

UCH-FC
DOC-Q
L 825
C1

" COMPLEJOS DE VALENCIA MIXTA
COMO MODELOS INORGANICOS PARA
PROTEINAS DE COBRE "

Tesis

Entregada a la

Universidad de Chile

en cumplimiento parcial de los requisitos

para optar al grado de

Doctor en Ciencias con Mención en Química

Facultad de Ciencias

por

Barbara Loeb Lüscho

Patrocinante: Doctor Carlos Andrade Plaza



FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE

INFORME DE APROBACION
TESIS DE DOCTORADO

Se informa a la comisión de Post grado de la
Facultad de Ciencias, que la tesis de
Doctorado presentada por la candidato

Bárbara Loeb Lüscho

ha sido aprobada por la comisión informante
de tesis como requisito para optar al grado
de Doctor en Ciencias con mención en Química.

Director de tesis:

Dr. Carlos Andrade Plaza

Comisión Informante de tesis:

Guillermo González

Mario Bodini

Juan Manuel Manríquez

Raúl Morales

(Pdte. Comité Post Grado)

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]



- *A mi padre, que infundió en mi las ansias de saber.*
- *A todos los que me entregaron parte de su tiempo permitiendo así el desarrollo de este trabajo, muy en especial, a mi madre.*
- *A Eduardo, Michael y Maureen, por su comprensión y cariño.*



A G R A D E C I M I E N T O S

Mis más sinceros agradecimientos al Doctor Carlos Andrade, quien con su claro sentido de lo que es ser académico, no sólo me dirigió en esta tesis, sino contribuyó enormemente a mi desarrollo y formación profesional.

Quisiera agradecer en forma muy especial a la Doctora Irma Crivelli, por su desinteresada entrega de conocimientos y su apoyo constante en lo personal y en lo profesional.

Mis agradecimientos al Profesor Javier Jorquera y a todo el grupo de Biofísicoquímica Inorgánica de la Facultad de Ciencias, quienes con su compañerismo me impulsaron siempre a seguir adelante.

Mi reconocimiento va también a todas las personas que con su disposición me ayudaron en la aplicación de una técnica específica ó en la discusión de un punto particular de este trabajo.

Por último, mis agradecimientos a la Facultad de Química de la Universidad Católica, por la liberación de parte de mi jornada de trabajo, lo que permitió el desarrollo de esta tesis.

INDICE DE MATERIA

Página

LISTADO DE FIGURAS

LISTADO DE TABLAS

RESUMEN

ABSTRACT

1.-	INTRODUCCION.....	1
1.1.-	CARACTERISTICAS DE LAS PROTEINAS DE COBRE.....	1
1.2.-	ROL DEL COBRE EN METALOPROTEINAS.....	3
1.3.-	MODELOS INORGANICOS PARA PROTEINAS DE COBRE.....	8
1.4.-	CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS DEL CENTRO DE COBRE TIPO III.....	14
1.5.-	MODELOS INORGANICOS PARA CENTRO TIPO III DE COBRE.....	15
2.-	FUNDAMENTOS DEL PROBLEMA EN ESTUDIO.....	21
2.1.-	TIPOS DE LIGANTES ESCOGIDOS.....	21
2.2.-	COMPUESTOS DE VALENCIA MIXTA.....	25
2.3.-	ESTUDIO ELECTROQUIMICO.....	41
2.4.-	COMPORTAMIENTO FRENTE A OXIGENO.....	49

INDICE DE MATERIA

	Página
3.- M A T E R I A L E S Y M E T O D O S E X - P E R I M E N T A L E S.....	50
3.1.- REACTIVOS.....	50
3.2.- SOLVENTES.....	50
3.2.1.- Purificación y secado de THF....	50
3.2.2.- Secado de Metanol.....	51
3.3.- GASES.....	51
3.4.- COMPUESTOS SINTETIZADOS.....	52
3.4.1.- Perclorato de cobre, hexaaquo...	52
3.4.2.- Tetrafluoroborato de Potasio....	52
3.4.3.- Tetrafluoroborato de Amonio.....	53
3.5.- TECNICAS DE CARACTERIZACION.....	53
3.5.1.- Determinación del % de cobre.....	53
3.5.2.- Análisis elemental.....	54
3.5.3.- Determinación de Peso molecular..	54
3.5.4.- Caracterización analítica de la especie Cu-MMIm.....	55
3.5.5.- Espectroscopía de absorción elec- trónica.....	55

INDICE DE MATERIA

	Página
3.5.6.- Espectroscopía Infrarroja.....	56
3.5.7.- Susceptibilidad Magnética.....	56
3.5.8.- Resonancia Paramagnética Electrónica.....	56
3.5.9.- Mediciones con Rayos X.....	56
3.5.10. Espectroscopía de Emisión.....	57
3.6.- MEDICIONES DE REACTIVIDAD.....	57
3.6.1.- Mediciones con sensor de oxígeno..	57
3.6.2.- Mediciones electroquímicas.....	59
4.- RESULTADOS.....	63
4.1.- LIGANTE MBTH.....	63
4.1.1.- Síntesis de los complejos.....	63
4.1.2.- Caracterización y reactividad de los complejos.....	70
4.1.3.- Análisis de los resultados de caracterización y reactividad.....	77
4.2.- LIGANTE MEA.....	84
4.2.1.- Síntesis de los complejos.....	84

INDICE DE MATERIA

	Página
4.2.2.- Caracterización y reactividad de los complejos.....	87
4.2.3.- Análisis de los resultados de caracterización y reactividad...	167
4.3.- LIGANTE MMIm.....	119
4.3.1.- Síntesis del complejo.....	119
4.3.2.- Caracterización y reactividad del complejo.....	120
4.3.3.- Análisis de los resultados de caracterización y reactividad.....	130
5.- DISCUSION.....	145
5.1.- APLICACION DE LA TEORIA DE HUSH.....	145
5.2.- RELACION ENTRE LOS RESULTADOS DE CARACTERIZACION Y LOS DE LA TEORIA DE HUSH.....	149
5.3.- COMPUESTOS DE VALENCIA MIXTA COMO MODELOS DEL CENTRO TIPO III EN PROTEINAS DE COBRE	155
5.4.- INFORMACION ESTRUCTURAL DEL CENTRO TIPO III EN PROTEINAS DE COBRE EXTRAIDA A TRAVES DE MODELOS.....	158
BIBLIOGRAFIA.....	161

LISTADO DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Función de la citocromo oxidasa.....	7
Figura 2: Estructura del centro Tipo I en proteínas.	12
Figura 3: Estructura del acetato cúprico.....	16
Figura 4: Función de la citocromo oxidasa.....	18
Figura 5: Esquema de trabajo de la tesis.....	22
Figura 6: Clasificación de compuestos de valencia mixta.....	26
Figura 7: Procesos de transferencia térmica y óptica en compuestos de valencia mixta simétricos binucleares.....	28
Figura 8: Curvas de energía potencial para complejos de valencia mixta.....	31
Figura 9: Curvas de energía potencial versus configuración nuclear para un sistema homonuclear de valencia mixta en función de	37
Figura 10: Voltamograma cíclico reversible para $K_3Fe(CN)_6$ con especificación de parámetros $E_{1/2}$, E_{pa} y E_{pc}	45

LISTADO DE FIGURAS

	Página
Figura 11: Equipo de medición con sensor de oxígeno...	58
Figura 12: Celda para voltametría cíclica.....	60
Figura 13: Celda para electrólisis.....	61
Figura 14: Estructura postulada para el compuesto de Cu ²⁺ con MBTH.....	64
Figura 15: Producto de oxidación de MBTH.....	72
Figura 16: Espectros IR para compuestos de cobre con MBTH.....	73
Figura 17: Espectros de absorción UV para compuestos de Cu-MBTH, en DMF.....	75
Figura 18: Espectro de excitación y emisión para S-1 en THF.....	78
Figura 19: Espectro de absorción visible para el siste <u>m</u> a Cu-cisteamina.....	91
Figura 20: Efecto de oxígeno sobre la banda UV del com <u>p</u> uesto D.....	92

LISTADO DE FIGURAS

	Página
Figura 21: Análisis de reversibilidad del compuesto D frente a oxígeno.....	94
Figura 22: Estudio voltamétrico para el sistema Cu-MEA en ambiente de nitrógeno.....	98
Figura 23: Voltametría cíclica del compuesto violeta Cu-MEA.....	99
Figura 24: Voltamograma en un rango restringido de potencial (= 200 mV/seg), para sistema Cu-MEA.....	100
Figura 25: Estudio voltamétrico de reversibilidad del compuesto D frente a oxígeno.....	102
Figura 26: Voltametría cíclica de productos de electrolisis catódica (-500 mV) para sistema Cu-MEA y para ligante MEA libre.....	104
Figura 27: Voltametría cíclica de producto de electrolisis anódica (+350 mV) para sistema Cu-MEA.....	106
Figura 28: Dímero generado por síntesis con ligante MEA.....	109

L I S T A D O D E F I G U R A S

	Página
Figura 29: Variación del espectro de absorción con la relación M:L para el sistema Cu-MMIm..	121
Figura 30: Voltamograma sistema Cu-MMIm.....	125
Figura 31: Voltamograma cíclico del ligante MMIm libre.....	127
Figura 32: Efecto de la variación de la velocidad de barrido en sistema Cu:MMIm=1:4.....	128
Figura 33: Criterios de Nicholson-Shain para sistema Cu:MMIm=1:4.....	129
Figura 34: Voltamograma cíclico para $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$ en metanol.....	131
Figura 35: Espectro de absorción visible para Cu-MMIm (1:3).....	146
Figura 36: Efecto solvente para el sistema Cu-MMIm..	150

L I S T A D O D E T A B L A S

	Página
Tabla 1: Proteínas de cobre y su función biológica...	2
Tabla 2: Características de los tipos de cobre en metaloproteínas.....	4
Tabla 3: Rol bioquímico de algunos elementos inorgánicos esenciales.....	9
Tabla 4: Ligantes seleccionados.....	24
Tabla 5: Condiciones experimentales para mediciones electroquímicas.....	62
Tabla 6: Síntesis de complejos de cobre con MBTH.....	69
Tabla 7: Porcentaje de los componentes de las mezclas obtenidas en las reacciones (S-2), (S-3) y (S-4).....	82
Tabla 8: Síntesis de complejos de cobre con ligante MEA.....	86
Tabla 9: Efecto del solvente sobre la posición de la banda visible del sistema Cu-MMIm.....	123

LISTADO DE TABLAS

	Página
Tabla 10: Concentración real de cobre y ligante al mezclar $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y MMIm en distintas relaciones.....	132
Tabla 11: Cobre libre y complejo en las soluciones de cobre y MMIm.....	134
Tabla 12: Parámetros de la Teoría de Hush para complejos de valencia mixta.....	148
Tabla 13: Parámetros de reorganización interna y externa para el sistema Cu-MMIm.....	151

R E S U M E N

El cobre es uno de los elementos inorgánicos que constituyen centros metálicos de gran importancia en proteínas, lo que ha despertado un enorme interés en cuanto a su estudio a través de modelos bioinorgánicos. Entre los tipos de cobre presentes en metaloproteínas, el llamado Tipo III o binuclear es uno de los que revisten mayor interés, debido a su participación tanto en transferencia de electrones (ejemplo oxidasa Rhus Lacasa) como en transporte de oxígeno (ejemplo Hemocianina).

La presente tesis tiene por objeto generar modelos de valencia mixta para este centro con ligantes que contengan nitrógeno y/o azufre coordinados al cobre, trabajándose para ello con:

- Mercaptobenzotiazol (MBTH)
- Cisteamina (MEA)
- 2-mercapto-1-metilimidazol (MMIm)

En todos los casos se observó la reducción de Cu^{2+} por el grupo SH de los ligantes, siendo ésta total para MBTH, obteniéndose compuestos polinucleares de Cu^{1+} , y parcial para MEA y MMIm, lográndose aislar así una especie de valencia mixta con estos últimos ligantes.

Para todos los complejos sintetizados se efectuó un estudio de caracterización a través de diversas técnicas convencionales, complementado con estudios electroquímicos (para los sistemas Cu-MEA y Cu-MMIm) y de reactividad frente a oxígeno (para Cu-MEA). Adicionalmente, en los casos que fue posible generar especies de valencia mixta, se aplicó la Teoría de Hush, específica para ellos, extrayéndose a partir de ella información cinética y termodinámica para la transferencia de electrones en los centros metálicos en estudio. Todos los antecedentes obtenidos se analizaron finalmente desde un punto de vista de modelos, para lograr así información referente al centro Tipo III en proteínas de cobre.

A B S T R A C T

Copper is one of the Inorganic elements which constitute metal centers of great importance in proteins. This fact has risen an enormous interest in the development of bioinorganic models for these metal centers. Among the types of copper existing in metalloproteins, the Type III suggested as a binuclear moiety is of a particular interest, due to its ability to participate in electron transfer reactions (e.g. Rhus Laccase oxidase) as well as in oxygen transport (e.g. Hemocyanin).

The purpose of the present thesis is to generate mixed valence compounds to mimic the above mentioned metal center, with ligands containing Nitrogen and/or Sulfur atoms coordinated to Copper. Three ligands have been worked out to pursue this aim:

- Mercaptobenzothiazol (MBTH).
- Cysteamine (MEA).
- 2-Mercapto-1-Metyl-Imidazol (MMIm).

In all cases the reduction of Cu^{2+} by the ligand SH groups was observed. The reduction was complete for MBTH the products being polinuclear compounds of Cu^{1+} , and incomplete

for both MEA and MMIm. For the last two ligands the isolation of the mixed valence species was thereby achieved.

The characterization for all the synthesized complexes was carried out by conventional techniques. It was complemented by electrochemical studies (for the Cu-MEA and Cu-MMIm systems) and by the study of their reactivity towards Oxygen (for Cu-MEA). In addition, in the cases where it was possible to generate mixed valence compounds, Hush's specific theory was applied. In this way, kinetic and thermodynamic information was obtained for the electron transfer in the metallic centers studied. The data collected was finally analyzed from a point of view of a model, in order to gain insight into the characteristics of Type III centers in Copper-proteins.

1.- INTRODUCCION.

Dentro de los elementos inorgánicos que se han detectado en diversas formas de vida, realizando funciones vitales, está el cobre. La acción biológica de este metal tiene lugar en asociación¹ con ciertas proteínas específicas, llamadas proteínas de cobre, las cuales se comportan como metaloproteínas típicas, constituyendo por lo tanto el cobre una parte integral y fundamental de la macromolécula.

1.1.- CARACTERISTICAS DE LAS PROTEINAS DE COBRE.

Diversos estudios efectuados en proteínas de cobre han podido determinar que los roles biológicos² que éstas cumplen son de variada naturaleza, como se puede ver en la tabla 1, en que se presentan algunas proteínas de cobre, sus características y su función biológica. En dicha tabla podemos observar que el tipo de cobre presente en estas metaloproteínas ha sido clasificado en tres grandes grupos según sean sus propiedades físicas y químicas. Aún más, pareciera existir una correlación entre la naturaleza del cobre presente y la función de la proteína. Así por ejemplo, el cobre tipo I se asocia principalmente al transporte de electrones, el Cu tipo II a la actividad oxidasa y el cobre tipo III se asocia a una interacción con oxígeno molecular. Por otra

TABLA 1 : Proteínas de cobre y su función biológica.

PROTEINA	contenido de cobre (at-g/mol)	P.M.	Tipo de cobre	Distribucion	Función
Azurina	1	14000	I	Bacterias	transporte de electrones
Stelacianina	1	16800	I	Arboles	
Plastocianina	2	21000	I	Cloroplastos (plantas)	
Citocromo C oxidasa	2	100000 (monómero)	III	Mitocondrias	Oxidasa terminal
Lacasa	4	60000	I II III	Arboles, plantas	Oxidasa
* Ceruloplasmina	7 u 8	151000	I II III	Suero humano	Oxidación de Fe(II)
Hemocianina	2 (p/unidad)	$7-8 \times 10^6$	III	Artrópodos moluscos	transporte de O ₂
* Tirosinasa	4	119000	III	Tejidos de mamíferos	Oxidación de sustratos orgánicos

(*) Existen controversias en literatura; función poco clara. ^{2,5a}

parte, (y muy relacionado a lo anterior), parece haber una correlación entre la estructura del centro metálico y la función de la proteína.

Las propiedades fundamentales^{2,3} de los diversos tipos de cobre presentes en las metaloproteínas se aprecian en la tabla 2. Cabe destacar eso sí que en un simposio⁴ efectuado el año 1977 se hizo hincapié que este tipo de nomenclatura, (Tipo I, II y III), debe aplicarse con mucho cuidado y ojalá reservarse para las proteínas azules propiamente tales ya que el extenderla a todas las proteínas de cobre puede conducir a interpretaciones erróneas, por extrapolaciones in debidas.

1.2.- ROL DEL COBRE EN METALOPROTEINAS.

En las distintas funciones que aparecen descritas en la tabla 1, el cobre parece tener una importante participación. Sin embargo, el cobre no es el único metal que actúa en este tipo de roles metabólicos. Por ejemplo, en lo que respecta a la transferencia de electrones y el transporte de oxígeno, es ampliamente conocida la importancia del hierro, como también la de otros metales de transición, como molibdeno y vanadio. Por lo tanto, podemos concluir que la particular configuración electrónica de los elementos de

TABLA 2 : Características de los tipos de cobre en metaloproteínas.

TIPO DE COBRE	CARACTERISTICAS
Cobre tipo I	<ul style="list-style-type: none"> • Absorción visible : $\lambda \approx 610 \text{ nm.}$ $\epsilon \approx 5000$ • Señal EPR característica de cobre(II) monomérico, con constante hiperfina (A_{\parallel}) pequeña.
Cobre tipo II	<ul style="list-style-type: none"> • Propiedades espectroscópicas y físicas similares a las de cobre(II) monomérico en compuestos inorgánicos.
Cobre tipo III	<ul style="list-style-type: none"> • No detectable por EPR • Banda UV en $\lambda \approx 330 \text{ nm.}$ • Aceptor de un par de electrones al mismo potencial^a en proceso redox ($E \sim 0,5 \text{ V}$) • Probable dímero de cobre.

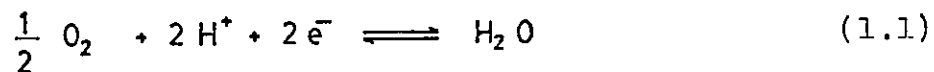
(a) Esta información se ha interpretado^b muchas veces como la transferencia de dos electrones simultáneamente (ver nota al pie de la página 41 y discusión en el punto 5.3).

(b) J. Gisselbrecht et al: Inorg. Chem., 19, 1386, (1980) y ref. 19a, por ejemplo.

transición les confiere propiedades químicas que favorecen su función biológica.

Analicemos algunas de estas propiedades y veamos como influyen en los roles metabólicos del cobre y de los metales de transición en general.

1.2.1. Para cumplir el rol de transferir electrones, las sustancias que efectúan esta función deben ser capaces de recibir un electrón en un momento dado y entregarlo posteriormente, cuando el organismo en cuestión lo requiera. Por lo tanto, estas sustancias deben ser fácilmente reducibles y/u oxidables, en forma altamente reversible, sin demasiado gasto energético. En este sentido, los metales de transición tienen más de un estado de valencia relativamente estable, lo que les permite, al estar insertos en una metaloproteína, alternar de una valencia a otra durante un proceso de óxido-reducción. como lo es la transferencia de electrones. Por ejemplo, en la cadena respiratoria el último paso es la oxidación de oxígeno a agua:



Los electrones que aparecen en la ecuación (1.1) provienen de toda una cadena en que participan diversos citocro

mos, entre ellos la citocromo c oxidasa, como se puede ^{5b} ver en la figura 1a. Aunque la forma de actuar de esta enzima no está clara, en la figura 1b se presenta un mecanismo sugerido ^{5a} para explicar su comportamiento.

1.2.2. Con respecto al rol de transportar oxígeno, los compuestos que participan en él deben unirse a este gas en forma reversible, ya que deben captarlo en cierta zona del organismo, transportarlo y entregarlo en otra zona del organismo. (Ej: Hemoglobina, que capta oxígeno en los pulmones y lo entrega en los tejidos). En este sentido, la carga sobre el metal es clave en lo que respecta a la reversibilidad de la captación de oxígeno, ya que en ningún momento debe producirse una oxidación neta del centro metálico. En otras palabras, para cumplir el rol de transportar oxígeno, los metales de transición, en especial en sus estados de oxidación menores, debido a sus particulares características electrónicas, se pueden unir al oxígeno, que es una molécula neutra y simétrica. Al hacerlo hay una cierta transferencia de carga desde el metal a los orbitales π^* vacantes del oxígeno, lo que es compensado por carga donada al metal por diversos ligantes a los que se encuentra coordinado, impidiéndose así la oxidación permanente del centro metálico.

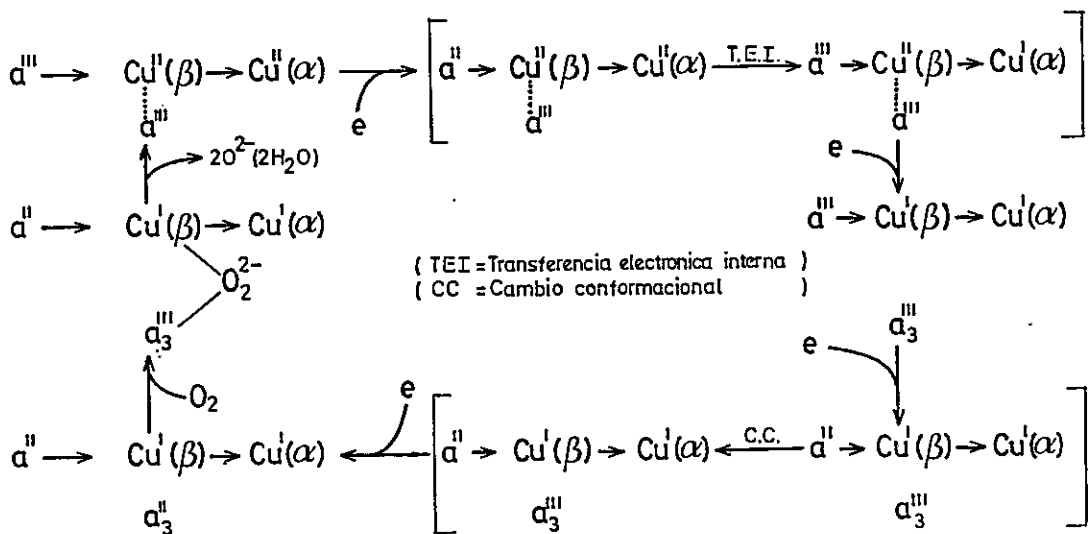
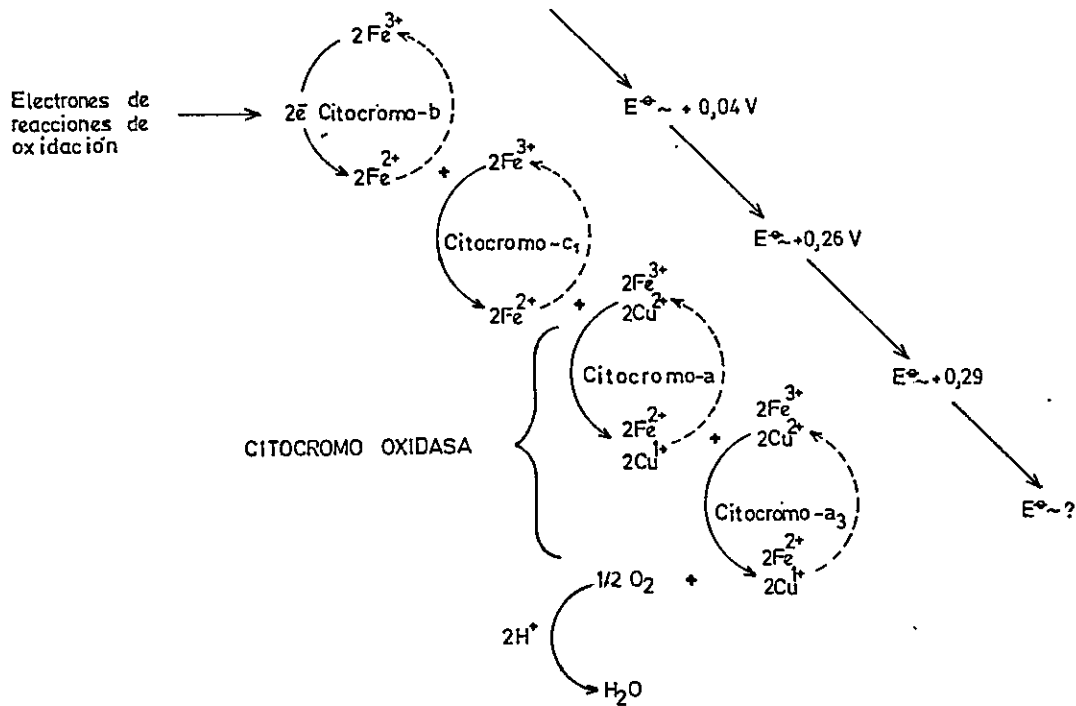


FIGURA 1 : Función de la citocromo oxidasa.

- a) Cadena de transporte^{5b} de electrones en la mitocondria
- b) Mecanismo sugerido para la acción de la citocromo^{5a} oxidasa.
 (a : citocromo a ; a₃ : citocromo a₃)

1.2.3. Las propiedades redox del cobre y de los metales de transición en general, así como sus características espectroscópicas y químicas, se encuentran muy influenciadas por la distribución y naturaleza de los ligantes a los que el metal se encuentra coordinado. Esta propiedad explica porqué un mismo elemento de transición puede cumplir distintos roles.

Vale la pena comentar, eso sí, que los metales de transición no son los únicos^{5b} elementos inorgánicos que tienen un importante rol biológico. Así por ejemplo, los metales alcalinos como sodio y potasio, controlan el balance de iones y la actividad de enzimas, o el magnesio que participa a través de un compuesto porfirínico (clorofila) en el proceso de fotosíntesis. En la tabla 3 se presenta un resumen del rol bioquímico de algunos elementos inorgánicos esenciales para diversas formas de vida.

1.3.- MODELOS INORGANICOS PARA PROTEINAS DE COBRE.

Una de las problemáticas más interesantes que han surgido con respecto a las proteínas de cobre es la caracterización de los distintos centros metálicos, en cuanto a su estructura y parámetros físicos, como también a sus propiedades químicas generales. O sea, se han podido medir ciertas

TABLA 3 : Rol bioquímico de algunos elementos inorgánicos esenciales.^{5b}

METAL	ROL BIOQUIMICO
Na y K	[a] Diferencias de concentración de sus cationes crean funcionales gradientes osmóticos y electroquímicos, por ejemplo entre plasma y líquido intracelular.
	[b] Activadores de enzimas (en especial K).
Mg, Ca y Zn	[a] Activadores de enzimas (en especial Mg y Zn).
	[b] Mg es una parte integral de la clorofila.
	[c] La concentración de Ca en los músculos sirve para regular los estímulos neuromusculares.
V	[a] Es acumulado en células de algunas ascidias, pero su función no está claramente determinada.
	[b] En mamíferos, el vanadio está involucrado en la biosíntesis de colesterol.
Cr	Participa en el metabolismo de glucosa en mamíferos.
Mo	Como parte integrante del sistema de la enzima nitrogenasa es esencial en todos los organismos que fijan N.
Fe	[a] Los compuestos de Fe-S y Fe-Porfirinas participan en la transferencia de electrones en los procesos redox biológicos.
	[b] Una proteína de hierro, Hemoglobina, es el transportador de oxígeno en la sangre de mamíferos.
Co	[a] La vitamina B ₁₂ es un complejo de cocorrina y actúa como coenzima importante.
	[b] Co(II) es un cofactor importante en enzimas hidrolíticas.
Cu	[a] Como parte constituyente de la Hemocianina, actúa como transportador de oxígeno en moluscos y artrópodos.
	[b] Es parte importante de muchas oxidasas. También actúa en procesos de transferencia de electrones.

propiedades fisicoquímicas inherentes a cada tipo de cobre, como se ve en la tabla 2, pero en la mayoría de los casos no se ha podido aislar el centro metálico, debido a la compleja estructura de la proteína. Por esta razón, no se tienen por ejemplo, datos cristalográficos que permitan conocer la geometría del centro, los ligantes unidos a cobre, etc. para así entender el comportamiento de la proteína.

Una forma de enfrentar este problema es a través de los llamados modelos inorgánicos^{6a,6b}, que son compuestos sintéticos de mayor simplicidad que tratan de imitar al máximo las propiedades del centro metálico activo de la proteína. A través de ellos, se puede tener información sobre la naturaleza del metal, (estado de oxidación, configuración de electrones d), geometría alrededor del metal, átomos y tipos de ligantes enlazados a él, etc. O sea, a través de un adecuado diseño de los modelos, se puede imitar el entorno del centro metálico, modificarlo, cambiar el tipo de elemento unido al metal, y así observar tendencias de comportamiento que nos permitan interpretar los valores de potencial redox de las proteínas nativas, sus características espectroscópicas, energía cinética del proceso de transferencia de electrones, etc., con lo cual podemos predecir la naturaleza de los distintos tipos de cobre, si no podemos caracterizarlos directamente, por su inaccesibilidad.

Aún más, por la mayor simplicidad de estos modelos inorgánicos, se trata de reproducir el rol funcional que cumplen estas metaloproteínas y estudiar en mejor forma la influencia de los diferentes parámetros fisicoquímicos sobre una determinada función del centro metálico o de la proteína.

Un ejemplo típico del trabajo con modelos, lo constituye el efectuado para cobre Tipo I en ciertas proteínas que transfieren electrones, como la plastocianina. Hasta el año 1978 no se tenían datos cristalográficos para ella y por lo tanto se hacía difícil interpretar características tales como el valor del coeficiente de extinción muy elevado comparado al que presentan habitualmente los compuestos de Cu(II), como quedó en evidencia en la tabla 2. Se inició en diversos grupos de investigación⁷ un trabajo en base a modelos inorgánicos sintéticos, generándose incluso controversias como por ejemplo con respecto a las causas de este alto valor del coeficiente de extinción (algunos^{7b} lo atribuían a transiciones del tipo S \rightarrow Cu(II), lo que implicaba que ligantes con azufre estuvieran unidos a cobre y otros^{7c} a la geometría distorsionada del centro metálico).

De esta forma, se llegó a postular^{7a} una estructura como la que se presenta en la figura 2a, o sea, una geometría tetraédrica en que el cobre va unido a dos nitrógenos imidazólicos, un oxígeno proveniente de un fenol y un

azufre cisteínico. Finalmente, en el año 1978 se determinó⁸ por Rayos X la estructura del centro de cobre Tipo I en plastocianina, la cual se muestra en la figura 2b, donde podemos observar que la concordancia entre el modelo propuesto y la estructura real de la proteína es sorprendente, observándose básicamente diferencias sólo en uno de los ligantes. (No existe un fenolato unido a cobre, sino que un azufre proveniente de un residuo metionínico).

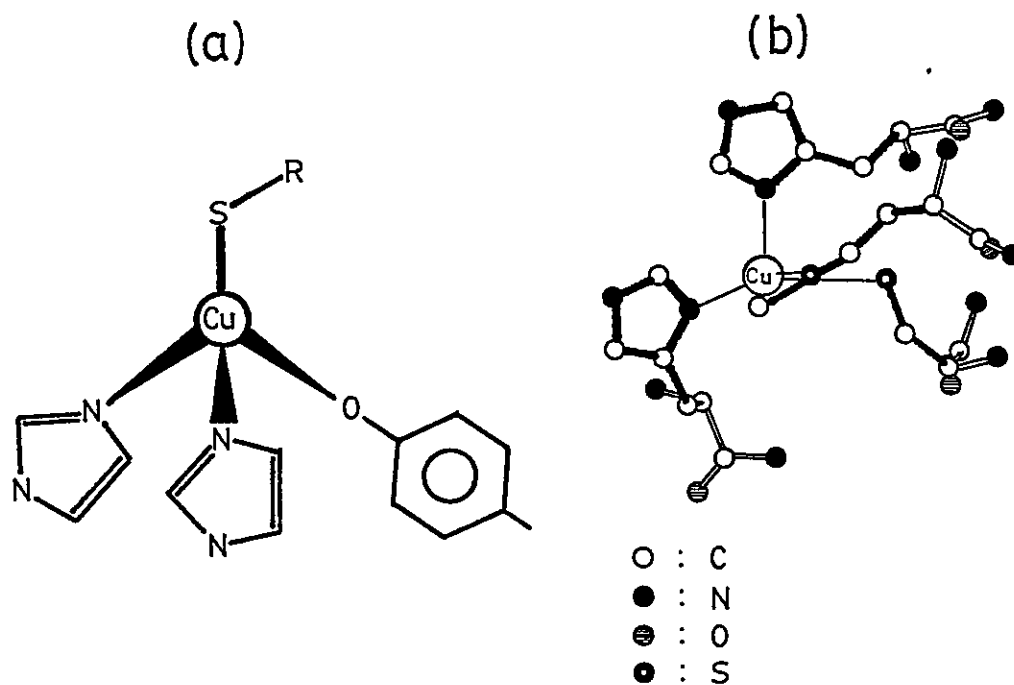


FIGURA 2 : Estructura del centro Tipo I en proteínas
a) Estructura y ligantes para cobre tipo I deducida a partir de modelos.^{7a}
b) Estructura y ligantes para cobre tipo I en plastocianina⁸, determinada por rayos X.



Es interesante hacer notar en este punto que pese a que las características fisicoquímicas de un determinado tipo de centro de cobre sean similares en diversas proteínas, esto no implica necesariamente, que la geometría del centro y los ligantes unidos a cobre sean exactamente los mismos. En el caso del centro Tipo I en proteínas azules que transfieren electrones, recién se discutió la estructura en la plastocianina y se ha visto⁹ que es análoga a la de la azurina. Sin embargo, esta estructura es imposible para la stela cianina, ya que ésta tiene un solo residuo que contiene azufre, no pudiendo existir en este caso, dos átomos de azufre unidos a cobre. Seguramente, el centro metálico en esta proteína tiene también una geometría tetraédrica alrededor del cobre pero uno de los ligantes unidos al metal es distinto.

Con respecto a los otros tipos de cobre, Tipo II y Tipo III, es menos lo que se ha avanzado en cuanto a su caracterización. Particularmente, del centro Tipo III no se tiene hasta el momento información cristalográfica, por lo que el trabajo con modelos inorgánicos toma especial relevancia. Este punto es lo central de esta tesis, o sea, se intentará, a través de modelos sintéticos, obtener información que permita conocer algo más con respecto al centro de cobre Tipo III en metaloproteínas, en especial en lo que respecta a su participación en procesos de transferencia de electrones.

1.4.- CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS DEL CENTRO DE COBRE TIPO III.

En la tabla 2 se presentó un resumen de las características principales del cobre Tipo III en proteínas. Quizás el punto clave de ello radica en el hecho de que este tipo de cobre no es detectable por EPR, y que se ha podido determinar experimentalmente^{2,10} que se trata de un centro dímérico de cobre. Por lo tanto, podría pensarse que la carencia de señal EPR puede deberse^{11,12} a los siguientes pares:

- i) Cu(I) - Cu(I).
- ii) Cu(III) - Cu(I).
- iii) Cu(II) - Cu(II), acoplado antiferromagnéticamente.

Las dos primeras alternativas quedaron descartadas¹² cuando se observó en Lacasa dependencia de la susceptibilidad magnética con la temperatura, lo que no ocurre en centros absolutamente diamagnéticos, como i) y ii). Adicionalmente, se pudo establecer^{10,11,13}, al usar diversos tipos de reductores, que el potencial de reducción del centro Tipo III es mayor que 0,5 V, o sea, considerablemente alto, comparado por ejemplo al potencial normal para la reducción de Cu^{2+}

a Cu^{1+} , que en agua es¹⁴ 0.15 V versus E.N.H. Además, por medio de titulaciones se estableció que este centro es aceptor de 2 electrones simultáneamente. Se llegó a esta conclusión siguiendo la variación de la absorbancia al ir titulando la proteína con ascorbato como reductor. Como la banda a 330 nm aparece sólo cuando la proteína tiene centros dimericos llamados Tipo III, se observó la variación de la absorbancia de esta banda, al ir titulando con ascorbato, y se pudo observar que esta llegaba a cero después de agregar 2 electrones. Todas estas características fueron las resumidas en la tabla 2.

1.5.- MODELOS INORGANICOS PARA CENTRO TIPO III DE COBRE.

Un hecho muy interesante surgió cuando se observó¹⁵ en compuestos inorgánicos comunes, (dímeros de Cu^{2+}) un comportamiento similar al del cobre dimerico en proteínas, es decir se detectó acoplamiento magnético a temperatura ambiente, lo que se manifiesta en un valor de la susceptibilidad magnética notablemente bajo, (a veces nulo), y la aparición de una banda en el U.V. cercano. Esto sugirió la posibilidad de usar este tipo de compuestos como modelos de los centros de cobre Tipo III, siendo el caso más típico¹⁶ el del acetato cúprico.

Este compuesto es un dímero cuya estructura¹⁷ se presenta en la figura 3, donde la distancia¹⁵ Cu - Cu es de 2.64 Å. El momento magnético⁵ observado a 25 °C es de 1.35 M.B., o sea, anormalmente bajo con respecto a lo esperado para Cu²⁺ (1.73 M.B.). Los primeros en pensar que habría un acoplamiento antiferromagnético entre los átomos de cobre (antes de conocerse la estructura) fueron Bleaney y Bowers¹⁸, y desde entonces se han suscitado muchas controversias¹⁵ en cuanto al tipo de interacción entre los átomos de cobre (si existe enlace σ o δ entre ellos, o ningún enlace directo),

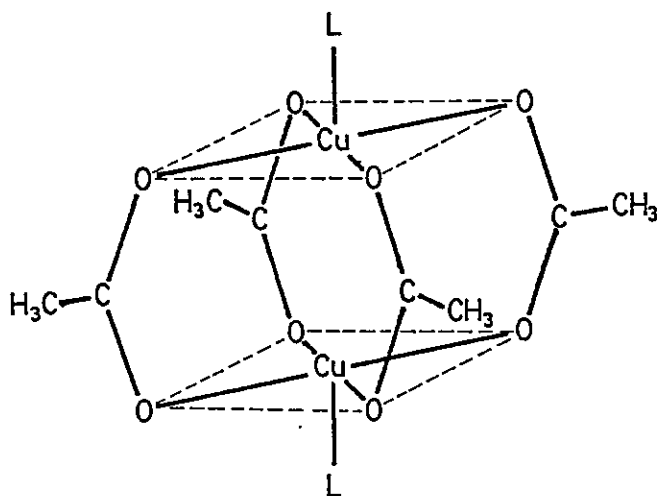
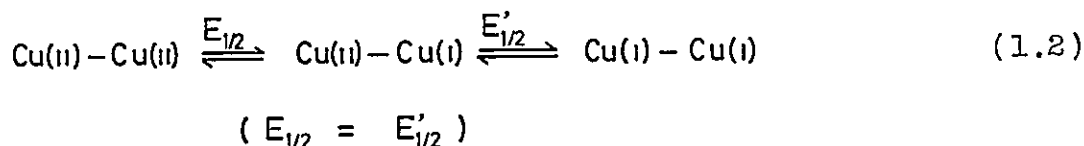


FIGURA 3 : Estructura del acetato cúprico.

y por consiguiente, cual es el mecanismo de intercambio electrónico (directo o de superintercambio). Pero, al margen de esta controversia interesa además, desde el punto de vista de modelo, que este compuesto aparte de tener un momento magnético efectivo bajo, tiene una banda U.V. alrededor de 370 nm, que podría asociarse a la banda del cobre Tipo III en metaloproteínas. Se hicieron diversos trabajos¹⁶ con el acetato cúprico, destacándose la insinuación que el correspondiente complejo de valencia mixta Cu(I)-Cu(II) podría reproducir también ciertas propiedades del centro Tipo III en proteínas de cobre.

Otros modelos, que contienen átomos de oxígeno ligados al centro dimérico de cobre, son los de Lindvedt y Fenton¹⁹ que trabajaron principalmente con complejos de cobre de la forma dada en la figura 4a. Para varios de estos compuestos, por ejemplo con R y R' = C₆H₅, se observa una transferencia reversible secuencial de dos electrones, en la cual los dos potenciales de reducción son idénticos, o sea:



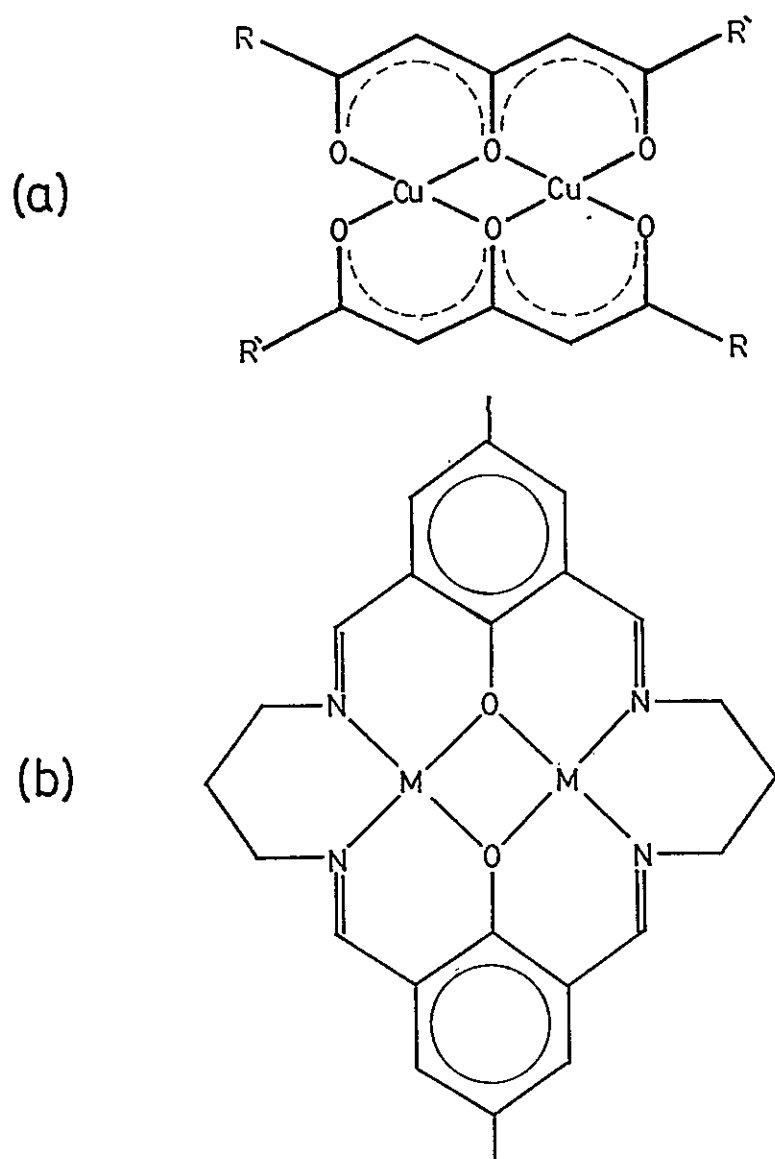
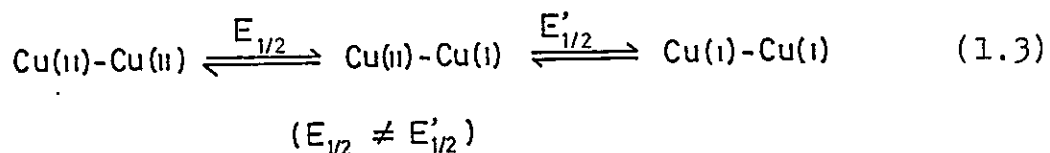


FIGURA 4 : Modelos sugeridos para centros de cobre tipo III.

- a) Bis(1,3,5-tricetonato)diCu(II) estudiado por Fenton y Lindvedt.¹⁹
- b) Estructura típica de los complejos estudiados por Gagné.²⁰

Esto es de gran valor, desde un punto de vista de modelos, ya que reproduce, en este aspecto, el comportamiento del cobre Tipo III en proteínas (para el cual se propone una transferencia de dos electrones al mismo potencial). Sin embargo, a diferencia de lo que ocurre en las proteínas nativas, el potencial al que ocurre el proceso redox es muy negativo. Los autores también concluyeron que una serie de efectos combinados son los responsables de que un binuclear actúe en la forma descrita más arriba, o que transfiera en forma secuencial y a potenciales distintos, un electrón por vez. Entre otros factores destacan los estructurales y el grado de interacción entre los centros metálicos.

Un trabajo con macrociclos en que átomos de nitrógeno y oxígeno van unidos al metal en un dímero de cobre, es el desarrollado por Gagné²⁰ y colaboradores, en paralelo con Addison²¹, y cuya estructura se presenta en la figura 4b. Este tipo de compuestos presenta la transferencia de 2 electrones en forma reversible y secuencial, o sea:



Consecuente con lo anterior, se puede aislar el compuesto de valencia mixta $^{22}\text{Cu(II)-Cu(I)}$, que se reconoce por la aparición de las llamadas bandas de intervalencia, en la zona visible o I.R. cercana. (Más adelante se analizarán con mayor detalle los compuestos de valencia mixta).

También es interesante destacar el trabajo efectuado por J.M. Lehn²³, Y.L. Agnus y otros, y resumido en forma concisa por Y.L. Agnus^{6b}. Ellos trabajaron con una serie de criptatos, que contienen principalmente nitrógeno y azufre coordinados a cobre y que permiten la inclusión de moléculas pequeñas, nitrógeno u oxígeno, como puente entre los átomos de cobre. Principalmente y en forma sistemática, se trató de buscar una correlación entre estructura, propiedades magnéticas y propiedades electroquímicas en compuestos binucleares de cobre. Se llegó a la conclusión que una interacción antiferromagnética fuerte y la transferencia reversible de dos electrones al mismo potencial, no son propiedades que necesariamente estén correlacionadas. También la autora plantea la necesidad de trabajar con modelos dinámicos, o sea, complejos binucleares de cobre(I) y ver el efecto de la estructura y del medio en su afinidad hacia oxígeno y monóxido de carbono.

2.- FUNDAMENTOS DEL PROBLEMA EN ESTUDIO.-

En base a los antecedentes expuestos en el capítulo anterior se ve clara la importancia de los modelos para tener información sobre el cobre Tipo III en metaloproteínas. En la figura 5, se muestra un esquema de la forma como se abordará el problema en la presente Tesis. Se presentará en los siguientes puntos una explicación y justificación de las etapas y métodos que se plantean en el esquema, así como también las bases teóricas sobre las cuales se trabajará.

2.1.- TIPOS DE LIGANTES ESCOGIDOS.-

Los trabajos que aparecen en la literatura^{6b, 19, 20}, a los cuales se hizo mención en el primer capítulo de esta tesis, hacen uso principalmente de ligantes con átomos de oxígeno y nitrógeno coordinados a cobre, a excepción del trabajo de Agnus^{6b} que utiliza también ligantes con átomos de azufre coordinados a este metal. Sin embargo, no utiliza azufre como puente entre dos átomos de cobre. En el presente trabajo se han elegido ligantes y puentes que tengan átomos de nitrógeno y azufre (en especial este último) unidos al cobre, debido a las siguientes razones:

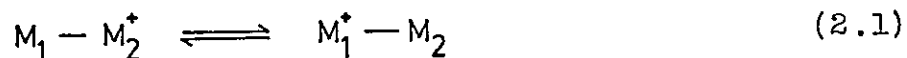
- Nitrógeno y muy en especial azufre son mucho más "blandos" (en el sentido de Pearson²⁴) que el oxígeno y por lo tanto favorecerían el intercambio de electrones entre ambos átomos de cobre, lo que permitiría generar un buen modelo para la transferencia de electrones.

- Se ha comprobado^{19b} con otros centros metálicos, que al sustituir oxígeno por azufre se produce una tendencia del potencial redox a cambiar hacia valores más positivos, que son los observados en las metaloproteínas de cobre.

- Como se mencionara anteriormente, por mediciones de Rayos X se ha determinado⁸ que el centro Tipo I en plastocianina va unido a dos nitrógenos (imidazólicos) y dos átomos de azufre (uno cisteínico y uno metionínico), lo que sugiere la posibilidad de que este tipo de ligantes también esté unido al centro binuclear de cobre Tipo III.

Dentro de los ligantes que cumplen con las características mencionadas, o sea, que poseen átomos coordinantes nitrógeno y/o azufre, en esta Tesis se han escogido tres para ser ocupados en la generación de modelos. Estos ligantes se presentan en la tabla 4, junto a su fórmula y a la abreviatura que se usará para ellos en el presente trabajo.

misma, ya que los constituyentes de ambos lados son iguales, o sea, la constante de equilibrio para la reacción:



es unitaria, ($\Delta G^0=0$). Pese a que no hay un cambio de energía libre que acompañe esta transferencia de electrones, hay una barrera de activación cinética ΔG_{th}^\ddagger para el proceso, que a su vez rige la velocidad de transferencia electrónica entre un centro y otro, por medio de la ecuación:

$$k_{th} = \frac{kT}{h} \exp\left(-\frac{\Delta G_{th}^\ddagger}{kT}\right) \quad (2.2)$$

en que, k_{th} corresponde a la constante de velocidad de transferencia del electrón, k es la constante de Boltzmann y h la constante de Planck.

Para entender la razón de la barrera energética generada, en la figura 7 se han representado los caminos de interconversión de $M-M^+$ en M^+-M , (por simplicidad, se han omitido los ligantes, pero los círculos de la figura representan la esfera de coordinación total Metal-Ligante). En general, las distancias de enlace M-L, (a_1, a_2), y las constantes de fuerza (k_1, k_2), difieren para M y M^+ . Aún más, si $(M-M)^+$ está en solución la solvatación de los dos lados difiere. Como una consecuencia de estos entornos distintos en

las esferas de coordinación interna y externa, la transferencia de un electrón es acompañada por reordenamientos nucleares. El hecho de que el movimiento nuclear ocurre en un tiempo del orden de 10^{-13} seg. mucho mayor que el tiempo requerido para el movimiento de un electrón ($< 10^{-15}$ seg.), (o sea, debido al principio de Frank-Condon), da origen a una barrera de activación para la transferencia electrónica. Si ocurriera una transferencia espontánea de un electrón entre M y M^+ en sus configuraciones de equilibrio, el producto se formaría en un estado vibracionalmente excitado, en el cual M^+ tendría la longitud de enlace y solvatación de M y viceversa. Dicho estado excitado se desactivaría entregando energía, y si este proceso se realizara varias veces, se violaría la Ley de conservación de la energía. Este paso prohibido térmicamente, es el camino superior de la figura 7.

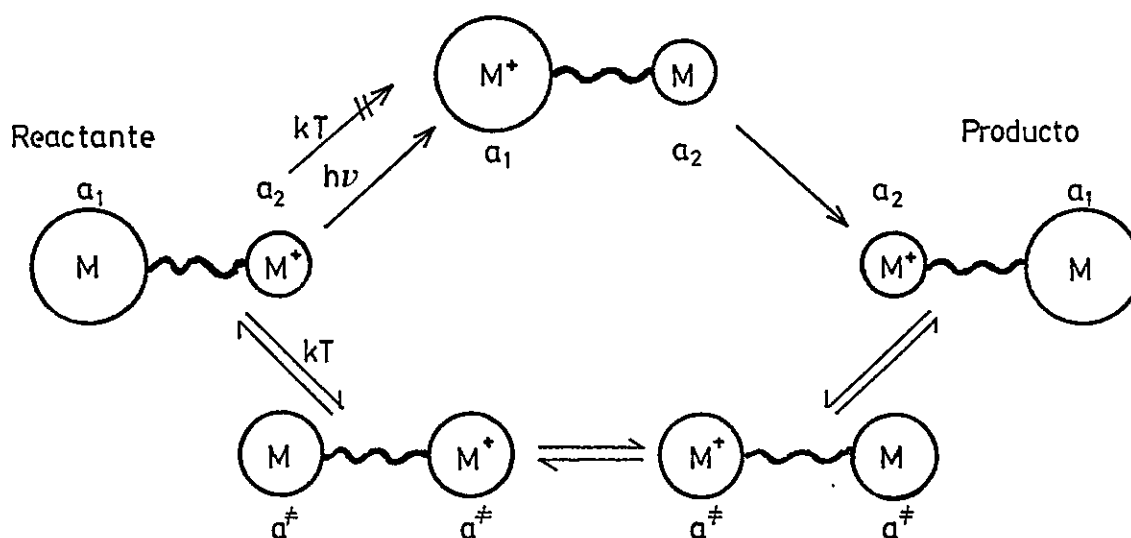


FIGURA 7: Procesos de transferencia térmica y óptica en compuestos de valencia mixta simétricos-binucleares.²⁵

Para que ocurra una transferencia térmica del electrón debe haber un reordenamiento previo de los ligantes y solventes alrededor de M y M^+ , generando una barrera de activación térmica al proceso, ΔG_{th} . La transferencia de electrones ocurre a través de un complejo activado, en que las longitudes de enlace $M-L$ y M^+-L son iguales, y tienen un valor a^\ddagger intermedio entre a_1 y a_2 . Este paso térmicamente permitido se representa en la parte inferior de la figura 7.

Pese a que la transferencia térmica del electrón no ocurre sin un reordenamiento previo de las esferas internas y externas de coordinación, el camino superior de la figura 7 puede ser inducido cuando la energía necesaria para pasar de $M-M^+$ al estado vibracionalmente excitado de M^+-M , es adquirida por irradiación con luz de frecuencia adecuada. La absorción de luz en estas condiciones da origen a una banda de absorción, (normalmente en la zona visible o del infrarrojo cercano), que se denomina banda de intervalencia (IT). Por lo tanto, en este caso se produce una transferencia óptica del electrón y este paso ocurre cuando:

$$E_{op} = h \nu_{IT} \quad (2.3)$$

donde, E_{op} corresponde a la barrera de transición y ν_{IT} , a la frecuencia de la banda de intervalencia.

El sentido de los distintos términos mencionados hasta ahora, se ve más claro en la figura 8, en la forma de curvas de energía potencial. En la parte a) de la figura se ha presentado el caso homonuclear descrito más arriba. En la parte b) se presenta el caso heteronuclear, (o no termonutral) que se produce ya sea porque los metales o el entorno que los rodea son diferentes. En este caso, hay un término E_0 que representa la diferencia de energía generada por la asimetría de los centros.

Hush desarrollo su teoría^{22c} suponiendo que tanto, $M-M^+$ como M^+-M actúan como osciladores, en forma independiente uno del otro, y que el electrón se encuentra acoplado con éstos osciladores. Además, Hush supone que se está trabajando en el límite de alta temperatura $kT \gg h\nu$. Dentro de este esquema y suponiendo que $E_{th} = \Delta G_{th}^\ddagger$ (ya que $T \Delta S^\ddagger = 0$), se puede demostrar que hay una relación entre la barrera óptica de transición (E_{op}) y la térmica (E_{th}), en la forma:

$$E_{th} = \frac{E_{op}^2}{4(E_{op} - E_0)} \quad (2.4)$$

para un sistema heteronuclear, y

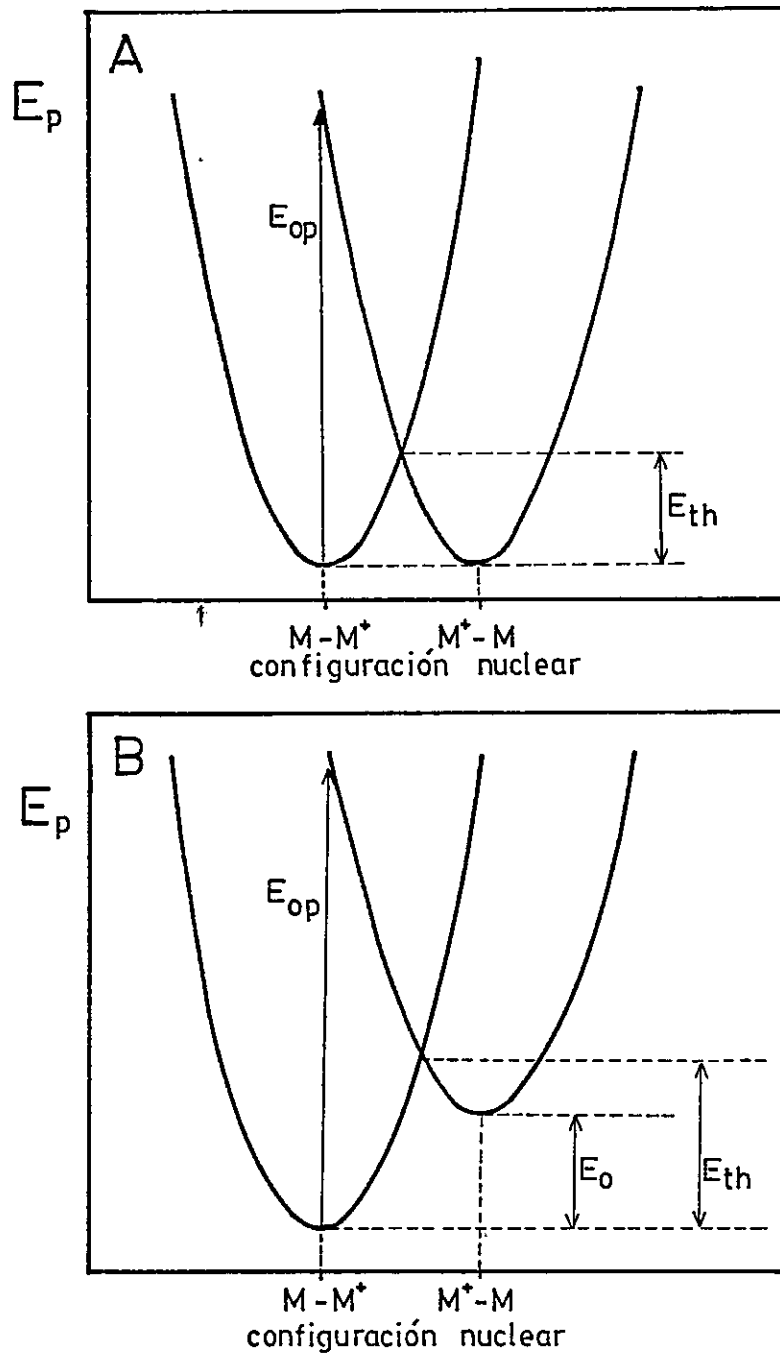


FIGURA 8 : Curvas de energía potencial para complejos de valencia mixta. (A) caso homonuclear ; (B) caso heteronuclear (ligantes distintos).

$$E_{th} = E_{op}/4 \quad (2.5)$$

para un sistema homonuclear, (en que $E_0 = 0$).

La barrera térmica total, ΔG_{th}^\ddagger , se puede además descomponer²⁵ en una contribución proveniente de la reordenación de la esfera interna de coordinación (ΔG_i^\ddagger), representada por los ligantes y otro término proveniente del reordenamiento de la esfera externa o solvente ΔG_s^\ddagger , o sea:

$$E_{th} = \Delta G_{th}^\ddagger = \Delta G_i^\ddagger + \Delta G_s^\ddagger \quad (2.6)$$

en que se ha demostrado^{25,26,27} que la forma de cada término es:

$$\Delta G_i^\ddagger = \frac{n}{2} \left(\frac{k_1 \cdot k_2}{k_1 + k_2} \right) (a_1 - a_2)^2 \quad (2.7)$$

donde n es el número de ligantes por centro metálico, y

$$\Delta G_s^\ddagger = \frac{e^2}{4} \left(\frac{1}{2a_1} + \frac{1}{2a_2} - \frac{1}{r} \right) \left(\frac{1}{D_{op}} - \frac{1}{D_s} \right) \quad (2.8)$$

donde:

e = Carga del electrón.

r = Distancia entre centros metálicos.

$D_{op} = n^2 =$ Constante dieléctrica óptica del sollvente, (que equivale al índice de rerfracción al cuadrado).

$D_S =$ Constante dieléctrica estática del sollvente.

Se acostumbra^{25,28} definir los parámetros λ_i y λ_s , que también representan la reorganización de las esferas internas y externas para la transferencia del electrón, pero ahora para la transferencia óptica, de tal forma que, en forma análoga a la ecuación (2.6), podemos escribir:

$$E_{op} = \lambda_i + \lambda_s \quad (2.9)$$

En base a las ecuaciones 2.3; 2.4; 2.5; 2.7; 2.8; y 2.9; se puede derivar la expresión;

$$\nu_{IT} = \frac{\lambda_i}{h} + cte\left(\frac{1}{D_{op}} - \frac{1}{D_S}\right) \quad (2.10)$$

donde la constante agrupa los términos que aparecen en la ecuación (2.8).

Por lo tanto, si se determina la posición de la banda de intervalencia en distintos solventes y se grafica ν_{IT} versus $(1/D_{op} - 1/D_S)$, debe obtenerse una línea recta; del inte

tercepto se puede obtener el parámetro de reorganización interna óptico, λ_1 , y por diferencia obtener el parámetro óptico de reorganización externa, λ_S .

Para completar la información que se puede obtener de la Teoría de Hush, debe mencionarse que este autor plantea^{22c} una relación entre la posición de la banda de intervalencia y el ancho medio de ésta, en la forma:

$$h\nu_{IT} - (16 \cdot \ln 2 \cdot kT)^{-1} \Delta\nu_{1/2}^2 = E_0 \quad (2.11)$$

en que $\Delta\nu_{1/2}$ es el ancho medio de la banda, que se define^{22c} como el valor $\Delta(h\nu)$ en el cual:

$$\frac{(I_\nu) \nu_{IT}}{(I_{\nu_{IT}}) \nu} = \frac{1}{2} \quad (2.12)$$

Esta corrección respecto a la forma usual de determinar el ancho medio de una banda se efectúa debido a que las bandas de intervalencia son normalmente muy anchas.

En el caso de un sistema homonuclear, en el cual $E_0=0$, se tiene, evaluando las constantes a $T=300$ °K:

$$\nu_{IT} (\text{cm})^{-1} = \Delta\nu_{1/2}^2 / 2310 \quad (2.13)$$

Por lo tanto, para un sistema homonuclear, el ancho medio experimental debiera coincidir con el ancho medio teórico, dado por la ecuación (2.13). En el caso heteronuclear, Hush plantea que se puede estimar el valor de E_0 a partir de la ecuación (2.11), en base a los datos experimentales de $\Delta\nu_{1/2}$ y ν_{IT} .

Todo lo expuesto hasta acá supone que la interacción entre los centros metálicos, β , es despreciable. En la medida que β crece, se produce un descenso de la barrera térmica para la transferencia de electrones, en la forma:

$$E'_{th} = E_{th} - \beta \quad (2.14)$$

en que:

$E_{th} =$ Barrera térmica si no se considera interacción.

$E'_{th} =$ Barrera térmica corregida por la interacción entre los centros metálicos.

Cuando la interacción β es muy grande, se hace difícil distinguir dos mínimos en las curvas de Energía Potencial de la figura 8, que representan los iones de valencia mixta localizados $M-M^+$ y M^+-M . En cambio, en este caso comienza a

observarse un único mínimo para una especie deslocalizada $(M-M)^+$. Este efecto, del aumento de la interacción electrónica entre los centros se presenta en la figura 9, para el caso homonuclear. La curva a) representaría un sistema de la Clase I en la clasificación de Robin y Day^{22a} dada en figura 6, la curva b) un sistema de la Clase II, (para el cual básicamente Hush^{22b,22c} desarrolló su teoría) y la curva c) a los compuestos de la Clase III, o sea, donde hay una completa deslocalización del electrón en ambos centros metálicos, y no se puede distinguir uno del otro. Con el propósito de tener un criterio para discernir cuando un compuesto pertenece a una u otra clase, Robin y Day^{22a} definieron el parámetro de deslocalización electrónica, α , que se puede calcular²⁸ por la expresión:

$$\alpha^2 = \frac{(4,2 \times 10^{-4}) \epsilon_{II} \Delta \nu_{1/2}}{\nu_{II} d^2} \quad (2.15)$$

con:

ϵ = Coeficiente de extinción de la banda de intervalencia.

d = Distancia entre los centros metálicos. (en Å).

y en que se ha supuesto una forma Gaussiana para la banda. Estos autores postulan que si:

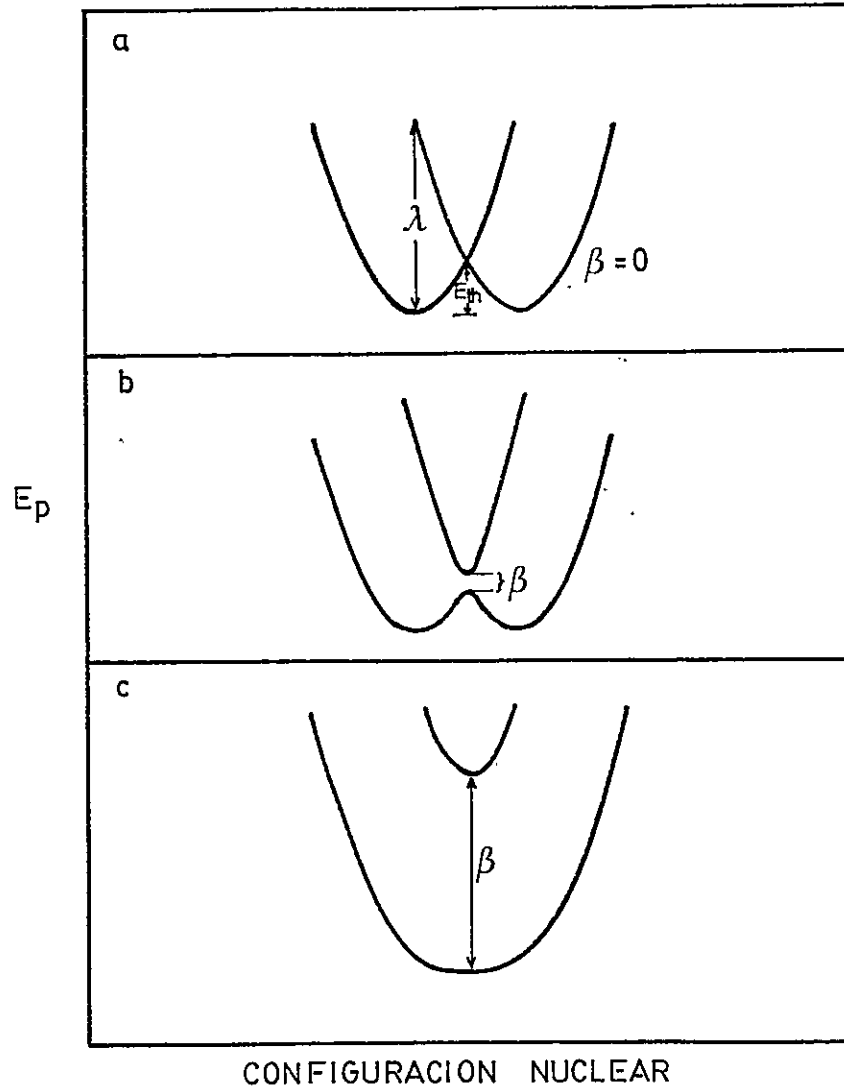


FIGURA 9 : Curvas de energía potencial versus configuración nuclear para un sistema homonuclear de valencia mixta en función de β .

$$\begin{aligned}\alpha &\approx 0 &\Rightarrow & \text{Compuesto Clase I.} \\ 0 < \alpha < 0,707 & \Rightarrow & \text{Compuesto Clase II.} \\ \alpha &= 0,707 &\Rightarrow & \text{Compuesto Clase III.}\end{aligned}$$

En un trabajo actual, Creutz²⁵ por medio de cálculos da un rango más preciso para α , sugiriendo que si:

$$\begin{aligned}\alpha &\approx 0,05 &\Rightarrow & \text{Compuesto Clase II.} \\ \alpha &\approx 0,5 &\Rightarrow & \text{Compuesto Clase III.}\end{aligned}$$

Por último, se debe mencionar que el parámetro β se puede estimar en base al grado de deslocalización α por medio de la expresión:²⁸

$$\beta = \alpha \cdot \bar{v}_{II} \quad (2.16)$$

lo que permite calcular, mediante la ecuación (2.14) un valor corregido para la barrera térmica, tomando en cuenta la interacción.

Volviendo al contexto de la Tesis, veamos ahora las razones fundamentales que se tuvieron para elegir este tipo de compuestos en el trabajo con modelos de cobre Tipo III en proteínas.

- Los compuestos de valencia mixta han sido sugeridos con anterioridad¹⁶ como modelos para cobre Tipo III, debido principalmente a una banda visible de alto valor de ϵ que los caracteriza, y que podría relacionarse a una banda similar en proteínas nativas.

- Pese a que el centro Tipo III en proteínas se define básicamente como una cupla Cu(II)-Cu(II), para ciertas especies, como Hemocianina y Tirosinasa, se han generado y caracterizado^{29a,29b,29c} las correspondientes especies de valencia mixta, por lo que existe una correlación entre las características fisicoquímicas de la especie nativa totalmente oxidada y la especie de valencia mixta. Este mismo tipo de correlación podría establecerse en modelos, y a partir, de las características del complejo de valencia mixta inferir cuales serían las propiedades del centro binuclear en proteínas de cobre.

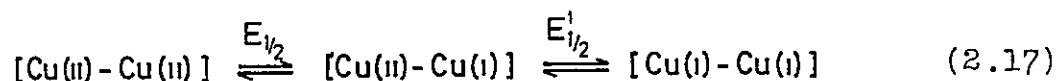
-En los compuestos de valencia mixta, por haber dos centros metálicos en distinto estado de oxidación, se produce una activa transferencia de electrones, cuyas propiedades químicas dependen de todo el contorno molecular que rodea los dos centros metálicos. De esta forma se puede obtener información sobre la comunicación energética que existe entre dos centros metálicos de una misma metaloproteína. En otras

palabras, aunque el centro binuclear de cobre (Tipo III) no sea en todo momento un compuesto de valencia mixta, sufre procesos redox, que podrían generar una especie transiente de este tipo; por otra parte, la Teoría de Hush descrita más arriba, permite obtener información sobre constantes de velocidad de transferencia de electrones (k_{th}), barrera energética en el proceso de transferencia (E_{th}), etc., que pueden ser extrapolables a lo que ocurre en las proteínas nativas, al tener un modelo adecuado.

- Relacionado al punto anterior se debe mencionar que el cálculo de λ_i y λ_S (que se describió en la Teoría de Hush a través de la ecuación (2.10)), permite estimar ΔG_i^\ddagger y ΔG_S^\ddagger o sea, la reorganización térmica de las esferas de coordinación interna y externa, respectivamente. Esto es de fundamental importancia desde un punto de vista de modelo, ya que ΔG_i^\ddagger representaría la influencia energética de los ligantes unidos al metal, mientras que ΔG_S^\ddagger puede correlacionarse al efecto de la cadena proteica y la proteína en sí, sobre la transferencia de electrones que está ocurriendo entre los centros metálicos.

2.3.- ESTUDIO ELECTROQUIMICO.-

Una de las propiedades que nos interesa estudiar del centro de cobre Tipo III en proteínas es su participación en la transferencia de electrones. Por lo tanto, para los modelos seleccionados debemos analizar el sistema de equilibrios redox:



en que el paréntesis cuadrado representa al centro metálico y todo su entorno de ligantes, y $E_{1/2}$ (o $E'_{1/2}$) representa el correspondiente potencial de reducción. O sea, se desea conocer electroquímicamente los valores de estos potenciales, a la vez de analizar la relación que existe entre ellos, ya que se pueden vislumbrar las siguientes alternativas:

2.3.1. $E_{1/2} = E'_{1/2}$: La transferencia de los dos electrones ocurre al mismo potencial, ya sea en forma secuencial ó "simultánea"*. (Algunos ejemplos de estos casos se presentaron en la Sección 1.5.).

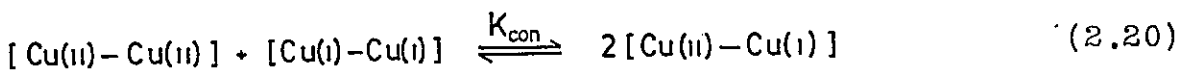
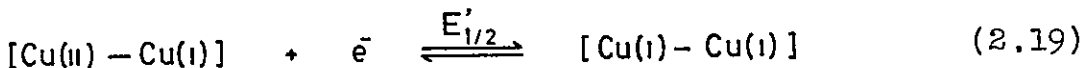
(*) En un sentido estricto, un proceso bielectrónico no puede ser simultáneo. La diferencia entre simultáneo y secuencial (al mismo potencial) es primordialmente de orden cinético-experimental, ya que si la velocidad de transferencia de los dos electrones es muy rápida, el instrumento de detección lo ve "como si fuera simultáneo".

2.3.2. $E_{1/2} \neq E'_{1/2}$: La transferencia de los electrones es secuencial y ocurre a potenciales distintos.

2.3.3. $E'_{1/2}$ muy alto, fuera de escala: No se alcanza a formar la especie Cu(I)-Cu(I) .

Dentro del contexto descrito más arriba, y siempre en el esquema de modelos, es interesante intentar dilucidar que factores tienden a aumentar el potencial redox en un binuclear de cobre, ya que se debe recordar que el centro Tipo III de cobre tiene un potencial redox anormalmente alto, si se le compara a compuestos inorgánicos comunes de Cu(II) .

Otro punto de interés de analizar a través de los resultados electroquímicos es la estabilidad termodinámica de las especies en juego en la ecuación (2.17), lo que permite cuantificar el porcentaje de especie de valencia mixta en solución en relación a las otras especies presentes. Una forma de obtener una información termodinámica a partir de datos electroquímicos es en función de la constante de conproporciónación^{20c}, K_{con} , que está definida^{22d,26} a través del cociente entre las concentraciones de la especie de valencia mixta y las formas totalmente oxidadas y reducidas de los respectivos dímeros. Para nuestro sistema, dicha constante queda representada por el siguiente sistema de ecuaciones:



y donde se cumple:

$$E_{1/2} - E'_{1/2} = 0,0591 \log K_{\text{con}} \quad (2.21)$$

$\Delta > 0 \Rightarrow K_{\text{con}} \text{ alta}$
 $\Delta < 0 \Rightarrow K_{\text{con}} \text{ baja}$

Por lo tanto, al conocer los potenciales $E_{1/2}$ y $E'_{1/2}$ se conocería la estabilidad termodinámica de la especie de valencia mixta frente a las formas oxidada y reducida que la limitan.

La técnica electroquímica que habitualmente se ha empleado en este tipo de sistemas es la voltametría cíclica, debido principalmente al amplio rango de potencial en el que es posible trabajar, además de la información cinética que se puede extraer de ella. En esta técnica, para un sistema reversible, o sea, un sistema en el cual ³⁰ tanto la especie oxidada como la reducida intercambian rápidamente electrones con el electrodo de trabajo conservando su identidad, el potencial redox se puede calcular a partir de los correspondientes

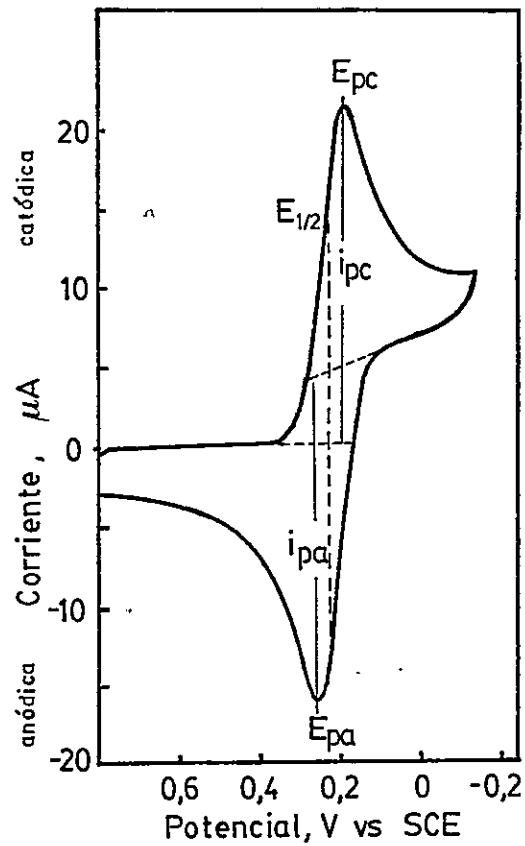
peaks anódico, E_{pa} , (de oxidación) y catódico, E_{pc} , (de reducción), según la relación:

$$E_{1/2} = \frac{E_{pa} + E_{pc}}{2} \quad (2.22)$$

Estos términos están especificados en la Figura 10, en que se presenta el voltamograma cíclico de $K_3Fe(CN)_6$, que se comporta reversiblemente. Debe hacerse notar que el término $E_{1/2}$ que aparece en la ecuación (2.22), para el caso reversible, coincide con el potencial de media onda polarográfico, y por consiguiente con el potencial formal para el proceso redox, E_o' , siempre que^{31b} los coeficientes de difusión de las especies oxidada y reducida se consideren iguales.

Para el caso irreversible, o sea, cuando el intercambio de electrones entre una o varias de las especies y el electrodo es lento con respecto a la difusión de la especie hacia el seno de la solución, la ecuación (2.22) ya no es válida. En este caso tiene importancia el parámetro α , o coeficiente de transferencia, verificándose³¹, a 25 °C, la ecuación:

$$|E_p - E_{p/2}| = \frac{47.7}{\alpha \cdot n \alpha} \text{ mV} \quad (2.23)$$



Condiciones : concentración : 6 mM ; Electrolito soporte : KNO_3 1M ;
 ν : 50 mV/s ; Electrodo de trabajo : Pt

FIGURA 10 : Voltamograma cíclico³⁰ reversible [$\Delta(E_{pc} - E_{pa}) = 59 \text{ mV}$]
para $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ con especificación de parámetros
 $E_{1/2}$; E_{pa} y E_{pc} .

en que:

- E_p = Potencial de peak anódico o catódico.
- $E_{p/2}$ = Potencial a la mitad de la altura del peak.
- α = Coeficiente de transferencia.
- n_α = Número de electrones involucrados en la etapa determinante del proceso redox.

La relación entre el potencial de peak y el potencial formal en un proceso irreversible es considerablemente más compleja que para el caso reversible, haciéndose principalmente dependiente de la velocidad de barrido, como se puede ver^{31b} en la ecuación:

$$E_p = E^{o'} - \frac{RT}{\alpha \cdot n_\alpha F} \left[0,780 + \ln \left(\frac{D_o^{1/2}}{k^o} \right) + \ln \left(\frac{\alpha \cdot n_\alpha F \cdot \nu^o}{RT} \right)^{1/2} \right] \quad (2.24)$$

con:

- E_o' = Potencial formal.
- D_o = Coeficiente de difusión de la especie oxidada.
- k^o = Constante de velocidad heterogénea standard.
- F = Faraday.
- ν^o = Velocidad de barrido.

Entre las dos situaciones extremas descritas más arriba, existe un comportamiento intermedio o cuasireversible, difícil de cuantificar.

Con lo mencionado anteriormente, se ve que es fundamental tener criterios para discernir si un proceso es reversible o no, siendo el aporte de Nicholson y Shain³² muy importante en esta área.

Un criterio de reversibilidad es la separación entre los peaks anódicos y catódicos en un voltamograma cíclico, ya que en el caso reversible se pueden presentar^{19b} las siguientes situaciones:

$$\Delta(E_{pc} - E_{pd}) = 59 \text{ mV} \quad (\text{proceso monoelectrónico})$$

$$\Delta(E_{pc} - E_{pd}) = 42 \text{ mV} \quad (\text{proceso bielectrónico secuencial})$$

$$\Delta(E_{pc} - E_{pd}) = 30 \text{ mV} \quad (\text{proceso bielectrónico "simultáneo"}^*)$$

En los dos últimos casos debe cumplirse que $E_{1/2} = E'_{1/2}$ en la ecuación (2.17). Un aumento en la magnitud de $\Delta(E_p)$ reflejaría una irreversibilidad del sistema, con respecto a la transferencia de electrones.

(*) Ver nota al pie de la página 41.

Por otra parte, para un proceso reversible, la intensidad de los peaks anódicos y catódicos es la misma, o sea:

$$i_{pa}/i_{pc} = 1 \quad (2.25)$$

mientras que en un proceso irreversible, lo anterior no se cumple.

Otro de los criterios que se puede mencionar aquí, es que la razón entre la intensidad de corriente y la raíz cuadrada de la velocidad de barrido es independiente de esta última, tanto para el proceso reversible como el irreversible.

El aporte de Nicholson y Shain³² va más allá de dar criterios de reversibilidad, y más bien apunta a predecir mecanismos de reacción, o detectar la presencia de reacciones químicas previas o posteriores al proceso redox mismo, estudiando el comportamiento de las variables descritas más arriba. Por ejemplo, aunque la razón $i_p/\nu^{1/2}$ (mencionada anteriormente) es independiente de la velocidad de barrido tanto para los procesos de transferencia de electrones reversibles como irreversibles, al existir un proceso químico adicional, $i_p/\nu^{1/2}$ muestra una dependencia con ν , que es característica para cada tipo de proceso. Esto, por lo tanto, permite sacar conclusiones con respecto al mecanismo de la reacción y entender en profundidad y en forma amplia el proceso redox.

Aparte de la voltametría cíclica, otras técnicas electroquímicas pueden complementar el estudio de modelos sintéticos de transferencia de electrones en metaloproteínas. Por ejemplo, la coulometría permite determinar experimentalmente el número de electrones transferidos en estos procesos de óxido-reducción, a la vez que por medio de una electrólisis a potencial controlado, se pueden sintetizar para su caracterización, las especies involucradas en las distintas etapas redox.

2.4.- COMPORTAMIENTO FRENTE A OXÍGENO.-

Por último, en esta parte introductoria, cabe mencionar que muchas de las proteínas que poseen un centro Tipo III están vinculadas^{29b} a procesos que involucran interacción con oxígeno molecular, (por ejemplo Hemocianina y Tirosinasa), por lo que también, desde un punto de vista de modelos, sería interesante analizar el comportamiento de éstos frente a oxígeno. En el caso particular de modelos para Hemocianina, que es la proteína transportadora de oxígeno en moluscos y artrópodos, (ver tabla 1), interesa ver la posibilidad que este modelo capte y entregue oxígeno reversiblemente, mimetizando así lo que le ocurre a la metaloproteína en dichos organismos.

3.- M A T E R I A L E S Y M E T O D O S E X P E R I M E N T A L E S.-

3.1.- REACTIVOS.-

Las sales de cobre comerciales utilizadas fueron todas de procedencia Merck p.a., al igual que el ligante MBTH, el que fue recristalizado en etanol antes de ser usado. Los ligantes MEA·HCl, (MEA)₂ y MMIm fueron adquiridos en la firma Aldrich Chemical Co., como también el electrolito soporte Tetrafluorborato de tetrabutilamonio.

3.2.- SOLVENTES.-

Todos los solventes utilizados fueron de procedencia Merck p.a. y se usaron sin previa purificación, excepto THF y Metanol.

3.2.1.- Purificación y secado de THF³³.

Se dejó reposar el solvente sobre KOH durante 2 a 3 días para eliminar peróxidos. Luego se sometió a reflujo sobre tiras de sodio, hasta que el solvente estuvo seco,

lo que se visualizó por un cambio de color de amarillo a azul al utilizar benzofenona como indicador. Finalmente se destiló el THF en atmósfera inerte.

3.2.2.- Secado de Metanol³⁴.

Este solvente se secó con tamices moleculares (3 A°) según el método estático, dejándolo reposar a lo menos 24 horas sobre el tamiz, (≈ 100 gramos de tamiz previamente activado a 300 °C por cada litro de metanol), para luego separar el solvente por destilación en ambiente de nitrógeno.

3.3.- GASES.-

Los gases ocupados fueron adquiridos en la firma Indura. El oxígeno fue utilizado directamente del cilindro, mientras que el nitrógeno se hizo pasar por un horno de cobre a ≈500 °C para eliminar restos de oxígeno.

3.4.- COMPUESTOS SINTETIZADOS*.-

3.4.1.- Perclorato de cobre, hexaaquo.-

Esta sal fue sintetizada haciendo reaccionar este queométricamente óxido cúprico y ácido perclórico en medio acuoso, bajo agitación constante, recristalizándola posteriormente en agua fría.

3.4.2.- Tetrafluorborato de potasio³⁵.

El compuesto se sintetizó disolviendo 5 gramos de NH_4BF_4 (ver síntesis en el punto 3.4.3) en 50 ml de agua caliente, agregando luego 2 ml de amoníaco concentrado y manteniendo a temperatura de ebullición hasta que no precipite más sílice proveniente de posibles impurezas (fluorosilicatos) de los reactantes. El líquido caliente se filtró recibiéndolo en una solución de 5 gramos de cloruro de potasio en 20 ml de agua, calentando la mezcla resultante hasta redisolución total del precipitado formado y enfriando finalmente la solución sobre hielo para separar los cristales de la sal de potasio.

(*) Las síntesis de los complejos de Cobre que fueron estudiados como potenciales modelos se encuentran descritas en el Capítulo 4, junto a su respectiva caracterización.

3.4.3.- Tetrafluoroborato de amonio³⁵.

Se mezclaron 30 ml de ácido sulfúrico con 50 ml de agua y se agregaron 12 gramos de ácido bórico, calentando para lograr disolución total. Al líquido bien agitado y aún caliente se adicionaron 30 gramos de fluoruro de amonio en pequeñas porciones, para luego completar la reacción colocándola sobre un baño de agua hirviendo durante 30 minutos. El producto cristalino se separó al enfriar en hielo, siendo posteriormente lavado con acetona para dejarlo libre de ácido.

3.5.- TECNICAS DE CARACTERIZACION.-

3.5.1.- Determinación del % de cobre^{38a}.-

Los complejos sólidos se destruyeron por un ataque sucesivo con ácido sulfúrico concentrado y ácido nítrico concentrado, en caliente. Luego se diluyó la muestra con

agua (para obtener ~20 mg de cobre por 100 ml de solución) y se llevó a un pH levemente ácido con hidróxido de potasio. Posteriormente se agregaron ≈ 0.5 gramos de nitrato de amonio y 4 a 5 gotas de indicador violeta de pirocatecol (0.1%), ajustando la acidez con amoníaco acuoso (≈ 0.5 M) hasta aparición de color azul. Finalmente se agregó uno a dos gramos de acetato de sodio y se tituló inmediatamente con solución de EDTA (10^{-2} M) hasta un color amarillo o verde amarillento.

3.5.2.- Análisis elemental.-

Las determinaciones de Carbono e Hidrógeno se hicieron en el Instituto de Química de la Universidad de Concepción, según técnicas de rutina.

3.5.3.- Determinación de Peso Molecular.-

Las mediciones de Pesos Moleculares se efectuaron con un equipo Knauer, formado por una unidad electrónica de medición de temperatura y un osmómetro de presión de vapor. Se construyó una curva de calibración (lectura vs molalidad) con ácido cítrico para soluciones acuosas y con bencilo para solventes no acuosos, determinando el P.M. de la sustancia desconocida por interpolación en el gráfico de calibración.

3.5.4.- Caracterización analítica de la especie Cu-MMIm.

Como el compuesto se generó en solución, no se le pudieron aplicar las técnicas de análisis detalladas en los puntos anteriores. Su estequiometría se determinó por un método espectroscópico, mezclando soluciones 2.5×10^{-2} M de cloruro cúprico dihidratado y MMIm en metanol, en distintas relaciones, observando la aparición de la banda característica del complejo (545 nm) y la desaparición de la banda de absorción de Cu^{2+} en metanol (lo que indica que todo el cobre está coordinado).

3.5.5.- Espectroscopía de absorción electrónica.

Los espectros de reflectancia (para muestras sólidas en suspensión de nujol) en la zona UV, visible e I.R. cercano, fueron tomados en un equipo Carl Zeiss Modelo DMR 22, mientras que los correspondientes espectros en solución se registraron en un equipo Perkin Elmer 450, o en un equipo Varian DMS 90 provisto de un registrador Varian Modelo 9176.

3.5.6.- Espectroscopía Infrarroja.-

Los espectros I.R. se tomaron en pastillas de Bromuro de Potasio o en suspensión de Nujol, con equipos Perkin Elmer modelos 700 y 621.

3.5.7.- Susceptibilidad Magnética.-

Las mediciones de susceptibilidad magnética se efectuaron, en sólido, utilizando el método de Faraday. En solución, el comportamiento magnético se estudió por el método de Evans^{38a}, con un espectrómetro RMN Varian XL-100, de 100 MHz.

3.5.8.- Resonancia Paramagnética Electrónica.-

Los espectros EPR se registraron con un equipo Varian 4502 con unidad de resonancia de 100 kilociclos, adosado a un registrador X-Y Hewlett-Packard 7004 B.

3.5.9.- Mediciones con Rayos X.-

Los diagramas de polvo de Rayos X se tomaron con una cámara Warhus de colimación puntual, (condiciones de operación: 45 KV, 25 mA), con película plana, utilizando radiación de $\text{CuK}\alpha$ filtrada con Níquel.

3.5.10.- Espectroscopía de Emisión.-

Los espectros de excitación y emisión se midieron con un equipo Perkin Elmer MPF 2A provisto de un registrador Hitachi QPD 33, ocupando soluciones de concentración $\approx 10^{-3}$ M.

3.6.- MEDICIONES DE REACTIVIDAD.-

3.6.1.- Mediciones con sensor de Oxígeno.-

Un esquema del equipo usado para determinar la concentración de oxígeno en la solución se presenta en la figura 11. Se utilizó un sensor YSI Modelo 5739 conectado a un equipo digital de medición de oxígeno YSI Modelo 58. Las mediciones se efectuaron de dos formas: a) Introduciendo la muestra sólida en solvente con oxígeno y registrando la captación de este gas por el complejo. b) Mezclando una solución de la muestra, preparada en ambiente de Nitrógeno, con solvente que contiene oxígeno, registrando también la desaparición del gas del seno de la solución.

En ambos casos se procuró que el volumen de la solución fuera tal que llenara completamente la celda, sellando sus conductos para impedir el intercambio gaseoso con el

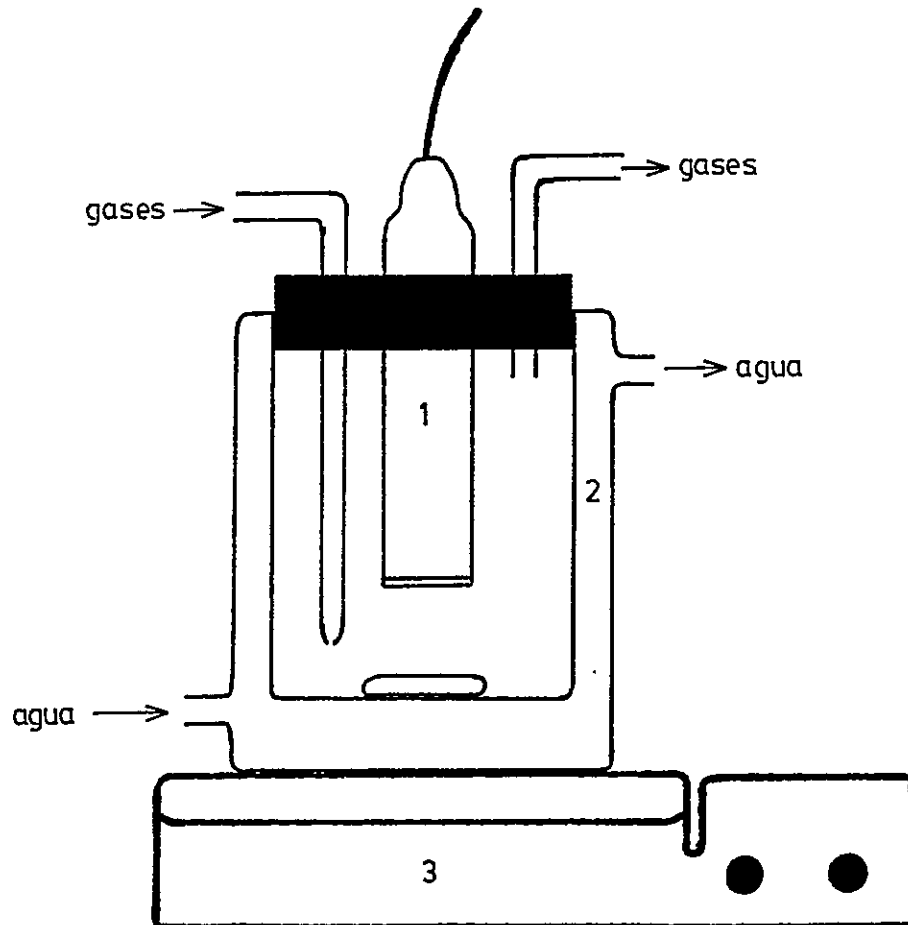


FIGURA 11 : Equipo de medición con sensor de oxígeno.

- 1 : Sensor de oxígeno
- 2 : Celda termostatizada
- 3 : Agitador magnético

aire. La fuerza iónica se ajustó a una concentración $\approx 0.01M$ con $(N\text{Bu}_4)\text{BF}_4$, comprobándose espectroscópicamente que este electrolito no afecta al sistema.

3.6.2.- Mediciones electroquímicas.-

Para efectuar las mediciones de voltametría cíclica, electrólisis a potencial constante y coulometría, se utilizó un potencióstato PAR 173 acondicionado con un módulo de detector de corriente PAR 176. Para las mediciones de voltametría se ocupó además un Programador PAR 175. La variación de potencial versus corriente o de corriente versus tiempo se registró en un inscriptor X-Y Watanabe WX 4301. Para la coulometría, el número de Coulomb se determinó gráficamente, del área bajo la curva i versus t .

La celda usada para la voltametría cíclica se presenta en la figura 12, mientras que la empleada para la electrólisis y coulometría se muestra en la figura 13. Para evitar la excesiva evaporación de solvente durante la electrólisis se interpuso entre la fuente de nitrógeno y la celda una precámara con solvente, para así saturar el gas utilizado para agitar la solución y eliminar la presencia de oxígeno.

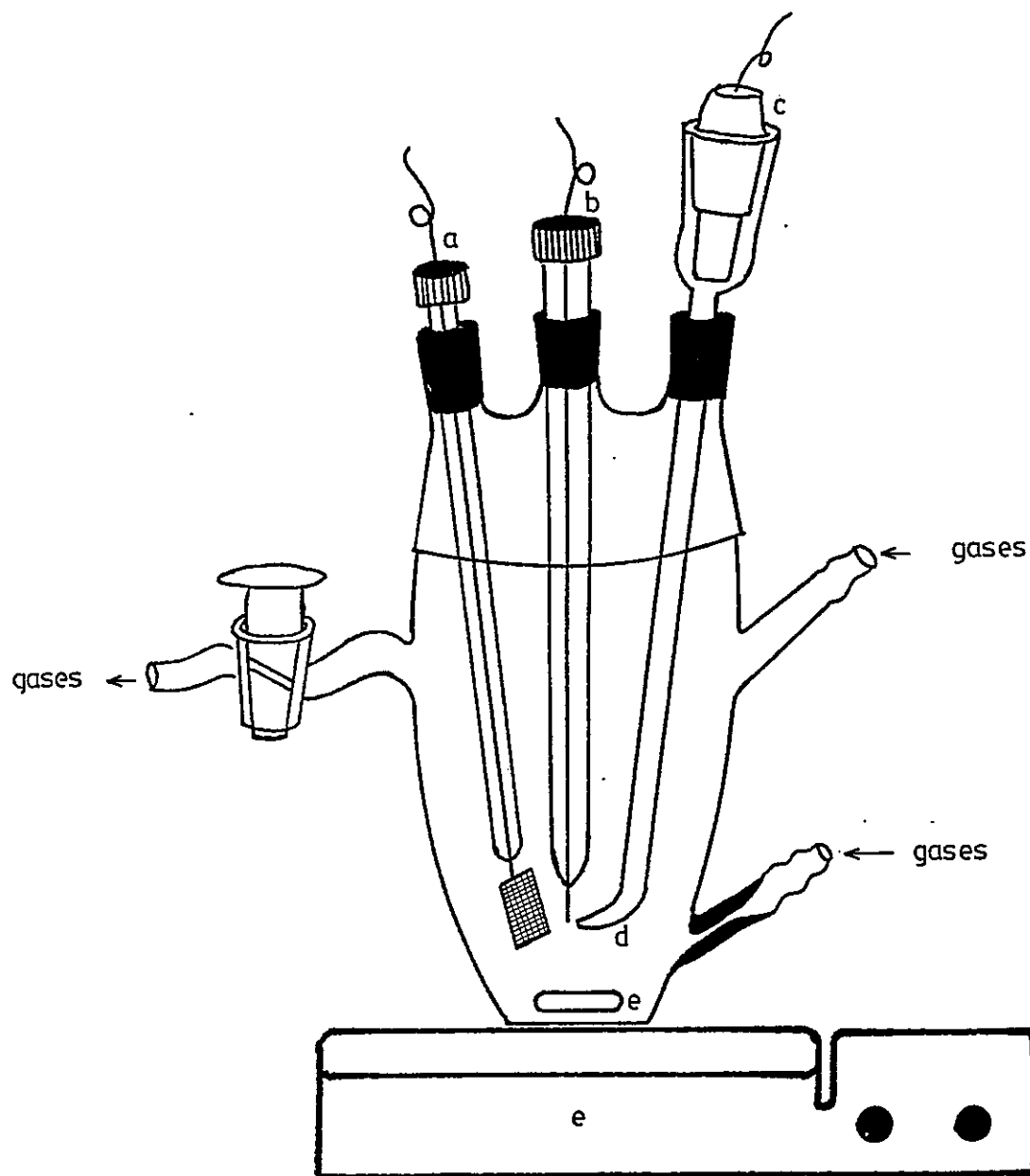


FIGURA 12: Celda para Voltametría Cíclica.

- a : Electrodo auxiliar : lámina de platino.
- b : Electrodo trabajo : alambre de platino.
- c : Electrodo referencia : calomelano saturado.
- d : Capilar de Luggin
- e : Agitación magnética

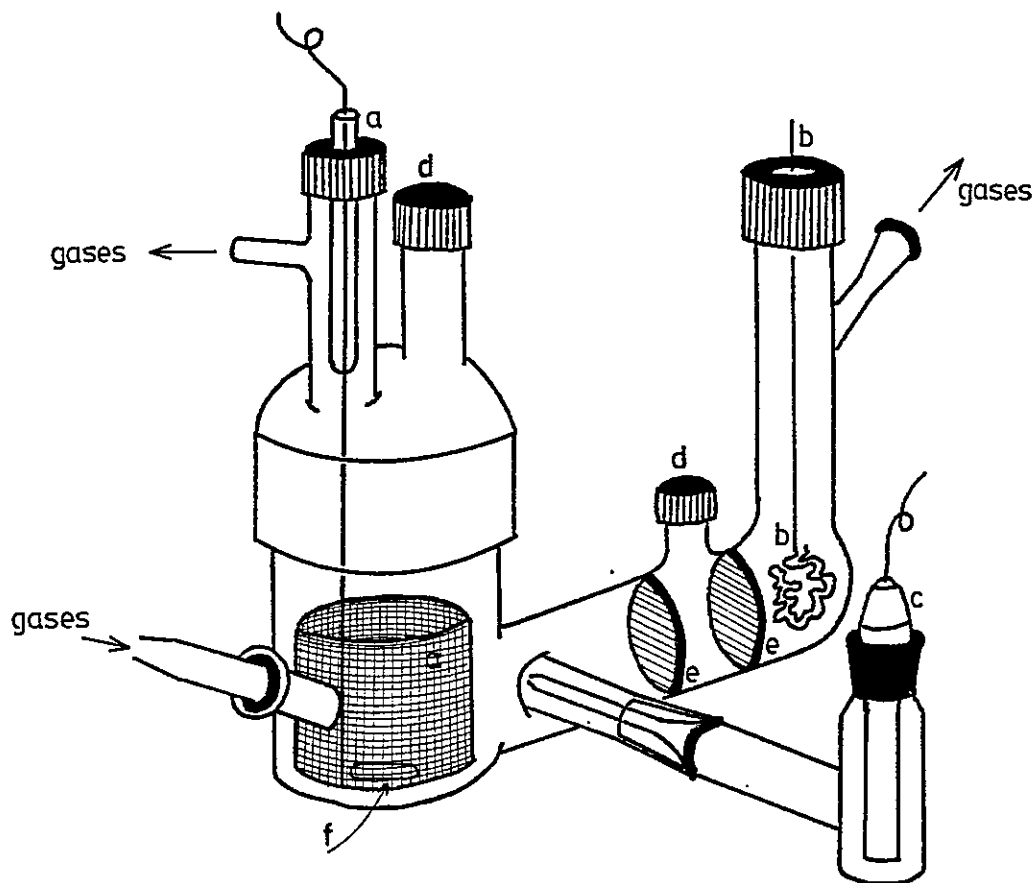


FIGURA 13 : Celda para electrolisis

- a : Electrodo trabajo : malla de platino
- b : Electrodo auxiliar : alambre de platino.
- c : Electrodo referencia : calomelano saturado.
- d : Tapas rosca.
- e : Fritas porosas .
- f : Agitación magnética

Con respecto a las condiciones experimentales utilizadas para efectuar las mediciones electroquímicas de los distintos sistemas, estas se encuentran esquematizadas en la tabla 5.

TABLA 5 : Condiciones experimentales para mediciones electroquímicas.

SISTEMA	SOLVENTE	ELECTROLITO SOPORTE (concentración)	CONCENTRACION COMPLEJO (M)
Cu-MEA	agua	(NBu ₄)BF ₄ (≈ 0,05 M)	1,5 × 10 ⁻³
Cu-MMIm	metanol	KBF ₄ (≈ 0,08 M)	3,125 × 10 ⁻³

4.- R E S U L T A D O S.-

En este capítulo se presentará la síntesis, caracterización y estudio de reactividad de los complejos de cobre generados a partir de los ligantes descritos en la Tabla 4.

4.1.- LIGANTE MBTH.-

4.1.1.- Síntesis de los complejos.-

Al hacer una revisión bibliográfica exhaustiva para la síntesis de compuestos de cobre con MBTH como ligante, se detectaron muchas discrepancias en cuanto a la postulación de la identidad de los productos resultantes, en especial en cuanto al estado de oxidación del cobre. Específicamente, Khullar y Agarwala^{36a} por una parte y El Shazly et. al.^{36b} por otra, sintetizaron un compuesto de cobre con MBTH, de momento magnético nulo a temperatura ambiente, para el cual sugirieron una especie polimérica de Cu^{2+} , de fórmula global $\text{Cu}(\text{MBT})_2$, y cuya estructura sería la mostrada en la Figura 14. Yoshida^{36c} cuestiona los resultados anteriores, diciendo que el compuesto sintetizado por Khullar y El Shazly corresponde a una fórmula global $\text{Cu}(\text{MBT})_3\text{H}_2\text{Cl}$, y en el cual el cobre estaría en un estado de oxidación 1^+ . A su vez,

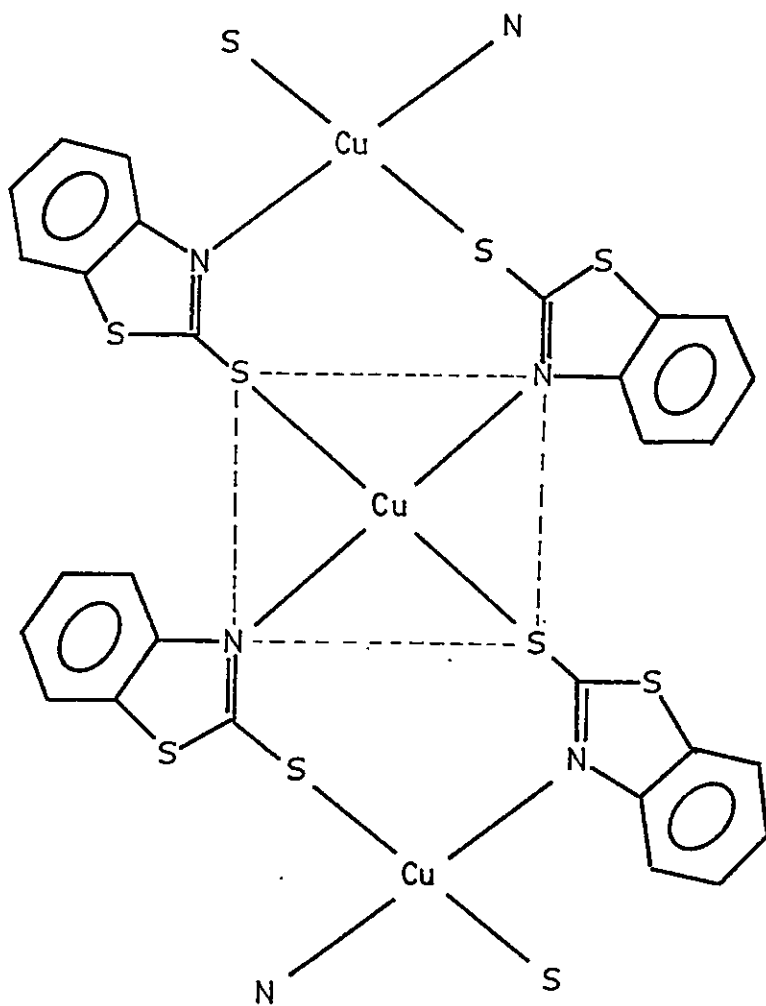


FIGURA 14 : Estructura postulada para el compuesto de Cu^{2+} con MBTH.^{36b}

Yoshida sintetizó otro producto, al que asignó una fórmula global $\text{Cu}(\text{MBT})_2$, postulando para el cobre presente también un estado de oxidación 1^+ , determinado por espectroscopía fotoelectrónica de rayos X.

Por otra parte Basson et. al.^{36d} sintetizaron otro compuesto, también de fórmula global $\text{Cu}(\text{MBT})_2$, pero de momento magnético igual a 0.77 M.B a temperatura ambiente, sugiriéndose para él la presencia de iones Cu^{2+} acoplados antiferromagnéticamente. Por último Jeannin et. al.^{36e} sintetizó un complejo de fórmula general $\text{Cu}(\text{MBT})_n$. (un polímero con una relación metal-ligante $1=1$), y en el cual se postula la presencia de Cu^{1+} .

Como puede verse, la literatura muestra cierta controversia y ambigüedad en cuanto a la identidad de las especies obtenidas y su estado de oxidación. Con el fin de obtener un dímero de cobre con MBTH coordinado a través de N.y/o S, (similar al postulado en la Figura 14), y además con el propósito de contribuir a aclarar la controversia descrita anteriormente, se efectuaron diversas síntesis, como se detalla a continuación.

S-1): Síntesis basada en Khullar^{36a} y El Shazly^{36b}.

Una solución de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.9 g, 5 m mol) en 50 ml etanol se agregó a una solución de ligante (1.7 g, 10m mol) en aproximadamente 80 ml etanol. Inmediatamente se observó la aparición de un precipitado amarillo, muy voluminoso, el cual fue digerido en un baño de agua durante aproximadamente una hora. El líquido sobrenadante se observó de un leve tono verdoso. Posteriormente el matraz de reacción se enfrió, separándose el precipitado por centrifugación, y lavándolo posteriormente repetidas veces con etanol caliente y éter. El complejo de color amarillo se secó al vacío sobre P_2O_5 , durante aproximadamente 24 horas. El rendimiento de la reacción es del orden de 70%, (calculado en base a un compuesto del tipo $\text{Cu}(\text{MBT})_2$).

Nota: Para este producto se intentaron obtener cristales, no lográndose el objetivo, por descomposición de la muestra en el tiempo, dando un producto verdoso.

S-2): Síntesis basada en Yoshida.

Una solución de MBTH (0.334 grs, 2 m mol) en 40 ml etanol, se agregó a una solución de $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0.2grs, ~1 m mol), en 25 ml de agua. El precipitado, de color naranja pálido fue digerido en un baño de agua durante 1 hora,

separándose, de la solución, por centrifugación, después de enfriado. Finalmente, se le lavó con agua y etanol. El rendimiento de la reacción es del orden de un 62%.

Síntesis según Basson^{36d} con solventes agua y etanol.

Con respecto a la síntesis descrita por el autor Basson^{36d}, ésta no es muy clara en cuanto al solvente utilizado, por lo que se intentaron dos caminos:

S-3): en agua.

$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (0.19 grs, ~ 0.8 m mol) se disolvió en 10 ml de agua, y se agregó gota a gota a una solución agitada de MBTH (0.291 grs, 1.74 m mol) en ~80 ml etanol. Se agitó la mezcla 10 a 20 minutos, concentrándola a un volumen menor y dejándola luego reposar.

El precipitado anaranjado se separó por centrifugación y se lavó con etanol, siendo el rendimiento estimado de la reacción de un 66%.

S-4): en etanol.

Se procedió exactamente como para el sistema S-3, sólo que la sal de cobre se disolvió en ~20 ml de etanol.

El producto resultante, de color naranja, se obtuvo con un rendimiento del orden de 70%.

S-5): Síntesis basada en Jeannin^{36e}.

Se obtuvo precipitado mezclando una solución de MBTH (0.167 grs, ~1 m mol) en cloroformo, con una solución de $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (0.370 grs, ~0.5 m mol) en agua. Como cloroformo y agua no son miscibles, la mezcla debe hacerse por medio de una agitación vigorosa en un embudo de decantación. El precipitado naranja oscuro obtenido se separa y se lava con alcohol y cloroformo, dejándose secar al vacío sobre pentóxido de fósforo. El rendimiento, estimado para un producto del tipo $\text{Cu}(\text{MBT})_n$, es de un 37%.

S-6): Síntesis del dímero del ligante^{36c}.

Por las razones expuestas más adelante, (ver 4.1.2), fue necesario sintetizar también este producto lo que se hizo, por oxidación de MBTH con agua oxigenada, en solvente etanol.

Un resumen de las síntesis efectuadas, junto a las características físicas y analíticas de los productos obtenidos, se presenta en la Tabla 6 .

TABLÁ 6 : Síntesis de complejos de cobre con ligante MBTH.

Síntesis (autor)	Sal de cobre (solvente)	Ligante (solvente)	relación M:L	procedimiento	características producto	% C	% H	% Cu	ref.
S-1 (Agarwala, El Shazly)	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (etanol)	MBTH (etanol)	1:2	reflujo (\approx 1 hr.) en baño de agua	polvo amarillo	43,08	3,18	9,74	36a,b
S-2 (Yoshida)	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ (agua)	MBTH (etanol)	1:2	reflujo (1hr.) en baño de agua	naranja pálido	45,68	3,11	10,91	36c
S-3 (Basson)	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (agua)	MBTH (etanol)	1:2,2	Cu se agrega gota a gota sobre ligante	naranja	50,31	2,94	1,91	36d
S-4 (Basson)	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (etanol)	MBTH (etanol)	1:2,2	Cu se agrega gota a gota sobre ligante	naranja oscuro	42,52	2,52	15,78	36d
S-5 (Yeannin)	$\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (agua)	MBTH (cloroformo)	1:2	agitación fuerte	naranja oscuro	38,03	2,46	25,31	36e
S-6 (Yoshida)	—	MBTH (etanol)	—	oxidación con H_2O_2	amarillo muy pálido	51,52	2,98	—	36c

NOTA : % teórico : $\text{Cu}(\text{MBT})_2$: %C = 42,3 ; %H = 2,0 ; %Cu = 16,0
 $\text{Cu}(\text{MBT})_3\text{H}_2\text{Cl}$: %C = 42,07 ; %H = 2,34 ; %Cu = 10,6

4.1.2.- Caracterización y reactividad de los complejos.

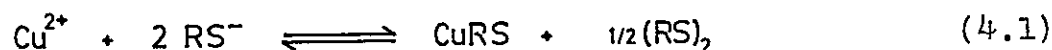
Todos los productos sintetizados con este ligante, en la forma descrita en la Tabla 6, resultaron ser altamente insolubles en la mayoría de los solventes no coordinantes, excepto cierta solubilidad de (S-1) en THF y una muy leve solubilidad de todos en DMF. (Estas características de solubilidad podrían indicar^{36e,40} una naturaleza polimérica para los compuestos). Ante este inconveniente no se pudieron caracterizar los productos por técnicas como determinación de peso molecular, técnicas redox convencionales, etc. Sin embargo, se les analizó por una serie de otros métodos, cuyos resultados se detallan a continuación.

4.1.2.1.- Susceptibilidad magnética y espectros EPR:

Las medidas de susceptibilidad magnética indicaron un momento magnético nulo para todos los compuestos estudiados, lo que fue corroborado por una ausencia de señal EPR, tanto en sólido como en solución diluida de THF, (para el sistema S-1).

Estos resultados podrían deberse a Cu^{2+} acoplado antiferromagnéticamente^{36a,36b}, o bien, a la presencia de cobre en

estado de oxidación 1+. La reducción del ión cúprico de los reactantes a Cu^{1+} implica la oxidación del ligante, a través de la reacción de Hemmerich⁴⁰:



generando así el dímero del ligante $(\text{MBT})_2$, que tiene la forma descrita en la figura 15. Por lo tanto la eventual detección de $(\text{MBT})_2$ en los productos de síntesis en estudio, sugeriría la presencia de cobre en su forma reducida. Por esta razón, se sintetizó el dímero del ligante independientemente, en ausencia de cobre, como se describe en la tabla 6, (sistema S-6), y se caracterizó en paralelo a los otros sistemas.

4.1.2.2.- Espectros IR: La interpretación del espectro IR de MBTH y de los compuestos de cobre con este ligante ha sido muy controvertida^{36a,36b,36c} y ambigua, pero como el objetivo de este trabajo está centrado en otros puntos, no nos detendremos en la asignación de las distintas bandas, sino que usaremos los espectros desde un punto de vista comparativo. En la figura 16 se presentan los espectros correspondientes a los sistemas (S-1), (S-2), (S-5), MBTH y $(\text{MBT})_2$ ó (S-6). Al observar el espectro del producto de la reacción (S-2) se ve que corresponde prácticamente a una superposición del espectro del dímero $(\text{MBT})_2$ y del producto de la reacción

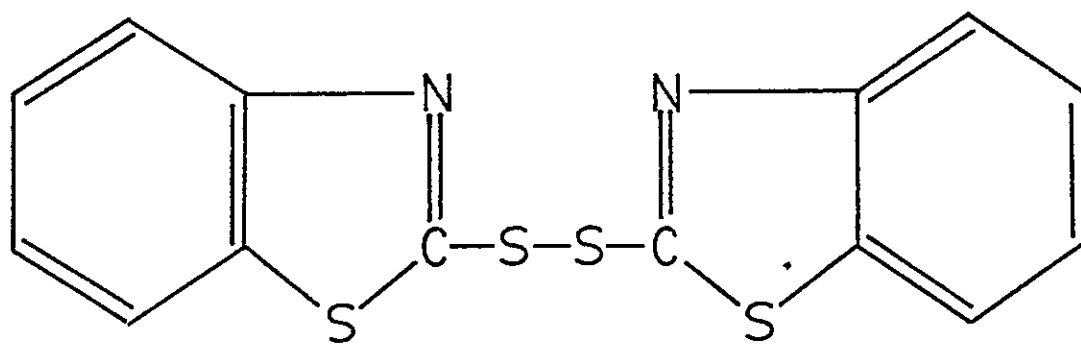


FIGURA 15 : Producto de oxidación de MBTH.

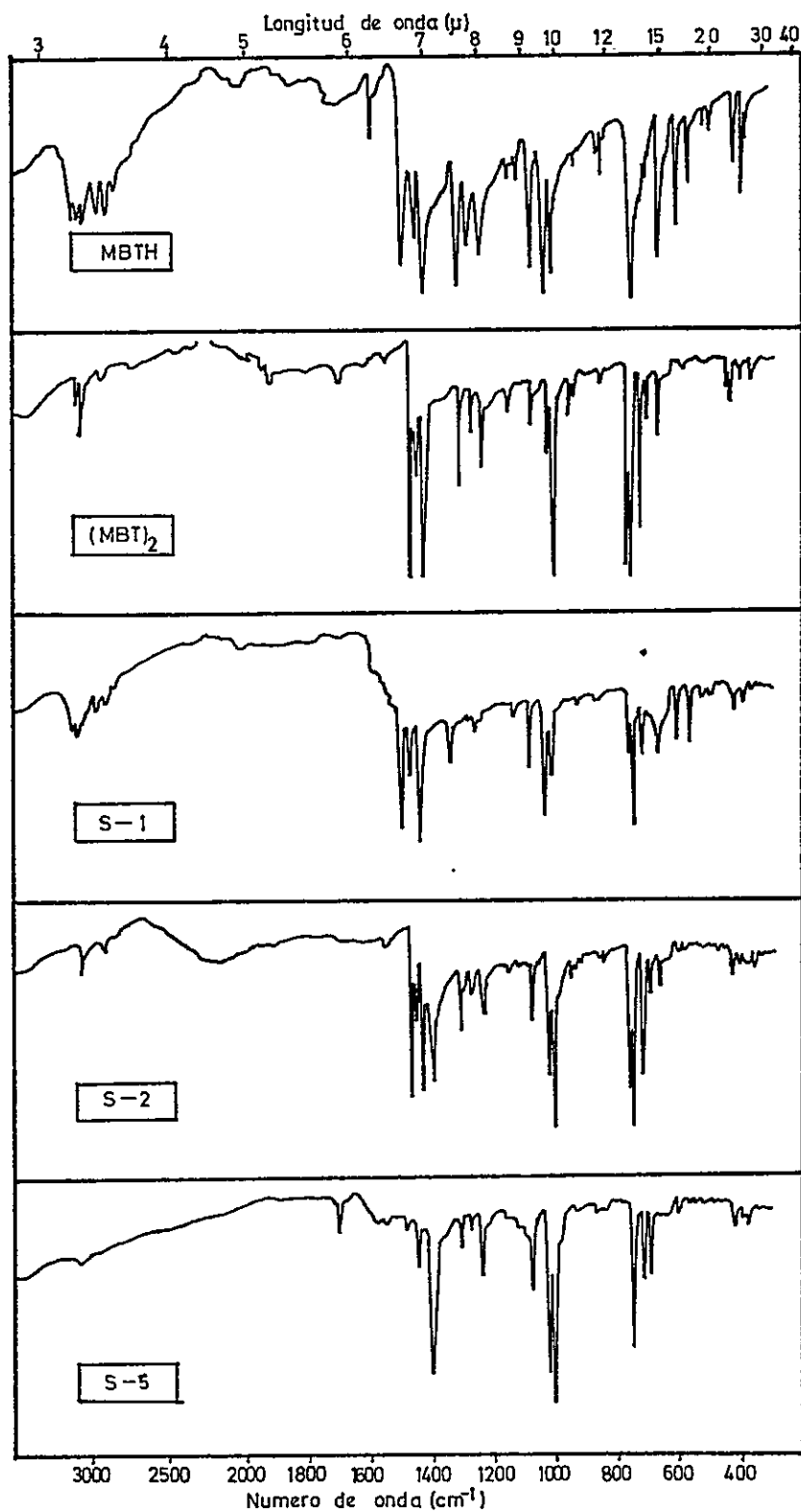


FIGURA 16 : Espectros IR para compuestos de cobre con MBTH.

(S-5). Espectros similares a éste se registraron para los productos obtenidos en las reacciones (S-3) y (S-4), variando sólo la intensidad relativa de los picks correspondientes a (S-5) y $(\text{MBT})_2$.

En cuanto al espectro correspondiente al producto de la reacción (S-1), vemos que es el único que conserva las bandas NH en la región de los 3200 cm^{-1} , y que además no presenta ninguna característica de dímero libre. Debe hacerse notar también, que el producto de la reacción (S-5) tampoco tiene similitud espectral alguna con el dímero (S-6), y en el se observa la desaparición total de las bandas NH y SH (sobre 2000 cm^{-1}).

4.1.2.3.- Espectros ultravioleta: Los espectros UV en solución muy diluida de DMF (o THF para S-1) muestran una intensa banda centrada en $\sim 330 \text{ nm}$ para los productos de las reacciones (S-1) y (S-5), como se puede apreciar en la figura 17. Esta banda, que es característica⁴¹ de MBTH monomérico, prácticamente desaparece en el espectro de los restantes compuestos. Un comportamiento idéntico se observa en los espectros UV de reflectancia de todos los sistemas. Debe hacerse notar que el hombro observado para los sistemas (S-2), (S-3) y (S-4) a $\sim 330 \text{ nm}$ es característico del dímero del ligante, $(\text{MBT})_2$.

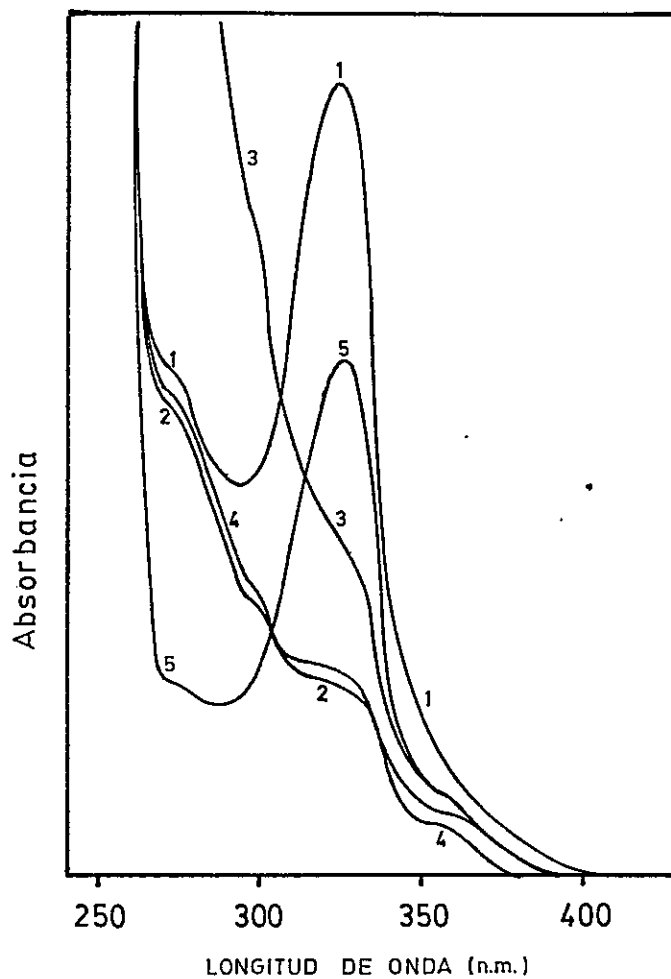


FIGURA 17 : Espectros de absorción ultravioleta para compuestos de Cu-MBTH en DMF.

CURVA	1	2	3	4	5
COMPUESTO	S-1	S-2	S-3	S-4	S-5

4.1.2.4.- Diagramas de polvo de difracción de Rayos X: Los diagramas de polvo de Rayos X, aparte de indicar la cristalinidad ó carácter amorfo de sólidos, han sido utilizados para verificar si se ha obtenido el mismo compuesto por distintos caminos de síntesis. Por lo tanto, se tomaron estos diagramas para todos los productos descritos en la tabla 6 y para el ligante, pudiendo observarse las siguientes características:

- Los diagramas para el compuesto (S-1), para el ligante MBTH y para su dímero $(MBT)_2$, reflejan una cierta cristalinidad de ellos, pero de naturaleza distinta en cada caso.

- El compuesto (S-5) es totalmente amorfo, no pudiendo distinguirse ningún halo u anillo en forma nítida en su diagrama de difracción.

- Los productos de las reacciones (S-2), (S-3) y (S-4) tienen características cristalinas similares al dímero $(MBT)_2$, acompañadas de cierta componente amorfa, que se va haciendo más notoria en el orden $(S-3) < (S-2) < (S-4)$.

4.1.2.5.- Espectros de Fluorescencia: La fluorescencia es una técnica muy sensible, aún a bajas concentraciones, por lo que pese a la poca solubilidad de los compuestos, se pudo aplicar en este caso.

En la figura 18 se muestra el espectro de excitación (curva a) para (S-1) en THF, observándose un máximo a 365 nm, con su correspondiente espectro de emisión (curva b), cuyo máximo se presenta a 420 nm. La fluorescencia de este mismo compuesto en DMF, como también la de los restantes sistemas en este solvente, tiene características similares, con pequeños desplazamientos en los máximos de excitación y emisión. Por otra parte, se comprobó que tanto los solventes como MBTH y (MBT)₂ no emiten en esta región.

4.1.3.- Análisis de los resultados de caracterización y reactividad.

La evidencia experimental detallada en la sección 4.1.2 permite detectar la presencia de Cu¹⁺ en todas las muestras. Las medidas de susceptibilidad magnética y EPR, la detección del dímero del ligante en los productos de reacción y la coloración, son muy sugerentes al respecto, pero la

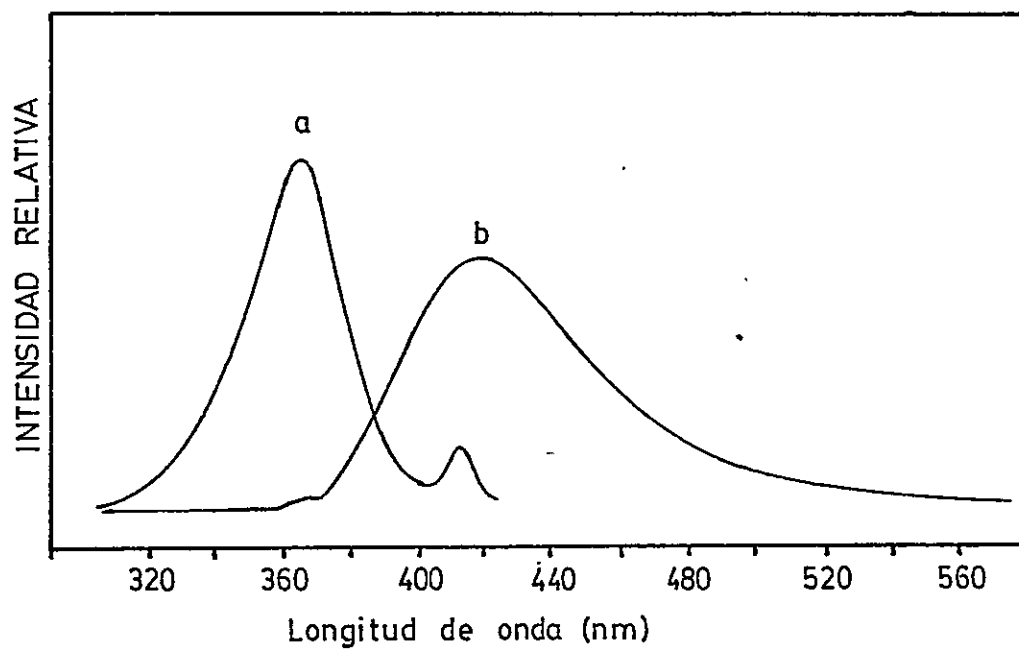


FIGURA 18 : Espectros de excitación (a) y emisión (b) para S-1 en THF.

detección de fluorescencia es concluyente. Se ha observado⁴² emisión de compuestos de Cu^{1+} con ligantes que permiten deslocalización electrónica, mientras que se sabe que compuestos de Cu^{2+} no emiten (aún más este ión es un excelente "quencher" de emisión).

Los espectros IR y los diagramas de polvo de Rayos X indican una mezcla de dos compuestos para los productos (S-2), (S-3) y (S-4). Uno de estos compuestos es el dímero del ligante, $(\text{MBT})_2$, ya que se observan sus características cristalinas en los productos obtenidos por estas reacciones como también sus peaks característicos de absorción en el IR. El otro compuesto (que representa la componente amorfa del producto) sería un compuesto de cobre, ya que la coordinación de cobre al dímero $(\text{MBT})_2$ estaría descartada por las características ya descritas de los diagramas de polvo. Este complejo sería análogo al obtenido en forma pura en la reacción (S-5) y debería contener a cobre en su estado de oxidación 1^+ .

La detección de esta mezcla de productos indica que las reacciones para obtener (S-2), (S-3) y (S-4) se han verificado según la ecuación postulada por Hemmerich⁴⁰ para la reducción de Cu^{2+} en presencia de mercaptidos, (ecuación 4.1),

lo que indicaría que el MBTH en solución se encuentra principalmente en su forma tautomérica tiol (ver tabla 4). Las condiciones experimentales determinan la proporción de uno u otro producto de reacción. La reacción (S-5) también procede según la ecuación (4.1), pero el dímero $(\text{MBT})_2$ es soluble en el solvente cloroformo, y de ahí que prácticamente no aparece en el producto final. Además, si se observan los datos de análisis elemental en la tabla 6, se puede ver que para (S-5) el porcentaje de carbono y el porcentaje de cobre corresponden aceptablemente con el porcentaje teórico (27.65% Cu, 36.6% C) de un compuesto Cu-MBT en relación 1:1, como se generaría por la ecuación (4.1).

Con respecto a las características de este último producto, su baja solubilidad sugiere una naturaleza polinuclear para él. A su vez, la ausencia de bandas asignables a SH ó NH en su espectro IR (2000 cm^{-1}) y la intensa banda observada en $\sim 1400 \text{ cm}^{-1}$ (que puede interpretarse como un reforzamiento del enlace C=N), demuestran la desprotonación del ligante al coordinar. Al tratarse de Cu^{1+} , la estructura más probable ya no sería la dada por El Shazly^{36b} suponiendo Cu^{2+} (ver figura 14), sino probablemente los centros de Cu^{1+} van unidos por puentes de S, tal como fue sugerido por Khan & Malik^{36f}. Es decir Cu^{1+} se asocia al monómero del MBTH (suposición que está apoyada por la banda U.V. característica de este ligante, que se observó para (S-5) a 330nm),

dando origen a especies polinucleares unidas por puentes de azufre. Por otra parte, los datos analíticos de la tabla 6 permiten cuantificar la relación en que se encuentran los productos de la ecuación (4.1) utilizando el sistema de ecuaciones:

$$a \cdot [\%C \text{ en } (MBT)_2] + b \cdot [\%C \text{ en } Cu(MBT)] = \%C \text{ en S-I} \quad (4.2)$$

$$a \cdot [\%Cu \text{ en } (MBT)] + b \cdot [\%Cu \text{ en } Cu(MBT)] = \%Cu \text{ en S-I} \quad (4.3)$$

Donde I puede tomar los valores 2, 3 y 4. Los resultados para los coeficientes de mezcla a y b (traducidos a porcentaje), aparecen en la tabla 7. Es notable la concordancia entre estos cálculos y lo predicho al analizar los resultados de los diagramas de polvo de Rayos X, en la sección 4.1.2.4.

Con respecto al producto de la reacción (S-1), se puede decir que también se trata de Cu^{1+} , ya que presenta fluorescencia. Sin embargo, aparentemente en este compuesto el Cl^- entra a formar parte de la red, de ahí que sus características espectrales y su estructura cristalina sea distinta a la de los otros productos. Esta hipótesis está en concordancia con lo postulado por algunos autores^{36c} y con lo observado⁴³ por Rayos X para productos análogos de Cu^{1+} con disulfidos en presencia de Cl^- . Al observar la tabla 6, se puede ver que la reacción (S-1) es la única que utiliza Cl^- como contraión de Cu^{2+} en los reactivos; la presencia de los otros

TABLA 7 : Porcentajes de los componentes en las mezclas obtenidas por las reacciones S-2 , S-3 y S-4.

REACCION	%(MBT) ₂ (a)	%Cu(MBT) (b)
S-2.	60,52	39,46
S-3	94,49	6,90
S-4	42,78	57,06

NOTAS :

(MBT)₂ : % Cu = 0 % ; % C = 50,574 %

Cu(MBT) : % Cu = 27,65 % ; % C = 36,6 %

contraiones usados se puede descartar por los espectros IR, donde no se ven los peaks que caracterizan a estos contraiones.

El análisis de la evidencia experimental detallado hasta el momento, permite caracterizar todos los productos de síntesis obtenidos para cobre con el ligante MBTH, pero a su vez demuestra que este ligante tiene gran tendencia a reducir totalmente al metal, no permitiendo la formación de un compuesto de valencia mixta, fundamental para esta tesis. A su vez, su baja solubilidad impidió generar electroquímicamente esta especie, o bien, hacer un estudio electroquímico detallado; de ahí que no se efectuaran mediciones de esta naturaleza.

En resumen, el trabajo con el sistema Cu-MBTH permitió cumplir uno de los objetivos planteados, en el sentido de probar fehacientemente el estado de oxidación del cobre en todos los productos generados con el ligante MBTH. a la vez de dar una luz sobre la identidad de las especies presentes. Con respecto al otro objetivo, el análisis de este sistema como modelo, los resultados obtenidos se discutirán más adelante, desde un punto de vista comparativo con los otros ligantes estudiados.

4.2.- LIGANTE MEA.-

4.2.1.- Síntesis de los complejos³⁷.

Se hizo reaccionar Cu^{2+} con este ligante, en medio acuoso, en distintas condiciones, (en presencia ó en ausencia de oxígeno, en un medio netamente reductor, etc), en la forma descrita a continuación:

A) Síntesis en presencia de oxígeno.

El ligante $\text{MEA}\cdot\text{HCl}$ (1.1361g, 0.01 mol), y $\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1.7048g, 0.01 mol) se disolvieron en 20 ml de agua. A esta mezcla se agregó gota a gota NH_4OH diluído, manteniendo una agitación constante. A pH 7 a 8 aparece un precipitado violeta, continuando la agitación por media hora. (El sobrenadante también se observó de un color violeta, denotando cierta solubilidad del producto obtenido, en agua). El producto resultante se separó por centrifugación y se lavó con agua y acetona, dejándolo secar al vacío sobre P_2O_5 .

B) Síntesis en presencia de oxígeno y en ambiente reductor.

El ligante $\text{MEA}\cdot\text{HCl}$ (1.1361 grs, 0.01 mol) se disolvió en 10 ml de agua y el pH de la solución se ajustó a 8

con NH_4OH . Posteriormente se agregó, gota a gota, 10 ml de una solución acuosa de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1.7048 grs, 0.01 mol), manteniendo una permanente agitación. Al agregar el metal en la forma descrita, el pH baja notoriamente, por lo que se le ajustó en forma periódica, con NH_4OH diluido, a un valor de 7 a 8, hasta que se observó la aparición de un precipitado, de color violeta. Después de la adición total de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ se agitó la solución durante una hora, separándose el producto por centrifugación, siendo lavado con agua y etanol, y secado al vacío sobre P_2O_5 .

C) Síntesis en ausencia de oxígeno.

Se efectuó en forma análoga a la síntesis A, pero manteniendo un ambiente anaeróbico por burbujeo constante de nitrógeno. El producto obtenido fué de color violeta.

D) Síntesis en ausencia de oxígeno y en ambiente reductor.

Se efectuó en forma análoga a la síntesis B, pero en ambiente anaeróbico, obteniéndose un polvo blanco.

Un resumen de las síntesis descritas, se presenta en la Tabla 8. En cuanto a los datos de análisis elemental, que aparecen en la tabla no se pudo determinar % de Carbono ni % de Hidrógeno, debido al alto contenido de cobre de los compuestos.

TABLA 8 : Síntesis de complejos de cobre con ligante MEA.

síntesis	Procedimiento ^(a)	ambiente	características producto	% ^(b,c) Cu
A	<ul style="list-style-type: none"> • Disolución simultánea de MyL • pH: 7-8 (NH₄OH) • Agitación : ≈ 1/2 hora 	O ₂	polvo violáceo-plomizo	44,87
B	<ul style="list-style-type: none"> • Disolución de L • pH : 8 • M se agrega gota a gota • Agitación : 1 hora 	O ₂ reductor	polvo violáceo-rojizo	46,44
C	<ul style="list-style-type: none"> • Disolución simultánea de My L • pH: 7-8 (NH₄OH) • Agitación : ≈ 1/2 hora 	N ₂	polvo violáceo	49,12
D	<ul style="list-style-type: none"> • Disolución de L • pH : 8 • M se agrega gota a gota • Agitación : 1 hora 	N ₂ reductor	polvo blanco	45,68

(a) M = CuCl₂ · 2 H₂O ; L = MEA · HCl ; SOLVENTE = H₂O ; RELACION M:L = 1:1

(b) ERROR EN LA DETERMINACION = ± 3%

(c) PORCENTAJE Cobre TEORICO PARA COMPUESTO Cu-MEA (= 1:1) = 45,16

4.2.2.- Caracterización y reactividad de los complejos.

Con este ligante se sintetizaron en distintas condiciones cuatro complejos (A, B, C y D), como se detallo en la tabla 8. Interesa comparar la naturaleza y comportamiento de todos los productos obtenidos, pero principalmente de A con C y de B con D, o sea, analizar la influencia de la presencia de oxígeno sobre productos obtenidos por síntesis análogas. En cuanto a la solubilidad de ellos, todos resultaron ser algo solubles en agua, (en una concentración del orden de 10^{-3} M) generando, en el caso de los productos A, B y C, un compuesto de color violeta pálido en ambiente de nitrógeno. Este color se va intensificando si a la solución anterior se le burbujea oxígeno (o bien, si se prepara directamente la solución en presencia de este gas), para finalmente descomponerse dando un precipitado verdoso. Para el compuesto D en ambiente de nitrógeno se obtiene una solución incolora, pero si la solubilización se efectúa en presencia de oxígeno, se observa una coloración violeta idéntica a la obtenida en el caso de los productos A, B y C. Para el compuesto D en solución acuosa y en ausencia de oxígeno se determinó un peso molecular (P.M) de 220 grs/mol, lo que indica un equilibrio entre una estructura monomérica y dimérica en solución, ($PM_{monóm} = 140,6$ grs/mol y $PM_{dim} = 281,2$ grs/mol).

En otros solventes relativamente polares, como DMSO y DMF, o más polares que agua, como Formamida, se observó un cierto grado de solubilidad de todos los compuestos en ambiente de nitrógeno, mientras que en presencia de oxígeno se produjo una descomposición de la muestra (especialmente en DMF), detectable por un cambio de color de violeta a verde.

4.2.2.1.- Susceptibilidad magnética y espectros EPR: Los espectros EPR de los sólidos A y C presentan una señal paramagnética evidenciada por una sola línea ancha anisotrópica, señal que se hace más notoria para la muestra B. El sólido D no tiene respuesta al EPR. Cualquiera de los sistemas en solución acuosa, ya sea en presencia o ausencia de oxígeno, no presentan señal.

Estos resultados concuerdan con mediciones de susceptibilidad magnética efectuadas para los compuestos B y D, en las cuales se pudo observar diamagnetismo total para la muestra D. En cambio el producto B tiene una respuesta paramagnética correspondiente a un valor de χ/gr de $1.985 \cdot 10^{-6}$ c.g.s, lo que equivaldría a un momento magnético efectivo de

1.02 MB. (si se considera al PM de B. igual al de D) o bien, un momento magnético por átomo de cobre de 0.77 MB, para una especie dimérica.

4.2.2.2.- Espectros IR y diagramas de polvo de Rayos X: Ambas experiencias fueron poco indicativas en cuanto a la caracterización de los compuestos, pero al igual que en el caso de los productos con MBTH, sus resultados fueron utilizados en forma comparativa. Se pudo así determinar, en base a la similitud de sus espectros IR, que los productos A y C serían prácticamente los mismos, o sea, la presencia u ausencia de oxígeno no afecta mayormente el resultado de la síntesis, si ésta se efectúa mezclando simultáneamente los reactivos, (ver tabla 8). Este resultado estuvo en concordancia con los diagramas de polvo de Rayos X, donde se observa que A y C tienen el mismo tipo de cristalinidad.

En cuanto a los productos B y D estos resultaron ser cristalográficamente distintos entre sí, como quedó evidenciado en sus diagramas de polvo, donde B se mostró amorfo mientras que D evidenció cierta cristalinidad. Por último, se debe mencionar que no se detectó en ninguno de los productos de síntesis la presencia del dímero del ligante, $(\text{MEA})_2$, al comparar el espectro y el diagrama de este compuesto con el de los productos A, B, C y D. Con el ligante MEA monomérico no se pudo obtener mucha información comparativa, ya que su alta

higroscopicidad impide, por ejemplo, su molienda e introducción en el capilar de difracción.

4.2.2.3.- Espectros electrónicos: Los compuestos A, B y C presentan en solución acuosa una banda ancha centrada en 500 nm, como se puede apreciar en la figura 19. Los correspondientes espectros de reflectancia poseen una banda de similares características centrada en la misma longitud de onda. En cuanto a los espectros en solución de DMSO, DMF y Formamida, se puede observar en ellos dos o más bandas u hombros, lo que indicaría la presencia de varias especies.

El compuesto D disuelto en ambiente de nitrógeno posee un hombro a ~ 330 nm ($\epsilon \approx 600$), como se puede apreciar en la figura 20 (curva a), y ninguna banda visible. Si se le burbujea oxígeno a la solución hasta obtener el color violeta se observa un descenso en la intensidad de la banda ultravioleta (curva b en la figura 20), y la aparición de la banda ancha ubicada a 500 nm. Si se sigue burbujeando oxígeno hasta descomponer el producto por oxidación total se observa la desaparición de la banda ultravioleta como se puede observar en la curva c de la mencionada figura. En cuanto al espectro de reflectancia del compuesto D, en él se puede observar en forma difusa el hombro en la zona ultravioleta, mientras que la zona visible se presenta absolutamente carente de señal.

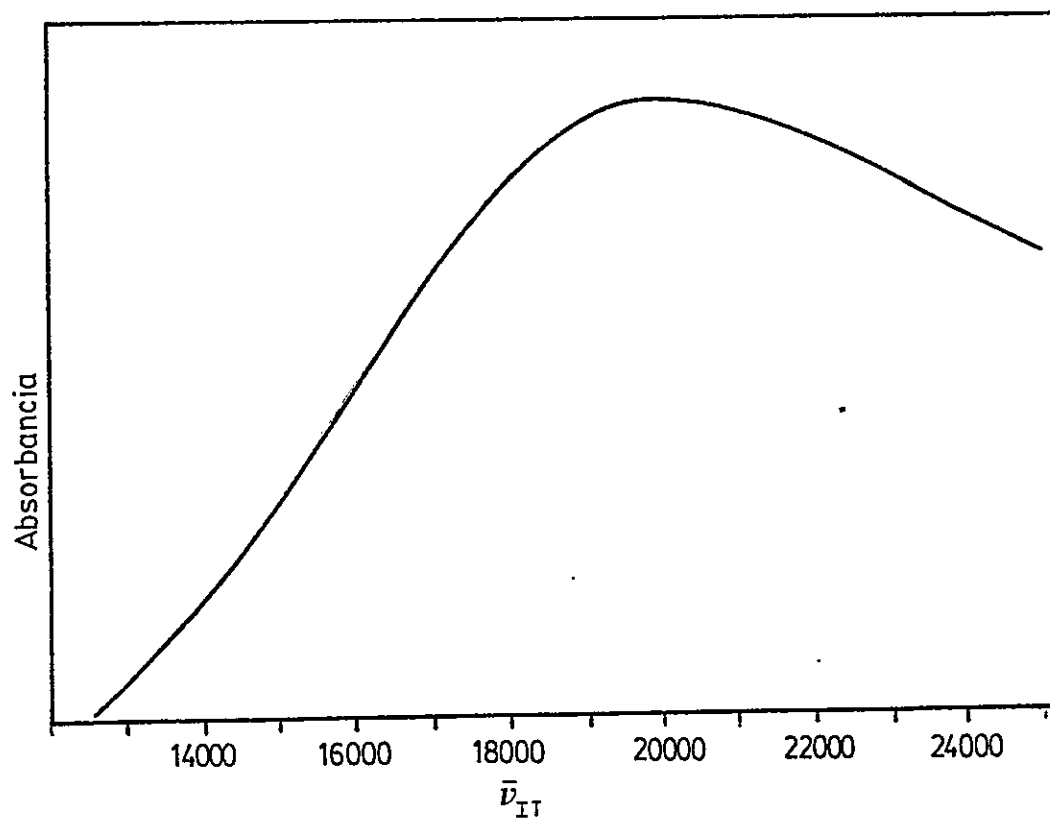


FIGURA 19 : Espectro de absorción visible para el sistema Cu-cisteamina

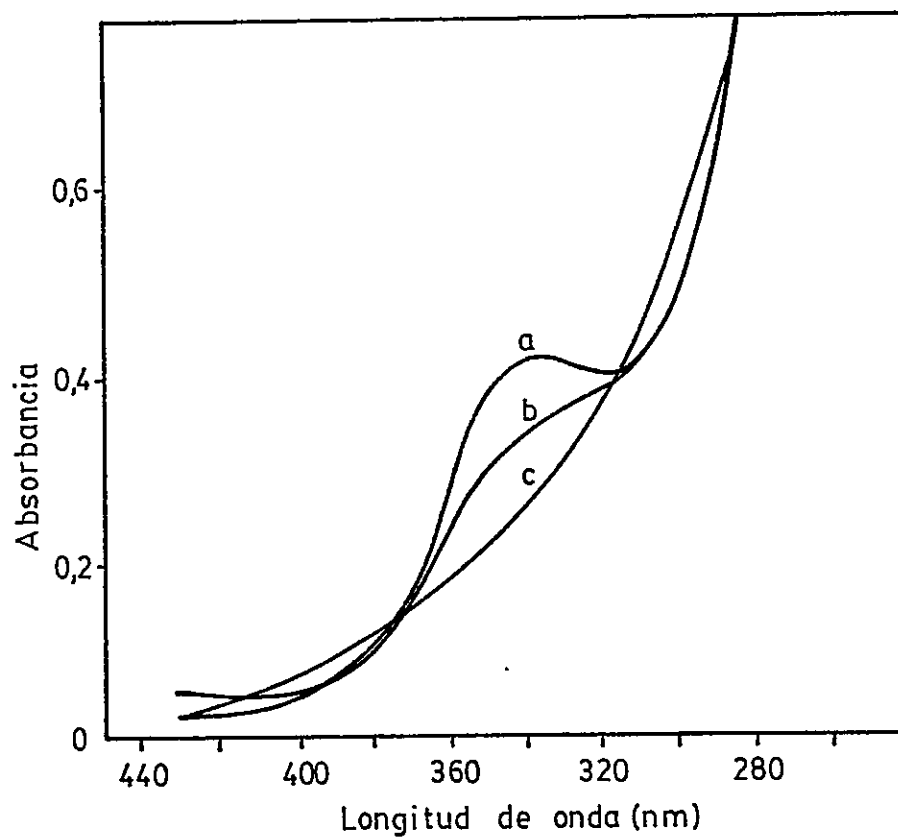


FIGURA 20 : Efecto del oxígeno sobre la banda UV del compuesto D.

- a) En ambiente de nitrógeno
- b) Después de burbujear oxígeno
- c) Después de oxidación total

4.2.2.4.- Comportamiento frente a oxígeno: Un fenómeno interesante se observó al estudiar en forma paralela los espectros electrónicos de estos compuestos en presencia y ausencia de oxígeno. Se pudo determinar que existe un cierto grado de reversibilidad en la captación y entrega (al burbujear nitrógeno) de oxígeno, lo que haría del sistema Cu-MEA un modelo potencial de la Hemocianina, que es la proteína transportadora de este gas en moluscos y artrópodos (ver tabla 1). Esta reversibilidad se puede visualizar espectroscópicamente siguiendo la banda visible a 500 nm, como se ve en la figura 21 donde se presentan dos ciclos de captación y entrega de oxígeno, para el compuesto D. Acá se hace notorio que el grado de reversibilidad se va haciendo menor a medida que aumenta el número de ciclos, quedando el compuesto finalmente destruido, después de varios ciclos sucesivos. Es importante destacar de este estudio, que el mayor grado de reversibilidad se logra en los primeros minutos de burbujeo de nitrógeno, como queda evidenciado por las curvas c y d de la mencionada figura. Se decidió, por lo tanto, intentar cuantificar este comportamiento con la ayuda de un sensor de oxígeno, buscando básicamente determinar la estequiometría de la reacción entre cobre y este gas. Este experimento y todos los posteriores se hicieron con el producto D, ya que es este compuesto el que presenta diferencias más marcadas en presencia o ausencia de oxígeno, es el de más clara caracterización y genera soluciones análogas a las de A, B y C en presencia de oxígeno.

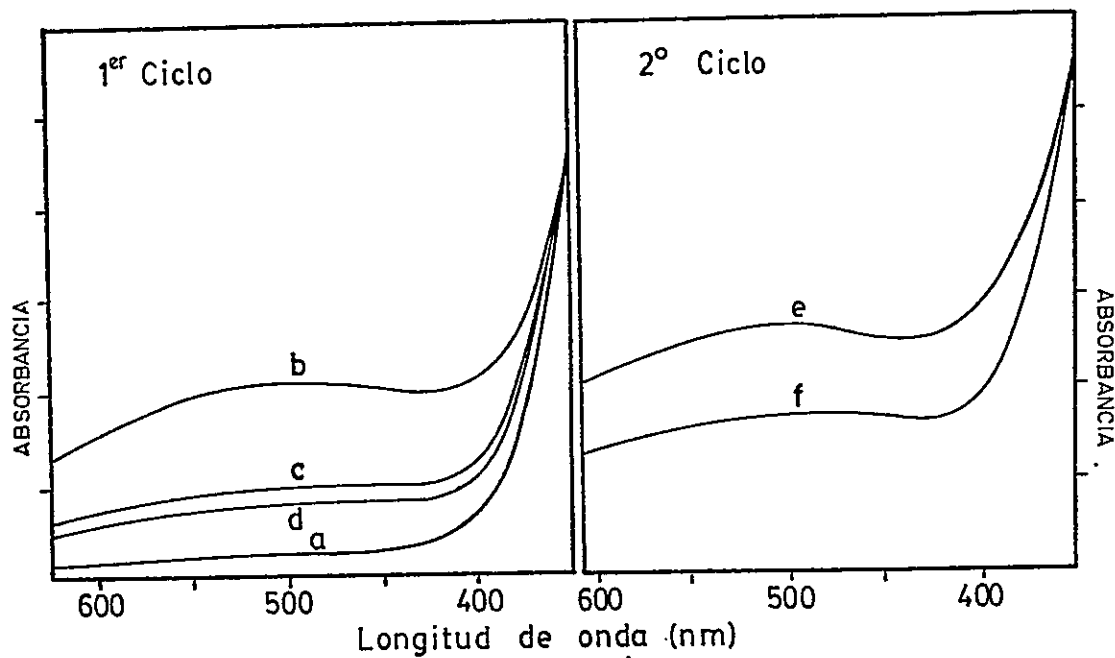


FIGURA 21 : Análisis de reversibilidad del compuesto D frente a oxígeno.

- a) Compuesto D disuelto en agua en presencia de N_2
- b) Idem (a) en presencia de O_2
- c) Idem (b) después de ~ 15 minutos de burbujeo de N_2
- d) Idem (b) después de ~ 2 horas de burbujeo de N_2
- e) Idem (d) en presencia de O_2
- f) Idem (e) después de ~ 15 minutos de burbujeo de N_2

El objetivo de las mediciones no se logró en su totalidad. debido a diversas razones, entre las cuales podemos destacar:

- Limitación en el rango de medición del sensor, (máximo de detección= 20 mg/lt. de oxígeno), lo que impide trabajar en condiciones de pseudo primer orden con respecto a oxígeno.

- Baja solubilidad de la muestra, lo que también impide obtener en buena forma condiciones de pseudo-primer orden con respecto al metal.

- En ausencia total de oxígeno se tiene en solución mayoritariamente una especie dimérica pero también una cierta componente monomérica de este metal, lo que introduce un equilibrio en solución.

Al ir captando la muestra oxígeno, el equilibrio anterior se ve afectado por la aparición de una nueva especie, que corresponde al compuesto de color violeta.

- La rápida descomposición del complejo frente a oxígeno, hace que mientras aún dura la captación del gas, ya se empieza a observar turbidez, indicativa de descomposición, lo que nuevamente altera los equilibrios en solución.

Los puntos mencionados anteriormente, explican por qué se hace prácticamente imposible obtener resultados con fiables y reproducibles en cuanto a la estequiometría Cu-O_2 . También debe mencionarse que se intentó conectar la celda termostaticada que contiene al sensor y la solución, (figura 11), directamente a la celda de un espectrofotómetro, por medio de una bomba peristáltica. Sin embargo, esto tampoco permitió mejorar los resultados, ya que se producen fuertes gradientes de temperatura lo que afecta la concentración de oxígeno en solución.

Pese a los inconvenientes detallados, las mediciones con el sensor permitieron observar, inequívocamente y en forma reproducible, las siguientes características para el comportamiento del sistema frente a oxígeno.

- Existe un aumento de la velocidad de captación con la fuerza iónica, por lo que se fijó ésta en 0.01 M.

- La desaparición de oxígeno de la solución, o sea, la captación de este gas por el complejo, ocurre en forma rápida, permaneciendo la solución incolora y sin bandas de absorción en la zona visible, mientras que la aparición de la especie violeta se detecta en un tiempo muy posterior.

- La presencia del oxígeno sigue mostrándose como fundamental para la generación de dicho compuesto coloreado.

Estos dos últimos puntos son antecedentes importantes en lo que respecta a la comprensión del comportamiento de la especie Cu-MEA, y serán entendidos mejor una vez que se detallen los resultados electroquímicos.

4.2.2.5.- Estudio electroquímico: Los estudios electroquímicos se efectuaron básicamente con el compuesto D. En la figura 22 se presenta el voltamograma cíclico, en ambiente de nitrógeno, de este compuesto, tanto para la oxidación de él, donde se observan peaks a 320 y a 540 mV, como para su reducción, donde se evidencia un sólo peak a -400 mV. Si se continúa el barrido por más de un ciclo, se observa la aparición de peaks profundos, característicos de un depósito metálico sobre la superficie del electrodo. Si a la solución anterior se le agrega oxígeno para generar la especie violeta el comportamiento voltamétrico es de la forma mostrada en la figura 23, donde se puede observar bastante similitud con el voltamograma anterior, con la diferencia que el potencial de equilibrio está desplazado hacia valores más positivos, el peak a 320 mV aparece reducido en intensidad, y el peak a -400 mV es más ancho y su máximo está menos definido.

Si se hace un barrido en un rango restringido de potencial, que impida el depósito metálico sobre la superficie del electrodo, se observa un comportamiento como el descrito en la figura 24. En ella se ve claro que en ciclos

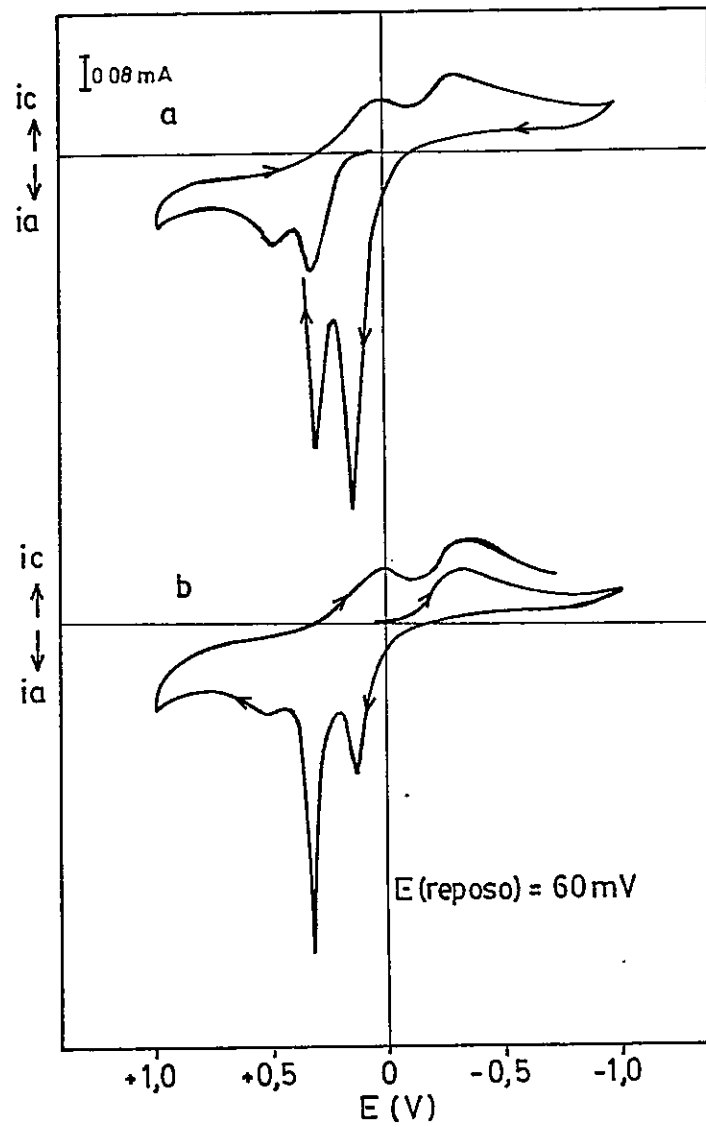


FIGURA 22 : Estudio voltamétrico ($\nu = 200 \text{ mV/seg}$) para el sistema Cu-MEA en ambiente de nitrógeno. (condiciones: tabla 5)

- a) Barrido inicial hacia potenciales positivos.
- b) Barrido inicial hacia potenciales negativos.

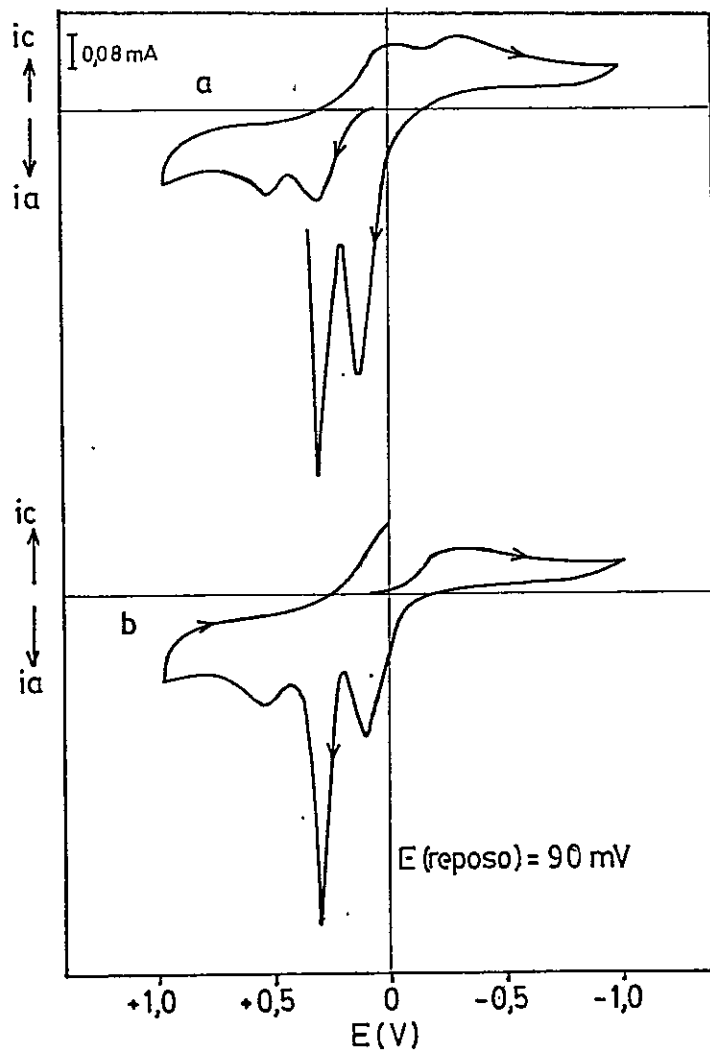


FIGURA 23 . Voltametría cíclica ($\nu = 200 \text{ mV/seg}$) del compuesto violeta Cu-MEA. (condiciones : tabla 5)

- a) Barrido inicial hacia potenciales positivos.
- b) Barrido inicial hacia potenciales negativos.

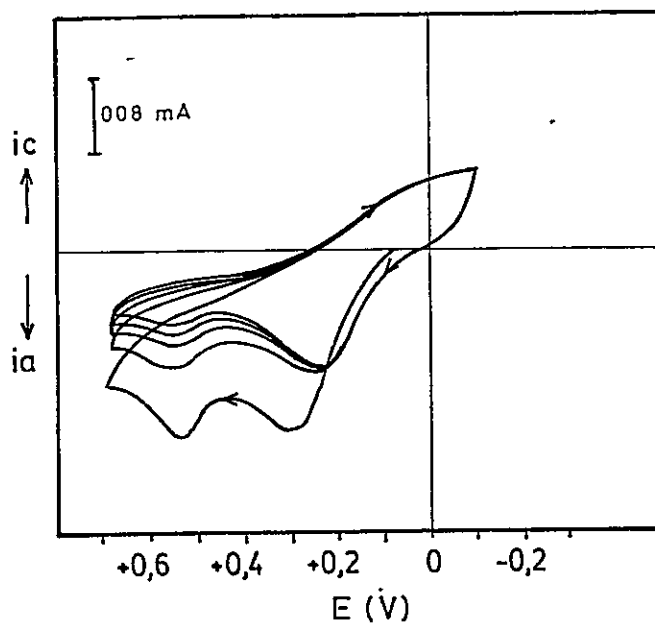


FIGURA 24 : Voltamograma en un rango restringido de potencial ($v = 200$ mV/seg) para el sistema Cu-MEA. (condiciones: tabla 5).

sucesivos, el primer peak de oxidación se regenera, pero en un potencial un poco desplazado, mientras que el segundo peak va desapareciendo.

La reversibilidad frente a oxígeno se ve reflejada también en la voltametría cíclica, como se ve en la figura 25 para los voltamogramas de equilibrio del compuesto D. Acá se puede apreciar que la diferencia fundamental entre el comportamiento del sistema en ambiente de nitrógeno (voltamograma (a)) y el del compuesto violeta generado con oxígeno (voltamograma (b)) es la relación entre las intensidades de los peaks característicos de depósito metálico. Al burbujear nuevamente nitrógeno (voltamograma (c)) se recupera bastante el comportamiento inicial, con la diferencia de que los peaks asociados al depósito metálico son ahora más profundos.

Para asignar los peaks se efectuó, para el sistema D generado en ambiente de nitrógeno, (figura 22), una electrólisis a potencial controlado y una coulometría para cada uno de los peaks, determinándose los siguientes resultados:

- Para el proceso de reducción se verifica la transferencia de un electrón por átomo de cobre, observándose un depósito de este metal sobre la malla de platino utilizada. El producto de electrólisis en solución no presenta bandas visibles ni ultravioleta asignables a cobre o a un complejo

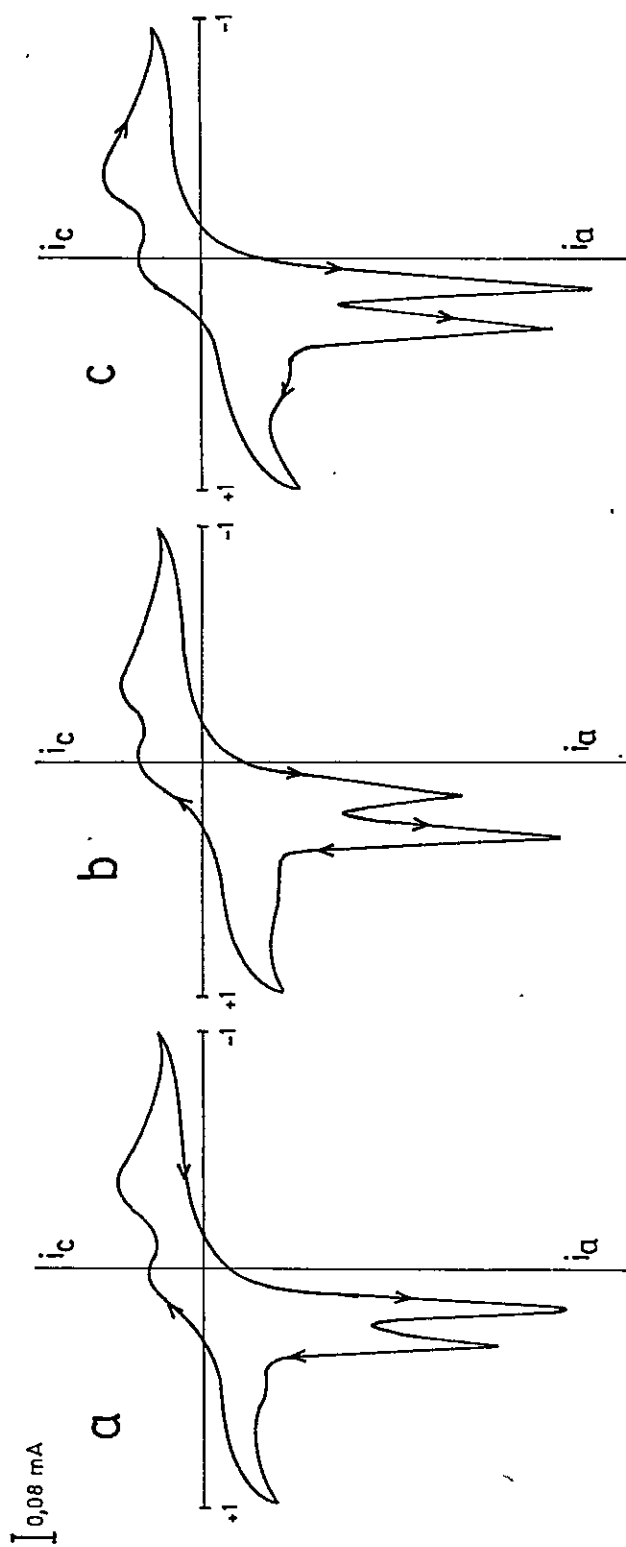


FIGURA 25 : Estudio voltamétrico de reversibilidad del compuesto D frente a oxígeno. (condiciones : tabla 5).

- a) En presencia de N_2 .
- b) Idem (a) en presencia de O_2 y posterior degasificación de la solución.
- c) Idem (b) después de 5 horas bajo burbujeo con nitrógeno

de él, siendo el voltamograma de este compuesto de la forma dada en la figura 26 a. Con fines comparativos se registró también el voltamograma del ligante MEA libre, el cual se presenta en la figura 26 b. Llama la atención en este último la aparición de un peak anódico, en una posición cercana al observado a 320 mV, para el complejo de cobre con MEA, por lo que se intentó analizar el comportamiento del ligante coordinado a un elemento electroquímicamente inerte. Se pensó inicialmente en Zn^{2+} , pero con este catión no se tuvo éxito, ya que se produce desprendimiento de gas en los electrodos haciendo imposible la medición. Sin embargo se coordinó MEA a Al^{3+} (que no puede presentar oxidaciones adicionales en el rango de trabajo) y se observó la desaparición de peak a ~ 300 mV, lo que indica que éste es característico de MEA libre, y no está relacionado al peak de oxidación del complejo de cobre con MEA.

- Para el primer proceso de oxidación, si se hace una electrólisis a ~ 350 mV, se observa inicialmente la aparición de color violeta evidenciando así la generación electroquímica de una especie de similares características a la formada en presencia de oxígeno, lo que se comprobó espectroscópicamente por la aparición de una banda a 500nm. Si se continúa la electrólisis, llega un momento en que el color violeta se va haciendo cada vez más tenue, hasta desaparecer por

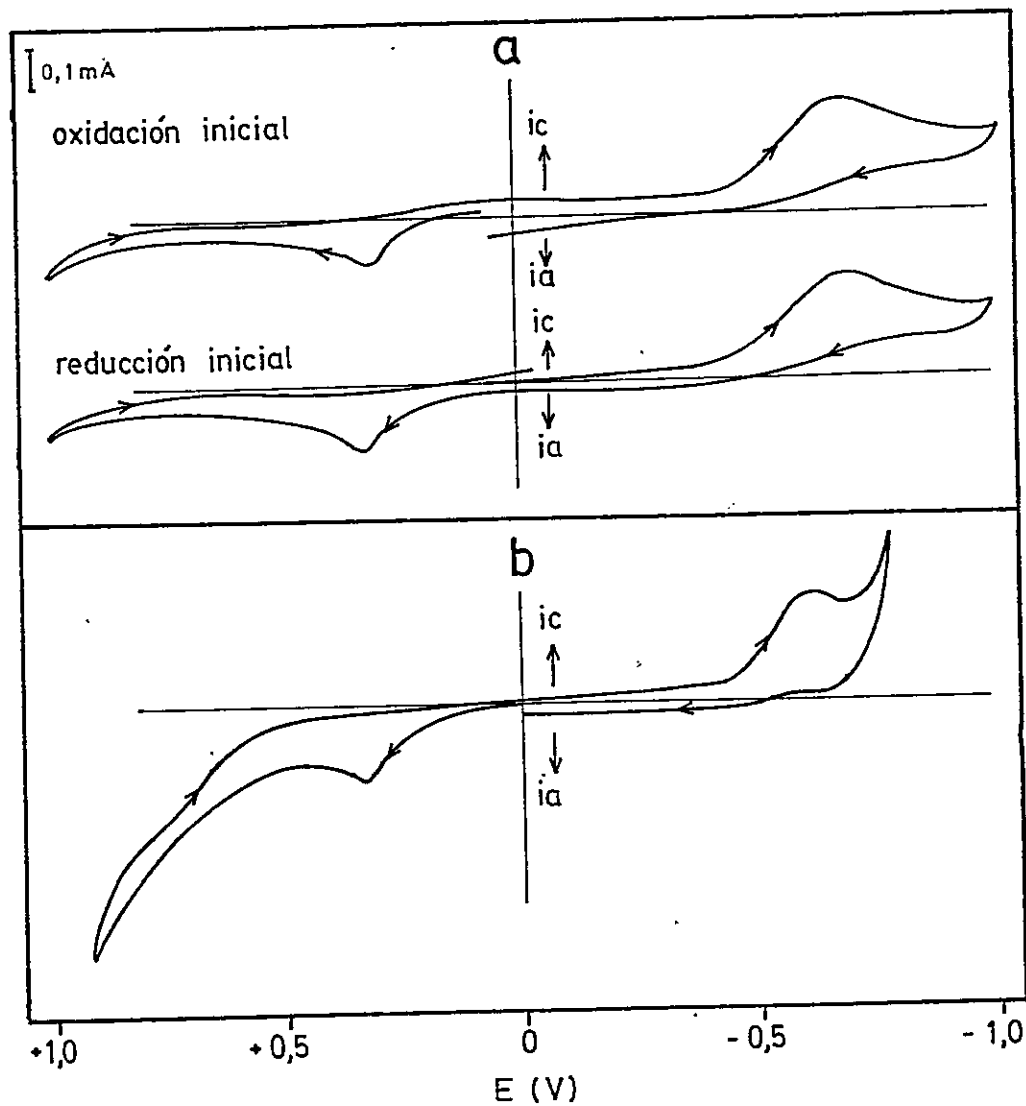


FIGURA 26 : Voltametría cíclica ($v = 200$ mV/seg) de :

- a) Productos de electrólisis catódica (-500 mV) para el sistema Cu-MEA.
- b) Ligante MEA libre.

completo, lo que indicaría la descomposición de la especie responsable del color.

- La coulometría para el proceso total anterior, indica que éste involucra un electrón por cobre. El producto final tiene un color celeste tenue, con una banda de absorción ubicada a ~ 810 nm y, con un comportamiento voltamétrico como el que se muestra en la figura 27. Acá se puede observar que en el primer ciclo de oxidación no aparece ningún peak, mientras que al revertir el ciclo, existen dos peaks de reducción. Debe hacerse notar también que este producto de oxidación electroquímica tiene muy profundos los peaks característicos de un depósito metálico sobre el electrodo.

- La electrólisis efectuada después del segundo peak de oxidación a 600 mV, arroja exactamente los resultados anteriores, es decir, la sucesiva aparición y desaparición del color violeta y la transferencia de un electrón por cobre en el proceso redox.

- Durante ambas electrólisis anódicas, se puede observar que la variación de la intensidad de corriente con el tiempo es inicialmente muy lenta, no exponencial, para decaer bruscamente hacia el final de la medición.

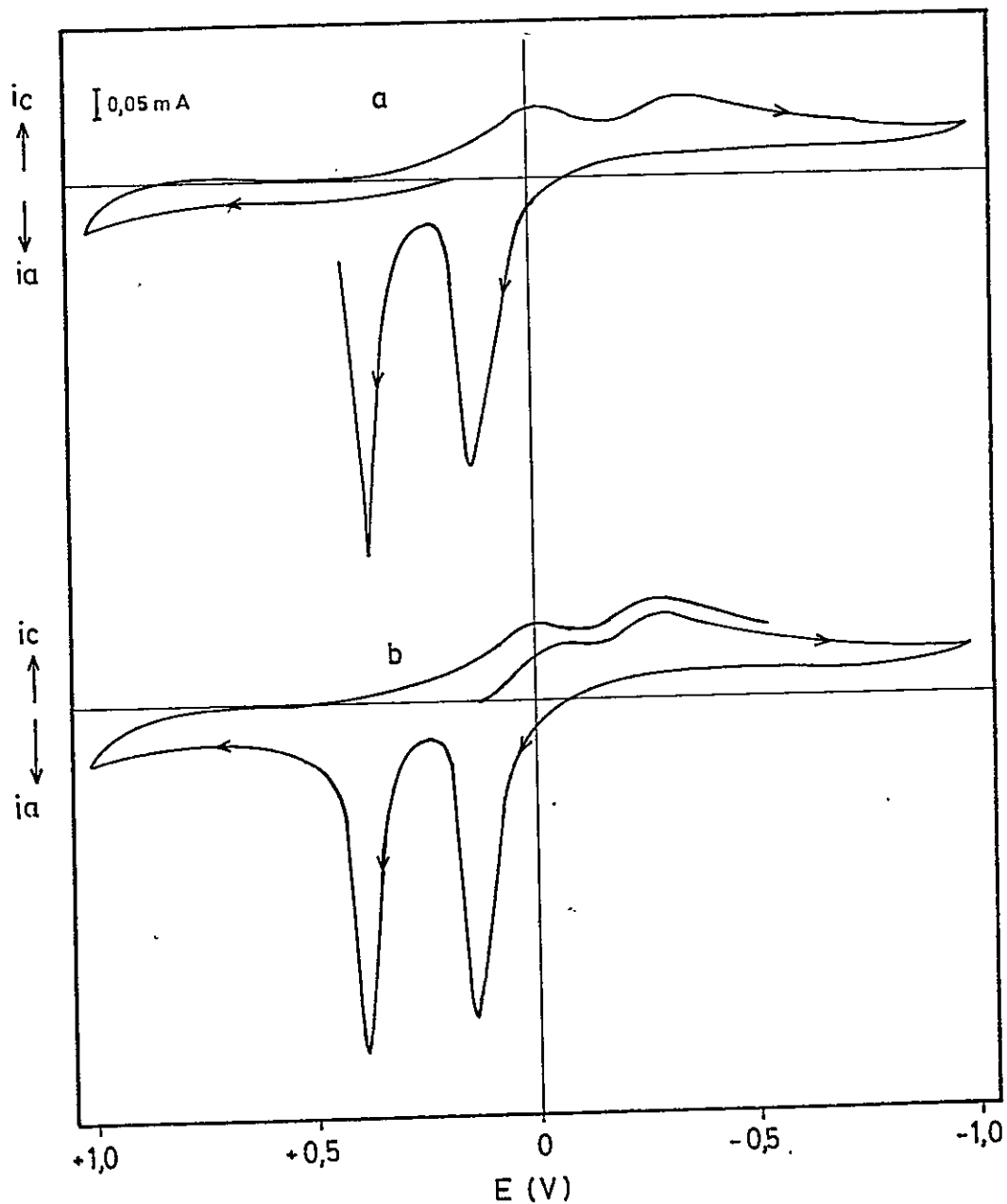


FIGURA 27 : Voltametría cíclica ($\nu = 200$ mV/seg) de producto de electrólisis anódica (+350 mV) para el sistema Cu-MEA.
a) Barrido inicial hacia potenciales positivos.
b) Barrido inicial hacia potenciales negativos.

4.2.3.- Análisis de los resultados de caracterización y reactividad.

La caracterización más importante para los fines de la presente tesis es la de las especies en solución, tanto en presencia como en ausencia de oxígeno. Por lo tanto, el estudio de los sólidos se limitó y orientó básicamente hacia este fin. Se trabajó exclusivamente en soluciones acuosas, ya que en los otros solventes se genera más de una especie (ver sección 4.2.2.3), lo que dificulta su caracterización.

En el contexto antes descrito son decisivos los resultados espectroscópicos, ya que nos indican los siguientes aspectos:

- La especie en solución en presencia de oxígeno, caracterizada por la banda ancha a 500 nm se encuentra también presente en los sólidos A, B y C. Como estos sólidos son de color violeta al igual que la solución anteriormente mencionada, podemos asociar este color a dicha banda visible.

- La similitud espectral entre los sólidos y la solución permite decir que las especies se conservan al disolverlas.

- La muestra D en estado sólido coincide con la de la disolución acuosa en ambiente de nitrógeno de este compuesto. A su vez, la especie generada al agregar oxígeno a la solución anterior es la misma que la obtenida al disolver las especies A, B y C.

El análisis de los resultados espectroscópicos anteriores, por una parte, justifica una correlación entre las características de las especies en estado sólido y en solución. Por otra parte, demuestra la importancia de caracterizar detalladamente la especie D, ya que es la que pudo ser trabajada tanto en ambiente de nitrógeno como de oxígeno. Con respecto a esto, su carencia de señal al EPR, su diamagnetismo, su color y sus datos espectroscópicos indican la presencia de cobre en estado de oxidación $1+$, tanto en sólido como en solución carente de oxígeno. Por otra parte el porcentaje de cobre en esta muestra (tabla 8) corresponde a un compuesto en relación $M:L=1:1$ ($\% \text{ Cu teóricico} = 45,16$). A su vez, la determinación de PM indicó un equilibrio entre una estructura monomérica y dimérica en solución (ver sección 4.2.2), con una mayor contribución de la especie dimérica. Esto concuerda con lo postulado en literatura⁴⁴ en el sentido que ligantes que tienen posibilidad de formar anillos de cinco miembros por medio de una quelación, generan especies diméricas de gran estabilidad. En el caso del ligante MEA, la especie tendría la forma detallada en la figura 28, en que las posiciones libres las ocupa el solvente. Luego, las características del compuesto D hacen pensar que se trata de un compuesto de Cu^{1+} en cuya síntesis se ha verificado también la reacción de Hemmerich (ecuación 4.1) pero a diferencia del dímero $(\text{MBT})_2$, el compuesto $(\text{MEA})_2$ es soluble en agua y no contamina el producto de cobre.

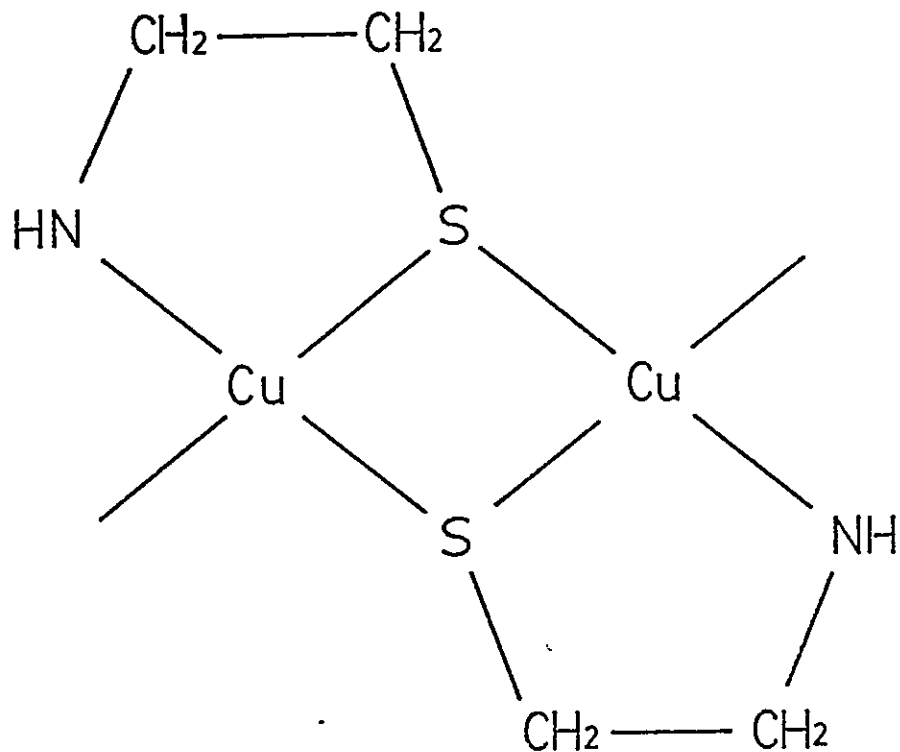
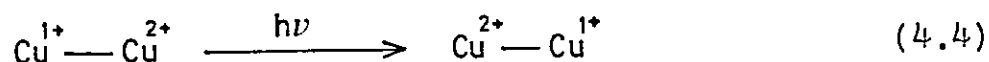


FIGURA 28 : Dímero generado por síntesis con ligante MEA.

Con respecto a las propiedades de los compuestos violeta, los espectro EPR de las muestras A, B y C sólidas, al tener una sola banda ancha pueden interpretarse^{29c} como debido a la presencia de un compuesto de valencia mixta del Tipo II según la clasificación de Robin & Day^{22a}, o bien debido a la presencia de una especie dimérica de Cu(II), con fuerte interacción o deslocalización total. Ambas interpretaciones concuerdan con la ausencia de señal (EPR) de la

especie violeta en solución, donde efectos como ensanchamiento dipolar de una banda se ven magnificados lo que puede llevar a una desaparición de ella. También la interpretación concuerda con el valor de momento magnético obtenido para la especie B sólida, que es inferior al esperado para un compuesto de Cu(II) (μ teórico=1,73 M.B.), lo que reflejaría un valor promedio en el caso de un compuesto de valencia mixta, o bien un acoplamiento antiferromagnético en el caso de un dímero de Cu(II). Sin embargo, la presencia de peaks de oxidación en el voltamograma del complejo violeta (figura 23) descarta la presencia de una especie totalmente oxidada. Este resultado unido a los antecedentes bibliográficos^{15, 29c, 40, 44}, el color violeta característico y la inestabilidad al aire, permiten decir que la especie corresponde a una de valencia mixta del Tipo II.

Con respecto a la asignación de las bandas electrónicas, se puede decir que la banda a 500 nm, como ya lo mencionáramos anteriormente, se asocia al color violeta, y por lo tanto corresponde a una banda de intervalencia del compuesto de valencia mixta, es decir, a la transición de un electrón desde Cu^{1+} a Cu^{2+} en este compuesto:



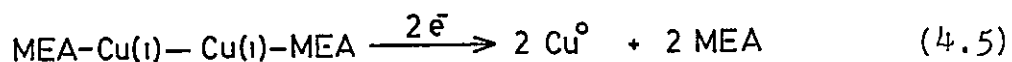
en la forma en que se detalló en el capítulo 2. En cuanto al hombro a 330 nm, tradicionalmente¹⁸ una banda de este tipo se ha asociado a dímeros de cobre, pero también existen muchos

casos de literatura⁴⁵ en que en esta región se observa una banda de transferencia de carga $M \rightarrow S$ (en especial para $Cu \rightarrow S$ y $Fe \rightarrow S$). En nuestro caso, ambas interpretaciones concuerdan con los resultados experimentales, (especie dimérica en la cual existe un enlace Cu-S, según la figura 28), pero el alto valor de ϵ de la banda y su comportamiento frente a oxígeno (ver figura 20) inclinan a pensar que se trata de una transferencia de carga $Cu^{1+} \rightarrow S$.

Resumiendo entonces, los resultados de caracterización permiten decir que se tiene en solución una especie mayoritariamente dimérica, que en ausencia de oxígeno, (especie D), es un compuesto de Cu^{1+} , probablemente con una coordinación Cu-S. El compuesto violeta generado en presencia de oxígeno, corresponde a un compuesto de valencia mixta, el cual posee una transición de intervalencia ubicada a 500 nm. En base a estos antecedentes de caracterización se pueden ahora analizar los resultados electroquímicos y de reactividad frente a oxígeno, como se detalla a continuación.

Para el proceso de reducción a -400 mV (figura 22) de la especie D en ambiente de nitrógeno, el voltamograma del producto final de electrólisis tiene mucha analogía con el del ligante MEA libre, como se puede ver al observar la figura 26.

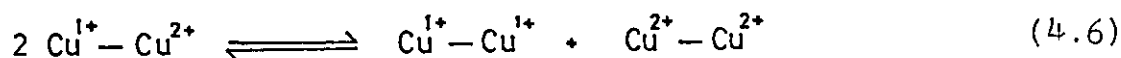
La identificación en esta forma del producto de elec
trólisis catódica en solución como ligante MEA libre, la de
tección adicional de cobre metálico sobre la superficie del
electrodo durante el mencionado proceso (ver sección 4.2.2.5)
y los resultados de coulometría, que asocian un electrón
por átomo de cobre, permiten postular el siguiente mecanismo
para el proceso:



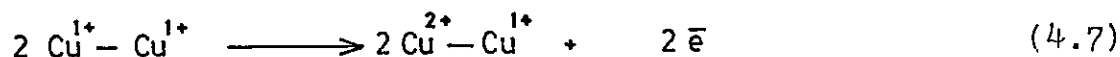
Con respecto a los procesos de oxidación, un resultado
sorprendente es la aparición de un complejo de valencia
mixta en ausencia total de oxígeno, o sea, un compuesto de es
ta naturaleza no necesita de la presencia de dicho elemento
para formarse.

Por otra parte, la desaparición del color distintivo
de la especie de valencia mixta durante la elec
trólisis, se puede interpretar en base al comportamiento descrito (ver
sección 4.2.2.5) de la variación de la intensidad de co
rriente en el tiempo, donde su decaimiento lento indica que
se está regenerando la especie electroactiva, o bien, que se
está produciendo una especie que elec
tróliza al mismo potencial. En este caso el primer proceso es el más probable, ya

que el complejo de valencia mixta formado inicialmente (color violeta), puede disproporcionar en la forma:



regenerando la especie electroactiva $\text{Cu}^{1+} - \text{Cu}^{1+}$. Esto ocurre hasta que todo queda transformado en $\text{Cu}^{2+} - \text{Cu}^{2+}$, siendo el proceso total:



Este esquema concuerda además con los resultados coulombimétricos.

Un mecanismo como el descrito también explica porqué se observa el mismo comportamiento al electrolizar después

del segundo peak de oxidación, ya que se estaría asignando el proceso que ocurre a 320 mV a:



mientras que el de 540 mV correspondería a:



pero, en la electrólisis, no se puede distinguir entre un peak y otro, por el fenómeno descrito más adelante.

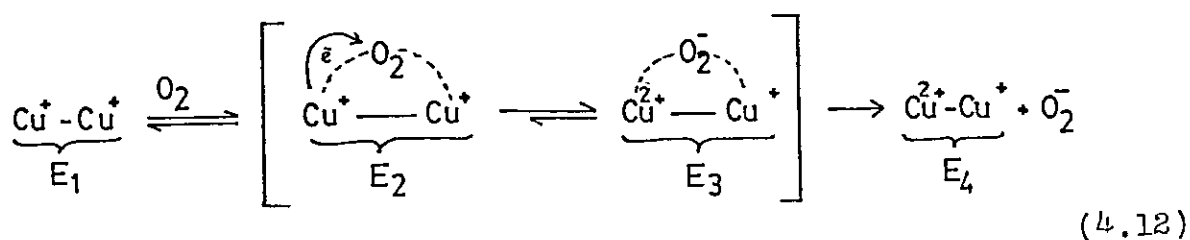
El compuesto de $\text{Cu}^{2+} - \text{Cu}^{2+}$ generado en esta forma es aparentemente inestable en solución, ya que en un lapso de 10 a 15 minutos se observa una turbidez y aparición de un precipitado verde calipso. Aún más, el cobre en estado de oxidación 2+ parece no tener afinidad por el ligante MEA, ya que no se observan los peaks de este ligante en el espectro IR del precipitado, por lo que seguramente éste está formado por sales básicas de cobre. Esto está en concordancia con la desaparición de la banda UV a 330nm (figura 20), luego de producida la oxidación total, banda que fue asignada a una transferencia de carga $\text{Cu} \rightarrow \text{S}$. Aún más, probablemente la primera etapa de la descomposición es la pérdida de la estructura

dimérica, lo que concuerda con el voltamograma en un rango restringido de potencial (figura 24). En él, el peak catódico a 50 mV correspondería al paso de Cu^{2+} a Cu^{1+} monomérico y, al revertir el barrido, el primer peak de oxidación sería producido por el paso de Cu^{1+} a Cu^{2+} (monómero), de ahí el pequeño desplazamiento en la posición del peak, con respecto al primer ciclo. Toda esta interpretación concuerda con las asignaciones postuladas en las ecuaciones (4.10) y (4.11) ya que no se estaría regenerando la especie de valencia mixta al formarse Cu^{2+} monomérico, y de ahí que en la figura 24 se observe la desaparición del segundo peak de oxidación, al efectuar ciclos sucesivos.

Las asignaciones para el voltamograma del compuesto violeta de valencia mixta (figura 23) son básicamente las mismas, explicándose la no desaparición del primer peak de oxidación por el hecho de que es imposible transformar cuantitativamente todo el $\text{Cu}^{1+}\text{-Cu}^{1+}$ en solución, en $\text{Cu}^{2+}\text{-Cu}^{1+}$ sin destruir simultáneamente el complejo, como se destacó en los resultados con el sensor de oxígeno. Es decir, el peak baja en intensidad pero no desaparece, ya que aún queda dímero de Cu^{1+} en la solución. A su vez, el ensanchamiento del peak de reducción y su desplazamiento hacia potenciales más positivos, se debe a que este peak contiene ahora también la contribución del peak de reducción de $\text{Cu}^{2+}\text{-Cu}^{1+}$ a $\text{Cu}^{1+}\text{-Cu}^{1+}$ el cual

es muy cercano al correspondiente al paso de $\text{Cu}^{1+}-\text{Cu}^{1+}$ a 2Cu^0 por lo que experimentalmente no se distinguen uno del otro.

A la luz de las conclusiones anteriores, es interesante analizar los resultados desprendidos del trabajo con el sensor de oxígeno. En primer lugar, como ya se mencionara anteriormente, las mediciones electroquímicas indican que, por medio de una oxidación electrolítica, se puede generar una especie de valencia mixta en ausencia de oxígeno, por lo que probablemente su estructura no involucra a este gas. Si a este hecho se agrega que la captación del gas por la especie reducida es rápida comparada a la aparición del color violeta (ver sección 4.2.2.4), lleva a pensar que una reorganización estructural del complejo, antes de generar el valencia mixta, podría explicar la secuencia del proceso observado, o sea, un esquema tentativo de reacción sería:



en que por simplicidad se han omitido los ligantes y en que el O_2^- formado es muy inestable oxidándose a oxígeno gaseoso. Como se mencionó más arriba, la especie de valencia mixta

final, E_4 , sería estructuralmente distinta al dímero de Cu^{1+} , (E_1). El paréntesis cuadrado, representa la oxidación de uno de los cobres por la transferencia de un electrón hacia el oxígeno, y puede involucrar a las especies E_2 y E_3 , exclusivamente, o a otras especies intermedias entre ellas. En la medida que se va transfiriendo carga al oxígeno y se va oxidando el cobre, se verifica un cambio estructural en el entorno de este último, que sea más adecuado a la forma oxidada del metal. Al irse verificando el cambio, por una parte, se va generando una especie de valencia mixta, detectable espectroscópicamente por la banda a 500nm, y por otra parte se va perdiendo reversibilidad. Una vez que la carga ha sido transferida, el oxígeno se encuentra en condiciones de desprenderse, y se genera la especie E_4 .

Con respecto al valencia mixta E_4 , vale la pena preguntarse si esta especie es la misma que la generada electroquímicamente, o sea, si también el proceso electroquímico produce un compuesto estructuralmente distinto al dímero de Cu^{1+} de partida. Un experimento muy decidor sería el de espectro electroquímica, que permite analizar si hay evidencia espectroscópica de la generación instantánea, por electrólisis, de una especie diferente, que luego se reordenaría para dar el compuesto que absorbe a 500nm. Esta especie debiera poseer

una banda de intervalencia a energía menor, dada la mayor simetría del entorno que rodea a cada uno de los Cu, no existiendo E_0 (figura 8a). Como no se dispone de un equipo de esta naturaleza, se probó transfiriendo solución rápidamente por medio de una jeringa, desde la celda de electrólisis a la espectrofotométrica, alcanzando efectivamente a detectarse una banda muy ancha con un máximo difuso a $\sim 870\text{nm}$, que desaparece rápidamente, no detectándose en espectros tomados con posterioridad. O sea, efectivamente, la especie generada a $\sim 320\text{mV}$ parece reordenarse antes de dar origen a una especie más estable, con características espectroscópicas análogas a E_4 . Es decir, tanto por una oxidación con oxígeno, como por una oxidación electroquímica, se llega a un compuesto de valencia mixta de características espectroscópicas iguales, relativamente estable, (que correspondería al compuesto (d) de la Figura 21), el cual sufre una disproporcionación en el tiempo, (ecuación 4.6) o se destruye por oxidación total con oxígeno.

El mecanismo postulado en la ecuación 4.12 también explica porqué el mayor grado de reversibilidad frente a oxígeno (figura 21) se observó en los minutos iniciales de burbujeo de nitrógeno, ya que el paso de E_1 a E_2 sería rápido y reversible, mientras que la transformación a E_3 (y posteriormente a E_4) se verifica más lentamente, al involucrar un cambio estructural, siendo más irreversible.

En el contexto anteriormente descrito, se puede explicar también la forma de los voltamogramas al estudiar el comportamiento de reversibilidad frente a oxígeno (figura 25) y del producto final de electrólisis anódica (figura 27). Se destacó al describir estos resultados (ver sección 4.2.2.5) que mientras más oxidada esté la especie, más profundos son los peaks asociados a depósito metálico, es decir, mejor es la resolución de ellos. Si se observa el voltamograma a) de la figura 25, se ve que probablemente la poca resolución de las bandas refleja la contribución del primer peak de oxidación del dímero de Cu^{1+} , ubicado justamente en los 320mV. En cambio, después de la oxidación total (figura 27), no existe esta contribución ya que se destruyó la especie dimérica. A su vez, la no reversibilidad total frente a oxígeno (voltamograma c), figura 25), se debería a una cierta destrucción del complejo según la ecuación (4.12), lo que se refleja en la mayor profundidad de los peaks debidos al desprendimiento de la película de compuesto sobre el electrodo.

4.3.- LIGANTE MMIm.

4.3.1.- Síntesis del complejo.

Al trabajar con este ligante no se sintetizó un sólido, sino que se generó la especie de valencia mixta directamente en solución. Para ello se mezcló $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($2.5 \times 10^{-2}\text{M}$)

en metanol, con MMIm en el mismo solvente y a la misma concentración, en una relación 1:3, en ambiente de Nitrógeno (ver sección 3.5.4).

4.3.2.- Caracterización y reactividad del complejo.

4.3.2.1.- Estudio espectroscópico: Como se mencionara en la parte de métodos experimentales (ver sección 3.5.4), el complejo de cobre con MMIm se generó directamente en solución, por lo que su caracterización se efectuó en forma espectroscópica y por sus propiedades magnéticas y electroquímicas. En la figura 29 se muestran las banda de absorción visible generadas al mezclar, en distintas proporciones, soluciones 2.5×10^{-2} M de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y MMIm, en metanol. Se puede observar que a relaciones $\text{Cu:L} > 1:3$, se forma una especie de color rojo que absorbe a ~ 480 nm, quedando Cu^{2+} libre, el que se detecta por la aparición de la banda de Cu^{2+} en metanol (~ 860 nm), mientras que a relaciones $\text{Cu:L} < 1:3$ se forma otra especie con un máximo en ~ 580 nm. Cuando se verifica exactamente la relación $\text{Cu:L} = 1:3$, se puede observar, por la ausencia de la banda a 860 nm, que todo el cobre está formando parte del complejo, teniendo éste un color violeta y un máximo de absorción a 545 nm. Además, la ausencia total de cualquiera otra banda u hombro en el espectro del compuesto

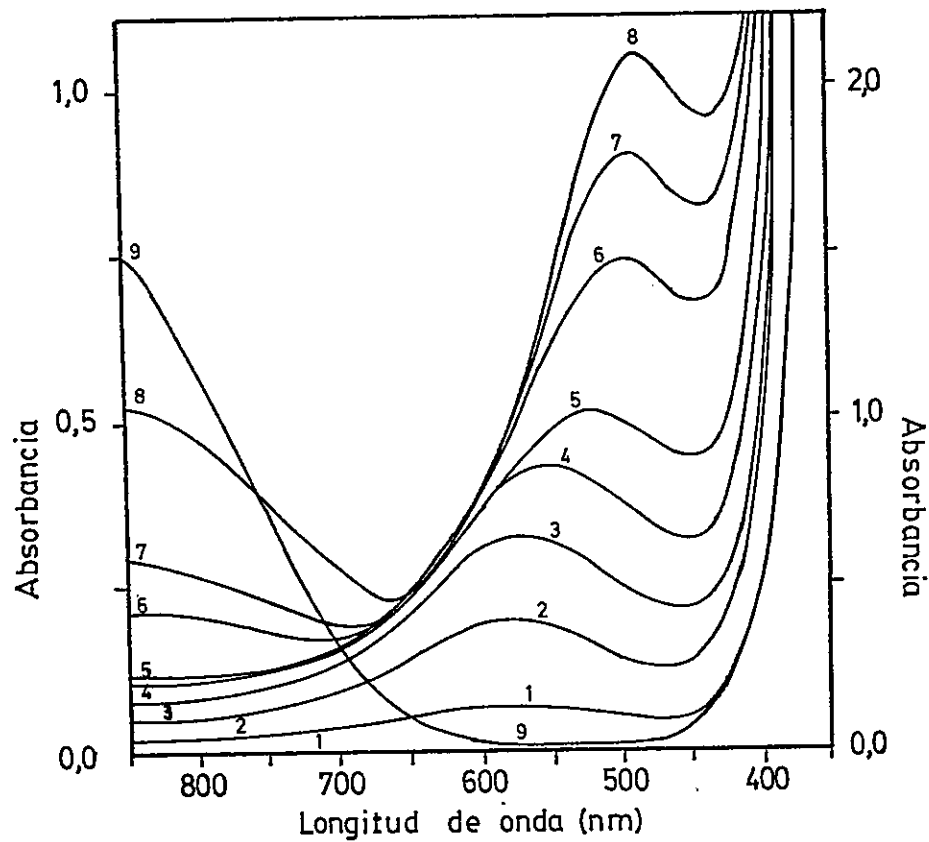


FIGURA 29 : Variación del espectro de absorción con la relación M : L para el sistema Cu- MMI_m .

Curva N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ml $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ ($2,5 \times 10^{-2} M$)	0,5	0,8	1	1,25	1,5	1,8	2	2,5	5
ml MMI_m ($2,5 \times 10^{-2} M$)	4,5	4,2	4	3,75	3,5	3,2	3	2,5	0

NOTA : Curvas 1— 8 Escala izquierda
Curva 9 Escala derecha

generado en esta relación sugiere la formación de una sola especie, o de una especie que tiene una concentración y un coeficiente de extinción mayor que cualquier otra que pudiera estar presente. Para esta misma relación M:L se hizo un estudio espectroscópico en la zona del IR cercano, hasta ~2000nm. no observándose la aparición de otras bandas.

Un comportamiento similar se observó en otros solventes, como etanol, alcohol alílico y butanol, siendo la única diferencia un leve corrimiento de la banda a 545 nm, en la forma que se detalla en la tabla 9. En otros solventes, se observa también la formación de la especie violeta, pero los correspondientes espectros muestran algunos hombros adicionales, evidenciando la presencia de otros productos, (ej. DMF), o bien, se produce una descomposición inmediata del producto, (ej. Acetona), haciendo imposible la medición espectroscópica.

4.3.2.2.- Comportamiento magnético: El carácter dia o paramagnético de las especies generadas en metanol, con $\lambda_{\text{máx}}$ a 580, 545 y 480 nm se estudió por RMN, utilizando, el método de Evans^{39b}. Se pudo determinar que las dos primeras soluciones no producen desplazamiento alguno de la señal

TABLA 9 : Efecto del solvente sobre la posición de la banda a 545 nm del sistema Cu-MMIm = 1:3.

SOLVENTE	λ (nm)	$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹)
Metanol	545	18.350
Etanol	556	17.986
Alil-alcohol	562	17.780
Butanol	567	17.625

con respecto al solvente puro, mientras que la solución roja ($\lambda_{\text{máx}} = 480 \text{ nm}$) produce un notorio desdoblamiento, evidenciando la presencia de una sustancia paramagnética en solución.

La especie violeta, ($\lambda_{\text{máx}} = 545 \text{ nm}$) se estudió adicionalmente por EPR, en metanol, detectándose una sola banda

muy ancha de intensidad relativamente baja, lo cual indica un cierto grado de interacción entre las especies en solución.

4.3.2.3.- Estudio electroquímico: Se trabajó con la especie, generada al mezclar cobre y MMIm en una relación 1:3 (solución 4 de la figura 29), siendo este estudio bastante dificultoso, ya que la presencia de electrolito facilita la descomposición del complejo, de por sí inestable.

Los voltamogramas cíclicos de oxidación y reducción se presentan en la figura 30. Para la oxidación se observa un peak a 530 mV apareciendo, al invertir la dirección de barrido un peak de reducción a 350 mV. La especie causante de este último peak está ausente de la solución original, como se puede ver en el voltamograma de reducción. En este último se destaca un peak muy ancho, centrado en -800 mV, precedido de una zona difusa, de intensidad de corriente bastante considerable. Al invertir ahora el sentido del potencial, aparece un peak de oxidación a -150 mV, caracterizado por una pendiente de bajada no difusional, notablemente brusca.

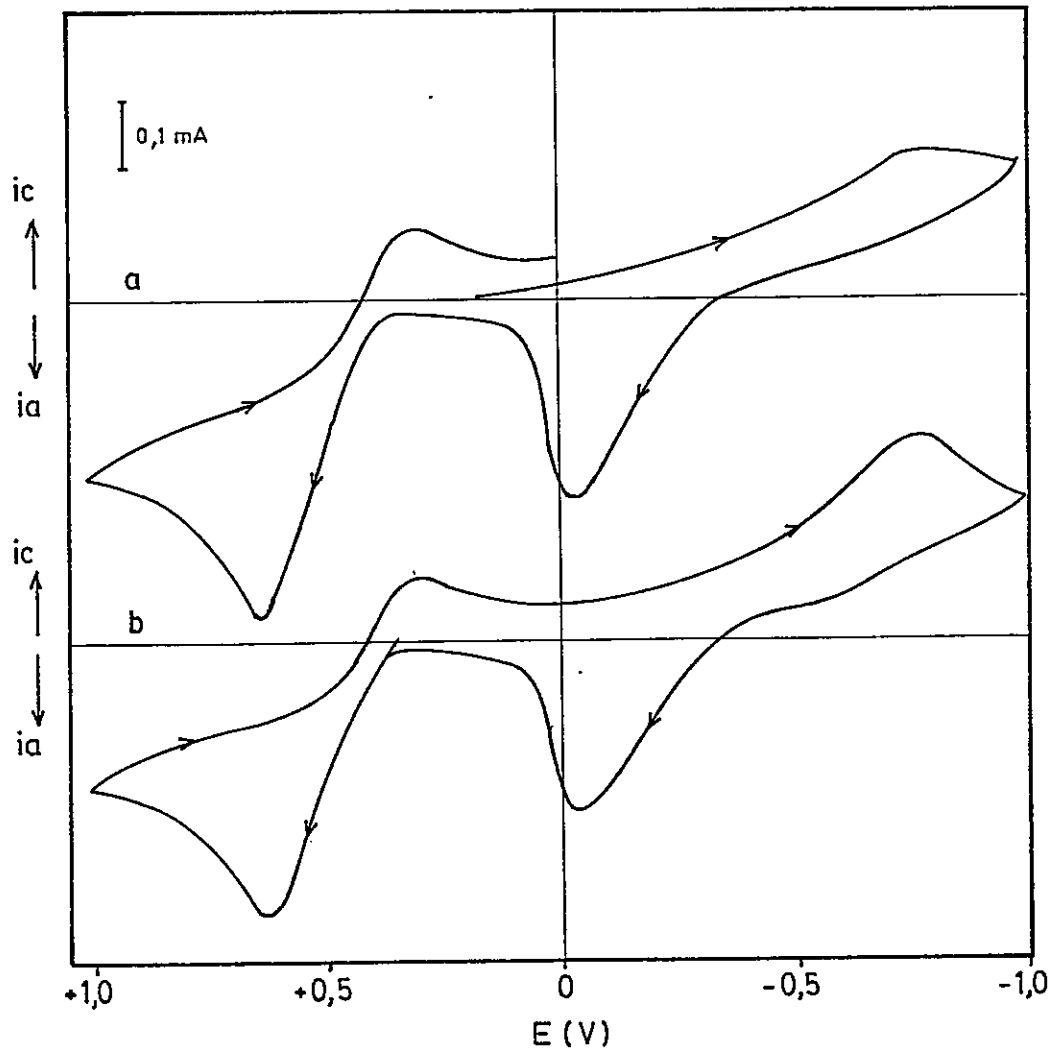


FIGURA 30 : Voltamograma para el sistema Cu-MMI_m ($\nu=200$ mV/seg).
(condiciones: tabla 5).

a) Barrido inicial hacia potenciales negativos.

b) Barrido inicial hacia potenciales positivos.

En la figura 31 se presenta el voltamograma cíclico del ligante libre, donde se observa básicamente un peak de oxidación a ~ 800 mV y uno de reducción alrededor de -400 mV. Por otra parte, si se toma el voltamograma de la solución 3 de la figura 29, o sea, en una relación Cu:L = 1:4, se observa un voltamograma similar al anterior, con la diferencia que aparece un hombro a 810 nm, el cual se hace más notorio a velocidades de barrido rápidas, como se aprecia en la figura 32. Estos cambios con la velocidad de barrido permitieron aplicar los criterios de Nicholson y Shain a este peak, (ver sección 2.3 y ecuación 2.25), verificándose el comportamiento detallado en la figura 33.

Si se disminuye aún más la relación M:L, se observa un desplazamiento del potencial de reposo hacia valores más negativos, y la desaparición paulatina del peak de reducción a -800 mV. En cambio, al aumentar la relación M:L, el potencial de reposo se desplaza hacia valores más positivos, detectándose a su vez un descenso del peak de oxidación a 530 mV, el que aumenta nuevamente en intensidad si se hacen ciclos sucesivos.

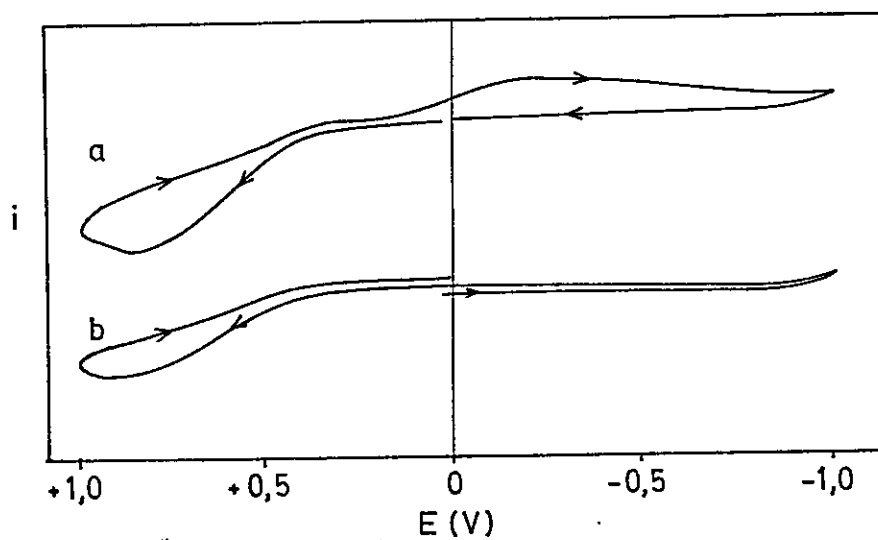


FIGURA 31 : Voltamograma cíclico ($\nu = 200$ mV/seg) para ligante MMI_m libre. (condiciones : tabla 5).

- a) Barrido inicial hacia potenciales positivos
- b) Barrido inicial hacia potenciales negativos.

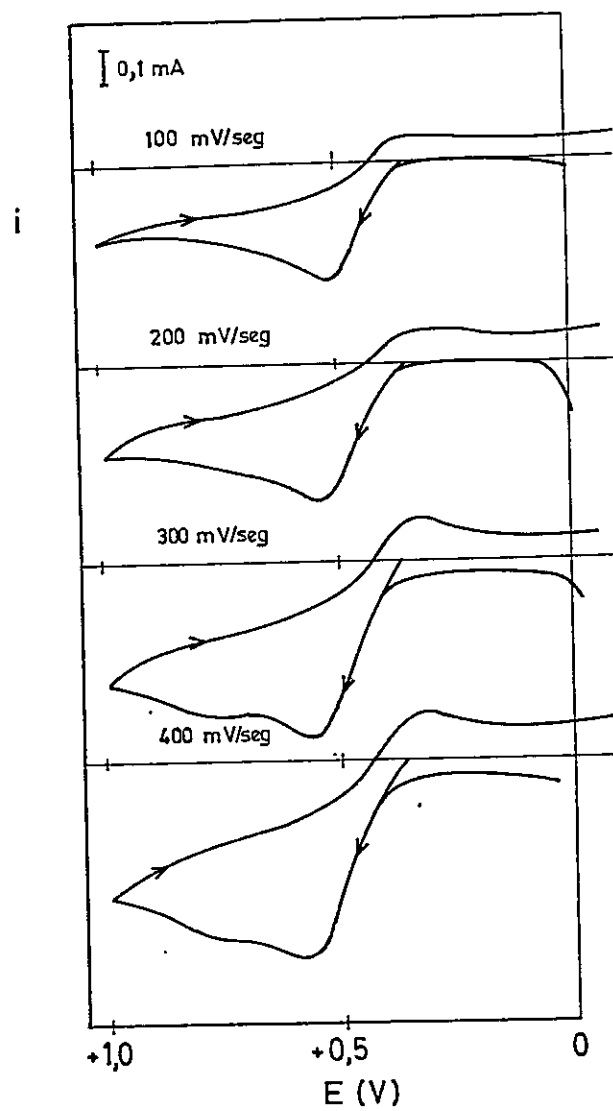


FIGURA 32 : Efecto de la variación de la velocidad de barrido en el sistema Cu : MMIm = 1 : 4 .

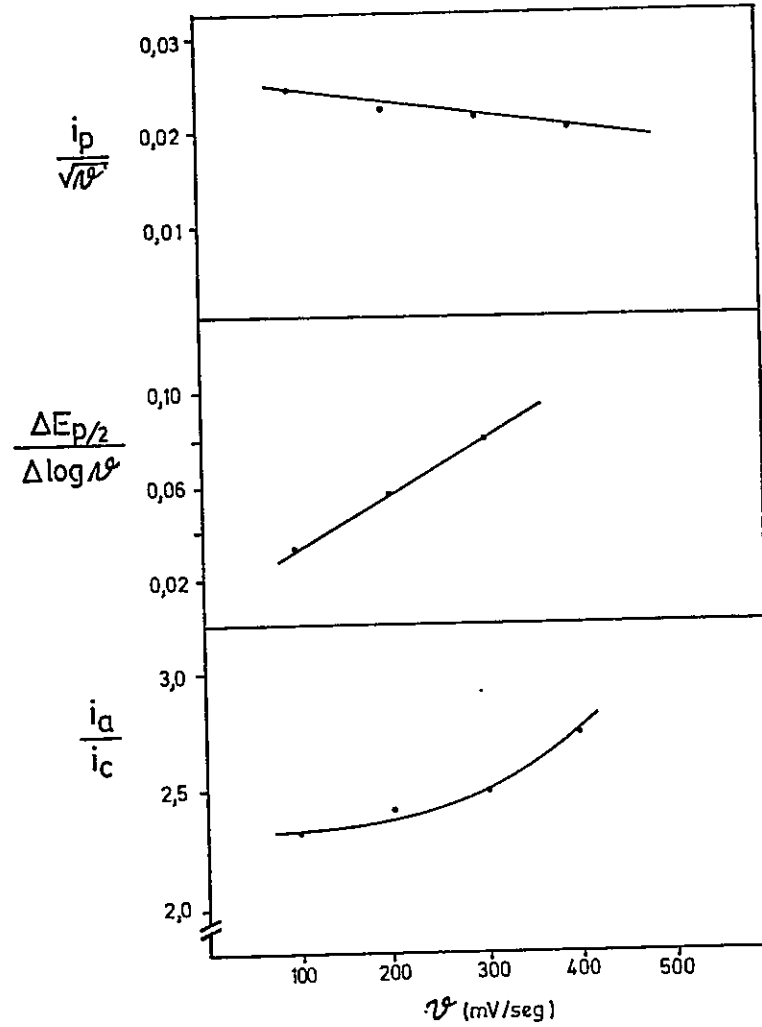


FIGURA 33 : Criterios de Nicholson-Shain para el sistema
Cu : $MMI_m = 1:4$

En la figura 34 se presenta el voltamograma cíclico de perclorato de Cu^{2+} en ausencia de ligante tomado en las mismas condiciones de la muestra. En el se destaca la ausencia de peaks de oxidación, un peak de reducción a -300 mV y un profundo peak a 500 mV , característico de un depósito metálico sobre la superficie del electrodo. Además, se trabajó con CuCl_2 en ausencia de ligante, pudiéndose observar también la ausencia de peaks de oxidación, y la aparición de dos máximos de reducción, a $+150$ y -400 mV .

Las electrólisis a potencial controlado correspondientes a los peaks de oxidación y reducción del compuesto violeta, no se pudieron efectuar, ya que su inestabilidad no le permite permanecer en solución el tiempo necesario para realizar estas mediciones.

4.3.3.- Análisis de los resultados de caracterización y reactividad.

Para tener una información acabada de las especies generadas en solución, se debe hacer un análisis más profundo de la figura 29. En la tabla 10 se presenta la relación

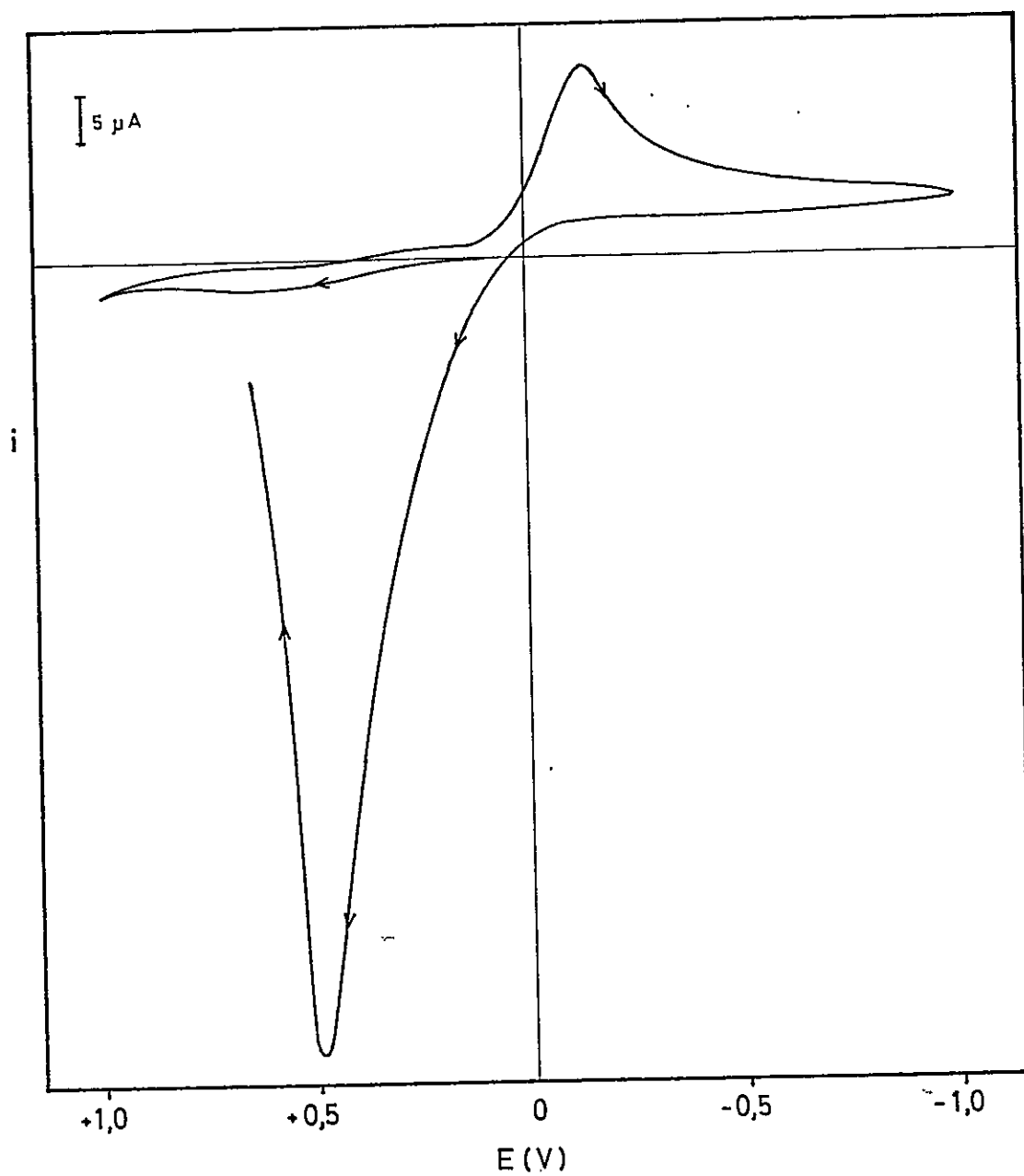


FIGURA 34 : Voltamograma cíclico ($\nu = 200 \text{ mV/seg}$) para $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$ en metanol. (condiciones: tabla 5)

TABLA 10 : Concentraciones de metal y ligante al mezclar $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y MMI_m en distintas relaciones.

SOLUCION N°	Cu : MMI_m	Concentraciones molares $\times 10^2$	
		Cobre	MMI_m
1	1 : 9	0,25	2,25
2	1 : 5,25	0,4	2,1
3	1 : 4	0,5	2
4	1 : 3	0,625	1,875
5	1 : 2,33	0,75	1,75
6	1 : 1,78	0,9	1,6
7	1 : 1,5	1	1,5
8	1 : 1	1,25	1,25
9	—	2,5	—

Cu:MMIm referida a una concentración unitaria de este metal, y las concentraciones reales de cobre y de ligante en cada una de las soluciones preparadas. Por otra parte, al observar la figura podemos apreciar que se detecta Cu^{2+} libre, (banda ~ 860 nm) desde la solución 9, que corresponde a Cu^{2+} puro, hasta la solución 5, ya que el espectro de las restantes soluciones se muestra descendente en esta zona, sin evidenciar la presencia de alguna banda. Por lo tanto, en base a esta información y a la tabla 10, se puede determinar, para las soluciones 5 a 8, (suponiendo un comportamiento de Lambert-Beer), la cantidad de Cu^{2+} libre y, por diferencia con el cobre total, la cantidad de metal complejado, (que genera la especie roja a 480 nm), obteniéndose los resultados que se presentan en la tabla 11. Adicionalmente, si se supone que todo el MMIm está coordinado se puede ahora determinar la relación entre cobre complejado y ligante para las mismas soluciones, dato que también se presenta en la mencionada tabla. En base a la suposición mencionada, dicho cálculo permite concluir que para todas estas soluciones se está formando un complejo en la relación M:L = 1:3, quedando el cobre en exceso en forma libre.

Al ir aumentando la concentración de ligante, se observa un notorio cambio en el espectro, y la aparición de una nueva especie (solución 4), pero que mantiene la proporción

TABLA 11 : Cobre libre y complejado en las soluciones de cobre y MMI_m .

SOLUCION N°	Concentraciones molares de cobre $\times 10^2$			(a) $Cu_{(complejado)}/MMI_m$
	Total	Libre	Complejado	
5	0,75	0,2	0,55	1/ 3,18
6	0,9	0,358	0,542	1/ 2,95
7	1	0,483	0,517	1/ 2,9
8	1,25	0,875	0,375	1/ 3,33

(a) Suponiendo que todo el ligante está coordinado

de reactantes M:L = 1:3. Probablemente este producto sea estructuralmente similar al anterior, con la diferencia que ahora la concentración de ligante es tal que es capaz de reducir parte del cobre presente, generando la especie violeta. La mencionada reducción se verificaría en forma similar a la propuesta por Hemmerich⁴⁰ (ecuación 4.1), o sea, obteniéndose dímero del ligante como uno de los productos. Este dímero puede estar tanto coordinado a cobre como en forma libre, por lo que para las soluciones 1 a 4 se tiene clara la relación estequiométrica en que reaccionan los reactantes, (tabla 10), pero no se puede tener información de la proporción en que se encuentran Cu y MMIm en el complejo final. Al seguir aumentando proporcionalmente el ligante presente, la cantidad de cobre reducido se hace cada vez mayor, lo que se observa espectroscópicamente por el corrimiento de la banda y el descenso en la intensidad de la absorción, inferior a lo esperado por la menor concentración del complejo. Un comportamiento similar se encuentra reportado en literatura⁴⁹ al mezclar CuClO_4 y 2,5-ditiahexano en distintas proporciones, formándose un compuesto de Cu(II) de color pardo rojizo al mezclar los reactantes en una relación 1:3; si se aumenta la proporción de ligante se forma un compuesto de valencia mixta de color verde oscuro y si se sigue aumentando la mencionada proporción, se obtiene un complejo incoloro de Cu(I). Para todos los compuestos generados se tiene evidencia cristalográfica de una coordinación Cu-S.

El tipo de comportamiento y estequiometría observado tanto para el sistema de cobre con 2,5-ditiahexano como para el de cobre con MMIm tiene aparentemente un origen cinético, tal como fue planteado por Devillanova et al,⁵⁰ quienes trabajaron con Cu^{2+} mercapto 1,3 dimetil-imidazol o sea, un ligante análogo a MMIm, con la diferencia que cada átomo de nitrógeno del anillo imidazólico tiene coordinado un grupo CH_3 . Se pudo verificar en este caso una reducción total de Cu^{2+} sólo después de varios días, al mezclarlo con ligante en una relación 1:3 en solvente metanol. En cambio se observó una reducción inmediata al trabajar con exceso de ligante. Probablemente, lo que está ocurriendo en estos sistemas, y en particular en el caso de los compuestos generados al reaccionar Cu^{2+} con MMIm, es que el mecanismo de reducción genera una ley de velocidad fuertemente dependiente de la concentración de ligante. Si la proporción de éste con respecto al metal es baja, se forma inicialmente un complejo de Cu^{2+} , el que en el tiempo (días) puede sufrir una reducción parcial o total. Si se aumenta la proporción de ligante se acelera la velocidad de reducción hasta lograr que ésta ocurra instantáneamente. En proporciones intermedias se puede eventualmente estabilizar especies de valencia mixta, en que los metales pueden estar unidos tanto al ligante en su forma monomérica o dimerica, (generada a través de la reducción de Cu^{2+} , ver ecuación 4.1).

El comportamiento observado sugiere también un mecanismo de reacción en que, en una primera etapa, Cu^{2+} es el oxidante, generando una especie de valencia mixta, que actuaría en una segunda etapa como oxidante sobre el exceso de ligante (cuando éste existe, como por ejemplo en las soluciones 1 al 3). Cuando falta ligante, la segunda etapa no se cumple, deteniéndose la reacción en la formación del valencia mixta. La ausencia de puntos isobéuticos en la Figura 29 apoya esta suposición, ya que no se estaría verificando un equilibrio entre especies, (al variar la proporción metal - ligante), sino especies distintas generadas por procesos de óxido reducción.

La evidencia espectroscópica así analizada hace pensar que la diferencia fundamental entre las especies que absorben a 480 nm, 545 nm y a 580 nm es del estado de oxidación del metal, siendo el primero un complejo de cobre reducido, el segundo uno de valencia mixta y el tercero un complejo de cobre en estado de oxidación 2+. La estructura misma de estos complejos podría involucrar, por ejemplo, dos ligantes unidos a cada cobre y dos ligantes puentes, siendo probablemente las uniones M-M y M-L a través de azufre, como quedaría sugerido por el color del compuesto y por la evidencia cristalográfica para compuestos similares.

Un complemento a esta información espectroscópica lo constituyen los resultados magnéticos. Las mediciones de RMN (ver sección 4.3.2.2) indican que la especie que absorbe a 580 nm es diamagnética mientras que la solución de color rojo contiene especies paramagnéticas. Este último resultado debe ser tratado con prudencia, ya que aparentemente estaría indicando que el compuesto que absorbe a 480 nm es paramagnético; sin embargo, no debe olvidarse que las soluciones que contienen esta especie también tienen una cierta cantidad de Cu^{2+} libre, que podría ser el responsable del desdoblamiento.

En cuanto a la especie violeta, para ella no se detecta corrimiento de la señal RMN con respecto a la del solvente, lo que haría pensar en una especie diamagnética. Pero la medición EPR, (que es una forma de detección de magnetismo de mayor sensibilidad, ya que se hace en forma directa y no comparativa, como la de RMN), indica que hay un grado de interacción entre las especies en solución, pudiendo tratarse de dímeros de Cu^{2+} o de un compuesto de valencia mixta (ver discusión en la sección 4.2.3, para el sistema Cu-MEA).

Si se analizan todos los resultados mencionados hasta acá en forma conjunta, se puede decir que la forma descrita de la variación del complejo generado en solución al modificar la relación M:L, el color violeta característico de la solución 4 (figura 29), su relativa inestabilidad al aire y en el tiempo y principalmente las características, del espectro EPR apoyan el postular una especie de valencia mixta para el compuesto generado al mezclar cobre y MMIm en una relación 1:3. Por lo tanto, la banda a 545 nm corresponde a una banda de intervalencia.

Las características de la especie violeta, como también las de los otros compuestos generados al variar la relación M:L quedan más claras al analizar los resultados electroquímicos.

En la figura 30 se mostró el comportamiento voltamétrico del complejo generado entre cobre y MMIm en una relación 1:3. El peak de oxidación a 530 mV puede ser asignado al paso:

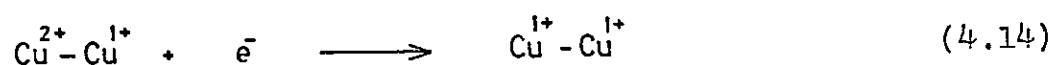


ya que se estaría partiendo de una especie de valencia mixta. El correspondiente peak de reducción a 350 mV, que tiene su origen en una especie generada en el proceso anterior (ya que no se observa en el compuesto original) representa, por lo tanto, el proceso inverso. Es interesante observar que el potencial al cual está ocurriendo esta reducción se diferencia en 200 mV o más del potencial al cual se observa la reducción de Cu^{2+} monómero, como se midió para perclorato y cloruro cúprico; esto podría deberse a un efecto de los ligantes o a una consecuencia de la interacción de los metales en la estructura dimérica.

Para asignar el peak ancho de reducción a -800 mV, se debe observar la forma descrita para el correspondiente peak de oxidación a -150 mV, que tiene una pendiente de bajada no difusional. Esto hace pensar en un depósito sobre la superficie del electrodo, que debe haberse producido en el proceso de reducción. Pero, por otro lado, el peak a -150 mV aparece muy poco profundo y a otro potencial con respecto a un depósito típico de Cu^0 , como el que se observa en el voltamograma de CuClO_4 (figura 34), tomado en las mismas condiciones de la muestra. Sin embargo, la formación de un depósito

sólido también está reafirmada por la forma ancha del peak de reducción, lo que puede originarse en una desactivación del electrodo al irse depositando una especie sobre él.

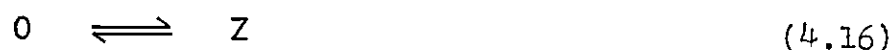
Los antecedentes anteriores permiten asignar el peak de reducción a -800 mV, al proceso:



en que, el producto reducido se deposita sobre el electrodo, y se redisuelve al invertir la dirección de barrido. Aún más, dada la gran tendencia de Cu^{1+} de formar compuestos polinucleares con ligantes azufrados, la especie formada por reducción puede ser no solo de naturaleza dimérica, sino polimérica.

En cuanto al voltamograma (figura 32) del sistema generado al mezclar Cu:MMIm en una relación 1:4, la aparición del hombro a 810 nm se asocia a la presencia de ligante libre, ya que el voltamograma de este último, (figura 31) presenta un peak exactamente en esta posición. Por otra parte, el hecho de que este peak se hace más notorio a velocidades de barrido altas y debido a su vez que Cu^{2+} tiene normalmente un número de coordinación mayor que Cu^{1+} , es posible que el ligante libre se coordine al Cu^{2+} formado en el proceso de

oxidación descrito en la ecuación (4.13). Cuando la velocidad de barrido es alta, el ligante solo es parcialmente atrapado por el Cu^{2+} , mientras que a velocidades lentas esto ocurre con mayor facilidad. Otra alternativa sería que el ligante libre actuara sobre la forma totalmente oxidada del complejo, (obtenida por el proceso de oxidación a 530 mV) reduciéndola a la especie de valencia mixta. Nuevamente, por las razones cinéticas planteadas al analizar la caracterización de los complejos de cobre con MMIm, esta reducción se verificaría en forma relativamente lenta, siendo detectada a velocidades de barrido bajas, por la desaparición del peak correspondiente al ligante. Un postulado de esta naturaleza se ve también apoyado si se observa la figura 32, en que se ve claramente que el peak de reducción a ~ 350 mV se hace menos notorio al disminuir la velocidad de barrido, o sea, hay menos especie electroactiva, ya que parte de la reducción se efectuó químicamente a través del ligante. Los criterios de Nicholson y Shain aplicados a oxidación, graficados en la figura 33, reafirman cualquiera de estas hipótesis ya que concuerdan perfectamente con un proceso redox seguido de una reacción química:



O sea, en éste caso, el proceso redox es el paso de valencia mixta a Cu^{2+} - Cu^{2+} y el cambio químico es la coordinación del ligante, o bien, la reducción de Cu^{2+} - Cu^{2+} a Cu^{2+} - Cu^{1+} .

El antecedente expuesto es de fundamental importancia como apoyo al estudio de caracterización, ya que se tenía evidencia espectroscópica que al agregar Cu^{2+} en exceso con respecto a la relación $\text{Cu:L} = 1:3$, cierta cantidad de metal permanece libre en solución. Los datos electroquímicos aportan ahora el antecedente que si se agrega ligante en exceso, una determinada cantidad de él también permanece libre.

Los resultados electroquímicos al aumentar y disminuir la relación M:L, también aportan a la caracterización de las especies y a la asignación de los peaks de voltametría cíclica. El hecho de que el potencial de reposo se desplace hacia valores más negativos cuando se tiene ligante en exceso con respecto a la relación 1:3, diría que se tiene en éste caso una especie más fácilmente oxidable. Este hecho, junto a la desaparición paulatina del peak de reducción a -800 mV al ir agregando ligante, evidenciarían que en estas condiciones se está formando en solución una especie de Cu^{1+} . La mencionada asignación también concuerda con el comportamiento

magnético y espectroscópico observado para el compuesto formado al mezclar cobre y MMIm en una relación 1:4.

A la inversa, si se aumenta la relación M:L el potencial de reposo se desplaza hacia valores más positivos (especie más difícilmente oxidable) y hay un descenso en la intensidad del peak a 530 mV. Esto indicaría que se está formando un compuesto de Cu^{2+} , lo que concuerda con el estudio magnético (RMN) efectuado para la especie roja. Es interesante destacar que pese a partir de una forma oxidada del complejo, en ciclos sucesivos se restituye la intensidad del peak de oxidación, o sea, electroquímicamente se genera la especie de valencia mixta.

La forma misma de los voltamogramas y su variación al cambiar la relación M:L también indicarían que la estructura dimérica no se destruye, conservándose el puente entre los átomos de cobre, ya que no se genera Cu^0 y además hay una cierta constancia en los voltamogramas en ciclos sucesivos.

Por último, hay que mencionar en este punto, que la separación de los peaks voltamétricos (figura 30) en la forma descrita puede estar indicando una estabilidad de la especie de valencia mixta. Lastimeramente, la irreversibilidad cinética de los procesos redox, impide hacer cálculos como el de la constante de comproporciónación (ecuación 2.21), que serían bastante indicativos al respecto.

5.- D I S C U S I O N -

5.1.- APLICACION DE LA TEORIA DE HUSH.-

A los resultados obtenidos para los compuestos de valencia mixta generados en los sistemas Cu-MEA y Cu-MMIm se les aplicó la Teoría de Hush (capítulo 2). En la figura 19 se mostró el espectro de absorción visible para el compuesto violeta obtenido para el sistema Cu-MEA, con el máximo de absorción ubicado a 500 nm (20000 cm^{-1}), y con un ancho medio de la banda de 10500 cm^{-1} . Por otro lado, en la figura 35 se muestra el espectro para el compuesto de valencia mixta obtenido al mezclar cobre con ligante MMIm en una relación 1:3 (correspondiente a la curva 4 de la figura 29, pero traducido a cm^{-1}), ubicándose el máximo en 545 nm (18350 cm^{-1}) y siendo su ancho medio de 7290 cm^{-1} .

La posición del máximo de las correspondientes bandas de intervalencia permite, al aplicar la ecuación (2.3), calcular la energía óptica para esta transición. Para determinar la barrera térmica correspondiente, se pueden aplicar las ecuaciones (2.5) ó (2.14), dependiendo si se tienen o no datos para calcular el parámetro de interacción β . Para conocer la magnitud de este último, se debe calcular el grado de deslocalización α (ecuación 2.15), y por lo tanto, conocer

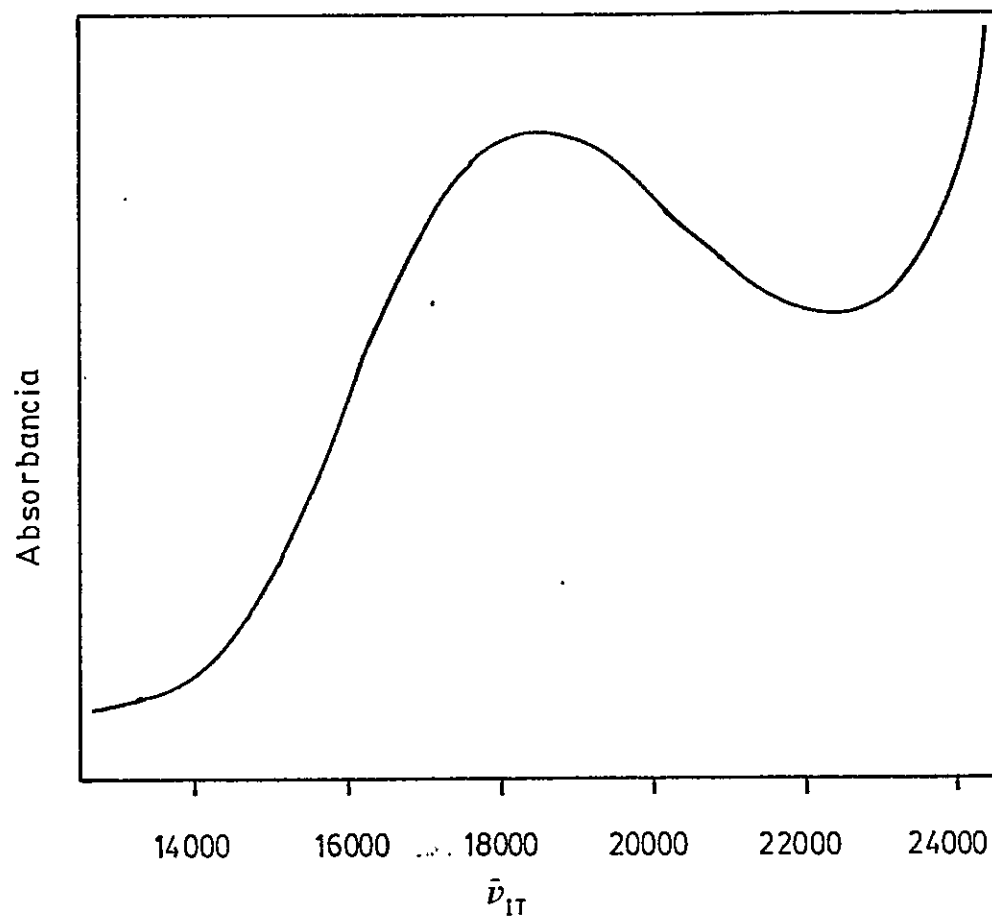


FIGURA 35 : Espectro de absorción visible para Cu-MMI_m (1:3).

el valor de la distancia entre los centros metálicos, d , y el coeficiente de extinción, ϵ . Para el sistema Cu-MEA se desconocen datos de literatura o experimentales que permitan estimar la magnitud de d , por lo que se calculó E_{th} en base a la ecuación (2.5); utilizando este valor se estimó el valor de k_{th} , la constante de velocidad térmica para la transferencia del electrón (ecuación 2.2). Los resultados así obtenidos se presentan en la tabla 12.

Para el sistema Cu-MMIm, se han reportado en literatura⁴⁶ valores cristalográficos para d en un compuesto similar de cobre con este ligante, que van de $2,547 \text{ \AA}$ a $2,724 \text{ \AA}$ por lo que se ha utilizado en el cálculo de un valor promedio, correspondiente a $2,6355 \text{ \AA}$. En cuanto a ϵ , en base a la información espectroscópica (todo el cobre coordinado) y de caracterización (dímero de valencia mixta), se pudo estimar su magnitud en $140 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, con lo que se calcularon para α , β y E_{th} los valores de $5,8 \cdot 10^{-2}$, $3,044 \text{ kcal/mol}$ y $10,077 \text{ kcal/mol}$, respectivamente. Los resultados obtenidos, para los parámetros más importantes de la Teoría de Hush, descritos para el sistema Cu-MMIm, se encuentran también en la tabla 12.

Para el sistema Cu-MMIm se estudió además el efecto del solvente sobre la posición del máximo de la banda de

TABLA 12 : Parámetros de la teoría de Hush para complejos de valencia mixta.

Parámetro	COMPUESTO	
	Cu - MEA	Cu - MMI _m
ν_{IT} (cm ⁻¹)	20000	18350
$\Delta\nu_{1/2}$ (cm ⁻¹)	10500	7290
E_{op} (Kcal/mol)	57204	52485
E_{th} (Kcal/mol)	14301	10077
k_{th} (seg ⁻¹)	$2,357 \times 10^2$	$2,82 \times 10^5$

intervalencia, con lo cual se pudo determinar la magnitud de la energía de modificación de la esfera de coordinación interna (λ_i) y externa (λ_s) a la barrera óptica para la transferencia del electrón. En la figura 36 se muestra el gráfico de la variación de la posición del máximo de absorción con las características del solvente, obteniéndose una línea recta, (en concordancia con la ecuación 2.10), pudiéndose así determinar λ_i y λ_s . En base a la relación que existe entre E_{op} y E_{th} , también se estimó el valor de ΔG_i^\ddagger y ΔG_s^\ddagger , o sea, las correspondientes contribuciones internas y externas a la barrera térmica. Todos estos resultados se resumen en la tabla 13.

5.2.- RELACION ENTRE LOS RESULTADOS DE CARACTERIZACION Y LOS DE LA TEORIA DE HUSH.-

Es interesante correlacionar la información obtenida para los sistemas Cu-MEA y Cu-MMIm a través de su caracterización y estudios de reactividad (capítulo 4), con la información extraída de la aplicación de la Teoría de Hush.

Para el sistema Cu-MEA, se sugirió (ver 4.2.3) la presencia de un cierto grado de asimetría en el complejo, producto de un reordenamiento posterior a su oxidación parcial,

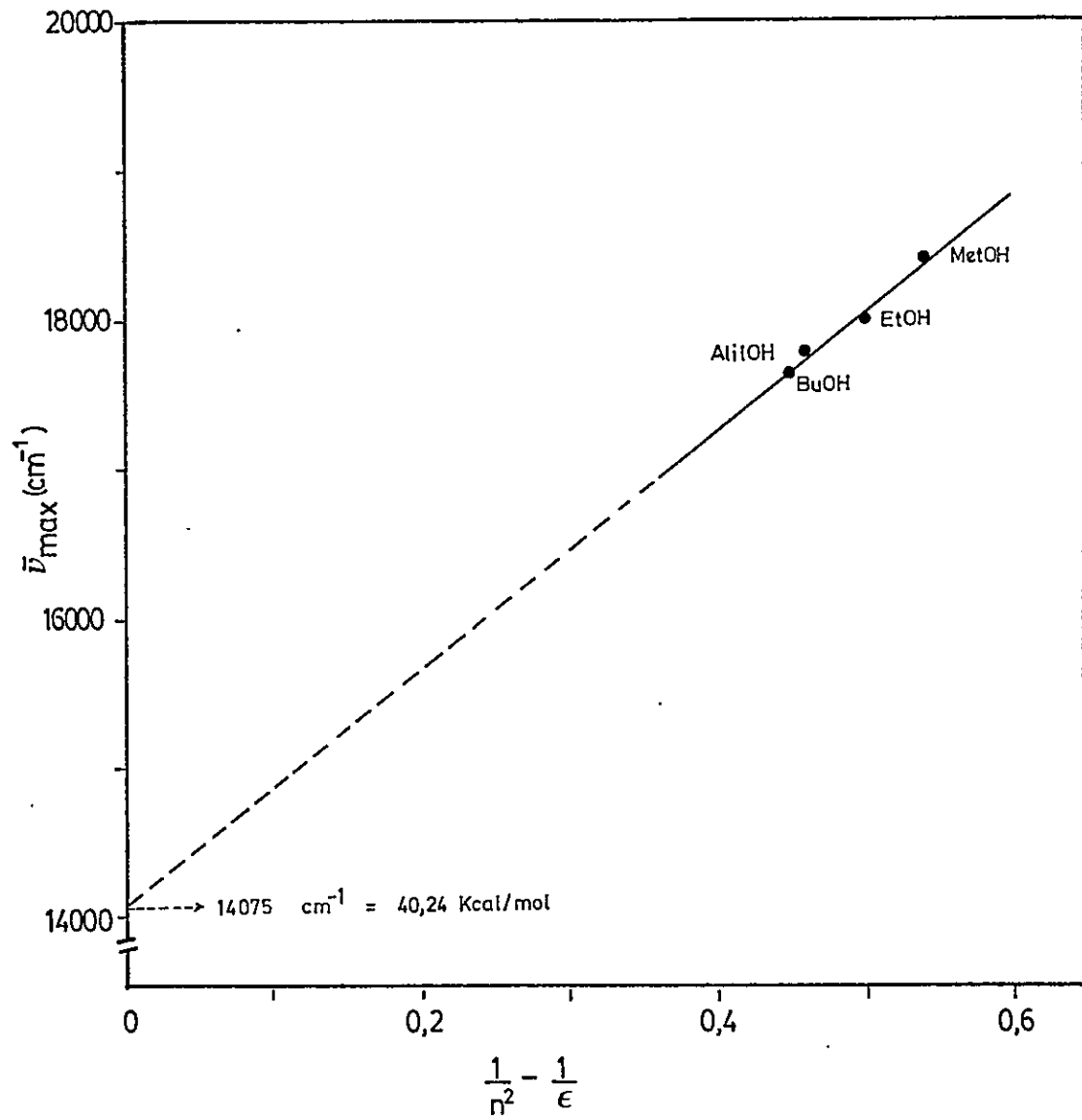


FIGURA 36 : Efecto solvente para el sistema Cu-MMI_m.

TABLA 13 : Parámetros de reorganización interna y externa para el sistema Cu-MMIm.

Barrera	Contribución	Kcal/mol
Optica	Interna (λ_i)	40,24
	Externa (λ_s)	12,4
Térmica	Interna (ΔG_i^\ddagger)	10,06
	Externa (ΔG_s^\ddagger)	3,1

ya sea a través de oxígeno o por vía electroquímica. Desde un punto de vista de un compuesto de valencia mixta, esta asimetría involucra la aparición de una contribución adicional, E_0 , a la barrera energética (figura 8b), y por lo tanto se observa un alto valor para E_{op} . Estas características explican porque la banda correspondiente a la transición de intervalencia se observa a longitudes de onda relativamente bajas* (500nm) y porque la constante de velocidad para la transferencia electrónica (tabla 12) es bastante pequeña.

En base a la información anterior, debe tenerse en cuenta que el valor reportado en la tabla 12 para E_{th} del sistema Cu-MEA es sólo aproximado, ya que la ecuación 2.5 empleada para su cálculo no es válida en el caso asimétrico. En esta situación debiera emplearse la ecuación 2.4, lo que involucra conocer la magnitud de E_0 . Una forma de lograr este objetivo es a través de la ecuación 2.11, o sea, de la relación que existe entre el ancho medio de la banda y el número de onda de la transición de intervalencia. Un cálculo de esta

(*) El observar una banda de intervalencia de alta energía también puede deberse a una transición hacia un estado electrónicamente excitado.

naturaleza para el sistema Cu-MEA lleva al contrasentido de estimar un valor negativo para E_0 (-80 kcal/mol) lo que indicaría que la transición de intervalencia se originó en un estado menos estable que el estado final. Esto está en concordancia con lo puntualizado por Hush^{22c} en su trabajo original, en el sentido que hay muchos factores que pueden contribuir al ensanchamiento de una banda de absorción, por lo que un cálculo de esta naturaleza debe sólo aplicarse a bandas relativamente angostas, lo que no se cumple para el sistema Cu-MEA, donde se observó $\Delta \bar{\nu}_{1/2} = 10500 \text{ cm}^{-1}$.

Con respecto al sistema Cu-MMIm, la información del ancho medio experimental de la banda (7290 cm^{-1}) correlaciona bien (dentro del error esperado del 10%) con el ancho medio teórico, calculado en base a la ecuación 2.13, que da un valor de 6523 cm^{-1} , lo que indicaría que se trata de un complejo de valencia mixta homonuclear o simétrico.

Por otra parte, se puede ver en el voltamograma cíclico (figura 30) para el sistema Cu-MMIm, que la separación entre las cuplas $\text{Cu}^{1+}-\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{2+}-\text{Cu}^{2+}$ y $\text{Cu}^{1+}-\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{1+}-\text{Cu}^{1+}$ es bastante considerable. (Un valor exacto para esta separación no se puede calcular, por tratarse de procesos irreversibles) Esto indicaría una interacción apreciable entre los centros metálicos, ya que se ha demostrado⁴⁸ que a medida que la interacción entre los centros se hace menor, la separación entre los potenciales de oxidación y de reducción del compuesto de valencia mixta también se hace menor. La mencionada información electroquímica correlaciona bien con el valor de $\alpha=0.06$ calculado en base a la Teoría de Hush, que indica (ver sección 2.2) un compuesto de valencia mixta del Tipo II, pero con una interacción considerable según los criterios de Creutz²⁵. La mencionada separación entre los potenciales redox electroquímicos también podría deberse a una fuerte asimetría de los centros, ya que un entorno distinto de uno de los cobres respecto al otro, daría una diferencia en cuanto a la magnitud del potencial necesario para que el proceso ocurra. Esta última posibilidad sería menos probable para el sistema Cu-MMIm debido a los resultados de la aplicación de la Teoría de Hush, que concuerdan con un compuesto de valencia mixta simétrico.

5.3.- COMPUESTOS DE VALENCIA MIXTA COMO MODELOS DEL CENTRO TIPO III EN PROTEINAS DE COBRE.-

Si se observan las características del centro de cobre Tipo III en proteínas (tabla 2), llama la atención la propiedad de aceptar 2 electrones "simultáneamente" en un proceso redox. Esto a primera vista indicaría que el compuesto de valencia mixta no tiene estabilidad en un centro de esta naturaleza. Sin embargo, si se analiza el método experimental que se utilizó para extraer esta información (ver sección 1.4) se puede ver que la única información que arroja es que el centro binuclear como un todo está relacionado al intercambio de 2 electrones, pero no da antecedentes de lo que ocurre en etapas intermedias del proceso. Aún más, un mecanismo como el sugerido para la citocromo c oxidasa (figura 1b), involucra intermediarios de valencia mixta.

Por otra parte, es interesante la información que se ha extraído de trabajos²⁹ con Hemocianina y Tirosinasa, al observar que diversos ligantes reaccionan con el centro metálico de estas proteínas, generando complejos de valencia mixta, lo que indica que la estructura y ligantes de dicho centro son tales que le permiten estabilizar fácilmente un compuesto con estas características. Aún más, es notable destacar que para la forma de valencia mixta de la Hemocianina proveniente del molusco *Busicon canaliculatum*, con ligante N_3^- , se

observa^{29a} una banda visible muy ancha centrada en 500 nm, de similares características a la observada para el sistema Cu-MEA. Sin embargo, debe mencionarse además, que para la mayoría de los sistemas biológicos de cobre binuclear, para los cuales se han asignado bandas de intervalencia por la generación de compuestos de valencia mixta, estas bandas se observan a longitudes de onda mayores a 1000 nm, o sea, en posiciones menos energéticas que las observadas para los sistemas Cu-MEA y Cu-MMIm.

Cabe mencionar también que, potencialmente, los compuestos de valencia mixta, dadas sus características, no solo serían útiles para obtener información sobre el centro binuclear Tipo III presente en proteínas de cobre, sino también permitirían obtener información (por ejemplo cinética) pertinente a centros mononucleares que participan en transferencia de electrones. Si se tienen dos centros en distinto estado de oxidación entre los cuales existe cierto grado de interacción y por lo tanto un intercambio electrónico entre ellos, se puede enfocar el estudio sobre uno de los metales, observando su comportamiento al captar y entregar electrones. El otro centro metálico pasaría a formar parte del entorno, constituiría otro núcleo metálico en la misma molécula ó siendo el encargado de proveer y aceptar los electrones, en el momento oportuno. En este caso, la interacción entre los centros debe ser pequeña, de manera que cada uno de ellos conserve plenamente su identidad. Una de las ventajas de trabajar en

esta forma es que los compuestos de valencia mixta son menos lábiles que los correspondientes complejos mononucleares, lo que facilita su estudio en solución. Con respecto a los modelos propuestos en esta Tesis, las constantes de velocidad de transferencia térmica del electrón (tabla 12), en especial para el caso del complejo de cobre con MMIm, son del orden de las observadas⁴⁷ para proteínas azules de cobre, lo que refuerza la idea de un estudio de la naturaleza descrita.

Volviendo a los compuestos de valencia mixta como modelos del centro Tipo III, una de las informaciones más enriquecedoras que se puede obtener al trabajar con ellos es la estimación de las barreras térmicas de reorganización interna (λ_i) y externa (λ_s) para la transferencia del electrón entre ambos centros metálicos. Desde un punto de vista de modelos, la barrera interna reflejaría la contribución energética de los metales y su entorno directo de ligantes, o sea, del centro metálico mismo, mientras que la barrera externa estaría relacionada al aporte de la estructura proteica a esta transferencia. Por lo tanto, en base a los resultados presentados en la tabla 13, se puede decir que si el sistema CuMMIn es efectivamente un buen modelo para las proteínas Tipo III, el entorno directo del cobre tendría energéticamente más influencia en la transferencia de electrones que la proteína misma. Esta última tendría más bien un rol estructural en el

sentido de impedir la reorganización geométrica del centro metálico después de ocurrido el proceso redox, y favorecer por lo tanto la reversibilidad del sistema. Dentro de este esquema, por ejemplo, se podría pensar que si un compuesto como el generado con el ligante MEA se insertara en una estructura proteica, que impidiera una reorganización estructural como la observada para este sistema, la reversibilidad frente a la captación de oxígeno y la transferencia de electrones sería considerablemente mayor.

5.4.- INFORMACION ESTRUCTURAL DEL CENTRO TIPO III EN PROTEINAS DE COBRE EXTRAIDA A TRAVES DE MODELOS.-

El centro Tipo III en proteínas de cobre tiene ciertas características bien definidas, que fueron esquematizadas en la tabla 2. Veamos ahora qué información podría extraerse de los modelos de la presente tesis, con respecto a estas características.

5.4.1.- Los ligantes que contienen azufre, debido²⁴ al carácter "blando" de éste último, tiene mayor afinidad por cobre(I); sin embargo, son capaces de coordinar tanto a cobre(I) como a cobre(II), como quedó sugerido a través del sistema Cu-MMIm. Luego, podrían ser buenos candidatos para estar presentes en centros biológicos que participan en

transferencia de electrones. Por otra parte, pese a lo ex puesto anteriormente, el potencial de reducción no se encuen tra desplazado en forma demasiado notoria hacia valores posi tivos, indicando ésto que seguramente la estructura misma del centro metálico es en gran medida la responsable del valor muy positivo observado en metaloproteínas.

5.4.2.- Al estudiar el sistema Cu-MEA se vió que una asimetría del complejo binuclear involucra mayor energía para la barrera térmica de transferencia del electrón. Los sistemas biológicos tienden a buscar los caminos menos energé ticos, por lo que es probable que el centro binuclear Tipo III tenga tendencia a ser simétrico. A su vez, una mayor si metría garantiza un mayor grado de reversibilidad del sistema frente a la transferencia de electrones.

5.4.3.- La información de que ambos electrones son transferidos a un mismo potencial en una metaloproteína de cobre debe ser tratada con prudencia, tal como se mencionara con anterioridad en esta tesis. Si ésto se complementa con la idea^{48a} de que una interacción fuerte entre los centros me tállicos, como la que se observa para el centro Tipo III, pro duce una separación de las cuplas redox y una estabilización de la especie de valencia mixta, hace de éste tipo de compuestos buenos modelos.

5.4.4.- Al respecto es interesante mencionar en forma comparativa el comportamiento de ligantes como MBTH y MMIm. El primero de ellos genera, independientemente de las condiciones de trabajo, compuestos de Cu^{1+} , mientras que el segundo puede estabilizar especies de valencia mixta, pese a que los átomos potencialmente coordinantes de ambos son totalmente análogos, (ver tabla 4). Al respecto sería interesante lograr una mayor solubilidad de compuestos de cobre con MBTH, por ejemplo a través de sustituyentes polares en el grupo benceno, para poder efectuar un estudio electroquímico en ellos, y compararlo al comportamiento del sistema Cu-MMIm.

5.4.5.- Con respecto al transporte de oxígeno, tal como se mencionara en la parte introductoria, la presencia de grupos donores facilita la reversibilidad del sistema frente a este gas. En el caso del sistema Cu-MEA, aparentemente el átomo de azufre estaría cumpliendo este rol, a través de su par electrónico libre.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- R. Osterberg: Coord. Chem. Rev., 12, 309, (1974).
- 2.- R. Malkin & B. G. Malmström: Adv. Enzymol, 39, 177, (1970).
- 3.- J. A. Fee: Struct. & Bonding, 23, 1, (1975).
- 4.- H. Beinert: Coord. Chem. Rev., 23, 119, (1977).
- 5.- a) E. I. Ochiai: "Bioinorganic Chemistry, an Introduction", Allyn & Bacon Inc, (1977).
b) D. A. Phipps: "Metals & Metabolism", Oxford Chemistry Series, Clarendon Press, Oxford, (1976).
- 6.- a) A. W. Addison en "Copper Coordination Chemistry: Biochem. & Inorg. Perspectives", (K. Karlin & J. Zubieta, eds.), Adenine Press, New York, pág, 109, (1983).
b) Y. L. Agnus en "Copper Coord. Chem.: Biochem. & Inorg. Perspectives" (K. Karlin & J. Zubieta eds.), Adenine Press, New York, pág. 371, (1983).
- 7.- a) A. R. Amundsen, J. Whelan & B. Bosnich: J. Am. Chem. Soc., 99 (20), 6730, (1977).
b) V. M. Miskowski, J.A.Thich, R. Solomon & H. J. Schugar: J. Am. Chem. Soc., 98 (26), 8344, (1976).

- c) H. Yokoi & A. W. Addison: Inorg. Chem., 16 (6),
1341, (1977).
- d) G. M^c Lendon & A. E. Martell: J. Inorg. Nucl.
Chem., 39, 191, (1977).
- 8.- P. M. Collman, H. C. Freeman et. al.: Nature, 272,
319, (1978).
- 9.- E. T. Adman: Biochem. & Biophys. Acta, 549, 107,
(1979).
- 10.- R. Malkin, B. G. Malmström & T. Vangard: Eur. J. of
Biochem., 10, 324, (1969).
- 11.- R. Malkin - en: "Inorg. Biochem", vol. 2, cap. 21,
pág. 689, Elsevier, (1973).
- 12.- E. I. Solomon, H. B. Gray et. al.: J. Am. Chem. Soc.,
98 (4), 1029, (1976).
- 13.- J. A. Fee, R. Malkin, et. al.: J. Biol. Chem.,
244 (15), 4200, (1969).
- 14.- H. H. Willard, N. H. Furman & C. E. Bricker:
"Análisis Químico Cuantitativo", pág. 522, Edit. Marin,
México, (1965).
- 15.- M. Kato, H. B. Jonassen & J. C. Fanning: Chem. Rev.,
64, 99, (1964).

- 16.- a) C. Sigwart, P. Hemmerich & J. T. Spence: Inorg. Chem., 7 (12), 2545, (1968).
- b) I. Crivelli & C. Andrade: Rev. Chil. Educ. Quim., 3 (4), 255, (1978).
- 17.- J. M. von Nickerk & F. R. L. Schoening: Acta Cryst., 6, 227, (1953).
- 18.- B. Bleaney & K. D. Bowers: Proc. Roy. Soc. (London), A 214, 451, (1952).
- 19.- a) D. E. Fenton, R. R. Schroeder & R. L. Lintvedt: J. Am. Chem. Soc., 100 (6), 1931, (1978).
- b) D. E. Fenton & R. L. Lintvedt: J. Am. Chem. Soc., 100 (20), 6367, (1978).
- 20.- a) R. R. Gagné, J. L. Allison, R. S. Gall & C. A. Koval: J. Am. Chem. Soc., 99 (22), 7170, (1977).
- b) R. R. Gagné, C. A. Koval & T. J. Smith: J. Am. Chem. Soc., 99 (25), 8367, (1977).
- c) R. R. Gagné, C. A. Koval, T. J. Smith & M. C. Cimolino, 101 (16), 4571, (1979).
- 21.- A. W. Addison: Inorg. Nucl. Chem. Lett., 12, 899, (1976).

- 22.- a) M. B. Robin & Day: Adv. Inorg. Chem. & Radiochem.,
10, 247, (1967).
- b) G. S. Allen & N. S. Hush: Progr. Inorg. Chem.,
8, 357, (1967).
- c) N. S. Hush: Progr. Inorg. Chem., 8, 391, (1967).
- d) D. M. Brown (ed): "Mixed Valence Compounds",
D. Reidel, Dordrecht, Holland (1980).
- 23.- J. M. Lehn: Pure Appl. Chem., 52 (11), 2441, (1980).
- 24.- R. G. Pearson: J. Am. Chem. Soc., 85 (22), 3533,
(1963).
- 25.- C. Creutz: Kagaku (Kyoto), 36 (10), 782, (1981)
Trad. a Inglés.
- 26.- H. Krentzein: Ph. D. dissertation, Stanford Univ.,
(1976).
- 27.- N. Sutin en "Inorg. Biochem., Vol. 2, Capt. 19,
pág. 611, Elsevier (1973).
- 28 - R. W. Callahan, F. R. Keene, T. J. Meyer & D. J.
Salmon: J. Am. Chem. Soc., 99 (4), 1064, (1977).
- 29.- a) Solomon en "Copper Proteins", (Spiro. ed.) Cap. 2,
Wiley Interscience, New York, (1981).

- b) Himmelwright et. al: J. Am. Chem. Soc., 102,
7339, (1980).
- c) J. F. Boas en "Cu proteins & Cu enzymes". (R.
Lontie, ed.) C. R. C. Press, Boca Ratón, Florida,
(1984).
- 30.- P. T. Kissinger & W. R. Heineman: J. Chem. Educ.,
60 (9), 702, (1983).
- 31.- a) D. T. Sawyer & J. L. Roberts: "Experimental
Electrochemistry for Chemists"; John Wiley & Sons,
New York, (1974).
- b) A. J. Bard & L. R. Faulkner: "Electrochemical
Methods, fundamentals & applications", John Wiley &
Sons, New York (1980).
- 32.- R. S. Nicholson & I. Shain: Anal. Chem., 36, 722,
(1974).
- 33.- a) Ch. K. Mann en "Electroanalytical Chem", Vol. 3,
pág. 57, A. J. Bard (ed.), M. Desker Inc. (1969).
- b) "Organikum", Veb. Deutscher Verlag der
Wissenschaften, Vol. 14, 722, (1975).
- 34.- "Secado en el laboratorio", Manual Merck, pág. 30.
- 35.- W. G. Palmer: "Experimental Inorganic Chemistry",
pág. 208, (1959).

- 36.- a) I. P. Khullar & V. Agarwala: Can J. Chem.,
53, 1165, (1975).
- b) M. F. El Shazly et. al.: Inorg. Chim. Acta,
29, 155, (1978).
- c) T. Yoshida et. al.: Bull. Chem. Soc. (Japan),
52 (10), 2908, (1970).
- d) W. D. Basson et. al.: J. Chem. Soc , (Dalton),
1708, (1974).
- e) S. Jeannin et. al.: Inorg. Chem. 18 (12), 3528,
(1979).
- f) M. M. Khan & V. Malik: J. Inorg. Nucl. Chem;
34, 1847, (1972).
- 37.- H. Sakurai et. al.: Chem. Pharm. Bull., 18 (12),
2373, (1970).
- 38.- a) V. Suk & M. Malat: Chemist-Analyst, 45 (2), 30.
(1956).
- b) D. S. Evans: J. Chem. Soc., 2003, (1959).
- 39.- A. Dobry-Euclaux & P. Perichon: J. Chim. Phys.,
73, 1058, (1976).
- 40.- P. Hemmerich en "The Biochemistry of Copper",
J. Peisach et. al., (eds), Academic Press, pag. 15,
(1966).

- 41.- B. Ellis & P. J. F. Griffiths: Spectrochim. Acta, 22, 2005, (1966).
- 42.- a) M. T. Buckner & D. R. M^c Millin: J. Chem. Soc., (chem. comm), 759, (1978).
- b) M. T. Buckner et. al : J. Am. Chem. Soc., 101 (19). 5846, (1979).
- 43.- C. A. Bränden: Acta Chem. Scand., 21, 1000, (1967).
- 44.- P. Kroneck, C. Nauman & P. Hemmerich: Inorg. Nucl. Chem. Lett. 7, 659, (1971).
- 45.- O. Yamauchi, H. Seki & T. Shoda: Bull. Chem. Soc., (Japan), 56, 3258, (1983).
- 46.- Y. Agnus, R. Louis & R. Weiss: J. Chem. Soc., Chem. Comm., 867, (1980).
- 47.- O. Farver & I. Pecht en: "Copper Proteins", Vol. 3, (T. G. Spiro, ed.), Wiley Interscience, New York, (1981).
- 48.- a) D. B. Brown & J. T. Wroblewski en "Mixed Valence Compounds", D. B. Brown (ed.), D. Riedel Publishing Co., pag. 49, (1980).

- b) S. Kida, H. Okawa & Y. Nishida en "Copper Coord. Chem.: Biochem. & Inorg. Perspectives", K. Karlin & J. Zubieta (eds.), Adenine Press, New York, (1983).
- c) R. R. Gagné & C. L. Spiro: J. Am. Chem. Soc., 102 (4), 1443, (1980).
- 49.- W. K. Musker et. al.: J. Am. Chem. Soc., 102 (3) 1225, (1950).
- 50.- F. Devillanova et. al.: Transit. Met. Chem., 5, 362, (1980).