

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA



**ACTIVACIÓN BIOMIMÉTICA DE AMIDOXIMAS E
HIDRÓLISIS DE ÉSTERES DE INTERÉS AMBIENTAL**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

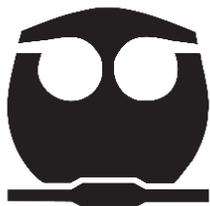
QUÍMICA

PRESENTA

ALEJANDRA PILAR LÓPEZ PACHECO

Ciudad Universitaria, Cd. Mx.,

2017





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Dra. Silvia Elena Castillo Blum
VOCAL: Dra. Claudia Paola Gómez-Tagle Chávez
SECRETARIO: Dr. José Enrique Barquera Lozada
1er. SUPLENTE: Q. Alan Ulises Mendieta Martínez
2° SUPLENTE: M. en C. Guillermo Durán Solares

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

ASESOR DEL TEMA:

Dra. Claudia Paola Gómez-Tagle Chávez

SUSTENTANTE:

Alejandra Pilar López Pacheco

Agradecimientos

Agradezco el apoyo recibido por parte de DGAPA-UNAM-PAPIIT a través del Proyecto IN214514 y de la Facultad de Química de la UNAM a través de recursos PAIP.

Agradezco el apoyo recibido del Subprograma 127 "Formación Básica en Investigación".

Índice

Símbolos y abreviaturas	3
Resumen	4
1. Introducción.....	5
2. Antecedentes	6
3. Hipótesis	15
4. Objetivos	15
4.1 Objetivo principal	15
4.2 Objetivos particulares	15
5. Metodología	17
5.1 Reactivos	17
5.2 Equipo	21
5.3 Software	22
5.4 Síntesis del ligante	22
5.4 Condiciones generales	23
5.5 Titulaciones potenciométricas	23
5.6 Titulaciones espectrofotométricas.....	25
5.7 Estudios cinéticos.....	25
5.8 Obtención de espectros de masas por ESI-QTOF	26
6. Resultados y Discusión	27
6.1 Síntesis del ligante PyAmOx	27
Análisis elemental	27
Resonancia magnética nuclear.....	27
Espectroscopía de infrarrojo	30
6.2 Equilibrios	31
Benzamidoxima	31
Piridinamidoxima	35
Piridinamidoxima-Metales	38

Salicilamidoxima	57
Salicilamidoxima-Metales	60
6.3 Estudios Cinéticos	65
Benzamidoxima	65
Benzamidoxima-Metales	75
Piridinamidoxima	78
Piridinamidoxima-Metales	87
Salicilamidoxima	112
Salicilamidoxima-Metales	122
6.4 Análisis global de resultados	130
7. Conclusiones	133
8. Bibliografía	135
Apéndice	140
Determinación de k_{obs} a partir de método integral	140
Determinación de la k_{obs} a partir del método de rapidez inicial	142
Determinación de la constante de disociación ácida de los nucleófilos	143

Símbolos y abreviaturas

Abs	Absorbancia
A_0	Valor límite de la absorbancia al tiempo inicial
A_{inf}	Valor de la absorbancia al tiempo infinito
BenzAmOx	Benzamidoxima
PyAmOx	2-Piridinamidoxima
SalAmOx	Salicilamidoxima
ϵ	Coefficiente de absortividad molar
IR	Infrarrojo
k	Constante de rapidez
k_{obs}	Constante de rapidez observada
k_{OH}	Constante de rapidez de hidrólisis alcalina
k_{corrOH}	$k_{obs} - k_{OH}[OH]$
k_{ML}	Constante de rapidez de hidrólisis debida al complejo ML
nm	nanómetros
pK_a	Logaritmo de la constante de disociación ácida
NFA	p-nitrofenilacetato
NF	p-nitrofenol
$t_{1/2}$	Tiempo de vida media
CHES	Ácido 2-(ciclohexilamino)-etanosulfónico
MES	Ácido 2-(N-morfolino)-1-etanosulfónico
MOPS	Ácido 3-morfolinopropano-1-sulfónico
CAPS	Ácido 3-(ciclohexilamino)-1-propanosulfónico
NET	Negro de eriocromo T
$k_{obs} \times 10^3 (s^{-1})$	Constante observada multiplicada por 1000, con unidades de s^{-1} .

Resumen

En este trabajo se estudió la reactividad esterolítica de complejos metal amidoximato de tres ligantes con un grupo amidoxima como catalizadores para la hidrólisis de un éster carboxílico modelo (4-nitrofenil acetato) y ésteres fosfato de relevancia ambiental (paraoxón y paratión).

Se realizaron estudios cinéticos variando la concentración metal-ligante en función del pH para establecer la reactividad de los ligantes y el efecto de diferentes cationes metálicos divalentes de transición; mediante titulaciones potenciométricas y espectrofotométricas se determinaron las constantes de estabilidad de los complejos, así como su pK_a en disolución y se identificó la especie reactiva mediante diagramas de distribución de especies. Finalmente se realizó una comparación entre la reactividad de los amidoximatos y los complejos metal-amidoximato hacia los diferentes sustratos.

1. Introducción

Las reacciones bioquímicas que comprende la vida están mediadas casi en su totalidad por catalizadores biológicos extraordinariamente activos denominados enzimas, que en general incrementan entre 10^6 y 10^{12} veces la velocidad de reacción en la que participan con respecto a las mismas reacciones no catalizadas por éstas [1]. En el caso de las metaloenzimas hidrolíticas el mecanismo más aceptado para la hidrólisis de sus sustratos involucra un ataque nucleofílico seguido de la participación del agua [2]. Los nucleófilos que existen dentro de las enzimas provienen de grupos muy básicos (serina, agua, cisteína) que, al estar coordinados a un catión metálico, generalmente de transición, se desprotonan a valores de pH fisiológico y permiten tener dichos efectos de aceleración tan grandes [3], por esta razón la química biomimética busca imitar estos mecanismos para poder diseñar nuevos catalizadores o “enzimas artificiales” [4].

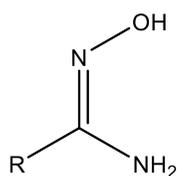
El diseño y la síntesis de entidades de coordinación con iones metálicos capaces de hidrolizar eficientemente ésteres fosfato de importancia ambiental ha recibido una atención considerable en las últimas dos décadas, ya que, sería deseable tener enzimas artificiales eficaces capaces de funcionar en agua y en condiciones de reacción suaves [5].

En este trabajo se presenta un estudio de la reactividad de complejos metal-amidoximato de tres ligantes con un grupo amidoxima en su estructura como catalizadores para la hidrólisis del éster carboxílico modelo 4-nitrofenil acetato (NFA) y dos ésteres fosfato de relevancia ambiental: paraoxón y paratión. Estos últimos son plaguicidas persistentes y tóxicos que inhiben la enzima acetilcolinesterasa, esencial para la transmisión de impulsos nerviosos.

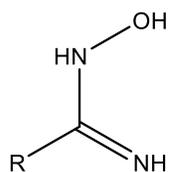
2. Antecedentes

Desde que se realizó por primera vez la reacción entre hidroxilamina y nitrilos para obtener amidoximas, se ha estudiado el efecto de diferentes sustituyentes y su capacidad de formar compuestos de coordinación con diferentes cationes metálicos [6].

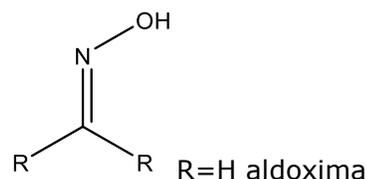
Las amidoximas pueden existir, teóricamente, en dos formas tautoméricas, (**2.1** y **2.2**) pero se ha determinado mediante pruebas espectroscópicas que la estructura predominante es la **2.1** y cuando forma compuestos de coordinación generalmente lo hace en esta forma, permitiendo que el catión metálico se una al átomo de nitrógeno de la oxima [7].



2.1

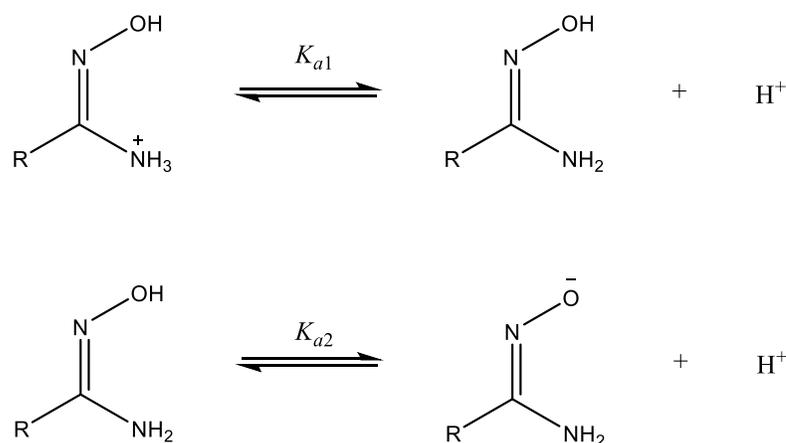


2.2



2.3

La estructura de las amidoximas es similar a la de las oximas (**2.3**), sin embargo, la presencia del grupo amino en muchos casos da como resultado una diferencia sustancial en la química de las amidoximas. Por un lado, para las amidoximas se pueden establecer dos equilibrios de disociación ácida, que se muestran en el esquema 2.1 y por otro, se ha reportado que la basicidad del átomo del nitrógeno es similar a la que presenta por ejemplo un nitrógeno en una piridina ($pK_a=5.25$ en agua, 25°C), mientras que para el segundo pK_a se han llegado a reportar valores en el intervalo de 11.55 a 13.3 dependiendo de los sustituyentes. [8]



Esquema 2.1. Equilibrios de disociación ácida para las amidoximas

En la tabla 2.1. 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 2.1. Valores de pK_a de aldoximas y amidoximas [9] [10] [11].

Aldoxima	pK_a	Amidoxima	pK_a
	10.04		12.18
	11.20		12.36
	11.82		13.21

Es relevante notar que la basicidad del oxígeno de la oxima es mayor en las amidoximas que en las aldoximas análogas debido a la presencia del grupo amino y esto es de interés debido a que la basicidad es uno de los factores que determinan la reactividad de un nucleófilo [12].

Sin embargo, si la basicidad se considera un criterio, existe un cierto grupo de nucleófilos que reaccionan más rápido de lo esperado por su basicidad con algunos sustratos, y se caracterizan por tener un átomo electronegativo que posee uno o más pares de electrones libres adyacentes al átomo nucleofílico, este efecto se ha denominado *efecto- α* y hace referencia a los electrones libres en el átomo alfa, este tipo de nucleófilos son llamados α -nucleófilos y entre ellos se encuentran la hidroxilamina, hidrazina, ácidos hidroxámicos, aniones de peróxidos y peróxido de hidrógeno, el ion hipoclorito, aniones oximato, entre otros, incluyendo las amidoximas [12] [13].

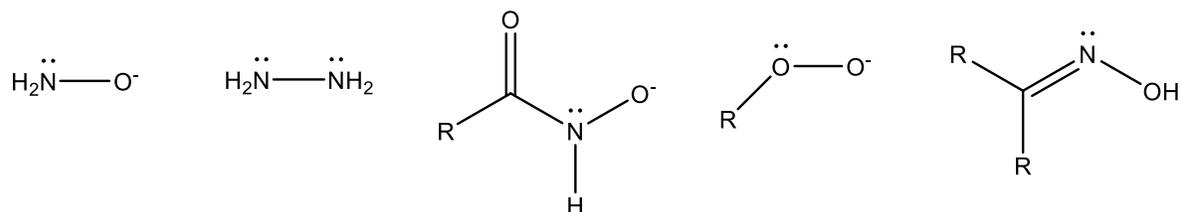


Figura 2.1. Ejemplos de α -nucleófilos.

El hecho que las oximas pertenezcan a este tipo de nucleófilos ha sido utilizado en el desarrollo de protocolos para la limpieza de sitios contaminados con insecticidas organofosforados, ya que se ha demostrado que los oximatos son altamente efectivos acelerando su rapidez de descomposición [14].

Además, en un gráfico de Brønsted, que presenta los logaritmos de las constantes de segundo orden para la hidrólisis de un sustrato determinado en función del $\text{p}K_a$ del nucleófilo, se ha encontrado que la reactividad de los aniones oximato se nivela a valores de $\text{p}K_a$ mayores que 8 para el éster carboxílico NFA como sustrato y que 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 [15]. Esto quiere decir que

Recientemente, este efecto se ha atribuido a que existe un desbalance en la solvatación del nucleófilo entrante que se genera por la necesidad de desolvatación de éste antes de realizar el ataque nucleofílico y que se vuelve gradualmente más importante para los iones oximato más básicos [15], en otras palabras, los aniones más básicos están más solvatados y la reacción no puede transcurrir más rápidamente.

Esto se ha comprobado al analizar la reactividad en mezclas acuosas de disolventes orgánicos apróticos, en las que esta nivelación desaparece debido a cambios en la solvatación y en el pKa de las oximas. [18] [22] [23].

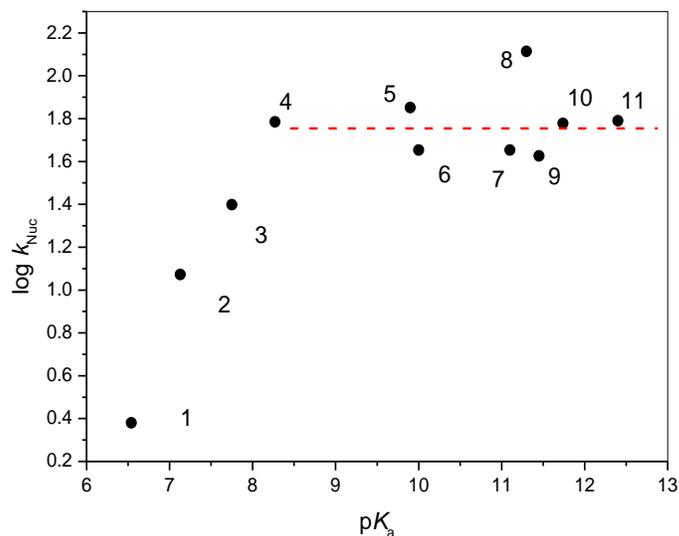
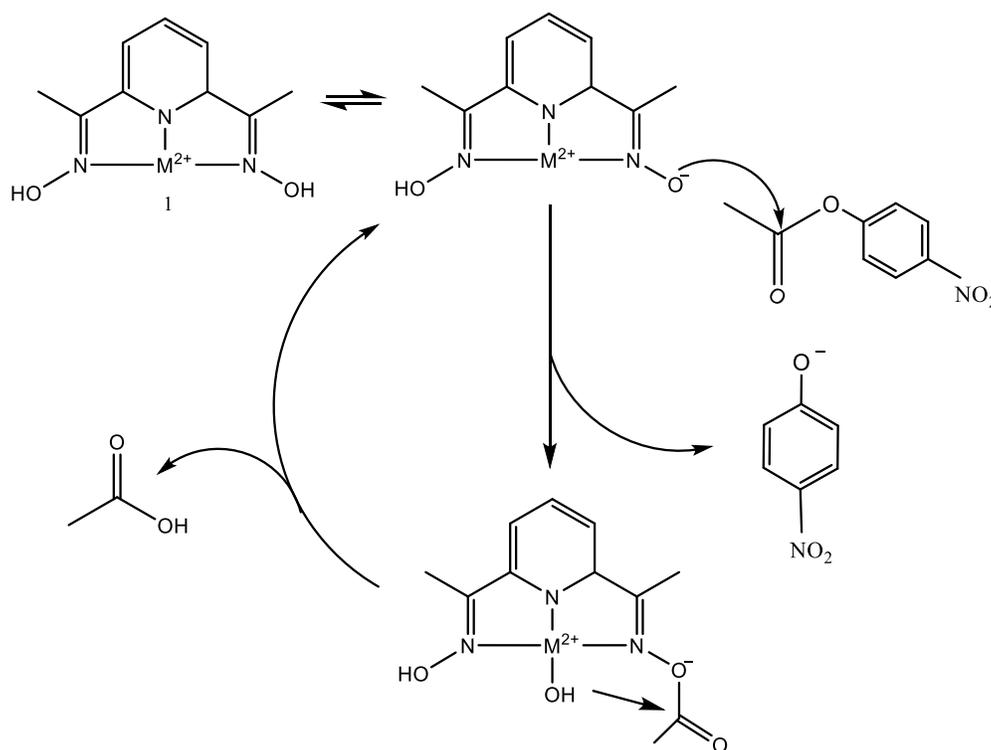


Figura 2.2. Gráfico de Brønsted para las oximas de la tabla 2.2

Adicionalmente, se ha estudiado la reactividad de oximas en presencia de cationes metálicos hacia el mismo sustrato. Los primeros reportes fueron realizados por Breslow [24] y Suh [25] con complejos de la 2-piridínaldoxima y 2-acetilpiridínoxima con Cu(II) [26] y Zn(II) [27] en los que se establecieron las siguientes bases:

- Los cationes metálicos de transición tienen la función de acidificar el grupo oximato.
- La reactividad del complejo es diferente dependiendo del catión metálico que se emplee.
- La coordinación del metal puede causar que el pK_a de la oxima disminuya tanto que el oximato coordinado deja de ser un buen nucleófilo.
- La hidrólisis de NFA sigue un mecanismo catalítico.

No obstante, en estudios más recientes realizados en el grupo de trabajo se ha encontrado que el mecanismo catalítico es válido para otros complejos metal-oximato (Figura 2.2) [15] [19].



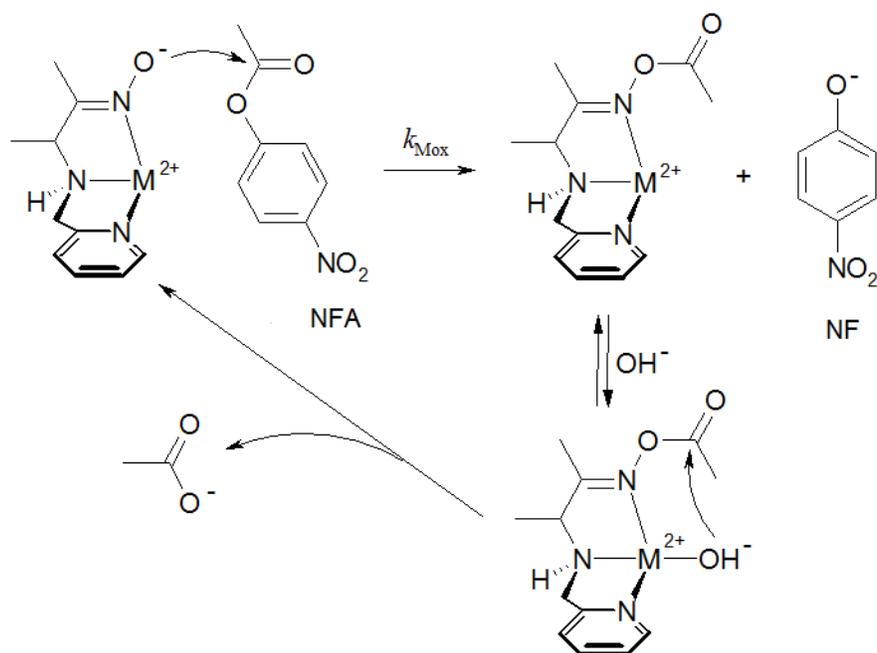


Figura. 2.2. Mecanismos catalíticos para la ruptura de NFA por complejos metal-oximato. [15] [19]

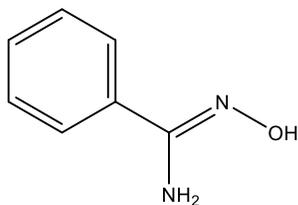
Este mecanismo involucra como primer paso la desprotonación de la oxima para generar el anión oximato, después el oximato realiza un ataque nucleofílico al grupo carbonilo del éster y finalmente el intermediario acilado es hidrolizado por agua liberando un equivalente de acetato a la disolución y regenerando el nucleófilo [17] [19] [28].

Un aspecto importante es que los complejos metal-oximato se siguen comportando como α -nucleófilos. Originalmente se pensaba que el efecto α se debía únicamente a la presencia de pares de electrones libres en el átomo adyacente (α) al sitio nucleofílico, sin embargo, se ha visto que en realidad es la suma de varios factores como la desestabilización del estado basal del α -nucleófilo, la estabilización del estado de transición, la estabilización de los productos y la solvatación de los α -nucleófilos [29].

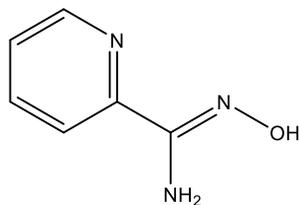
Si el factor principal fuera el aumento de densidad electrónica sobre el átomo nucleofílico, el efecto alfa debería desaparecer para nucleófilos coordinados. Sin embargo, estos últimos estudios muestran que la función del catión metálico además de acidificar el grupo oximato es generar un efecto en la solvatación alrededor del nucleófilo, lo que permite lograr efectos de aceleración iguales a los de enzimas altamente evolucionadas como albúmina humana, α -quimiotripsina y anhidrasa carbónica hacia el mismo sustrato manteniendo un régimen catalítico [15], asimismo se demostró recientemente que los complejos oximato permiten la hidrólisis de diésteres fosfato [5] y por lo tanto es posible afirmar que estos complejos se comportan como "enzimas artificiales" en términos de su reactividad, lo que hace posible su aplicación en la hidrólisis de numerosos sustratos de interés ambiental y biológico como pesticidas o ADN.

Sin embargo, se sabe muy poco acerca de la reactividad de las amidoximas coordinadas a cationes metálicos, ya que, si bien existen reportes de la reactividad de algunas amidoximas hacia NFA [30] y ésteres fosfato [31] y se sabe que esta reactividad es comparable con la de α -nucleófilos típicos como los iones oximato y además éstas pueden presentar reactividad en su forma neutra [32], no se han realizado estudios de reactividad de amidoximas coordinadas a cationes metálicos.

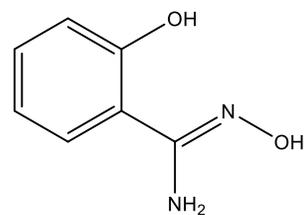
Por lo anterior, resulta razonable proponer que ligantes con un grupo amidoxima (**2.4-2.6**) pueden activarse por coordinación con cationes metálicos de transición en forma análoga a la de las oximas, formando complejos de la forma **2.7-2.11**, en los que se tienen anillos quelato de 4 y 5 miembros que pueden presentar reactividad hidrolítica.



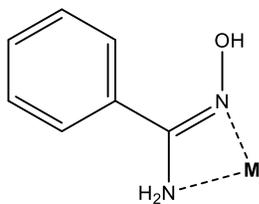
2.4



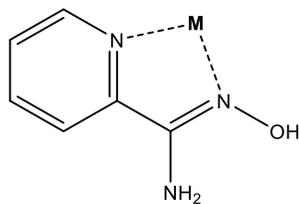
2.5



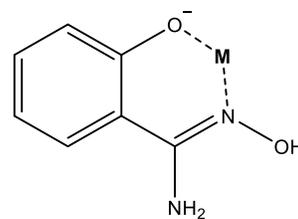
2.6



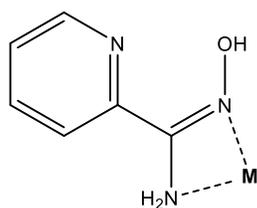
2.7



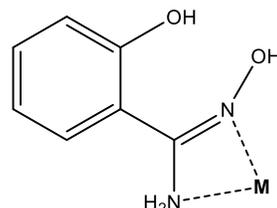
2.8



2.9



2.10



2.11

Así, este tipo de complejos pueden ser una alternativa para catalizar la hidrólisis de ésteres carboxílicos y fosfatos de interés ambiental.

3. Hipótesis

Los ligantes con grupos amidoxima, al coordinarse con cationes metálicos de transición se activan biomiméticamente, disminuyendo su pK_a . Esto permitirá que la fracción del nucleófilo coordinado sea mucho mayor y se observe reactividad hidrolítica de ésteres carboxílicos y fosfato a pH neutro o ligeramente básico en agua en condiciones suaves. Estos complejos operan catalíticamente como enzimas artificiales.

4. Objetivos

4.1 Objetivo principal

Estudiar y comparar la reactividad de tres ligantes con un grupo amidoxima hacia un éster carboxílico modelo (4-*itro*fenil acetato) y ésteres de interés ambiental (paraoxón y paratión) y estudiar el efecto que tienen sobre esa reactividad cationes metálicos divalentes de transición.

4.2 Objetivos particulares

- Realizar la síntesis del ligante PyAmOx a partir de 2-ciano piridina e hidroxilamina y caracterizarlo por técnicas espectroscópicas convencionales (análisis elemental, resonancia magnética nuclear, infrarrojo).
- Determinar los valores de pK_a de tres ligantes a emplear mediante titulaciones potenciométricas y espectrofotométricas.

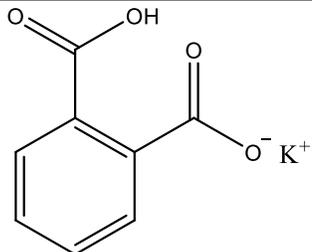
- Determinar la constante de formación de los complejos metal-ligante mediante titulaciones potenciométricas y espectrofotométricas.
- Evaluar la reactividad esterolítica de los ligantes en función del pH hacia los diferentes sustratos.
- Estudiar la reactividad esterolítica de los ligantes en presencia de cationes metálicos a pH fijo y a pH variable para los distintos sustratos.
- Realizar un análisis de la reactividad en función de las especies presentes en disolución.
- Comparar el efecto catalítico de los complejos hacia los diferentes sustratos.

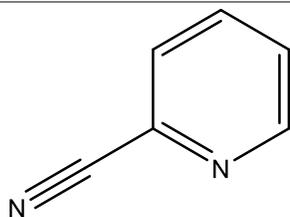
5. Metodología

5.1 Reactivos

En todos los experimentos se utilizó agua destilada y desionizada con una resistividad de $18.2 \pm 0.1 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ obtenida mediante el equipo Nanopure Barnstead. Los reactivos utilizados se enlistan en la tabla 5.1.

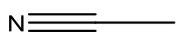
Tabla 5.1. Estructura y principales características de los reactivos utilizados.

Reactivos	
HCl	Ácido clorhídrico J. T. Baker Masa molar: 36.46 g/mol
NaOH	Hidróxido de sodio J. T. Meyer Masa molar: 40.00 g/mol
NaCl	Cloruro de sodio J. T. Baker Masa molar: 58.44
	Biftalato de potasio Sigma Aldrich 99.5% Masa molar: 204.22 g/mol
NH ₂ OH·HCl	Hidroxilamina (Clorhidrato) Aldrich Masa molar: 69.49 g/mol
Na ₂ CO ₃ ·H ₂ O	Carbonato de sodio monohidratado Sigma Aldrich $\geq 99.5\%$ Masa molar: 124 g/mol



2-Cianopiridina
Sigma Aldrich 99%
Masa molar: 104.11 g/mol

Disolventes

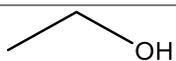


CH₃CN

Acetonitrilo

J.T.Baker

Masa molar 41.05 g/mol

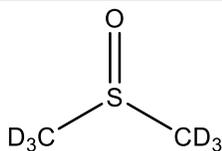


CH₃-CH₂-OH

Etanol

J.T.Baker 96%

Masa molar



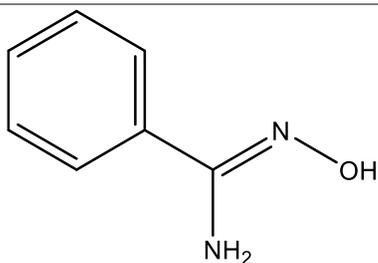
DMSO-d₆

Dimetilsulfóxido-d₆

Sigma Aldrich 99.9%

Masa molar: 84.17 g/mol

Ligantes

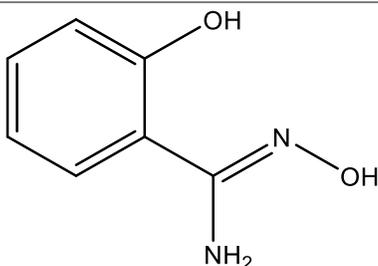


BenzAmOx

Benzamidoxima

Sigma Aldrich 97%

Masa molar: 136.15 g/mol

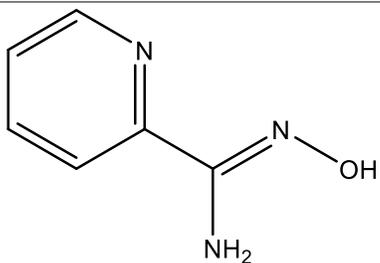


SalAmOx

Salicilamidoxima

Sigma Aldrich

Masa molar: 152.15 g/mol

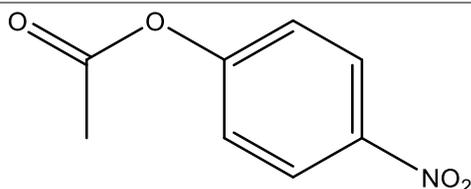


PyAmOx

2-Piridinamidoxima

Se preparó a partir de 2-cianopiridina e hidroxilamina (sección 5.4)

Sustratos

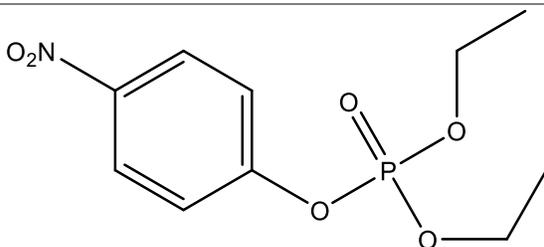


NFA

4-Nitrofenil acetato

Sigma Aldrich $\geq 99.0\%$

Masa molar: 181.15 g/mol

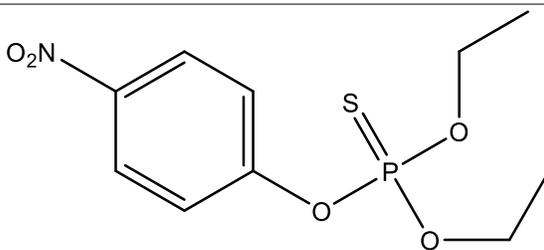


Paraoxón

Paraoxón

Sigma Aldrich grado analítico

Masa molar: 275.20 g/mol



Paratión

Paratión

Sigma Aldrich

Masa molar: 291.26 g/mol

Sales de los cationes metálicos

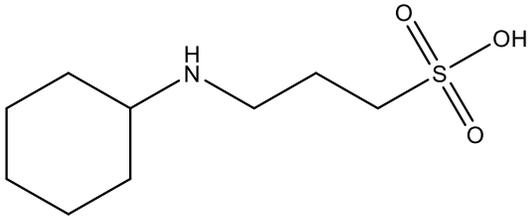
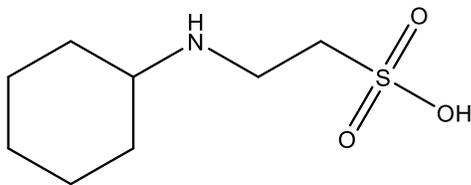
$\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

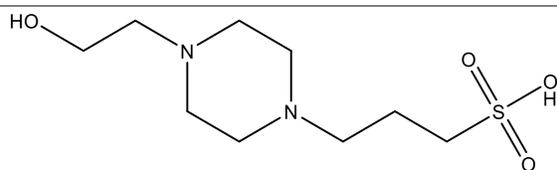
Perclorato de cadmio (II)

hexahidratado

Alfa Aesar

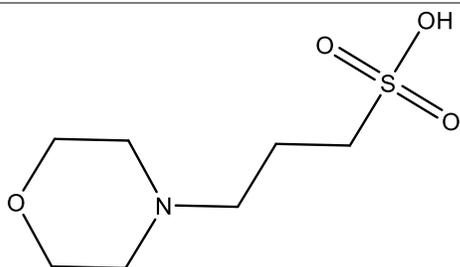
Masa molar: 419.39 g/mol

$\text{Co}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Perclorato de cobalto (II) hexahidratado Alfa Aesar Masa molar: 366.74 g/mol
$\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Perclorato de cobre (II) hexahidratado Sigma Aldrich Masa molar: 370.54 g/mol
$\text{Mn}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Perclorato de manganeso (II) hexahidratado Alfa Aesar Masa molar: 361.93 g/mol
$\text{Ni}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Perclorato de níquel (II) hexahidratado Alfa Aesar Masa molar: 365.70 g/mol
$\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Perclorato de zinc (II) hexahidratado Sigma Aldrich Masa molar: 372.38 g/mol
Amortiguadores	
 <p style="text-align: center;">CAPS</p>	<p>Ácido 3-(ciclohexilamino)1-propanosulfónico</p> <p>Sigma Aldrich $\geq 98\%$</p> <p>Masa molecular: 221.32 g/mol</p> <p>pKa (25°C): 10.4</p> <p>Intervalo de pH: 9.7-11.1</p>
 <p style="text-align: center;">CHES</p>	<p>Ácido 2-(Ciclohexilamino)etanosulfónico</p> <p>Sigma Aldrich $\geq 99\%$</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>



EPPS

Ácido 4-(2-hidroxietil)-
1piperazinpropanosulfónico
Sigma Aldrich $\geq 99.5\%$
Masa molecular 252.33 g/mol
pKa (25°C): 8.0
Intervalo de pH: 7.3-8.7



MOPS

Ácido 3-(N-morfino) propanosulfónico
Sigma Aldrich $\geq 99.5\%$
Masa molar: 209.26 g/mol
pKa (25°C): 7.2
Intervalo de pH: 6.5-7.9

5.2 Equipo

Los espectros de RMN-¹H se obtuvieron en la Unidad de Servicios de Apoyo la Investigación y a la Industria (USAI) de la Facultad de Química. Los espectros de masas (ESI-MS) fueron obtenidos en un espectrofotómetro de masas 6530QTOF Agilent con Capilar de 2500 V, y fragmentor variable entre 150-160V y bomba Agilent PN5190-1530 de la Unidad de Servicios para la Industria Petrolera (USIP) de la Facultad de Química.

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 ± 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 ± 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 ($\pm 0.1^\circ\text{C}$). Las titulaciones potenciométricas y espectrofotométricas se llevaron a cabo en una celda de vidrio de capacidad de 25 mL con temperatura regulada mediante un recirculador marca Fisher Scientifics Isotemp 1016S ($\pm 0.1^\circ\text{C}$).

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 e *HypSpec* versión 1.1.33. Los diagramas de distribución de especies se generaron utilizando el programa *HySS 2008* versión 4.0.31. Los espectros de RMN- ^1H se analizaron mediante el programa MestReNova 2009. Los fragmentos calculados en espectrometría de masas se obtuvieron en el programa ChemDraw Ultra 12.0.

5.4 Síntesis del ligante

El ligante 2-piridinamidoxima, PyAmO se preparó mediante la reacción entre 2-cianopiridina con hidroxilamina, el esquema de reacción se muestra en la figura 5.4.1. 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°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°C y se mantuvo por 2 horas. Se evaporó el disolvente y se lavó el producto con agua muy fría.

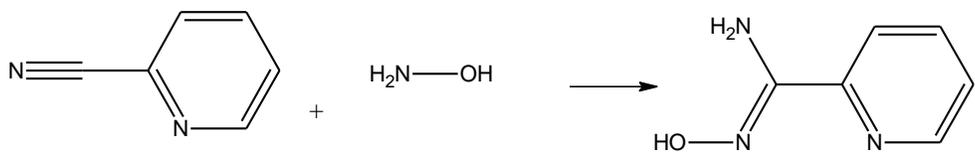


Figura 5.4.1. Esquema de reacción para la síntesis de PyAmO

5.4 Condiciones generales

Todos los experimentos se realizaron a temperatura constante de 25°C.

Se prepararon disoluciones stock de los ligantes 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 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 de concentración 500 mM y se ajustó el pH al valor requerido.

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 NET como indicador.

5.5 Titulaciones potenciométricas

Las titulaciones potenciométricas se realizaron a 25°C en una celda de vidrio bajo flujo de N₂, para evitar la formación de carbonatos y utilizando volúmenes iniciales de 10 y 25 mL.

Para poder calcular las constantes de formación se determinó el pK_w 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) [33] como se muestra en la figura 5.5.1.

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

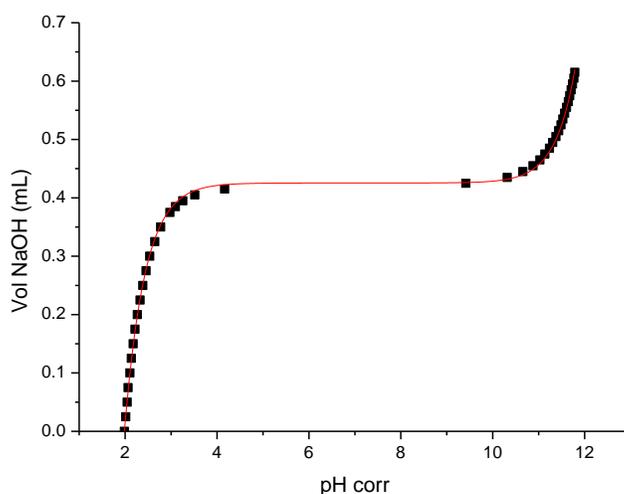


Figura 5.5.1. Curva de titulación potenciométrica de HCl 0.1 M, la línea continua representa el ajuste a la ecuación 1. El valor obtenido fue de $pK_w=14.13$

Las determinaciones de las constantes de formación tanto de los ligantes como de los complejos metal-ligante se efectuaron a fuerza iónica constante impuesta con NaCl 100 mM. Se utilizaron disoluciones con concentraciones variables de ligante y metal entre 2-10 mM y en diferentes proporciones metal-ligante, 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. Los datos obtenidos se analizaron con el programa Hyperquad 2008 para obtener las constantes de formación expresadas como pK_a o $\log \beta$. Todas las titulaciones se realizaron por triplicado y se obtuvo un promedio de las constantes.

5.6 Titulaciones espectrofotométricas

Las titulaciones espectrofotométricas se realizaron a 25°C en una celda de vidrio bajo flujo de N₂ y se efectuaron a fuerza iónica constante impuesta con NaCl 100 mM. Se utilizaron concentraciones variables de ligante y metal entre 0.1-0.5 mM. Se realizaron titulaciones a pH fijo utilizando amortiguador en concentraciones entre 10 y 50 mM y utilizando como titulante al catión metálico hasta tener 3 equivalentes de metal o hasta observar precipitado. Además, se obtuvieron los espectros variando del pH mediante titulaciones de disoluciones metal-ligante en proporción 1:1 con NaOH estandarizado hasta pH 13 o hasta observar precipitado.

5.7 Estudios cinéticos

La reactividad de los ligantes 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 1-2% de MeCN a 25°C utilizando un volumen total de 500 y 2000 µL. Los datos cinéticos se ajustaron a una ecuación cinética integrada de primer orden para NFA (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}).

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

(2)

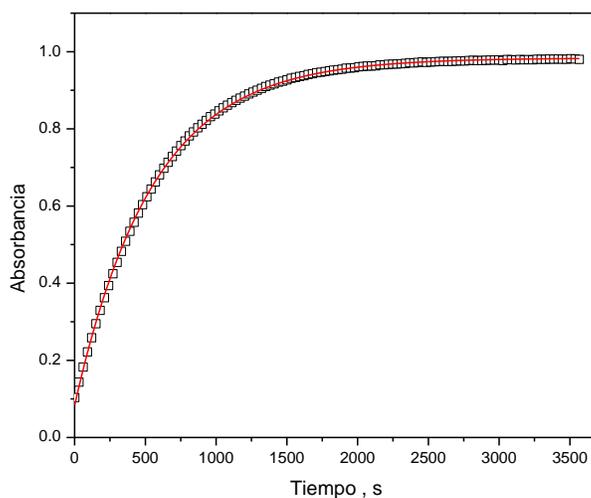


Figura 5.7.1. Ejemplo de curva cinética de la hidrólisis de NFA, la línea continua representa el ajuste a la ecuación 2.

Se estudió la dependencia del pH, la concentración y las variaciones en las proporciones 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 cada sistema, así como su reactividad expresada como una constante de segundo orden (k' , $s^{-1}M^{-1}$).

5.8 Obtención de espectros de masas por ESI-QTOF

Los espectros de masas por ESI-QTOF se obtuvieron preparando disoluciones acuosas de los ligantes y de disoluciones metal-ligante en proporción 1:1 en concentraciones de 0.1, 0.5 y 1.0 mM y se ajustó el pH entre 7-8.5 utilizando una disolución de NaOH. Las disoluciones se transfirieron a una jeringa y se introdujeron a la fuente de ESI del

espectrofotómetro con un flujo de 5µL/h con nitrógeno como gas de impulsión (30 psig). Las diferencias de potencial utilizadas en el fragmentor fueron de 150 y 160 V y de 2500 V en el capilar.

De los espectros obtenidos se compararon los patrones isotópicos teóricos con los experimentales para identificar las especies presentes.

6. Resultados y Discusión

6.1 Síntesis del ligante PyAmOx

Se obtuvo el ligante PyAmOx como un polvo blanco con un rendimiento, ya purificado, de 50% y se caracterizó mediante las técnicas que se enlistan a continuación.

Análisis elemental

El análisis elemental de la muestra concuerda con la fórmula esperada para el ligante PyAmOx y los resultados obtenidos se muestran en la tabla 6.1.1.

Tabla 6.1.1. Análisis elemental del ligante PyAmOx

Fórmula: C ₆ H ₇ N ₃ O		Peso molecular: 137.14 g/mol	
Elemento	%Teórico	%Experimental	%Error
C	52.55	52.76	0.4
H	5.15	5.20	0.9
N	30.64	30.52	0.4

Resonancia magnética nuclear

Este ligante se caracterizó mediante RMN-¹H y RMN-¹³C en DMSO-d₆, En la figura 6.1.1 se muestra el espectro de RMN de ¹H y las señales características del producto.

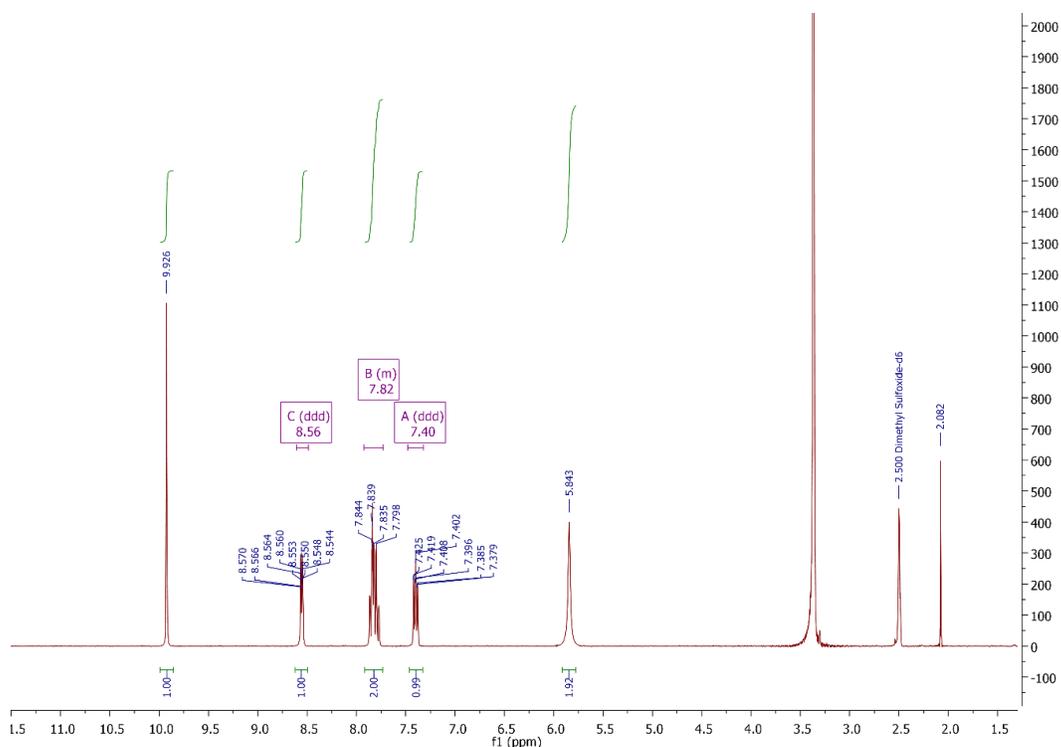
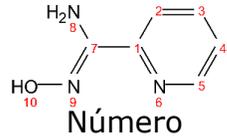


Figura 6.1.1. Espectro de RMN-¹H del ligante PyAmOx en DMSO-d₆

En la tabla 6.1.2 se presenta la asignación de las señales de los protones del espectro de la figura 6.1.1 y los desplazamientos químicos calculados mediante el programa MestReNova 2009.

Tabla 6.1.2. Asignación de señales de los protones del ligante PyAmOx

 Número	δ (ppm)	δ (ppm)	Integración	Multiplicidad
	Calculado	Experimental		
2,4	7.90 (td)	7.82	2	m
3	8.10 (dd)	7.40	1	ddd
5	7.50 (td)	7.40	1	ddd
8	8.64 (dd)	8.56	1	ddd
8	6.82 (s)	5.84	2	s
10	9.88 (s)	9.93	1	s

Se observan 5 señales con sus respectivas integrales correspondientes a los 7 protones presentes en la molécula. Además, se observa una señal de agua parcialmente deuterada (HDO) en 3.35 ppm.

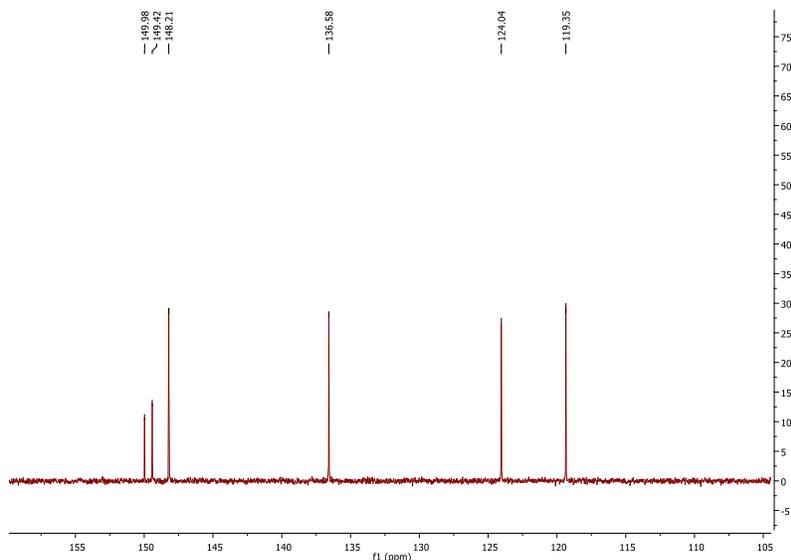


Figura 6.1.2. Espectro de RMN-¹³C del ligante PyAmOx en DMSO-d₆

En la figura 2.2.2 se muestra el espectro de RMN-¹³C del ligante PyAmOx en el que se observan 6 señales que corresponden a los 6 diferentes tipos de carbono presentes en la molécula. Los desplazamientos químicos experimentales y calculados mediante el programa MestReNova 2009 así como la asignación para cada carbono se presentan en la tabla 6.1.3.

Tabla 6.1.3 Asignación de las señales de los carbonos del ligante PyAmOx

	Número de Carbono	δ (ppm) Calculado	δ (ppm) Experimental
	1	154.2	149.42
	2	120.7	119.35
	3	136.1	136.58
	4	125.3	124.04
	5	149.1	148.21
	6	163.1	149.98
	7	163.1	149.98

Espectroscopía de infrarrojo

En la figura 6.1.3 se muestra el espectro de infrarrojo del ligante PyAmOx.

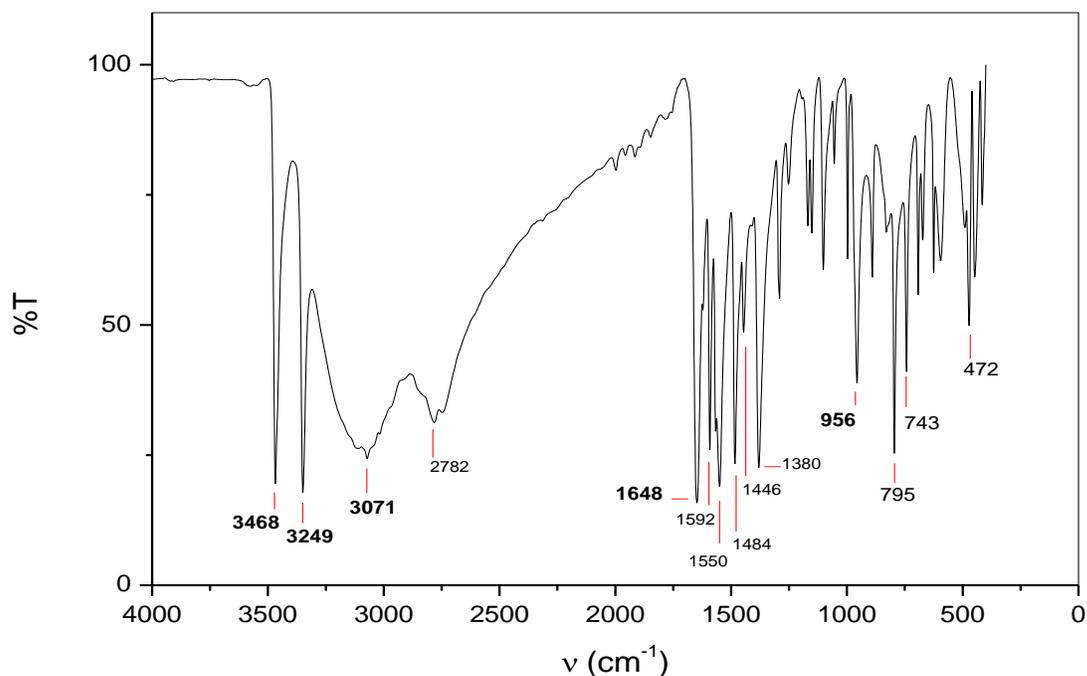


Figura 6.1.3. Espectro de IR del ligante PyAmOx (pastilla KBr)

Se observan las bandas correspondientes al estiramiento simétrico y asimétrico de la amina arriba de 3100 cm^{-1} ; la frecuencia de vibración del OH de la oxima es menor comparada con la que se esperaría para el grupo OH libre debido a la formación de puentes de hidrógeno entre el protón de la oxima y el nitrógeno de la amina en estado sólido [34], además, se observan 4 bandas entre 1600 y 1410 cm^{-1} que corresponden a los estiramientos del anillo de la piridina monosustituida [34].

Igualmente, se identificaron las bandas de las vibraciones C=N de la amidoxima (banda intensa) así como del enlace N-O. La tabla 6.1.4 muestra la asignación de las bandas principales del espectro de IR del ligante PyAmOx (Figura 6.1.3).

Tabla 6.1.4. Asignación de las bandas del espectro de IR del ligante PyAmOx

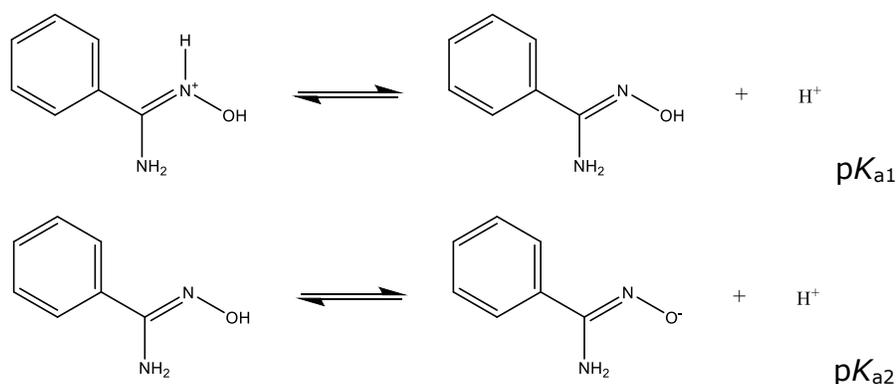
Grupo funcional	ν (cm ⁻¹)	Enlace
Amina	3468	H-N-H (ν_a)
	3249	H-N-H (ν_s)
Oxima	3071	O-H
	1648	C=N
	956	N-O
Piridina	1592	C-C
	1550	
	1484	
	1446	
	743	C-H (fuera del plano)

6.2 Equilibrios

Mediante titulaciones potenciométricas y espectrofotométricas se determinaron los valores de pK_a de los ligantes y los logaritmos de las constantes de formación acumulativas ($\log \beta$) de los complejos metal-ligante.

Benzamidoxima

Los equilibrios propuestos para la disociación ácida del ligante BenzAmOx se muestran a continuación:



En la figura 6.2.1 se muestra una curva de titulación del ligante BenzAmOx y se grafica el valor de pH en función del volumen de NaOH agregado.

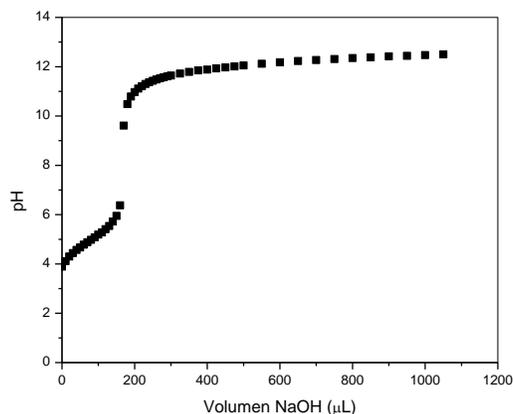


Figura 6.2.1. Titulación potenciométrica del ligante BenzAmOx 5 mM en agua a 25°C bajo flujo de N₂. Fuerza iónica impuesta con NaCl 100 mM.

La figura 6.2.2 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.

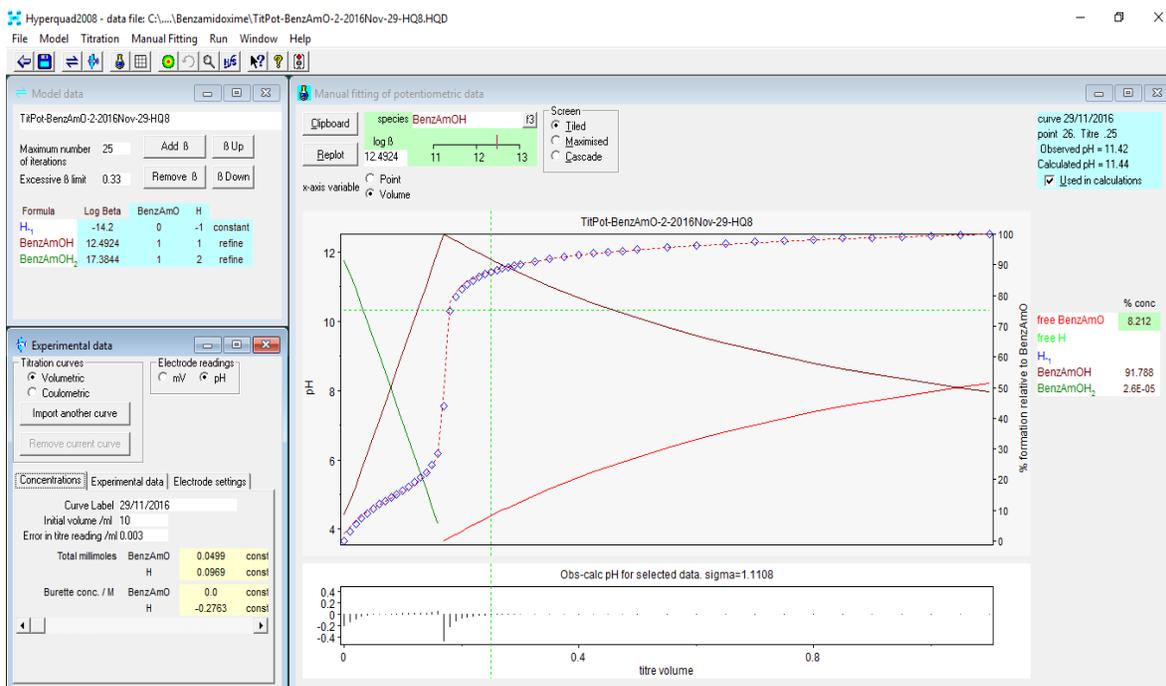


Figura 6.2.2. Ajuste de titulación potenciométrica de BenzAmOx mediante el programa *Hyperquad 2008*.

En la tabla 6.2.1 se muestran los valores promedio de los logaritmos de las constantes de formación acumulativas y los valores de pK_a obtenidos en las titulaciones potenciométricas.

Tabla 6.2.1. Logaritmos de las constantes de formación acumulativas y valores de pK_a obtenidos de las titulaciones potenciométricas para el ligante BenzAmOx.

Especie	$\log \beta$	$\log \beta$	$\log \beta$ promedio	
HL	12.38	12.49	12.44 ± 0.08	$pK_{a2} = 12.44$
H ₂ L	17.34	17.38	17.36 ± 0.03	$pK_{a1} = 4.92$

La figura 6.2.3 muestra los espectros UV-vis obtenidos de la titulación espectrofotométrica del ligante BenzAmOx, las flechas indican el cambio del espectro al incrementar el pH de la disolución desde pH 5 hasta pH 12.8.

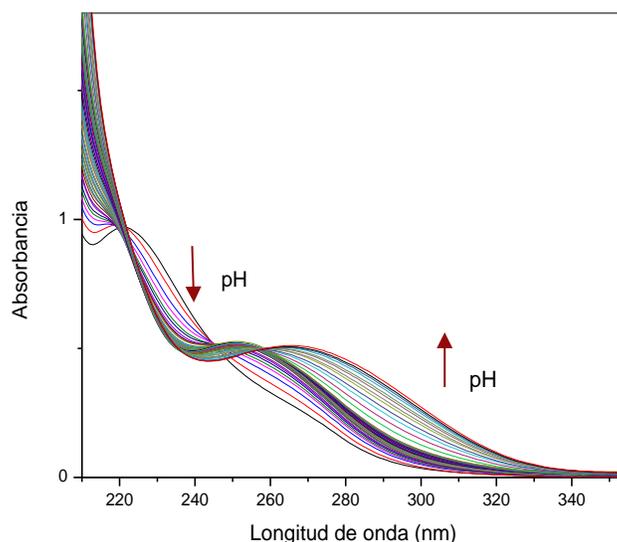


Figura 6.2.3. Titulación espectrofotométrica de BenzAmOx 0.5 mM en agua a 25°C, pH amortiguado con MES y MOPS 10 mM, NaCl 90 mM.

Los datos obtenidos se analizaron utilizando el programa *HypSpec* para obtener los logaritmos de las constantes de formación acumulativas, en la figura 6.2.4 se muestra el ajuste realizado con dicho el programa, en

el lado izquierdo se encuentran las constantes calculadas y los datos experimentales y del lado derecho se encuentran dos gráficos, el primero representa la variación de la absorbancia en función del pH para una longitud de onda específica, en este caso 290 nm, y el segundo muestra el espectro de absorción a un pH determinado, se muestra pH=12.39, en ambos gráficos los rombos azules representan los datos experimentales y la línea punteada roja representa el ajuste al modelo planteado.

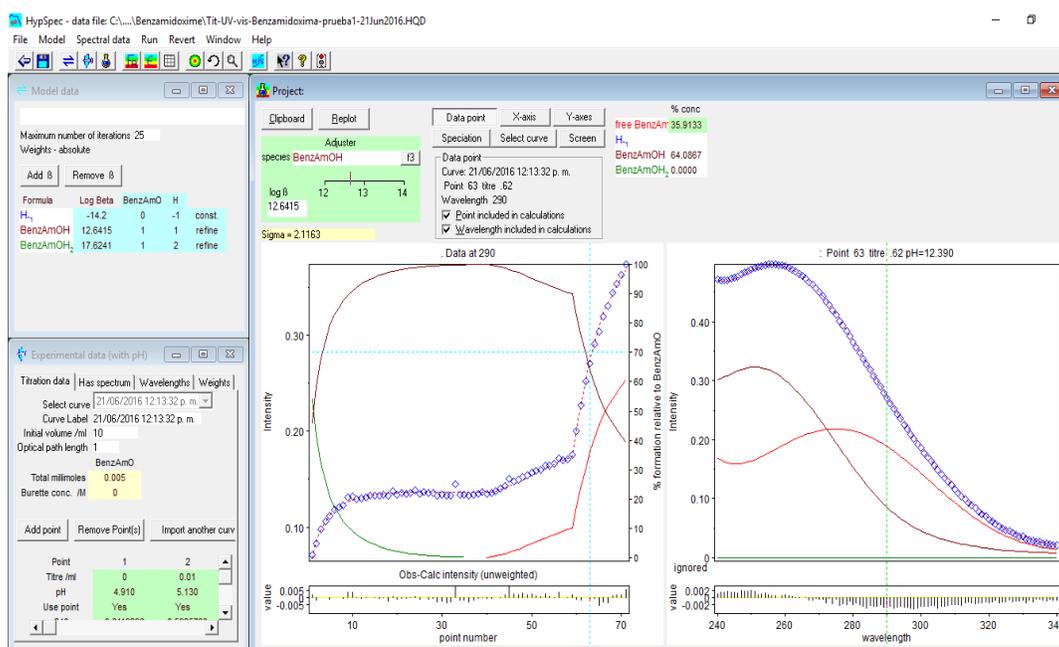


Figura 6.2.4. Ajuste de titulación espectrofotométrica de BenzAmOx mediante el programa *HypSpec*.

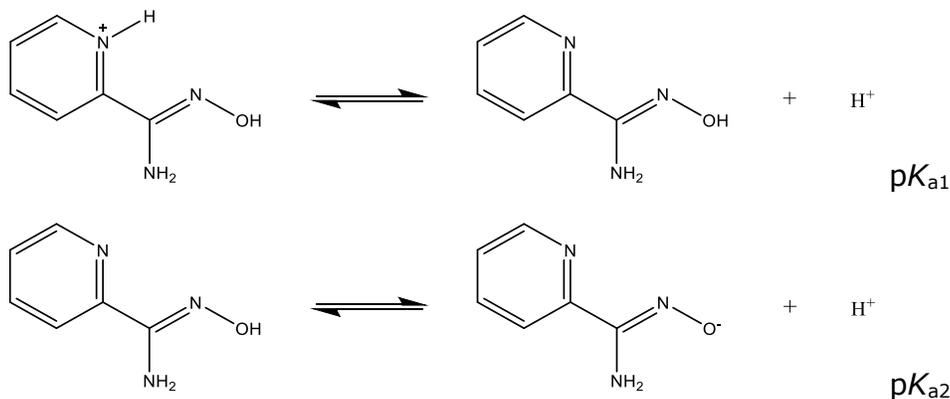
En la tabla 6.2.2 se muestran los valores obtenidos de las constantes de formación acumulativas, además de los valores de pK_a .

Tabla 6.2.2. Logaritmos de las constantes de formación acumulativas y valores de pK_a obtenidos en las titulaciones espectrofotométricas.

Especie	log β	
HL	12.641 ± 0.003	$pK_{a2} = 12.64$
H ₂ L	17.624 ± 0.007	$pK_{a1} = 4.98$

Piridinamidoxima

Los equilibrios propuestos para la disociación ácida del ligante PyAmOx se muestran a continuación:



En la figura 6.2.5 se muestra una curva de titulación del ligante PyAmOx y se grafica el valor de pH en función del volumen de NaOH agregado.

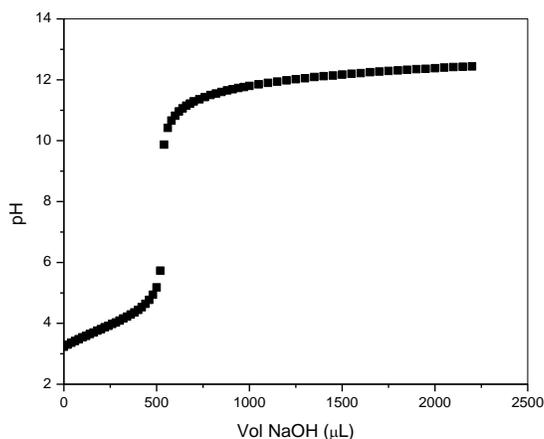


Figura 6.2.5. Titulación potenciométrica del ligante PyAmOx 10 mM en agua a 25°C bajo flujo de N₂. Fuerza iónica impuesta con NaCl 100 mM.

Al igual que en el caso del ligante BenzAmOx los datos se ajustaron mediante el programa *Hyperquad 2008* y en la figura 6.2.6 se muestra un ejemplo del ajuste de la titulación del ligante PyAmOx.

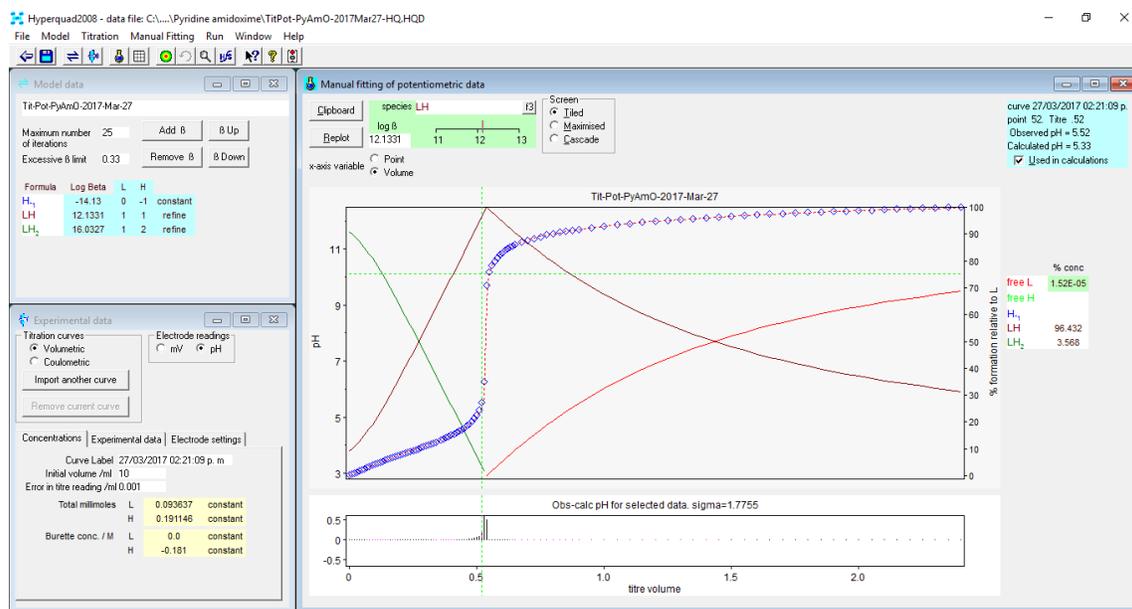


Figura 6.2.6. Ajuste de titulación potenciométrica de PyAmOx mediante el programa *Hyperquad 2008*.

Los valores de las constantes de formación acumulativas y los valores de pK_a obtenidos se muestran en la tabla 2.2.3.

Tabla 6.2.3. Logaritmos de las constantes de formación acumulativas y valores de pK_a obtenidos de las titulaciones potenciométricas del ligante PyAmOx.

Especie	log β promedio					
HL	12.05	12.30	12.23	12.13	12.18 ± 0.11	$pK_{a2} = 12.18$
H ₂ L	15.87	16.22	16.20	16.03	16.08 ± 0.16	$pK_{a1} = 3.90$

La figura 6.2.7 muestra los espectros UV-vis obtenidos de la titulación espectrofotométrica del ligante PyAmOx, las flechas indican el cambio del espectro al incrementar el pH de la disolución en un intervalo de pH entre 7 y 13.

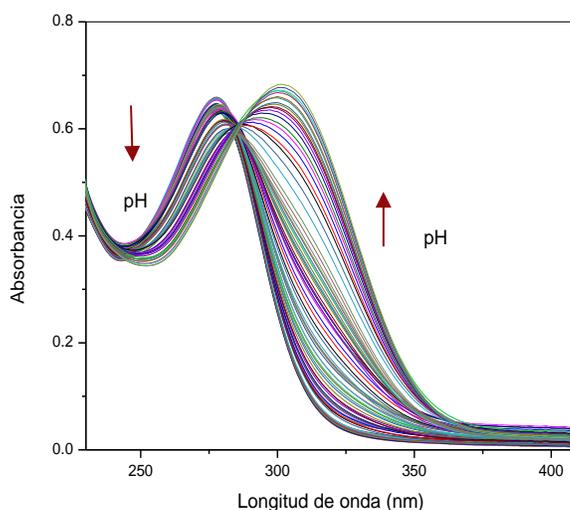


Figura 6.2.7. Titulación espectrofotométrica de PyAmOx 0.1 mM en agua a 25°C, en buffer de fosfatos 10 mM, NaCl 90 mM. Volumen inicial 25.0 mL.

Los datos de la titulación espectrofotométrica se analizaron utilizando el programa *HypSpec* al igual que con el ligante anterior, en este caso los gráficos mostrados en la figura 6.2.8 se encuentran a una longitud de onda de 305 nm y a pH 11.18.

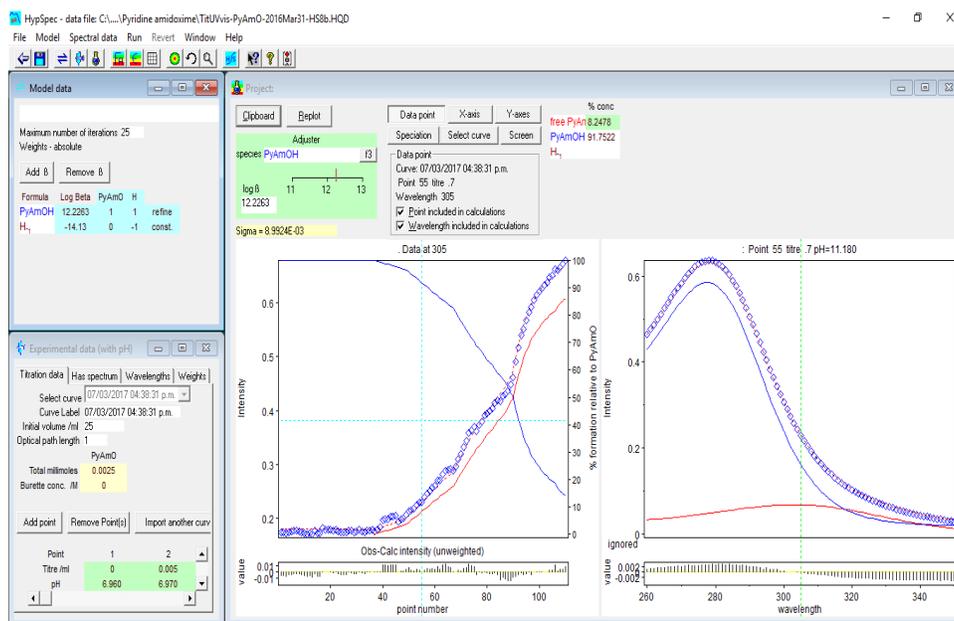


Figura 6.2.8. Ajuste de titulación espectrofotométrica de PyAmOx mediante el programa *HypSpec*

Los valores de las constantes de formación se muestran en la tabla 6.2.4, en este caso solo se determinó el valor de pK_{a2} ya que la titulación se hizo con el ligante neutro.

Tabla 6.2.4. Logaritmos de la constante de formación y valor de pK_a obtenido de la titulación espectrofotométrica del ligante PyAmOx.

Especie	Equilibrio	Log β	pK_a
HL	$H + L \rightleftharpoons HL$	12.226 ± 0.002	$pK_{a2} = 12.23$

Piridinamidoxima-Metales

Se realizaron titulaciones del ligante PyAmOx en presencia de cationes metálicos divalentes de transición en diferentes proporciones y concentraciones.

Cadmio

Las titulaciones con cadmio se realizaron en las condiciones que se muestran en la tabla 6.2.5.

Tabla 6.2.5 Concentraciones utilizadas en las titulaciones potenciométricas del ligante PyAmOx en presencia de Cd(II).

Titulación	[PyAmOx] (mM)	[Cd(ClO ₄) ₂] (mM)	Volumen inicial (mL)	Proporción ligante-metal
1	10	10	25	1:1
2	10	10	10	1:1
3	5	5	10	1:1
4	10	5	10	2:1

En la figura 6.2.9 se muestra una curva de titulación del ligante PyAmOx en presencia de un equivalente de Cd(II) y se grafica el valor de pH en función del volumen de NaOH agregado.

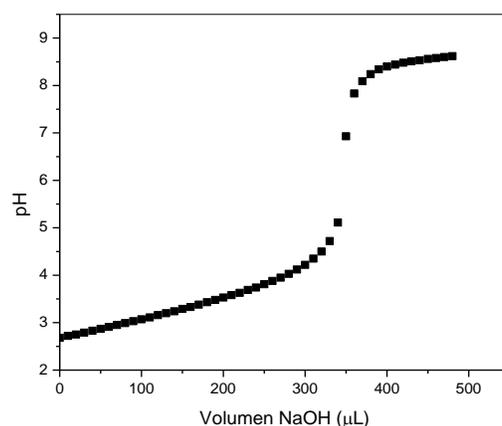


Figura 6.2.9. Titulación potenciométrica del ligante PyAmOx 10 mM en presencia de un equivalente de $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$ en agua a 25°C bajo flujo de N_2 . Fuerza iónica impuesta con NaCl 100 mM.

En la figura 6.2.10 se muestra el ajuste de una titulación potenciométrica del ligante PyAmOx en presencia de un equivalente de Cd(II) mediante el programa *Hyperquad 2008*, se fijó el valor de las constantes de formación acumulativas del ligante utilizando los valores promedio y se calcularon solo las de las especies con cadmio, además se consideró la especie soluble $[\text{CdOH}]^+$ cuyo valor está reportado en la literatura [35].

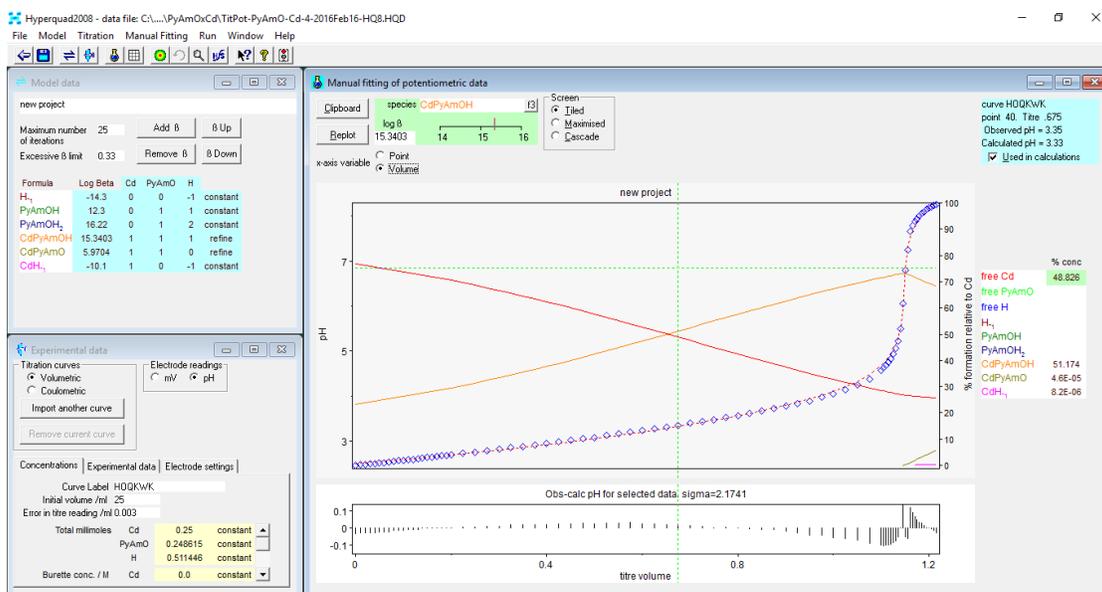


Figura 6.2.10. Ajuste de titulación potenciométrica de PyAmOx en presencia de un equivalente de $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$ mediante el programa *Hyperquad 2008*

Para realizar los ajustes se propuso la formación de dos complejos ligante-Cd uno con el ligante en su forma protonada y otro en su forma desprotonada, en la tabla 6.2.6 se muestran los valores obtenidos de las constantes de formación acumulativas.

Tabla 6.2.6. Logaritmos de las constantes de formación acumulativas obtenidos de las titulaciones potenciométricas del ligante PyAmOx con cadmio.

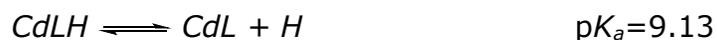
Especie	log β promedio				
[CdLH] ²⁺	14.93	15.01	14.96	15.19	15.02 ± 0.12
[CdL] ⁺	5.94	5.94	5.83	5.83	5.89 ± 0.07

La formación de los dos complejos con Cd(II) se muestra en el esquema 6.2.1 en el que se incluyen los valores de las constantes de formación, se omiten las cargas para mayor claridad.



Esquema 6.2.1. Equilibrios de formación de complejos L-Cd y logaritmos de las constantes de formación, L=PyAmOx

Además es posible calcular la constante de disociación ácida para el complejo [CdLH]²⁺ que se representa por el siguiente equilibrio:



Este pK_a , se asignó a la desprotonación de la oxima, por lo que se puede notar que hay una disminución significativa en el valor de pH en que se tiene el oximato libre ya que en pH=9.13 ya se tiene un 50% de oximato libre cuando el ligante está coordinado con cadmio mientras que en ausencia de metal, el 50% de oximato libre se alcanza a un valor de pH mayor (pH=12.18) por lo que el ligante disminuye notablemente su pK_a por coordinación y con esto, la fracción de nucleófilo presente a valores de pH menores aumenta. Sin embargo, la función del cadmio no es solo

disminuir el pK_a del ligante, ya que también se propone que participe en la solvatación del nucleófilo, lo cual se presentará con más detalle en la sección 6.3 cuando se estudie la reactividad hacia los diferentes sustratos.

Zinc

Las titulaciones potenciométricas con zinc se realizaron en las condiciones que se muestran en la tabla 6.2.7.

Tabla 6.2.7 Concentraciones utilizadas en las titulaciones potenciométricas del ligante PyAmOx en presencia de Zn(II)

Titulación	[PyAmOx] (mM)	[Zn(ClO ₄) ₂] (mM)	Volumen inicial (mL)	Proporción ligante-metal
1	10	10	25	1:1
2	20	10	25	2:1
3	10	5	25	2:1
4	3	1.5	10	2:1

La figura 6.2.11 muestra una curva de titulación del ligante PyAmOx en presencia de Zn(II) y se grafica el valor de pH en función del volumen de NaOH agregado.

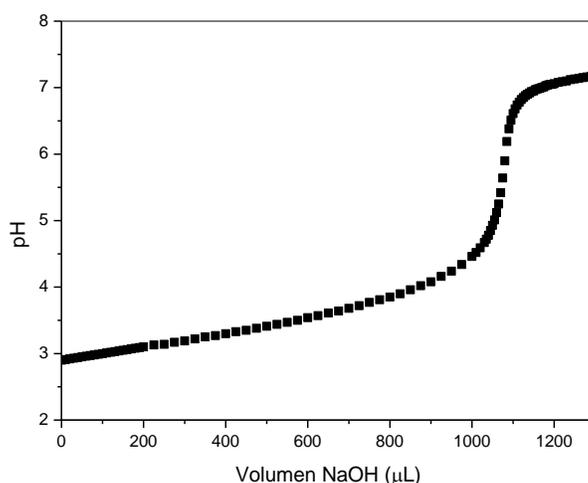


Figura 6.2.11. Titulación potenciométrica del ligante PyAmOx 20 mM en presencia de Zn(ClO₄)₂ 10 mM en agua a 25°C bajo flujo de N₂. Fuerza iónica impuesta con NaCl 100 mM.

Como primera aproximación para ajustar las titulaciones se utilizó un modelo publicado en la literatura [36], el cual propone la formación de las especies mostradas en la tabla 6.2.8 con sus respectivas constantes de formación.

Tabla 6.2.8 Especies y constantes de formación propuestas en la literatura para el ligante PyAmOx con Zn(II)

Especie	LH	LH ₂	[ZnLH] ²⁺	[ZnL ₂]	[ZnL ₂ H ₂] ²⁺	[Zn ₂ L ₂ OH] ⁺	[Zn ₄ L ₄ H ₂] ⁶⁺
Log β	11.7	15.498	14.73	12.44	28.87	9.1	19.84

Se utilizaron las constantes publicadas para realizar los ajustes de las titulaciones en el programa *Hyperquad 2008* y un ejemplo se muestra en la figura 6.2.12.

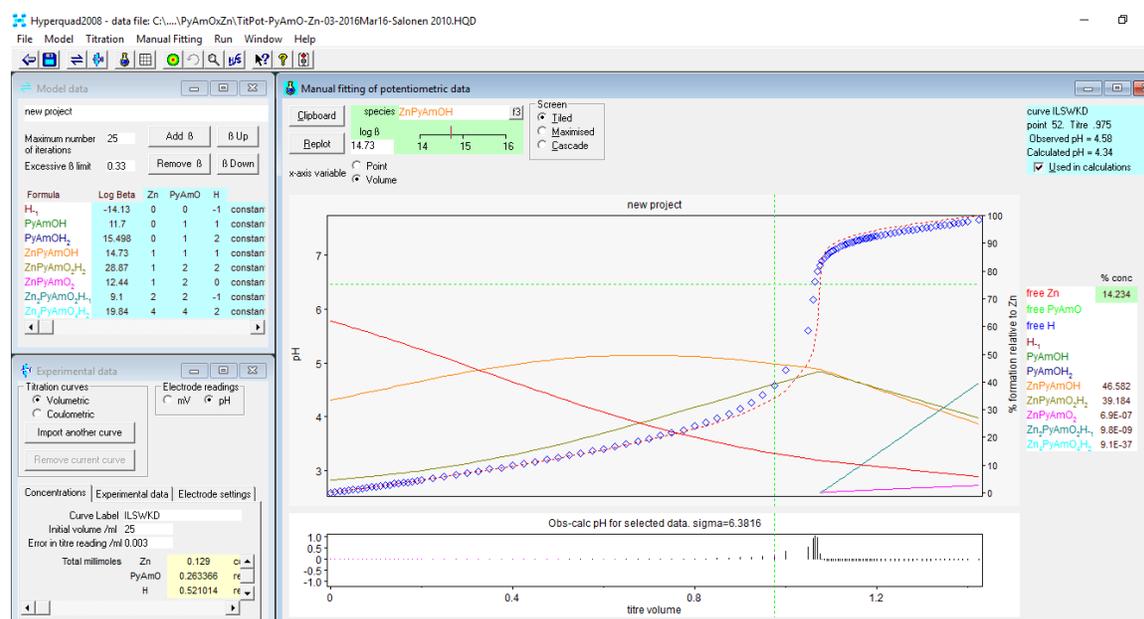


Figura 6.2.12. Ajuste de titulación potenciométrica de PyAmOx en presencia de Zn(ClO₄)₂ mediante el programa *Hyperquad 2008* utilizando las constantes reportadas.

Con estas constantes se puede observar que el ajuste es bueno en la parte ácida pero después resulta imposible ajustar los datos experimentales al modelo y esto sucede en todas las titulaciones.

Además, es importante señalar que las constantes de formación reportadas para el ligante fueron obtenidas a fuerza iónica 3 M, las titulaciones sólo se realizaron hasta pH 10, y las concentraciones y proporciones metal:ligante son diferentes, por lo que se propuso un

modelo distinto que ajustara los datos obtenidos en las condiciones de trabajo, que incluyera algunas de las especies ya reportadas y que pudiera explicar la reactividad hacia los diferentes sustratos.

En la figura 6.2.13 se muestra el ajuste de una titulación potenciométrica del ligante PyAmOx en presencia de Zn(II) mediante el programa *Hyperquad 2008*. Análogamente al caso del cadmio, las constantes de formación acumulativas del ligante se mantuvieron fijas utilizando los valores promedio, se iteraron únicamente las especies con zinc, y se incluyó la especie soluble $[ZnOH]^+$ cuyo valor está reportado en la literatura [35].

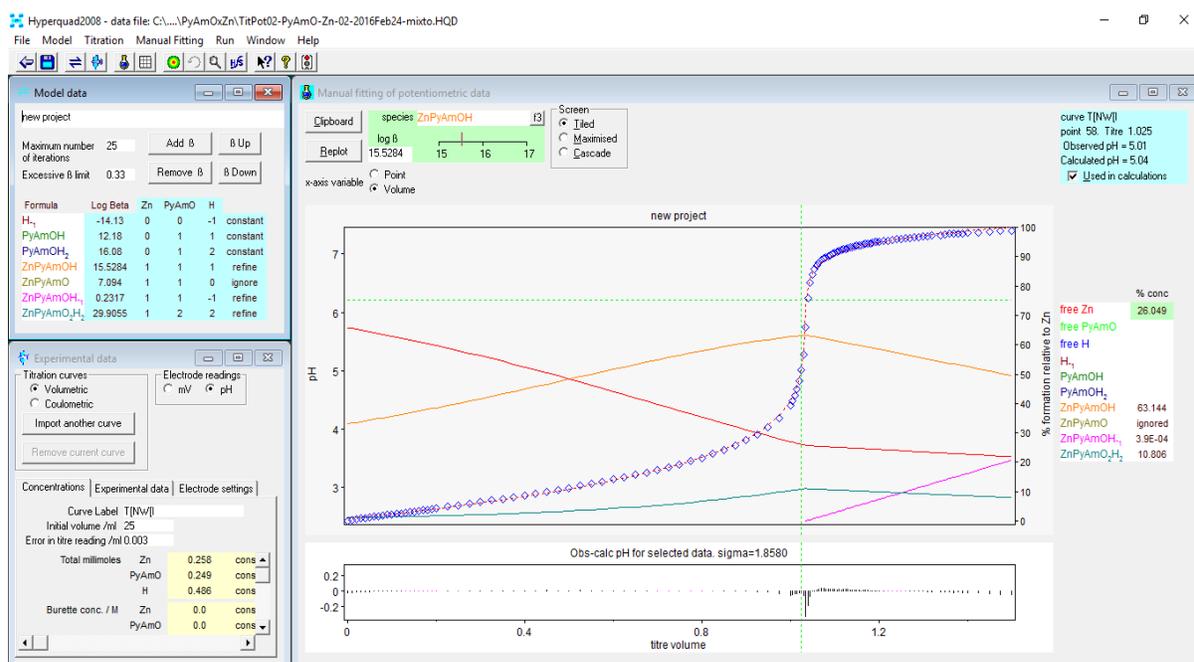


Figura 6.2.13. Ajuste de titulación potenciométrica de PyAmOx en presencia de $Zn(ClO_4)_2$ mediante el programa *Hyperquad 2008* utilizando el modelo propuesto.

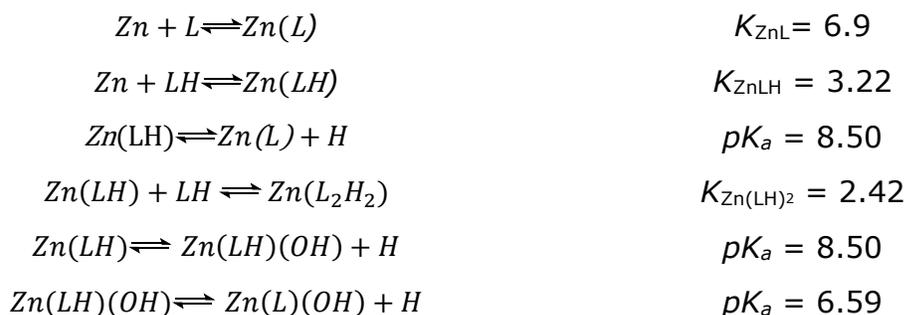
En la tabla 6.2.9 se resumen los logaritmos de las constantes de formación acumulativas obtenidas en las titulaciones del ligante PyAmOx en presencia de Zn(II).

Tabla 6.2.9. Logaritmos de las constantes de formación acumulativas obtenidos de las titulaciones potenciométricas del ligante PyAmOx con zinc.

Especie	log β promedio				
$[\text{ZnLH}]^{2+}$	15.37	15.53	15.31	15.49	15.4 ± 0.1
$[\text{ZnL}]^+$	6.87	n.d.	6.87	7.07	6.9 ± 0.1
$[\text{ZnL}(\text{OH})]$	0.6243	0.2317	0.1475		0.33 ± 0.5
$[\text{ZnL}_2\text{H}_2]^{2+}$	30.44	29.91	30.05	29.87	30.0 ± 0.2

El modelo propuesto considera la formación de complejos mononucleares metal:ligante 1:1 y 1:2, con el ligante en su forma protonada y desprotonada. Además, se incluyó una especie en la que está involucrada la desprotonación de una molécula de agua de coordinación.

En el esquema 6.2.2 se presentan los equilibrios involucrados y sus respectivas constantes de formación o en su caso el pK_a de la especie. Se omiten las cargas para mayor claridad.



Esquema 6.2.2. Equilibrios de formación de complejos L-Zn y logaritmos de las constantes de formación o constante de disociación ácida (pK_a). L=PyAmOx

Es relevante notar que el pK_a que corresponde a la desprotonación de la oxima, disminuye significativamente al igual que con Cd(II), sin embargo, este valor es aún menor, lo que representa un aumento mayor en la acidez del ligante al utilizar Zn(II).

Adicionalmente, para identificar las especies se realizaron espectros de masas por ionización de eletrospray a diferentes valores de pH y concentraciones del ligante libre y en presencia de un equivalente de $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$. En la figura 6.2.14 se muestra el espectro de masas obtenido del ligante libre en el que se muestran las estructuras de los fragmentos identificados más importantes

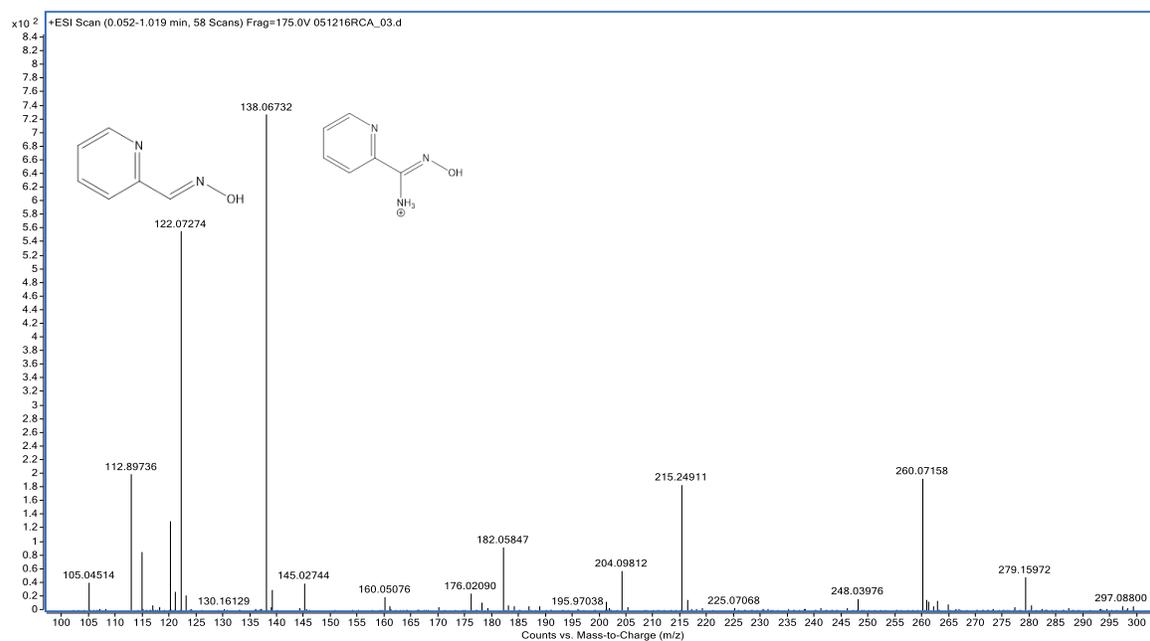


Figura 6.2.14 Espectro de masas del ligante PyAmOx 0.1 mM a pH 8.00 ajustado con NaOH y HCl

En las figuras 6.2.15-6.2.18 se muestran los espectros de masas del ligante PyAmOx en presencia de 1 equivalente de $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$ a diferentes valores de pH y concentraciones y se presentan también las estructuras de las especies encontradas con $\text{Zn}(\text{II})$ que corresponden tanto a la relación m/z como al patrón isotópico esperado.

Es importante observar que, en las condiciones utilizadas, en todos los casos solo se forman especies mononucleares, es decir con un solo átomo de zinc, tanto con uno y dos ligantes y lo único que cambia es el entorno de coordinación.

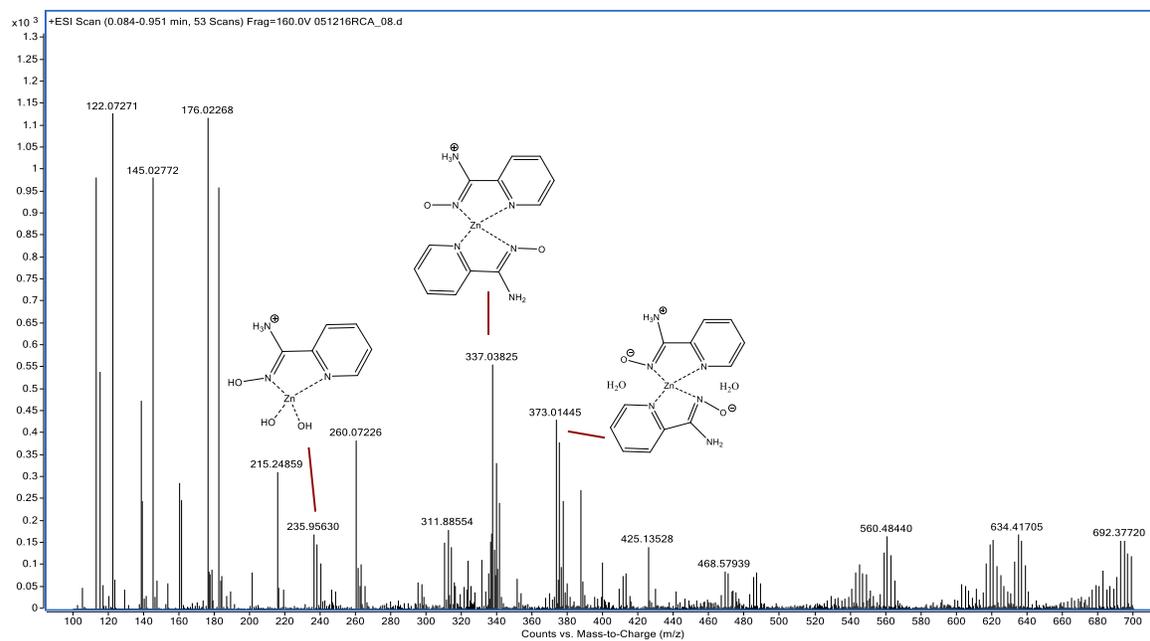


Figura 6.2.15 Espectro de masas del ligante PyAmOx 0.1 mM en presencia de un equivalente de $Zn(ClO_4)_2$ a pH 8.50 ajustado con NaOH y HCl

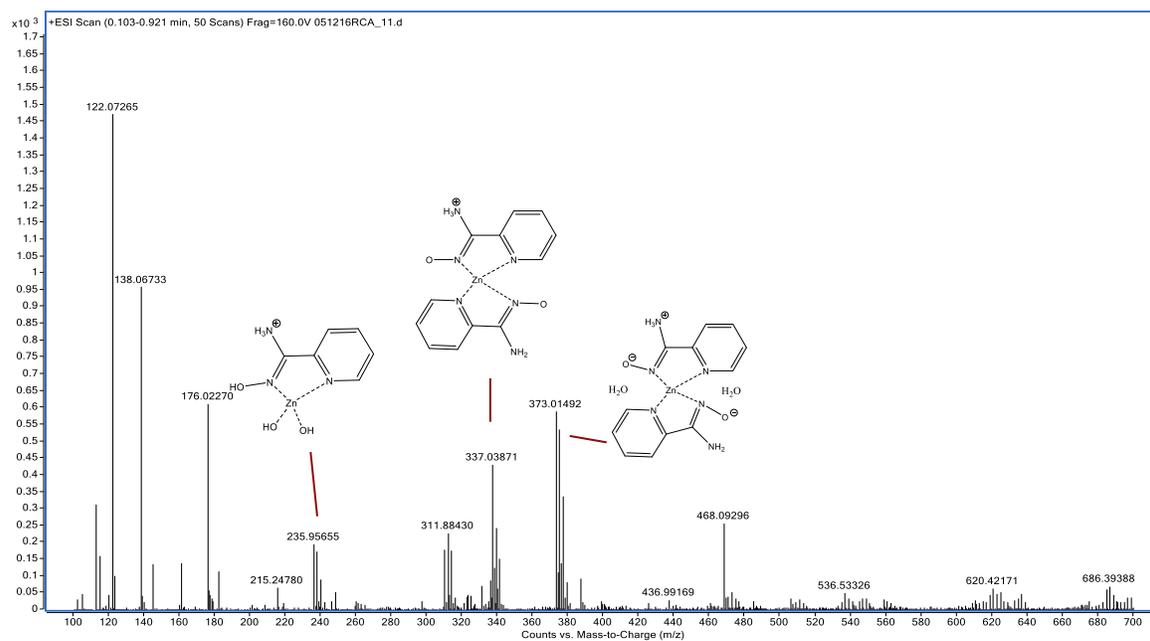


Figura 6.2.16 Espectro de masas del ligante PyAmOx 0.1 mM en presencia de un equivalente de $Zn(ClO_4)_2$ a pH 7.00 ajustado con NaOH y HCl

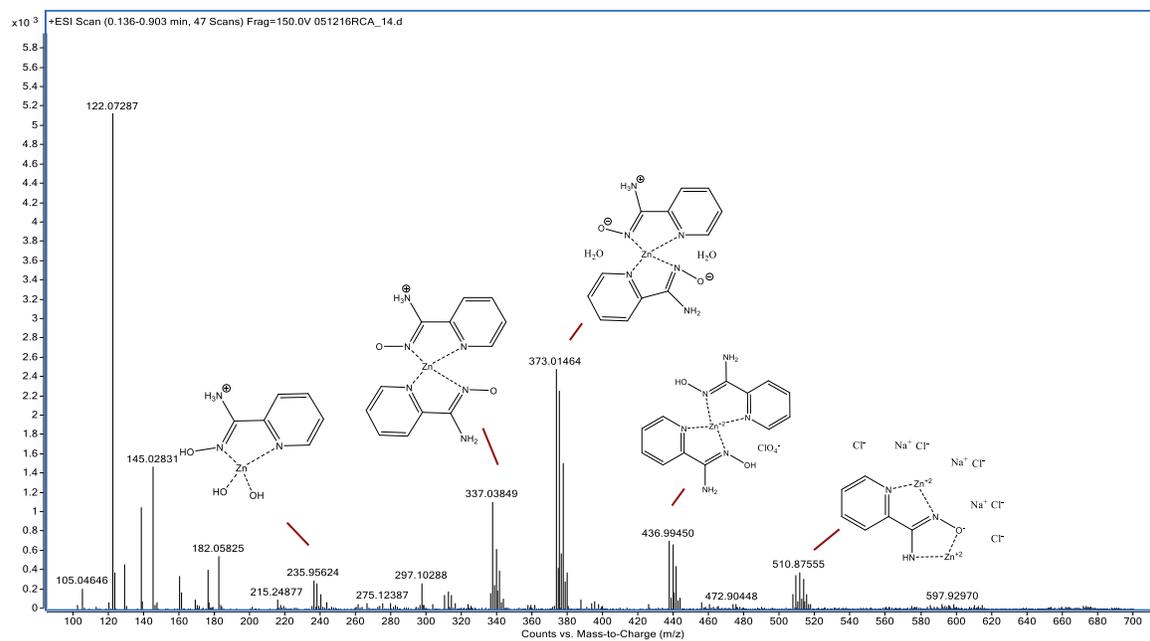


Figura 6.2.17 Espectro de masas del ligante PyAmOx 0.5 mM en presencia de un equivalente de $Zn(ClO_4)_2$ a pH 8.30 ajustado con NaOH y HCl

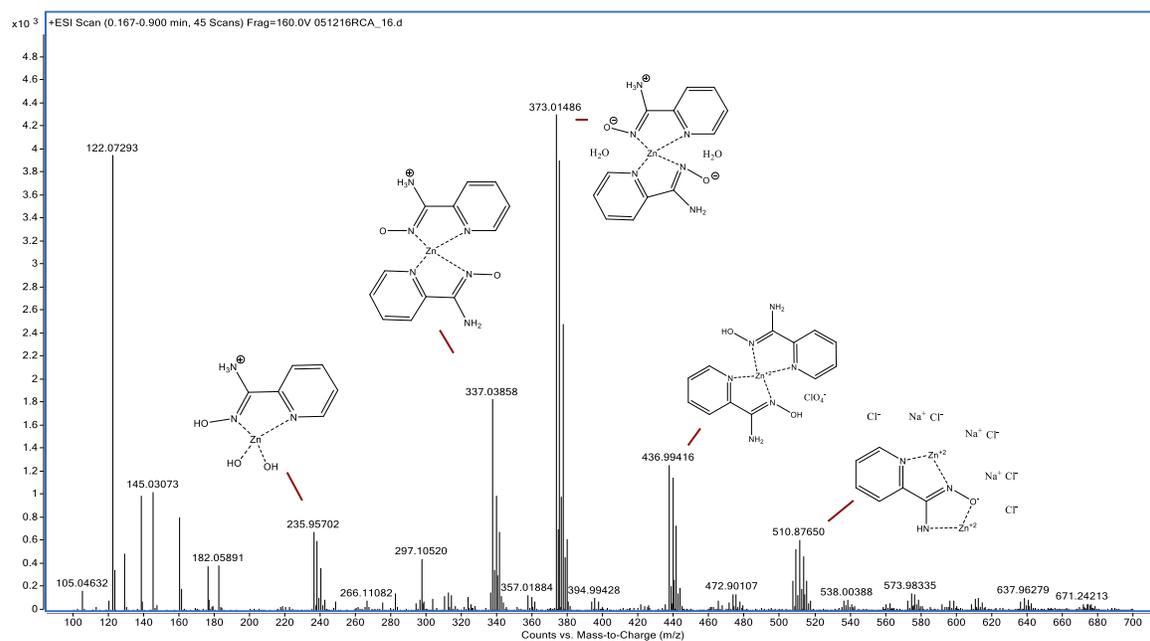


Figura 6.2.18 Espectro de masas del ligante PyAmOx 1.0 mM en presencia de un equivalente de $Zn(ClO_4)_2$ a pH 8.31 ajustado con NaOH y HCl

Además, se proponen especies con iones que no estarían presentes normalmente en disolución pero que se pueden formar en el proceso de ionización por ejemplo con el anión perclorato, Na^+ y Cl^- en el caso de las muestras más concentradas ya que si existen reportes de complejos de coordinación estudiados por espectrometría de masas por ESI en los que es muy común que se formen aductos o iones pseudomoleculares con cationes presentes como Na^+ o incluso con algunos disolventes [37].

Con estos resultados no se puede asegurar que las especies en disolución sean las mismas que en fase gas, ya que existen más factores involucrados, sin embargo, sirven como una aproximación para conocer el tipo de complejos que se forman con este ligante, permite omitir en el modelo utilizado en las titulaciones potenciométricas las especies polinucleares y además las concentraciones utilizadas para obtener los espectros se encuentran en el intervalo de las condiciones empleadas en los estudios cinéticos, lo que podría ayudar a identificar la o las especies reactivas en disolución.

Níquel

Para identificar las especies en disolución presentes se realizaron titulaciones espectrofotométricas del ligante PyAmOx a pH fijo utilizando Ni(II) como titulante, en las condiciones de la tabla 6.2.10.

Tabla 6.2.10. Concentraciones utilizadas en las titulaciones espectrofotométricas del ligante PyAmOx con Ni(II) como titulante.

No.	[PyAmOx] (mM)	pH	[Ni(ClO ₄) ₂] (mM)
1	0.1	7.00	5.0
2	0.1	6.00	2.5
3	0.15	6.51	2.5

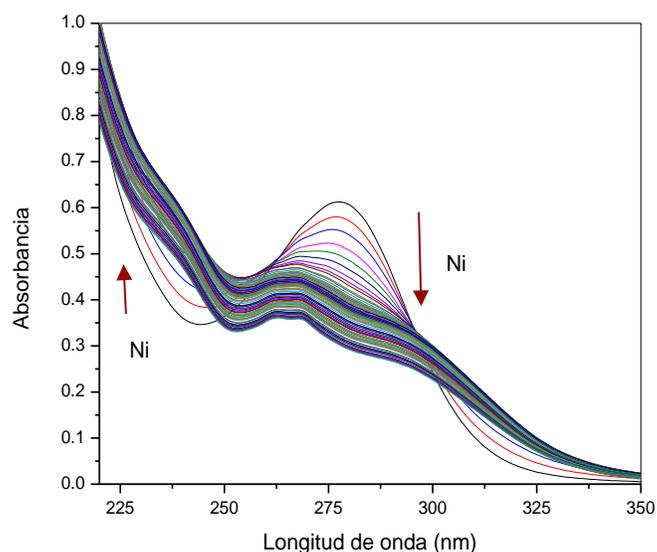


Figura 6.2.19. Espectros UV-vis obtenidos de la titulación de PyAmO 0.1 mM en MES 10 mM a pH 6.00 y NaCl 90 mM a 25°C utilizando como titulante $\text{Ni}(\text{ClO}_4)_2$ 2.5 mM. Las flechas indican el cambio del espectro en función de la cantidad de Ni agregado y los espectros no están corregidos por dilución.

En la figura 6.2.19 se muestra una de las titulaciones espectrofotométricas y mediante el programa *HypSpec* se calcularon las constantes de formación de las especies de Ni(II) con el ligante protonado, ya que en los valores de pH utilizados es la forma predominante y por lo tanto se determinaron las constantes de formación de las especies NiLH , $\text{Ni}(\text{LH})_2$ y $\text{Ni}(\text{LH})_3$.

En la figura 6.2.20 se muestra el ajuste en *HypSpec* en el que a la izquierda se encuentra la curva de titulación a una longitud de onda de 239 nm y a la derecha se muestran los espectros a la mitad de la titulación, los rombos azules representan los datos experimentales y la línea punteada representa el ajuste al modelo planteado.

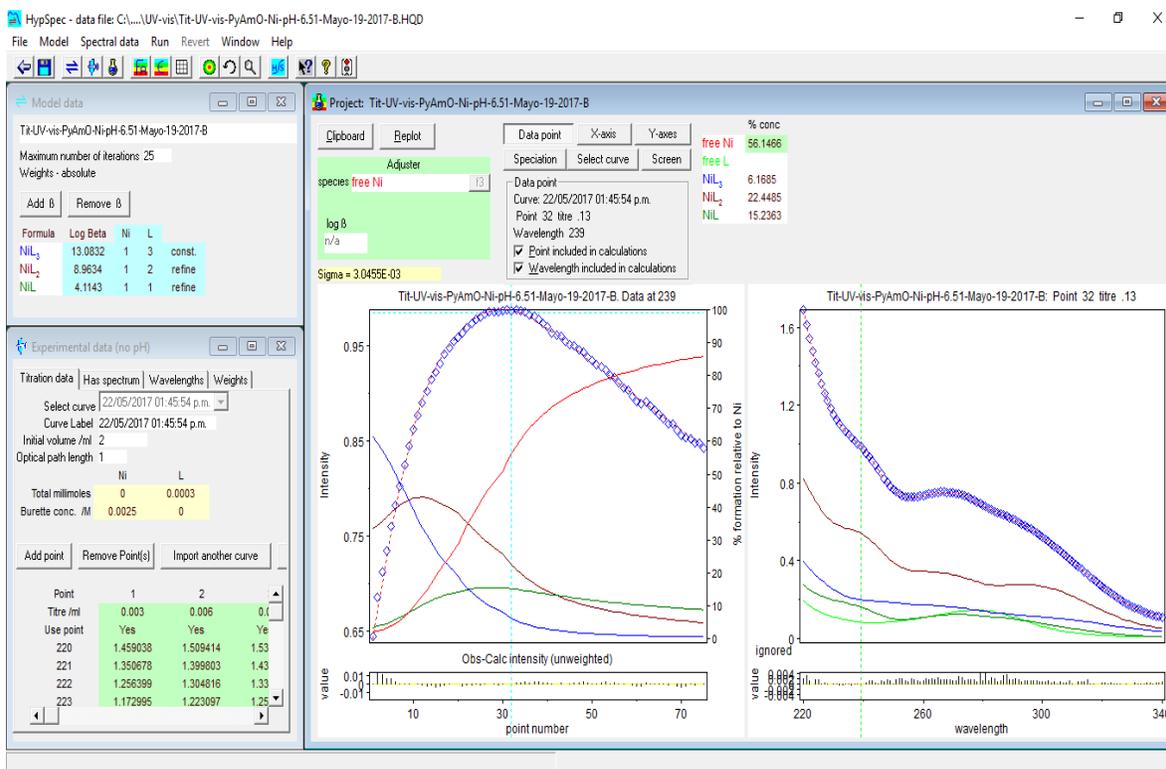
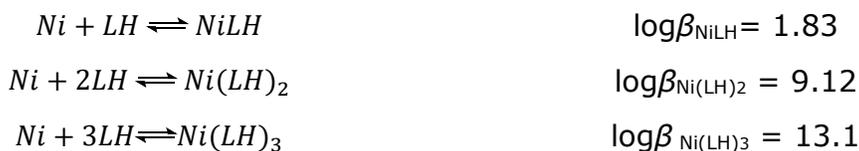


Figura 6.2.20. Ajuste de titulación espectrofotométrica de PyAmOx 0.1 mM con Ni(II) mediante el programa *HypSpec*

Los valores de las constantes obtenidas promedio y sus respectivos equilibrios se muestran en el esquema 6.2.3.



Esquema 6.2.3. Equilibrios de formación de las especies Ni-PyAmOx

Las titulaciones potenciométricas con níquel se realizaron en las condiciones que se muestran en la tabla 6.2.11.

Tabla 6.2.11. Concentraciones utilizadas en las titulaciones potenciométricas del ligante PyAmOx en presencia de Ni(II).

Titulación	[PyAmOx] (mM)	[Ni(ClO ₄) ₂] (mM)	Volumen inicial (mL)	Proporción ligante-metal
1	5	2.5	10	2:1
2	5	2.5	10	2:1
3	12.5	2.5	10	5:1

En la figura 6.2.21 se muestra una curva de titulación del ligante PyAmOx en presencia Ni(II) en proporción metal:ligante 1:5 y se grafica el valor de pH en función del volumen de NaOH agregado.

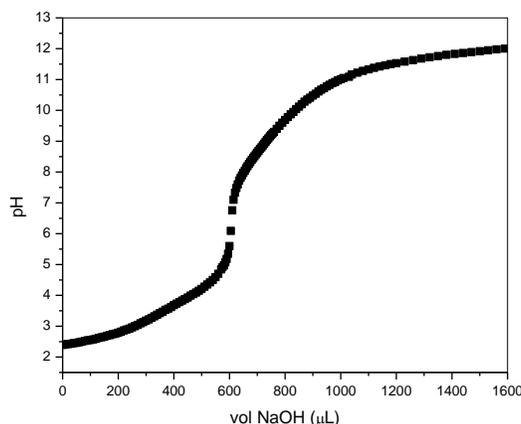


Figura 6.2.21. Titulación potenciométrica del ligante PyAmOx 12.5 mM en presencia de $\text{Ni}(\text{ClO}_4)_2$ 2.5 mM en agua a 25°C bajo flujo de N_2 . Fuerza iónica impuesta con NaCl 100 mM.

En la figura 6.2.8 se muestra el ajuste de una titulación potenciométrica del ligante PyAmOx en presencia de Ni(II) mediante el programa *Hyperquad* 2008, las constantes de formación acumulativas del ligante se mantuvieron fijas utilizando los valores promedio al igual que las de las especies NiLH , $\text{Ni}(\text{LH})_2$ y $\text{Ni}(\text{LH})_3$ obtenidas de las titulaciones espectrofotométricas y se añadió la especie soluble $[\text{NiOH}]^+$ cuyo valor está reportado en la literatura [35]. Además, se propone la formación de hidroxocomplejos cuya presencia permite explicar tanto las titulaciones potenciométricas como la reactividad de estos sistemas (sección 6.3). En la figura 6.2.22 se muestra el ajuste de una de las titulaciones mediante el programa *HyperQuad* 2008 con las especies propuestas.

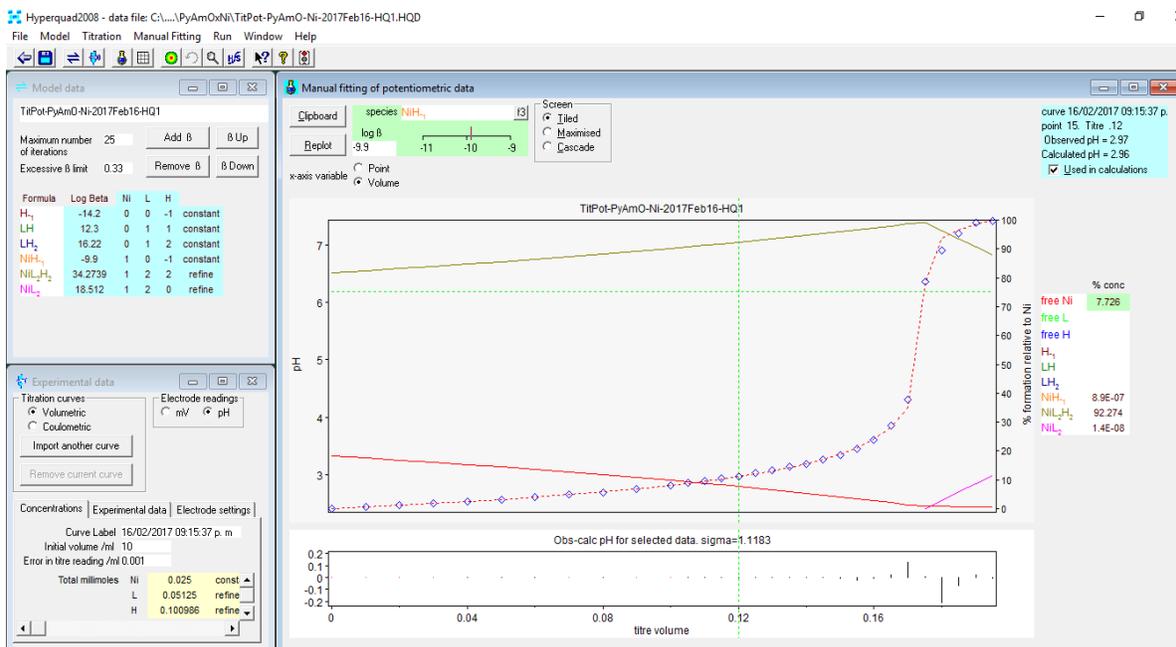
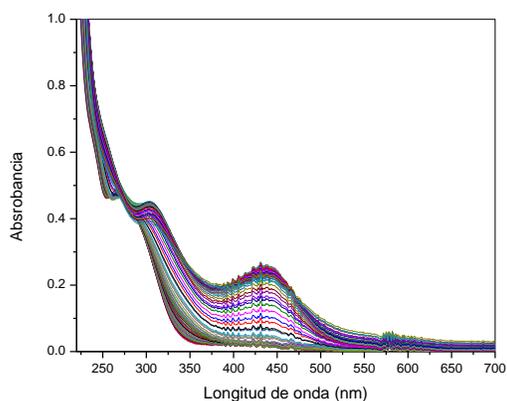
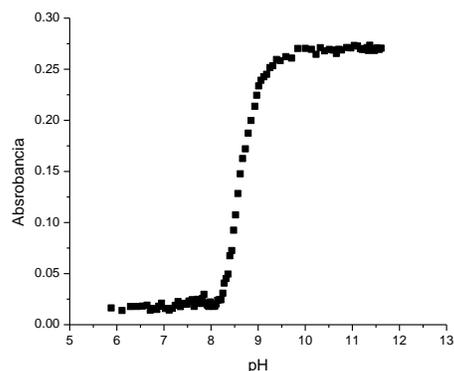


Figura 6.2.22. Ajuste de titulación potenciométrica de PyAmOx en presencia de Ni(ClO₄)₂ mediante el programa *Hyperquad 2008*

Asimismo se realizó una titulación espectrofotométrica Ni:PyAmOx 1:1 con NaOH como titulante que se muestra en la figura 6.2.23 en la que se observa la aparición de una banda con un máximo alrededor de 440 nm al incrementar el pH, y se espera que corresponda a una especie con geometría planar cuadrada ya que se observa un color amarillo característico de complejos de Ni con esta geometría[38][39] y el coeficiente de extinción molar es alrededor de 2500 M⁻¹ cm⁻¹ el cual no corresponde a una especie octaédrica o tetraédrica que tienen valores entre 10 y 100 M⁻¹cm⁻¹[39][40]. Además al graficar el cambio en la absorbancia en función del pH para una longitud de onda determinada (Figura 6.2.23), se observa por la forma de la curva que existe un equilibrio en el que se pierden 1.8 protones, es decir casi dos protones, alrededor de pH 8.5 por lo que es razonable entonces proponer que efectivamente se forman complejos [NiL(H₂O)₂]⁺ en los que posteriormente se desprotonan simultáneamente dos moléculas de agua dando [NiL(OH)₂]⁻ y que tienen geometría planar cuadrada.



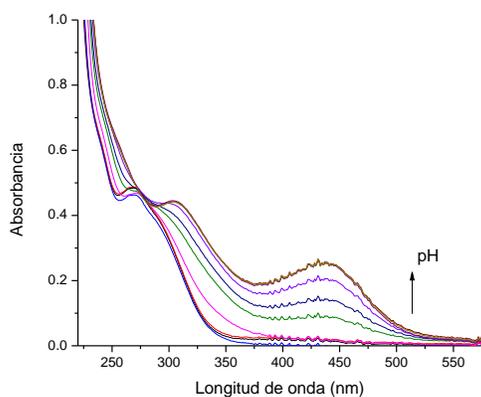
A



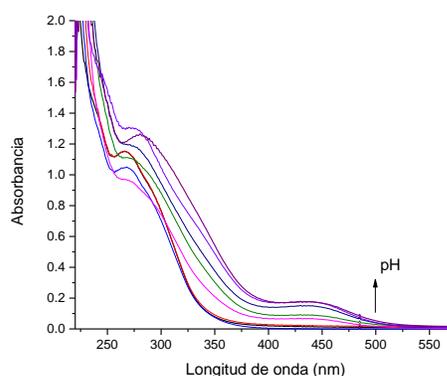
B

Figura 6.2.23. A) Espectros UV-Vis obtenidos de la titulación espectrofotométrica del ligante PyAmOx 0.1 mM en presencia de un equivalente de Ni(II) con NaOH como titulante a 25°C, NaCl 100 mM B) Gráfico de absorbancia en función del pH para una longitud de onda de 440 nm.

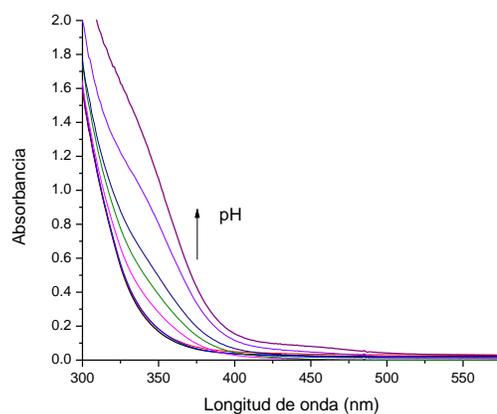
Adicionalmente se tomaron espectros UV-vis del ligante en proporción L:Ni 1:1, 2:1 y 5:1 a diferentes valores de pH y en las concentraciones utilizadas en cinética que se muestran en la figura 6.2.24 y se observó que la banda de 440 nm aparece cuando se tienen proporciones 1:1 y 2:1 pero cuando hay un gran exceso de ligante esta banda es muy pequeña ya que se favorece la formación de complejos octaédricos con coeficientes de extinción molar mucho menores y las bandas correspondientes no se observan.



A



B



C

Figura 6.2.24. Espectros UV-vis del ligante PyAmOx en presencia de Ni(II) a diferentes valores de pH. A) Ni 0.1 mM, L 0.1 mM, B) Ni 0.1 mM, L 0.2 mM, C) Ni 0.1 mM, L 0.5 mM

Esto es importante al compararlo con los resultados de los estudios cinéticos ya que ahí se observa que hay solo una especie reactiva al utilizar diferentes proporciones metal ligante.

Por lo tanto, considerando todas las especies posibles en disolución y que además hay cambios en la geometría de los complejos, el modelo que se propuso finalmente se muestra en la tabla 6.2.12 en el que se muestran las especies propuestas y el logaritmo de sus constantes de formación acumulativas.

Tabla 6.2.12. Especies con el ligante PyAmOx y Ni (II) y logaritmos de las constantes de formación.

Especie	$[\text{NiLH}]^{2+}$	$[\text{NiL}_2\text{H}_2]^{2+}$	$[\text{NiL}_3\text{H}_3]^{2+}$	$[\text{NiLOH}]$	$[\text{NiLOH}_2]^-$
Log β	12.27	34.43	49.64	1.49	-6.6

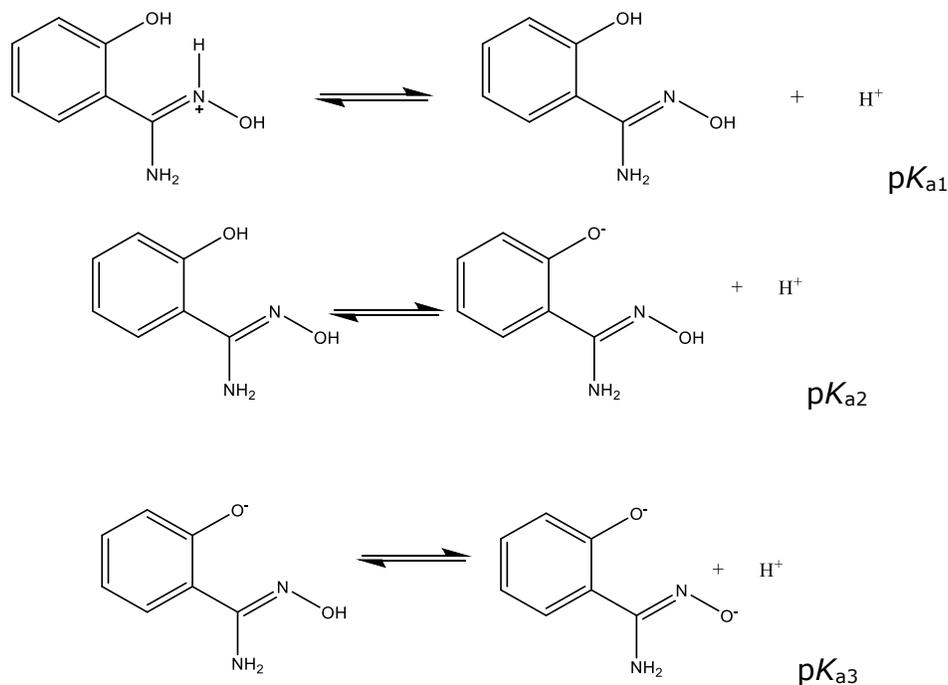
En la tabla 6.2.13 se presenta un resumen de los valores de constantes de formación o pK_a para el ligante PyAmOx en ausencia y en presencia de los tres cationes metálicos, Cd(II), Ni(II) y Zn(II) con los que se observó reactividad.

Tabla 6.2.13. Constantes de formación o pK_a de las especies del ligante PyAmOx y sus complejos con cationes metálicos y los equilibrios asociados.

Equilibrio	log K o pK_a		
$HL \rightleftharpoons H + L$	12.18		
$H_2L \rightleftharpoons H + HL$	3.90		
	Cd(II)	Ni(II)	Zn(II)
$M + L \rightleftharpoons M(L)$	5.89		7.06
$M + LH \rightleftharpoons M(LH)$	2.84	1.83	3.38
$M(LH) \rightleftharpoons M(L) + H$	9.13		8.05
$M + 2LH \rightleftharpoons M(LH)_2 + H$		9.12	
$M + 3LH \rightleftharpoons M(LH)_3 + H$		13.1	
$M(LH) + LH \rightleftharpoons M(L_2H_2)$			2.61
$M(LH) \rightleftharpoons M(LH)(OH) + H$			8.50
$M(LH)(OH) \rightleftharpoons M(L)(OH) + H$			6.75
$M(L)(H_2O)_2 \rightleftharpoons M(L)(OH)_2 + 2H$		8.57	

Salicilamidoxima

Los equilibrios propuestos para la disociación ácida del ligante SalAmOx se muestran a continuación:



La figura 6.2.25 muestra una curva de titulación del ligante SalAmOx y se grafica el valor de pH en función del volumen de NaOH agregado.

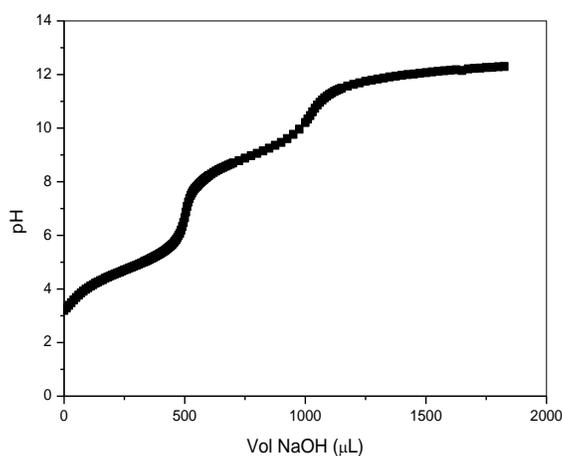


Figura 6.2.25. Titulación potenciométrica del ligante SalAmOx 10 mM en agua a 25°C bajo flujo de N₂. Fuerza iónica impuesta con NaCl 100 mM.

De la misma manera que con los ligantes anteriores, los datos se ajustaron mediante el programa *Hyperquad 2008* y en la figura 6.2.26 se

muestra un ejemplo del ajuste de la titulación del ligante SalAmOx. En este caso se consideraron tres valores de constantes de formación acumulativas debido al grupo OH presente.

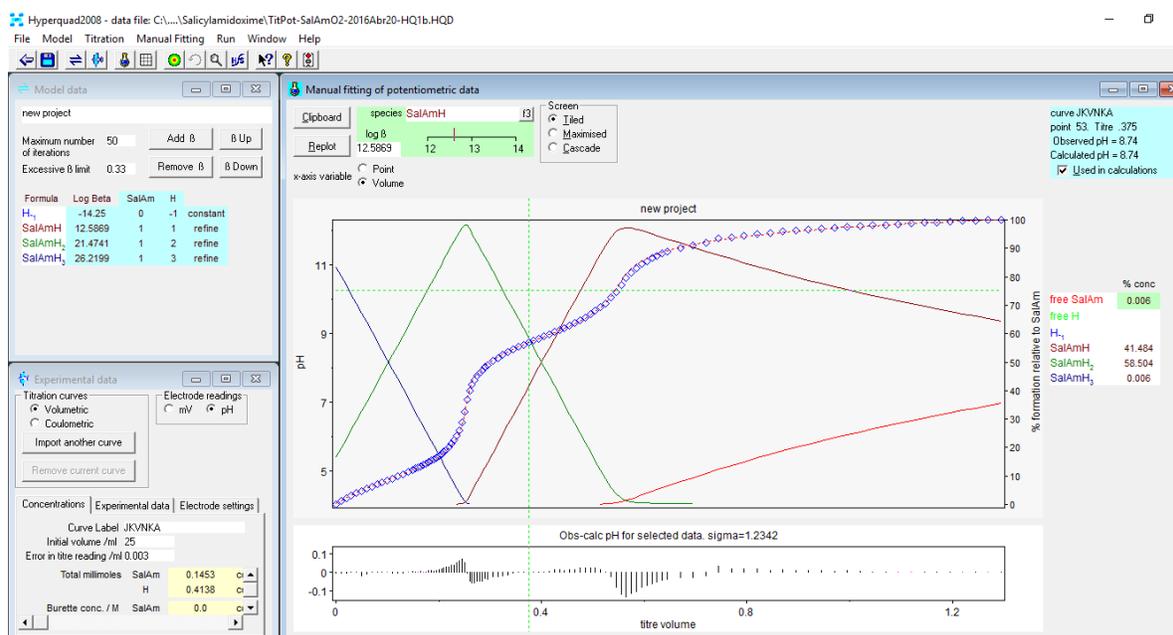


Figura 6.2.26. Ajuste de titulación potenciométrica de SalAmOx mediante el programa *Hyperquad 2008*

Los valores de las constantes de formación acumulativas y los valores de pK_a obtenidos se muestran en la tabla 6.2.14.

Tabla 6.2.14. Logaritmos de las constantes de formación acumulativas y valores de pK_a obtenidos de las titulaciones potenciométricas del ligante SalAmOx.

Especie	log β	log β	log β promedio	pK_a
HL	12.42	12.44	12.43 ± 0.02	$pK_{a3} = 12.43$
H ₂ L	21.30	21.36	21.33 ± 0.04	$pK_{a2} = 8.90$
H ₃ L	26.05	26.10	26.07 ± 0.03	$pK_{a1} = 4.74$

En la figura 6.2.27 se muestran los espectros UV-vis obtenidos de la titulación espectrofotométrica del ligante SalAmOx, las flechas indican el cambio del espectro al incrementar el pH de la disolución desde pH 4.7 hasta pH 12.0.

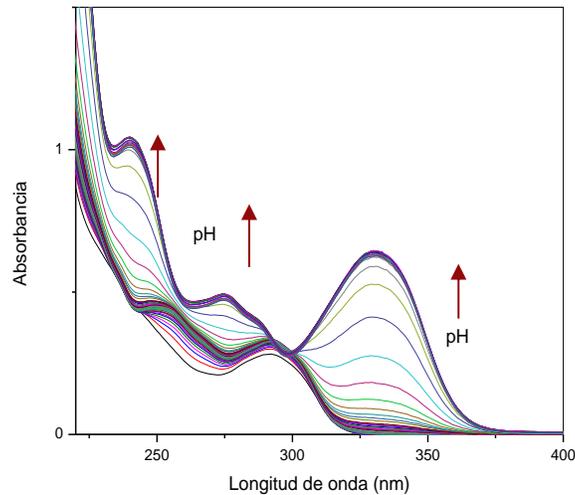


Figura 6.2.27. Titulación espectrofotométrica de SalAmOx 0.5 mM en agua a 25°C, pH amortiguado con MES y MOPS 10 mM, NaCl 90 mM. Volumen inicial 10.0 mL.

Los datos de la titulación espectrofotométrica se analizaron utilizando el programa *HypSpec* al igual que con los ligantes anteriores, en este caso los gráficos mostrados en la figura 6.2.28 se encuentran a una longitud de onda de 252 nm y a pH 5.04.

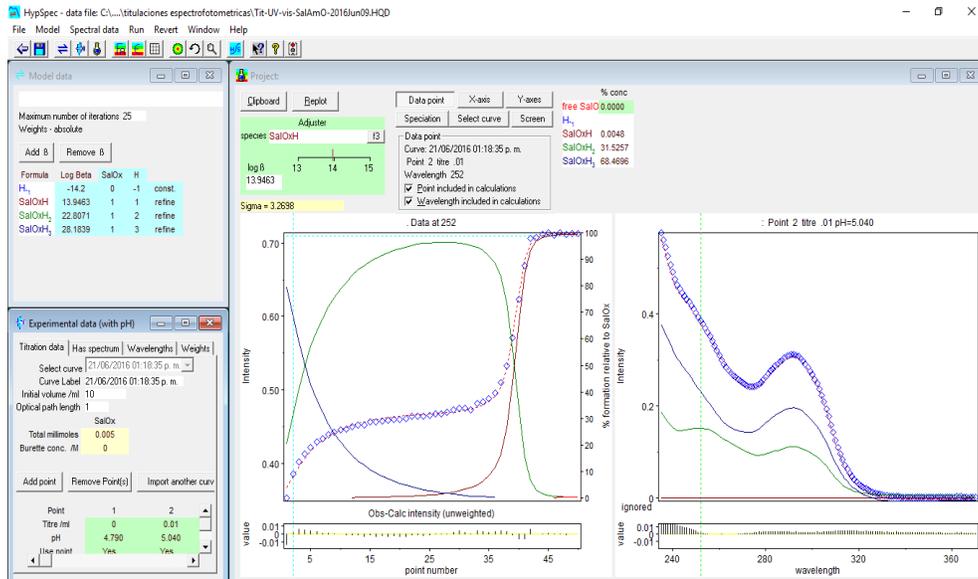


Figura 6.2.28. Ajuste de titulación espectrofotométrica de SalAmOx mediante el programa *HypSpec*

En la tabla 6.2.15 se muestran los valores obtenidos de las constantes de formación acumulativas, además de los valores de pK_a del ligante SalAmOx.

Tabla 6.2.15. Logaritmos de las constantes de formación acumulativas y valores de pK_a obtenidos en la titulación espectrofotométricas del ligante SalAmOx.

Especie	$\log \beta$	pK_a
HL	13.946 ± 0.001	$pK_{a3} = 13.95$
H ₂ L	22.807 ± 0.001	$pK_{a2} = 8.86$
H ₃ L	28.185 ± 0.008	$pK_{a1} = 5.38$

Salicilamidoxima-Metales

Se realizaron titulaciones del ligante SalAmOx en presencia de cationes metálicos divalentes de transición en diferentes proporciones y concentraciones.

Cadmio

Las titulaciones con cadmio se realizaron en las condiciones que se muestran en la tabla 6.2.16.

Tabla 6.2.16 Concentraciones utilizadas en las titulaciones potenciométricas del ligante SalAmOx en presencia de Cd(II)

Titulación	[SalAmOx] (mM)	[Cd(ClO ₄) ₂] (mM)	Volumen inicial (mL)	Proporción ligante-metal
1	10	5	25	2:1
2	2	2	25	1:1
3	10	10	10	1:1

En la figura 6.2.29 se muestra una curva de titulación del ligante SalAmOx en presencia de un equivalente de Cd(II) y se grafica el valor de pH en función del volumen de NaOH agregado.

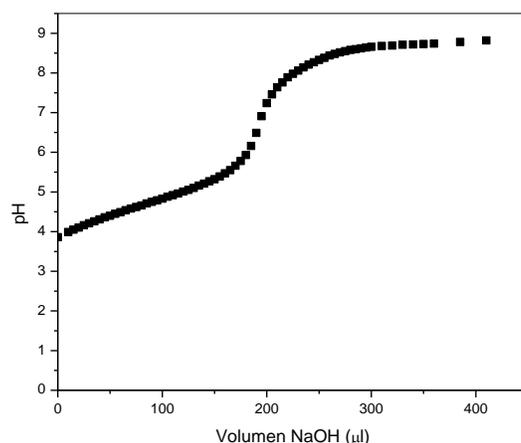


Figura 6.2.29. Titulación potenciométrica del ligante SalAmOx 2 mM en presencia de un equivalente de $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$ en agua a 25°C bajo flujo de N_2 . Fuerza iónica impuesta con NaCl 100 mM.

En la figura 6.2.30 se muestra el ajuste de una titulación potenciométrica del ligante SalAmOx en presencia de un equivalente de Cd(II) mediante el programa *Hyperquad 2008*, las constantes de formación acumulativas del ligante se fijaron utilizando los valores promedio y se calculó solo el valor de la constante de la especie con cadmio.

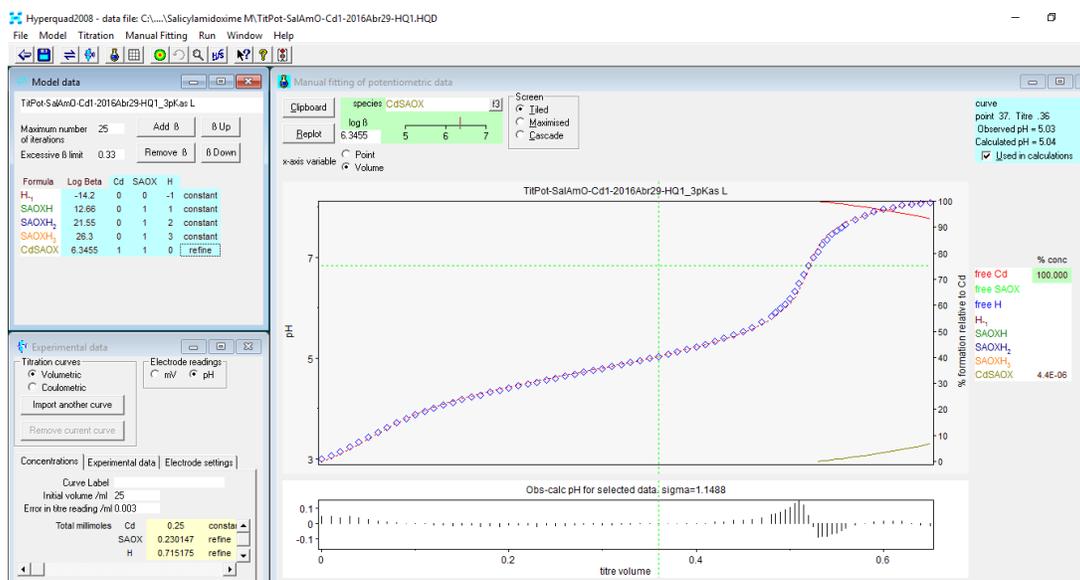


Figura 6.2.30. Ajuste de titulación potenciométrica de SalAmOx en presencia de un equivalente de $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$ mediante el programa *Hyperquad 2008*.

Para realizar los ajustes se propuso la formación de solo un complejo ligante-Cd con el ligante en su forma desprotonada, en la tabla 6.2.17 se muestran los valores obtenidos en las titulaciones de las constantes de formación acumulativas.

Tabla 6.2.17. Logaritmos de las constantes de formación acumulativas obtenidos de las titulaciones potenciométricas del ligante SalAmOx con Cd(II).

Especie	log β	log β	log β	log β promedio
[CdL] ⁺	6.14	6.31	6.19	6.20 ± 0.08

La formación del complejo con Cd(II) se muestra en el esquema 6.2.4, al ser el único complejo la constante de formación acumulativa corresponde a la constante de formación, se omiten las cargas para mayor claridad.



Esquema 6.2.4. Equilibrio de formación del complejo L-Cd y logaritmo de la constante de formación, L=SalAmOx

Zinc

Las titulaciones con zinc se realizaron en las condiciones que se muestran en la tabla 6.2.18.

Tabla 6.2.18 Concentraciones utilizadas en las titulaciones potenciométricas del ligante SalAmOx en presencia de Zn(II)

Titulación	[SalAmOx] (mM)	[Zn(ClO ₄) ₂] (mM)	Volumen inicial (mL)	Proporción ligante-metal
1	10	10	25	1:1
2	10	5	25	2:1
3	10	10	10	1:1

En la figura 6.2.31 se muestra una curva de titulación del ligante SalAmOx en presencia de un equivalente de Zn(II) y se grafica el valor de pH en función del volumen de NaOH agregado.

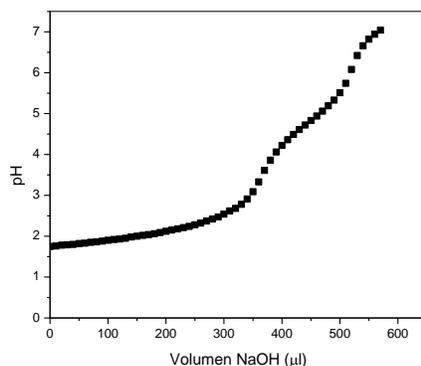


Figura 6.2.31. Titulación potenciométrica del ligante SalAmOx 10 mM en presencia de un equivalente de $Zn(ClO_4)_2$ en agua a 25°C bajo flujo de N_2 . Fuerza iónica impuesta con NaCl 100 mM.

En la figura 6.2.32 se muestra el ajuste de una titulación potenciométrica del ligante SalAmOx en presencia de un equivalente de Zn(II) mediante el programa *Hyperquad 2008*, las constantes de formación acumulativas del ligante se mantuvieron fijas utilizando los valores promedio y se calculó solo el valor de la constante de la especie con zinc.

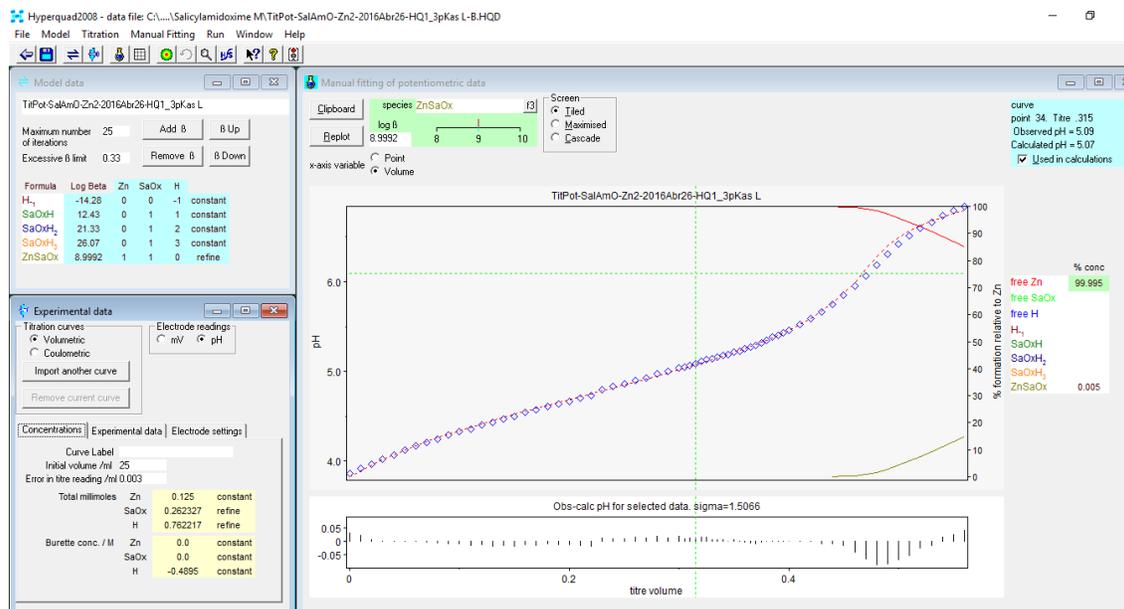


Figura 6.2.32. Ajuste de titulación potenciométrica de SalAmOx en presencia de un equivalente de $Zn(ClO_4)_2$ mediante el programa *Hyperquad 2008*.

Para realizar los ajustes se propuso la formación de solo un complejo ligante-Zn con el ligante en su forma desprotonada, en la tabla 6.2.19 se

muestran los valores obtenidos en las titulaciones de las constantes de formación acumulativas.

Tabla 6.2.19. Logaritmos de las constantes de formación acumulativas obtenidos de las titulaciones potenciométricas del ligante SalAmOx con Zn(II).

Especie	log β	log β	log β	log β promedio
[ZnL] ⁺	8.82	9.00	8.64	8.82 ± 0.05

La tabla 6.2.20 muestra los valores promedio de las constantes de formación tanto para el ligante como sus complejos con cadmio y zinc.

Tabla 6.2.20 Constantes de formación y pKa de todas las especies estudiadas con el ligante SalAmOx

Equilibrio	pK _a o logK	
$HL \rightleftharpoons L + H$	12.43	
$H_2L \rightleftharpoons HL + H$	8.90	
$H_3L \rightleftharpoons H_2L + H$	4.74	
	Cd(II)	Zn(II)
$M + L \rightleftharpoons ML$	6.20	8.82

En este caso a diferencia del ligante anterior, no se puede conocer directamente el cambio en la acidez del ligante por coordinación ya que no se forma el complejo protonado MLH y la constante que se tiene es sólo de la formación del ligante totalmente desprotonado con el metal, y no corresponde a la desprotonación de la oxima como se observó con PyAmOx.

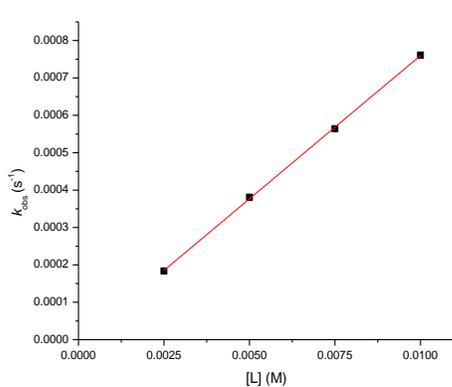
6.3 Estudios Cinéticos

Benzamidoxima

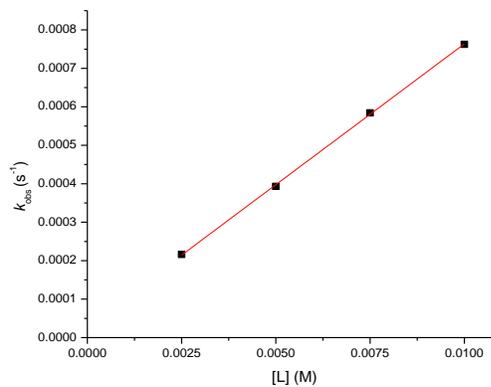
Para determinar la reactividad intrínseca de este ligante hacia los diferentes sustratos se realizaron estudios cinéticos variando la concentración de ligante a diferentes valores de pH.

Para NFA 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 en función de la concentración total de ligante (Figura 6.3.1) donde la pendiente es una constante aparente de segundo orden y se calculó la constante de hidrólisis alcalina (k_{OH}) a partir de la ordenada al origen y la concentración de OH. En la tabla 6.3.1 se muestran los valores de las constantes de rapidez de primer orden obtenidas en cada valor de pH para las diferentes concentraciones de ligante.



A



B

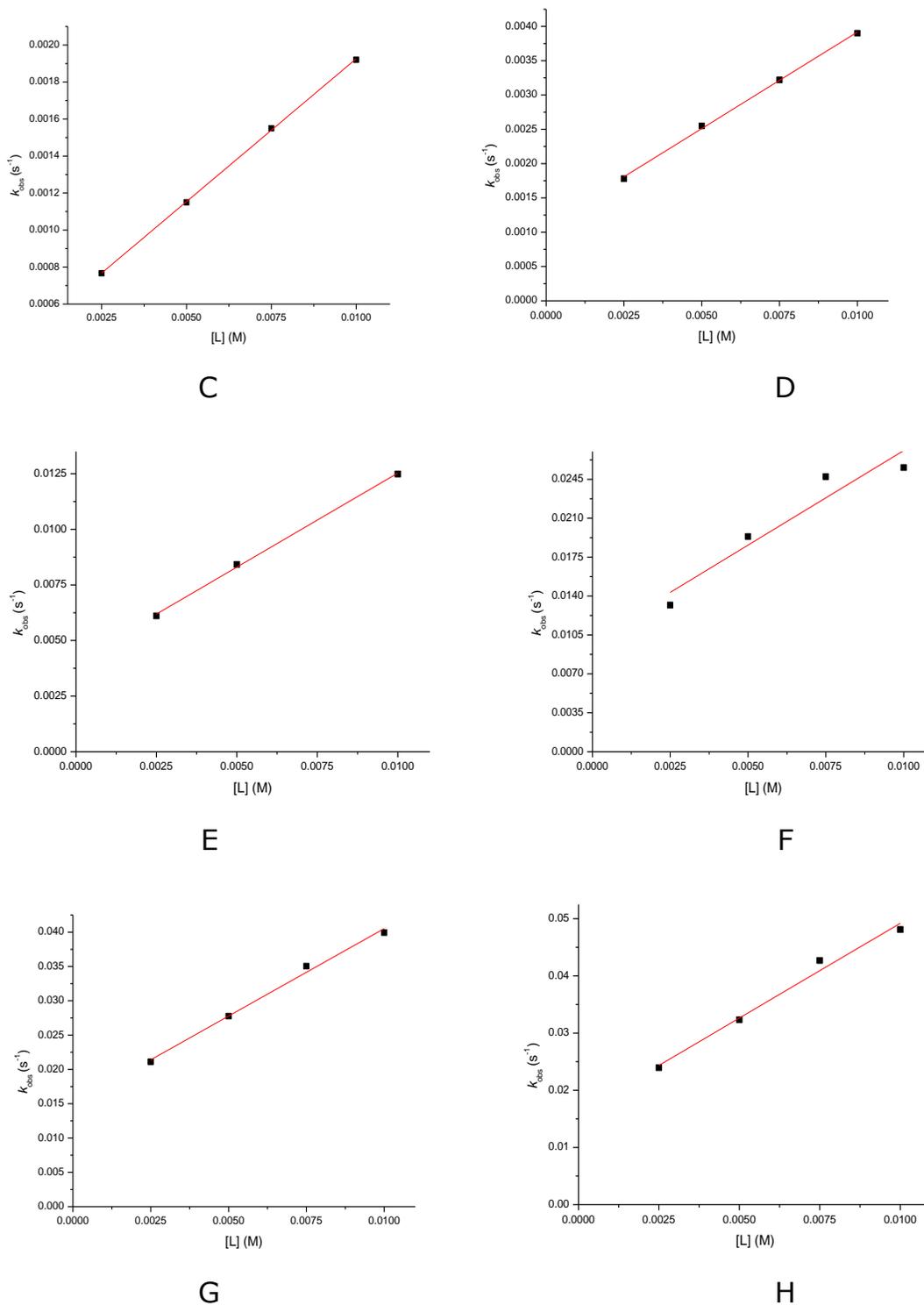


Figura 6.3.1. Constantes observadas de primer orden (k_{obs}) a 25°C en agua (MOPS, CHES, CAPS 50 mM, 2% MeCN) para la hidrólisis de NFA 0.05 mM en función de la concentración total de BenzAmOx ($[L]$) para diferentes valores de pH: A) 8.02 B) 8.57 C) 10.05 D) 10.47 E) 11.01 F) 11.19 G) 11.70 H) 11.86.

Tabla 6.3.1. Constantes observadas de primer orden (k_{obs}) a 25°C en agua para la hidrólisis de NFA 0.05 mM en función de la concentración total de BenzAmOx [L] para diferentes valores de pH.

[L]	$k_{\text{obs}} \times 10^4 \text{ (s}^{-1}\text{)}$								
(M)	8.02	8.57	9.06	9.66	10.05	10.47	10.60	10.84	
0.005	1.84	2.16	2.44	4.69	7.66	17.80	35.40	47.70	
0.005	3.81	3.93	4.80	7.70	11.50	25.50	49.10	65.50	
0.0075	5.64	5.84	6.93	10.50	15.50	32.20	61.90	83.70	
0.01	7.61	7.62	9.47	13.20	19.20	39.00	75.90	100.50	

[L]	$k_{\text{obs}} \times 10^3 \text{ (s}^{-1}\text{)}$								
(M)	11.01	11.19	11.42	11.55	11.70	11.86	12.00	12.50	12.69
0.005	6.11	13.18	16.47	18.87	21.11	23.95	25.25	39.43	122.49
0.005	8.42	19.35	21.3	25.29	27.77	32.33	32.51	44.86	140.2
0.0075	16.71	24.74	34.61	29.17	35.04	42.7	42.47	66.77	157.61
0.01	12.49	25.56	29.63	31.7	39.93	48.11	49.29	66.14	174.06

Todas las constantes se corrigieron por la hidrólisis alcalina de acuerdo con la ecuación (3):

$$k_{corr\ OH} = k_{obs} - k_{OH} \quad (3)$$

En donde $k_{corr\ OH}$ es la constante corregida por la hidrólisis alcalina, k_{obs} es la constante observada obtenida del experimento y que corresponde a la suma de las contribuciones de todos los nucleófilos presentes y k_{OH} es la constante de hidrólisis alcalina obtenida al dividir la ordenada al origen de los gráficos de k_{obs} en función de la concentración total de ligante entre la concentración de OH para cada valor de pH, todas las constantes se expresan en unidades de s^{-1} .

A partir de las constantes obtenidas en las titulaciones potenciométricas se calculó la concentración de ligante libre $[BenzAmOx]^-$ en cada punto mediante el programa *Hyss* y se realizó una correlación de todas las constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina en función de $[BenzAmOx]^-$ (Tabla 6.3.2 y Figura 6.3.2).

Tabla 6.3.2. Constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina ($k_{corr\ OH}\ s^{-1}$) en función de $[BenzAmOx]^-$ libre ($[L]^-$ libre) hacia NFA

$[L]^-$ libre $\times 10^6$ (M)	k_{corrOH} $\times 10^4$ (s^{-1})	$[L]^-$ libre $\times 10^6$ (M)	k_{corrOH} $\times 10^4$ (s^{-1})	$[L]^-$ libre $\times 10^6$ (M)	k_{corrOH} $\times 10^3$ (s^{-1})	$[L]^-$ libre $\times 10^6$ (M)	k_{corrOH} $\times 10^2$ (s^{-1})
0.10	1.84	2.28	7.68	2.43	4.16	1.11	1.63
0.21	3.81	2.84	6.81	2.64	7.04	1.25	1.60
0.31	5.64	3.43	11.70	2.86	9.38	1.26	2.00
0.37	1.85	3.99	13.30	2.92	12.51	1.40	1.07
0.42	7.61	4.57	15.40	3.13	3.20	1.43	1.57

Continuación tabla 6.3.2

$[\text{L}]_{\text{libre}}^{-1}$ $\times 10^6$ (M)	k_{corrOH} $\times 10^4$ (s^{-1})	$[\text{L}]_{\text{libre}}^{-1}$ $\times 10^6$ (M)	k_{corrOH} $\times 10^4$ (s^{-1})	$[\text{L}]_{\text{libre}}^{-1}$ $\times 10^6$ (M)	k_{corrOH} $\times 10^3$ (s^{-1})	$[\text{L}]_{\text{libre}}^{-1}$ $\times 10^6$ (M)	k_{corrOH} $\times 10^2$ (s^{-1})
0.74	3.62	5.68	14.50	3.90	8.29	1.66	2.67
1.10	5.53	6.61	17.60	4.20	6.09	1.67	1.68
1.16	2.33	7.97	27.00	4.28	14.77	1.68	2.49
1.47	7.31	8.52	21.20	4.85	8.99	2.15	2.57
2.32	4.70	9.74	19.10	5.54	7.95	2.22	3.21
3.47	6.83	11.36	28.00	5.71	15.59	2.79	1.61
4.58	2.75	11.96	39.80	6.26	9.62	2.87	3.25
4.63	9.37	13.21	35.40	7.17	8.47	3.33	3.45
9.15	5.76	14.28	32.10	7.28	22.30	4.19	3.80
11.42	3.84	15.94	53.80	8.40	12.75	5.00	5.19
13.73	8.56	19.49	42.20	9.39	13.50	5.58	3.74
18.31	11.30	19.82	53.60	9.70	17.32	6.67	6.84

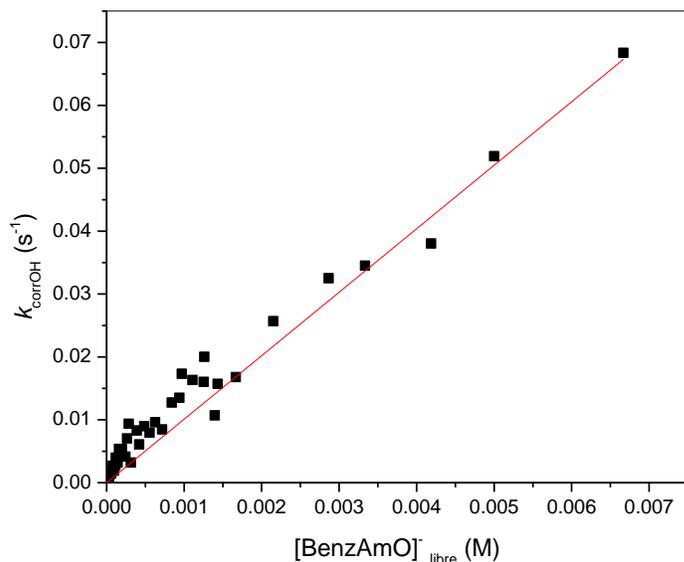
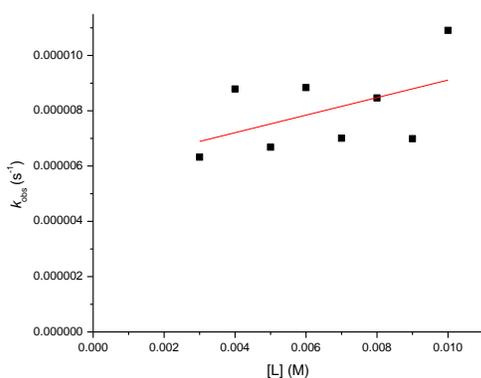


Figura 6.3.2. Correlación de las constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina (k_{corrOH} , s^{-1}) en función de $[\text{BenzAmOx}]_{\text{libre}}^{-1}$ para la hidrólisis de NFA.

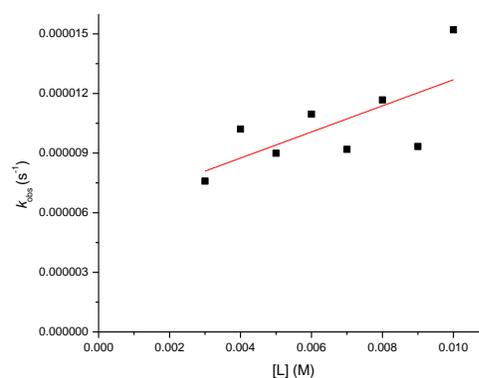
La figura 6.3.2 muestra una correlación lineal en la que la pendiente corresponde a la reactividad del ligante hacia NFA y el valor obtenido fue de $10.1 \pm 0.4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$.

Para paraoxón y paratión se obtuvieron constantes de primer orden (k_{obs}) a partir de las velocidades iniciales, al igual que con NFA, a cada valor de pH se observó una tendencia lineal de las constantes de primer orden en función de la concentración total de ligante y se calculó la constante de hidrólisis alcalina (k_{OH}) a partir de la ordenada al origen y la concentración de OH.

La Figura 6.3.3 muestra las constantes observadas para la hidrólisis de paraoxón en función de la concentración total de benzamidoxima (L). En la tabla 6.3.3 se muestran los valores de las constantes de rapidez obtenidas en cada valor de pH para las diferentes concentraciones de ligante hacia la hidrólisis de paraoxón.



A



B

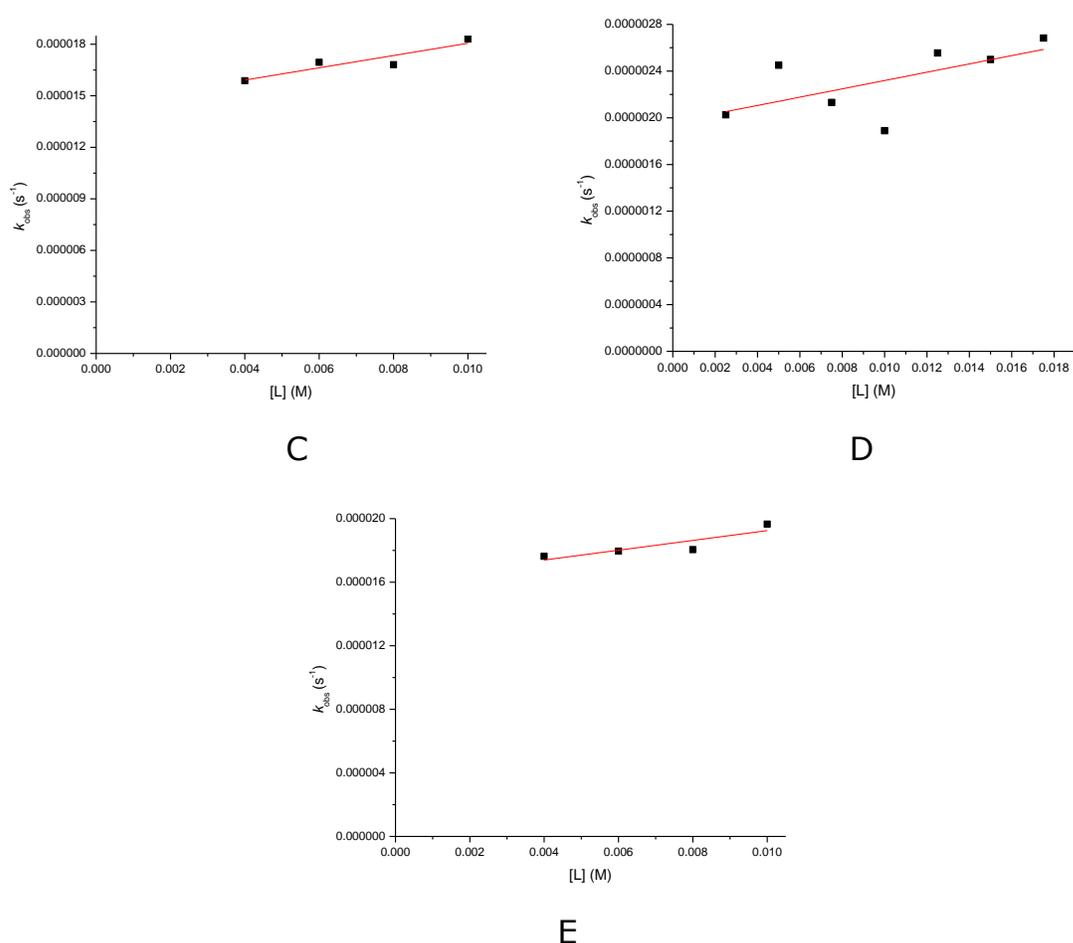


Figura 6.3.3. Constantes observadas de primer orden (k_{obs}) a 25°C en agua (MOPS, CHES, CAPS 50 mM, 2% MeCN) para la hidrólisis de paraoxón 0.05 mM en función de la concentración total de BenzAmOx (L) para diferentes valores de pH: A) 11.55 B) 11.75 C) 12.04 D) 12.20 E) 12.50

Tabla 6.3.3 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 BenzAmOx [L] para diferentes valores de pH.

[L] (M)	$k_{obs} \times 10^6$ (s ⁻¹)				
	pH 11.55	pH 11.75	pH 12.04	pH 12.2	pH 12.50
0.0025				2.03	
0.003	6.32	7.59			
0.004	8.79	10.21	15.88		17.63
0.005	6.68	8.99		2.45	
0.006	8.84	10.96	16.95		17.96

Continuación tabla 6.3.3

[L] (M)	$k_{obs} \times 10^6$ (s ⁻¹)					
	pH 11.55	pH 11.75	pH 12.00	pH 12.04	pH 12.2	pH 12.5
0.007	7.01	9.19				
0.0075					2.13	
0.0080	8.46	11.67		16.81		18.05
0.0090	6.99	9.33				
0.0100	10.91	15.20		18.30	1.89	19.66
0.0125			12.84		2.55	14.66
0.0150			12.09		2.50	15.55
0.0175			12.64		2.68	19.80
0.0200			13.37			18.03

Al igual que para NFA se calculó la concentración de ligante libre [BenzAmOx]⁻ en cada punto mediante el programa *Hyss* y se realizó una correlación de todas las constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina en función de [BenzAmOx]⁻ (Tabla 6.3.4 y Figura 6.3.4)

Tabla 6.3.4 Constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina ($k_{corr\ OH}$ s⁻¹) en función de [BenzAmOx]⁻ libre ([L]⁻ libre) hacia paraoxón

[L] ⁻ libre × 10 ⁴ (M)	$k_{corr\ OH} \times 10^7$ (s ⁻¹)	[L] ⁻ libre × 10 ³ (M)	$k_{corr\ OH} \times 10^7$ (s ⁻¹)	[L] ⁻ libre × 10 ³ (M)	$k_{corr\ OH} \times 10^6$ (s ⁻¹)
3.71	3.82	1.46	19.89	4.46	1.89
4.95	28.49	1.82	154.99	4.84	0.59
6.19	7.42	1.83	55.17	4.98	11.50
7.32	5.20	1.93	4.87	5.57	3.50
7.43	29.00	2.23	14.70	5.70	12.23
8.66	10.68	2.43	153.65	5.80	0.54
9.67	0.63	2.90	1.69	6.77	0.72

Continuación tabla 6.3.4

$[L]^-_{\text{libre}} \times 10^4$ (M)	$k_{\text{corrOH}} \times 10^7$ (s ⁻¹)	$[L]^-_{\text{libre}} \times 10^3$ (M)	$k_{\text{corrOH}} \times 10^7$ (s ⁻¹)	$[L]^-_{\text{libre}} \times 10^3$ (M)	$k_{\text{corrOH}} \times 10^6$ (s ⁻¹)
9.9	25.24	3.04	168.56	6.97	6.99
11.00	12.71	3.34	17.96	8.36	7.88
11.10	10.50	3.56	117.04	9.75	12.13
12.10	144.30	4.27	109.55	11.15	10.36
12.40	49.70				

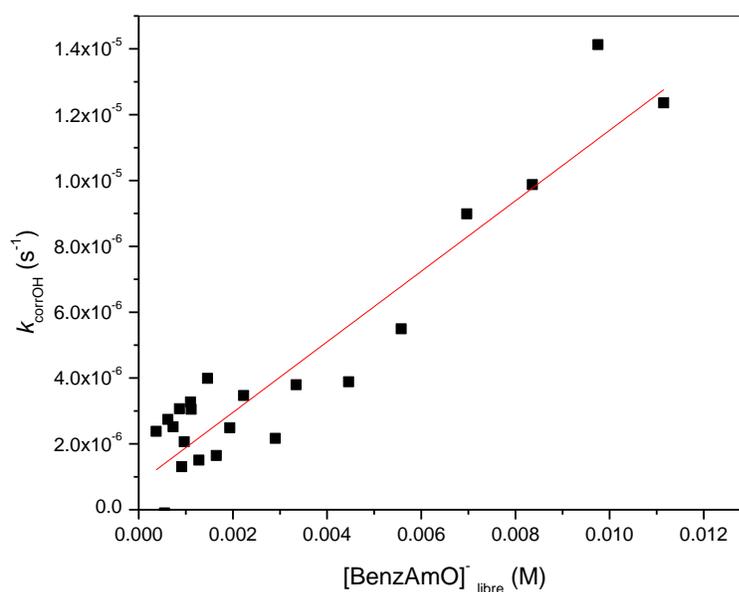


Figura 6.3.4. Correlación de las constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina ($k_{\text{corrOH}} \text{ s}^{-1}$) en función de $[\text{BenzAmOx}]^-_{\text{libre}}$ hacia paraoxón

La figura 6.3.4 muestra una correlación lineal en la que la pendiente corresponde a la reactividad del ligante hacia paraoxón y el valor obtenido fue de $(1.1 \pm 0.1) \times 10^{-3} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$.

En la tabla 6.3.5 se muestran los valores de las constantes observadas para la hidrólisis de paratión en función de la concentración total de benzamidoxima (L) obtenidas en cada valor de pH para las diferentes concentraciones de ligante hacia la hidrólisis de paratión.

Tabla 6.3.5 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 BenzAmOx [L] para diferentes valores de pH.

[L] (M)	$k_{obs} \times 10^7$ (s ⁻¹)		
	12.04	pH 12.2	12.5
0.0025		6.17	
0.0040	18.06		15.12
0.0050		4.07	
0.0060	15.53		19.95
0.0075		4.48	
0.0080	19.32		22.12
0.0100	17.67	7.91	21.43
0.0125		4.87	
0.0150		11.72	
0.0175		4.94	

De igual manera, se calculó la concentración de ligante libre [BenzAmOx]⁻ en cada punto mediante el programa *Hyss* y se realizó una correlación de todas las constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina en función de [BenzAmOx]⁻ (Tabla 6.3.6)

Tabla 6.3.6 Constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina ($k_{corr\ OH}$, s⁻¹) en función de [BenzAmOx]⁻ libre ([L]⁻ libre) hacia paratión

[L] ⁻ libre × 10 ⁴ (M)	$k_{corr\ OH} \times 10^8$ (s ⁻¹)	[L] ⁻ libre × 10 ⁴ (M)	$k_{corr\ OH} \times 10^8$ (s ⁻¹)
9.67	15.78	38.70	33.18
12.10	13.29	44.60	98.42
22.30	28.50	48.40	2.78
24.30	25.88	55.70	91.56
30.40	9.32	58.00	71.25
33.40	76.77	67.70	3.50

Se obtuvo una correlación lineal en la que la pendiente corresponde a la reactividad del ligante hacia paratión y el valor obtenido fue de $k_{\text{BenzAmOx}} = (1.9 \pm 0.5) \times 10^{-4} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$.

La tabla 6.3.7 muestra las constantes de segundo orden obtenidas para la hidrólisis de los tres sustratos por el amidoximato del ligante BenzAmOx y las constantes de hidrólisis alcalina¹.

Tabla 6.3.7. Constantes de segundo orden para la hidrólisis de los diferentes sustratos por el ligante BenzAmOx.

Sustrato	$k_{\text{BenzAmOx}} (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$k_{\text{OH}} (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$
NFA	10.1 ± 0.4	14.5 [41]
Paraoxón	$(1.1 \pm 0.1) \times 10^{-3}$	8×10^{-3} [42]
Paratión	$(1.9 \pm 0.5) \times 10^{-4}$	2.5×10^{-4} [43]

Se observa que para los tres sustratos la constante es aproximadamente del mismo orden de magnitud comparada con la constante de hidrólisis alcalina, sin embargo, esta última es mayor que la del amidoximato libre.

Benzamidoxima-Metales

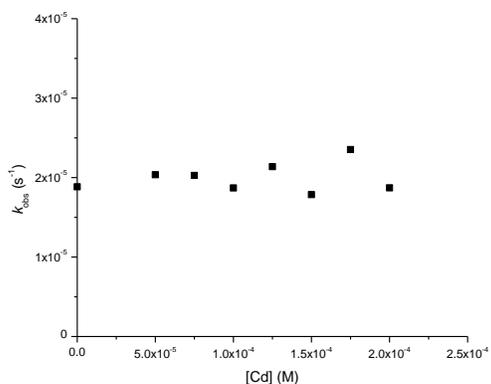
Se realizaron estudios cinéticos con el ligante BenzAmOx en presencia de distintos cationes metálicos divalentes de transición a un pH fijo para conocer su reactividad frente a NFA.

Durante los experimentos la concentración de ligante se mantuvo constante y se varió la concentración de distintos cationes metálicos hasta proporción 1:1. Los resultados se muestran en la tabla 6.3.8 y gráficamente en la figura 6.3.5.

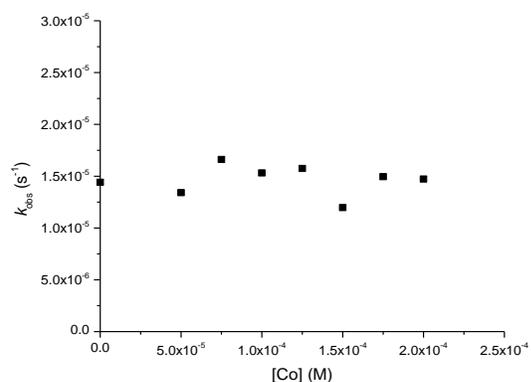
¹ Las constantes se obtuvieron experimentalmente en el grupo de trabajo a 25°C en agua (1-2% MeCN) y son similares a las reportadas en la literatura sin embargo paraoxón se reporta a 39°C y paratión en 50% de MeCN en agua.

Tabla 6.3.8 Constantes observadas de primer orden (k_{obs}) a 25°C en agua (2% MeCN) para la hidrólisis de NFA 0.05 mM en función de la concentración de metal $[M^{2+}]$ concentración de BenzAmOx 0.2 mM, pH 7.49 (MOPS)

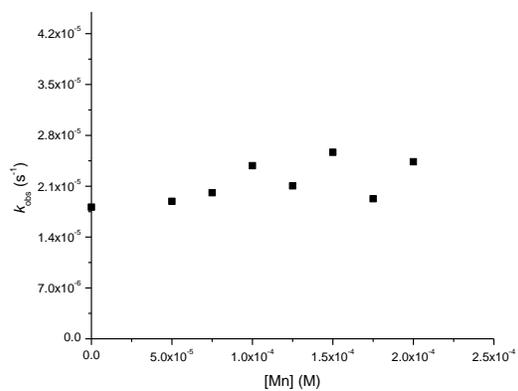
[BenzAmOx]×10 ⁴ (M)	$k_{obs} \times 10^5$ (s ⁻¹) M ²⁺				
	Cd(II)	Co(II)	Mn(II)	Ni(II)	Zn(II)
0.00	1.88	1.44	1.81	2.96	1.97
0.50	2.04	1.34	1.89	2.26	2.66
0.75	2.03	1.66	2.01	2.13	2.53
1.00	1.87	1.53	2.38	1.84	2.24
1.25	2.14	1.57	2.10	1.58	2.53
1.50	1.79	1.20	2.57		2.61
1.75	2.35	1.50	1.93		2.64
2.00	1.87	1.47	2.44		2.28



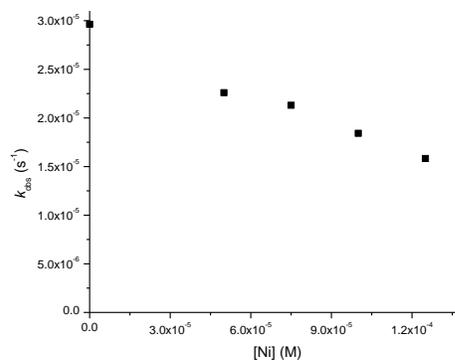
A



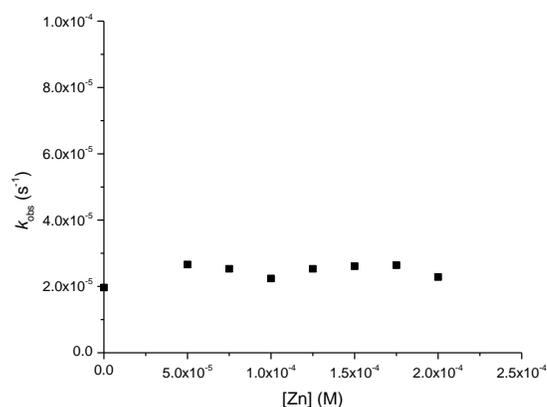
B



C



D



E

Figura 6.3.5. Constantes observadas de primer orden (k_{obs}) a 25°C en agua (MOPS 50 mM, 2% MeCN) en presencia de 0.2 mM de BenzAmOx a pH 7.49, para la hidrólisis de 0.05 mM de NFA en función de la concentración total de catión metálico A) Cd(II) B) Co(II) C) Mn(II) D) Ni(II) E) Zn(II)

De los resultados obtenidos se observa que para Cd(II), Co(II), Mn(II) y Zn(II) no hay un cambio significativo en la velocidad de reacción al variar la concentración de metal, sin embargo, en el caso de níquel se observó una disminución en la velocidad.

La finalidad de utilizar este ligante y observar el efecto que tienen los cationes metálicos fue hacer una comparación entre los sitios de coordinación de los 3 ligantes, en este caso la coordinación del metal está muy limitada ya que por la posición de los átomos donadores presentes es probable que los complejos no se formen o sean muy inestables termodinámicamente, manteniendo constante la velocidad de la reacción o en dado caso que llegaran a coordinarse si lo hacen por el oxígeno de la oxima, la reactividad disminuiría, como en el caso de Ni(II), ya que el oxígeno no estaría disponible para realizar el ataque nucleofílico y a medida que aumenta la concentración del metal la reactividad disminuye.

Piridinamidoxima

Para determinar la reactividad intrínseca de este ligante hacia los diferentes sustratos se realizaron estudios cinéticos variando la concentración de ligante a diferentes valores de pH.

Para NFA 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 lo que indica que la reacción es de primer orden y la pendiente es la constante aparente de segundo orden (k' , $M^{-1}s^{-1}$).

En la tabla 6.3.9 se muestran los valores de las constantes de rapidez de primer orden obtenidas en cada valor de pH para las diferentes concentraciones de ligante.

Tabla 6.3.9. Constantes de velocidad de primer orden para la hidrólisis de NFA 0.05 mM en presencia de PyAmOx a diferentes valores de pH. 25°C. CHES o CAPS 50 mM, 1% MeCN

[L] (M)	$k_{obs} S^{-1}$			
	pH 9.50	pH 10.00	pH 10.50	pH 10.75
0.000	3.51×10^{-4}	5.34×10^{-4}	2.18×10^{-3}	2.78×10^{-3}
0.001	7.57×10^{-4}	18.2×10^{-4}	3.70×10^{-3}	5.37×10^{-3}
0.003	12.1×10^{-4}	18.0×10^{-4}	6.4×10^{-3}	10.24×10^{-3}
0.009	25.8×10^{-4}	47.3×10^{-4}	13.2×10^{-3}	21.15×10^{-3}
0.012	23.6×10^{-4}	58.2×10^{-4}	15.9×10^{-3}	25.31×10^{-3}

Continuación tabla 6.3.9

[L] (M)	$k_{\text{obs}} \text{ s}^{-1}$		
	pH 11.00	pH 11.25	pH 11.50
0	6.02×10^{-3}	11.91×10^{-3}	11.68×10^{-3}
0.001	8.34×10^{-3}	21.10×10^{-3}	2163×10^{-3}
0.003	16.26×10^{-3}	31.52×10^{-3}	35.60×10^{-3}
0.009	39.79×10^{-3}	80.22×10^{-3}	96.14×10^{-3}
0.012	43.29×10^{-3}	83.80×10^{-3}	104.31×10^{-3}

En la tabla 6.3.10 se resumen los valores de las constantes de segundo orden del ligante PyAmOx a cada valor de pH para la hidrólisis de NFA.

Tabla 6.3.10. Constantes de velocidad de segundo orden, $k' \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, para la hidrólisis de NFA 0.05 mM en presencia de PyAmOx a diferentes valores de pH en CHES o CAPS 50 mM a 25°C, 1% MeCN.

pH	$k' (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	ds (\pm)
9.50	0.24	0.01
10.00	0.45	0.012
10.50	1.142	0.042
10.75	2.48	0.04
11.00	3.82	0.12
11.25	7.53	0.35
11.50	9.38	0.39

Estos datos se ajustaron a una ecuación para una especie con un protón mediante la ecuación (4), que permite calcular la constante límite de segundo orden, es decir, la que no depende del pH, y es una medida de la reactividad intrínseca del nucleófilo además permite calcular el valor de pK_a de la especie cinéticamente activa.

$$Abs = \frac{(k_L + k_0)10^{pK_a - pH}}{1 + 10^{pK_a - pH}} \quad (4)$$

Sin embargo, dado que por un lado es necesario emplear concentraciones del ligante iguales o mayores a la del ion hidróxido, a valores de pH muy básicos las reacciones son demasiado rápidas (con tiempos de vida media de algunos segundos) para la técnica empleada y el error en la determinación de las constantes aumenta, y por otro, que para ese ligante la única especie reactiva es el ligante totalmente desprotonado y se determinó su valor de pK_a mediante titulaciones potenciométricas, en la ecuación (4) se fijó el valor del pK_a (12.18) y sólo se calculó la reactividad intrínseca del ligante (k_L) a partir de las constantes de segundo orden, estas constantes y su ajuste a la ecuación (4) se muestran en la figura 6.3.6 y el valor obtenido fue $k_{PyAmOx} = 57 \pm 4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$.

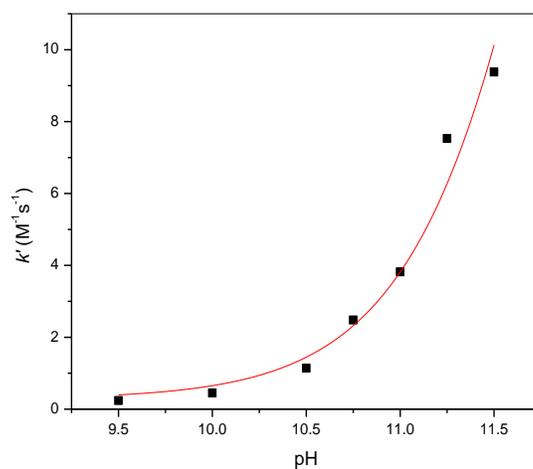


Figura 6.3.6. Constante de velocidad de segundo orden, k' $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$, para la hidrólisis de NFA 0.05 mM en presencia de PyAmOx a diferentes valores de pH a 25°C. CHES o CAPS 50 mM, 1% MeCN. La línea representa el ajuste para determinar la reactividad intrínseca del anión amidoximato, $k_{PyAmOx} = 57 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$

Además, para poder afirmar que la especie reactiva es el ligante totalmente desprotonado, se tomaron los valores de las constantes observadas de primer orden a una concentración fija de ligante y se corrigieron restando la contribución del medio cuando $[\text{PyAmOx}]=0$ a cada valor de pH. Las constantes obtenidas se graficaron en función del pH y se superpusieron con la distribución de las especies del ligante obtenida mediante el programa *HySS*. En la tabla 6.3.11 se muestran las constantes corregidas para una concentración total de ligante de 3 mM.

Tabla 6.3.11. Constantes de velocidad de primer orden para la hidrólisis de NFA 0.05 mM en presencia de PyAmOx 3 mM a diferentes valores de pH (CHES, CAPS 50 mM) a 25°C, 1% MeCN.

pH	$k_{\text{obs}} (\text{s}^{-1})$	$k_{\text{OH}} (\text{s}^{-1})$	$k_{\text{corrOH}} (\text{s}^{-1})$
9.50	0.00121	3.51×10^{-4}	8.59×10^{-4}
10.50	0.00640	0.00218	0.00422
10.75	0.01024	0.00278	0.00746
11.00	0.01626	0.00602	0.01024
11.25	0.03152	0.01191	0.01961
11.50	0.03560	0.01168	0.02392

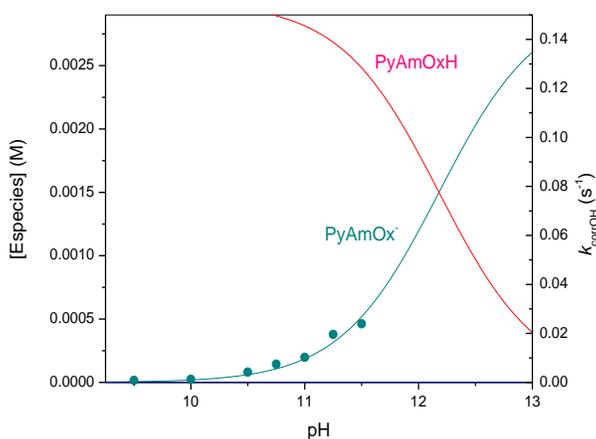


Figura 6.3.7. Distribución de especies del ligante PyAmOx para una concentración de 3 mM superpuesto con las constantes de velocidad de primer orden para la hidrólisis de NFA 0.05 mM en presencia de PyAmOx 3 mM a diferentes valores de pH. Los puntos representan las constantes y las líneas sólidas las especies presentes.

En en la figura 6.3.7 se presenta la distribución de especies del ligante PyAmOx superpuesta con las constantes de primer orden.

Con base en lo anterior se observa que los datos cinéticos siguen la forma de la curva que corresponde a la especie PyAmOx^- , lo que comprueba que esa es la especie responsable de la reactividad y por lo tanto la reactividad que se obtuvo al fijar el valor del $\text{p}K_a$ es efectivamente la reactividad intrínseca del ligante hacia NFA.

Para determinar la reactividad hacia paraoxón, se obtuvieron constantes de primer orden (k_{obs}) a partir de las velocidades iniciales, al igual que con NFA, a cada valor de pH se observó una tendencia lineal de las constantes en función de la concentración total de ligante y se calculó la constante de hidrólisis alcalina (k_{OH}) a partir de la ordenada al origen y la concentración de OH.

En la tabla 6.3.12 se muestran los valores de las constantes de rapidez obtenidas en cada valor de pH para las diferentes concentraciones de ligante hacia la hidrólisis de paraoxón, así como la constante de hidrólisis alcalina (k_{OH}) calculada para cada pH a partir de la ordenada al origen. Además, estas constantes se corrigieron por la contribución alcalina y los valores se muestran en la tabla 6.3.12.

Las constantes corregidas se graficaron en función de la concentración de ligante libre (PyAmOx^-) que se calculó a partir de la distribución de especies y se observó una tendencia lineal, en la que la pendiente representa la reactividad intrínseca del ligante hacia paraoxón (Figura 6.3.8). El valor obtenido fue de $k_{\text{PyAmOx}} = (1.71 \pm 0.15) \times 10^{-3} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$.

Tabla 6.3.12. Constantes observadas de primer orden (k_{obs}) y corregidas por hidrólisis alcalina (k_{corrOH}) a 25°C en agua (CAPS 50 mM, 2% MeCN) para la hidrólisis de paraoxón 0.05 mM en función de la concentración total de PyAmOx (L) para diferentes valores de pH

[L] M	pH 11.55 $k_{\text{OH}} 0.00428 \text{ s}^{-1}$		11.75 $k_{\text{OH}} 0.00346 \text{ s}^{-1}$		12.04 $k_{\text{OH}} 0.00249 \text{ s}^{-1}$	
	$k_{\text{obs}} \times 10^5$ (s^{-1})	$k_{\text{corrOH}} \times 10^6$ (s^{-1})	$k_{\text{obs}} \times 10^5$ (s^{-1})	$k_{\text{corrOH}} \times 10^6$ (s^{-1})	$k_{\text{obs}} \times 10^5$ (s^{-1})	$k_{\text{corrOH}} \times 10^6$ (s^{-1})
0.002					2.09	0.63
0.004	1.29	1.60	1.66	2.19	2.45	4.27
0.006	1.38	2.55	1.77	3.26	2.29	2.66
0.008	1.35	2.29	1.88	4.36	2.53	5.04
0.010	1.55	4.23	1.83	3.85	3.05	10.31
0.012					2.66	6.32

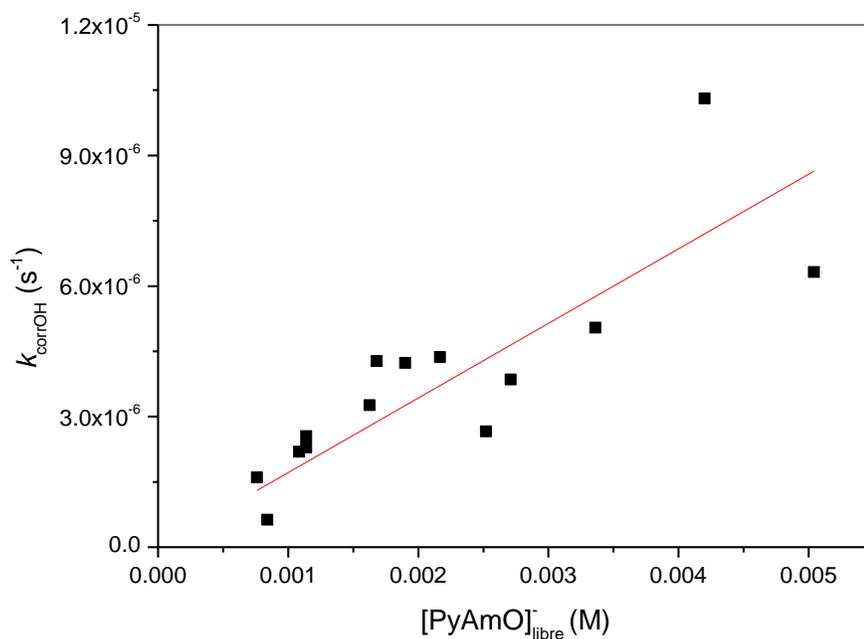


Figura 6.3.8. Correlación de las constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina ($k_{\text{corrOH}} \text{ s}^{-1}$) en función de $[\text{PyAmOx}]_{\text{libre}}^{-}$ hacia paraoxón.

En la tabla 6.3.13 se muestran los valores de concentración de PyAmOx^- calculados con sus respectivas constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina.

Figura 6.3.13. Constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina (k_{corrOH} , s^{-1}) en función de $[\text{PyAmOx}^-]_{\text{libre}}$ para la hidrólisis de paraoxón.

$[\text{PyAmOx}^-]_{\text{libre}}$ mM	$k_{\text{corrOH}} \times 10^6$ (s^{-1})	$[\text{PyAmOx}^-]_{\text{libre}}$ mM	$k_{\text{corrOH}} \times 10^6$ (s^{-1})
0.84	0.63	1.14	2.55
1.68	4.27	1.14	2.29
2.52	2.66	1.90	4.23
3.36	5.04	1.08	2.19
4.20	10.31	1.62	3.26
5.04	6.32	2.17	4.36

Para determinar la reactividad de PyAmOx hacia paratión se varió la concentración de ligante a un solo valor de pH haciendo mediciones individuales durante ocho horas y se obtuvieron constantes observadas de primer orden a partir de las velocidades iniciales. Estas constantes se muestran en la tabla 6.3.14 y la figura 6.3.9 es un gráfico de las constantes observadas en función de la concentración total de ligante en la que se observa una tendencia lineal al igual que con los otros sustratos.

Tabla 6.3.14. Constantes observadas de primer orden (k_{obs}) y corregidas por hidrólisis alcalina (k_{corrOH}) a 25°C en agua (CAPS 50 mM, 2% MeCN) para la hidrólisis de paratión 0.1 mM en función de la concentración total de PyAmOx [L] y de $[\text{PyAmOx}^-]_{\text{libre}}$ a pH 12.00

[L] M	$k_{\text{obs}} \times 10^6$ (s^{-1})	$[\text{PyAmOx}^-]_{\text{libre}}$ M	$k_{\text{corrOH}} \times 10^6$ (s^{-1})
0.005	1.62	0.00199	8.60
0.010	2.21	0.00398	1.45
0.015	3.30	0.00597	2.55
0.020	3.47	0.00796	2.71

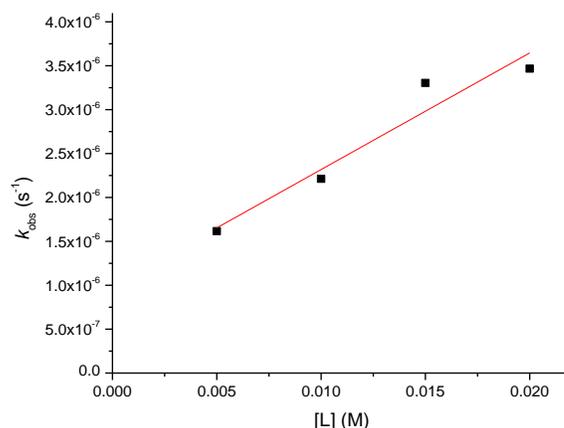


Figura 6.3.9. Constantes observadas de primer orden (k_{obs}) para la hidrólisis de paratión 0.1 mM en función de la concentración total de PyAmOx [L] a pH=12.00, 25°C en agua (CAPS 50 mM, 2% MeCN).

Para determinar la reactividad intrínseca del ligante hacia paratión se realizó una correlación entre la concentración de PyAmOx⁻ y las constantes observadas corregidas por la contribución de la hidrólisis alcalina y se obtuvo una tendencia lineal (Figura 6.3.10), en la que la pendiente representa la reactividad del ligante hacia este sustrato y se obtuvo un valor de $k_{PyAmOx} = (3.3 \pm 0.6) \times 10^{-4} M^{-1}s^{-1}$.

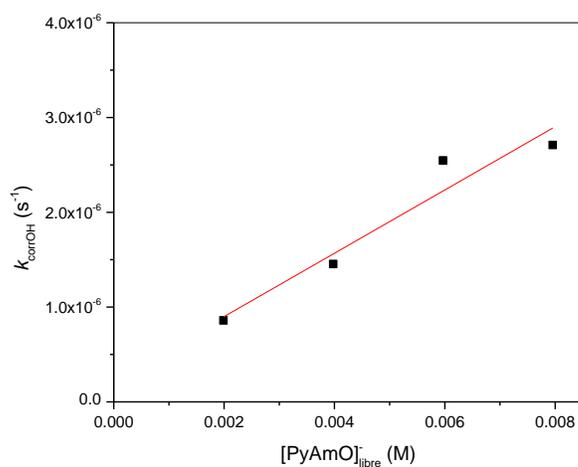


Figura 6.3.10. Correlación de las constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina (k_{corrOH} , s^{-1}) en función de $[PyAmOx]^{-}$ libre hacia paratión.

En la tabla 6.3.15 se muestra un resumen de los valores de las constantes de segundo orden obtenidas para la hidrólisis de los tres sustratos por el amidoximato del ligante PyAmOx y las constantes de hidrólisis alcalina reportadas en la literatura.

Tabla 6.3.15. Constantes de segundo orden para la hidrólisis de los diferentes sustratos por el ligante PyAmOx

Sustrato	$k_{\text{PyAmOx}} (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$k_{\text{OH}} (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$
NFA	57 ± 4	14.5 [41]
Paraoxón	$(1.71 \pm 0.15) \times 10^{-3}$	8×10^{-3} [42]
Paratión	$(3.3 \pm 0.6) \times 10^{-4}$	2.5×10^{-4} [43]

Con los datos anteriores se puede observar que hacia NFA y paratión la reactividad del ligante es mayor que la del medio y que el efecto catalítico ($k_{\text{PyAmOx}}/k_{\text{OH}}$) es mayor hacia el éster carboxílico. Además, hacia NFA este ligante se comporta como un α -nucleófilo y en un gráfico de Brønsted se observa que se encuentra en la zona de nivelación de la reactividad (Figura 6.3.11) como se observa con las oximas de la tabla 2.2.

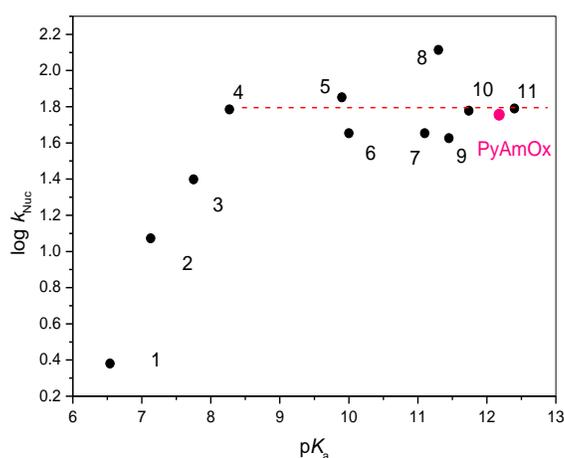


Figura 6.3.11. Gráfico de Brønsted para las oximas de la tabla 2.2 y el ligante PyAmOx para la hidrólisis de NFA.

Piridinamidoxima-Metales

Cadmio

Se realizaron estudios cinéticos con el ligante PyAmOx en presencia de Cd(II) manteniendo el pH constante y variando la concentración de ligante y metal en proporción 1:1.

Para NFA 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 6.3.12 se muestra un gráfico de las constantes observadas en función de la concentración total de ligante y cadmio ($[L] = [Cd]$).

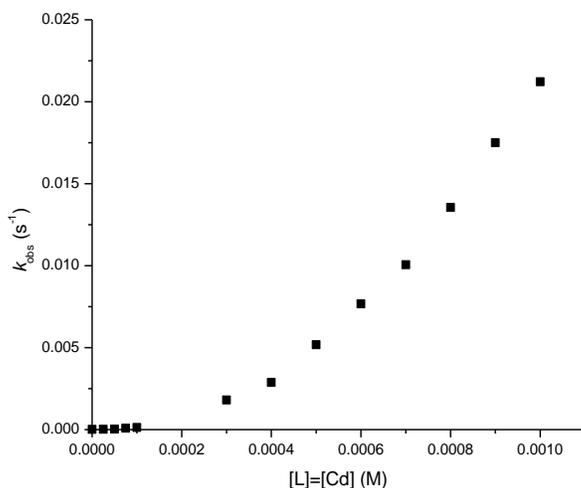


Figura 6.3.12. Constantes observadas de primer orden (k_{obs}) a 25°C en agua a pH 8.12 (CHES, 50 mM, 1% MeCN) para la hidrólisis de NFA 0.05 mM en función de la concentración total de PyAmOx en presencia de un equivalente de Cd(II), $[L]=[Cd]$.

Como puede observarse, la tendencia no es lineal por lo que no se puede calcular directamente la constante de segundo orden a partir de la pendiente como se realizó con el ligante. Sin embargo, este tipo de gráficos corresponden a cinéticas de primer orden en las que la concentración de la especie reactiva es muy pequeña y necesitarían

concentraciones más grandes para observar la tendencia lineal. Este comportamiento se observó en todos los valores de pH utilizados por lo que, para calcular la reactividad del complejo se realizó un análisis global de todas las constantes obtenidas en todos los valores de pH corregidas por la contribución de la hidrólisis alcalina.

En este caso las especies que podrían presentar reactividad son el ligante libre y el complejo de cadmio con el ligante desprotonado, por lo que la constante corregida por la hidrólisis alcalina puede expresarse mediante la ecuación (5).

$$k_{corrOH} = k_L[L] + k_{CdL}[CdL] \quad (5)$$

En la que la constante observada corregida por la hidrólisis alcalina se expresa como una suma de las constantes de segundo orden ($M^{-1}s^{-1}$) multiplicadas por la concentración molar de cada especie. No obstante, en las condiciones de trabajo la concentración de ligante desprotonado es muy pequeña, del orden de 10^{-10} a 10^{-7} M, por lo que se puede despreciar la contribución del ligante libre y por lo tanto tendría que observarse una correlación lineal entre la constante observada y la concentración del complejo $[CdL]^+$ en la que la pendiente corresponde a la constante de segundo orden de esta especie para la hidrólisis de NFA.

Como primera aproximación para asegurar que la especie reactiva sea efectivamente el complejo $[CdL]^+$ se tomaron las constantes observadas para una concentración fija de ligante y cadmio en proporción 1:1 (tabla 6.3.16), se graficaron en función del pH y este gráfico se superpuso con la distribución de especies obtenida mediante el programa *Hyss* para las mismas concentraciones utilizadas experimentalmente (figura 6.3.13).

Tabla 6.3.16. Constantes de velocidad de primer orden para la hidrólisis de NFA 0.05 mM en presencia de PyAmOx y Cd(II) 1 mM a diferentes valores de pH (MOPS, CHES 50 mM) a 25°C, 1% MeCN.

pH	$k_{\text{obs}} \times 10^3$ (s^{-1})	$k_{\text{corr OH}} \times 10^3$ (s^{-1})
7.20	2.48	2.48
7.51	4.61	4.61
8.12	21.22	21.21
8.41	41.21	41.18
8.43	38.74	38.71

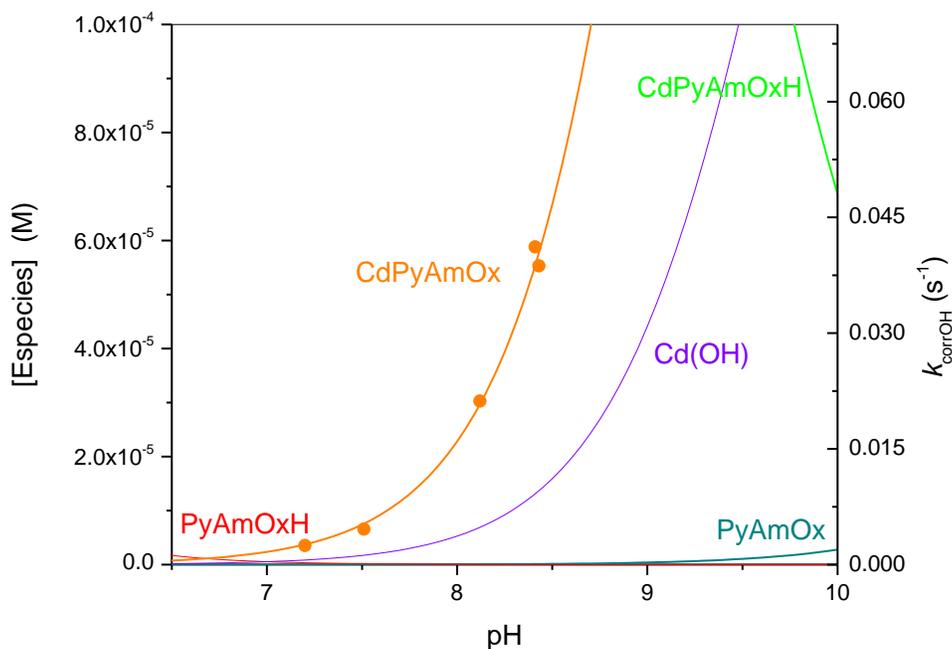


Figura 6.3.13. Distribución de especies del ligante PyAmOx y de los complejos PyAmOx-Cd para concentración 1 mM en proporción metal ligante 1:1 superpuesto con las constantes de velocidad de primer orden para la hidrólisis de NFA 0.05 mM en presencia de PyAmOx y Cd(II) 1 mM a diferentes valores de pH. Los puntos representan las constantes y las líneas sólidas las especies presentes.

Como puede apreciarse en la figura 6.3.13 los datos cinéticos corresponden a la especie $[\text{CdL}]^+$ como se esperaba, pero la formación del hidróxido de cadmio no permite hacer mediciones a valores de pH mayores, además se observa que la aparición del ligante desprotonado comienza a ser importante a partir de pH mayor que 9.5.

Teniendo esto en cuenta, se calculó la concentración de la especie $[\text{CdL}]^+$ para cada valor de pH y concentraciones utilizadas, los datos se muestran en la tabla 6.3.17.

Tabla 6.3.17. Constantes de velocidad de primer orden para la hidrólisis de NFA 0.05 mM en presencia de PyAmOx y Cd(II) diferentes valores de pH (MOPS, CHES 50 mM) a 25°C, 1% MeCN y concentración de la especie $[\text{CdL}]^+$ en cada punto.

pH 7.31				pH 7.31			
$[\text{Cd}]=[\text{L}]$ $\times 10^5$ (M)	$k_{\text{obs}} \times 10^6$ (s^{-1})	$k_{\text{corrOH}} \times 10^7$ (s^{-1})	$[\text{CdL}]^+$ (10^9) (M)	$[\text{Cd}]=[\text{L}]$ $\times 10^5$ (M)	$k_{\text{obs}} \times 10^6$ (s^{-1})	$k_{\text{corrOH}} \times 10^7$ (s^{-1})	$[\text{CdL}]^+ \times 10^8$ (M)
0.00	2.21	0.00	0.00	6.00	5.61	3.40	3.50
2.00	4.29	20.81	4.10	7.00	7.08	4.87	4.71
2.50	3.14	9.29	6.36	7.50	12.55	10.34	5.37
4.00	3.10	8.94	15.96	8.00	8.17	5.96	6.07
5.00	2.32	1.06	24.62	10.00	12.23	10.02	9.27

pH 7.44			pH 8.07			
$[\text{Cd}]=[\text{L}]$ $\times 10^5$ (M)	$k_{\text{obs}} \times 10^6$ (s^{-1})	$k_{\text{corrOH}} \times 10^6$ (s^{-1})	$[\text{CdL}]^+ \times 10^9$ (M)	$k_{\text{obs}} \times 10^5$ (s^{-1})	$k_{\text{corrOH}} \times 10^6$ (s^{-1})	$[\text{CdL}]^+ \times 10^8$ (M)
0.00	2.94	0.00	0.00	1.28	0.00	0.00
2.50	5.68	2.72	8.51	2.26	9.96	3.60
5.00	9.09	6.13	32.94	3.73	24.66	13.90
7.50	14.57	11.61	71.85	8.76	74.99	30.28
10.00	22.74	19.78	124.00	12.9	116.3	52.20

Continuación tabla 6.3.17

[Cd]=[L] $\times 10^5$ (M)		pH 8.39			pH 9.16	
$k_{\text{obs}} \times 10^6$ (s^{-1})	$k_{\text{corrOH}} \times 10^6$ (s^{-1})	$[\text{CdL}]^+ \times 10^9$ (M)	$k_{\text{obs}} \times 10^5$ (s^{-1})	$k_{\text{corrOH}} \times 10^6$ (s^{-1})	$[\text{CdL}]^+ \times 10^8$ (M)	
0.00	2.65	0.00	0.00	1.56	0.00	0.00
2.50	6.87	4.21	7.46	1.98	4.34	3.88
5.00	14.99	12.34	28.76	2.68	11.36	14.67
7.50	28.09	25.44	62.49	3.78	22.35	31.33
10.00	37.72	35.07	107.50	1.77	2.30	53.07
[Cd]=[L] $\times 10^4$ (M)		pH 7.20			pH 7.51	
$k_{\text{obs}} \times 10^4$ (s^{-1})	$k_{\text{corrOH}} \times 10^4$ (s^{-1})	$[\text{CdL}]^+ \times 10^7$ (M)	$k_{\text{obs}} \times 10^4$ (s^{-1})	$k_{\text{corrOH}} \times 10^4$ (s^{-1})	$[\text{CdL}]^+ \times 10^6$ (M)	
3.00	2.14	2.12	5.26	3.21	3.18	1.07
4.00	3.76	3.74	8.61	6.16	6.13	1.75
5.00	6.12	6.10	12.49	8.93	8.90	2.54
6.00	8.71	8.70	16.81	13.10	13.10	3.42
7.00	12.00	12.00	21.50	18.30	18.30	4.37
8.00	16.00	16.00	26.52	28.00	28.00	5.38
9.00	21.30	21.30	31.81	32.00	32.00	6.45
10.00	24.80	24.80	37.34	46.10	46.10	7.58
[Cd]=[L] $\times 10^4$ (M)		pH 8.12			pH 8.41	
$k_{\text{obs}} \times 10^3$ (s^{-1})	$k_{\text{corrOH}} \times 10^3$ (s^{-1})	$[\text{CdL}]^+ \times 10^6$ (M)	$k_{\text{obs}} \times 10^3$ (s^{-1})	$k_{\text{corrOH}} \times 10^3$ (s^{-1})	$[\text{CdL}]^+ \times 10^6$ (M)	
3.00	1.81	1.80	4.26	5.33	5.30	8.05
4.00	2.88	2.87	6.94	8.05	8.02	13.08
5.00	5.18	5.17	10.03	11.23	11.20	18.86
6.00	7.67	7.66	13.47	16.46	16.43	25.26
7.00	10.06	10.05	17.19	21.18	21.15	32.17
8.00	13.55	13.54	21.16	27.57	27.54	39.51
9.00	17.50	17.49	25.34	34.34	34.31	47.25
10.00	21.22	21.21	29.70	41.21	41.18	55.31

Continuación tabla 6.3.17

[Cd]=[L] $\times 10^4$ (M)	pH 8.43		
	$k_{\text{obs}} \times 10^3$ (s^{-1})	$k_{\text{corrOH}} \times 10^3$ (s^{-1})	$[\text{CdL}]^+ \times 10^6$ (M)
3.00	3.89	3.86	8.408
4.00	7.63	7.60	13.66
5.00	12.51	12.48	19.68
6.00	18.13	18.1	26.35
7.00	22.64	22.61	33.55
8.00	28.78	28.75	41.21
9.00	35.8	35.77	49.27
10.00	38.74	38.71	57.67

Con todos los datos obtenidos, se graficó la constante corregida por la hidrólisis alcalina en función de la concentración de la especie y se encontró una tendencia lineal (figura 6.3.14) en la que la pendiente es la reactividad de la especie $[\text{CdL}]^+$ y tiene un valor de $k_{[\text{CdL}]} = 700 \pm 7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ el cual es alrededor de doce veces el valor que presenta el ligante libre hacia el mismo sustrato ($k_L = 57 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$).

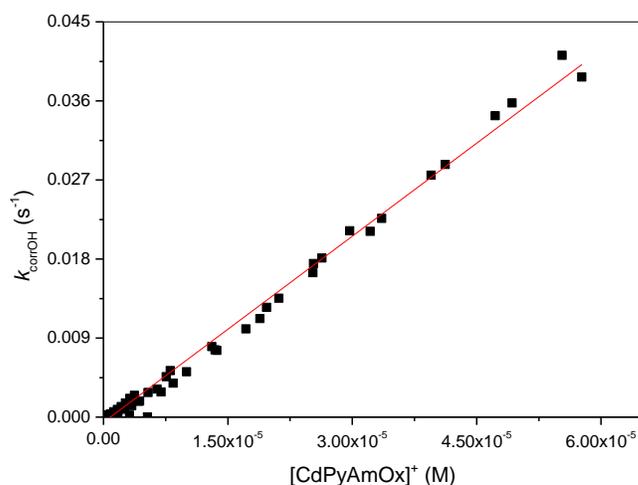


Figura 6.3.14. Correlación de las constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina (k_{corrOH} , s^{-1}) en función de $[\text{CdPyAmOx}]^+$ hacia NFA.

En el caso de los ésteres fosfato se obtuvieron constantes de primer orden a partir de las velocidades iniciales y el análisis de los datos fue el mismo que con NFA.

La tabla 6.3.18 muestra las constantes corregidas por la hidrólisis alcalina para la hidrólisis de paraoxón en las diferentes concentraciones metal-ligante para los valores de pH utilizados, así como la concentración de la especie $[CdL]^+$ y la figura 6.3.15 muestra la dependencia de la constante observada en función de la concentración de la especie $[CdL]^+$ en la que la pendiente representa la reactividad del complejo hacia paraoxón y tiene un valor de $k_{[CdL]}=0.071 \pm 0.002 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$.

Tabla 6.3.18. Constantes de velocidad de primer orden para la hidrólisis de paraoxón 0.05 mM en presencia de PyAmOx y Cd(II) diferentes valores de pH (MOPS, CHES 50 mM) a 25°C, 1% MeCN y concentración de la especie $[CdL]^+$ en cada punto.

[L]=[Cd] (mM)	pH 7.8		pH 8.05		pH 8.31	
	$k_{\text{corrOH}} \times 10^7$ (s ⁻¹)	$[CdL]^+ \times 10^6$ (M)	$k_{\text{corrOH}} \times 10^6$ (s ⁻¹)	$[CdL]^+ \times 10^5$ (M)	$k_{\text{corrOH}} \times 10^6$ (s ⁻¹)	$[CdL]^+ \times 10^5$ (M)
0.50	6.69	4.90	0.18	0.86	1.04	1.53
1.00	6.77	14.60	1.18	2.55	2.88	4.50
1.50	17.33	26.49	3.80	4.61	5.30	8.11
2.00	28.26	39.73	7.33	6.91	9.67	12.12
2.50	45.48	53.89	9.31	9.36	11.21	16.39
3.00	49.26	68.75	14.20	11.93	13.86	20.86
3.50	58.87	84.15	16.58	14.59	17.12	25.48

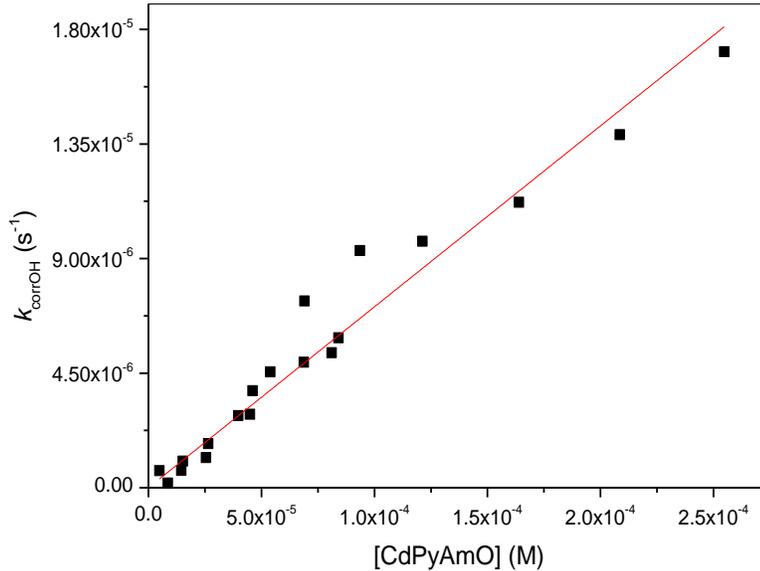


Figura 6.3.15. Correlación de las constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina (k_{corrOH} , s^{-1}) en función de $[\text{CdPyAmOx}]^+$ hacia paraoxón.

La tabla 6.3.19 muestra las constantes corregidas por la hidrólisis alcalina para la hidrólisis de paratión en las diferentes concentraciones metal-ligante para los valores de pH utilizados, así como la concentración de la especie $[\text{CdL}]^+$ y la figura 6.3.16 muestra la dependencia de la constante observada en función de la concentración de la especie $[\text{CdL}]^+$ en la que la pendiente representa la reactividad del complejo hacia paratión y tiene un valor de $k_{[\text{CdL}]}=0.100 \pm 0.003 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$.

Tabla 6.3.19. Constantes de velocidad de primer orden para la hidrólisis de paratión 0.05 mM en presencia de PyAmOx y Cd²⁺ diferentes valores de pH (MOPS, CHES 50 mM) a 25°C, 1% MeCN y concentración de la especie CdL en cada punto.

[L]=[Cd] (mM)	pH 7.80		pH 8.05		pH 8.31	
	$k_{\text{corrOH}} \times 10^7$ (s ⁻¹)	[CdL] ⁺ × 10 ⁶ (M)	$k_{\text{corrOH}} \times 10^6$ (s ⁻¹)	[CdL] ⁺ × 10 ⁶ (M)	$k_{\text{corrOH}} \times 10^6$ (s ⁻¹)	[CdL] ⁺ × 10 ⁵ (M)
0.50	4.48	4.90	0.52	8.59	0.95	1.53
1.00	15.54	14.60	1.56	25.47	3.95	4.50
1.50	35.07	26.49	2.57	46.12	7.19	8.11
2.00	57.94	39.73	2.62	69.07	10.97	12.12
2.50	93.83	53.89	4.18	93.60	18.80	16.39
3.00	124.25	68.75	4.24	119.30	20.46	20.86
3.50	148.66	84.15	4.76	145.90	25.03	25.48

Continuación tabla 6.3.19

pH 8.58		
[L]=[Cd] mM	$k_{\text{corrOH}} \times 10^5$ (s ⁻¹)	[CdL] ⁺ × 10 ⁵ (M)
0.5	0.22	2.70
1.5	1.78	14.04
2.5	3.05	28.15
3	3.66	35.74
3.5	4.09	43.58

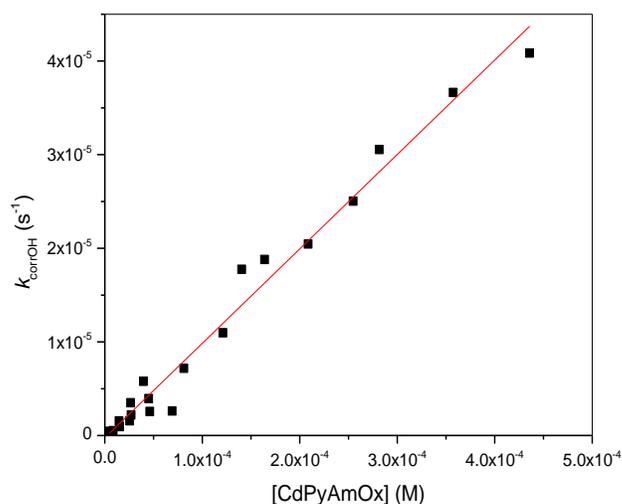


Figura 6.3.16. Correlación de las constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina ($k_{\text{corrOH}} \text{ s}^{-1}$) en función de $[\text{CdPyAmOx}]^+$ hacia paratión.

La tabla 6.3.20 reúne, a manera de resumen, las constantes de segundo orden para la hidrólisis de los tres sustratos por el complejo Cd-amidoximato y el ligante libre, y además se muestra el valor del efecto catalítico $k_{[\text{CdL}]} / k_{\text{PyAmOx}}$, que es diferente para cada sustrato y es mayor para paratión y paraoxón incluso cuando el NFA es más susceptible a la hidrólisis alcalina que los ésteres fosfato.

Tabla 6.3.20. Constantes de segundo orden para la hidrólisis de los diferentes sustratos por el ligante PyAmOx y el complejo Cd-PyAmOx

Sustrato	$k_{\text{PyAmOx}} (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$k_{[\text{CdL}]} (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$k_{[\text{CdL}]} / k_{\text{PyAmOx}}$
NFA	57 ± 4	700 ± 7	12.28
Paraoxón	$(1.71 \pm 0.15) \times 10^{-3}$	0.071 ± 0.002	41.52
Paratión	$(3.3 \pm 0.6) \times 10^{-4}$	0.100 ± 0.003	303.03

Zinc

Se realizaron estudios cinéticos con el ligante PyAmOx en presencia de Zn(II) manteniendo el pH constante y variando la concentración de ligante y metal en proporción 1:1.

Para NFA 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 6.3.17 se muestra un gráfico de las constantes observadas en función de la concentración total de ligante y zinc ($[L] = [Zn]$).

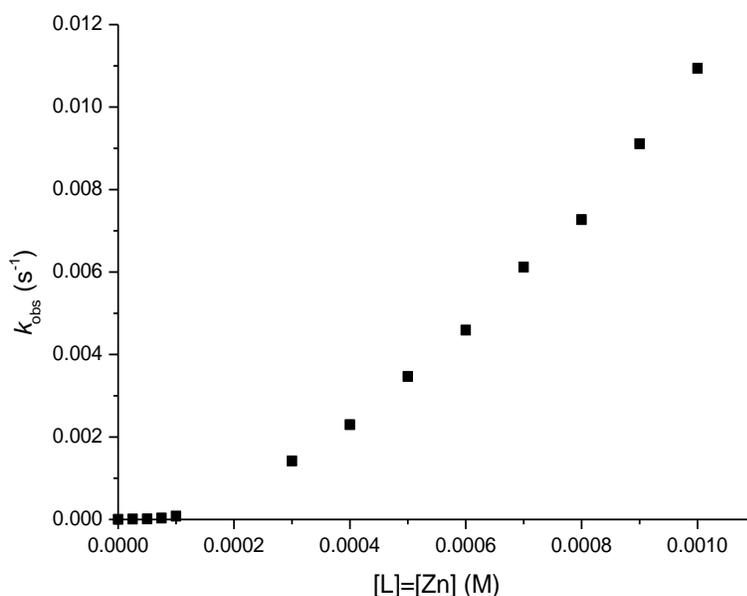


Figura 6.3.17. Constantes observadas de primer orden (k_{obs}) a 25°C en agua a pH 7.20 (MOPS, 50 mM, 1% MeCN) para la hidrólisis de NFA 0.05 mM en función de la concentración total de PyAmOx en presencia de un equivalente de Zn(II), $[L]=[Zn]$.

Como puede observarse, al igual que con cadmio, la tendencia no es lineal y se obtuvo este comportamiento en todos los valores de pH utilizados por lo que, para calcular la reactividad del complejo se realizó igualmente

un análisis global de todas las constantes obtenidas en todos los valores de pH corregidas por la contribución de la hidrólisis alcalina.

En este caso las especies que podrían presentar reactividad de acuerdo a modelo propuesto en la sección 6.2 son las especies $[ZnL]^+$ y $[ZnL(OH)]$, por lo que la constante corregida por la hidrólisis alcalina puede expresarse mediante la ecuación (6).

$$k_{corrOH} = k_L[L] + k_{ZnL}[ZnL] + k_{ZnL(OH)}[ZnL(OH)] \quad (6)$$

En la que la constante observada corregida por la hidrólisis alcalina se expresa como una suma de las constantes de segundo orden ($M^{-1}s^{-1}$) multiplicadas por la concentración molar de cada especie.

En las condiciones de trabajo la concentración de ligante desprotonado es del orden de 10^{-10} a 10^{-7} M, por lo que se puede despreciar esta contribución.

Para determinar la reactividad de las especies con zinc se tendría que distribuir la reactividad entre las dos especies mediante una regresión lineal múltiple, sin embargo en el diagrama de distribución de especies (Figura 6.3.18) se observa que la especie predominante es $[ZnLOH]$ en el intervalo de pH utilizado, por lo que si esta especie es la responsable de la reactividad al realizar un gráfico de las constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina en función de la concentración de la especie en cada valor de pH se debería obtener una correlación lineal, en la que la pendiente sería la constante de segundo orden para la hidrólisis de NFA por la especie $[ZnLOH]$.

Además, en la figura 6.3.18 se superpuso al diagrama de distribución de especies las constantes observadas corregidas por la contribución alcalina al utilizar PyAmOx y Zn(II) en proporción 1:1 para diferentes valores de pH (Tabla 6.3.21).

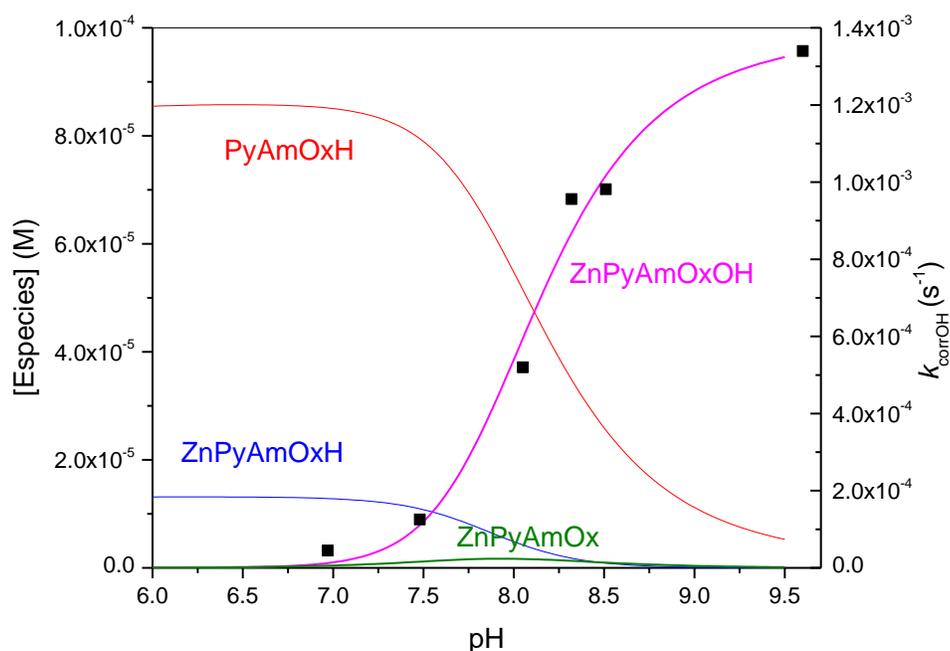


Figura 6.2.18. Diagrama de distribución de especies en función del pH calculado para 0.1 mM de PyAmOx y 0.1 mM de Zn(II) superpuesto con las constantes de rapidez corregidas por hidrólisis alcalina para la hidrólisis de NFA 0.05 mM en presencia de PyAmOx y Zn(II) 0.1 mM en función del pH. Los puntos representan las constantes y las líneas sólidas las especies presentes.

Tabla 6.3.21. Constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina en función del pH (MOPS, CHES 50 mM) para la hidrólisis de NFA 0.05 mM por PyAmOx y Zn(II) en proporción 1:1, concentración 0.1 mM, 25°C.

pH	k_{corrOH} (s^{-1})	pH	k_{corrOH} (s^{-1})
6.97	4.47×10^{-5}	8.51	9.82×10^{-4}
7.48	1.26×10^{-4}	8.32	9.56×10^{-4}
8.05	5.20×10^{-4}	9.60	1.34×10^{-3}

Como se puede apreciar el perfil de los datos cinéticos corresponde a la especie [ZnPyAmOxOH], por lo que se utilizaron las constantes obtenidas

al variar la concentración metal ligante en proporción 1:1 a diferentes valores de pH y se calculó la concentración de esta especie.

Tabla 6.3.22. Constantes de rapidez de la hidrólisis de NFA 0.05 mM corregidas por hidrólisis alcalina por el ligante PyAmOx en presencia de un equivalente de Zn(II) a diferentes valores de pH y concentración calculada de la especie ZnPyAmOxOH para cada valor.

		pH 6.97					pH 7.48					pH 7.64		
[Zn]=[L] (10 ⁵) M	ZnLOH (10 ⁸) M	k _{corrOH} (10 ⁵) s ⁻¹	ZnLOH (10 ⁶) M	k _{corrOH} (10 ⁶) s ⁻¹	[Zn]=[L] (10 ⁵) M	ZnLOH (10 ⁶) M	k _{corrOH} (10 ⁶) s ⁻¹	[Zn]=[L] (10 ⁵) M	ZnLOH (10 ⁶) M	k _{corrOH} (10 ⁶) s ⁻¹				
2.50	4.99	1.40	0.49	6.67	4.00	2.30	6.85							
5.00	18.37	1.64	1.77	9.55	6.00	4.67	15.75							
7.50	38.35	8.05	15.70	61.35	7.00	6.07	27.37							
10.00	63.66	4.37	5.89	121.81	8.00	7.59	29.44							
		pH 7.70					pH 8.05					pH 8.32		
[Zn]=[L] (10 ⁵) M	ZnLOH (10 ⁶) M	k _{corrOH} (10 ⁵) s ⁻¹	ZnLOH (10 ⁵) M	k _{corrOH} (10 ⁴) s ⁻¹	[Zn]=[L] (10 ⁵) M	ZnLOH (10 ⁵) M	k _{corrOH} (10 ⁴) s ⁻¹	[Zn]=[L] (10 ⁵) M	ZnLOH (10 ⁵) M	k _{corrOH} (10 ⁴) s ⁻¹				
2.50	1.25	0.73	0.44	1.71	0.88	2.30								
5.00	4.30	2.14	1.33	2.75	2.32	4.39								
7.50	8.52	4.71	2.43	3.21	3.95	6.49								
10.00	13.58	7.45	3.65	5.08	5.67	9.33								
		pH 8.51					pH 8.68					pH 8.73		
[Zn]=[L] (10 ⁵) M	ZnLOH (10 ⁵) M	k _{corrOH} (10 ⁵) s ⁻¹	ZnLOH (10 ⁵) M	k _{corrOH} (10 ⁵) s ⁻¹	[Zn]=[L] (10 ⁵) M	ZnLOH (10 ⁵) M	k _{corrOH} (10 ⁵) s ⁻¹	[Zn]=[L] (10 ⁵) M	ZnLOH (10 ⁵) M	k _{corrOH} (10 ⁵) s ⁻¹				
2.50	1.22	14.33	1.50	40.76	1.57	44.23								
5.00	2.97	32.93	3.45	57.56	3.57	67.43								
7.50	4.87	56.76	5.52	85.96	5.68	96.23								
10.00	6.84	94.69	7.64	133.00	7.84	137.00								
		pH 9.13					pH 9.27					pH 9.60		
[Zn]=[L] (10 ⁵) M	ZnLOH (10 ⁵) M	k _{corrOH} (10 ⁵) s ⁻¹	ZnLOH (10 ⁵) M	k _{corrOH} (10 ⁵) s ⁻¹	[Zn]=[L] (10 ⁵) M	ZnLOH (10 ⁵) M	k _{corrOH} (10 ⁵) s ⁻¹	[Zn]=[L] (10 ⁵) M	ZnLOH (10 ⁵) M	k _{corrOH} (10 ⁵) s ⁻¹				
2.50	1.99	80.59	2.08	24.94	2.23	50.80								
5.00	4.24	68.53	4.39	43.88	4.61	69.21								

7.50	6.55	140.00	6.74	65.15	7.02	66.21
10.00	8.89	173.00	9.11	85.99	9.44	91.21

Continuación tabla 6.3.22.

pH 7.60			pH 7.37		pH 7.80	
$[Zn]=[L]$ $\times 10^4$ (M)	$[ZnLOH]$ $\times 10^5$ (M)	k_{corrOH} $\times 10^4$ (s ⁻¹)	$[ZnLOH]$ $\times 10^5$ (M)	k_{corrOH} $\times 10^4$ (s ⁻¹)	$[ZnLOH]$ $\times 10^4$ (M)	k_{corrOH} $\times 10^3$ (s ⁻¹)
3.00	5.04	14.20	2.13	6.88	0.92	2.75
4.00	7.51	23.00	3.22	11.00	1.34	4.38
5.00	10.13	34.70	4.39	18.00	1.79	6.48
6.00	12.86	45.90	5.60	25.00	2.24	7.77
7.00	15.65	61.20	6.86	29.90	2.71	11.29
8.00	18.51	72.70	8.14	37.80	3.19	13.74
9.00	21.41	91.10	9.45	46.00	3.67	17.17
10.00	24.35	109.40	10.77	55.30	4.16	19.65

pH 8.05			pH 8.46	
$[Zn]=[L]\times 10^4$ (M)	$[ZnLOH]\times 10^4$ (M)	$k_{corrOH}\times 10^3$ (s ⁻¹)	$[ZnLOH]\times 10^4$ (M)	$k_{corrOH}\times 10^2$ (s ⁻¹)
3.00	1.54	4.75	2.31	0.90
4.00	2.18	7.69	3.17	1.33
5.00	2.85	11.82	4.04	1.78
6.00	3.53	16.34	4.93	2.21
7.00	4.22	20.48		
8.00	4.92	24.95	6.70	2.84
9.00	5.62	29.34	7.60	3.13
10.00	6.33	34.78		

En la tabla 6.3.22 se presentan las constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina para diferentes concentraciones metal:ligante 1:1 y de la concentración de la especie $[ZnPyAmOxOH]$, y en la figura 6.3.19 se graficaron las constantes corregidas en función de la concentración de la especie.

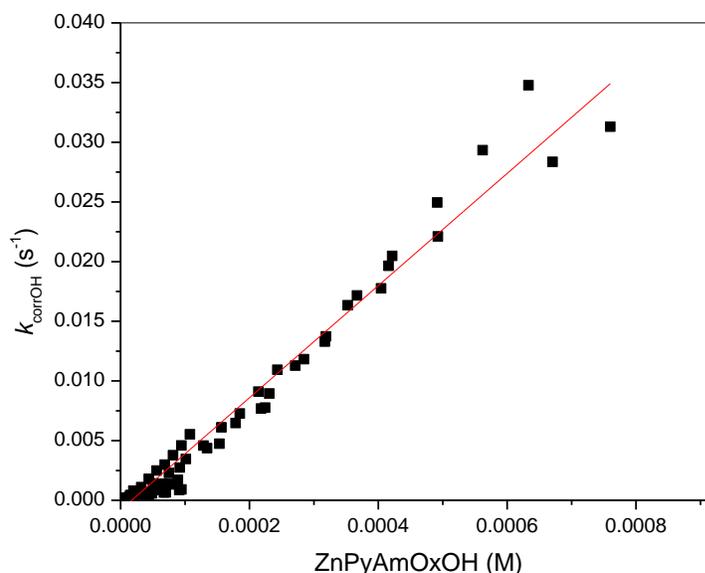


Figura 6.3.19. Constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina en función de la concentración de la especie [ZnPyAmOxOH] hacia la hidrólisis de NFA

Como puede observarse se obtiene una tendencia lineal, por lo que la pendiente representa la reactividad de la especie [ZnPyAmOxOH] hacia NFA y tiene un valor de $k_{[\text{ZnPyAmOxOH}]} = 47.0 \pm 0.7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ y comparando este valor con el del ligante libre ($57 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$), la reactividad no disminuye ya que estos valores son del mismo orden sin embargo, la disminución del pK_a del ligante al coordinarse con zinc permite que se observe reactividad en valores de pH neutros o ligeramente básicos.

En el caso de los ésteres fosfato se obtuvieron constantes de primer orden a partir de las velocidades iniciales y el análisis de los datos fue el mismo que con NFA.

La tabla 6.3.23 muestra las constantes corregidas por la hidrólisis alcalina para la hidrólisis de paraoxón en las diferentes concentraciones metal-ligante para los valores de pH utilizados, así como la concentración de la

especie [ZnLOH] y la figura 6.3.20 muestra la dependencia de la constante observada en función de la concentración de la especie [ZnLOH] en la que la pendiente representa la reactividad del complejo hacia paraoxón y tiene un valor de $k_{\text{ZnLOH}} = (8.0 \pm 0.4) \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

Tabla 6.3.23. Constantes de velocidad de primer orden para la hidrólisis de paraoxón 0.05 mM en presencia de PyAmOx y Zn(II) en diferentes valores de pH (MOPS, CHES 50 mM) a 25°C, 1% MeCN y concentración de la especie [ZnLOH] en cada punto.

[L]=[Zn] (mM)	pH 7.80		pH 8.05		pH 8.31	
	$k_{\text{corrOH}} \times 10^6$ (s ⁻¹)	[ZnLOH] × 10 ⁴ (M)	$k_{\text{corrOH}} \times 10^6$ (s ⁻¹)	[ZnLOH] × 10 ⁴ (M)	$k_{\text{corrOH}} \times 10^6$ (s ⁻¹)	[ZnLOH] × 10 ⁴ (M)
0.5	1.07	2.12	2.55	3.14	3.07	3.90
1.0	3.68	4.88	6.19	6.90	6.90	8.26
1.5	7.43	7.77	9.49	10.80	10.16	12.70
2.0	10.18	10.70	12.57	14.70	11.65	17.20
2.5	13.16	13.70	13.90	18.70	10.41	21.70
3.0	16.21	16.70	16.11	22.70	12.98	26.30
3.5	15.92	19.70	23.45	26.70	14.22	30.80

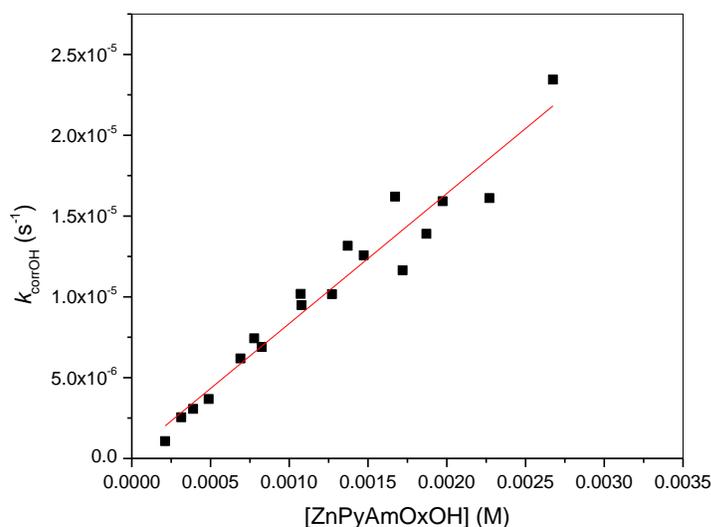


Figura 6.3.20. Correlación de las constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina (k_{corrOH} , s⁻¹) en función de [ZnPyAmOxOH] hacia paraoxón.

La tabla 6.3.24 muestra las constantes corregidas por la contribución alcalina para la hidrólisis de paratión en las diferentes concentraciones metal-ligante para los valores de pH utilizados, así como la concentración calculada de la especie [ZnLOH].

Tabla 6.3.24. Constantes de velocidad de primer orden para la hidrólisis de paratión 0.05 mM en presencia de PyAmOx y Zn(II) a diferentes valores de pH (MOPS, CHES 50 mM) a 25°C, 1% MeCN y concentración de la especie [ZnLOH] en cada punto.

[L]=[Zn] (mM)	pH 7.80		pH 8.05	
	$k_{\text{corrOH}} \times 10^6$ (s ⁻¹)	[ZnLOH] × 10 ⁴ (M)	$k_{\text{corrOH}} \times 10^6$ (s ⁻¹)	[ZnLOH] × 10 ⁴ (M)
0.5	0.70	2.12	0.52	3.14
1.0	1.19	4.88	1.56	6.90
1.5	2.09	7.77	2.57	10.80
2.0	2.66	10.70	2.62	14.70
2.5	3.72	13.70	4.18	18.70
3.0	4.57	16.70	4.24	22.70
3.5	4.05	19.70	4.76	26.70

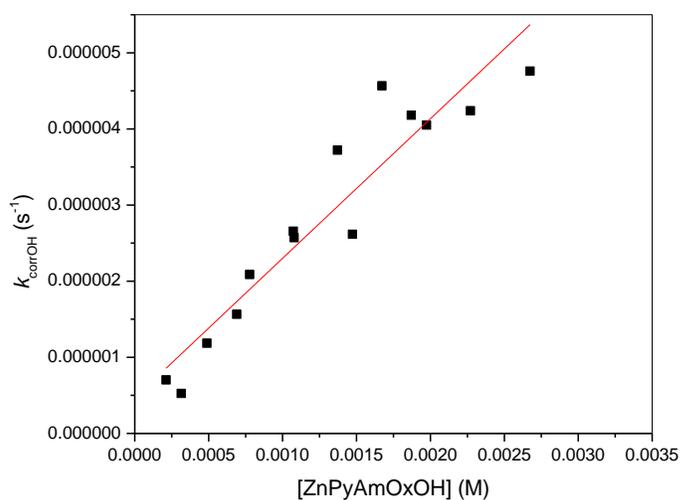


Figura 6.3.21. Correlación de las constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina ($k_{\text{corrOH}} \text{ s}^{-1}$) en función de [ZnPyAmOxOH] hacia paratión.

La figura 6.3.21 muestra la dependencia de la constante observada en función de la concentración de la especie [ZnLOH] en la que la pendiente representa la reactividad del complejo hacia paratión y tiene un valor de $k_{[ZnLOH]} = (1.8 \pm 0.2) \times 10^{-3} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$.

La tabla 6.3.25 muestra las constantes de segundo orden para la hidrólisis de los tres sustratos por el complejo [ZnPyAmOxOH] y el ligante libre, y además se muestra el valor del efecto catalítico $k_{[ZnLOH]}/k_{PyAmOx}$, que representa la reactividad de la especie respecto al ligante libre.

Tabla 6.3.25. Constantes de segundo orden para la hidrólisis de los diferentes sustratos por el ligante PyAmOx y el complejo [ZnPyAmOxOH].

Sustrato	$k_{PyAmOx} (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$k_{[ZnLOH]} (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$k_{[ZnLOH]}/k_{PyAmOx}$
NFA	57 ± 4	47.0 ± 0.7	0.82
Paraoxón	$(1.71 \pm 0.15) \times 10^{-3}$	$(8.0 \pm 0.4) \times 10^{-3}$	4.7
Paratión	$(3.3 \pm 0.6) \times 10^{-4}$	$(1.8 \pm 0.2) \times 10^{-3}$	5.5

En este caso se puede notar que hacia el éster carboxílico la reactividad de la especie es del mismo orden tanto con el ligante libre como coordinado, sin embargo hacia los ésteres fosfato que son menos susceptibles a la hidrólisis alcalina se observa un incremento de alrededor de 5 veces en la reactividad cuando el ligante se encuentra en presencia de Zn(II).

Níquel

Se realizaron diferentes estudios cinéticos con el ligante PyAmOx en presencia de Ni(II). Primero se mantuvo el pH fijo en 7.49 y la concentración de ligante y se varió la concentración de Ni(II). 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 tabla 6.3.26 se muestran las constantes observadas de primer orden obtenidas para la hidrólisis de NFA en presencia de PyAmOx 0.2 mM y Ni(II) variable y en la figura 6.3.22 se muestra un gráfico de las constantes observadas de primer orden en función de la concentración de Ni(II).

Tabla 6.3.26 Constantes observadas de primer orden para la hidrólisis de NFA en presencia de PyAmOx 0.2 mM y Ni(II) variable a pH=7.50 (MOPS 50 mM) a 25°C

[Ni(II)] (M)	k_{obs} (s^{-1})	[Ni(II)] (M)	k_{obs} (s^{-1})
0.0	0.175×10^{-4}	10.0×10^{-5}	5.318×10^{-4}
4.0×10^{-5}	2.584×10^{-4}	12.5×10^{-5}	5.572×10^{-4}
5.0×10^{-5}	3.265×10^{-4}	16.0×10^{-5}	5.900×10^{-4}
6.0×10^{-5}	3.926×10^{-4}	17.5×10^{-5}	5.621×10^{-4}
7.5×10^{-5}	4.422×10^{-4}	21.0×10^{-5}	5.628×10^{-4}
9.0×10^{-5}	5.306×10^{-4}		

En la figura 6.3.22 se puede apreciar que la constante aumenta en función de la concentración de níquel hasta tener proporción 1:2 metal:ligante donde comienza a mantenerse constante.

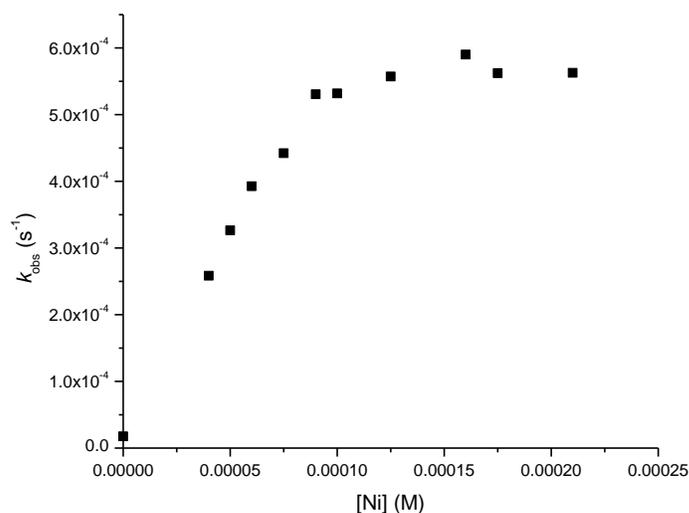


Figura 6.3.22 Constantes observadas de primer orden para la hidrólisis de NFA en función de la concentración de Ni(II) y concentración de PyAmOx constante.

Adicionalmente se realizaron estudios cinéticos variando las proporciones metal ligante a diferentes valores de pH y las constantes de primer orden obtenidas se corrigieron por la contribución alcalina y se muestran en la tabla 6.3.27.

Tabla. 6.3.27. Constantes de primero orden para la hidrólisis de NFA por PyAmOx en presencia de Ni(II) 0.1 mM (MOPS, EPPS, CHES 50 mM) 25°C.

pH	k_{corrOH} (s^{-1}) Proporción metal Ligante		
	1:1	1:2	1:3
6.49	4.25×10^{-5}	4.76×10^{-5}	4.38×10^{-5}
7.02	2.4×10^{-4}	2.65×10^{-6}	2.38×10^{-4}
7.49	6.09×10^{-4}	6.78×10^{-4}	6.81×10^{-4}
8.01	1.28×10^{-3}	1.26×10^{-3}	1.34×10^{-3}
8.53	2.09×10^{-3}	1.71×10^{-3}	1.75×10^{-3}
9.00	2.81×10^{-3}	2.23×10^{-3}	2.91×10^{-3}
9.48	3.59×10^{-3}		3.81×10^{-3}
9.96	3.70×10^{-3}	3.11×10^{-3}	4.42×10^{-3}

Las constantes se graficaron en función del pH y se ajustaron a la ecuación (4) para determinar el pK_a de la especie reactiva, en la figura 6.3.23 se muestran estas gráficas con sus respectivos ajustes.

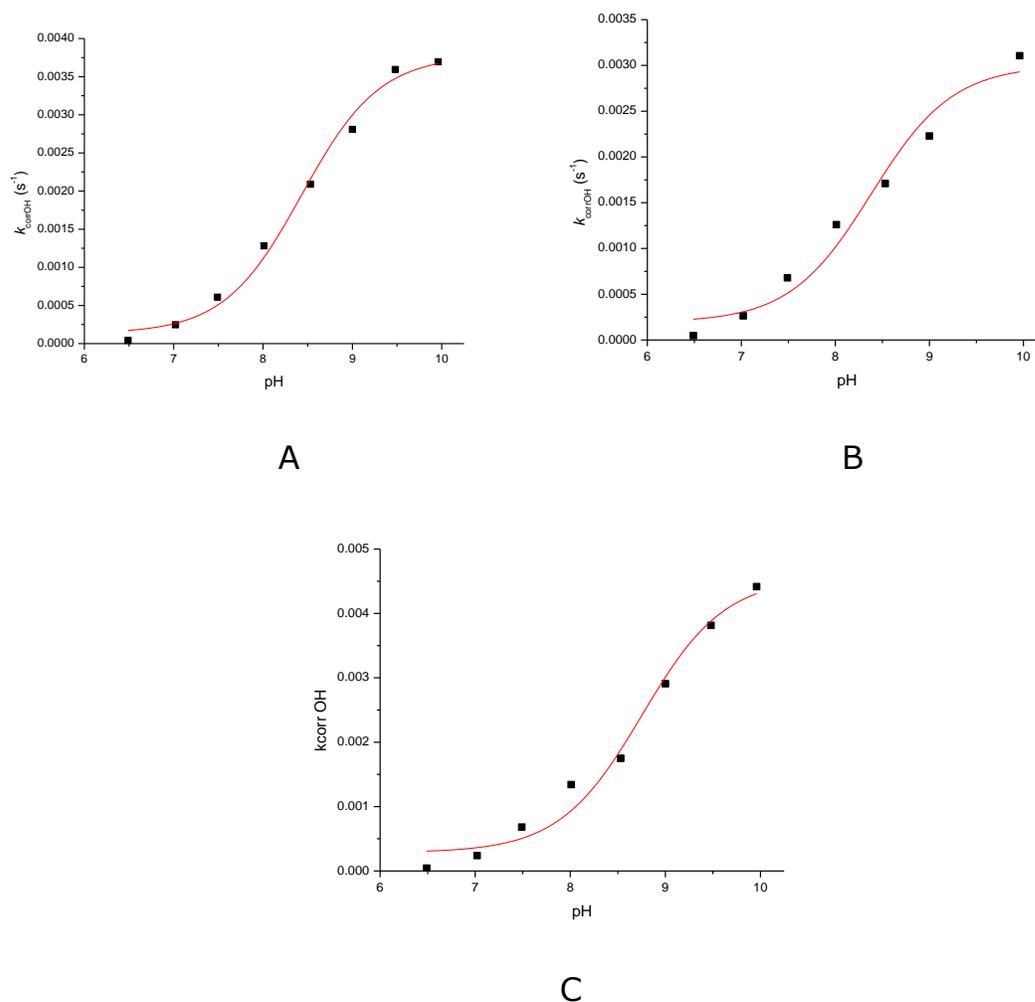


Figura 6.3.23. Gráficos de las constantes de primer orden en función del pH para la hidrólisis de NFA 0.05 mM por PyAmO en presencia de Ni(II) 0.1 mM en diferentes proporciones metal:ligante A) 1:1 B) 1:2 C) 1:3.

En los gráficos anteriores, se observa que el pK_a aparente es muy cercano en los 3 casos y tiene un valor promedio de 8.57 esto indica que aunque se modifiquen las proporciones metal ligante la especie reactiva es la misma, lo que concuerda con las especies propuestas en las titulaciones ya que en las distribuciones de especies al modificar las proporciones metal:ligante la especie $[NiL(OH)_2]^-$ no cambia su distribución y tienen

un pK_a muy cercano al observado en cinética. En la figura 6.3.24 se muestra la distribución de especies calculada con el programa *Hyss* superpuestas con las constantes de primer orden para proporción 1:1 metal ligante.

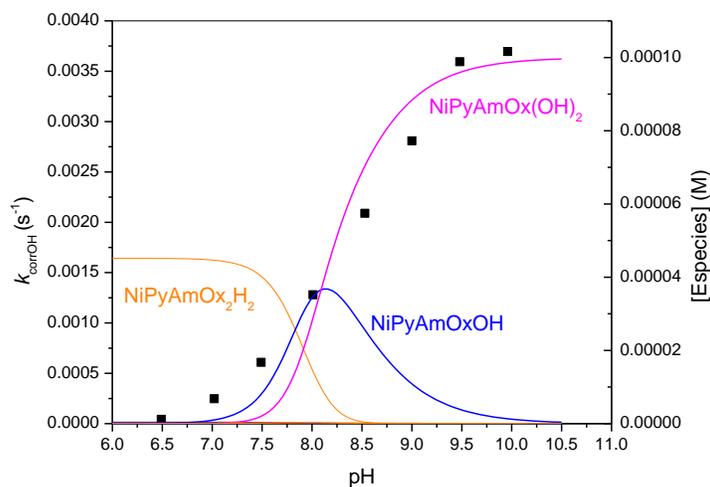


Figura 6.3.24. Gráficos de las constantes de primer orden en función del pH para la hidrólisis de NFA 0.05 mM por PyAmO 0.1 mM en presencia de Ni(II) 0.1 mM (puntos) superpuestas con la distribución de especies calculada para cada concentración (líneas).

Como puede observarse, el perfil cinético es muy parecido al perfil de la curva de la especie $[NiL(OH)_2]^-$, por lo que se consideró que la reactividad sólo corresponde a esta especie y se graficó la constante de primer orden en función de la concentración de la especie (Figura 6.3.25) para obtener la constante de segundo orden de esta especie hacia NFA a partir de la pendiente y se obtuvo un valor de $k_{[NiL(OH)_2]^-} = 30 \pm 2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$.

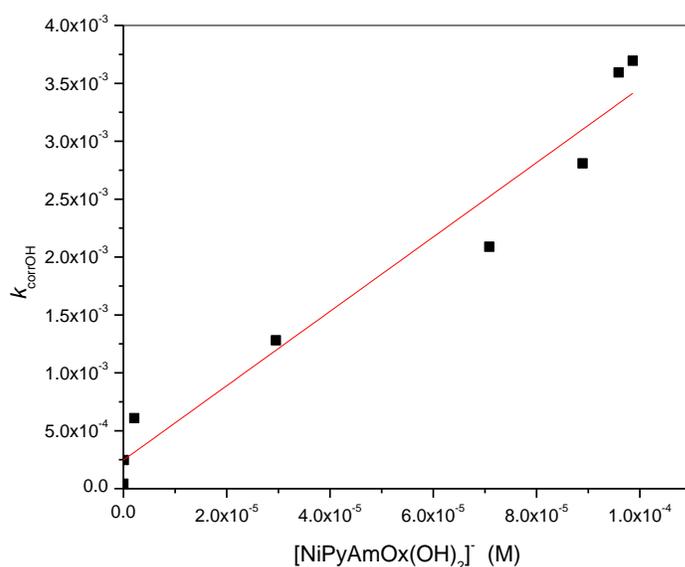
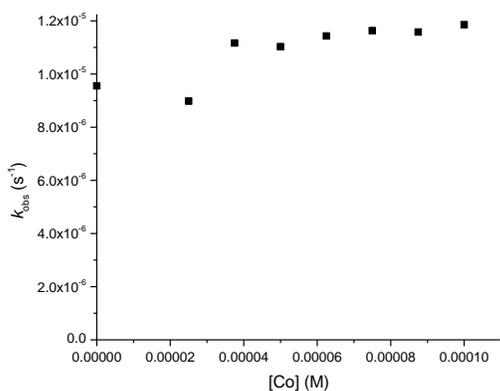


Figura 6.3.25. Correlación de las constantes observadas corregidas por hidrólisis alcalina (k_{corrOH} , s^{-1}) en función de $[\text{NiPyAmOx}(\text{OH})_2]^-$ hacia NFA.

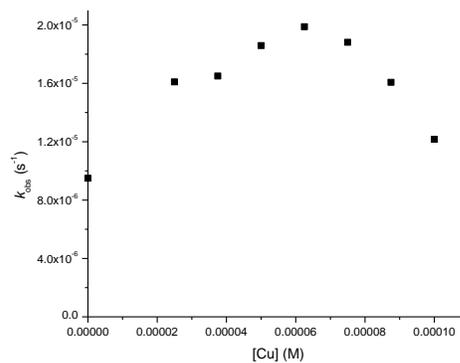
Es importante mencionar que aunque la constante de segundo orden es menor que la del ligante libre, al igual que con zinc, el níquel disminuye el pK_a del ligante y permite observar reactividad en valores de pH menores y además es relevante ya que el níquel tiende a formar complejos más ácidos y la reactividad se pierde, sin embargo en este caso el valor obtenido se encuentra todavía en la zona de los alfa nucleófilos siendo alrededor del doble que la hidrólisis alcalina.

Otros cationes metálicos

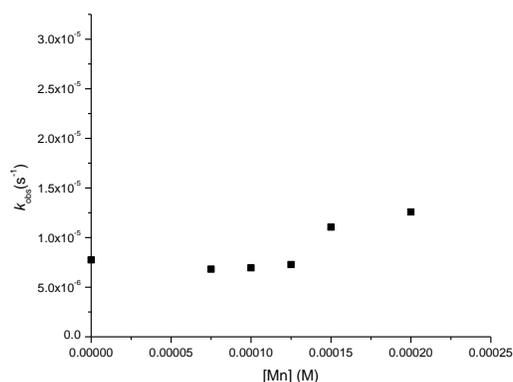
Se estudió la reactividad del ligante PyAmOx hacia NFA en presencia de otros cationes metálicos divalentes de transición a un pH y concentración de ligante fijos y se analizó el efecto sobre la reactividad al variar la concentración de los cationes metálicos. Los gráficos de la constante observada en función de la concentración de metal se muestran en la figura 6.3.26.



A



B



C

Figura 6.3.26 Constantes observadas de primer orden para la hidrólisis de NFA 0.05 mM por el ligante PyAmOx 0.1 mM o 0.2 mM en función de la concentración variable de cationes metálicos A) Co(II) (L=0.1 mM) B) Cu(II) (L=0.1 mM) C) Mn(II) (L=0.2 mM) pH 7.49 (MOPS 50 mM), 25°C

En ninguno de los casos se observó un aumento considerable en la velocidad de la reacción por lo que no se realizaron más estudios con estos cationes, adicionalmente al utilizar cobalto y cobre se forman complejos de color amarillo intenso que interfieren con el monitoreo del nitrofenolato, lo que no permite incrementar la concentración, además, al utilizar condiciones semejantes para todos, no se puede asegurar que el pH sea el óptimo para cada uno de los cationes.

Salicilamidoxima

Para determinar la reactividad intrínseca de este ligante hacia los diferentes sustratos se realizaron estudios cinéticos variando la concentración de ligante a diferentes valores de pH.

Para NFA 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 de velocidad observadas en función de la concentración total de ligante lo que indica que la reacción es de primer orden y la pendiente es la constante aparente de segundo orden (k' , $M^{-1}s^{-1}$).

En la tabla 6.3.28 se muestran los valores de las constantes de rapidez de primer orden obtenidas en cada valor de pH para las diferentes concentraciones de ligante.

Tabla 6.3.28. Constantes de velocidad de primer orden para la hidrólisis de NFA 0.05 mM en presencia de SalAmOx a diferentes valores de pH. 25°C. CHES o CAPS 50 mM, 1% MeCN

[L] (M)	$k_{obs} S^{-1}$			
	pH 6.99	pH 7.43	pH 7.85	pH 8.18
5×10^{-4}	2.75×10^{-4}	6.19×10^{-4}	1.61×10^{-3}	2.72×10^{-3}
1×10^{-3}	5.24×10^{-4}	1.19×10^{-3}	3.07×10^{-3}	4.91×10^{-3}
1.5×10^{-3}	7.87×10^{-4}	1.78×10^{-3}	4.44×10^{-3}	7.20×10^{-3}
2×10^{-3}	10.2×10^{-4}	2.33×10^{-3}	5.84×10^{-3}	9.66×10^{-3}
2.5×10^{-3}	12.9×10^{-4}	2.94×10^{-3}	7.19×10^{-3}	11.85×10^{-3}

[L] (M)	$k_{obs} S^{-1}$			
	pH 8.34	pH 8.53	pH 9.01	pH 9.33
5×10^{-4}	3.78×10^{-3}	5.26×10^{-3}	11.2×10^{-3}	13.65×10^{-3}
1×10^{-3}	7.32×10^{-3}	8.54×10^{-3}	20.62×10^{-3}	24.83×10^{-3}
1.5×10^{-3}	11.60×10^{-3}	14.34×10^{-3}	27.88×10^{-3}	38.69×10^{-3}
2×10^{-3}	14.08×10^{-3}	19.08×10^{-3}	39.9×10^{-3}	
2.5×10^{-3}	17.27×10^{-3}	24.14×10^{-3}	48.58×10^{-3}	64.20×10^{-3}

Continuación Tabla 6.3.28.

[L] (M)	$k_{\text{obs}} \text{ s}^{-1}$				
	pH 9.58	pH 9.85	pH 10.14	pH 10.87	pH 11.12
5×10^{-4}	14.07×10^{-3}	18.51×10^{-3}	20.57×10^{-3}	25.64×10^{-3}	29.87×10^{-3}
1×10^{-3}	26.8×10^{-3}	32.83×10^{-3}	38.24×10^{-3}	44.19×10^{-3}	47.03×10^{-3}
1.5×10^{-3}	41.0×10^{-3}	47.22×10^{-3}	54.91×10^{-3}	62.07×10^{-3}	66.76×10^{-3}
2×10^{-3}	51.79×10^{-3}	69.14×10^{-3}	71.44×10^{-3}	80.77×10^{-3}	86.66×10^{-3}
2.5×10^{-3}	66.33×10^{-3}	84.58×10^{-3}	87.44×10^{-3}	101.29×10^{-3}	104.34×10^{-3}

En la tabla 6.3.29 se resumen los valores de las constantes de segundo orden del ligante SalAmOx a cada valor de pH para la hidrólisis de NFA.

Tabla 6.3.29. Constantes de velocidad de segundo orden, k' $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$, para la hidrólisis de NFA 0.05 mM en presencia de SalAmOx a diferentes valores de pH en MOPS, CHES o CAPS 50 mM a 25°C, 1% MeCN.

pH	k' ($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)	pH	k' ($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)
6.99	0.51	9.33	25.51
7.43	1.16	9.58	25.90
7.85	2.79	9.85	33.69
8.18	4.60	10.14	33.39
8.34	6.75	10.87	36.97
8.53	9.66	11.12	34.31
9.01	18.81		

Las constantes de segundo orden se ajustaron a la ecuación (4) que permite calcular la constante límite de segundo orden, y además permite calcular el valor de $\text{p}K_{\text{a}}$ de la especie cinéticamente activa. En la figura 6.2.27 se muestran las constantes de segundo orden para la hidrólisis de NFA por el ligante SalAmOx en función del pH las cuales se ajustaron a la ecuación (4).

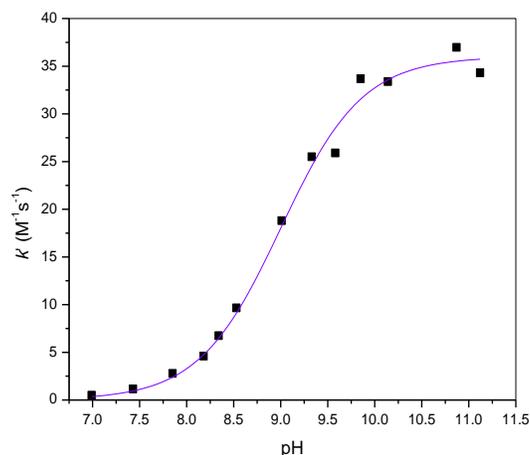


Figura 6.3.27. Constante de velocidad de segundo orden, k' $M^{-1}s^{-1}$, para la hidrólisis de NFA 0.05 mM en presencia de SalAmOx a diferentes valores de pH a 25°C. MOPS. CHES o CAPS 50 mM, 1% MeCN. La línea representa el ajuste para determinar la reactividad intrínseca del anión amidoximato, $pK_a=8.99$

Se obtuvo un pK_a aparente para la especie reactiva de 8.99 y una reactividad límite de $36 \pm 0.8 M^{-1}s^{-1}$. Este valor de pK_a corresponde a la especie LH (De las titulaciones potenciométricas $pK_a=8.9$) por lo que en las condiciones de trabajo puede considerarse que la única especie presente en disolución responsable de la reactividad es el ligante protonado (SalAmOxH). En la figura 6.3.28 se presenta el diagrama de distribución de especies en el que se puede observar que la contribución de la especie totalmente desprotonada comienza a ser significativa a partir de pH 11.5 y para calcular la reactividad de esta especie sería necesario incrementar el pH, pero las reacciones son muy rápidas y experimentalmente no se pudieron medir.

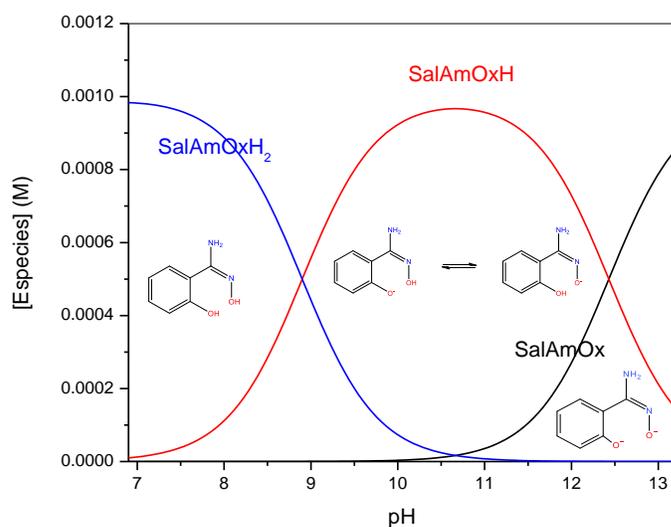


Figura 6.3.28. Diagrama de distribución de especies del ligante SalAmOx.

Tomando esto en cuenta, se calculó la concentración de la especie SalAmOxH (LH) para las concentraciones utilizadas en todos los valores de pH y se graficaron las constantes corregidas por hidrólisis alcalina en función de la concentración de esta especie. Los valores de las constantes corregidas y la concentración de LH se muestran en la tabla 6.3.30 y gráficamente en la figura 6.3.29.

Tabla 6.3.30. Constantes de primer orden de la hidrólisis de NFA por el ligante SalAmOx y concentración de la especie LH para cada concentración total de ligante y diferentes valores de pH en MOPS, CHES o CAPS 50 mM a 25°C, 1% MeCN.

[SalAmOx] (mM)	pH 6.99		pH 7.43		pH 7.85	
	$k_{\text{corrOH}} \times 10^4$ (s ⁻¹)	[LH] × 10 ⁶ [M]	$k_{\text{corrOH}} \times 10^4$ (s ⁻¹)	[LH] × 10 ⁵ (M)	$k_{\text{corrOH}} \times 10^3$ (s ⁻¹)	[LH] × 10 ⁴ (M)
0.5	2.73	6.04	6.14	1.64	1.60	0.41
1.0	5.22	12.09	11.80	3.27	3.06	0.82
1.5	7.85	18.13	17.70	4.91	4.43	1.23
2.0	10.20	24.17	23.20	6.54	5.83	1.64
2.5	12.90	30.22	29.30	8.18	7.18	2.04

[SalAmOx] (mM)	pH 8.18		pH 8.34		pH 8.53	
	$k_{\text{corrOH}} \times 10^3$ (s^{-1})	[LH] $\times 10^4$ (M)	$k_{\text{corrOH}} \times 10^3$ (s^{-1})	[LH] $\times 10^4$ (M)	$k_{\text{corrOH}} \times 10^3$ (s^{-1})	[LH] $\times 10^4$ (M)
0.5	2.69	0.80	3.74	1.08	5.20	1.50
1.0	4.88	1.60	7.28	2.16	8.48	2.99
1.5	7.17	2.40	11.56	3.24	14.28	4.49
2.0	9.63	3.20	14.04	4.32	19.02	5.98
2.5	11.82	4.00	17.23	5.40	24.08	7.47

[SalAmOx] (mM)	pH 9.00		pH 9.33		pH 9.58	
	$k_{\text{corrOH}} \times 10^3$ (s^{-1})	[LH] $\times 10^4$ (M)	$k_{\text{corrOH}} \times 10^3$ (s^{-1})	[LH] $\times 10^4$ (M)	$k_{\text{corrOH}} \times 10^3$ (s^{-1})	[LH] $\times 10^4$ (M)
0.5	11.01	2.79	13.25	3.64	13.36	4.13
1.0	20.43	5.57	24.43	7.29	26.09	8.26
1.5	27.69	8.36	38.29	10.90	40.29	12.40
2.0	39.71	11.10	nd	14.60	51.08	16.50
2.5	48.39	13.90	63.80	18.20	65.62	20.70

[SalAmOx] (mM)	pH 9.85		pH 10.14		pH 10.87		pH 11.12	
	k_{corrOH} $\times 10^3$	[LH] $\times 10^3$						
	(s^{-1})	(M)						
0.5	17.19	0.449	17.99	0.4705	11.2	0.4816	4.01	0.4739
1.0	31.51	0.897	35.66	0.941	29.59	0.9632	20.75	0.9479
1.5	45.9	1.35	52.33	1.41	46.57	1.45	38.2	1.42
2.0	67.82	1.79	68.86	1.88	65.97	2.41	55.52	1.9
2.5	83.26	2.24	84.86	2.35	85.44	2.41	72.4	2.37

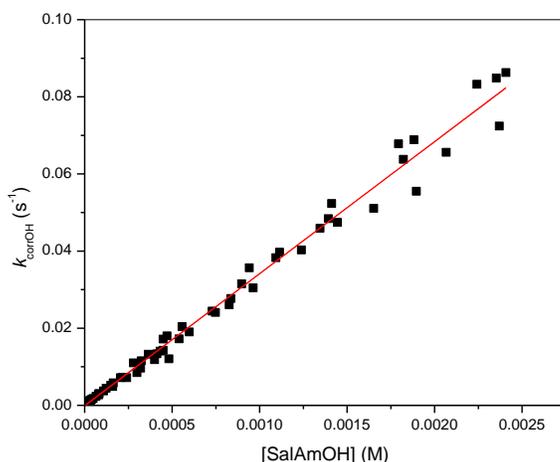


Figura 6.3.29. Correlación de las constantes observadas corregidas por la hidrólisis alcalina en función de la concentración de la especie LH para la hidrólisis de NFA.

Como puede observarse en la figura 6.3.29 se obtiene una correlación lineal en la que la pendiente es la reactividad de esta especie y tiene un valor de $k_{LH} = 34.2 \pm 0.3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, el cual es un valor muy cercano al obtenido mediante la ecuación (4) pero este representa mejor la reactividad de la especie.

Para determinar la reactividad de este ligante frente a paraoxón se utilizó una concentración fija de ligante y se varió el pH. Se obtuvieron constantes de primer orden a partir de las velocidades iniciales y se corrigieron por la hidrólisis alcalina. Estas constantes se muestran en la tabla 6.3.31.

Tabla 6.3.31. Constantes de primer orden corregidas por hidrólisis alcalina para la hidrólisis de paraoxón 0.05 mM en presencia del ligante SalAmOx 5mM a diferentes valores de pH en MOPS, CHES o CAPS 50 mM a 25°C, 1% MeCN.

pH	k_{corrOH} s^{-1}	pH	k_{corrOH} s^{-1}	pH	k_{corrOH} s^{-1}
7.30	1.89×10^{-6}	8.58	2.66×10^{-5}	9.81	9.11×10^{-5}
7.53	3.21×10^{-6}	8.81	3.38×10^{-5}	10.05	1.04×10^{-4}
7.80	6.44×10^{-6}	9.05	4.71×10^{-5}	10.30	1.19×10^{-4}
8.05	1.13×10^{-5}	9.31	5.72×10^{-5}	10.55	1.24×10^{-4}
8.31	1.36×10^{-5}	9.55	6.99×10^{-5}	11.06	1.36×10^{-4}

Se graficaron las constantes en función del pH y se ajustaron estos datos a la ecuación 4 para determinar el pK_a aparente (Figura 6.3.30).

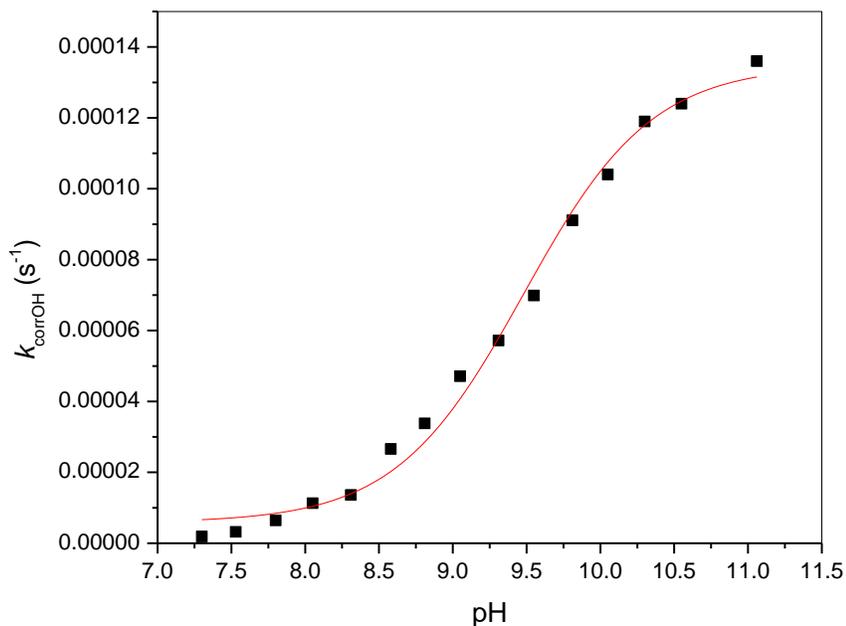


Figura 6.3.30. Constantes de primer orden en función del pH para la hidrólisis de paraoxón 0.05 mM en presencia de SalAmOx 5 mM en MOPS, CHES o CAPS 50 mM a 25°C, 1% MeCN

Se obtuvo un pK_a aparente de 9.48, el cual de acuerdo a las titulaciones no corresponde a ninguna de las especies, si no que la reactividad observada se debe a la suma de las constantes de segundo orden por la concentración de cada especie reactiva de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$k_{obs} = k_{LH}[LH] + k_L[L] \quad (7)$$

Para determinar la constante de segundo orden de cada especie se calculó la concentración de cada especie y se realizó una regresión lineal múltiple. La concentración de cada especie para cada valor de pH se muestra en la tabla 6.3.32.

Tabla 6.3.32. Concentración de las especies LH y L del ligante SalAmOx con concentración total 5 mM a diferentes valores de pH

pH	[L]×10 ⁹ (M)	[LH] ×10 ⁴ (M)	pH	[L] ×10 ⁶ (M)	[LH] ×10 ³ (M)
7.30	0.91	1.22	9.31	2.59	3.56
7.53	2.52	2.02	9.55	5.47	4.09
7.80	8.20	3.59	9.81	10.91	4.45
8.05	26.01	6.21	10.05	19.14	4.65
8.31	79.22	10.30	10.30	36.07	4.78
8.58	227.20	16.10	10.55	61.27	4.83
8.81	526.30	22.20	11.06	203.20	4.76
9.05	1290.00	29.80			

Los valores obtenidos de la regresión lineal múltiple para las constantes de segundo orden de la hidrólisis de paraoxón por el ligante SalAmOx fueron $k_{LH}=0.021 \pm 0.002 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ y $k_L=0.24 \pm 0.06 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$.

La reactividad del ligante SalAmOx hacia paratión se determinó realizando variaciones de pH para una concentración fija de ligante y se obtuvieron constantes de primer orden a partir de las velocidades iniciales. Estos valores se corrigieron por hidrólisis alcalina y se muestran en la tabla 6.3.33.

Tabla 6.3.33 Constantes observadas de primer orden para la hidrólisis de paratión 0.05 mM en presencia de SalAmOx 5 mM a diferentes valores de pH en CHES o CAPS 50 mM a 25°C, 1% MeCN.

pH	k_{corrOH} s^{-1}	pH	k_{corrOH} s^{-1}
8.05	8.51×10^{-6}	10.55	79.76×10^{-6}
8.58	21.67×10^{-6}	10.81	79.34×10^{-6}
9.05	38.31×10^{-6}	11.06	83.21×10^{-6}
9.55	64.30×10^{-6}	11.32	84.31×10^{-6}
10.05	71.90×10^{-6}	11.52	85.42×10^{-6}
10.30	76.87×10^{-6}		

Las constantes de primer orden se superpusieron en el diagrama de distribución de especies del ligante para determinar las especies reactivas y se muestra en la figura 6.3.31.

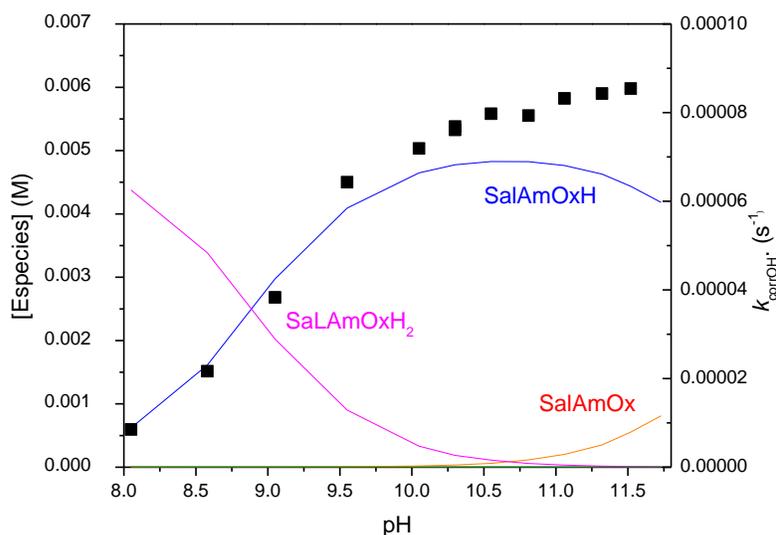


Figura 6.3.31. Gráfico de las constantes observadas en función del pH para la hidrólisis de paratión en presencia de 5 mM de SalAmOx, superpuesto con el diagrama de distribución de especies del ligante a la misma concentración.

En la figura 6.3.31 se observa que la reactividad al igual que con paraoxón no corresponde a una sola especie y puede definirse mediante la ecuación (7) ya que la constante observada también corresponde a la suma de la reactividad de cada especie multiplicada por su concentración.

Por lo tanto, se calculó la concentración de cada especie en los valores de pH utilizados y se realizó una regresión lineal múltiple para determinar la constante de segundo orden de las dos especies reactivas.

La concentración de las especies en cada valor de pH se muestra en la tabla 6.3.34.

Tabla 6.3.34. Concentración de las especies LH y L del ligante SalAmOx con concentración total 5 mM a diferentes valores de pH

pH	[L]×10 ⁷ (M)	[LH]×10 ³ (M)	pH	[L]×10 ⁴ (M)	[LH]×10 ³ (M)
8.05	0.26	0.62	10.55	0.61	4.83
8.58	2.27	1.61	10.81	1.16	4.83
9.05	12.90	2.98	11.06	2.03	4.76
9.55	54.68	4.09	11.32	3.53	4.63
10.05	191.40	4.65	11.52	5.55	4.43
10.30	360.70	4.78			

Al realizar la regresión lineal múltiple con las concentraciones de las especies y las constantes observadas se obtuvo la reactividad de cada especie frente a paratión $k_L = 0.032 \pm 0.005 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ y $k_{LH} = 0.0167 \pm 0.0007 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$.

En la tabla 6.3.35 se resumen los valores de las constantes de segundo orden obtenidas para las especies reactivas del ligante SalAmOx hacia los diferentes sustratos.

Tabla 6.3.35. Constantes de segundo orden para la hidrólisis de los diferentes sustratos por el ligante SalAmOx

Sustrato	$k_{LH} (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$k_L (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$
NFA	34.2 ± 0.8	n.d.
Paraoxón	0.021 ± 0.002	0.24 ± 0.06
Paratión	0.0167 ± 0.0007	0.032 ± 0.005

Salicilamidoxima-Metales

Zinc

Se realizaron estudios cinéticos con el ligante SalAmOx en presencia de Zn(II) manteniendo el pH constante y variando la concentración de ligante y metal en proporción 1:1.

Para NFA 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 6.3.32 se muestra un gráfico de las constantes observadas en función de la concentración total de ligante y zinc ($[L] = [Zn]$) y los valores se muestran en la tabla 6.3.36.

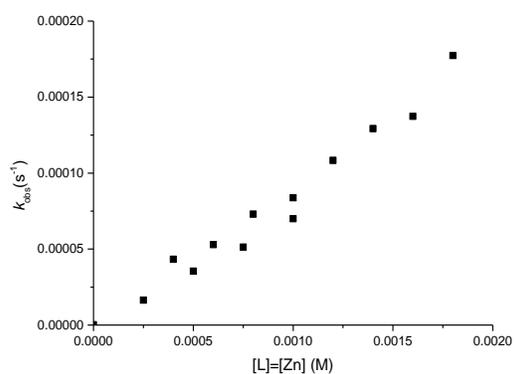
Tabla 6.3.36 Constantes de primer orden de la hidrolisis de NFA en presencia del ligante SalAmOx y un equivalente de Zn(II)

pH 6.01					
[L]=[Zn] mM	$k_{obs} \times 10^5$ (s ⁻¹)	[L]=[Zn] (mM)	$k_{obs} \times 10^5$ (s ⁻¹)	[L]=[Zn] (mM)	$k_{obs} \times 10^5$ (s ⁻¹)
0.00	0.02	0.75	5.13	1.20	10.83
0.25	1.64	0.80	7.30	1.40	12.92
0.40	4.32	1.00	6.99	1.60	13.74
0.50	3.55	1.00	8.38	1.80	17.74
0.60	5.29				

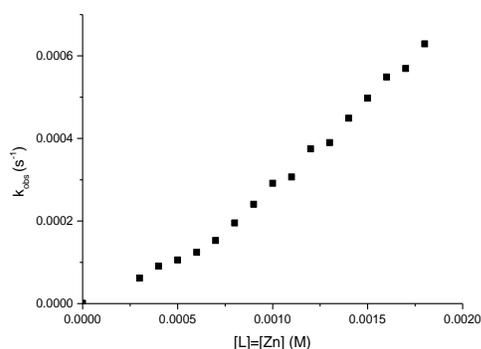
pH 6.60					
[L]=[Zn] mM	$k_{obs} \times 10^4$ (s ⁻¹)	[L]=[Zn] (mM)	$k_{obs} \times 10^4$ (s ⁻¹)	[L]=[Zn] (mM)	$k_{obs} \times 10^4$ (s ⁻¹)
0.30	0.62	0.90	2.41	1.40	4.49
0.40	0.91	1.00	2.91	1.50	4.98
0.50	1.06	1.10	3.07	1.60	5.49
0.60	1.24	1.20	3.75	1.70	5.69
0.70	1.53	1.30	3.90	1.80	6.29
0.80	1.95				

Continuación tabla 6.3.36.

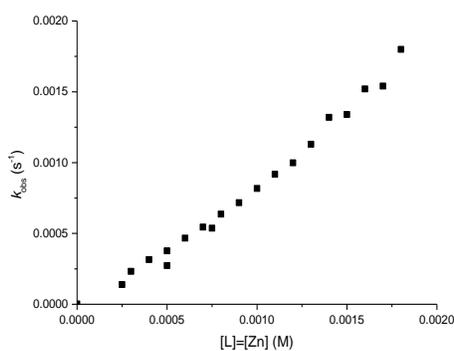
pH 7.05					
[L]=[Zn]	$k_{\text{obs}} \times 10^3$	[L]=[Zn]	$k_{\text{obs}} \times 10^3$	[L]=[Zn]	$k_{\text{obs}} \times 10^3$
mM	(s^{-1})	(mM)	(s^{-1})	(mM)	(s^{-1})
0.00	0.002	0.70	0.54	1.30	1.13
0.25	0.14	0.75	0.54	1.40	1.32
0.30	0.23	0.80	0.64	1.50	1.34
0.40	0.32	0.90	0.72	1.60	1.52
0.50	0.27	1.00	0.82	1.70	1.54
0.50	0.38	1.10	0.92	1.80	1.80
0.60	0.47	1.20	1.00		



A



B



C

Figura 6.3.32. Constantes observadas de primer orden en función de la concentración total de ligante y zinc $[L]=[Zn]$. A 25°C en MOPS 50 mM a 25°C, 1% MeCN a diferentes valores de pH A) pH=6.01 B) pH=6.60 C) pH=7.05.

En los valores de pH utilizados se observa que la reactividad aumenta al incrementar la concentración metal ligante 1:1. Las constantes observadas corresponden a la suma de las constantes de segundo orden de las especies que presenten reactividad multiplicadas por su concentración de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$k_{obs} = k_{LH}[LH] + k_{ZnL}[ZnL] + k_{OH}[OH]$$

Por lo tanto, las constantes se corrigieron por hidrólisis alcalina, además por la contribución del ligante ya que en estos valores de pH esta contribución no es despreciable, se calculó la concentración de cada especie y la concentración de la especie LH se multiplicó por su constante de segundo orden determinada previamente ($34.2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) para restar este valor junto con la contribución de la hidrólisis alcalina y tener solo la constante que corresponde al complejo con Zn(II) (k' , s^{-1})

Los valores de las constantes corregidas k' se graficaron en función de la concentración de la especie $[ZnL]^+$ (Figura 6.3.33) y estos valores se muestran en la tabla 6.3.37.

Tabla 6.3.37. Concentración de las especies LH y $[ZnL]^+$ para las diferentes concentraciones utilizadas a los valores de pH y constantes de primer orden para la hidrólisis de NFA corregidas por la contribución del ligante y del medio (k' , s^{-1}) en agua a 25°C (MOPS, 1% MeCN)

pH 6.01							
[L]=[Zn] $\times 10^4$ (M)	[LH] $\times 10^7$ (M)	$[ZnL]^+$ $\times 10^7$ (M)	k' $\times 10^5$ (s^{-1})	[L]=[Zn] $\times 10^3$ (M)	[LH] $\times 10^6$ (M)	$[ZnL]^+$ $\times 10^7$ (M)	k' $\times 10^5$ (s^{-1})
2.50	3.05	0.19	0.57	1.00	1.22	3.07	2.77
4.00	4.88	0.49	2.63	1.00	1.22	3.07	4.16
5.00	6.11	0.77	1.43	1.20	1.47	4.41	5.77
6.00	7.33	1.10	2.75	1.40	1.71	6.01	7.03
7.50	9.16	1.73	1.96	1.60	1.95	7.85	7.00
8.00	9.77	1.96	3.92	1.80	2.20	9.93	10.16

Continuación tabla 6.3.379

pH 6.60							
[L]=[Zn]	[LH]	[ZnL] ⁺	<i>k'</i>	[L]=[Zn]	[LH]	[ZnL] ⁺	<i>k'</i>
×10 ⁴ (M)	×10 ⁶ (M)	×10 ⁶ (M)	×10 ⁵ (s ⁻¹)	×10 ³ (M)	×10 ⁶ (M)	×10 ⁶ (M)	×10 ⁴ (s ⁻¹)
3.00	1.47	0.43	0.79	1.10	5.38	5.76	1.12
4.00	1.96	0.77	1.93	1.20	5.87	6.84	1.63
5.00	2.45	1.20	1.66	1.30	6.36	8.02	1.60
6.00	2.94	1.72	1.74	1.40	6.84	9.30	2.02
7.00	3.43	2.34	2.85	1.50	7.33	10.66	2.33
8.00	3.92	3.05	5.34	1.60	7.81	12.12	2.67
9.00	4.41	3.86	8.12	1.70	8.30	13.67	2.70
10.00	4.90	4.76	11.43	1.80	8.78	15.31	3.12
pH 7.05							
[L]=[Zn]	[LH]	[ZnL] ⁺	<i>k'</i>	[L]=[Zn]	[LH]	[ZnL] ⁺	<i>k'</i>
×10 ⁴ (M)	×10 ⁶ (M)	×10 ⁶ (M)	×10 ⁵ (s ⁻¹)	×10 ³ (M)	×10 ⁶ (M)	×10 ⁶ (M)	×10 ⁴ (s ⁻¹)
0.75	0.89	1.56	2.32	1.30	1.72	5.88	5.40
0.80	1.08	2.31	2.66	1.40	1.85	6.78	6.86
0.90	1.21	2.90	3.02	1.50	1.97	7.73	6.63
1.00	1.34	3.55	3.58	1.60	2.10	8.74	8.01
1.10	1.47	4.27	4.15	1.70	2.22	9.80	7.78
1.20	1.59	5.05	4.52	1.80	2.34	10.92	9.96

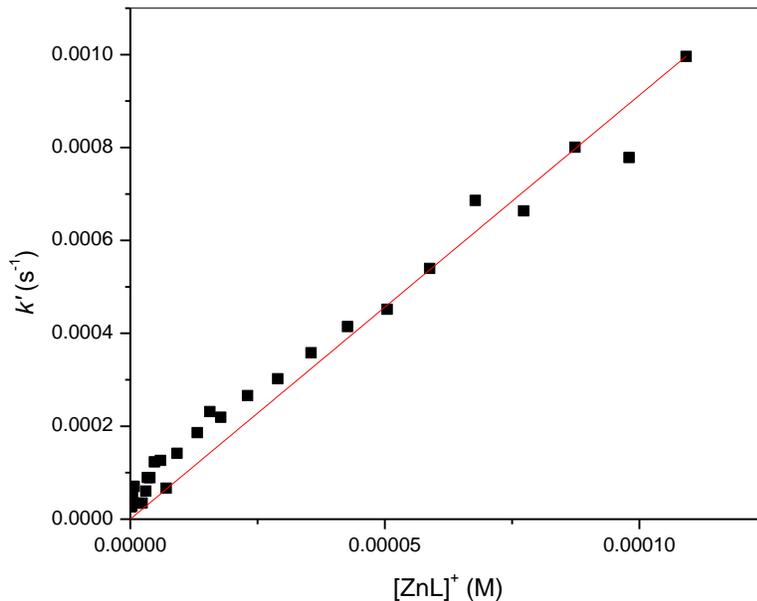


Figura 6.3.33. Correlación de las constantes observadas corregidas por la contribución del ligante y del medio (k' , s^{-1}) en función de la concentración de la especie $[ZnL]^+$ para la hidrólisis de NFA.

Como puede observarse en la figura 6.3.33 se muestra una tendencia lineal en la que la pendiente es la constante de segundo orden para la hidrólisis de NFA por el complejo $[ZnL]^+$ y tiene un valor de $k_{[ZnL]^+} = 9.1 \pm 0.2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$.

En el caso de paratión se siguió la misma metodología para calcular la constante de segundo orden del complejo $[ZnL]^+$, los valores de las constantes corregidas k' se graficaron en función de la concentración de la especie $[ZnL]^+$ (Figura 6.3.34) y estos valores se muestran en la tabla 6.3.38.

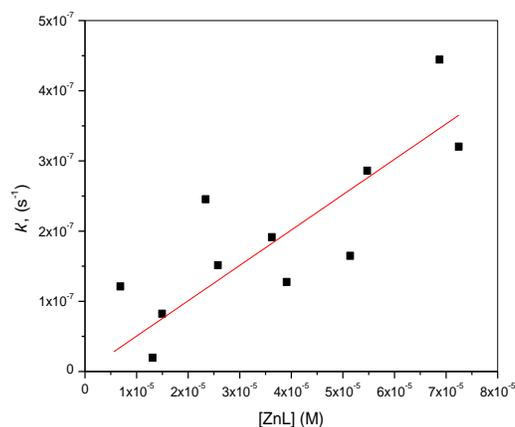


Figura 6.3.34. Correlación de las constantes observadas corregidas por la contribución del ligante y del medio (k' , s^{-1}) en función de la concentración de la especie $[ZnL]^+$ para la hidrólisis de paratión.

Como se puede apreciar en la figura 6.3.34 existe una tendencia lineal de la constante corregida en función de la concentración de la especie, en la que la pendiente es la constante de segundo orden para la hidrólisis de paratión por el complejo ZnL y tiene un valor de $k_{ZnL} = 0.0050 \pm 0.0005 M^{-1}s^{-1}$.

Tabla 6.3.38. Concentración de las especies LH y $[ZnL]^+$ para las diferentes concentraciones utilizadas a pH 7.40 y constantes de primer orden para la hidrólisis de paratión corregidas por la contribución del ligante y del medio (k' , s^{-1}) en agua a 25°C (MOPS, 1% MeCN)

pH 7.40							
[L]=[Zn]	[LH]	[ZnL] ⁺	k'	[L]=[Zn]	[LH]	[ZnL] ⁺	k'
×10 ⁴ (M)	×10 ⁶ (M)	×10 ⁶ (M)	×10 ⁸ (s ⁻¹)	×10 ⁴ (M)	×10 ⁵ (M)	×10 ⁵ (M)	×10 ⁷ (s ⁻¹)
2.00	5.91	6.86	12.12	5.00	1.41	3.91	1.28
2.80	8.16	13.11	1.97	5.80	1.62	5.14	1.65
3.00	8.72	14.95	8.23	6.00	1.67	5.47	2.86
3.80	10.91	23.40	24.54	6.80	1.87	6.87	4.44
4.00	11.45	25.77	15.15	7.00	1.92	7.25	3.20
4.80	13.57	36.23	19.14				

Frente a paraoxón no se observó reactividad en las condiciones utilizadas

Otros metales

Se estudió la reactividad del ligante SalAmOx hacia NFA en presencia de otros cationes metálicos divalentes de transición a un pH y concentración de ligante fijos y se analizó el efecto sobre la reactividad al variar la concentración de los cationes metálicos. Los gráficos de la constante observada en función de la concentración de metal se muestran en la figura 6.3.35.

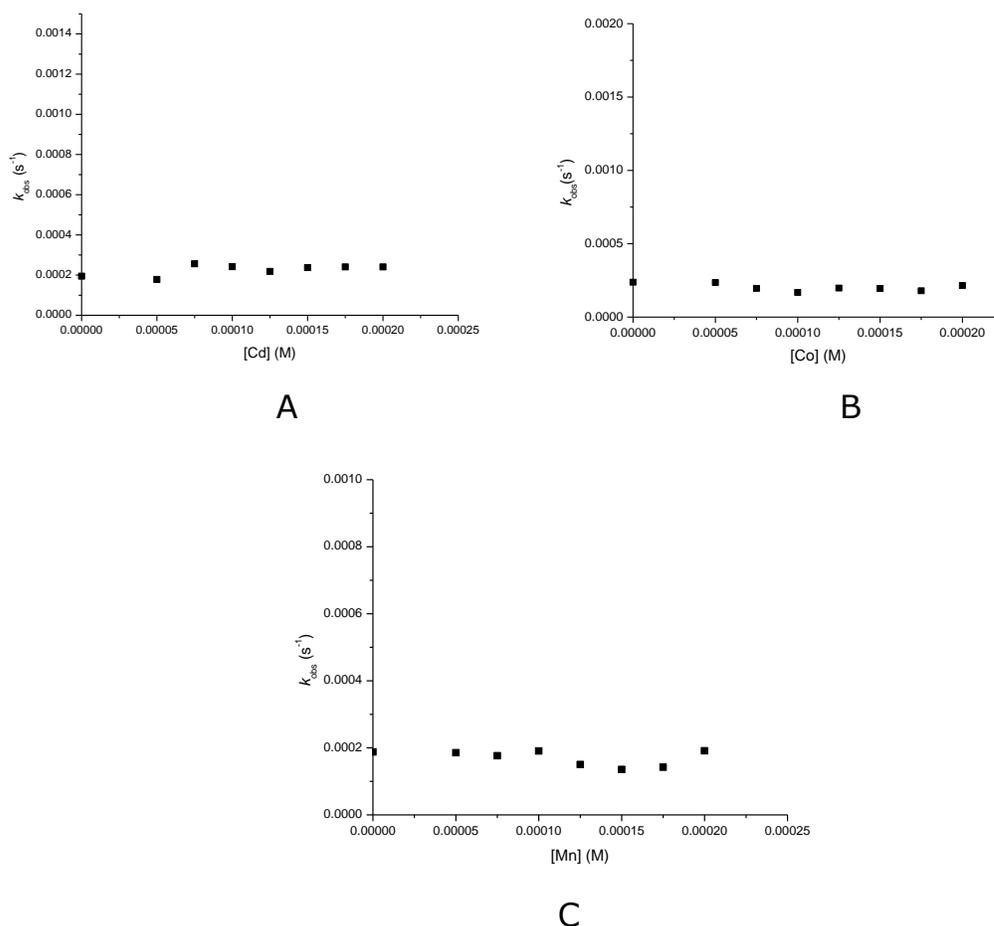


Figura 6.3.35 Constantes observadas de primer orden para la hidrólisis de NFA 0.05 mM por el ligante SalAmOx 0.2 mM en función de la concentración variable de cationes metálicos A) Cd(II) B) Co(II) C) Mn(II) a pH 7.49 (MOPS 50 mM), 25°C

En ninguno de los casos se observó un aumento significativo en la velocidad de la reacción por lo que no se realizaron más estudios con estos cationes. También se probó Cu(II) y Ni(II) pero estos formaron complejos insolubles.

6.4 Análisis global de resultados

En la tabla 6.4.1 se resumen los valores de pK_a y la constante de segundo orden hacia la hidrólisis de NFA de todas las especies estudiadas y en la figura 6.4.1 se muestra el gráfico de Brønsted de las oximas de la tabla 2.2 y se incluyen las especies estudiadas en este trabajo.

Tabla 6.4.1 Valores de pK_a y constantes de segundo orden de las especies estudiadas hacia NFA a 25°C.

Especie	pK_a	k ($M^{-1}s^{-1}$)
BenzAmOx ⁻	12.44	10.1
PyAmOx ⁻	12.18	57
SalAmOxH	8.90	34.2
SalAmOx ⁻	12.44	n.d
[ZnPyAmOxOH]	8.50	47
[CdPyAmOx] ⁺	9.13	700
[NiPyAmOx(OH) ₂] ⁻	8.57	30
[ZnSalAmOx] ⁺	n.d	9.1

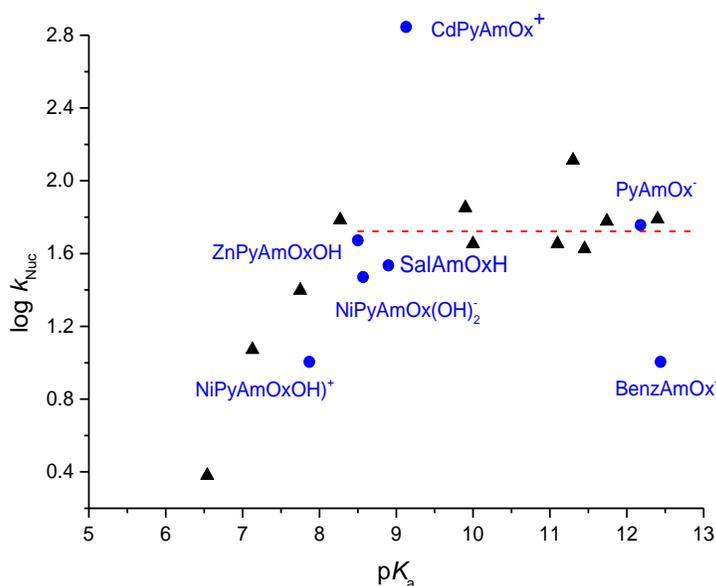


Figura 6.4.1. Gráfico de Brønsted de las oximas de la tabla 2.2 (triángulos) y las especies estudiadas en el presente trabajo (círculos).

Como puede observarse la mayoría de los valores obtenidos siguen la tendencia de las oximas y las especies más básicas se encuentran en la zona de nivelación de la reactividad.

En el caso del ligante BenzAmOx, la presencia de cationes metálicos mantuvo constante la velocidad de reacción o la disminuyó ya que la única forma en la que se puede coordinar el ligante es a través del oxígeno y el nitrógeno de la oxima y es razonable que la reactividad de los complejos disminuya. Además, es posible que no se formaran especies estables termodinámicamente por lo que no se observó ningún efecto sobre la reactividad del ligante. Sin embargo, este resultado es relevante ya que el sitio de coordinación es diferente y esto ayuda a explicar la reactividad de los otros ligantes

Respecto al ligante PyAmOx, es importante que cuando este se coordina con zinc o níquel disminuye su pK_a sin que la reactividad se pierda, lo que permite tener reactividad en valores de pH entre neutros y ligeramente básicos; con Cd(II) además de disminuirse el pK_a , se observa un aumento considerable en la reactividad ya que ésta no se encuentra en la zona nivelación, lo que puede atribuirse, como se presentó en la sección 2, a efectos en la solvatación del nucleófilo y la reactividad de esta especie es 12 veces mayor que la del amidoximato libre, por lo que se puede notar que el papel del catión metálico es muy importante ya que se tienen diferentes efectos al variarlos.

Es importante mencionar que con el ligante SalAmOx no se observa un aumento de la reactividad al coordinarse con Cd(II), Co(II) o Mn(II), y en el caso de Zn(II) aunque si existe un complejo que presenta reactividad, su constante de segundo orden es menor incluso que la del ligante protonado. Esto puede deberse, en el caso de cadmio, cobalto y manganeso, a que la fracción de complejo que se forma es pequeña o

que no se estudiaron en las condiciones óptimas y en el caso Zn puede haber un aumento significativo en la acidez del ligante por coordinación lo que hace que deje de ser un buen nucleófilo.

Otro aspecto relevante es que al estudiar la reactividad hacia los ésteres fosfato, que son menos susceptibles a la hidrólisis alcalina, se obtuvieron efectos catalíticos más grandes que con el éster carboxílico. En la tabla 6.4.2 se resumen las constantes de segundo orden para la hidrólisis de paraoxón y paratión por las diferentes especies estudiadas, así como el valor de la relación k_{ML}/k_L que representa el efecto catalítico respecto al ligante libre.

Tabla 6.4.2. Constantes de segundo orden para la hidrólisis de paraoxón y paratión por las especies estudiadas.

Especie	Paraoxón		Paratión	
	k ($M^{-1}s^{-1}$)	k_{ML}/k_L	k ($M^{-1}s^{-1}$)	k_{ML}/k_L
OH^-	8×10^{-3}		2.5×10^{-4}	
BenzAmOx $^-$	1.1×10^{-3}		1.9×10^{-4}	
PyAmOx $^-$	1.71×10^{-3}		3.3×10^{-4}	
SalAmOxH	0.021		0.032	
SalAmOx $^-$	0.24		0.0167	
[ZnPyAmOxOH]	8.0×10^{-3}	4.7	1.8×10^{-3}	5.5
[CdPyAmOx] $^+$	0.071	41.52	0.100	303
[ZnSalAmOx] $^+$			5.0×10^{-3}	0.3

Lo que se puede notar es que en el caso del ligante PyAmOx, cuando está libre, su reactividad hacia estos sustratos es incluso menor que la hidrólisis alcalina sin embargo en presencia de Zn(II) la reactividad de este incrementa en aproximadamente 5 veces en ambos sustratos, también es interesante notar que con Cd(II) además de tener un efecto catalítico mucho más grande que con Zn(II), éste es diferente en cada

sustrato, y es mayor para paratión, esto le da al sistema una especificidad hacia los sustratos y nos indica el catión metálico tiene un papel muy importante en el mecanismo. En este caso, Cd(II) es más blando que Zn(II) en términos de ácidos duros y blandos de Pearson, y el azufre del paratión es un sitio más blando que el de paraoxón, por lo tanto la diferencia en reactividad nos lleva a pensar que en el caso de los ésteres fosfato, a diferencia de los ésteres derivados de ácidos carboxílicos, existe una interacción directa entre el sustrato y el catión metálico.

Adicionalmente en el caso del ligante SalAmOx, se observa que éste por si solo presenta una reactividad significativamente alta y que al igual que con NFA, la reactividad de la especie con Zn(II) es menor que el amidoximato libre, siendo apenas un 30% de ésta.

Por lo tanto, aunque se utilizaron ligantes con estructuras similares y además con un valor de pK_a para los amidoximatos correspondientes muy cercano, se observan tendencias diferentes en la reactividad al variar cationes metálicos y sustratos.

7. Conclusiones

- Los ligantes estudiados son muy básicos y se comportan como alfa nucleófilos hacia la hidrólisis del éster carboxílico 4-nitrofenilacetato y su reactividad se encuentra en la zona de nivelación.
- El ligante BenzAmOx en presencia de cationes metálicos no muestra un incremento en su reactividad a valores de pH menores hacia ninguno de los sustratos.
- En presencia de Zn(II) y Ni(II) el pK_a del ligante PyAmOx disminuye sin que la reactividad hacia NFA se pierda, permitiendo tener una reactividad alta a valores de pH 7, a 25°C en agua, por lo que puede

decirse que este ligante si se activa biomiméticamente por coordinación.

- El complejo $[\text{CdPyAmOx}]^+$ además de disminuir el $\text{p}K_a$ del ligante presenta una reactividad alrededor de 12 veces mayor hacia NFA que la del amidoximato libre, que puede atribuirse a efectos en la solvatación del nucleófilo.
- Al estudiar ésteres fosfato, el complejo $[\text{ZnPyAmOxOH}]$ es aproximadamente 5 veces más reactivo que el amidoximato libre hacia los dos sustratos, mientras que con cadmio se tiene un incremento mayor en el efecto catalítico siendo de 40 y 300 veces para paraoxón y paratión respectivamente.
- El efecto catalítico para los complejos de Cd(II) y Zn(II) con el ligante PyAmOx es mayor para los ésteres fosfato que para el éster carboxílico, aunque este último sea más susceptible a la hidrólisis alcalina.
- El ligante SalAmOx en presencia de cationes metálicos como Cu(II) y Ni(II) forma complejos insolubles, y solo se observó reactividad en presencia de Zn(II) , sin embargo, ésta es menor que la del amidoximato e incluso menor que la del ligante protonado.
- Se observó que los factores más importantes que afectan la reactividad del nucleófilo son la estructura del ligante, su capacidad para formar complejos estables y el catión metálico que se emplee.

8. Bibliografía

- [1] L. Banci and I. Bertini, "The enzymatic mechanism of carboxypeptidase: a molecular dynamics study.," *Proteins*, vol. 18, no. 2, pp. 186-197, 1994.
- [2] J. Chin, "Developing artificial hydrolytic metalloenzymes by a unified mechanistic approach," *Accounts of Chemical Research*, vol. 24, pp. 145, 1991.
- [3] D. Xu, H. Guo, "Quantum mechanical/molecular mechanical and density functional theory studies of a prototypical zinc peptidase (carboxypeptidase A) suggest a general acid-general base mechanism," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 131, no. 28, pp. 9780-9788, 2009.
- [4] R. Breslow, "CENTENARY LECTURE, Bioinorganic Chemistry", *Chemical Society Reviews.*, vol. 1, pp. 553-580, 1972.
- [5] E. Y. Tirel, N. H. Williams, "Enhancing phosphate diester cleavage by a zinc complex through controlling nucleophile coordination," *Chemistry*, vol. 21, no. 19, pp. 7053-7056, 2015.
- [6] G. A. Pearse, R. T. Pflaum, "Interaction of Metal Ions with Amidoximes," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 81, no. 24, pp. 6505-6508, 1959.
- [7] H. A. Goodwin, F. E. Smith, "Metal complexes of 1,10-phenanthroline2-amidoxime," *Australian Journal of Chemistry*, vol. 23, pp. 1545-1552, 1970.
- [8] D. S. Bolotin, N. A. Bokach, V. Yu, "Coordination chemistry and metal-involving reactions of amidoximes: Relevance to the chemistry of oximes and oxime ligands," *Coordination Chemistry Reviews*, no. 313, pp. 63-93, 2016.
- [9] Junghun Suh, Minsek Cheong, M., Hyunsoo Han, "Multifunctional Catalysis by Metal Complexes, Ester Hydrolysis Catalyzed by Oximinatozinc(II) Ions", *Bioorganic Chemistry*, vol. 12, pp. 188-196, 1984.
- [10] Emad A.S. Al-Hyali, Nezar A. Al-Azzaw, Faiz M.H. Al-Abady, "Statistical Study For The Prediction Of pK_a Values Of Substituted Benzaldoxime Based On Quantum Chemicals Methods", *Journal of the Korean Chemical Society*, vol. 55, no. 5, pp. 733-740, 2011.

- [11] Nada Mehio, Mark A. Lashely, Joseph W. Nugent, Lyndsay Tucker, Bruna Correia, Chi-Linh Do-Thanh, Sheng Dai, Robert D. Hancock, Vyacheslav S. Bryantsev, "Acidity of the Amidoxime Functional Group in Aqueous Solution: A Combined Experimental and Computational Study", *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 119, pp. 3567-3576, 2015.
- [12] John Edwards, Ralph Pearson, "The Factors Determining Nucleophilic Reactivities", *Journal of the American Chemical Society*, vol. 84, pp. 16-24, 1962.
- [13] Grekov A. P, Veselov, V. Y., "The α -Effect in the chemistry of organic compounds", *Russian Chemical Reviews*, vol. 47, pp. 631-638, 1978.
- [14] Ik-Hwan Um, So-Jeong Hwang, Erwin Buncl, "Solvent Effect on the ρ -Effect: Ground-State versus Transition-State Effects; a Combined Calorimetric and Kinetic Investigation", *Journal of Organic Chemistry*, vol. 71, pp. 915-920, 2006.
- [15] P. Gomez-Tagle, J. C. Lugo-Gonzalez and A. K. Yatsimirsky, "Oximate metal complexes breaking the limiting esterolytic reactivity of oximate anions.," *Chemical Communications*, vol. 49, no. 70, pp. 7717-7719, 2013.
- [16] Degorre, F, Kiffer, D., Terrier, F., "Sulfur Derivatives of 2-oxapropional Oxime as Reactivators of Organophosphate-Inhibited Acetylcholinesterase in Vitro: Synthesis and Structure-Reactivity Relationships", *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 31, pp. 757-760, 1998.
- [17] Mancin, F., Tecilla, P., Tonellato, U., "Activation of Oximic Nucleophiles by Coordination of Transition Metal Ions", *European Journal of Organic Chemistry*, pp.1045-1048, 2000
- [18] Terrier, F, MacCormack, P., Kizilian, E., Halle, J., Demerseman, P., Guir, F., Lion, C., "Non-Linear Bronsted Correlations: Evidence for a Levelling Off in the Reactivity of Oximate Ions in Aqueous Solution", *Journal of Chemical Society Perkin Trans*, vol. 2, no. 1, pp. 153-157, 1991.
- [19] A. K. Yatsimirsky, P. Gómez-Tagle, S. Escalante-Tovar and L. Ruiz-Ramírez, "Kinetics and mechanism of ester hydrolysis by metal complexes of 2,6-diacetylpyridine dioxime," *Inorganica Chimica Acta*, vol. 273, pp. 167-174, 1998.

- [20] Yatsimirsky, A.K., Kazankov, G.M., Ryabov, A. D., "Ester Hydrolysis Catalized by Ortho-Palladated Aryl Oximes", *Journal of Chemical Society Perkin Trans*, vol. 2, pp. 1295-1298, 1992.
- [21] Jencks, W.P., Carriulo, "Reactivity of nucleophilic reagent toward esters", *Journal of the American Chemical Society*, vol. 82, pp. 1778-1785, 1960.
- [22] Um, I.-W., Lee, E. J., Buncl, E. "Solvent Effect on the α Effect for the Reactions of Aryl Acetates with Butane-2,3-dione Monoximate and p-Chlorophenoxide in MeCN-H₂O Mixtures", *Journal of Organic Chemistry*, vol. 66, pp. 4859-4864, 2001.
- [23] Terrier, F.; Le Guével, E.; Chatrousse, P.; Moutiers, G.; Buncl, E., "The levelling effect of solvational imbalances in the reactions of oximate α -nucleophiles with electrophilic phosphorus centers. Relevance to detoxification of organophosphorus esters", *Chemical Communications*, vol. 14, pp. 600-601, 2003.
- [24] R. Breslow, D. Chipman., "Mixed metal complexes as enzyme models. I. Intracomplex nucleophilic catalysis by an oxime anion", *Journal of the American Chemical Society*, vol. 87, pp. 4195-4196, 1965.
- [25] Suh., J., "Model studies of metalloenzymes involving metal ions as Lewis acid catalysts", *Accounts of Chemical Research.*, vol. 25, pp. 272-279, 1992.
- [26] J. Suh, M. Cheong, M. P. Suh., "Cupric ion catalyzed ester hydrolysis of O-acetyl-2-pyridinecarboxaldoxime. Nucleophilic attack by metal-bound water", *Journal of the American Chemical Society*, vol. 104, pp. 1654-1657, 1982.
- [27] Suh, J., Zinc, H. Han., "Zinc ion-catalyzed ester hydrolysis of O-acetyl-2-acetylpyridineketoxime: bimolecular participation of hydroxozinc(II) ion.", *Bioorganic Chemistry*, vol. 12, pp. 177-187, 1984.
- [28] Breslow, R., Chipman, D., "Mixed Metal Complexes as Enzyme Models. I. Intracomplex Nucleophilic Catalysis by an Oxime Anion", *Journal of the American Chemical Society*, vol. 87, pp. 4195-4200, 1965.
- [29] Dixon, J. E., Bruice, T. C, "Alpha. Effect. V. Kinetic and thermodynamic nature of the alpha effect for amine nucleophiles",

Journal of the American Chemical Society, vol. 94, pp. 2052-2056, 1972.

- [30] Aubort, J. D, Hudson, R. F., "Intramolecular Catalysis in the Acylation of Amidoximes", *Chemical Communications*, vol. 22, pp. 1342-1343, 1996.
- [31] Prokop'eva, T. M., Simanenکو, Yu.S., Karpichev, E.A., Savelova, V. A., Popov A.F., "O-Nucleophilic Features of Amidoximes In Acyl Group Transfer Reactions", *Russian Journal of Organic Chemistry*, vol. 40, no. 11, pp. 1617-1629, 2004.
- [32] Simanenکو, Yu. S., Prokop'eva, T. M., Belousova, I. A., Popov A. F. Karpichev, E.A., "Amidoximes as Effective Acceptors of Acyl Group", *Theoretical and Experimental Chemistry*, vol. 37, no. 5, pp. 288-295, 2001.
- [33] Johansson, A.; Johansson, S., "Automatic Titration by Stepwise Addition of equal Volumes of Titrant", *The analyst*, vol. 103, pp. 305-309, 1978.
- [34] Pearse, G, "The Synthesis and Infrared Spectra of Isomeric Pyridine Monoamidoximes and some derivatives", *Acta Chemica Scandinavica*, vol. B, no. 33, pp. 742-746, 1979.
- [35] Smith, R. M., Martell, A. E. Critical Stability Constants, *Plenum, Press: New York*, Vol. 6, p. 9, 1989
- [36] S. Markku, "Formation of zinc(II) and cadmium(II) complexes with pyridine-2-carboxamidoxime and pyridine-2-acetamidoxime in aqueous solution", *Journal of Coordination Chemistry*, vol. 63, no. 17, pp. 3127-3136, 2010.
- [37] Valerio B. Di Marco, G. Giorgio Bombi, "Electrospray mass spectrometry (ESI-MS) in the study of metal-ligand solution equilibria", *Mass Spectrometry Reviews*, vol. 25, pp. 347-379, 2006.
- [38] Bassam 2. Shakhashiri, Glen E. Dirreen, Fred Juergens, "Color, Solubility and Complex Ion Equilibria of Nickel (II) Species in Aqueous Solution", *Journal of Chemical Education*, vol. 57, no. 12, pp. 900-901, 1980.
- [39] W. Manch, W. Conard Fernelius, "The Structure and Spectra of Nickel(II) and Copper(II) Complexes", *Journal of Chemical Education*, vol. 38, no. 4, pp. 192-201, 1961.

- [40] Carlos A. L. Filgueiras, Fernando Carazza, "Electronic Transitions as a Probe of Tetrahedral Versus Octahedral Coordination in Nickel(II) Complexes", *Journal of Chemical Education*, vol. 57, no 11, pp. 826-827, 1980.
- [41] A) Hupe, D. J., Jenks, W.P. "Nonlinear structure-reactivity correlations. Acyl transfer between sulfur and oxygen nucleophiles", *Journal of the American Chemical Society*, vol. 99, pp. 451-464, 1977. B) Jenks, W.P., Carriuolo, "Reactivity of Nucleophilic Reagents toward Esters", *Journal of the American Chemical Society*, vol. 82, pp. 1778-1786, 1960.
- [42] Schneider, H. J., Yatsimirsky, A. K. in A. Sigel, H. Aigel (Eds), *Metal ions in Biological Systems*, vol. 40, M. Dekker, Inc., New York/Basel, pp. 369-462, 2003.
- [43] Chin, J., Banaszczyk, M., Jubian, V., Zou, X., "Cobalt(III) complex-promoted hydrolysis of phosphate diesters: comparison in reactivity of rigid cis-diaquo(tetraaza)cobalt(III) complexes", *Journal of the American Chemical Society*, vol. 11, pp. 186-190, 1989.

Apéndice

Determinación de k_{obs} a partir de método integral

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

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

En la que 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 su 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:

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

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

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

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

Y se tiene el balance de masas siguiente para NFA:

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

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

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

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

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

Si ahora se considera la ley de Lambert-Beer que 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 NF^- se monitoreó a una longitud de onda de 400 nm, la absorbancia de la especie en función de la concentración se puede expresar como:

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

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

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

Además, a un tiempo infinito, habrá una conversión completa del NFA 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 NFA para tiempos cortos, tiene la siguiente forma:

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

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

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

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

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

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:

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

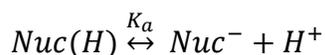
Y al sustituir v_o en la ecuación (16) se obtiene:

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

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

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

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

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):

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

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

$$\begin{aligned} Abs &= \varepsilon_1[Nuc(H)]_o + (\varepsilon_2 - \varepsilon_1) \left(\frac{[H^+]}{K_a} \right) \frac{[Nuc(H)]_o}{\left(\frac{[H^+]}{K_a} + 1 \right)} \\ Abs &= \frac{\varepsilon_1[Nuc(H)]_o \left(\frac{[H^+]}{K_a} + 1 \right) + (\varepsilon_2 - \varepsilon_1) \left(\frac{[H^+][Nuc(H)]_o}{K_a} \right)}{\frac{[H^+]}{K_a} + 1} \\ Abs &= \frac{\varepsilon_1[Nuc(H)]_o + \varepsilon_2[Nuc(H)]_o \left(\frac{[H^+]}{K_a} \right)}{\frac{[H^+]}{K_a} + 1} \end{aligned} \quad (26)$$

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

$$Abs = \frac{(k_{Nuc} + k_0)10^{pK_a - pH}}{1 + 10^{pK_a - pH}} \quad (27)$$