, por lo que no es un proceso reversible, sin embargo, se realizó el ajuste de esta titulación al igual que la anterior, con el programa *Hyperquad 2008* como se muestran la figura 6.2.20.

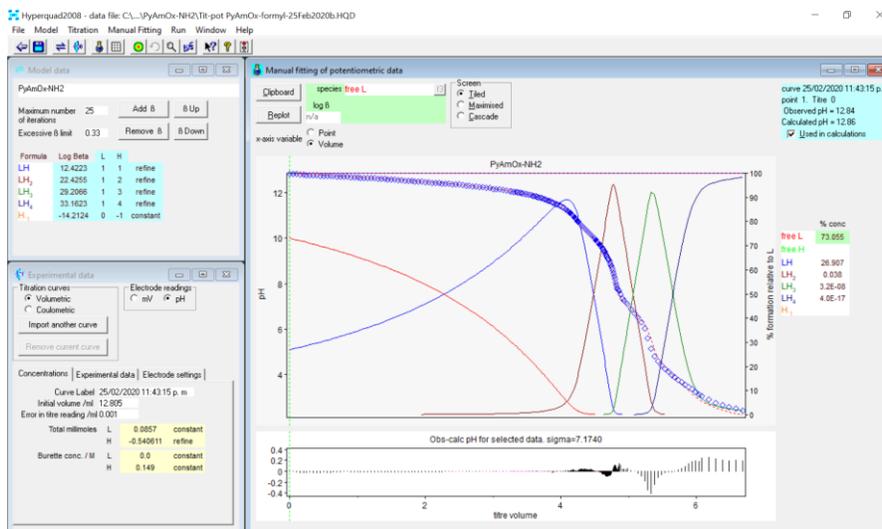


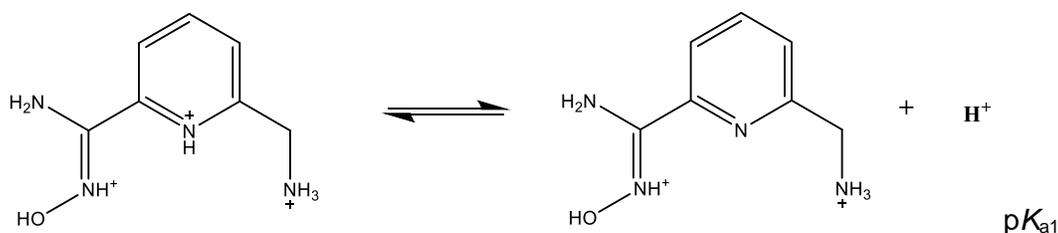
Figura 6.2.20. Ajuste de titulación potenciométrica de PyAmOx-NF con HCl mediante el programa *Hyperquad 2008*.

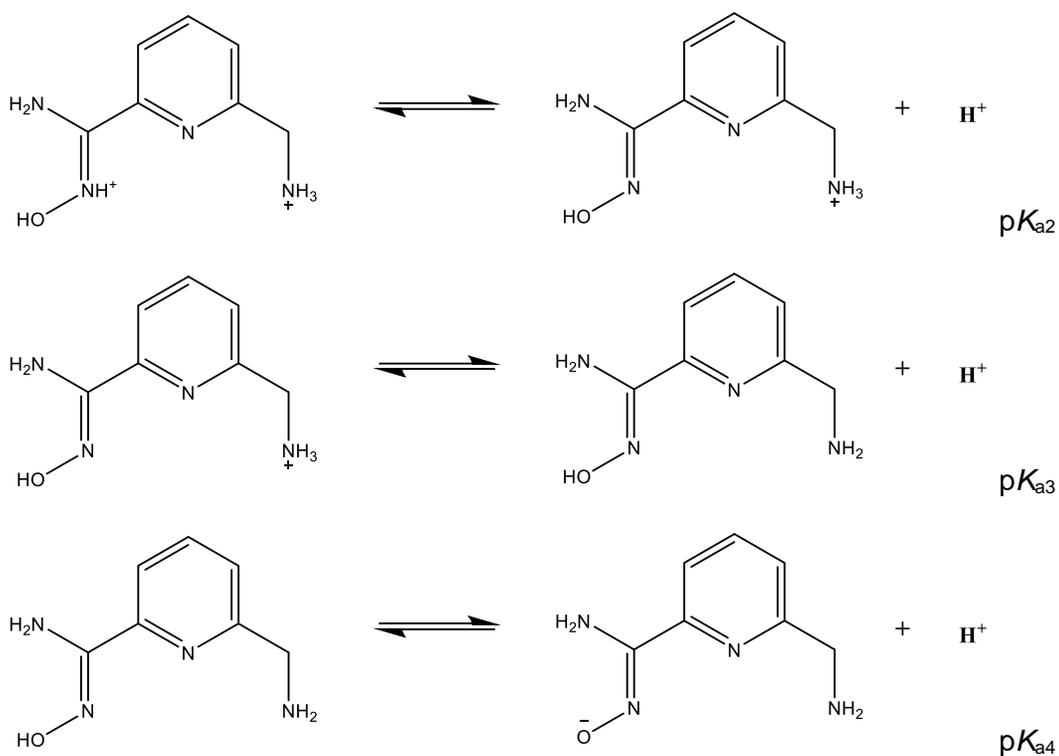
A partir de esta titulación obtuvimos los valores de constantes acumulativas de formación ( $\beta$ ) que se muestran en la tabla 6.2.5 así como los valores de  $pK_a$  calculados.

Tabla 6.2.5. Logaritmos de las constantes de formación acumulativas y valores de  $pK_a$  obtenidos en la titulación potenciométrica con HCl.

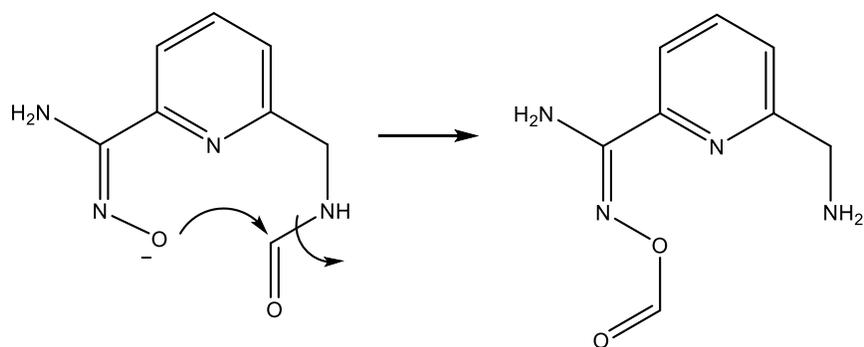
Especie	$\log \beta$	
HL	$12.42 \pm 0.02$	$pK_{a4} = 12.42$
H <sub>2</sub> L	$22.42 \pm 0.03$	$pK_{a3} = 10.00$
H <sub>3</sub> L	$29.20 \pm 0.03$	$pK_{a2} = 6.78$
H <sub>4</sub> L	$33.16 \pm 0.03$	$pK_{a1} = 3.96$

En esta titulación podemos notar que hay un grupo adicional que tiene un  $pK_a$  de 10, esto parece indicarnos que la amina se hubiera desformilado, y se proponen los siguientes equilibrios de disociación ácida.





Una posible explicación para esta desformilación en medio básico es que exista una reacción intramolecular en la que la oxima pueda desformilar a la amina como se muestra a continuación:



En este caso se formaría la oxima formilada, la cual podría hidrolizarse, siendo congruente con que en la titulación observamos un  $pK_a$  de 12.42 que corresponde a la desprotonación de un grupo oxima. Por ello es posible que sea una mezcla, en la que no toda la amina se haya desformilado, por lo que podemos ver ambos  $pK_a$ s,

el de la amina libre y el de la oxima. Para corroborar esto, sería necesario hacer una hidrólisis, aislar el producto y ver si efectivamente corresponde a esta propuesta.

Para comprobar la reversibilidad de esta reacción se tituló nuevamente la misma disolución (ya titulada) con NaOH, en la figura 6.2.21 se muestra la curva de titulación del ligante PyAmOx-NF con NaOH y se grafica el valor de pH en función del volumen de HCl agregado.

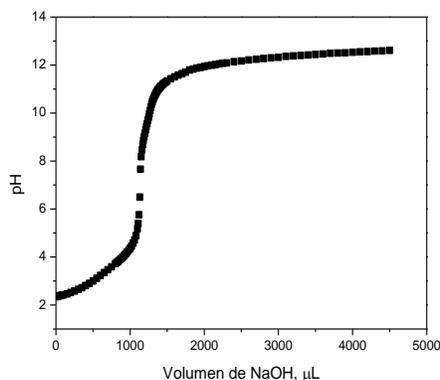


Figura 6.2.21. Titulación potenciométrica del ligante PyAmOx-NF con NaOH después de la titulación con HCl, en agua a 25°C bajo flujo de N<sub>2</sub>.

Con esta titulación pudimos notar que, aunque es similar a la primera, aparece una especie con un  $pK_a$  cercano a 10. Esta titulación sólo se puede ajustar si se considera que hay una mezcla del ligante formilado inicial (Lf) y el ligante con la amina libre (L) como se muestra en la figura 6.2.22.

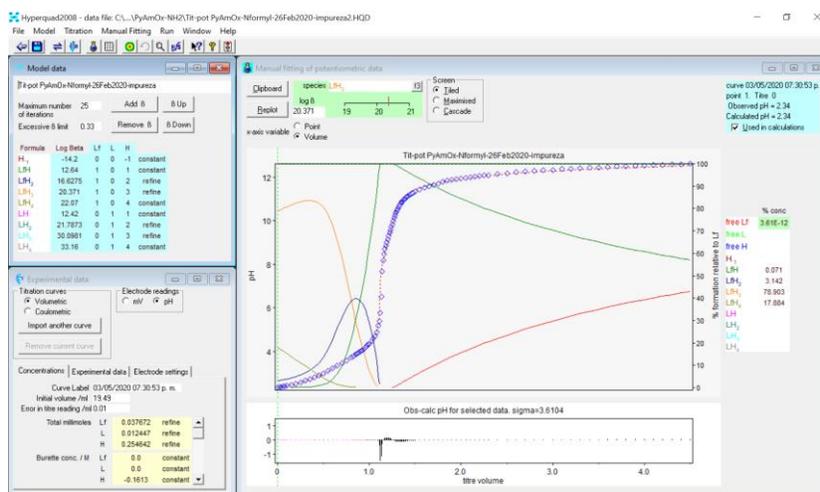


Figura 6.2.22. Ajuste de titulación potenciométrica de PyAmOx-NF con NaOH (segunda vez) mediante el programa Hyperquad 2008.

A partir de estas titulaciones podemos decir que el compuesto que se titula, PyAmOx-NF no tiene ningún grupo amino libre, siendo congruente con que se encuentra formilado y por ello no tenemos ningún  $pK_a$  que pudiera corresponder a una amina libre. Sin embargo, si se mantiene la disolución en un medio muy básico ( $pH > 13$ ), al realizar la titulación con ácido podemos notar la presencia de este grupo con  $pK_a$  de 10, que corresponde al  $pK_a$  esperado para la amina libre, por lo que es probable que se libere PyAmOx-NH<sub>2</sub>. A pesar de esto, es importante señalar que las condiciones para que se liberara el grupo amino fueron pH muy básicos y tiempos largos (24 horas), por lo que al realizar los estudios cinéticos podemos considerar que únicamente observamos la reactividad del ligante formilado, ya que no se realizan en valores de pH tan básicos y las reacciones se miden a lo largo de una hora como máximo.

### Titulaciones espectrofotométricas

Se realizó una titulación espectrofotométrica del ligante PyAmOx-NF para comparar los valores de  $pK_a$  obtenidos por potenciometría, en la figura 6.2.23 muestra los espectros UV-vis obtenidos de la titulación del ligante PyAmOx-NF, las flechas indican el cambio del espectro al incrementar el pH de la disolución en un intervalo de pH entre 3 y 13.

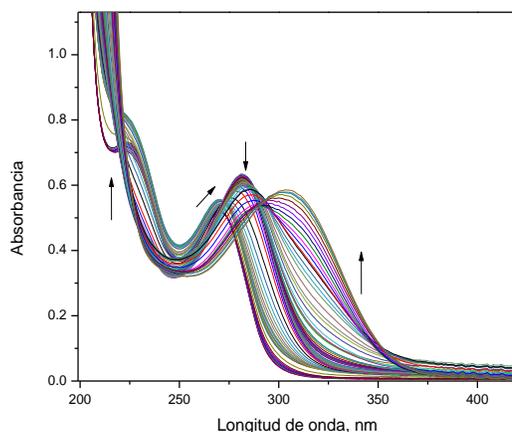


Figura 6.2.23. Titulación espectrofotométrica de PyAmOx-NF 0.1 mM en agua a 25°C, en buffer de fosfatos 10 mM, NaCl 90 mM. Volumen inicial 25.0 mL.

Para analizar los datos se utilizó el programa *HypSpec*, con el cual se obtuvieron los logaritmos de las constantes de formación acumulativas ( $\beta$ ), en la figura 6.2.24 se muestra el ajuste realizado con dicho el programa, en el lado izquierdo se

encuentran las constantes calculadas y los datos experimentales; del lado derecho se encuentran dos gráficos, uno muestra la variación de la absorbancia en función del pH para una longitud de onda específica, en este caso 300 nm, y el otro muestra el espectro de absorción a un pH elegido, se muestra pH=11.80, en ambos gráficos los rombos azules representan los datos experimentales y la línea punteada representa el ajuste al modelo planteado. Las líneas continuas representan las especies presentes en disolución de acuerdo con las constantes calculadas.

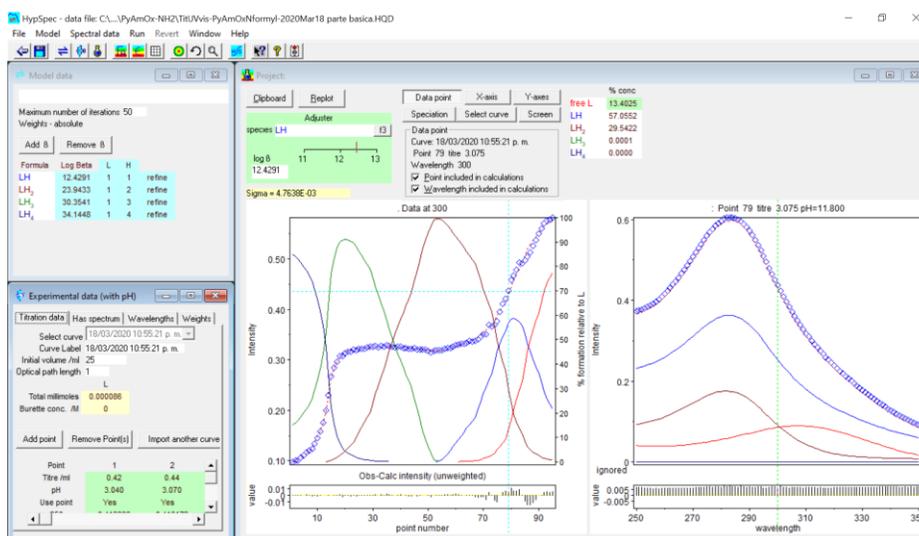


Figura 6.2.24. Ajuste de titulación espectrofotométrica de PyAmOx-NF mediante el programa *HypSpec*.

En la tabla 6.2.6 se muestran los valores obtenidos de las constantes de formación acumulativas, además de los valores de  $pK_a$ .

Tabla 6.2.6. Logaritmos de las constantes de formación acumulativas y valores de  $pK_a$  obtenidos en la titulación espectrofotométrica.

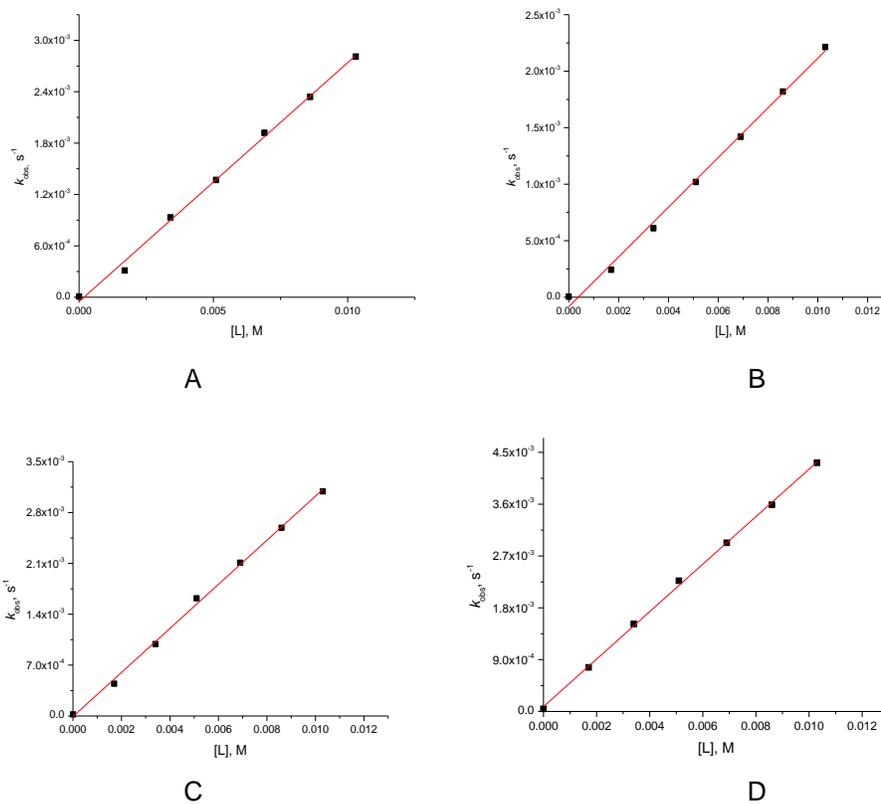
Especie	log $\beta$	
HL	12.429 ± 0.007	$pK_{a4} = 12.43$
H <sub>2</sub> L	23.93 ± 0.01	$pK_{a3} = 11.51$
H <sub>3</sub> L	30.35 ± 0.03	$pK_{a2} = 6.41$
H <sub>4</sub> L	34.15 ± 0.03	$pK_{a1} = 3.79$

Con esta titulación, podemos notar que el valor de  $pK_a$  que corresponde a la desprotonación de la oxima coincide con el encontrado por potenciometría, 12.42, que es el grupo nucleofílico en este ligante.

## Estudios cinéticos

Se determinó la reactividad intrínseca de este ligante hacia NPA, es decir la constante de segundo orden que no depende del pH y por consecuencia no depende de la concentración; para esto se realizaron estudios cinéticos variando la concentración de ligante a diferentes valores de pH y se obtuvieron constantes de primer orden ( $k_{obs}$ ) ajustando los datos de absorbancia en función del tiempo a la ecuación (2) (sección 5.7).

A cada valor de pH se observó una tendencia lineal de las constantes observadas de primer orden en función de la concentración total de ligante. En la figura 6.2.25. se muestran graficados los valores de las constantes de rapidez de primer orden obtenidas en cada valor de pH para las diferentes concentraciones de ligante.



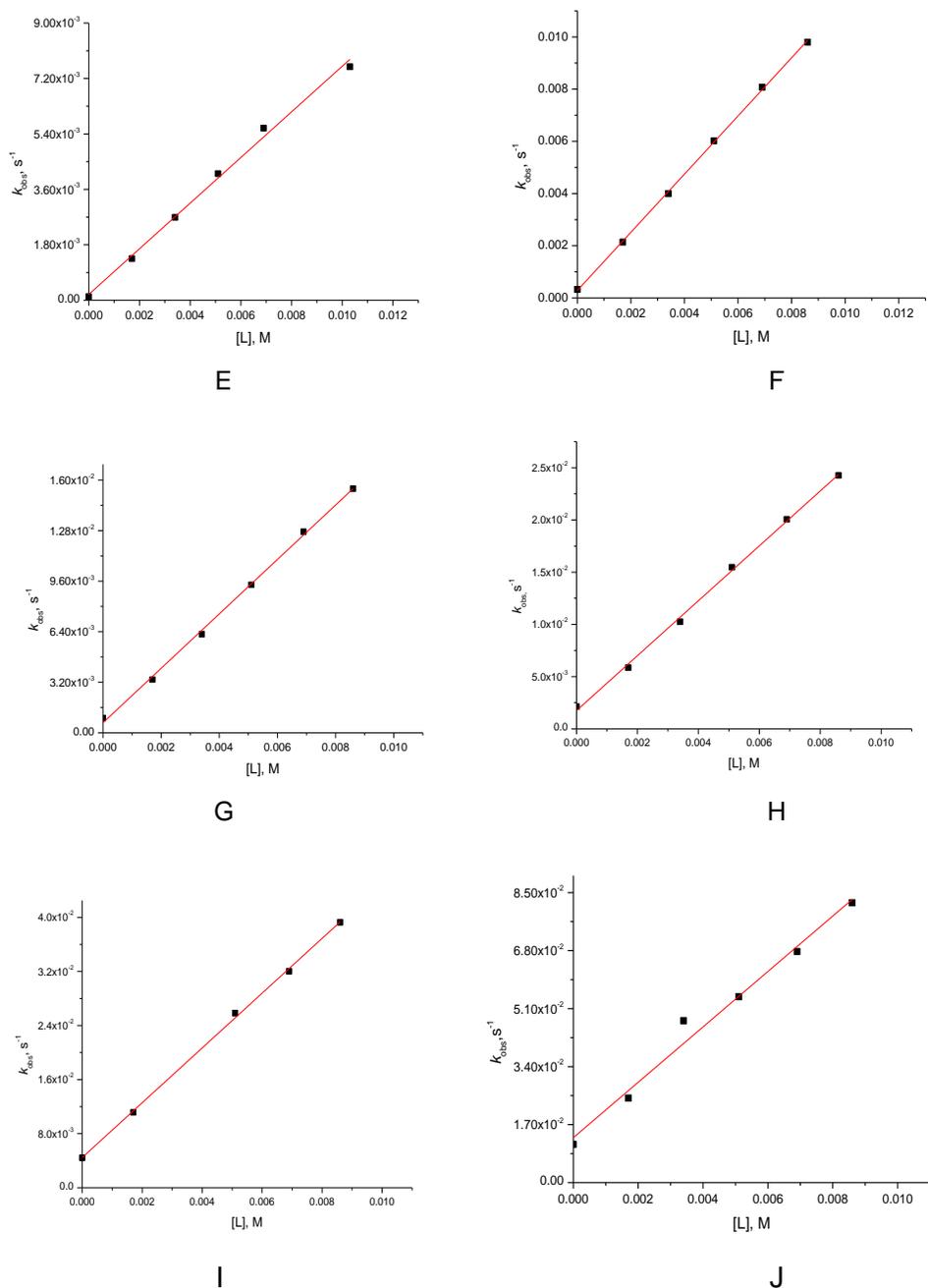


Figura 6.25. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM (MeCN 2%) en función de la concentración de  $[L]=\text{PyAmOx-NF}$  (Buffer 50 mM) a diferentes valores de pH A) 7.01 (MOPS), B) 7.52 (MOPS), C) 8.02 (EPPS) D) 8.51 (EPPS), E) 9.01 (CHES), F) 9.50 (CHES), G) 10.02 (CAPS), H) 10.52 (CAPS), I) 11.01 (CAPS), J) 11.49 (CAPS).

El obtener un comportamiento lineal en cada valor de pH indica que la reacción es de primer orden y la pendiente es la constante aparente de segundo orden para cada pH ( $k'$ ,  $M^{-1}s^{-1}$ ). En la tabla 6.2.7 se resumen los valores de las constantes de

segundo orden del ligante PyAmOx-NF a cada valor de pH para la hidrólisis de NPA y en la figura 6.2.26 se muestran gráficamente estas constantes, así como el ajuste no lineal para determinar el  $pK_a$  y la reactividad límite.

Tabla 6.2.7. Constantes de velocidad de segundo orden,  $k' M^{-1}s^{-1}$ , para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en presencia de PyAmOx-NF a diferentes valores de pH a 25°C.

pH	$k'$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	Error
7.01	0.27909	0.00685
7.52	0.21979	0.00594
8.02	0.30325	0.00581
8.51	0.41241	0.00529
9.01	0.74098	0.02529
9.50	1.11434	0.01098
10.02	1.72250	0.03372
10.51	2.62903	0.05374
11.01	4.05311	0.06821
11.49	8.11239	0.52213

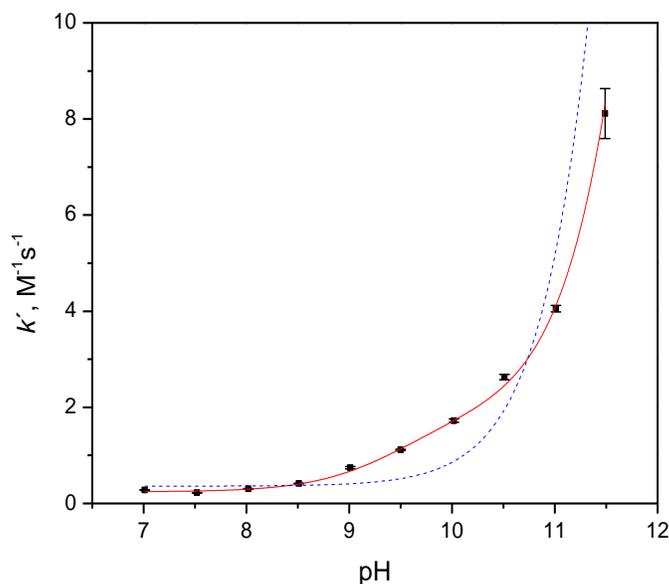
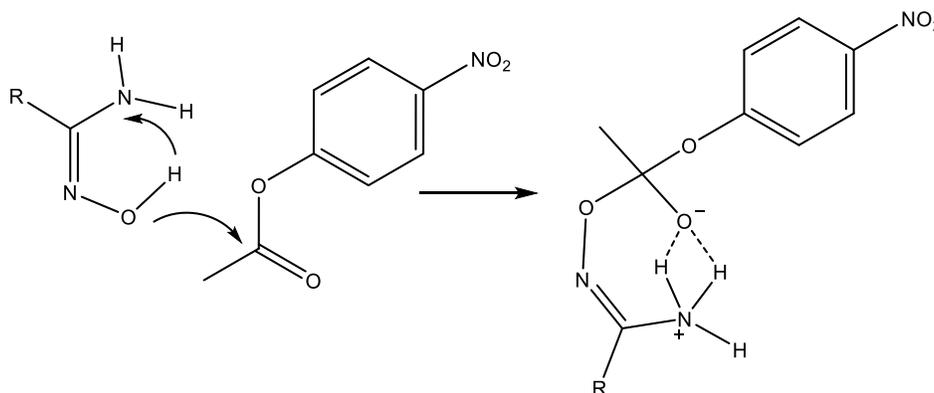


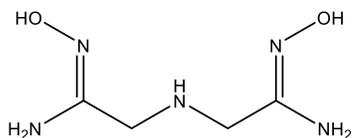
Figura 6.2.26. Constante de velocidad de segundo orden,  $k' M^{-1}s^{-1}$ , para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en presencia de PyAmOx-NF en función del pH a 25°C. MOPS, EPPS, CHES o CAPS 50 mM, 2% MeCN. La línea representa el ajuste para determinar el  $pK_a$  cinético y la reactividad intrínseca del anión amidoximato, (-) Ajuste a dos  $pK_a$ , (--) Ajuste a un  $pK_a$ .

Lo que pudimos notar es que, al hacer el ajuste no lineal para determinar el  $pK_a$ , no fue posible hacerlo utilizando la ecuación 27 (Apéndice 1) que involucra una especie con un  $pK_a$ , fue necesario utilizar la ecuación 30 (Apéndice 1) que es un ajuste que involucra dos especies con  $pK_a$  distinto que presentan reactividad, en este caso se fijó el valor del  $pK_a$  de la oxima determinado por potenciometría y espectrofotometría en 12.40, lo que nos permitió calcular la reactividad límite del oximato libre hacia NPA obteniéndose un valor de  $k' = 61.24 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  el cual corresponde a la constante de velocidad de segundo orden para este ligante, este valor es congruente con lo esperado para una oxima ( $50\text{-}100 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ).

Ya que fue necesario agregar una especie más para realizar el ajuste, se obtuvo un  $pK_a$  de 9.47, y una constante de segundo orden para esta especie es  $k' = 0.24 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ , este valor puede deberse a una interacción entre la amidoxima neutra con el sustrato como ha sido reportada por distintos autores [63][72] y como se muestra en el diagrama a continuación:



En el grupo de trabajo anteriormente se estudió que el ligante H<sub>2</sub>OxIm (Figura 6.2.27) presenta reactividad en su forma neutra y tiene una constante de rapidez de segundo orden de  $0.20 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ , que es similar a lo obtenido para este ligante. Además, se observa un  $pK_a$  cinético aparente para esa especie de 10.7, el cual no se encontró en ninguna de las titulaciones (Figura 6.2.27), solo se observa en presencia del sustrato, por lo que es razonable pensar que en el caso del ligante PyAmOx-NF suceda algo similar.



**H<sub>2</sub>OxIm**

$pK_a$  titulaciones:

12.64, 12.01, 5.86, 4.20

$pK_a$  aparente por cinética:

12.6, 12.0, 10.7, 4.8

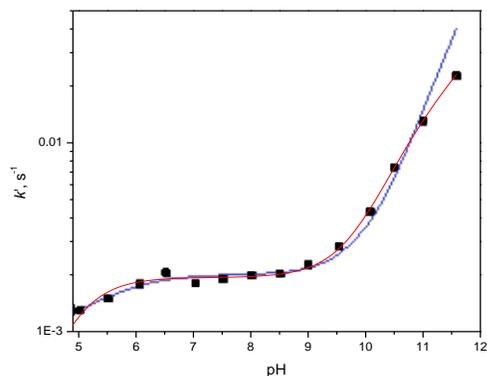


Figura 6.2.27. Estructura del ligante H<sub>2</sub>OxIm y valores de  $pK_a$  obtenidos mediante titulaciones potenciométricas y estudios cinéticos. El gráfico representa el ajuste de los datos cinéticos a los dos modelos [27].

Por lo tanto, de los estudios cinéticos podemos ver que el ligante presenta reactividad hacia NPA, que es del orden esperado para una amidoxima, y que además tenemos otra especie que contribuye poco a la reactividad observada a valores menores de pH, esta especie tiene un  $pK_a$  de 9.47 que solo se observa por cinética, por lo que al comparar la reactividad de este ligante con la de PyAmOx observamos diferencias en valores de pH menores que 11, como se muestra en la figura 6.2.28.

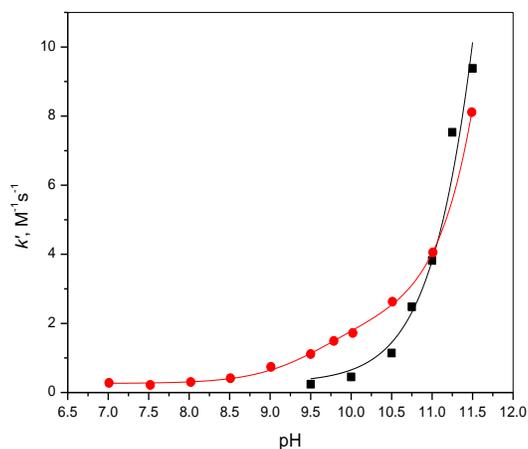


Figura 6.2.28. Constante de velocidad de segundo orden,  $k' \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ , para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en presencia de (■) PyAmOx y (●) PyAmOx-NF en función del pH a 25°C. MOPS, EPPS, CHES o CAPS 50 mM, 2% MeCN.

Para analizar la reactividad de las especies presentes en disolución acuosa hacia NPA, con las constantes de formación obtenidas por potenciometría, se obtuvo la distribución de especies del ligante mediante el programa *HySS*. Posteriormente se sobrepusieron los valores de las constantes observadas de primer orden en función del pH a una concentración fija de ligante (obtenidas de los estudios cinéticos y corregidas restando la contribución del medio cuando  $[\text{PyAmOx-NF}] = 0$  a cada valor de pH), eso con la finalidad de ver qué especies son las que tienen reactividad hacia NPA. (Figura 6.2.29)

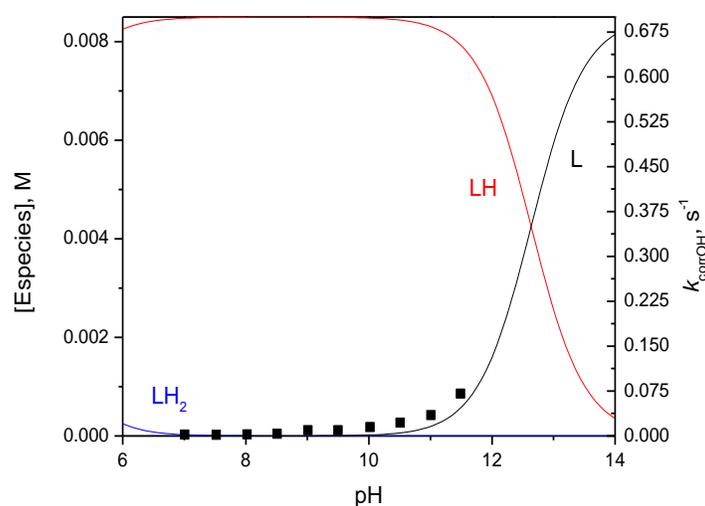


Figura 6.2.29. Distribución de especies del ligante PyAmOx-NF para una concentración de 8.56 mM, sobrepuesto con las constantes de velocidad de primer orden para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en presencia de PyAmOx-NF 8.56 mM a diferentes valores de pH. Los puntos representan las constantes y las líneas sólidas las especies presentes.

En la comparación anterior podemos notar que el ligante completamente desprotonado es la especie que más contribuye con la reactividad hacia NPA, ya que los datos cinéticos siguen la forma de la curva de la concentración de esta especie, sin embargo, como vimos antes existe una contribución que no es despreciable y que involucra a la amina.

## Estudios cinéticos con cationes metálicos

Se realizaron estudios cinéticos con el ligante PyAmOx-NF en presencia de Cd(II) y Zn(II), debido a que en varios estudios previos hemos observado que son los que presentan mayor reactividad esterolítica, manteniendo el pH constante y variando la concentración de ligante y metal teniendo un ligero exceso de metal en cada caso, para la hidrólisis de NPA.

Los datos de absorbancia en función del tiempo se ajustaron a la ecuación (2) (sección 5.7) para calcular las constantes de primer orden  $k_{obs}$  y se corrigieron por la contribución del  $OH^-$  medio. En la tabla 6.2.8 y 6.2.9 se muestran los valores de las constantes obtenidas corregidas  $k_{corrOH}$  para ambos metales.

Tabla 6.2.8. Constantes de velocidad de primer orden corregidas para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración de [L]=PyAmOx-NF y Cd(II) para diferentes valores de pH (MOPS, EPPS 50 mM) a 25°C, 2% MeCN.

[L]	[Cd]	$k_{corrOH} \times 10^4 \text{ (s}^{-1}\text{)}$			
		pH 7.01	pH 7.52	pH 8.02	pH 8.51
0.085	0.1	0.13	0.08	0.24	0.37
0.17	0.2	0.33	0.39	1.03	5.01
0.34	0.4	0.85	1.88	3.06	6.37
0.51	0.6	1.62	2.65	6.50	16.20
0.68	0.8	2.46	4.59	11.40	37.20
0.85	1.0	3.50	7.37	17.60	60.00

Tabla 6.2.9. Constantes de velocidad de primer orden corregidas para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración de [L]=PyAmOx-NF y Zn(II) para diferentes valores de pH (MOPS, EPPS 50 mM) a 25°C, 2% MeCN.

[L]	[Zn]	$k_{corrOH} \times 10^4 \text{ (s}^{-1}\text{)}$		
		pH 7.01	pH 7.52	pH 8.02
0.085	0.1	0.08	0.19	0.73
0.17	0.2	0.52	1.16	0.73
0.34	0.4	1.89	4.12	4.27
0.51	0.6	4.04	8.86	14.30
0.68	0.8	6.75	17.30	30.80
0.85	1.0	10.70	27.20	50.50

Con ambos metales, las constantes observadas son mayores que las que se observan con el ligante libre a estos valores de pH, además hay una diferencia clara entre la reactividad de ambos metales, ya que el Zn es más reactivo a valores de

pH menores, sin embargo, en pH 8.5 se observó que precipitaba el hidróxido de zinc, a diferencia del de cadmio que precipitó hasta pH 9, por lo que vemos que con este grupo adicional, este ligante no logra formar complejos lo suficientemente estables para medir en un mayor intervalo de pH. Asimismo, se comparó la reactividad de estos complejos con la de los complejos de PyAmOx en condiciones similares y en la figura 6.2.30 y 6.2.31 se muestran los gráficos de las constantes observadas en función de la concentración total de ligante y metal de ambos ligantes en presencia de cadmio y zinc.

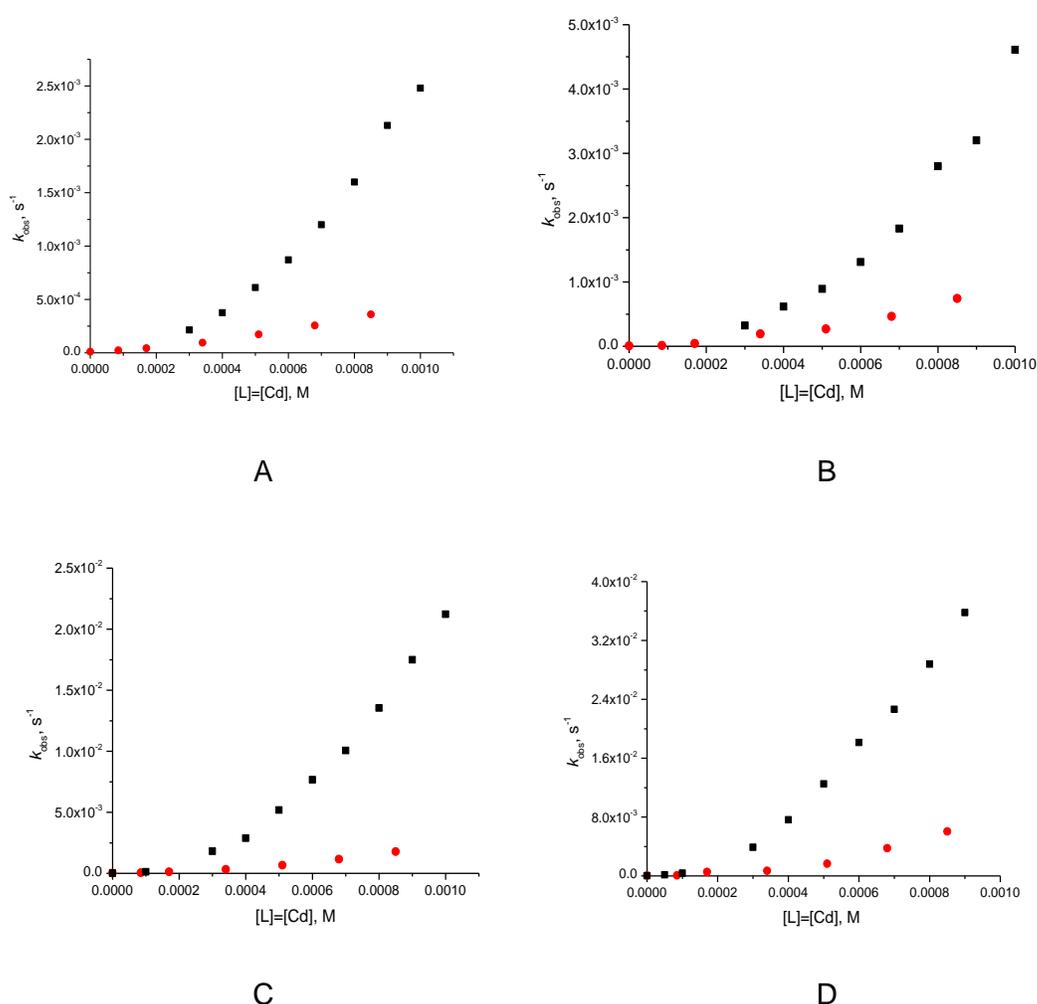


Figura 6.2.30. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua (Buffer 50 mM, 2% MeCN) para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración total de ligante y cadmio (■) L= PyAmOx (●) L=PyAmOx-NF, a diferentes valores de pH A) 7.01 (MOPS), B) 7.50 (MOPS), C) 8.02 (EPPS), D) 8.51 (EPPS).

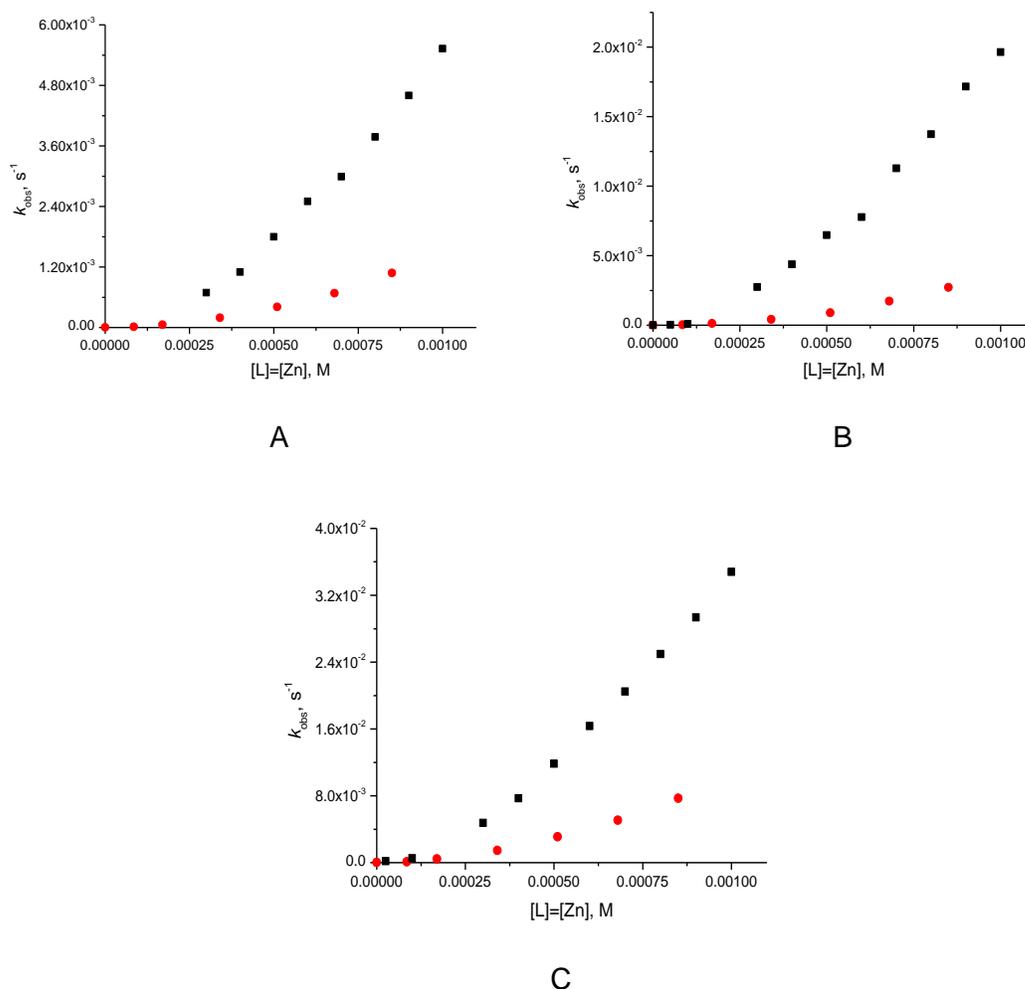
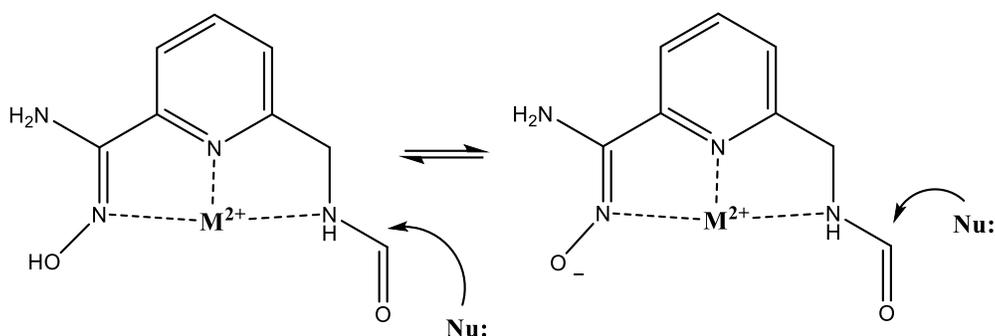


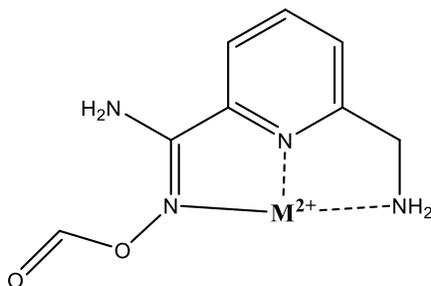
Figura 6.2.31. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua (Buffer 50 mM, 2% MeCN) para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración total de ligante y zinc (■) L= PyAmOx (●) L=PyAmOx-NF, a diferentes valores de pH A) 7.01 (MOPS), B) 7.50 (MOPS), C) 8.02 (EPPS).

Al hacer las comparaciones podemos notar que, tanto con cadmio como con zinc, las constantes observadas son menores cuando se usa el ligante PyAmOx-NF, en algunos casos la disminución es de hasta 6 veces respecto al ligante PyAmOx, esto se debe a que la presencia del grupo formilo en la estructura del ligante no favorece la formación de complejos metálicos suficientemente reactivos.

Otra posible explicación es que, cuando se coordinan los cationes metálicos, estos catalizan la desformilación de la amina, ya que al coordinarse modifican la densidad electrónica por lo que este sitio es susceptible para un ataque nucleofílico como se muestra en el siguiente esquema:



En este caso los nucleófilos presentes en disolución son iones  $\text{OH}^-$  y el complejo  $\text{ML}^+$  que se forma al desprotonarse la oxima, por lo que si el nucleófilo es  $\text{ML}^+$ , se formaría la oxima formilada y se generaría el grupo amina de forma similar a lo que se propuso al analizar las titulaciones del ligante:



Si esto ocurre, generaría que el grupo oximato, que es el nucleófilo, no esté completamente disponible para realizar la hidrólisis del sustrato, además al estar en una concentración mucho menor, sería más probable que ocurriera la reacción de desformilación que la hidrólisis de NPA y por lo tanto observamos esa disminución en la reactividad en comparación con el ligante PyAmOx, este mecanismo sería interesante, sin embargo, se requieren más experimentos para estudiarlo, los cuales quedan fuera de los límites de este trabajo.

Así podemos decir que el grupo amidoxima tiene la reactividad que se busca, y el ligante PyAmOx-NF es más adecuado para formar parte de otro ligante que para formar directamente complejos catalíticos en la hidrólisis de ésteres carboxílicos y fosfatos.

### 6.3 Modificación covalente de un dendrímico

Debido a que en este trabajo se estudiaron las reacciones de hidrólisis de NPA y ésteres fosfato catalizadas por complejos metálicos de PyAmOx en medios supramoleculares y se encontraron resultados alentadores, se planteó estudiar esta catálisis, pero modificando covalentemente el dendrímico G0 como se mostró en la figura 5.8.3. Para ello se partió de 2-acetil-6-bromopiridina para obtener 2-acetil-6-cianopiridina para posteriormente condensar la cetona a los grupos amino terminales del dendrímico y después realizar la reducción de las iminas formadas,

Para obtener 2-acetil-6-cianopiridina se probaron diferentes procedimientos, el primero se muestra en la figura 6.3.1, esta metodología se encontró reportada para distintos bromuros de heteroarilo para formar los correspondientes nitrilos [73].

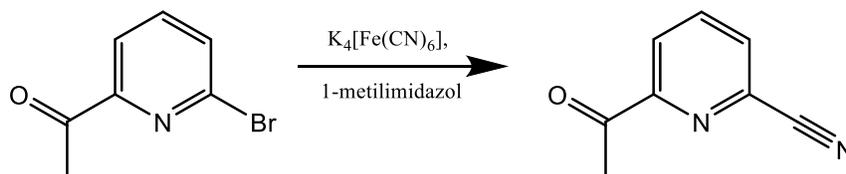


Figura 6.3.1. Esquema de reacción para la síntesis de 2-acetil-6-cianopiridina con 1-metilimidazol como disolvente.

Esta reacción se repitió en diferentes condiciones, primero se realizó en un tubo de presión, en la línea de vacío agregando el disolvente directamente del frasco y finalmente se realizó una tercera prueba secando el disolvente con KOH y haciendo la adición mediante una cánula manteniendo en todo momento el sistema bajo atmósfera inerte. Sin embargo, no se pudo obtener un rendimiento mayor al 15% a pesar de que se reportan rendimientos mayores al 90%, aunque estos rendimientos están reportados mediante cromatografía de gases de mezclas de reacción, es decir, de productos no aislados, para compuestos que no tienen el grupo piridina [73]. Así que al emplear piridinas con cetonas como sustituyentes que completan la sustitución en las posiciones 2,6, la síntesis resultó ser más complicada. Buscando mejorar el rendimiento, se buscó otra metodología y se encontró que podían obtenerse arilcianuros utilizando CuCN con DMSO como disolvente utilizando microondas [74] (Figura 6.3.2.)

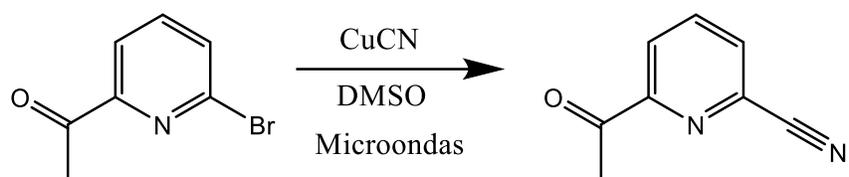


Figura 6.3.2. Esquema de reacción para la síntesis de 2-acetil-6-cianopiridina utilizando microondas

En este procedimiento, al igual que en el anterior, no se utilizaba la misma piridina como materia prima y tampoco con los mismos sustituyentes, a pesar de esto se obtuvo el producto y se logró aumentar el rendimiento a un 20% reduciendo el tiempo de reacción a de 16 horas a 1 hora.

Finalmente se decidió hacer la reacción siguiendo un procedimiento encontrado en una patente [75] utilizando NaCN, CuI y DMF como se mostró en la figura 5.8.4 de la metodología (sección 5.8), donde también se describió el procedimiento experimental con más detalle. De esta reacción se obtuvo como máximo un rendimiento de 30% por lo que se decidió trabajar con este procedimiento, se obtuvo el producto y se caracterizó mediante <sup>1</sup>H RMN e IR.

En el espectro de IR, es clara la formación del nitrilo al comparar la materia prima con el producto (Figura 6.3.3), se puede observar la aparición de la banda en 2232 cm<sup>-1</sup> en el producto que corresponde a la presencia del nitrilo y además observamos la banda de la vibración C=O de la cetona alrededor de 1700 cm<sup>-1</sup>, que por la presencia del nitrilo aparece ligeramente desplazada. FTIR (reflectancia, cm<sup>-1</sup>) 3427w, 3254w, 3067w, 2929w, 2232w, 1702s, 1613m, 1527s, 1442m, 1360m, 1261m, 1079m, 993m, 815m, 772s, 661w, 565m.

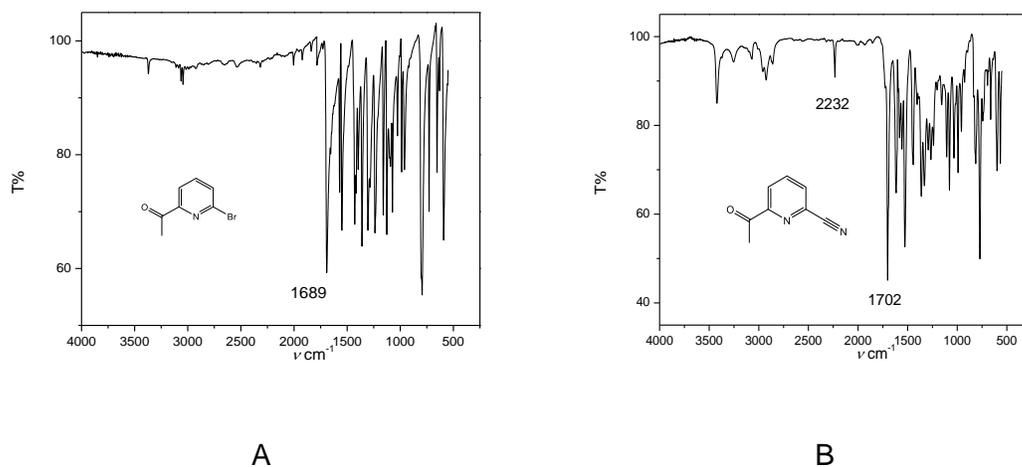


Figura 6.3.3. Espectros de IR de A) 2-acetil-6-bromopiridina B) 2-acetil-6-cianopiridina.

En el espectro de <sup>1</sup>H RMN podemos observar el desplazamiento de las señales de los protones aromáticos de 7.95ppm a 8.26ppm por la presencia del nitrilo, se conserva la señal de los protones del metilo de la cetona (Figura 6.3.4). <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.26 (m, 3H), 2.65 (s, 3H).

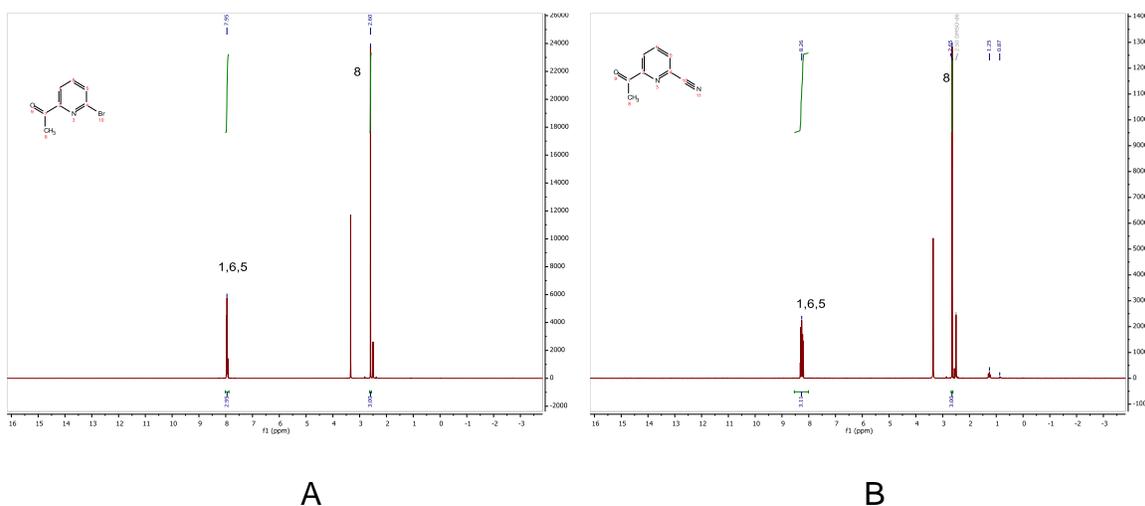


Figura 6.3.4. Espectro de RMN <sup>1</sup>H de A) 2-acetil-6bromopiridina B) 2-acetil-6-cianopiridina

Una vez caracterizado el producto, se realizó la condensación con el dendrímero como se muestra en la figura 6.3.5.

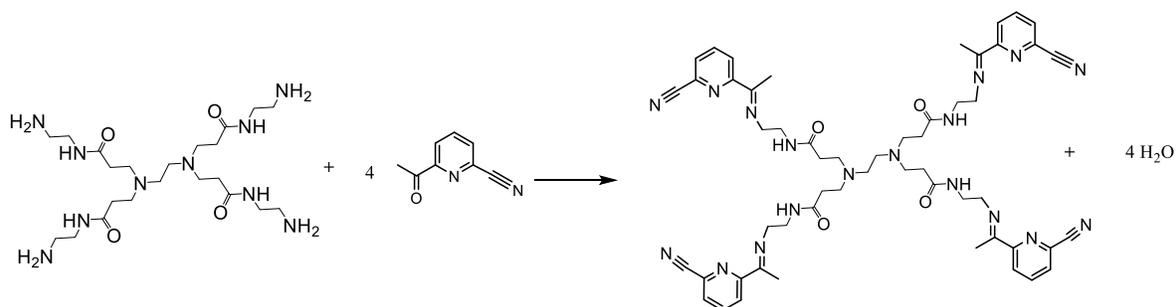


Figura 6.3.5. Esquema de reacción para la condensación de 2-acetil-6-cianopiridina con un dendrímero PAMAM G0.

En la reacción anterior se intentó separar el producto por columna, pero al ser una imina se descompone, por lo que en la misma mezcla de reacción se hizo la reducción de la imina con borohidruro de sodio (aminación reductiva). Bajo estas condiciones el nitrilo también se reduce para formar la amina correspondiente, esto lo pudimos ver por IR (Figura 6.3.6) donde se nota que la banda en  $2200\text{ cm}^{-1}$  no está presente, además no se pudo caracterizar por resonancia ya que el producto obtenido no es suficientemente soluble en ninguno de los disolventes deuterados que se tenían disponibles para este análisis (DMSO, cloroformo, metanol, agua).

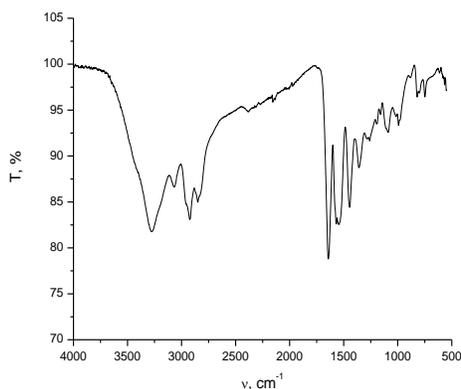


Figura 6.3.6. Espectros de IR de 2-acetil-6-cianopiridina condensado con dendrímero G0 después de la reducción con  $\text{NaBH}_4$ .

Al realizar esta reacción pudimos notar que la ruta planteada en un principio para modificar el dendrímero no sería posible, debido a que no encontramos un agente que nos permitiera una reducción selectiva, y como resultado el nitrilo se redujo junto con la imina, por lo que no se podría realizar la reacción con hidroxilamina

para formar la amidoxima y el dendrímero ya no tendría la terminal nucleofílica que se planteaba incorporar, (como se muestra en la figura 6.3.7).

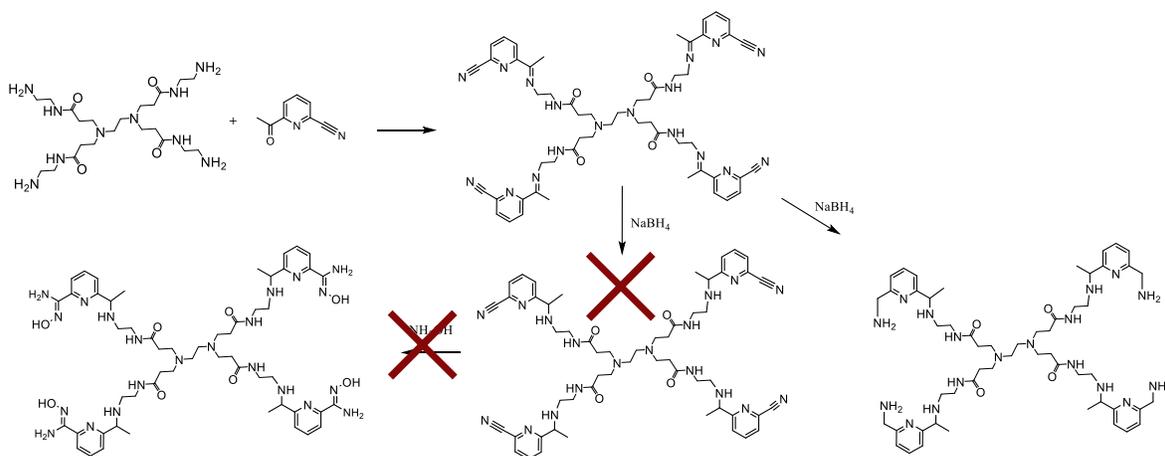


Figura 6.3.7. Esquema de síntesis para la modificación del dendrímero PAMAM G0.

Esperando que el nitrilo se redujera a una amina, se podría intentar condensar butanodiona monoxima y posteriormente hacer la reducción, de este modo tener una oxima como se muestra en la figura 6.3.8. Sin embargo, el problema principal era investigar si la condensación entre el dendrímero y una cetona de una piridina en posición 2,6 era posible, por lo que se decidió realizar la síntesis mostrada en la figura 5.8.6. partiendo de 2,6-diacetilpiridina monoxima.

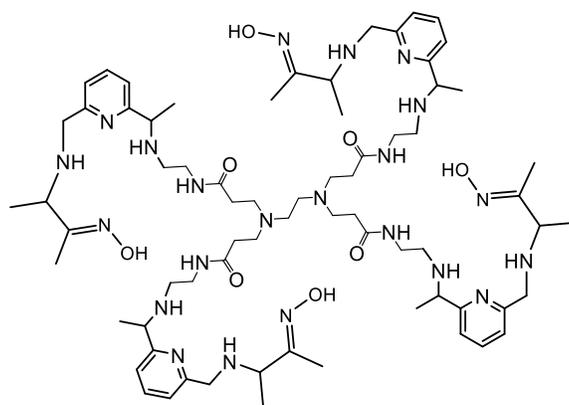
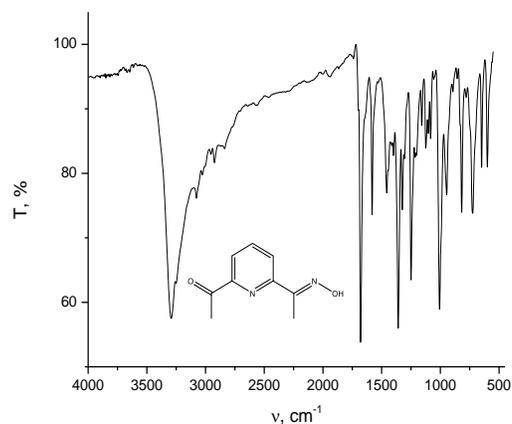


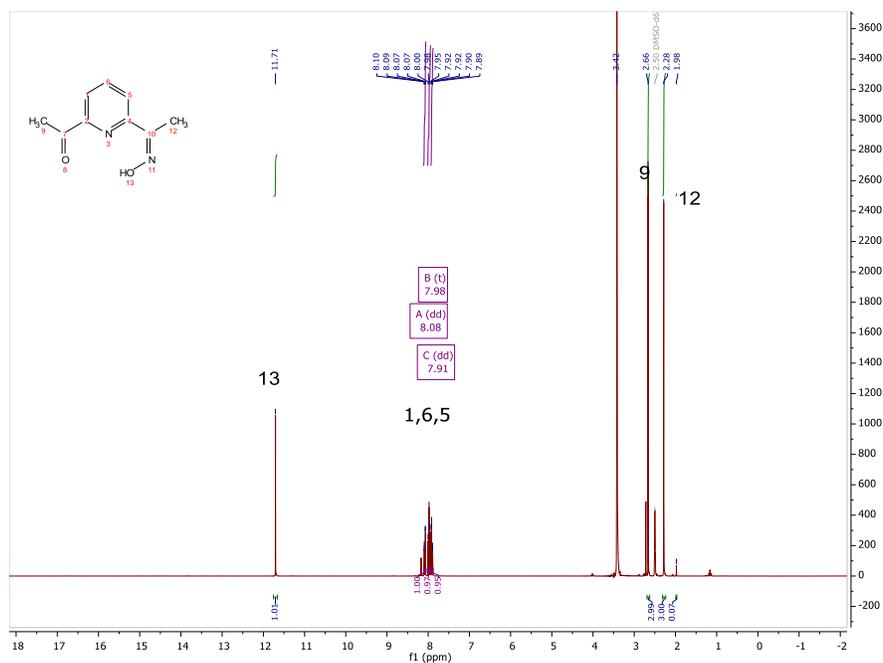
Figura 6.3.8. Estructura de un dendrímero modificado con 2-acetil-6-cianopiridina y butanodionamonoxima.

La síntesis de 2,6-diacetilpiridina monoxima se realizó siguiendo un procedimiento ya reportado [76], como se mostró en la figura 5.8.5. Se obtuvo 2,6-diacetilpiridina monoxima y se caracterizó mediante IR y <sup>1</sup>H RMN como se muestra en la figura

6.3.9. FTIR (reflectancia,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3286b, 3075w, 1680s, 1580s, 1454m, 1360s, 1326m, 1250s, 1156w, 1119w, 1006s, 943m, 816m, 729, 647m, 597m;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  11.71 (s, 1H), 8.08 (dd,  $J = 7.8, 1.3$  Hz, 1H), 7.98 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 7.91 (dd,  $J = 7.6, 1.3$  Hz, 1H), 2.66 (s, 3H), 2.28 (s, 3H).



A



B

Figura 6.3.9. A) Espectro de IR de 2,6-diacetilpiridina monoxima B) Espectros de  $^1\text{H}$  RMN de 2,6-diacetilpiridina monoxima.

Una vez obtenida la monoxima, se intentó realizar la condensación con el dendrímero G0 de acuerdo con el procedimiento descrito en la sección 5.8., del

producto obtenido se obtuvieron los espectros de IR y de  $^1\text{H}$  RMN y se compararon tanto con los del dendrímero como con los de 2,6-diacetilpiridina monoxima (Figura 6.3.10. y 6.3.11)

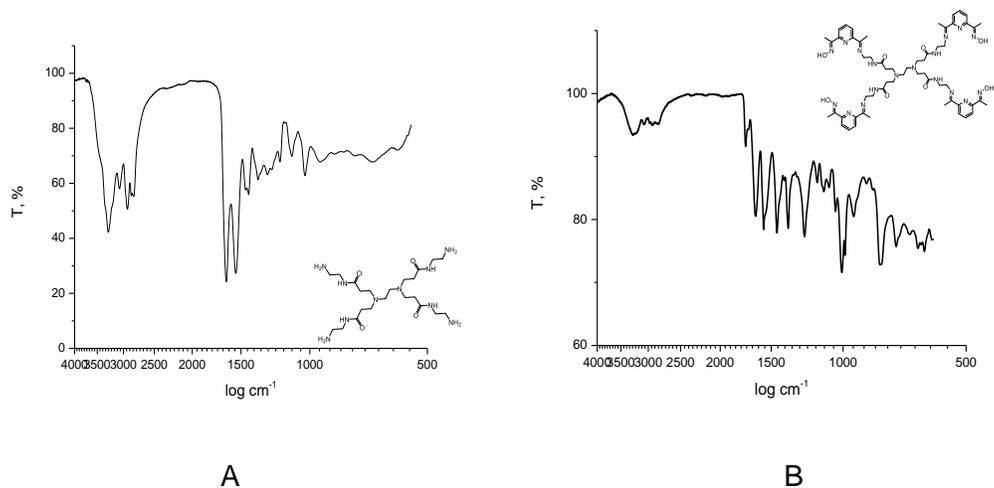
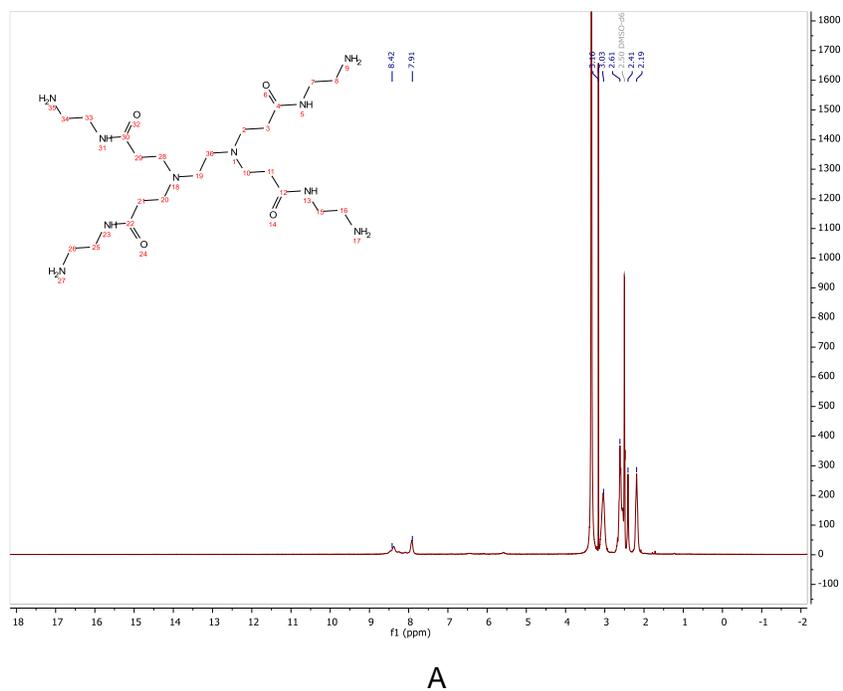
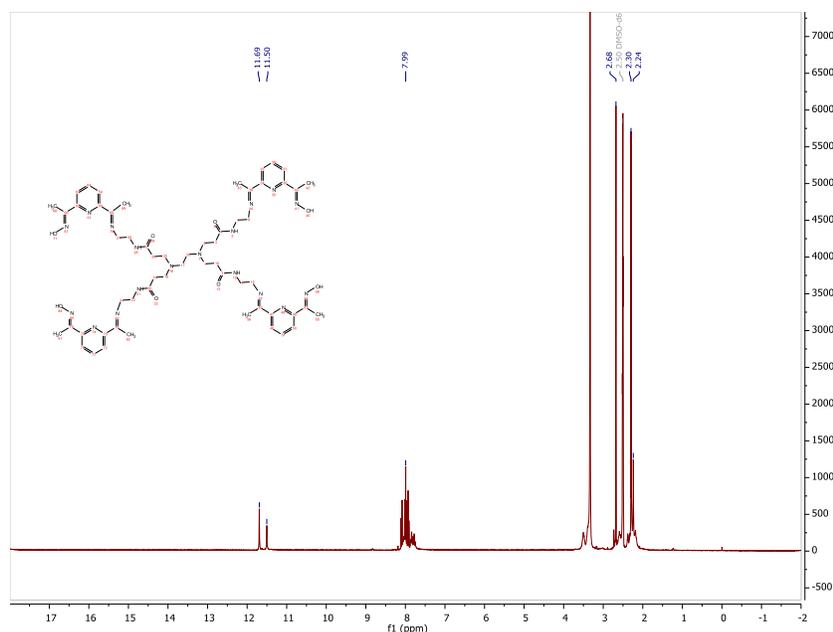


Figura 6.3.10. Espectros de IR A) Dendrímero PAMAM G0 B) Producto de la reacción entre 2,6-diacetilpiridina monoxima y el dendrímero G0.



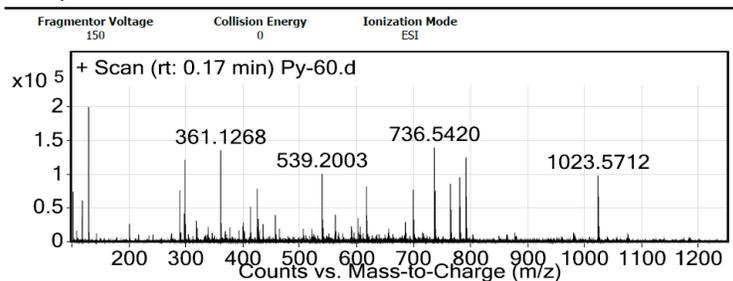


B

Figura 6.3.11. Espectros de <sup>1</sup>HRMN A) Dendrímtero PAMAM G0 B) Producto de la reacción entre 2,6-diacetilpiridina monoxima y el dendrímtero G0.

Lo que pudimos notar de esta reacción fue que al usar exceso de la oxima para realizar la condensación y por la similitud en la solubilidad, no se pudo separar completamente la imina de la oxima sin reaccionar, tanto en resonancia como en IR podemos ver que tenemos una mezcla de ambos y la cantidad formada de imina es muy pequeña, indicando que la condensación es demandante. Para esta reacción se probaron diferentes condiciones sin embargo el dendrímtero puede hidrolizarse si se emplean temperaturas por encima de 80°C y tiempos de reacción mayores a 48 horas, por lo que no es conveniente elevar demasiado la temperatura, y la oxima al ser un nucleófilo puede también reaccionar con el dendrímtero incluso con la imina formada desfavoreciendo la formación del producto deseado. Además, por espectrometría de masas por ESI (Figura 6.3.12) no se observó la formación del producto deseado ya que el pico (m/z) no coincide con el calculado. m/z: 1156.641 o con alguna fragmentación.

## User Spectra



## Peak List

<i>m/z</i>	<i>z</i>	Abund
129.1022	1	201617.53
298.3464	1	127389.38
361.1268	1	136184.91
539.2003	1	104455.63
617.2583	1	82023.86
736.542	1	141360.4
764.5726	1	89270.23
780.5673	1	96652.94
791.5475	1	129338.92
1023.5712	1	98371.72

Figura 6.3.12. Espectro de masas por ESI para el producto de la reacción entre 2,6-diacetilpiridina monoxima y el dendrímero G0.

Para evitar que la oxima pudiera estar afectando la reacción, se protegió la oxima de acuerdo con un procedimiento ya reportado [77] como se muestra en la figura 6.3.13.

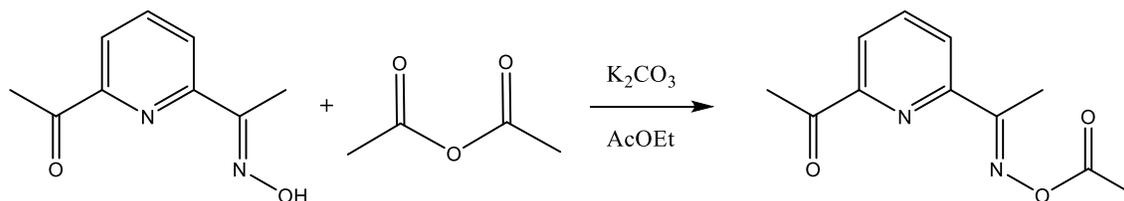
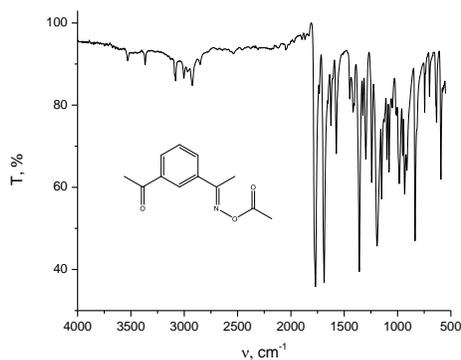
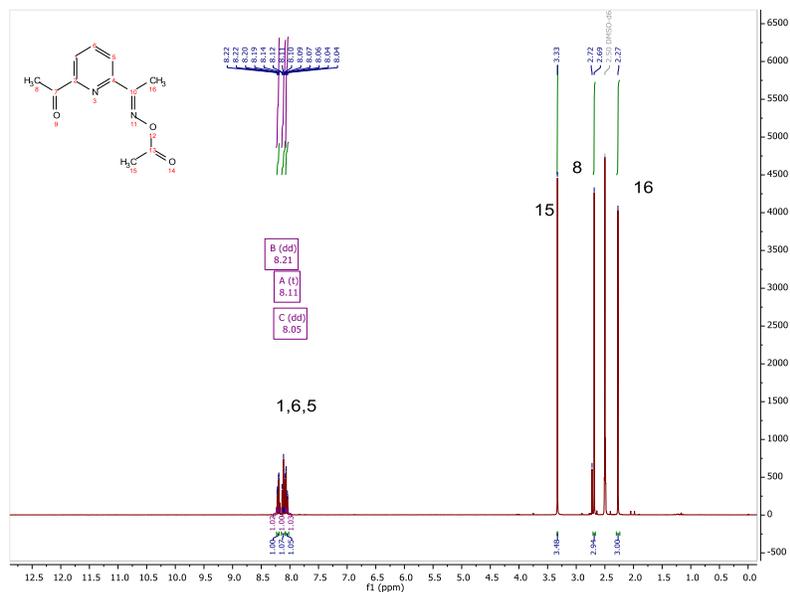


Figura 6.3.13. Esquema de reacción para formar la oxima acetilada.

Se obtuvo la oxima acetilada y se caracterizó satisfactoriamente mediante espectroscopia de infrarrojo y  $^1\text{H NMR}$  (Figura 6.3.14). FTIR (reflectancia,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3530w, 3366w, 3083w, 3000w, 2925w, 1767s, 1687s, 1623m, 1573m, 1449w, 1414w, 1360s, 1295m, 1244m, 1194s, 1148m, 1079m, 984m, 933m, 836s, 746w, 701w, 636m, 594s;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.21 (dd,  $J = 7.6, 1.5$  Hz, 1H), 8.11 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 8.05 (dd,  $J = 7.6, 1.5$  Hz, 1H).



A



B

Figura 6.3.14. A) Espectro de IR de 2,6-diacetilpiridina monoxima acetilada B) Espectros de <sup>1</sup>H RMN de 2,6-diacetilpiridina monoxima acetilada.

Una vez caracterizada la oxima acetilada se realizó la misma reacción para condensar el dendrímero sin embargo el resultado fue similar y además, al hacer la reacción la oxima se desprotege (la desacetilación procede relativamente fácil), por lo que no fue posible realizar la modificación del dendrímero siguiendo las rutas de síntesis planteadas.

Una de las principales causas fue que la cetona de la piridina no es tan reactiva y al no poder elevar demasiado la temperatura la reacción se vuelve más difícil, ya que solo se puede modificar el tiempo de reacción, sin embargo, los tiempos de reacción utilizados fueron de hasta 1 semana sin resultados mucho más favorables. Por lo que el principal problema en esta síntesis es que la cetona no condensa en condiciones en las que el dendrímero no se degrada.

## 7. Análisis de los resultados cinéticos en medios supramoleculares

Lo primero que se estudió fue el efecto del pH tanto para el tensoactivo como para los dendrímeros, como vimos el efecto del tensoactivo no depende del pH, sin embargo, en los dendrímeros si, por lo que al hacer la hacer un diagrama de distribución de las especies del dendrímero G0 con los valores de  $pK_a$  ya reportados [78][79] podemos ver que a un valor de pH 7 los grupos amino externos se encuentran casi totalmente protonados como se muestra en las figuras 7.1 y 7.2.

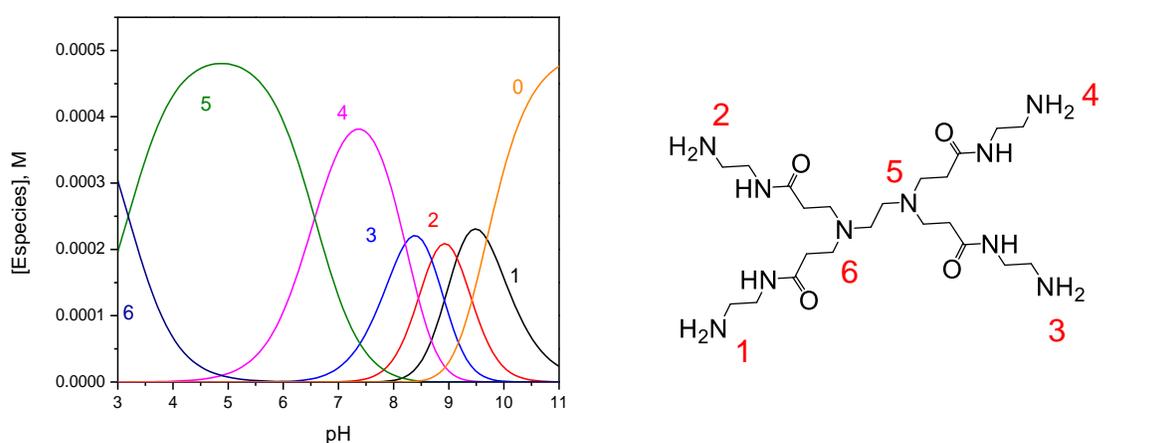


Figura 7.1. Diagrama de distribución de especies del dendrímero G0 0.5 mM en función del pH. Se muestra la estructura del dendrímero con los protones numerados.

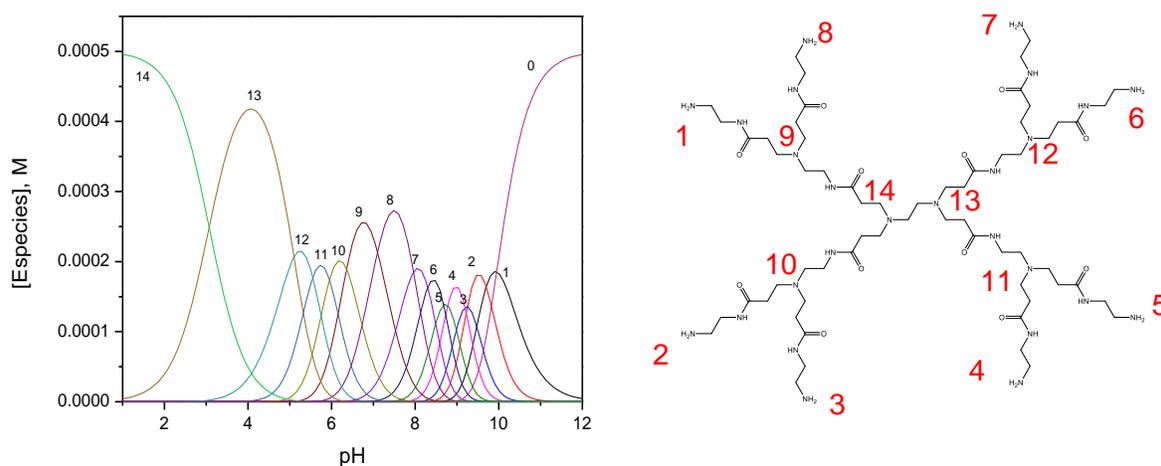


Figura 7.2. Diagrama de distribución de especies del dendrímero G1 0.5 mM en función del pH. Se muestra la estructura del dendrímero con los protones numerados.

Ya que los grupos  $\text{NH}_2$  pueden actuar como nucleófilos, se evaluó la contribución de estos grupos, considerando que la reactividad nucleofílica de una amina primaria hacia NPA es del orden de  $0.03 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  [25], y utilizando la concentración de “amina libre” total, es decir, considerando a todos los grupos amino desprotonados del dendrímero de acuerdo con el diagrama de distribución de especies, las concentraciones calculadas de “amina libre total” ( $[\text{NH}_2]_{\text{total}}$ ) así como las constantes de rapidez esperadas se muestran la tabla 7.1.

Tabla 7.1. Concentración total de amina libre  $[\text{NH}_2]_{\text{total}}$  y constante de rapidez esperada,  $k_{\text{obs}}$  ( $\text{s}^{-1}$ ) calculada para los grupos amino de los dendrímeros G0 y G1.

pH	G0		G1	
	$[\text{NH}_2]_{\text{total}}$ (M)	$k_{\text{obs}}$ ( $\text{s}^{-1}$ )	$[\text{NH}_2]_{\text{total}}$ (M)	$k_{\text{obs}}$ ( $\text{s}^{-1}$ )
7.0	$2.24 \times 10^{-5}$	$6.71 \times 10^{-7}$	$2.25 \times 10^{-5}$	$6.75 \times 10^{-7}$
7.5	$8.34 \times 10^{-5}$	$2.50 \times 10^{-6}$	$1.28 \times 10^{-4}$	$3.83 \times 10^{-6}$
8.0	$2.50 \times 10^{-4}$	$7.51 \times 10^{-6}$	$4.51 \times 10^{-4}$	$1.35 \times 10^{-5}$
8.5	$5.96 \times 10^{-4}$	$1.79 \times 10^{-5}$	$1.10 \times 10^{-3}$	$3.31 \times 10^{-5}$

Con las consideraciones realizadas, y tomando como referencia la contribución de los grupos amino, no se observa una contribución importante, sin embargo, se ha reportado que la contribución por aminólisis de los dendrímeros puede ser significativo ( $V_0 = 8.6 \times 10^{-9} \text{ M/s}^{-1}$  a pH 8.5,  $[\text{NPA}] = 0.014 \text{ M}$   $[\text{G4}] = 0.1 \text{ mM}$  [58]) por lo que, para hacer un análisis detallado, se debe medir a las condiciones de trabajo y restar esta contribución para hacer comparaciones cuantitativas. Al incrementar la generación de dendrímero aumentamos el número de grupos amino que pueden actuar como nucleófilos, sin embargo, vemos que en pH 7 esta contribución es pequeña, y sólo se vuelve más importante al incrementar el pH.

Este comportamiento es similar para los dendrímeros de mayor generación por lo que los cambios en el pH afectan la protonación del dendrímero y por lo tanto la carga total y la estructura en disolución, lo que a su vez modifica su capacidad de interactuar con los nucleófilos y el sustrato, como vimos al hidrolizar NPA con el ligante PyAmOx y cadmio, en la figura 7.3 se muestra la comparación cuando se utiliza el dendrímero G1 en pH 7 y pH 8.5, y es evidente que en pH 8.5 el dendrímero

ya no está teniendo un efecto sobre la reactividad, a diferencia de CTAB donde se encontró que el incremento era constante en distintos valores de pH.

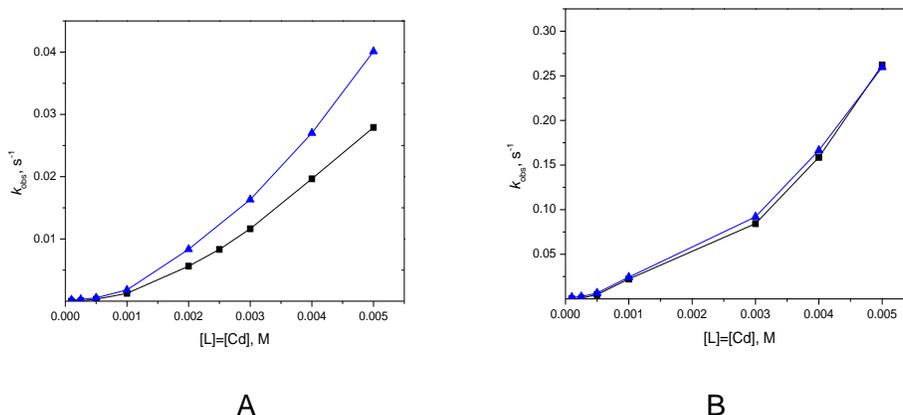


Figura 7.3. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua (MOPS, EPPS 50 mM, 2% MeCN) para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración total de  $[L]=[Cd]$  (■) ausencia y (▲) presencia de dendrímero G1 0.5 mM, para diferentes valores de pH: A) 7.16 B) 8.50

Otro aspecto estudiado fue cómo afecta la generación del dendrímero y la concentración de las especies reactivas, en la figura 7.4 se muestra la comparación de la reactividad del ligante PyAmOx en presencia de cadmio y zinc para la hidrólisis de NPA en presencia y ausencia de dendrímeros de diferentes generaciones y el tensoactivo CTAB.

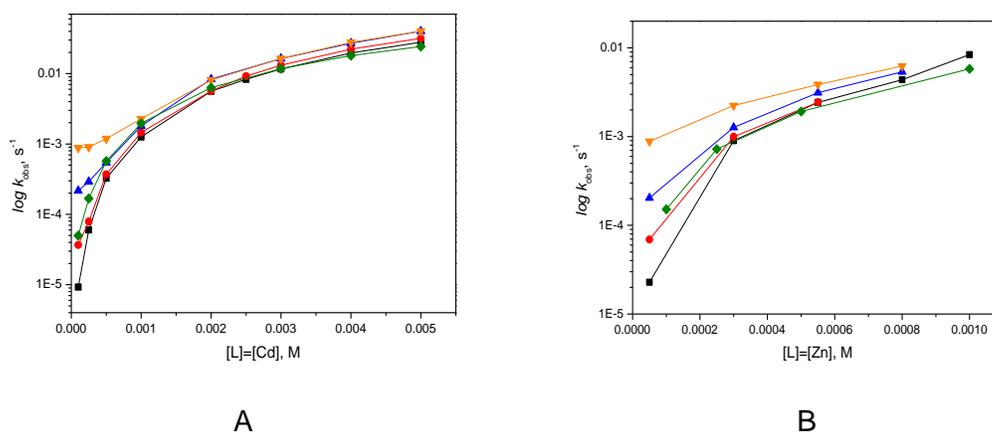


Figura 7.4. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua pH 7.00 (MOPS, EPPS 50 mM, 2% MeCN) para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración total de  $[L]=[M]$  (■) ausencia y presencia de dendrímero 0.5 mM, (●) G0, (▲) G1, (▼) G4, (◆) CTAB A) M=Cd B) M=Zn

Lo que podemos notar en el caso de los dendrímeros es que, conforme la generación del dendrímero incrementa, el efecto catalítico relativo es mayor. Esto se interpreta como un incremento de los sitios en donde pueden incluirse las especies. Para ambos cationes metálicos los mayores efectos catalíticos se observan cuando la concentración  $[L]=[M]$  es menor que la del dendrímero empleado, esto debido a que conforme se incrementa la concentración de las especies reactivas respecto a la del dendrímero la contribución de las especies reactivas que no están incluidas en el dendrímero se vuelve mayor, ya que la constante observada puede expresarse como:

$$k_{obs} = k_{OH}[OH] + k_L[L] + k_{ML}[ML] + k_{OH_{Dend}}[OH]_{Dend} + k_{L_{Dend}}[L]_{Dend} + k_{ML_{Dend}}[ML]_{Dend} + k_{NH_2-Dend}[NH_2 - Dend] \quad (3)$$

En la que la constante observada se expresa como una suma de las constantes de segundo orden ( $M^{-1}s^{-1}$ ) multiplicadas por la concentración molar de cada especie en la disolución y dentro del dendrímero.

En este caso, debido a que se trabajó a pH 7, la contribución a la hidrólisis por la concentración de  $OH^-$  puede despreciarse ( $1.4 \times 10^{-6} s^{-1}$ ), así como la del ligante desprotonado ( $3.7 \times 10^{-7} s^{-1}$ ), ya que las concentraciones son del orden de  $10^{-9} M$ , por lo tanto, la constante observada puede expresarse como:

$$k_{obs} = k_{ML_{Dis}}[ML]_{Dis} + k_{ML_{Dend}}[ML]_{Dend} + k_{NH_2-Dend}[NH_2 - Dend] \quad (4)$$

Con esto en cuenta, si la concentración de ML en el seno de la disolución es mucho mayor que la concentración en el dendrímero, la constante observada es igual a la suma que se obtiene de ambas, esto también puede aplicarse a CTAB, donde en lugar del dendrímero se tiene la fase micelar.

Otro aspecto relevante estudiado fue el cambio de la constante observada en función de la concentración de dendrímero y tensoactivo para la hidrólisis de NPA, en la figura 7.5 se muestran gráficos de la constante observada en función de la

concentración de dendrímero G1, G4 y CTAB por el ligante PyAmOx en presencia de cadmio y zinc.

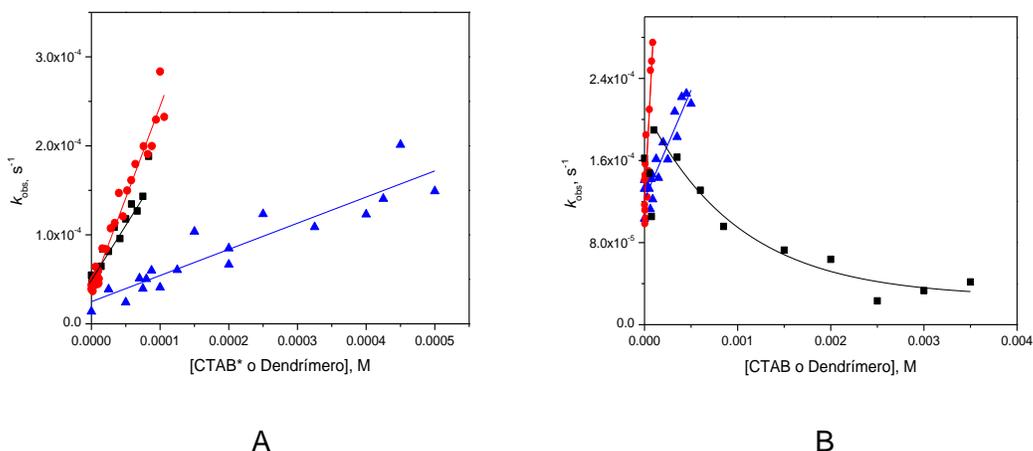


Figura 7.5. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración de (■) CTAB (▲) G1 (●) G4, pH 7.00, MOPS 50 mM, concentración total de  $[L]=0.5$  mM,  $[M]=0.1$  mM. A) M=Cd, B) M=Zn.

Con esta comparación es evidente que los dendrímeros tienen un efecto catalítico mayor que el tensoactivo además de que la concentración utilizada es mucho menor, ya que el tensoactivo debe utilizarse en concentraciones mayores a su CMC, sin embargo con cadmio notamos que al considerar el número de agregación de CTAB el efecto es del mismo orden que el observado con el dendrímero G4, ya que las rectas con CTAB y Pamam G4 en la figura 7.5.A tienen una pendiente muy similar.

En presencia de PyAmOx y zinc, notamos que la adición de CTAB disminuye la rapidez de hidrólisis de los ésteres estudiados debido a que el zinc forma varias especies en disolución con diferente carga y estequiometría y es posible que no todas se incluyan en las micelas o que las que se incluyen modifiquen los equilibrios en disolución.

Además se comparó el efecto que tiene el dendrímero G4 sobre la reactividad del ligante PyAmOx libre y en presencia de cationes metálicos en la hidrólisis de NPA como se muestra en la figura 7.6.

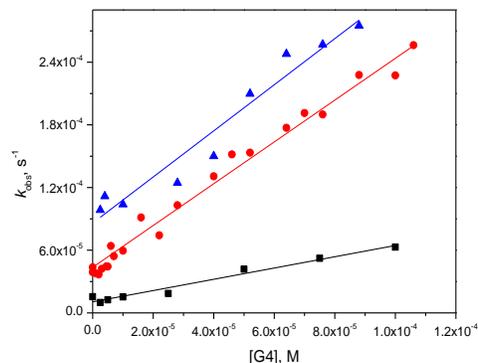


Figura 7.6. Constantes observadas de primer orden ( $k_{obs}$ ) a 25°C pH 7.00, MOPS 50 mM en agua para la hidrólisis de NPA 0.05 mM en función de la concentración de dendrímero G4 (■) [L]=0.5 mM (●) [L]=[Cd]=0.1 mM (▲) [L]=[Zn]=0.1 mM.

Como puede observarse, el ligante en ausencia de cationes metálicos no presenta un incremento en su reactividad tan relevante como el que se tiene en presencia de cadmio y zinc, además en la comparación de la figura 7.6 el ligante se encuentra cinco veces más concentrado, por lo que la concentración de las especies cinéticamente activas es menor y el efecto real es en realidad mucho más grande.

Respecto a los ésteres fosfato, se estudió el efecto del tensoactivo catiónico CTAB sobre la reactividad de los complejos metal-amidoximato y se comparó con el del dendrímero PAMAM-G4 que fue el que presentó mayor reactividad. Se analizó la reactividad variando la concentración metal:ligante utilizando una concentración fija de CTAB y dendrímero PAMAM-G4 a pH constante y en las figuras 7.7 y 7.8 se muestran las comparaciones para cadmio y zinc respectivamente.

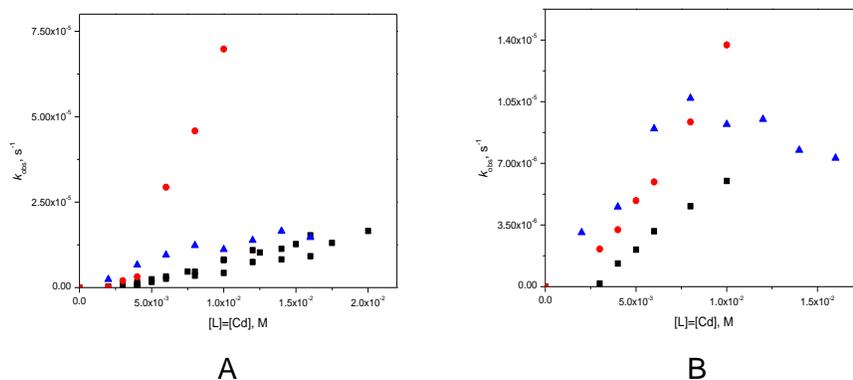


Figura 7.7. Constantes observadas a 25°C para la hidrólisis de A) paraoxón, B) paratión 0.05mM en función de la concentración [L]=[Cd] en (■) ausencia y (●) presencia de dendrímero G4 0.5 mM o (▲) CTAB 5 mM pH 7.00 (MOPS 50 mM)

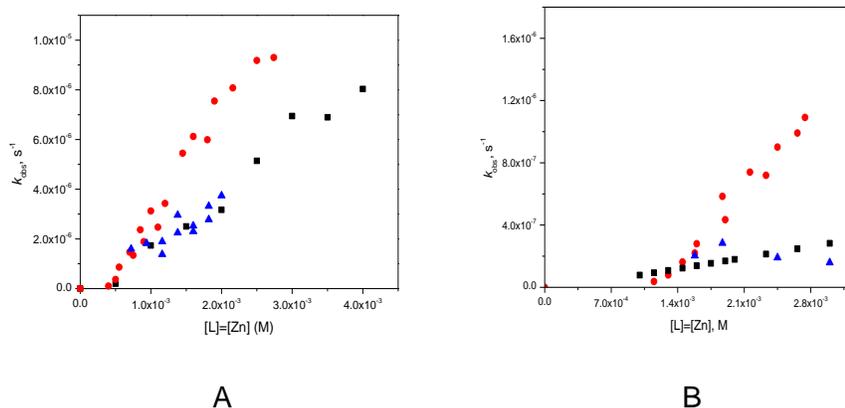


Figura 7.8. Constantes observadas a 25°C para la hidrólisis de A) paraoxón, B) paratión 0.05mM en función de la concentración  $[L]=[Cd]$  en (■) ausencia y (●) presencia de dendrímero G4 0.5 mM o (▲) CTAB 5 mM pH 7.00 (MOPS 50 mM).

Se puede notar que, con ambos metales, para lograr un incremento de la reactividad significativo es necesario utilizar concentraciones grandes de tensoactivo, en este caso 5 veces más concentrado que el dendrímero para lograr tener un efecto similar o incluso mucho menor.

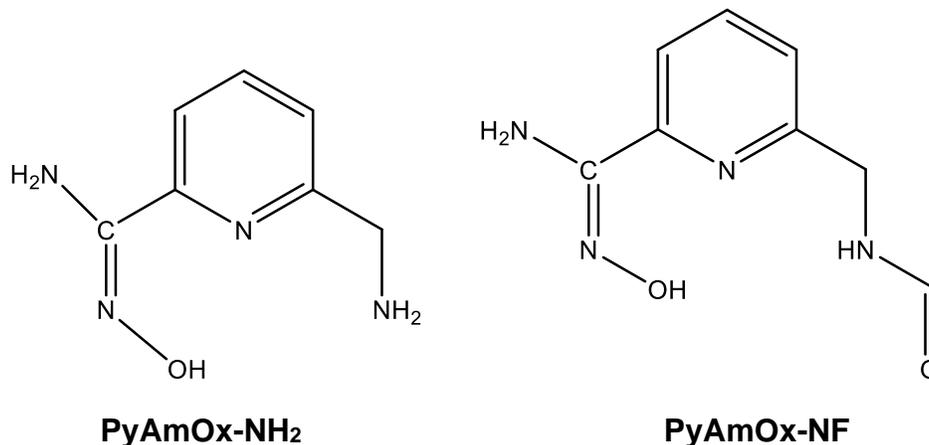
En el caso de cadmio, al utilizar paraoxón si hay un efecto sobre la reactividad al utilizar tensoactivo, pero este es muy pequeño comparado con el que se obtuvo con el dendrímero PAMAM-G4, sin embargo en el caso de paratión al utilizar concentraciones pequeñas de metal:ligante se tiene un efecto comparable al del dendrímero pero después hay una disminución conforme incrementa la concentración.

Con zinc se observó que en la hidrólisis de paraoxón, el añadir CTAB no modifica significativamente la reactividad observada como en el caso del dendrímero PAMAM-G4 donde se observó un incremento notable en las constantes de rapidez observadas. Con paratión los resultados cinéticos fueron similares a los obtenidos con cadmio, en donde se nota un incremento en la reactividad, pero al incrementar la concentración metal ligante el efecto va disminuyendo. Esto puede explicarse con la hidrofobicidad de los sustratos, ya que el paratión al ser el menos soluble puede incluirse en las micelas y no estar disponible para su hidrólisis.

Respecto a la modificación covalente del dendrímero, no fue posible realizar la síntesis, por lo que no se pudo comparar la reactividad cuando el grupo amidoxima está unido covalentemente al dendrímero, sin embargo, estudiar cómo afectan a la reactividad estos medios de reacción supramoleculares al interaccionar de forma no covalente nos proporcionó información importante y en un futuro se espera poder incorporar el grupo deseado al dendrímero.

## 8. Modificación del ligante PyAmOx

Se planteó realizar la modificación del ligante PyAmOx para incorporar en su estructura otro grupo donador que proporcionara mayor estabilidad al formar complejos con cationes metálicos, por lo que se buscaba la síntesis del ligante PyAmOx-NH<sub>2</sub>, sin embargo, por la ruta y las condiciones de síntesis utilizadas, se obtuvo el ligante PyAmOx-NF.



Debido a que el ligante PyAmOx-NF tenía en su estructura la amidoxima y un grupo adicional que pudiera proporcionar estabilidad a los complejos metálicos, se realizaron estudios cinéticos para determinar su reactividad hacia NPA tanto del ligante libre como en presencia de cadmio y zinc. Se encontró que la reactividad del grupo oximato era comparable con la del ligante PyAmOx ( $k_{\text{PyAmOx-NF}} = 61.24 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) y además la basicidad era del mismo orden ( $\text{p}K_{\text{a}} = 12.40$ ).

Un aspecto importante de este ligante fue que, al realizar las titulaciones potenciométricas encontramos que estas no eran reversibles, ya que, al pasar de un medio muy básico a uno ácido, observamos un  $\text{p}K_{\text{a}}$  adicional que es cercano al esperado para la amina del ligante PyAmOx-NH<sub>2</sub>, esto parece indicar que se hidroliza liberando el grupo amino.

Al estudiar la hidrólisis de NPA en presencia de cationes metálicos, pudimos darnos cuenta que la reactividad de los complejos con el ligante PyAmOx-NF era mucho menor que con el ligante PyAmOx, sin embargo, es importante conocer la

reactividad de este fragmento libre para poder, posteriormente analizar la reactividad de los derivados de interés que se puedan sintetizar.

De todas formas, sería deseable obtener el ligante propuesto inicialmente, ya que con una amina primaria proporcionaría mayor estabilidad a los complejos metálicos y probablemente nos permitiría estudiar la reactividad en un intervalo mayor de pH. Además, al realizar una condensación con butanodiona monoxima y después realizar una reducción, se podría obtener un ligante con dos nucleófilos (Figura 7.2.1), una oxima (que se sabe que tiene una alta reactividad en presencia de metales) y una amidoxima que podría servir como nucleófilo adicional para poder desactivar el nucleófilo una vez que se lleva a cabo el ataque nucleofílico al sustrato y lograr complejos que operen en un régimen catalítico hacia ésteres fosfato.

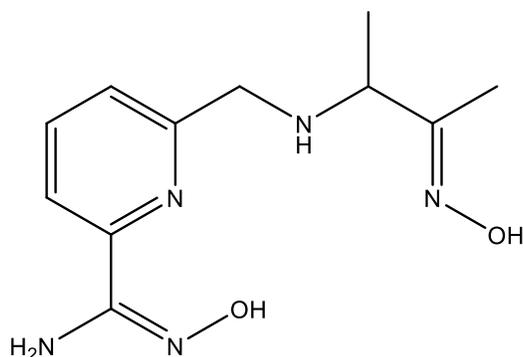


Figura 7.2.1. Estructura propuesta para la incorporación de una oxima al ligante PyAmOx-NH<sub>2</sub>.

## 9. Conclusiones

---

Se evaluó el efecto de medios de reacción supramoleculares en particular de dendrímeros PAMAM y el tensoactivo catiónico CTAB, al interactuar de forma no covalente en la hidrólisis de ésteres carboxílicos y fosfatos catalizada en presencia de complejos metal-oximato del ligante PyAmOx.

Al usar CTAB, al ser un tensoactivo catiónico, el pH no tiene influencia sobre el efecto catalítico observado y las especies reactivas no modifican significativamente su  $pK_a$ .

La reactividad de los complejos metal-oximato, en presencia de CTAB, es diferente al emplear zinc o cadmio: con cadmio la reactividad aumenta alrededor de cinco veces en presencia de tensoactivo, mientras que con zinc la adición de CTAB disminuye la rapidez de hidrólisis de los ésteres estudiados. Con cadmio la única especie activa es  $[CdPyAmOx]^+$ , mientras que con zinc se forman las especies  $[ZnPyAmOx]^+$ ,  $[Zn(PyAmOx)_2]$  y  $[Zn_2(PyAmOx)_2OH]^+$ , por lo que es probable que la inclusión de la especie neutra en la fase micelar de CTAB, disminuya la cantidad de las otras especies activas de zinc.

El efecto de CTAB en la reactividad de los complejos es diferente hacia ésteres carboxílicos y fosfato, ya que con sustratos más hidrofóbicos, como paratión, se observó una disminución de la reactividad.

En presencia de dendrímeros PAMAM de diferentes generaciones, observamos un incremento en la velocidad de reacción de los complejos metal-amidoximato de casi 100 veces, este efecto que se vuelve más relevante conforme incrementamos la generación del dendrímero aunque hay cierta contribución por aminólisis de NPA.

Cuando se utilizan los dendrímeros como medio supramolecular de reacción, el pH óptimo es 7. En este valor de pH, los grupos amino terminales del dendrímero se encuentran protonados favoreciendo una estructura globular con las terminales amino separadas, permitiendo que en sus cavidades haya una mejor interacción entre los sustratos y los complejos metal-amidoximato.

El efecto catalítico de los dendrímeros y del tensoactivo es muy similar al comparar la cantidad de grupos amino y amonio presentes, pero en términos de la cantidad empleada de ambos, con los dendrímeros este efecto se observa a concentraciones mucho menores que las de CTAB.

El uso de dendrímeros permite incrementar la rapidez de la hidrólisis tanto para complejos de zinc como de cadmio con PyAmOx, a diferencia de CTAB en el que los complejos de ambos cationes metálicos tienen un comportamiento opuesto.

Se realizó la síntesis y caracterización del ligante PyAmOx-NF confirmando la estructura propuesta y se determinaron sus constantes de acidez observándose que hay una desformilación de la amina en medios muy básicos.

El valor de  $pK_a$  obtenido para la desprotonación del oxígeno de la amidoxima del ligante PyAmOx-NF es muy cercano al obtenido para PyAmOx ya que el grupo adicional no debería influir mucho sobre la basicidad de este nucleófilo.

La reactividad del ligante PyAmOx-NF hacia NPA corresponde a la esperada para esta amidoxima y se comporta como  $\alpha$ -nucleófilo. Además, hay una especie que presenta reactividad hacia NPA con un  $pK_a$  de 9.5 y que contribuye a la reactividad. Esta especie aparece únicamente en los datos cinéticos y por ello se propone que se deba a una interacción con el sustrato.

En presencia de cationes metálicos, el ligante PyAmOx-NF presenta una mayor reactividad, sin embargo, el hecho de que esté formilado no permite formar complejos más estables que los del ligante PyAmOx. La reactividad hacia NPA es 5 veces menor probablemente debido que el nucleófilo participa en la desformilación de la amina.

## 10. Referencias

---

- [1]. J. Suh, M. Cheong, M. Hyunsoo Han, *Bioorg. Chem.*, **1984**, 12, 188-196.
- [2]. L. Banci and I. Bertini, *Proteins*, **1994**, 18, 2, 186-197.
- [3]. J. Chin, *Acc. Chem. Res.*, **1991**, 24, 145-149.
- [4]. D. Xu, H. Guo, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, 28, 9780-9788.
- [5]. E. Y. Tirel, N. H. Williams, *Chem.*, **2015**, 21, 7053-7056.
- [6]. P. Gómez-Tagle, J. C. Lugo-Gonzalez, A. K. Yatsimirsky, *Chem. Commun.*, **2013**, 49, 7717-7719
- [7]. J. C. Lugo-González, P. Gómez-Tagle, X. Huang, J. M. del Campo, A. K. Yatsimirsky, *Inorg. Chem.*, **2017**, 56, 2060-2069
- [8]. F. Terrier, E. Guével, P. Chatrousse, G. Moutiers, Buncel, E., *Chem. Commun.*, **2013**, 49, 7717-7719.
- [9]. A. P., Grekov, V. Y., Veselov, *Russ. Chem. Rev.*, **1978**, 47, 631-638.
- [10]. J. C. Lugo-González, P. Gómez-Tagle, M. Flores-Alamo, A. K. Yatsimirsky, *Dalton Trans.*, **2020**, 49, 2452–2467.
- [11]. S. Cheng, X. J. Zeng, *Dispers. Sci. Technol.* **2000**, 21, 655.
- [12]. I. K. Martin, L. J. Twyman, *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 1123–1126.
- [13]. J. Pan, S. Liu, H. Jia, J. Yang, M. Qin, T. Zhou, Z. Chen, X. Jia, T. Guo, *J. Catal.*, **2019**, 380, 83–90.
- [14]. A. P. López, *Tesis de Licenciatura*, Universidad Nacional Autónoma de México, **2017**.
- [15]. E. Rodríguez-Gonzalo, M. J. Sánchez-Martín, M. Sánchez-Camazano, *Toxicol. Environ. Chem.*, **1993**, 37, 157-163.
- [16]. S. Choi, T. P. Thomas, P. Leroueil, A. Kotlyar, A. L. Van Der Spek, J. R. Baker, *J. Phys. Chem. B*, **2012**, 112, 10387-10397.
- [17]. R. Sharma, B. Gupta, T. Yadav, S. Sinha, A.K. Sahu, Y. Karpichev, K.K. Ghosh, *ACS Sustain. Chem. Eng.*, **2016**, 4, 6962–6973.
- [18]. J. Edwards, R. Pearson, *J. Am. Chem. Soc.*, **1962**, 84, 16-24.
- [19]. S. Hoz, E., Buncel, *Israel J. Chem.*, **1985**, 26, 313–319.
- [20]. F. Degorre, D. Kiffer, F. Terrier, *J. Med. Chem.*, **1998**, 31, 757-760.
- [21]. F. Terrier, P. MacCormack, E. Kizilian, J. Halle, P. Demerseman, F. Guir, C. Lion, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **1991**, 2, 1, 153-157.

- [22]. F. Mancin, P. Tecilla, U. Tonellato, *Eur. J. Org. Chem.*, **2000**, 1045-1048.
- [23]. A. K. Yatsimirsky, P. Gómez-Tagle, S. Escalante-Tovar, L. Ruiz-Ramírez, *Inorg. Chim. Acta*, **1998**, 273, 167-174.
- [24]. A. K. Yatsimirsky, G.M. Kazankov, A. D. Ryabov, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **1992**, 2, 1295-1298.
- [25]. W.P. Jencks, D. Carriulo, *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82, 1778-1785.
- [26]. E. Alpizar, *Tesis de Licenciatura*, Universidad Nacional Autónoma de México, **2017**.
- [27]. E. Alpizar, *Tesis de Maestría*, Universidad Nacional Autónoma de México, **2019**.
- [28]. F. Terrier, E. Le Guével, P. Chatrousse, G. Moutiers, E. Bunzel, *Chem. Comm.*, **2003**, 14, 600-601.
- [29]. I. W. Um, E. J. Lee, E. Bunzel, *J. Org. Chem.*, **2001**, 66, 4859-4864.
- [30]. J. Suh, H. Han., *Bioorg. Chem.*, **1984**, 2, 177-187.
- [31]. R. Breslow, D. Chipman., *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, 87, 4195-4196.
- [32]. J., Suh, *Acc. Chem. Res.*, **1992**, 25, 272-279.
- [33]. J. Suh, M., Cheong, M. P., Suh., *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, 104, 1654-1657.
- [34]. W. Hu, B. Xie, Y. Wang, J. Xie, X. Meng, J. Du, C. Hu, X. Zeng, *Dispers. Sci. Technol.* **2007**, 28, 860-868.
- [35]. P. López-Cornejo, R. Jiménez, M. L. Moya, F., Sánchez, *Langmuir*, **1996**, 12, 21, 4981-4986.
- [36]. A. Blaskó, C. A., Bunton, S., Wright, *J. Phys. Chem.* **1993**, 97, 5435-5439.
- [37]. J. Budka, F. Hampl, F. Liska, P. Scrimin, P. Tecilla, U. Tonellato, *J Mol. Catal. A-Chem.*, **1996**, 104, L201-L203.
- [38]. F. Mancin, P. Tecilla, U. Tonellato, *Langmuir*, **2000**, 16, 1, 227-233.
- [39]. J. M. Neugebauer, *Academic Press*, **1990**, 182, 239-253.
- [40]. J. Suh, M. Cheong, M. H. Han, *Bioorg. Chem.*, **1984**, 12, 188-196.
- [41]. N. Mehio, M. A. Lashely, J. W. Nugent, L. Tucker, B. Correia, C. Do-Thanh, S. Dai, R. D. Hancock, V. S. Bryantsev, *J. Phys. Chem. B*, **2015**, 119, 3567-3576.
- [42]. A.S. Emad, A. Nezar, A. Al-Azzaw, M.H. Al-Abady, *B. Korean Chem. Soc.*, **2011**, 55, 5, 733-740.
- [43]. P. T. Wong, S. Bhattacharjee, J. Cannon, S. Tang, K. Yang, S. Bowden, V. Varnau, J. J. O'onek, S. Ki Choi, *Org. Biomol. Chem.*, **2019**, 17, 3951-3963.

- [44]. M. Pittelkow, K. Moth-Poulsen, U. Boas, J. B. Christensen, *Langmuir*, **2003**, 19, 18, 7682-7684.
- [45]. K. G. Rajesh, K. Sreekumar. *Eur. J. Org. Chem.*, **2008**, 28, 4763-4768.
- [46]. R. Esfand, D. A. Tomalia, *Drug. Discov. Today*, **2001**, 6, 8, 427-436.
- [47]. I. J. Majoros, A. Myc, T. P. Thomas, C., Mehta, J. R. Baker Jr, *Biomacromolecules*, **2006**, 7, 2, 572-579.
- [48]. B. Singh R. Kapil, S. Bandyopadhyay, O. P. Katare, *Pharmaceutics*, **2009**, 4, 9, 34-43.
- [49]. D. Soto-Castro, A. Evangelista-Lara, P. Guadarrama, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 62, 51, 2116-12125.
- [50]. I. Lee, B. D. Athey, A. W. Wetzel, W. Meixner, J. R. Baker, *Macromolecules*, **2002**, 35, 4510-4520.
- [51]. D. A. Tomalia, H. Baker, J. Dewald, M. Hall, G. Kallos, S. Martin, J. Roeck, J. Ryder, P. Smith, *Poly. J.*, **1985**, 17, 117-132.
- [52]. G. Newkome, A. Mishra, C. N. Moorefield, *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 11, 3957-3960.
- [53]. J. M. Landeros, H. A. Silvestre, P. Guadarrama, *J. Mol. Struct.*, **2013**, 1037, 412–419.
- [54]. L. M. Sallam, T. C. Shiao, C. Sehad, A. Azzouz, R. Roy, *MRS Adv.*, **2019**, 4, 59, 3187-3198.
- [55]. V. K. Yellepeddi, A. Kumar, S. Palakurthi. *Expert Opin. Drug Del.*, **2009**, 6,8, 835-850.
- [56]. E. Delort, T. Darbre, J. Reymond, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 15642-15643.
- [57]. Z. Lyua, T. Dinga, K. Penga, *Mater. Today Chem.*, **2019**, 13, 34-48.
- [58]. J. L. Burnett, A. S. H. King, I. K. Martin, L. J. Twyman, *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43, 2431–2433.
- [59]. B. Helms, J. M. J. Frechet, *Catalysis Adv. Synth. Catal.* **2006**, 348, 1125-1148
- [60]. J. L. Burnett, A. S. H. King, L. J. Twyman, *React. Funct. Polym.* **2006**, 66 187–194.
- [61]. M. H. Kleinman, J. H. Flory, D. A. Tomalia, N. J. Turro, *J. Phys. Chem. B*, **2000**, 104, 48, 11472-11479.
- [62]. A. Johansson, S. Johansson, *The analyst*, **1978**, 103, 305-309.
- [63]. E. Bernasek, *Org. Chem.*, **1957**, 22, 1263–1263.

- [64]. J. D. Aubort, R. F. Hudson, *Chem. Commun.*, **1969**, 22, 1342-1343.
- [65]. P. J. Tummino, A. Gafni, *Biophys. J.*, **1993**, 64, 1580-1587.
- [66]. A. K. Yatsimirski, K. Martinek, I. V. Berezin, *Tetrahedron Lett.*, **1971**, 27, 2855-2868.
- [67]. L. Wei, Z. Ming, Z. Jinli, Han, Yongcai, *Front. Chem. China*, **2006**, 1, 438-442.
- [68]. C. C. Wamser, L. T. Scott, *J. Chem. Educ.*, **1985**, 62, 650-652.
- [69]. E. Lévesque, W. S. Bechara, L. Constantineau-Forget, G. Pelletier, N. M. Rachel, J. N. Pelletier, A. B. Charette, *J. Org. Chem.*, **2017**, 82, 5046–5067.
- [70]. G. P. Ellis, T. M. Romney-Alexander, *Chem. Rev.*, **1987**, 87, 779-794.
- [71]. R. B. Sonawane, N. K. Rasal, D. S. Bhange, S. V. Jagtap, A. F. Popov, E. A. Karpichev, *Chem. Cat. Chem.* **2018**, 10, 3907-3913.
- [72]. Y. S. Simanenko, T. M. Prokop'eva, I. A. Belousova, *Theor. Exp. Chem.*, **2001**, 37, 5, 288-295.
- [73]. T. Schareina, A. Zapf, W. Mägerlein, N. Müller, M. Beller, *Synlett*, **2007**, 4, 555–558.
- [74]. M. Ghaffarzadeh, M. Bolourtchian, M. R. Halvagar, M. Hosseini, *J. Chem. Research (S)*, **2003**, 814–815.
- [75]. R. A. Snow, W. Chester, D. J. Delecki, C. R. Shah, *Estados Unidos de América*, **1998**, Patent #5760191.
- [76]. A. Resendis, *Tesis de Licenciatura*, Universidad Nacional Autónoma de México, **2011**.
- [77]. G. Stübs, B. Rupp, R. R. Schumann, N. W. J. Schröder, J. Rademann, *Chem. Eur. J.* **2010**, 16, 3536 – 3544.
- [78]. A. Buczkowski, P. Urbaniak, J. Stawowska, S. Romanowski, B. Palecz, *J. Mol. Liq.*, **2012**, 171, 54–59.
- [79]. D. Cakara, J. Kleimann, M. Borkovec, *Macromolecules*, **2003**, 36, 4201-4207.

## Apéndice I

### Determinación de $k_{obs}$ a partir de método integral

La ecuación cinética para la reacción de hidrólisis del éster NPA se expresa de la siguiente manera:

$$\frac{d[NP^-]}{dt} = k[NPA][Nuc] \quad (1)$$

Se considera que es de orden uno respecto a cada especie, además en las condiciones utilizadas se trabajó siempre en exceso de nucleófilo, por lo que esta concentración se mantiene prácticamente constante en función del tiempo y esto permite tener una ecuación cinética de pseudoprimer orden para la aparición de nitrofenol que se expresa como:

$$\frac{d[NP^-]}{dt} = k_{obs}[NPA] = -\frac{d[NPA]}{dt} \quad (2)$$

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

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

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

Y se tiene el balance de masas para NPA como se muestra a continuación:

$$[NPA] = [NPA]_o - [NP^-] \quad (5)$$

Para obtener una dependencia en función de la concentración de NPA inicial se sustituye la concentración de NPA en la ecuación (4) y se despeja la concentración de  $NP^-$ :

$$[NPA]_o - [NP^-] = [NPA]_o e^{-k_{obs}t} \quad (6)$$

$$[NP^-] = [NPA]_o - [NPA]_o e^{-k_{obs}t} \quad (7)$$

$$[NP^-] = [NPA]_o(1 - e^{-k_{obs}t}) \quad (8)$$

Recordando la ley de Lambert-Beer, y considerando que se cumple en nuestro sistema, esta relaciona proporcionalmente el producto del coeficiente de absorción molar, la concentración y la longitud que atraviesa la luz en el medio con la absorbancia:

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

Teniendo en cuenta que el paso óptico que se utilizó fue de 1 cm de longitud, y que la absorbancia del  $NP^-$  se monitoreó a una longitud de onda de 400 nm, la absorbancia de la especie en función de la concentración se puede expresar como:

$$A^{400} = \epsilon_{NP^-}^{400} [NP^-] \quad (10)$$

Si se despeja la concentración de  $NP^-$  de la ecuación (10), se sustituye en la ecuación (8) y se despeja la absorbancia a 400 nm se obtiene la siguiente expresión:

$$A^{400} = \epsilon_{NP^-}^{400} [NPA]_o (1 - e^{-k_{obs}t}) \quad (11)$$

Además, a un tiempo infinito, habrá una conversión completa del NPA inicial:

$$A^{400} = A_{inf}^{400} (1 - e^{-k_{obs}t}) \quad (12)$$

Sin embargo, la lectura se realiza a un tiempo ( $t_0$ ), de forma que habrá una concentración inicial del producto, debida al tiempo de transformación no monitoreado igual a ( $A_0$ ) por lo que la ecuación final queda expresada como:

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

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

### Determinación de la $k_{obs}$ a partir del método de rapidez inicial

La ecuación cinética que expresa la rapidez inicial de hidrólisis del NPA para tiempos cortos tiene la siguiente forma:

$$\frac{d[NP^-]_o}{dt} = k[NPA]_o[Nuc] \quad (14)$$

Si se cumple la ley de Lambert-Beer para el cambio de  $[NP^-]$  se tiene:

$$\frac{d[NP^-]}{dt} = \frac{d\left(\frac{A_{NP^-}}{\varepsilon_{NP^-}}\right)}{dt} = \frac{1}{\varepsilon_{NP^-}} \frac{d(A_{NP^-})}{dt} \quad (15)$$

Al considerar tiempos muy cortos de conversión y sustituir en la ecuación (15) se tiene la siguiente expresión:

$$\left(\frac{1}{\varepsilon_{NP^-}} \frac{d(A_{NP^-})}{dt}\right)_{t \rightarrow 0} = k_{obs}[NPA]_o \quad (16)$$

Donde  $k_{obs} = k[Nuc]_o$ . y para tiempos pequeños esta ecuación corresponde a una línea recta. Por lo que se puede considerar que la rapidez inicial de reacción será:

$$v_o = \left(\frac{dA_{NP^-}}{dt}\right)_{t \rightarrow 0} \quad (17)$$

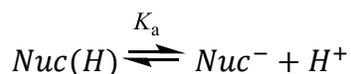
Y al sustituir  $v_o$  en la ecuación (16) se obtiene:

$$\frac{1}{\varepsilon_{NP^-}} v_o = k_{obs}[NPA]_o \quad (18)$$

$$k_{obs} = \frac{v_o}{\varepsilon_{NP^-}[NPA]_o} = \frac{v_o}{(A_{inf} - A_0)} \quad (19)$$

### Determinación de la constante de disociación ácida de los nucleófilos

Para calcular el valor de la constante de disociación ácida de los nucleófilos, se consideró el siguiente equilibrio:



Del cual la constante de disociación ácida se expresa como:

$$K_a = \frac{[Nuc^-][H^+]}{[Nuc(H)]} \quad (20)$$

Realizando un balance de masas:

$$[Nuc(H)]_o = [Nuc(H)] + [Nuc^-] \quad (21)$$

Además de acuerdo con la ley de Lambert-Beer, la absorbancia de la disolución, para una celda de 1 cm de paso óptico está dada por:

$$Abs = \varepsilon_1[Nuc(H)] + \varepsilon_2[Nuc^-] \quad (22)$$

Despejando del balance de masas el nucleófilo protonado,  $[Nuc(H)]$ , y sustituyéndolo en la ecuación 22 se obtiene:

$$Abs = \varepsilon_1([Nuc(H)]_o - [Nuc^-]) + \varepsilon_2[Nuc^-] \quad (23)$$

Despejando de la ecuación 20 la concentración del nucleófilo desprotonado,  $[Nuc^-]$ , sustituyendo en la ecuación 23, y asociando términos se obtiene la siguiente ecuación:

$$Abs = \varepsilon_1[Nuc(H)]_o + (\varepsilon_2 - \varepsilon_1) \frac{[H^+][Nuc^-]}{K_a} \quad (24)$$

Sustituyendo en el balance de masa por la especie  $[Nuc^-]$  de la ecuación (20):

$$[Nuc(H)]_o = \frac{[H^+][Nuc^-]}{K_a} + [Nuc^-] = [Nuc^-] \left( \frac{[H^+]}{K_a} + 1 \right)$$

$$[Nuc^-] = \frac{[Nuc(H)]_o}{\left( \frac{[H^+]}{K_a} + 1 \right)} \quad (25)$$

Finalmente, sustituyendo la ecuación (25) en la (24) y reacomodando la expresión se obtiene la ecuación (26):

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

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

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

(26)

En su forma logarítmica y sustituyendo el producto del coeficiente de absorptividad y la concentración por la absorbancia se obtiene la ecuación:

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

(27)

## Apéndice II

---

### **Procedimiento experimental de la síntesis de la figura 6.2.1.**

La síntesis mostrada en la figura 6.2.1 se realizó como se describe a continuación: Se disolvieron 150 mg (1.27 mmol) de 6-metil-2-piridincarbonitrilo en 2 mL de acetonitrilo seco, después se añadió una disolución de 225.9 mg (1.27 mmol) de NBS en 2 mL de acetonitrilo lentamente durante 15 minutos, finalmente se agregaron 9.2 mg de luperox disueltos en 2 mL de acetonitrilo (3% mol) y se calentó a reflujo, se colocó una lámpara de luz UV por 4 horas, después se dejó en reflujo 24 horas más. Se evaporó el disolvente y purificó el producto en una columna de alúmina con una mezcla de hexano: acetato de etilo 7:1. (rendimiento 50%). En varias repeticiones de esta síntesis se obtuvo siempre una mezcla entre el producto deseado y la materia prima, por lo que, como el siguiente paso involucra la formación de un aducto con hexametilentriamina y ésta no reacciona con halogenuros, se tomaron 1.145 g de mezcla (4.23 mmol de producto) y se disolvieron en 5 mL de cloroformo, luego se agregaron 652 mg de hexametilentriamina y se mantuvo en reflujo por 6 horas. Se obtuvo un precipitado amarillo que se separó por filtración.

El producto anterior se disolvió en 1 mL de etanol y 1 mL de agua y se agregaron 160  $\mu$ L de hidroxilamina en disolución, se mantuvo en agitación y se calentó a 85°C por dos horas. Después se evaporó el disolvente a sequedad y se agregaron 3 mL de etanol y 2 mL de HCl 12 M, se calentó a reflujo por 16 horas. Se dejó enfriar y se filtró el cloruro de amonio formado. A la disolución restante se le ajustó el pH a 9 agregando NaOH, y se evaporó el disolvente a sequedad.