

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA INORGÁNICA



CATALIZADORES BIOMIMÉTICOS
AUTOENSAMBLADOS

GUSTAVO GONZÁLEZ RIOPEDRE

JULIO 2013

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA INORGÁNICA



CATALIZADORES BIOMIMÉTICOS
AUTOENSAMBLADOS

**Memoria presentada por Gustavo
González Riopedre para optar al grado de
doctor en Ciencias Químicas por la USC,
Julio 2013**



Departamento de Química Inorgánica

D. María Isabel Fernández García, Catedrática de Universidade e **D. Marcelino Maneiro Maneiro**, Profesor Titular de Universidade do Departamento de Química Inorgánica da Universidade de Santiago de Compostela.

AUTORIZAN:

O traballo que se recolle na memoria titulada “**Catalizadores biomiméticos autoensamblados**”, realizado baixo a nosa dirección por **D. Gustavo González Riopedre** no Departamento de Química Inorgánica da USC, para a súa presentación como Tese de Doutoramento para a obtención do grao de doutor en Ciencias Químicas por parte do interesado.

Lugo, a 8 de xullo de 2013.

Asdo.: M. Isabel Fernández García

Asdo.: Marcelino Maneiro Maneiro

Asdo. Gustavo González Riopedre

Agradecimientos

En estas líneas quiero expresar mi agradecimiento a todas las personas que han hecho posible la realización de esta tesis.

En primer lugar agradecer a M. Isabel Fernández por su dirección en esta tesis, ofreciéndome la oportunidad de trabajar en este grupo y dándome siempre su apoyo, consejo y su experiencia.

También a Marcelino Maneiro por su dirección, fundamental para llegar al final de este camino, su buen trato, apoyo y su paciencia conmigo han sido dignas de admiración.

Agradecer su colaboración y ayuda al resto de los miembros del grupo de investigación Manolo Bermejo, Rosa Pedrido, Esther y especialmente a Ana por su trato tan amable y su ganas de estar ayudando y apoyando en todo momento. Recuerdo también para todos los alumnos de proyectos que han pasado a lo largo de estos años.

Agradecer especialmente a mi familia, padres y hermanos, no hacen falta palabras.

A mis amigos cuya lista es interminable pero que mencionaré a algunos: Esme, Uxía, Alba, Ana, Lorena, Leti, David, Jose, Angel, Borja y Brais. También a los que son asturianos Julio, Ivan, Jose Pedro, Marisa y un largo etcétera.

A los compañeros de piso que he tenido en estos años (Carlos y Fer).

A Víctor y al resto del grupo la quiniela, ricos seguro que no nos hacemos pero por los menos nos lo hemos pasado bien.

A toda la gente que he conocido en la facultad y con la que he convivido estos años, Jose y Adrian por las charlas en la cafetería, a Javi, Orti, Tomas y otros profesores y alumnos que he conocido estos años.

Mención aparte para Iria, que ha estado siempre pendiente de cómo me iba, preocupándose y dándome consejos, ha sido una parte especial y definitiva para terminar, gracias por estar siempre ahí.

Al resto de los que no haya mencionado, que son muchos, les doy las gracias.

Esta tesis doctoral se ha realizado gracias al financiamiento de los siguientes proyectos de investigación:

Denominación del proyecto: Optimización da actividade oxidante de axentes delignificantes libres de cloro
no branqueo da pasta de papel

Investigador responsable: Marcelino Maneiro Maneiro

Entidad financiadora: Xunta de Galicia

Cód. según financiadora: 09DPI004291PR

Fecha de inicio: 05/12/2009, 3 años

Denominación del proyecto: Helicatos multimetálicos funcionales de interés industrial y tecnológico

Investigador responsable: Manuel Rafael Bermejo Patiño

Entidad financiadora: Ministerio e Ciencia e Innovación

Cód. según financiadora: CTQ2010-19191

Fecha de inicio: 01/01/2011, 3 años

Denominación del proyecto: "Axudas para consolidación e estruturación das unidades de investigación do sistema galego de investigación e innovación"

Investigador responsable: Manuel Rafael Bermejo Patiño

Entidad financiadora: Xunta de Galicia.

Cód. según financiadora: INCITE10E2R209074ES

Fecha de inicio: 2010, 1 año

Índice

1. Introducción.	1
1.1. Química Bioinorgánica, en la frontera entre la Química y la Biología.	1
1.2. Fotosíntesis artificial: Catalizadores biomiméticos para la generación sostenible de energía para el futuro.	6
1.2.1. La fotosíntesis.	6
1.2.2. Absorción de la radiación.	8
1.2.3. Fotosistemas (FS) y mecanismo general de la fotosíntesis.	9
1.2.4. Complejo liberador de oxígeno (CLO) del FS II.	10
1.2.5. Mecanismo de la evolución de oxígeno por el complejo oxidante del agua.	13
1.2.6. Modelos artificiales del complejo liberador de oxígeno.	16
1.3. Catalasas.	21
1.3.1. Enzima catalasa.	21
1.3.2. Modelos funcionales de la MnCAT.	25
1.3.3. Importancia biomédica de la catalasa.	28
1.4. Peroxidasas.	30
1.4.1. Enzima peroxidasa.	30
1.4.2. Etapa de blanqueo de la pulpa de papel.	31
1.4.3. Blanqueo de pulpa de papel con peróxido de hidrógeno.	34
1.4.4. Catalizadores para el blanqueo de la pasta de papel con H ₂ O ₂ .	36
2. Objetivos y plan de trabajo.	41
2.1. Objetivos.	41
2.2. Plan de trabajo.	44

	Índice
3. Material y métodos.	47
3.1. Material.	47
3.1.1. Disolventes.	47
3.1.2. Reactivos.	48
3.2. Técnicas experimentales.	51
3.2.1. Análisis elemental.	51
3.2.2. Determinación de los puntos de fusión.	51
3.2.3. Medidas espectrofotométricas en el infrarrojo.	51
3.2.4. Espectroscopía de resonancia magnética nuclear.	51
3.2.5. Espectrometría de masas.	52
3.2.6. Espectroscopía Ultravioleta-Visible.	52
3.2.7. Medidas de susceptibilidad magnética.	52
3.2.8. Medidas de conductividad.	53
3.2.9. Resonancia de espín electrónico (RSE/EPR).	53
3.2.10. Difracción de Rayos X.	53
3.2.11. Equipo de flujo detenido.	54
3.3. Síntesis de los ligandos orgánicos.	55
3.3.1. Síntesis de las bases de Schiff imino-imino.	55
3.3.2. Síntesis del ligando amido-amido H ₄ amid ₂ .	56
3.3.3. Síntesis de la base de Schiff amino-imino H ₂ amin.	57
3.4. Síntesis de los complejos.	64
3.4.1. Síntesis de los complejos con los ligandos H ₂ L ⁿ .	64
3.4.2. Síntesis de los complejos con el ligando H ₄ amid ₂ .	67
3.4.3. Síntesis del complejo de manganeso con el ligando H ₂ amin.	68
3.5. Estudio de fotólisis.	69
3.6. Medida de la actividad catalasa.	70
3.6.1. Procedimiento básico de medida.	70
3.6.2. Modificaciones del procedimiento básico.	71

	Índice
3.6.3. Cálculo del volumen teórico de O ₂ .	71
3.6.4. Cálculo de los ciclos catalíticos en función del volumen experimental de O ₂ .	72
3.7. Medida de la actividad peroxidasa.	72
3.7.1. Procedimiento general de medición de la actividad peroxidasa frente a ABTS.	72
3.7.2. Cálculo de la actividad peroxidasa.	73
3.7.3. Estudio cinético de la actividad peroxidasa utilizando la técnica de flujo detenido.	75
3.7.4. Oxidación de modelos de la lignina. Oxidación de veratril alcohol.	75
3.8. Oxidación de veratril alcohol con corriente eléctrica.	76
3.8.1. Procedimiento básico.	76
3.8.2. Modificaciones del procedimiento básico.	77
3.8.3. Estudio estabilidad complejos a distinto pH.	77
3.8.4. Preparación de disoluciones tampón.	78
3.8.5. Cálculo de actividad catalítica usando como modelo de la lignina veratril alcohol.	79
4. Discusión de compuestos.	81
4.1. Síntesis y caracterización de los ligandos.	81
4.1.1. Síntesis y caracterización del ligando H ₄ amid ₂ .	81
4.1.2. Síntesis y caracterización del ligando H ₂ amin.	88
4.2. Síntesis y caracterización de los complejos.	103
4.2.1. Complejos de Mn(III) con bases de Schiff H ₂ L ⁿ y H ₂ amin.	103
4.2.2. Complejos de Mn(III) con el ligando H ₂ amid ₂ .	122
5. Estudios de actividad catalítica.	145
5.1. Complejos seleccionados para los estudios catalíticos.	145
5.2. Estudios de actividad fotolítica del agua.	148

	Índice
5.2.1. Actividad fotolítica de los complejos.	148
5.2.2. Efecto del autoensamblaje de estructuras en la actividad fotolítica.	151
5.2.3. Propuesta de mecanismo.	152
5.3. Estudio de la actividad catalasa.	158
5.3.1. Estudio de la actividad catalasa mediante el procedimiento básico.	158
5.3.2. Modificaciones del procedimiento básico.	159
5.3.3. Relación entre la estructura de los complejos y la actividad catalasa.	165
5.4. Estudio de la actividad peroxidasa.	168
5.4.1. Actividad peroxidasa de los complejos frente a ABTS.	168
5.4.2. Discusión de los factores estructurales que influyen en la actividad peroxidasa.	171
5.4.3. Estudio cinético de la reacción de catálisis peroxidasa frente ABTS.	176
5.5. Oxidación de modelos de la lignina. Oxidación de veratril alcohol.	188
5.5.1. Oxidación con peróxido de hidrógeno.	189
6. Conclusiones.	203
7. Bibliografía.	207
8. Apéndice.	223
I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis	225
II. Self-assembled biomimetic catalysts.	259
III. Influence of the geometry around the manganese ion on the catalytic activity.	283
IV. Biomimetic catalysts for oxidation of a lignin model compound.	321
V. Publicaciones y contribuciones resultado de la tesis.	343

**Catalizadores
biomiméticos
autoensamblados**
G. González-Riopedre

Capítulo 1
Introducción

1.1. Química Bioinorgánica, en la frontera entre la Química y la Biología.

La Química Bioinorgánica es una rama interdisciplinar de la Química que se ocupa de una amplia gama de problemas ubicados en la interfase entre la Química y la Biología.

La presencia en la sangre de compuestos que contenían hierro (Figura 1.1) se remonta en la literatura científica al siglo XIX.¹ Sin embargo, no ha sido hasta hace 60 años cuando la aplicación sistemática de la química inorgánica para estudiar el papel de los metales en los sistemas biológicos empezó a recibir atención de forma seria y continuada,² y el campo de la química bioinorgánica comenzó a desarrollarse para convertirse en la rama vigorosa de la ciencia en la que hoy se ha transformado. Esta evolución se inició con el reconocimiento mutuo por científicos de la rama biológica y médica y los químicos inorgánicos de las conexiones importantes entre los temas de su investigación, y continuó con la puesta en común en diferentes

conferencias y foros. Con el tiempo esta frontera maduró hasta convertirse en una disciplina científica con su propia entidad.

Sólo a partir de los años 80 del siglo XX se han desarrollado las técnicas y metodologías adecuadas para detectar la presencia de estos elementos inorgánicos en los organismos así como para estudiar sus funciones biológicas, debido a que la mayoría de los elementos inorgánicos con importancia biológica se presentan en cantidades muy pequeñas en los seres vivos (trazas, microtrazas y ultramicrotrazas).³

La química bioinorgánica ha desarrollado modelos, teorías y métodos de trabajos suficientemente generales y precisos para ser aplicados con éxito en el estudio de los sistemas biológicos. Así, en el estudio de ciertas biomoléculas que podríamos denominar *biometálicas*, los bioquímicos recurren frecuentemente al uso de los métodos de la físico-química inorgánica.

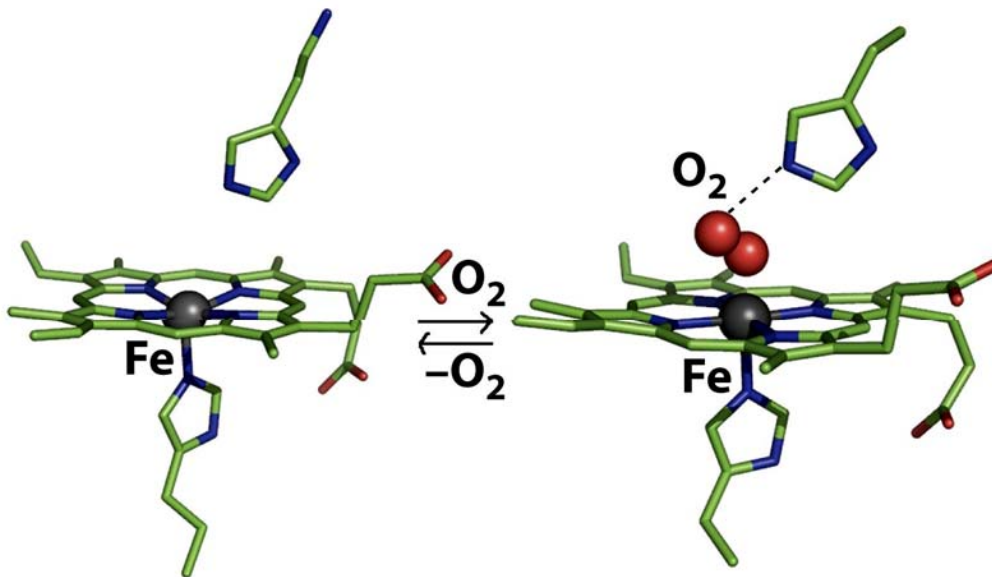


Figura 1.1. La hemoglobina transporta el oxígeno desde los pulmones a los diferentes tejidos al poder fijar reversiblemente una molécula de O_2 a través de su grupo hemo.

Los sistemas vivientes son invariablemente complejos y difíciles de estudiar por el mismo procedimiento por el que los químicos estudian e interpretan los sistemas más simples. Por ello es un deseo constante el encontrar un sistema sencillo que "sirva como modelo" de las características

2

esenciales del sistema natural, y que se preste a un estudio más apropiado. Muchos químicos inorgánicos han orientado sus investigaciones hacia los seres vivos mediante el uso de modelos más simples cuyo objetivo es obtener una idea más clara del funcionamiento de especies similares, pero más complejas, existentes en la naturaleza. De hecho, en la actualidad muchos procesos biológicos pueden describirse claramente en términos moleculares.

De todas formas, el problema con los modelos radica en conocer correctamente hasta donde pueden ser fiables como réplica del comportamiento verdadero del sistema natural real. Ningún modelo puede dar más que una visión parcial del comportamiento de un sistema real, y hay que ser conscientes que algunas de las propiedades del modelo pueden no relacionarse completamente con el comportamiento del natural.

Una amplia variedad de transformaciones bioquímicas utilizan el manganeso como cofactor. En los últimos años se descubrieron numerosas enzimas que muestran la importancia de este elemento en el metabolismo del dioxígeno y de sus formas reducidas. Como ejemplos más destacables podemos citar: las superóxidodismutasas, las catalasas, el complejo oxidante del agua presente en el fotosistema II (FSII) de las plantas verdes, responsable de casi todo el oxígeno molecular presente en la atmósfera, y las peroxidases.

Estas enzimas redox muestran una elevada especificidad por el elemento manganeso y, frecuentemente, hacen uso del metal en sus estados de oxidación más elevados. Debido a esto es necesario profundizar en el estudio de la química de coordinación del manganeso, especialmente en la de sus estados de oxidación elevados, en entornos considerados biológicamente relevantes.

Esta tesis doctoral centra su estudio en la caracterización y estudio de la actividad catalítica de complejos de manganeso(III) biomiméticos del complejo oxidante del agua del FSII y de las funciones peroxidasa y catalasa. En este capítulo introductorio se describen, en sucesivos apartados, la función de estas enzimas y el estado del desarrollo en la investigación con complejos biomiméticos en estas actividades catalíticas. Una de las estrategias innovadoras del presente estudio es el análisis de cómo la

arquitectura supramolecular de los complejos puede incidir en la actividad catalítica. Para ello se diseñan los ligandos incorporando grupos funcionales capaces de establecer enlaces de hidrógeno intermoleculares y también se introducen diferentes iones (aniones y cationes) que puedan conectar monómeros o dímeros mediante interacciones supramoleculares.⁴⁻⁶

La fotosíntesis constituye para las plantas verdes y las cianobacterias, organismos que la realizan, su fuente de energía mediante una cadena de reacciones que comienza con el uso de los fotones de luz solares para la fotólisis del agua.⁷ Pero, además, esta misma oxidación del agua en la fotosíntesis, catalizada por un complejo que presenta cuatro átomos de manganeso, ha producido –y produce– como subproducto casi todo el oxígeno molecular existente en la atmósfera y con el que respiramos los seres vivos aeróbicos. Sin duda, estos dos hechos justifican la investigación que realizan muchos químicos y bioquímicos para comprender todo el proceso fotosintético. Sin embargo, tras este afán por saber, se esconde el sueño que los investigadores reconocen sin pudor: la síntesis de modelos artificiales que mimeticen el comportamiento de los modelos naturales existentes en la fotosíntesis, para que, finalmente, tras la descomposición del agua, al igual que las plantas verdes y cianobacterias, podamos usarlos como fuente de energía prácticamente inagotable.⁸

Catalasas y peroxidasas forman parte de los mecanismos de control de las especies reactivas de oxígeno (ROS, Reactive Oxygen Species) que disponen los organismos vivos. El peróxido de hidrógeno se produce en los organismos aeróbicos como resultado de la reducción parcial del dioxígeno. Debido a la toxicidad del H_2O_2 , estos organismos aeróbicos tienen desarrollados métodos para su descomposición. Muchos organismos utilizan una catalasa que contiene un grupo hemo de hierro para catalizar la dismutación del H_2O_2 a H_2O y O_2 . Una de las características de las catalasas con grupos hemo es que se inhiben con concentraciones bajas de azida y cianuro. De todas maneras, es bien conocido desde los años 1960 que algunas catalasas son insensibles a la azida y al cianuro,⁹ sugiriendo que posiblemente no eran enzimas de hierro, y esto se confirmó en 1983, con el aislamiento y purificación de una catalasa de manganeso de la *Lactobacillus plantarum*, de la que posteriormente se obtuvo su estructura.¹⁰

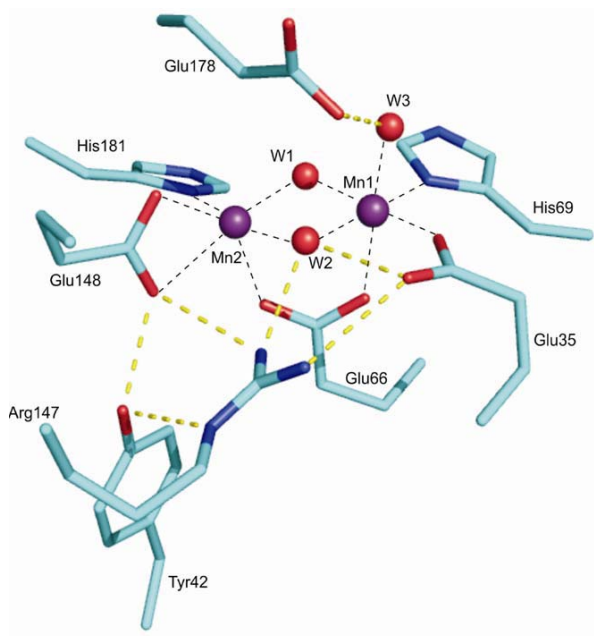


Figura 1.2. Estructura del centro activo de las catalasas de manganeso naturales.

Posteriormente, varias catalasas que contenían manganeso, fueron sucesivamente purificadas y caracterizadas (por lo menos parcialmente), incluyendo las correspondientes a las enzimas *Thermus thermophilus* HB-8 estructura aislada y resuelta por DRX,¹¹ *Thermoleophilum album* NM,¹² *Thermus* sp. YS,¹³ *Salmonella enterica*,¹⁴ y *Pyrobaculum calidifontis* VA1.¹⁵ A pesar de que las catalasas sin hierro fueron denominadas “pseudocatalasas” inicialmente, el nombre más adecuado es el de catalasas de manganeso (MnCat), ya que no hay nada “falso” en su actividad catalasa.

Las catalasas de manganeso representan una nueva clase de centros biológicos y suponen un marco válido para testar la habilidad de la química bioinorgánica para mimetizar una reacción biológica de importancia.¹⁶ Las catalasas de manganeso se encuentran relativamente bien caracterizadas espectroscópicamente, e incluso en los últimos años fueron resueltas varias estructuras cristalinas de enzimas MnCat. Esto hace de las MnCat un objetivo bioinorgánico atractivo, ya que se puede estudiar tanto la habilidad de los compuestos modelo para mimetizar la reactividad como para reproducir los espectros y la estructura del centro activo del enzima.¹⁷

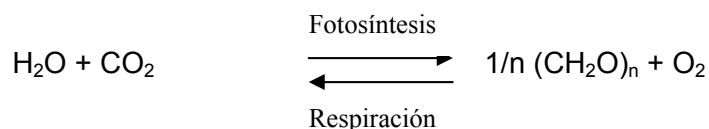
Las peroxidasas son enzimas que en la Naturaleza catalizan la degradación de la lignina utilizando el peróxido de hidrógeno como agente oxidante.¹⁸ La deslignificación y el blanqueo son etapas primordiales en la industria de fabricación de la pasta de papel,¹⁹ existiendo la necesidad de optimizarlas y evitar los agentes oxidantes nocivos desde el punto de vista medioambiental que se usaban tradicionalmente.²⁰ La búsqueda de modelos biomiméticos para la peroxidasa y ligninasa ya ha demostrado como porfirinas sintéticas de hierro, manganeso y cobalto en presencia de varios cooxidantes pueden oxidar la lignina.²¹⁻²³

1.2. Fotosíntesis artificial: Catalizadores biomiméticos para la generación sostenible de energía para el futuro.

El desarrollo de un catalizador para la producción de oxígeno a partir de agua es crucial para la consecución de un combustible no contaminante.²⁴⁻²⁶ El complejo liberador del oxígeno (CLO) es el enzima nativo que cataliza este proceso en la fotosíntesis, siendo el sistema más eficiente para descomponer agua catalíticamente.²⁷⁻²⁹ El modelado del CLO con complejos inorgánicos artificiales es una poderosa herramienta para testar diferentes aspectos e hipótesis científicas sobre la naturaleza y el comportamiento del cluster CLO,³⁰⁻³⁷ pero esta investigación también representa una vía para desarrollar un catalizador estable y activo para la oxidación electroquímica o fotoquímica de la molécula de agua.³⁸⁻⁴¹

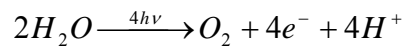
1.2.1. La fotosíntesis.

La fotosíntesis es el proceso por el cual las plantas verdes, algas y cianobacterias, con la ayuda de la luz solar, convierten las materias primas abundantes como son el agua y el dióxido de carbono en oxígeno y glúcidos que le sirven como alimento y combustible.



Este proceso no es favorable termodinámicamente, pero tiene lugar porque se le suministra la energía necesaria en forma de cuantos luminosos.

Una de las principales cuestiones relacionadas con la oxidación fotosintética del agua a oxígeno molecular fue y sigue siendo el mecanismo por el cual a dos moléculas de agua se le extraen cuatro electrones para producir una molécula de O_2 según la reacción siguiente:



El papel esencial del manganeso en este proceso ya fue descubierto por Pirson en 1937, observando que las plantas y las algas, privadas de manganeso, perdían su capacidad de formar oxígeno.⁴²

No hay duda en que el catalizador de la reacción de oxidación del agua es un complejo de manganeso (denominado OEC –Oxygen Envolving Complex– o WOC –Water Oxidizing Complex–, también CLO- Complejo Liberador de Oxígeno-), que contiene cuatro átomos de manganeso y uno de calcio.⁴³ Tras la reciente dilucidación de su estructura (Figura 1.3) se está estudiando su mecanismo de actuación de manera profusa.⁴⁴⁻⁵¹

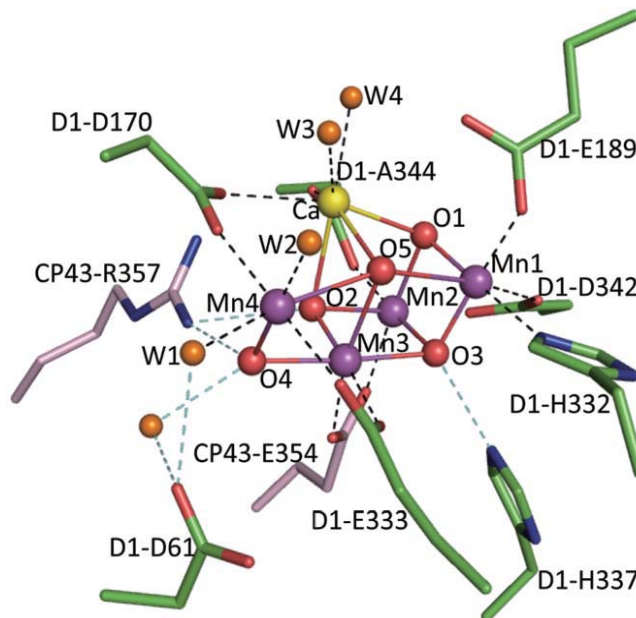


Figura 1.3. Vista del cluster Mn_4CaO_5 y su entorno de ligandos. Manganeso (púrpura), calcio (amarillo), oxígeno (rojo).

1.2.2. Absorción de la radiación.

La captación de luz es el proceso principal en la fotosíntesis. En las plantas verdes, la función de captación de energía solar se realiza a través de una serie de complejos que captan la luz en la membrana de los tilacoides de los cloroplastos para poder convertirla en energía químicamente útil.

El complejo LHC-II (Figura 1.4) es la proteína integral más abundante de membrana de los cloroplastos, existe como un trímero y une la mitad de las moléculas de clorofila del tilacoide. Cada monómero de LHC-II comprende un polipéptido de alrededor de 232 residuos de aminoácidos, 13-15 moléculas de clorofila (Chla y Chlb), 3-4 carotenoides y un fosfolípido fuertemente unido.

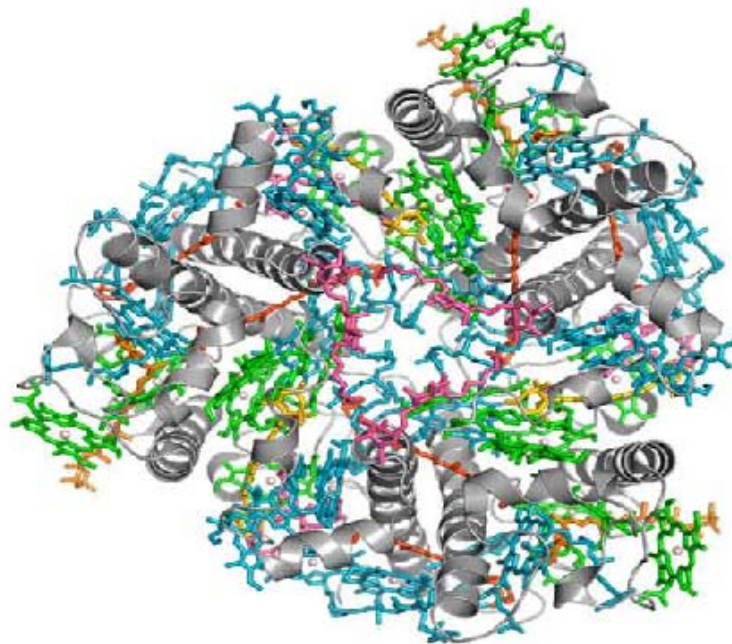


Figura 1.4. Estructura del LHC II. Polipéptidos (gris), clorofila a y b (cian y verde), carotenoides (naranja y amarillo), fosfolípidos (rosa).

Además de captar luz, también se ha demostrado que el LHC-II tiene la función de la disipación no radiactiva del exceso de energía de excitación bajo condiciones de alta luminosidad. Tiene un papel crucial en la reducción

de los efectos nocivos del exceso de luz por utilizar un mecanismo fotoprotector cuando la intensidad de la luz se satura cada vez más. Por otra parte, el LHC-II también participa en la regulación de la distribución de energía de excitación de los fotosistemas I y II, en la organización del aparato fotosintético. Además también juega un papel importante en la organización de la membrana de los tilacoides.

1.2.3. Fotosistemas (FS) y mecanismo general de la fotosíntesis.

Los fotosistemas son los complejos proteicos situados en las membranas de los tilacoides en donde tiene lugar la fotosíntesis. Un fotosistema está formado por dos partes que realizan funciones diferenciales: el llamado centro de reacción (CR), que es capaz de transformar la energía fotoquímica, y los centros recolectores de luz (CRL), cuya función es absorber fotones y transmitirlos a velocidad muy elevada al CR. Los distintos CRLs se diferencian en la composición de sus subunidades y de seis pigmentos (llamados antenas), pero todos tienen como misión incrementar el número de estos últimos en el entorno de CR y ampliar el margen de absorción de los pigmentos del propio CR, de forma que se asegure el máximo aprovechamiento de los fotones incidentes sobre el fotosistema.

Las membranas de los tilacoides tienen dos clases de fotosistemas, que realizan funciones distintas y complementarias, cada uno con su centro de reacción y su centro recolector de luz: el fotosistema I (FS I) y el fotosistema II (FS II).

En la figura 1.5 se representa la variación de potencial redox que acompaña a la transferencia electrónica a lo largo de la fotosíntesis (diagrama conocido habitualmente como esquema Z por su forma). El proceso se inicia en el FS II, donde P680 (una clorofila) capta un fotón y pasa a un estado excitado, desde el que transfiere un electrón a la feofitina (Ph) (un pigmento tipo clorofila), que queda con una carga negativa (Ph⁻) hasta que cede el electrón extra a una cadena de transporte de electrones que está formada por varios componentes: plastoquinonas, citocromo y plastocianina.

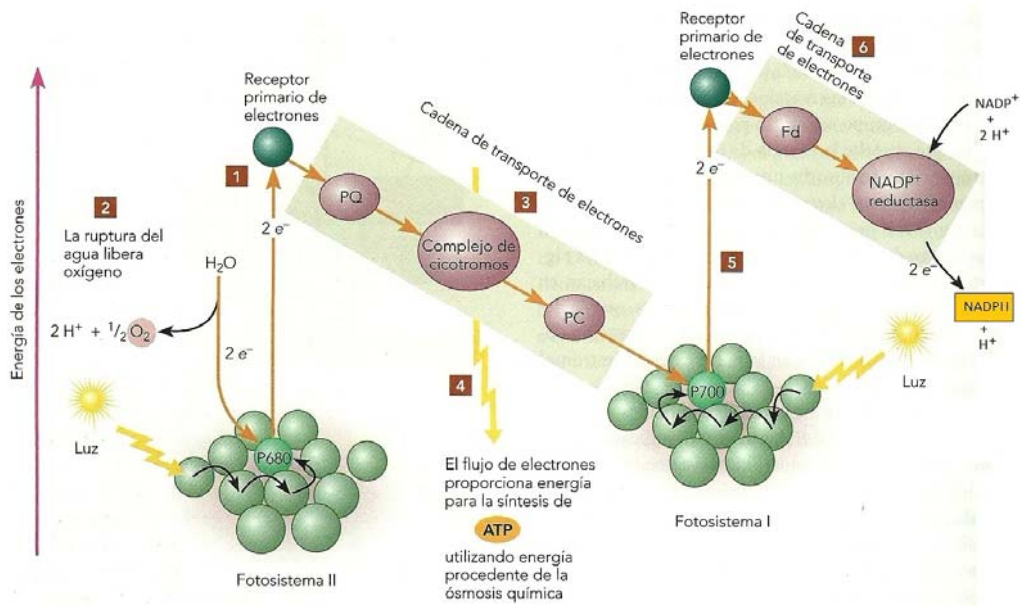


Figura 1.5. Diagrama Z fotosíntesis.

El FS I actúa de forma similar. En primer lugar, se capturan fotones por parte de las moléculas antena (Clorofila a, b o pigmentos accesorios) que se transfieren a P700 excitándolo. El centro de reacción excitado transfiere un electrón a un aceptor, formándose un fuerte agente oxidante y rápidamente se origina otra cadena de transporte de electrones que termina en una flavoproteína (FP), la cual transfiere electrones a NADP⁺ originando, finalmente, NADPH.

El CLO que oxida al agua en la parte oxidante del fotosistema II, debe contener un oxidante poderoso, capaz de llevar a cabo esta oxidación de 4 e⁻ sin desprender ningún intermedio tóxico como O₂⁻ y O₂²⁻. Esto significa disponer de un sistema capaz de enlazar dos átomos de oxígeno y mantenerlos en posiciones muy próximas mientras se les extraen los 4 electrones. Quizá por ello, el CLO tiene 4 Mn, como ya se ha indicado, aunque necesita, además, Ca²⁺ y Cl⁻ para su correcto funcionamiento.

1.2.4. Complejo liberador de oxígeno (CLO) del FS II.⁴³

El fotosistema II es el lugar donde ocurre la oxidación fotosintética del agua y contiene 20 subunidades con una masa molecular total de 350 KDa.

Además de las subunidades de proteína, dispone de 35 clorofilas, dos feofitinas, 11 β -carotenos, más de 20 lípidos, dos plastoquinonas, dos hierros hemo, un hierro no-hemo, cuatro átomos de manganeso, tres o cuatro átomos de calcio (uno de los cuales está en el clúster Mn_4Ca), tres iones Cl^- (dos de los cuales están en la vecindad del cluster Mn_4Ca), un ión bicarbonato y más de 15 surfactantes en un monómero. Dentro de cada monómero FSII, se encontraron más de 1300 moléculas de agua.

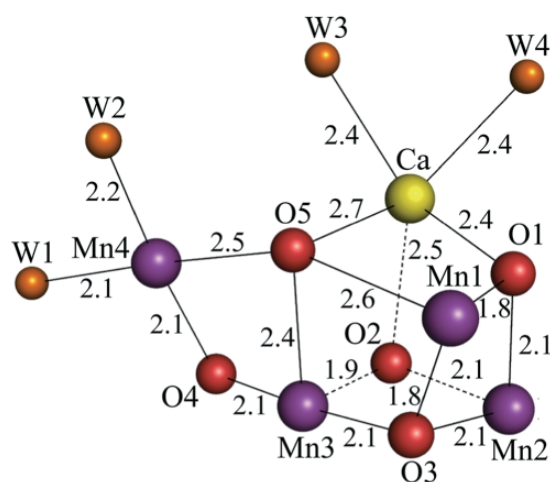


Figura 1.6. Distancias entre átomos metálicos, puentes oxo y moléculas de agua en el cluster Mn_4CaO_5 .

En el cluster Mn_4CaO_5 formado por cinco átomos metálicos, tres manganesos, un calcio y cuatro oxígenos forman una estructura tipo cubano en la cual los átomos de calcio y manganeso ocupan cuatro esquinas y los oxígenos las otras cuatro. Las distancias de enlace entre el calcio y los oxígenos de la estructura tipo cubano están en el rango de 2,4-2,5 Å y las que existen entre los oxígenos y el manganeso están en el rango de 1,8-2,1 Å como se puede observar en la figura 1.6. Sin embargo la longitud de enlace entre uno de los oxígenos en la esquina del cubano (O5) y el calcio es 2,7 Å y las que existen entre (O5) y los átomos de manganeso están en el rango de 2,4-2,6 Å. Debido a estas diferencias en las longitudes de enlace, el cluster Mn_4CaO_5 no forma una estructura tipo cubano simétrica ideal.

El cuarto manganeso (Mn4) se encuentra fuera del cubano y está vinculado a dos manganesos (Mn1 y Mn3) dentro del cubano por O5 y al quinto oxígeno (O4) por un puente di- μ -oxo. De esta manera, cada dos

manganesos adyacentes están unidos por puentes di- μ -oxo: Mn1 y Mn2 están unidos por un puente di- μ -oxo través O1 y O3, Mn2 y Mn3 están unidos a través de O2 y O3 y Mn3 y Mn4 están vinculados a través de O4 y O5.

El calcio está conectado con todos los manganesos por puentes oxo: a Mn1 a través del puente di- μ -oxo formado por O1 y O5, al Mn2 a través de O1 y O2, al Mn3 a través de O2 y O5, y al Mn4 a través del puente mono- μ -oxo formado por O5. Toda la estructura del clúster Mn_4CaO_5 se asemeja a una silla distorsionada, con el cubano asimétrico que sirve como base de asiento y el Mn4 y O4 aislados que actúan como respaldo de la silla.

Además de los cinco átomos de oxígeno, se han encontrado cuatro moléculas de agua (de W1 a W4) asociadas al clúster Mn_4CaO_5 , de las cuales W1 y W2 están coordinadas a Mn4 con distancias respectivas de 2,1 y 2,2 Å y W3 y W4 se coordinan con el calcio, con una distancia de 2,4 Å. No se encontraron otras moléculas de agua asociadas a los otros tres manganesos, lo que sugiere que algunas de las cuatro aguas pueden servir como sustratos para la oxidación.

La característica estructural más significativa del clúster Mn_4CaO_5 , que puede ser importante para dilucidar el mecanismo de la reacción de disociación del agua, es su forma de silla distorsionada. La gran distorsión está causada principalmente por la existencia del calcio y el O5 en el clúster Mn_4CaO_5 como se describió anteriormente. Las distancias más largas aparentemente entre O5 y los átomos metálicos sugieren que los enlaces correspondientes son débiles, y que O5 puede por lo tanto tener una carga negativa más baja que la valencia que se espera de -2 para los átomos de oxígeno normales en puentes oxo. Esto a su vez sugiere que O5 puede existir como un ión hidróxido en el estado S_1 y puede proporcionar uno de los sustratos para la formación de oxígeno. Debido a que tanto W2 y W3 se encuentran dentro de las distancias de enlaces de hidrógeno con respecto a O5, es posible que también alguna de estas dos aguas pueda actuar como sustrato.

1.2.5. Mecanismo de la evolución de oxígeno por el complejo oxidante del agua.

Un misterio sin resolver en la química bioinorgánica es el mecanismo de la oxidación del agua por el WOC o CLO del FSII. En 1969, los experimentos de Pierre Joliot mostraron que un número de destellos de luz (destellos de luz de microsegundos seguidos de ausencia de luz) generaban un patrón oscilante dependiente en la liberación de O_2 ; un máximo de liberación de oxígeno se produjo en cada cuarto destello, con el primer máximo en el tercer destello.

En 1970, Kok y compañeros⁵² proponen una explicación para la oscilación observada en el patrón de liberación de oxígeno. La hipótesis de Kok era que, en un ciclo de la oxidación del agua, la sucesión de los equivalentes oxidantes se almacena separada e independiente en cada CLO, y cuando cuatro equivalentes oxidantes se han acumulado, un oxígeno se desprende espontáneamente.⁵³ Cada estado de oxidación del CLO se denomina un “estado S”, siendo, en condiciones normales, S_0 el estado más reducido y S_4 el más oxidado en el ciclo catalítico (Fig. 1.7).

Sin embargo, también los estados superreducidos S_i se pueden completar ($i = 1, 2, 3, 4$ o 5). Es esencial reconocer que con el fin de explicar el hecho de que el primer máximo de la liberación de oxígeno fue después del tercer destello de luz, y a continuación, después del séptimo, y onceavo destellos, el estado S_1 debe ser estable en la oscuridad. Por lo tanto, el sistema se inicia principalmente en S_1 en muestras adaptadas a la oscuridad. Además, la transición $S_4 \rightarrow S_0$ es independiente de la luz y en este estado se ha liberado el oxígeno. Otras transiciones de estados S son inducidas por la oxidación fotoquímica de la clorofila oxidada ($P680^+$).

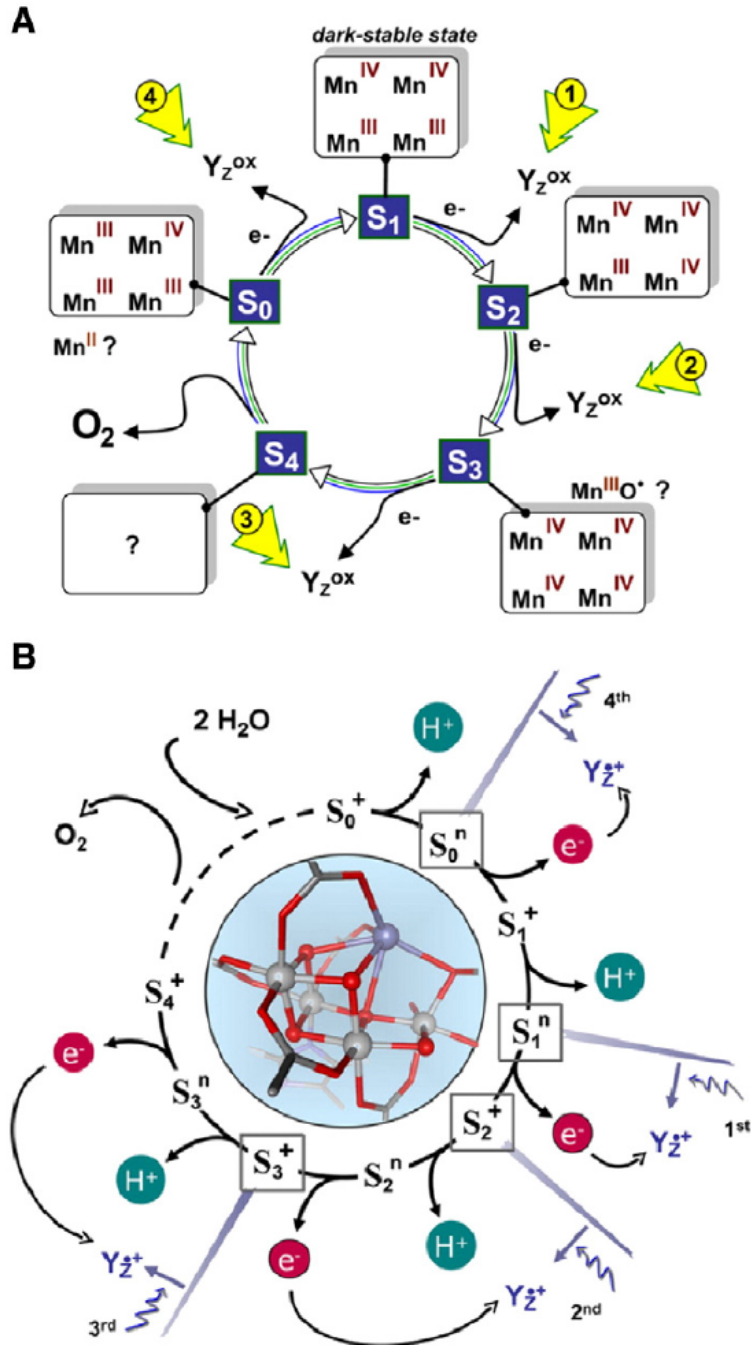


Figura 1.7. Posibles estados de oxidación de los cuatro átomos de manganeso en los estados S (A). Ciclo de estados S extendido que muestra no sólo cuatro oxidaciones sino también cuatro pasos de desprotonación (B).

Sin embargo, los nuevos mecanismos propuestos para la oxidación del agua no sólo contienen cuatro simples pasos de transferencia de electrones, si no que además proponen una serie de estados intermedios que implican la eliminación de cuatro protones (Fig 1.7), en los que algunos autores²⁷ plantean la implicación de alguna de las tirosina presentes en el FS II (Y_z : residuo tirosina Tyr161 activo-redox de la subunidad D1 del FS II) y moléculas de agua que se encuentran coordinadas al cluster Mn_4CaO_5 .

Se propone la secuencia de reacciones básicas para las transiciones del estado S_0^n al estado S_4^+ , tal y como se indica en la Fig 1.7:

(i) A partir del estado-S más reducido semiestable, S_0^n , la absorción de un fotón por el FS II induce la rápida oxidación de Y_z ($< 1 \mu s$) seguida de la transferencia de un electrón del complejo de Mn a Y_z^{ox} ($40 \mu s$), resultando en la formación de S_1^+ . La oxidación de Mn en la transición $S_0^n \rightarrow S_1^+$ disminuye el pK_a de un ligando del Mn, posiblemente un hidróxido puente, a un valor alrededor de 3,3. El protón se elimina del complejo de Mn y se traslada hacia el lumen sólo después de la formación de S_1^+ en la transición $S_1^+ \rightarrow S_1^n$;

(ii) El siguiente fotón absorbido induce la oxidación de Y_z^{ox} seguida de una oxidación de $Mn^{III} \rightarrow Mn^{IV}$ en la transición $S_1^n \rightarrow S_2^+$. La oxidación del Mn disminuye los valores de pK_a de los grupos ligando, pero no en un grado suficiente para la desprotonación;

(iii) La oxidación del complejo de Mn sin ninguna compensación de carga plantea un cambio químico en su potencial redox a un nivel que prohíbe una segunda oxidación por Y_z^{ox} . En el estado S_2^+ , este problema de potencial redox inicialmente impide la oxidación del complejo de Mn por Y_z^{ox} . Sin embargo, $Y_z^{ox(+)}$ impulsa la eliminación de un protón del complejo de Mn, lo que resulta en la formación del estado S_2^+ en unos $30 \mu s$. Se propone que el protón se elimina del cluster por moléculas de agua. De esta manera se crea una vacante de protones que se deslocaliza dentro del cluster en el agua (en la escala de tiempo de μs) pero que probablemente resida sobre todo en la molécula de agua cercana a Y_z^{ox} , que esta coordinada al ión Ca del complejo de Mn. En la posterior transición de transferencia de electrones ($S_2^n \rightarrow S_3^+$), la oxidación de $Mn^{III} \rightarrow Mn^{IV}$ del Mn1 está asociada a la transferencia de protones del agua previamente desprotonada del cluster. Se considera

que la desprotonación del agua del cluster interconecta Y_z y el complejo de Mn para convertirse en la opción más plausible, apoyada en la importancia del valor de pK de las moléculas de agua coordinadas al ión Ca;

(iv) En las transiciones $S_3^+ \rightarrow S_3^n \rightarrow S_4^+$, la secuencia temporal básica de eliminación de protón y transferencia de electrón es similar para la transición descrita anteriormente, $S_2^+ \rightarrow S_2^n \rightarrow S_3^+$. Sin embargo la ruta de eliminación de protones en esta transición $S_3^+ \rightarrow S_3^n$ implica otras especies. En comparación a la transferencia de electrones en la transición $S_2^n \rightarrow S_3^+$, la transición $S_3^n \rightarrow S_4^+$ puede asociarse a cambios químicos más amplios adecuados para iniciar la formación del enlace O-O.

La identificación de los actuales intermedios S_4^+ y S_0^+ aún poco conocidos y una mayor comprensión de los mecanismos de las transiciones que implica este ciclo representan el desafío central en las futuras investigaciones de la oxidación fotosintética del agua.

1.2.6. Modelos artificiales del complejo liberador de oxígeno.

El estudio de la oxidación catalítica de agua sigue siendo una de las áreas más activas de investigación en muchas disciplinas de la química. El desarrollo de ensamblajes fotosintéticos artificiales para la exploración de materiales a nanoescala, para posteriormente ser utilizados como fotoánodos para la descomposición del agua, implica una detallada comprensión de los detalles de la mecánica de la oxidación del agua en el fotosistema II (FSII), lo cual es también de suma importancia para el diseño racional de un modelo artificial. Además, comprender el mecanismo del modelo catalítico a escala molecular de la oxidación de agua nos proporcionará una oportunidad única para dilucidar los mecanismos de las rutas de oxidación del agua en el complejo liberador de oxígeno (CLO) del FSII.

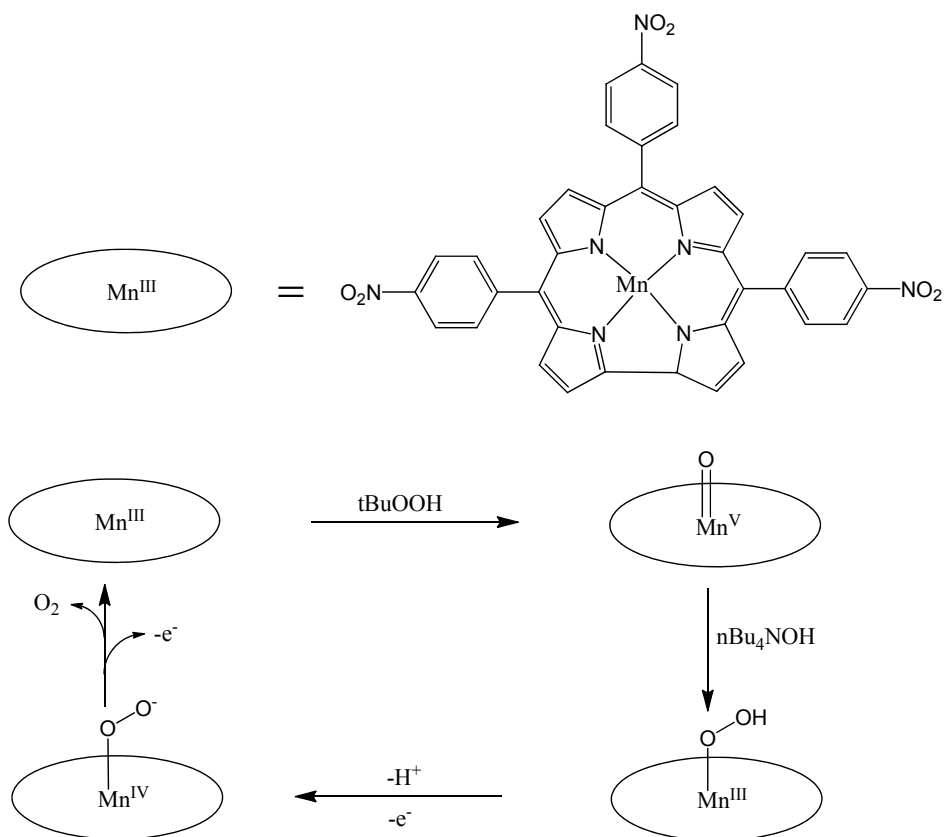


Figura 1.8. Mecanismo propuesto para un complejo mononuclear de manganeso.

Recientemente, Akermark y compañeros han estudiado el mecanismo de la oxidación del agua por un compuesto mononuclear de manganeso usando como marcador isótopos de oxígeno y un análisis en línea GC/MS.⁵⁴ Sus experimentos han constituido la prueba experimental del posible mecanismo que implica la adición nucleófila de hidróxido en especies $M^V=O$ (Fig. 1.8). El complejo hidroperoxo puede ser producido por el ataque del hidróxido en la especie activa existente $M^V=O$. Existe evidencia espectroscópica para todas las especies en este mecanismo, excepto para el complejo de Mn^{III} hidroperoxo. La generación de O₂ tenía la distribución de isótopos estadística esperada cuando se usó agua marcada con ¹⁸O, lo que indica que uno de los dos átomos de oxígeno del O₂ es derivado del terc-butil hidrogenoperoxido (TBHP) y el otro del agua.

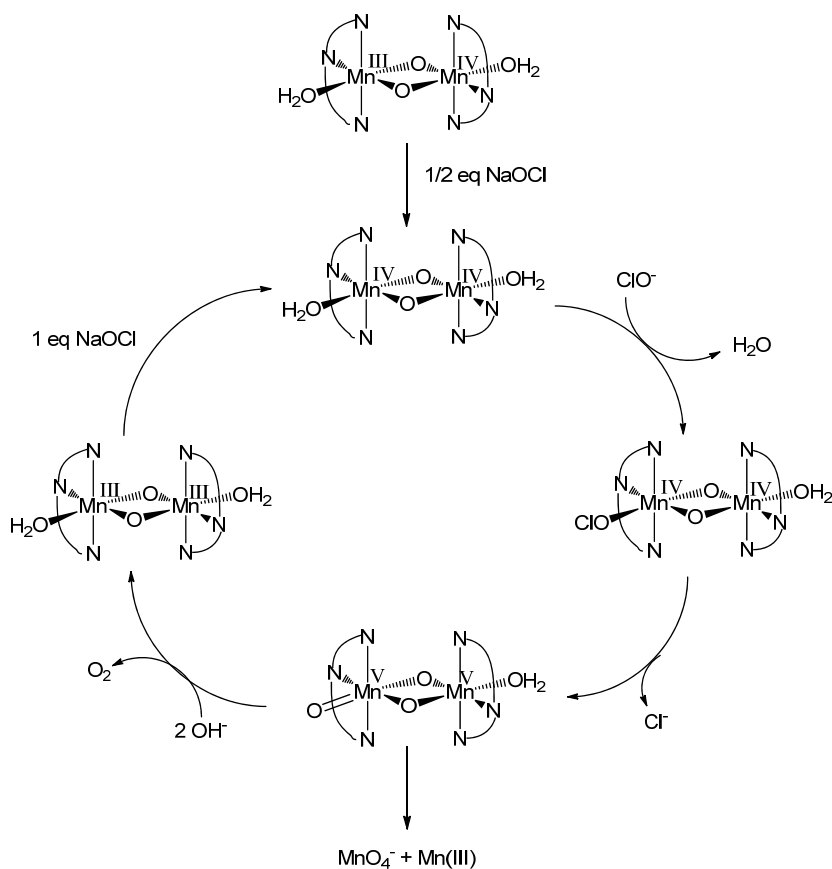


Figura 1.9. Primer modelo funcional de dímero de manganeso con puente di- μ -oxo.

Brudvig, Limburg y compañeros publicaron a finales de los años noventa el compuesto $[\text{H}_2\text{O}(\text{terpy})\text{Mn}(\text{O})_2\text{Mn}(\text{terpy})\text{OH}_2](\text{NO}_3)_3$, que constituye el primer modelo funcional con unidades diméricas de Mn di- μ -oxo que puede catalizar la liberación de O_2 , similar a la observada en el CLO.⁵⁵ Hicieron hincapié en la idea de que el $\text{Mn}^{\text{V}}=\text{O}$ terminal es una especie clave para la formación de enlaces O-O que implican un ataque del OH^- para producir un intermedio peroxo. Después de la liberación de O_2 , las especies $\text{Mn}^{\text{V}}\text{Mn}^{\text{V}}$ se reducen al dímero $\text{Mn}^{\text{III}}\text{Mn}^{\text{III}}$ (Fig. 1.9), que es oxidado por el oxidante (NaOCl) para recuperar el dímero original de $\text{Mn}^{\text{IV}}\text{Mn}^{\text{IV}}$, lo cual fue verificado por resonancia paramagnética electrónica (EPR) y espectroscopía ultravioleta/visible (UV/VIS).

El primer complejo con núcleo de cuatro átomos de manganeso fue desarrollado por Dismukes y compañeros (Fig. 1.10).^{30,56} El mecanismo pasa

a través de un intermedio llamado “butterfly” (mariposa), el enlace O-O se forma a través de dos esquinas del cubano, y dos de los iones de manganeso que pivotan hacia el exterior (Fig. 1.10).

El mecanismo de participación del intermedio “butterfly” ha sido recientemente objeto de un estudio teórico de Kuznetsov, Hill y Musaev y compañeros,⁵⁷ los resultados de sus cálculos indicaron que la formación del intermedio “butterfly” hace que el núcleo Mn_4O_4 sea más compacto y acorta la distancia $O^1-O^{1'}$ de 2,74 Å a 2,45 Å, y por lo tanto aumenta la viabilidad de formación de enlaces $O^1-O^{1'}$. El intermedio “butterfly” se somete continuamente a dos procesos oxidación/reducción de dos electrones y su núcleo de Mn_4 núcleo se transforma de $[Mn^1(III)-Mn^{1'}(III)-Mn^2(IV)-Mn^{2'}(IV)]$ a $[Mn^1(II)-Mn^{1'}(II)-Mn^2(III)-Mn^{2'}(III)]$. El enlace sencillo $O^1-O^{1'}$ y el doble enlace $O^1=O^{1'}$ son formados en cada proceso de oxidación / reducción de dos electrones, respectivamente. Por último, el intermedio “butterfly” se transforma en un complejo abierto “butterfly” (Fig. 1.12). El complejo y su producto de oxidación también pueden someterse a la reducción con átomos donantes de H como una fenotiazina por una reacción de acoplamiento de protones y transferencia de electrones ($4e^-/4H^+$ y $+ 5e^-/4H^+$) para formar el compuesto “pinned-butterfly” (mariposa sujeta) y dos moléculas de agua en disolución.

Una parte significativa de la comunidad científica ha permanecido fascinada durante años por los modelos artificiales con arquitecturas muy complicadas, desechando los modelos más “simples”. Estos modelos “simples” se diferencian estructuralmente del enzima nativo pero, sin embargo, han resultado muchas veces más efectivos que los modelos complicados.^{41,58-61} Entre los modelos “simples” cabe destacar el $[(bpy)_2Mn^{III}(\mu-O)_2Mn^{IV}(bpy)_2]^{3+}$, propuesto por Calvin en los años setenta como la primera propuesta artificial para la conversión fotosintética de energía solar.⁶² Este modelo ha inspirado a los científicos durante décadas, de forma que en los años ochenta Kaneko *et al.*⁶³ usaron este complejo para oxidar agua con Ce(IV) en fase heterogénea al adsorberlo en caolín. En los últimos años han aparecido una serie de publicaciones que continúan inspirándose en el modelo de Calvin.⁶⁴⁻⁶⁷

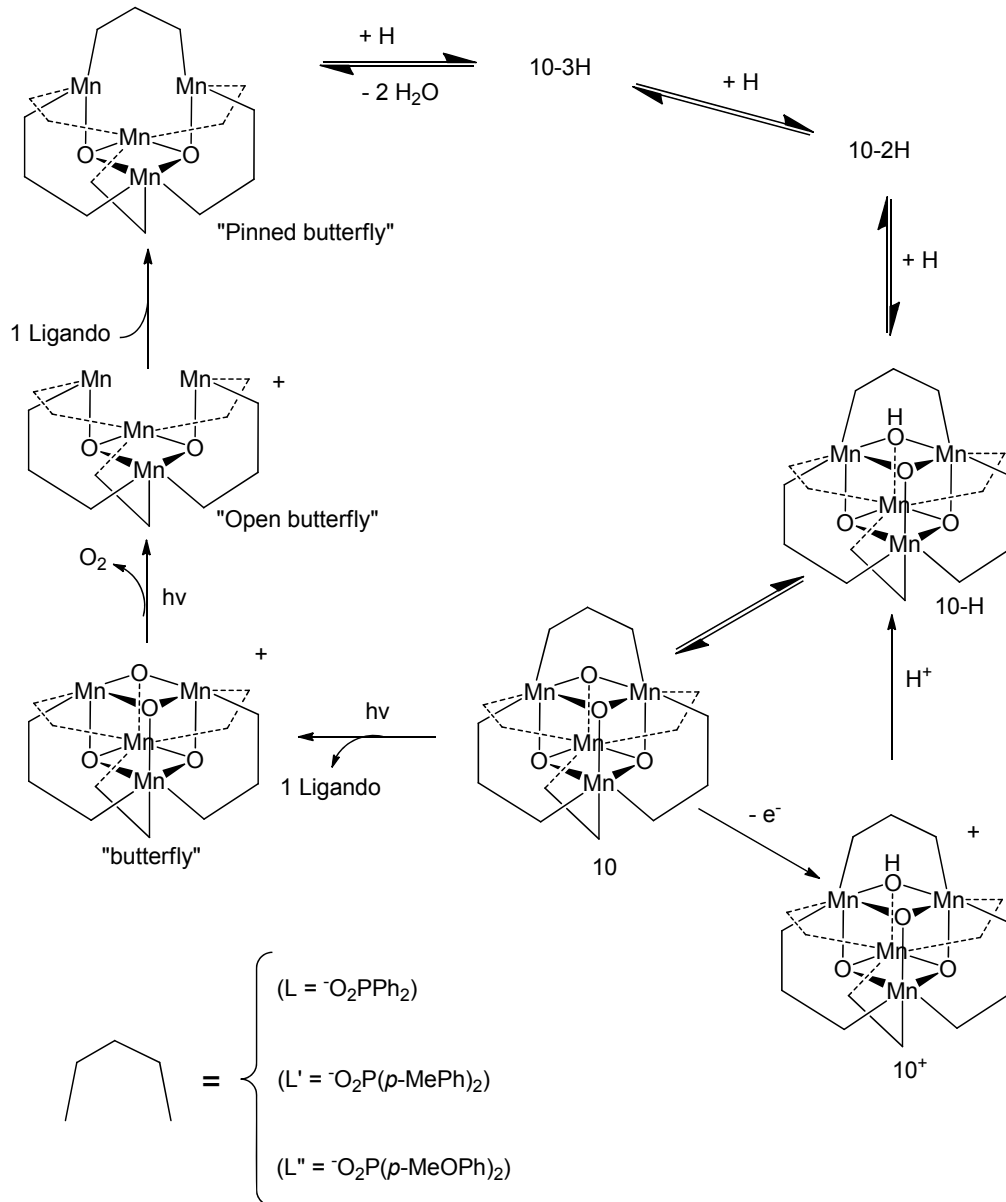


Figura 1.10. Mecanismo de oxidación del agua para un compuesto de manganeso tetranuclear.

McAuliffe y colaboradores también comprobaron en los años 80-90 del siglo pasado otro sistema sencillo apto como catalizadores para la fotólisis del agua: los complejos de manganeso con ligandos base de Schiff tetradentados.^{68,69} Las bases de Schiff son ligandos orgánicos económicos y

bien estudiados; algunas de ellas son capaces de reproducir la química de las porfirinas,⁷⁰ más costosas económicamente. La formación del grupo azometina es favorable termodinámicamente y su estabilidad frente a las aminas primarias puede explicar por qué la Natureza es propensa a elegir estos residuos orgánicos en lugar de otros sistemas más desfavorables. Además este tipo de ligandos permite diseños muy versátiles, al poder modificar su carácter básico o sus propiedades estéricas en función de la naturaleza de los sustituyentes de los anillos aromáticos.⁷¹ El fuerte efecto quelato proporcionado por estos ligandos confiere una robustez añadida a sus complejos metálicos en comparación con otros sistemas.

1.3. Catalasas.

1.3.1. Enzima catalasa.

Durante los procesos biológicos y en el constante intercambio con el medio, se generan especies químicas conocidas como radicales libres, que se caracterizan por presentar un electrón desapareado y por ser muy reactivas. De todos los radicales resultan de gran interés las especies reactivas derivadas del oxígeno (EROS) debido a la estructura birradicalaria de esta molécula y al gran número de procesos que las generan y en los que pueden verse involucradas.⁷²

Las principales EROS son: el ión superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo (OH^\bullet), el oxígeno singlete y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Estas especies están implicadas en el daño celular de forma tal que las agresiones oxidantes pueden dirigirse hacia la carcinogénesis, enfermedades inflamatorias, senectud celular y enfermedades neurodegenerativas, entre otros procesos patológicos.

En el organismo existe un sistema de protección antioxidante formado por enzimas y compuestos de bajo peso molecular. Una de las enzimas que interviene en la protección y, en consecuencia, en el mantenimiento del balance oxidante/antioxidante es la catalasa (CAT).

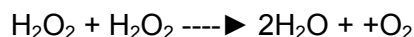
La catalasa (peróxido de hidrógeno oxirreductasa, EC) es una de las enzimas más abundantes en la naturaleza y se encuentra ampliamente distribuida en el organismo humano, aunque su actividad varía dependiendo

del tejido; ésta resulta más abundante en el hígado y los riñones, más baja en el tejido conectivo y los epitelios, y prácticamente nula en el tejido nervioso. A nivel celular se localiza en las mitocondrias y los peroxisomas, excepto en los eritrocitos, donde se encuentra en el citosol.

Una de las características de las catalasas con grupos hemo es que se inhiben con concentraciones bajas de azida y cianuro. De todas formas, era bien conocido desde los años 1960 que algunas catalasas son insensibles a la azida y al cianuro,⁹ sugiriendo que posiblemente no eran enzimas de hierro, lo cual se confirmó en 1983, con el aislamiento y purificación de una catalasa de manganeso de la *Lactobacillus plantarum* de la que años después se aisló y resolvió su estructura cristalina.¹⁰

A pesar de que la reacción de desproporción del peróxido de hidrógeno es favorable termodinámicamente, para que la reacción se desarrolle rápido se requiere un catalizador de dos electrones. En el caso de las catalasas de hierro, esto se consigue mediante el ciclo entre los cationes porfirínicos de Fe^{III} y Fe^{IV}, lo que ocurre a una velocidad muy alta. En las catalasas de manganeso las constantes de velocidad son del orden de $2.0 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$, aproximadamente un 1% de la correspondiente a las catalasas de hierro, pero aún muy rápida.⁷³

La reacción general entraña la reducción del sustrato tomando los átomos de hidrógeno aportados por el donador, y los productos finales serían el sustrato reducido y el donador oxidado. En la función catalítica, el donador es otra molécula de H₂O₂:



En la Figura 1.11 se muestra la catalasa obtenida de la *Thermus thermophilus*. La enzima aparece como un hexámero de seis subunidades equivalentes, cada una de ellas con una masa molecular de 35 kDa monómero, conteniendo también cada una un centro dinuclear de manganeso, con una separación de 3,6 Å entre los dos metales. El entorno de los átomos metálicos es octaédrico¹⁰ con ligandos dadores de O y/o N,⁷⁴⁻⁷⁵ además de los restos aminoácido¹⁰ ligados al manganeso (dos His (histidinas), dos Glu (Glutamatos) terminales y un Glu puente), hay dos oxígenos puente entre los dos centros metálicos (puentes μ -oxo y μ -

carboxilato) y una molécula de agua sobre el manganeso que está unido al Glu terminal monodentado.

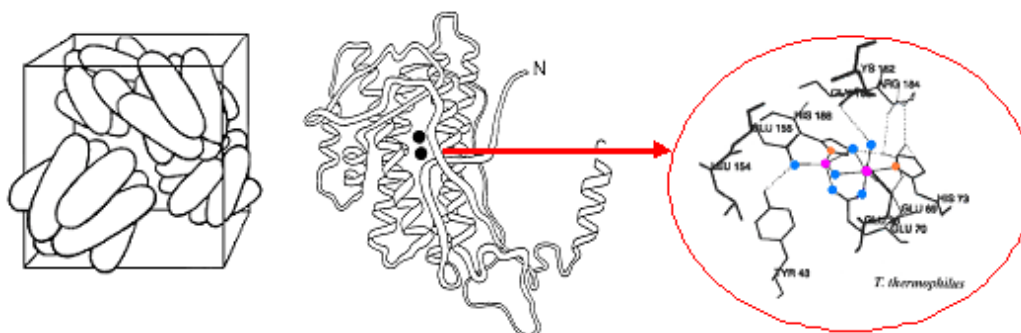


Figura 1.11. Catalasa obtenida de la *Thermus thermophilus*, representación esquemática de: a) estructura cuaternaria del hexámero en el cristal, (b) una subunidad (los círculos negros representan los dos átomos de manganeso separados por 3,6 Å) y centro activo de los Mn(III).

El interés por desarrollar nuevos fármacos que actúen contra el envejecimiento celular y las enfermedades generadas por deficiencias en catalasas en el organismo, ha impulsado el conocimiento sobre este tipo de enzimas. Hoy en día son muchas las catalasas de manganeso que se encuentran relativamente bien caracterizadas espectroscópicamente, con varias estructuras cristalinas de enzimas MnCat resueltas en los últimos años. De esta forma, desde el ámbito de la bioinorgánica, se trata de un modelo atractivo ya que puede estudiar tanto la habilidad de los compuestos modelo para mimetizar la reactividad como para reproducir los espectros y la estructura del centro activo de la enzima.⁷⁶

La Figura 1.12(a) representa el centro activo de lo que se supone, es la forma oxidada $[2\text{Mn(III)}]$ de la enzima de *L. plantarum*. En la forma reducida, la menor carga de los centros metálicos probablemente permita la protonación de esos puentes, pasando a ser un hidróxido y una molécula de agua, como se ve en la Figura 1.12(b).

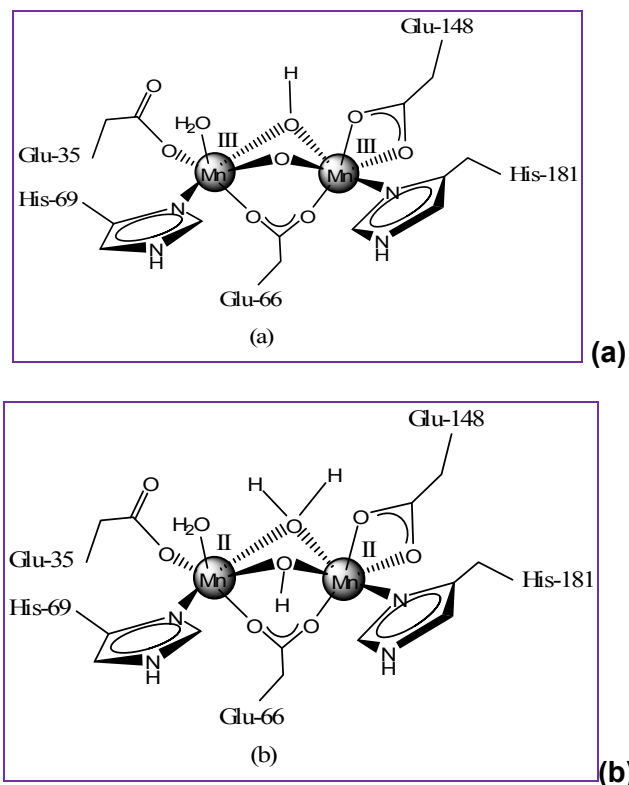


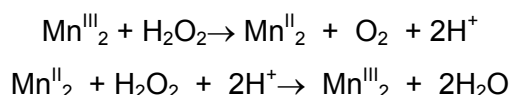
Figura 1.12. Centro activo de la catalasa de Mn de *Lactobacillus plantarum*;

(a) en su forma oxidada, (b) en su forma reducida.

Con dos iones de manganeso, cada uno de ellos puede, por lo menos, en principio, operar entre Mn^{II} y Mn^{IV}, por lo que hay cinco estados de oxidación posibles para las MnCat. Una combinación de espectroscopias EPR, UV-Vis y de absorción de rayos X, muestran que las MnCat pueden existir en por lo menos cuatro de estas posibilidades: un estado reducido Mn^{II}₂, un estado de valencia mixta Mn^{II}Mn^{III}, un estado oxidado Mn^{III}₂ y un estado superoxidado Mn^{III}Mn^{IV}.⁷⁷

De momento no hay evidencia de un estado Mn^{IV}₂. Con los cuatro estados de oxidación conocidos, se pueden dar dos ciclos catalíticos de dos electrones diferentes. De todas formas, la adición de NH₂OH y H₂O₂ convierte a la enzima aislada, que contiene una mezcla de los cuatro estados de oxidación, en la forma superoxidada, con la pérdida completa de su actividad.⁷⁸

La falta de reactividad de la enzima superoxidada elimina la posibilidad del ciclo catalítico $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Mn}^{\text{III}} \rightarrow \text{Mn}^{\text{III}}\text{Mn}^{\text{IV}}$. Los estudios espectroscópicos mostraron como el H_2O_2 puede oxidar tanto a la forma reducida de la enzima como a la oxidada.⁷⁷ Esto es consistente con el siguiente mecanismo (aunque tampoco rechaza completamente la posibilidad de un ciclo catalítico $\text{Mn}^{\text{III}}_2 \rightarrow \text{Mn}^{\text{IV}}_2$):



1.3.2. Modelos funcionales de la MnCAT.

El primer modelo funcional que reproducía la actividad catalasa fue desarrollado por Dismukes et al. en 1987.⁷⁹ Utilizando el ligando septadentado *N,N,N',N'*-tetrakis(2-metilenbenzamidazolil)-1,3-diaminopropan-2-ol unido a dos iones Mn^{II} consiguió un modelo capaz de desproporcionar catalíticamente peróxido de hidrógeno. El complejo no fue caracterizado estructuralmente por rayos X, pero distintos estudios indicaban que un anión cloruro se enlazaba a cada ión manganeso (Figura 1.13). Este complejo fue el primero en exhibir una reactividad mayor de la estequiométrica con peróxido de hidrógeno, desproporcionando 200 mmol de peróxido por milimol de complejo. Los estudios cinéticos indicaron que durante la reacción con H_2O_2 el complejo ciclaba entre sus estados de oxidación Mn^{II}_2 y Mn^{III}_2 , de la misma manera que la reactividad observada para las catalasas de manganeso naturales.

Dismukes ha publicado posteriormente complejos análogos en los que los puentes cloruro fueron reemplazados por grupos carboxilato (tanto monodentado como bidentado), generando iones Mn^{II} pentacoordinados.⁸⁰⁻⁸¹ Estos complejos aumentan su solubilidad en comparación con el precursor con el puente cloruro y exhiben el mismo ciclo redox durante la reacción catalasa. También se observó que un exceso de acetato inhibía la reacción, lo cual sugiere que la disociación del acetato es crítica en el proceso. Sin la presencia del anión coordinado, la velocidad de reacción aumenta y el número de ciclos catalíticos se incrementa desde 200 a más de 1000. Los datos cinéticos muestran una constante de velocidad de segundo orden de

$1,2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, sugiriendo que la reducción del peróxido y la regeneración del complejo Mn^{III}_2 podrían ser las etapas limitantes.

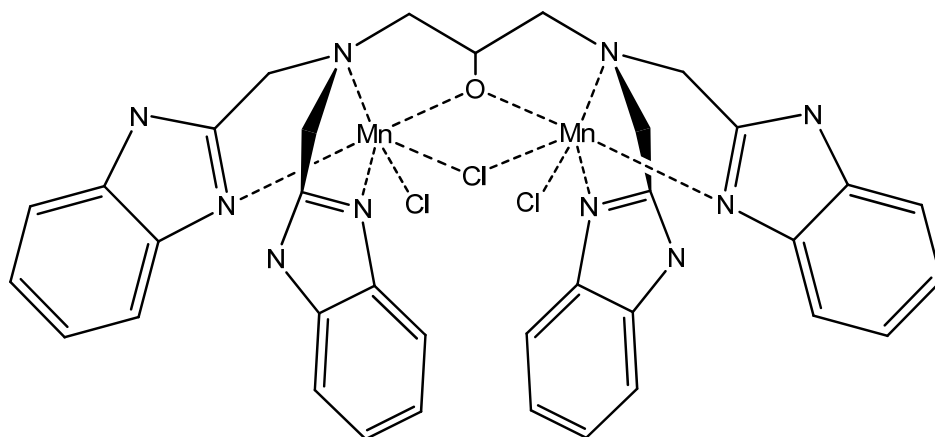


Figura 1.13. Primer complejo modelo dimérico de manganeso con el que se encontró actividad catalítica de tipo catalasa.

Durante muchos años el complejo $[\text{Mn}^{\text{IV}}_2(\text{salpn})(\mu\text{-O})_2]$ mantuvo el record de ser el catalizador de manganeso más rápido para dismutación de peróxido de hidrógeno. Por esta razón, la cinética de este dímero de Mn^{IV} fue estudiada profusamente.⁸² Este complejo puede prepararse a partir de un precursor mononuclear $\text{Mn}^{\text{III}}(\text{salpn})^+$ usando tanto dioxígeno como peróxido de hidrógeno. La reactividad con dioxígeno requiere una disolución básica y da el producto con rendimientos moderados o pobres. En contraste, se pueden alcanzar rendimientos prácticamente cuantitativos realizando la síntesis por la vía del peróxido de hidrógeno.

La reacción directa de $[\text{Mn}^{\text{IV}}_2(\text{salpn})(\mu\text{-O})_2]$ con peróxido de hidrógeno en diclorometano produce niveles cuantitativos de dioxígeno, confirmando la reacción de tipo catalasa. El catalizador es estable durante más de 5000 ciclos catalíticos. Estudios de marcaje isotópico con $\text{H}_2^{18}\text{O}_2$ indican que el dioxígeno no proviene de los oxígenos puente, sino del sustrato de peróxido de hidrógeno. Si se comienza la reacción con una mezcla equimolar de $[\text{Mn}^{\text{IV}}_2(\text{salpn})(\mu\text{-O})_2]$ y $[\text{Mn}^{\text{IV}}_2(\text{X-salpn})(\mu\text{-O})_2]$, el producto que se recupera es una mezcla estadística de $[\text{Mn}^{\text{IV}}_2(\text{salpn})(\mu\text{-O})_2]$, $[\text{Mn}^{\text{IV}}_2(\text{X-salpn})(\mu\text{-O})_2]$, y $[\text{Mn}^{\text{IV}}_2(\text{salpn})(\text{X-salpn})(\mu\text{-O})_2]$. Este comportamiento muestra que el dímero de disocia en monómeros durante la reacción catalítica. Sin embargo, después

de un número de ciclos elevados con $\text{H}_2^{16}\text{O}_2$ e $\text{H}_2^{18}\text{O}_2$, los puentes μ -oxo también se convierten en $[\text{Mn}^{\text{IV}}_2(\text{salpn})(\mu\text{-}^{18}\text{O})_2]$ y $[\text{Mn}^{\text{IV}}_2(\text{salpn})(\mu\text{-}^{16}\text{O})]$, sin la presencia de productos con marcaje isotópico mixto, lo cual indica que la rotura del enlace peróxido debe ocurrir después de la asociación del peróxido como complejo dímico. En base a estos estudios, se ha propuesto el mecanismo que se muestra en la Figura 1.15.

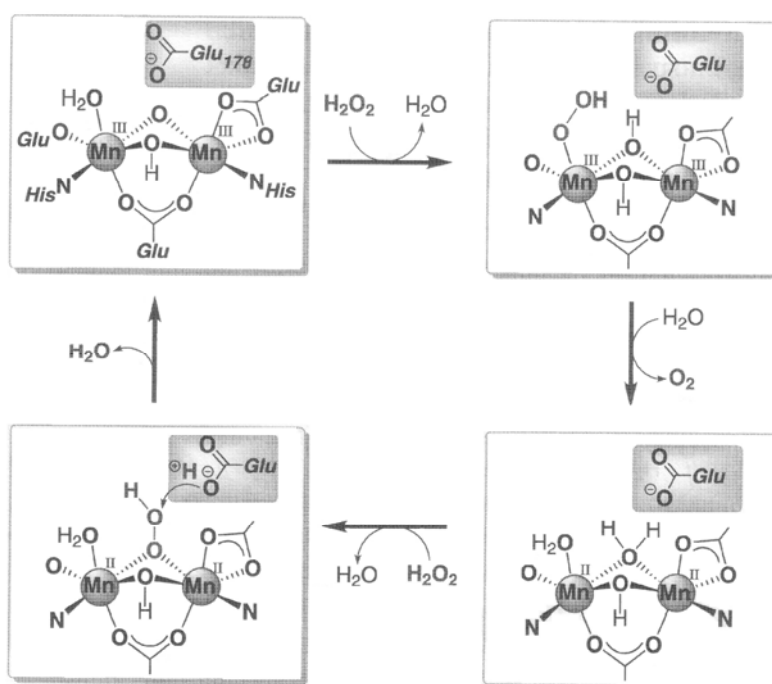


Figura 1.14. Mecanismo propuesto para la desproporción de peróxido de hidrógeno por la Mn-catalasa.

Sin embargo, la mayoría de estos sistemas descritos con actividad catalasa relevante, también presentan el problema de su insolubilidad en medio acuoso o la pérdida de actividad en este medio.⁸³ De hecho, el sistema funcional con ensayos clínicos más exitosos,⁸⁴ es el complejo monomérico $[\text{Mn}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]$, con una estructura diferenciada de la prevista para los enzimas catalasa naturales. Este compuesto ya se comercializa por Merck-Biosciences como EUK-8, por sus efectos beneficiosos para el tratamiento del estrés oxidativo, incluyendo inflamación, enfermedades cardiovasculares o desórdenes neurológicos.⁸⁵

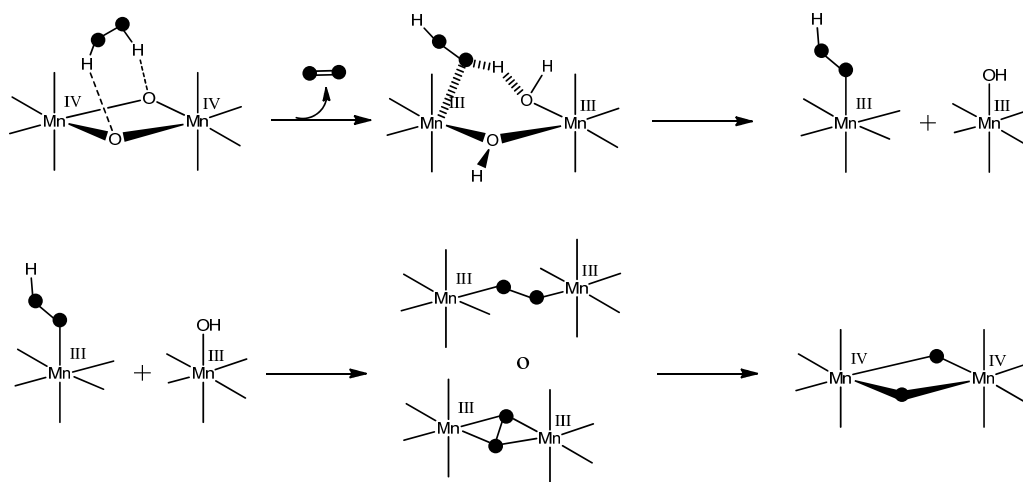


Figura 1.15. Propuesta de mecanismo para el complejo $Mn^{IV}_2salpn_2$.

1.3.3. Importancia biomédica de la catalasa.

La catalasa ha sido ampliamente estudiada en relación con su participación en numerosos procesos patológicos de gran importancia en las investigaciones biomédicas, y está involucrada tanto en la génesis como en las consecuencias de dichos procesos.

En el desarrollo de enfermedades o lesiones renales, hepáticas y de mucosa intestinal en las que participa el aumento de los niveles de EROS se ha comprobado la protección que brindan las enzimas antioxidantes como la catalasa y la superóxido dismutasa (SOD) que se recomiendan como posible tratamiento.

Estudios recientes muestran que la catalasa y las SOD, administradas de forma independiente durante la reperfusión cardíaca, reducen significativamente la producción de EROS, pero fallan ante la producción de arritmias ventriculares inducidas por la reperfusión. Ambos efectos pueden eliminarse cuando las dos enzimas se aplican juntas.

Durante los trasplantes cardíacos tiene lugar una isquemia prolongada seguida de reperfusión con sangre oxigenada, produciéndose un aumento en los niveles de las EROS, lo que trae como consecuencia un desacoplamiento de los procesos de contracción-excitación a nivel del

sarcolema. La catalasa y las SOD pueden preservar la función del metabolismo miocárdico durante el trasplante.

Se ha encontrado que después de quemaduras severas existe un incremento del catabolismo proteico con la consiguiente disfunción hepática, lo cual puede reducirse administrando enzimas antioxidantes como la catalasa.

En afecciones respiratorias como el síndrome de *distress* respiratorio en adultos, inducido por EROS, se ha encontrado aumento en la actividad de la catalasa. En modelos experimentales de inducción de edema pulmonar con aloxano se observó que este compuesto produce daños a nivel endotelial y aumento en los niveles plasmáticos de tromboxano B2 y 6-cetoprostaglandina F1. La catalasa previene el aumento de estos compuestos y la acumulación de agua extravascular, reduciendo el daño endotelial y con ello el edema pulmonar.

Numerosos estudios han relacionado la infertilidad masculina con una disminución de la motilidad de los espermatozoides, lo que parece estar causado por un aumento de especies reactivas, sobre todo de H_2O_2 . Este puede ser reducido por acción de la catalasa, lo cual se propone como posible tratamiento en estos casos.

Se han realizado estudios que plantean la inducción de proteínas del *shock* térmico (HSP) como responsables de enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer. La síntesis de HSP es inducida por las EROS y se observa que una exposición a éstas en presencia de enzimas antioxidantes como la catalasa y las SOD mejora la supervivencia de las células y disminuye la inducción de HSP.

Otros estudios con modelos experimentales han mostrado el importante papel que juegan las EROS en la invasión tumoral y las metástasis y se ha observado que la administración de catalasa podía inhibir la formación de metástasis.

Estos hallazgos permiten considerar que la participación de los sistemas antioxidantes en el mantenimiento del balance oxidante/antioxidante constituye un elemento esencial para el control de numerosos procesos

biológicos cuyas alteraciones pueden originar o ser consecuencia de trastornos somáticos en un individuo.

Se ha encontrado, en los ensayos con animales, que el EUK-8 ($[\text{Mn}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]$) es capaz de reducir el estrés oxidativo del músculo del corazón⁸⁶ y de mejorar la recuperación de los daños producidos por la cardiopatía isquémica y cerebral.⁸⁷ Los ensayos también demostraron la capacidad de este compuesto para el tratamiento de la disfunción renal y los daños hepatocelulares en el shock endotóxico.⁸⁸ Sin embargo, el retraso del envejecimiento celular es aún una de las posibilidades más atractivas de la terapia antioxidante con EUK-8.⁸⁹

La estrategia de nuestro grupo de investigación, desde hace años, es modelar diferentes enzimas naturales con complejos sintéticos de carácter iónico, de forma que se pueda testar posteriormente su actividad también en medio acuoso. Las similitudes entre los complejos miméticos de la catalasa presentados por otros autores, como el propio $[\text{Mn}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]$, y los sistemas que desarrollamos en el grupo de investigación fundamentan nuestro interés por estudiar esta propiedad catalítica.

1.4. Peroxidasas.

1.4.1. Enzima peroxidasa.

La Mn-peroxidasa (*MnP*) es una de las dos enzimas conocidas capaz de producir la degradación oxidativa de la lignina,⁹⁰ tal y como se indica en el esquema de la figura 1.16.

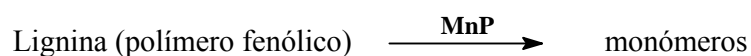


Figura 1.16. Reacción enzimática de la peroxidasa.

La lignina es un polímero aromático, complejo y amorfo, que constituye aproximadamente entre el 20 y el 30% del tejido de las plantas, y que se incorpora en la pared celular, donde disminuye significativamente la biodegradación de la celulosa.^{91,92}

Los únicos organismos conocidos capaces de llevar a cabo esta degradación oxidativa de la lignina a CO₂ y H₂O son unos determinados hongos, siendo el más estudiado el *Phanerochaete chrysosporium*. Al principio de los años 80 se descubrió que este hongo produce dos enzimas extracelulares, la lignina peroxidasa (*LiP*) y la manganeso peroxidasa (*MnP*), las cuales, junto con un sistema generador de H₂O₂, parecen ser los principales componentes de estos sistemas degradadores de lignina.⁹³

La MnP es la única hemo peroxidasa que utiliza Mn(II) como sustrato primario. Desde su descubrimiento en la *P. Chrysosporium*, la MnP ha sido identificada como enzima extracelular en todos los hongos degradadores de lignina que se han examinado hasta la actualidad.⁹⁴

La función de la MnP es, desde el punto de vista medioambiental, muy importante, debido a la degradación controlada de la lignina, el segundo biopolímero más abundante en la Tierra, que puede ser convertido en aditivos químicos y combustibles. Esta capacidad de degradar residuos orgánicos tiene también una gran importancia en la biorremediación.⁹⁵

1.4.2. Etapa de blanqueo de la pulpa de papel.

La obtención de pulpa de papel engloba la liberación a larga escala de fibras a partir de material vegetal lignocelulósico. Los procesos químicos para la fabricación de pulpa se basan principalmente en reactivos químicos y calor para ablandar y disolver la lignina en el material vegetal, seguido de un refinamiento mecánico para separar las fibras.⁹⁶ En la industria papelera se utiliza fundamentalmente el proceso Kraft,⁹⁷ que implica la utilización de hidróxido de sodio y sulfuro sódico para extraer la lignina de las fibras de la madera. Sin embargo, la pulpa sin blanquear obtenida mediante dicho proceso sigue conteniendo lignina (de un 1,5 a un 6 % dependiendo del tipo de madera). La lignina, que en la madera es ligeramente coloreada, se vuelve altamente coloreada después del proceso de cocción. Si el proceso de fabricación de la pulpa se prolonga más en el tiempo para reducir las impurezas, se produciría una inevitable pérdida de la calidad de la pulpa debida a la degradación de la celulosa. Por lo tanto, deben aplicarse procesos alternativos con el fin de eliminar las estructuras cromóforas de la

misma. Varios oxidantes basados en el cloro y el oxígeno han demostrado ser eficaces blanqueadores, de forma que aplicados en etapas secuenciales, progresivamente eliminan los cromóforos e impurezas. Como resultado de la preocupación por los compuestos orgánicos clorados, a finales de los 80 los procesos de blanqueamiento fueron rápidamente reemplazados por los llamados procesos de blanqueamiento libres de cloro elemental (ECF). La completa sustitución del cloro por dióxido de cloro fue el paso principal para reducir los niveles de organoclorados (medibles como órgano halógenos adsorbibles, AOX) en los efluentes de las plantas de pasta de papel.⁹⁸ La posterior presión llevó al desarrollo de los procesos de blanqueamiento totalmente libres de cloro (TFC) que enfatizan el uso de oxígeno, peróxido de hidrógeno y ozono como agentes blanqueadores.⁹⁹

El blanqueado se define como un proceso químico cuyo objetivo es el de eliminar el color en la pulpa derivado de la lignina residual y otras impurezas coloreadas.

En el proceso de blanqueo se sigue midiendo el brillo, que es definido como la reflectancia de la luz azul visible en un bloque de hojas de papel utilizando una longitud de onda de 457 nm. El método más común para medir el brillo está recogido en el estándar ISO (ISO 2469, ISO 2470).

El cambio en el brillo en una etapa de blanqueamiento no es proporcional a la reducción en la concentración de cromóforos, ya que la pérdida de reflectancia no es una función lineal de la concentración de cromóforos. Así, a altos niveles de brillo, la pérdida del mismo depende sólo de una pequeña variación en la concentración, mientras que a bajos niveles de este, la pérdida de brillo conlleva un cambio significativamente más elevado que en el caso anterior.

Históricamente, la secuencia de blanqueo más comúnmente utilizada¹⁰⁰ para producir pasta kraft blanqueada para el mercado se basaba en las cinco etapas del procedimiento CEDED (véase en la Tabla 1.1 la definición de los símbolos). Las dos primeras etapas completan el proceso de deslignificación y se consideran una prolongación de la obtención de pasta. A causa de los condicionantes ambientales referentes a las sustancias organocloradas en los vertidos de las fábricas de pasta de papel, muchas veces se sustituye el dióxido de cloro (ClO_2) por una parte de cloro (Cl_2),

utilizado en la primera etapa del blanqueo (CDEDED) y se utiliza un tratamiento previo con oxígeno (O_2) durante la primera extracción cáustica (CDEODED). La tendencia actual en Europa y en Norteamérica apunta a la completa sustitución del ClO_2 o eliminación de ambos, Cl_2 y ClO_2 . En lugar de ClO_2 se utiliza dióxido de azufre (SO_2) que se añade durante la etapa final de lavado, como un “anticloro”, para detener la reacción del ClO_2 y controlar el pH. Se han desarrollado nuevas secuencias de blanqueo sin cloro (por ejemplo, OAZQP, OQPZP, donde Q = quelación) que utilizan enzimas, O_2 , ozono (O_3), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), perácidos y agentes quelantes, como el ácido etilén-diamino tetracético (AEDT). Como estos nuevos métodos eliminan las fases ácidas del blanqueo, se ha de añadir un lavado ácido para permitir la eliminación de los metales enlazados a la celulosa.

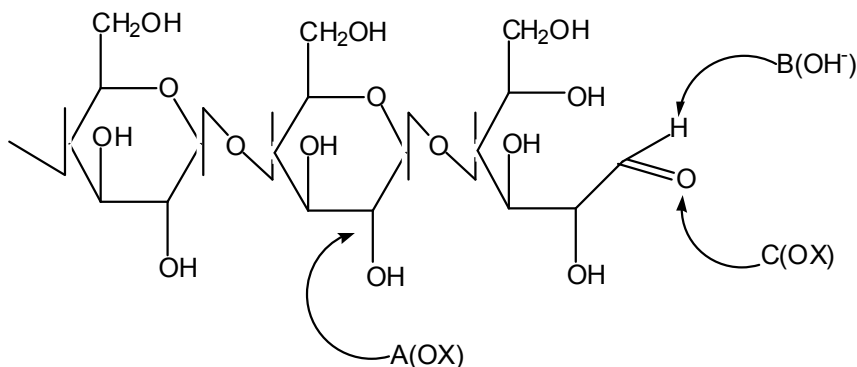
	Símbolo	Concentración del agente (%)	pH	Consistencia (%)	Temperatura ($^{\circ}C$)	Tiempo (h)
Cloro (Cl_2)	C	2,5-8	2	3	20-60	0,5-1,5
Hidróxido sódico (NaOH)	E	1,5-4,2	11	10-12	<80	1-2
Dióxido de cloro (ClO_2)	D	≈1	0-6	10-12	60-75	2-5
Hipoclorito sódico (NaOCl)	H	1-2	9-11	10-12	30-50	0,5-3
Oxígeno (O_2)	O	1,2-1,9	7-8	25-33	90-130	0,3-1
Peróxido de hidrógeno (H_2O_2)	P	0,25	10	12	35-80	4
Ozono (O_3)	Z	0,5-3,5	2-3	35-55	20-40	<0,1
Dióxido de azufre (SO_2)	A	4-6	1,8-5	1,5	30-50	0,25
Ditiosulfato sódico (NaS_2O_4)	Y	1-2	5,5-8	4-8	60-65	1-2

Tabla 1.1. Agentes blanqueantes y condiciones para su empleo.

1.4.3. Blanqueo de pulpa de papel con peróxido de hidrógeno.

Un problema general con el blanqueo de pequeños porcentajes de lignina y cromóforos coloreados en una matriz voluminosa de celulosa es la falta de selectividad en la reacción de oxidación. Por ello, el desarrollo de nuevas tecnologías de blanqueo se orienta a la producción de pulpas con la mayor claridad y los contenidos más bajos de lignina y cromóforos, pero preservando el rendimiento y la fortaleza de las fibras con la menor degradación celulósica posible.

Tanto oxígeno como peróxido de hidrógeno (y sus correspondientes especies iónicas y radicales en disolución) reaccionan con los carbohidratos de la pulpa. El principal ataque oxidante ocurre en las cadenas polisacáridas (oxidando las posiciones C-2, C-3 o C-6 de las unidades monoméricas de azúcares a grupos carbonilo, los cuales producen enlaces glicosídicos lábiles en medio básico), pero también se puede dirigir a los grupos terminales (oxidando grupos aldehidos formados tras la rotura de las uniones glicosídicas).



- A: La oxidación de un alcohol primario o secundario de la cadena a grupos carbonilo genera uniones glicosídicas lábiles frente a álcalis.
 B: Reacción de depolimerización que comienza desde el grupo terminal reducido.
 C: Oxidación de los grupos aldehidos terminales a grupos carboxilos.

Figura 1.16. Grupos susceptibles de sufrir un ataque por agentes oxidantes en la cadena celulósica.

Con estas premisas, se han desarrollado distintos procesos alternativos de blanqueo usando O_2 , H_2O_2 y ozono como oxidantes. Entre estos tres reactivos, el dioxígeno es el más estable, mientras que el peróxido de hidrógeno y, especialmente, el ozono, pueden descomponerse en

presencia de metales de transición, alta temperatura y niveles extremos de acidez o alcalinidad. El efecto estabilizante del magnesio ha sido comprobado en diversos estudios. Kadla *et al*¹⁰¹ realizaron estudios respecto a la oxidación alcalina con peróxido de hidrógeno a varias temperaturas. En presencia de DTMPA (ácido dietilaminopentametileno-pentafosfónico), éste estabiliza el peróxido en medio básico a altas temperaturas produciendo un aumento de la oxidación con el incremento de la temperatura. La mayor selectividad se observa a 90° C, es decir, se consigue la mayor cantidad de grupos hidroxilo fenólicos y de lignina degradados en función del peróxido de hidrógeno consumido. La mayor degradación de lignina (en torno a un 80%) ocurre a 110° C. En ausencia de DTMPA, el peróxido de hidrógeno se degrada fácilmente, y produce sólo una oxidación mínima de la lignina.

Los procesos químicos que ocurren en la pulpa de papel con dióxígeno y peróxido de hidrógeno (en ambos casos con condiciones alcalinas) son bastante similares. Cuando el oxígeno reacciona con el sustrato, puede reducirse a agua, en principio, a través de cuatro sucesivas etapas de transferencia de un electrón, generando productos intermedios como peróxido de hidrógeno o los radicales hidroperoxi e hidroxilo, así como sus homólogos orgánicos. La termodinámica (posición de equilibrio) para estas reacciones difiere apreciablemente, causando diferentes reactividades.

La reacción de los intermediatos peroxo pueden suceder heterolíticamente (formación de especies iónicas) o homolíticamente (formación de especies radicales). El control de estas dos vías y, en particular, el favorecimiento de la rotura heterolítica, se convierte en la clave de la selectividad. Tanto las reacciones de blanqueo del oxígeno como el peróxido de hidrógeno implican la formación de hidroperóxidos orgánicos inestables de celulosa y lignina.¹⁰² La especie aniónica hidroperoxi (HOO^-) se genera a partir de peróxido de hidrógeno en condiciones alcalinas y se considera que reacciona con grupos carbonilos en la lignina convirtiéndose en un agente blanqueante que preserva la lignina. Por otra parte, los radicales altamente reactivos ($\text{HO}\bullet$ y $\text{HOO}\bullet$, producto de la degradación homolítica de los intermediatos peroxo) actuarán como agentes delignificantes.

El blanqueamiento con peróxido se realiza en unas condiciones de pH en un intervalo de 10-12, pH al cual el potencial redox de las especies

reactivas se ve substancialmente reducido debido al bajo potencial de la forma ionizada. El peróxido de hidrogeno (anión hidroperóxido) puede ser tanto oxidado en una etapa al radical hidroperoxilo (anión radical superoxido) como reducido al radical hidroxilo (anión radical oxilo).

Las reacciones de blanqueo de lignina residual con peróxido de hidrógeno necesitan ser optimizadas tanto en su efectividad como en su selectividad. Por lo tanto, se han propuesto distintas soluciones para obtener catalizadores adecuados para las etapas de blanqueo y delignificación. Estos catalizadores deben mejorar la cinética de la oxidación de la lignina y también una mayor selectividad hacia los diferentes componentes de la madera.

1.4.4. Catalizadores para el blanqueo de la pasta de papel con H₂O₂.

Entre los activadores químicos ensayados para aumentar la actividad o selectividad del H₂O₂ en el proceso de blanqueo/delignificación de la pasta de papel son bien conocidos los perácidos (ácido persulfúrico, ácido peracético)¹⁰³ y secuencias de ácido dimetildioxirano/persulfúrico o nitrilamina/peróxido.¹⁰⁴ Estas tecnologías tienen efectos positivos en el proceso, pero también presentan las desventajas de usar disolventes orgánicos específicos, elevar el costo de los reactivos químicos y su reactividad y operar bajo mecanismos poco entendidos a nivel fundamental.

Otra aproximación al problema surge del uso de enzimas para las reacciones de delignificación o blanqueo, tales como lacasas de cobre¹⁰⁵ y la peroxidasa de manganeso (MnP), que es una enzima que contiene hierro y que cataliza la oxidación del quelato de Mn(II) unido a enzimas a Mn(III) mediante peróxido de hidrógeno.¹⁰⁶ Aunque ambas enzimas se tienen descritos con alta capacidad de optimizar las actividades de delignificación de O₂ y H₂O₂, aunque no son usados en la industria, debido a que no se encuentran disponibles a grandes escalas; por causa del alto costo del mediador y porque la enzima MnP requiere un control cuidadoso de la dosis de H₂O₂.

La búsqueda de modelos biomiméticos para la peroxidasa y la ligninasa mostró como porfirinas sintéticas de hierro, manganeso y cobalto en presencia de varios cooxidantes pueden oxidar la lignina.^{107,108} Sin embargo,

la mayoría de estos estudios se centran en reacciones con sustratos-modelo. La reactividad de estos catalizadores porfirínicos frente a la lignina residual en muestras reales de pulpa se mostró menor que ante los sustratos-modelo, además el alto coste del ligando porfirina impide cualquier uso comercial de estos sistemas catalíticos.

También se describieron modelos de polioxometalatos disustituídos con vanadio (por ejemplo $H_5[PV_2Mo_{10}O_{40}]$) o renio como agentes de deslignificación estequiométricos.¹⁰⁹ La mayor virtud de los polioxometalatos es su gran resistencia a la oxidación, sin embargo, el coste del catalizador tampoco permite que, por el momento, el proceso sea rentable económicamente.

La multinacional UNILEVER tiene desarrollado con éxito catalizadores de manganeso que blanquean tejidos a temperatura ambiente. Estos catalizadores biomiméticos son ya usados comercialmente como detergentes, indicando su rentabilidad económica.^{110,111} Hay un paralelismo obvio entre el blanqueo de manchas de té (cromóforos de tipo fenólico) en lavandería y el blanqueo de grupos cromofóricos de la pulpa de papel. Además, la selectividad requerida para el catalizador blanqueante de estos grupos cromofóricos frente a las fibras tipo celulosa en algodón o madera es muy similar. Por lo tanto, estos catalizadores dinucleares de manganeso se presentan como altamente potenciales catalizadores en el blanqueo de la pulpa de la madera.

Los catalizadores oxidantes de manganeso descritos por UNILEVER usan derivados de TACN (1,4,7-trimetil-1,4,7-triazacilononano) como ligandos simétricos con un carácter alto de dadores σ básicos (Figura 1.17).

El mecanismo de blanqueo de varios catalizadores de este tipo fue investigado por espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica, y revela que especies de valencia mixta Mn(III)-Mn(IV) son importantes intermedios en el ciclo de la reacción. La estabilidad de este compuesto de valencia mixta se correlaciona con la reactividad blanqueante del catalizador. Esta reactividad también se presenta con una fuerte dependencia del pH. De esta manera, a pH menores de 9,5, las especies mononucleares de manganeso son más reactivas en el blanqueo que los complejos dinucleares, pero a pH más alcalinos (>9,5), son estos últimos los más reactivos. Los experimentos

preliminares muestran que estos catalizadores dinucleares reaccionan muy lentamente, o incluso, no reaccionan con estructuras de carbohidratos a temperaturas medias, pero, al mismo tiempo, son muy reactivos frente a los sustratos fenólicos, por lo que potencialmente son compuestos adecuados para el blanqueo de la pulpa de papel.

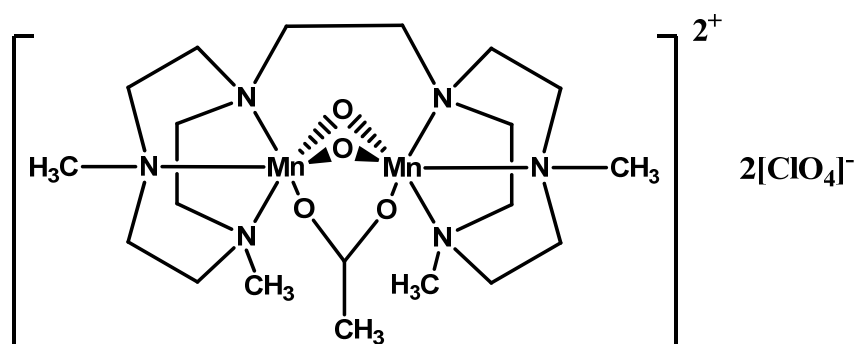


Figura 1.17. Complejo dímero de manganeso con el ligando TACN.

Una desventaja de estos catalizadores comerciales para lavanderías y su inestabilidad térmica, que se traduce en poca selectividad a temperaturas altas para la suciedad absorbida en los tejidos frente a los propios tejidos (por ejemplo, fibras de celulosa en algodón) o sus colores originales. La misma pobre selectividad puede surgir cuando estos catalizadores se prueban en el blanqueo de las lavanderías. En consecuencia, o se realizan reacciones a temperaturas más bajas, si es posible, o se desarrollan nuevos catalizadores biomiméticos más estables que exhiban una mayor especificidad frente al sustrato y puedan ser empleados para activar oxidantes blanqueantes de fortaleza media.

Entre las propuestas de nuevos catalizadores biomiméticos los complejos de manganeso con bases de Schiff tetradentadas presentan algunas características físico-químicas que se pueden considerar a priori beneficiosas para la actividad blanqueante si las comparamos con los reactivos desarrollados por Unilever, en particular su alta estabilidad en diferentes medios gracias al potente efecto quelato. Además, la versatilidad de los ligandos tipo base de Schiff permite modular la estabilización de estados de oxidación superiores del metal, la consecución de caracteres

cuasireversibles de los procesos redox en los complejos, o la optimización de la solubilidad de los compuestos.¹¹²⁻¹¹⁵

**Catalizadores
biomiméticos
autoensamblados**
G. González-Riopedre

Capítulo **2**
**Objetivos y plan
de trabajo**

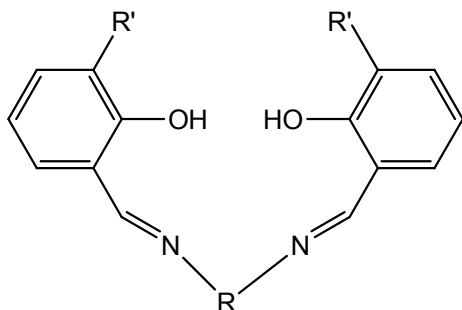
2.1. Objetivos.

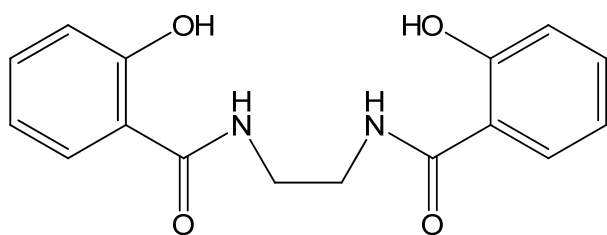
En el capítulo introductorio hemos comentado la importancia de la investigación en la síntesis de nuevos modelos artificiales de manganeso capaces de mimetizar el comportamiento catalítico de los enzimas naturales del CLO, catalasas y peroxidasas. En la Naturaleza estos enzimas se encuentran en forma de complejos de manganeso di- o tetranucleares, estabilizados por restos aminoácidos de cadenas proteicas. La búsqueda de nuevos modelos miméticos se puede presentar de forma simplificada mediante dos estrategias: o bien la procura de modelos que intenten reproducir estructuralmente a los enzimas naturales,¹¹⁶⁻¹¹⁷ o bien la obtención de aquellos sistemas que reproduzcan la reactividad catalítica de estos enzimas.^{34,118} Los resultados obtenidos a través de estas dos vías no siempre son coincidentes, pues los complejos polinucleares muestran en muchas ocasiones solubilidades limitadas en medios biológicos y/o carecen de

posiciones en el entorno de coordinación para unir la molécula de sustrato, por otra parte, los complejos artificiales activos catalíticamente pueden ser sustancialmente diferentes de los enzimas nativos.^{34,119}

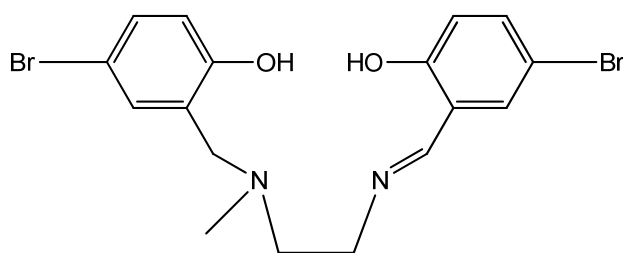
En la presente tesis doctoral se pretende abordar esta dicotomía mediante un enfoque diferenciado; nuestra aproximación parte de la investigación del grupo de investigación con sistemas solubles y potencialmente activos en medios biológicos,^{114,115,120,121} complejos monómeros en la mayoría de los casos, pero se introducen en los ligandos grupos funcionales que permitan establecer enlaces de hidrógeno con las moléculas vecinas. La multinuclearidad se persigue mediante la formación de arquitecturas supramoleculares a través de enlaces de hidrógeno e interacciones de π -stacking. Este tipo de contactos e interacciones son también las que estabilizan los enzimas naturales a través de los restos aminoácidos de las cadenas proteicas. El primer objetivo de la presente tesis es la consecución de los complejos metálicos autoensamblados como paso previo al estudio de su actividad biomimética.

Para este fin, el diseño de los ligandos es un paso fundamental. Los ligandos, además de facilitar la red de interacciones supramoleculares, deben de tener una capacidad de estabilización del manganeso en estados de oxidación elevados para así poder realizar las funciones oxidativas que realizan las manganoenzimas en los procesos biológicos en los que participan. Por lo tanto en este trabajo se ha propuesto, en primer término, la elección de diferentes tipos de ligandos: ligandos imino-imino (con grupos dadores R en la cavidad externa que induzcan estructuras supramoleculares), ligandos amido-amido (con carácter nucleador elevado) y amino-imino (con mayor flexibilidad en la cavidad interna):

Ligando imino-imino H_2L^n



Ligando amido-amido
H₄amid₂



Ligando amino-imino
H₂amim

El uso de estos ligandos orgánicos facilitará la obtención de los complejos autoensamblados, pero para conseguir este objetivo se incorporarán además otros elementos:

-Aniones y cationes que puedan actuar como pegamento supramolecular que faciliten los contactos intermoleculares.

-Ligandos ambidentados que también puedan facilitar la conexión intermolecular.

Mediante esta estrategia se sintetizarán los complejos metálicos que se pueden clasificar en cinco grupos: i) complejos de manganeso(III), con contraiones cloruro, de fórmula general $MnL^n(Cl)(H_2O)_x$; ii) complejos de manganeso(III), con contraiones perclorato, de fórmula $MnL^n(ClO_4)(H_2O)_x$; iii) complejos de manganeso(III), con contraiones nitrato, de fórmula $MnL^n(NO_3)(H_2O)_x$; iv) complejos de manganeso(III), que incorporan iones carboxilato (acetato y acetilacetato), de fórmula general $MnL^n(O_2CR)(H_2O)_x$; con contraiones dicianamida, de fórmula $MnL^n(DCA)(H_2O)_x$.

Otro de los objetivos de esta tesis consiste en la caracterización de los complejos metálicos obtenidos y el estudio de las estructuras obtenidas.

Posteriormente se pretende estudiar la aplicabilidad de los complejos caracterizados como catalizadores de la fotólisis del agua, la

actividad peroxidasa, la función catalasa y en la oxidación de sustratos modelo de la lignina. Los objetivos propuestos en esta fase de aplicabilidad de complejos son:

- 1) Estudiar la capacidad fotolítica de los complejos solubles en medio acuoso.
- 2) Estudiar la actividad catalasa de los nuevos complejos y de otros sintetizados y caracterizados anteriormente en el Grupo de Investigación.
- 3) Determinar qué complejos presentan una mayor actividad peroxidasa para delimitar el número de complejos a estudiar en ensayos futuros sobre pasta de papel.
- 4) Intentar establecer una relación entre la actividad catalasa y la actividad peroxidasa de los complejos metálicos y su estructura, ya que un número importante de ellos está caracterizado en disolución mediante resonancia paramagnética electrónica y en estado sólido mediante difracción de rayos X.
- 5) Estudio de oxidación catalítica de modelos de lignina utilizando los complejos de manganeso con mayor actividad peroxidasa frente al ABTS.
- 6) Estudio de la oxidación utilizando corriente eléctrica de modelos de la lignina catalizada por los complejos de manganeso con mayor actividad peroxidasa.

2.2. Plan de trabajo.

- 1) Síntesis y caracterización de los ligandos H_4amid_2 y H_2amim . En el caso de los ligandos H_2L^n , obtenidos previamente en el seno del grupo de investigación, se sintetizarán nuevas fracciones en los casos que sea necesario. La caracterización de los ligandos se realizará por las técnicas habituales de análisis:

-En estado sólido: análisis elemental, espectroscopia IR, medida de los puntos de fusión y, cuando sea posible, por difracción de rayos X.

2. Objetivos

-En disolución: resonancia magnética nuclear (RMN) de ^1H y de ^{13}C y espectrometría de masas (ES).

2) Síntesis de los complejos de manganeso: Una vez obtenidos y caracterizados los ligandos, procedemos a la síntesis de los complejos de manganeso(III):

a) utilizando nitrato de manganeso(II) como sal de partida para formar los complejos de manganeso con anión nitrato y bases de Schiff imino-imino.

b) utilizando sales de manganeso(II) hidratadas (acetato de manganeso(II) tetrahidratado o perclorato de manganeso(II) hexahidratado como sal de partida para formar el complejo de Mn(III) con bases de Schiff, y posteriormente sustituir el grupo acetato o perclorato por el anión DCA antes de que precipite.

c) utilizando sales de manganeso(II) en presencia de hidróxido de litio, hidróxido de sodio, hidróxido de cesio, hidróxido de rubidio o hidróxido de potasio para favorecer la desprotonación del ligando amido-amido y estabilizar la carga del complejo.

3) Estudio y caracterización de los complejos obtenidos. Para ello utilizaremos distintas técnicas:

-En estado sólido: análisis elemental, espectroscopia IR, medidas de susceptibilidad magnética a temperatura ambiente, medidas de los puntos de fusión y la resolución de las estructuras cristalinas por difracción de rayos X, cuando sea posible.

-En disolución: resonancia magnética nuclear (RMN) de ^1H , espectrometría de masas (ES), resonancia de espín electrónico, medida de la conductividad y medidas de UV-Vis.

4) Estudio de la capacidad fotolítica de los complejos solubles en medio acuoso, utilizando el método desarrollado por el grupo de investigación.

5) Estudio de la actividad catalasa de descomposición del peróxido de hidrógeno midiendo el volumen de oxígeno liberado en

el proceso. También se efectuarán medidas de sistemas obtenidos y caracterizados previamente por el grupo de investigación.

6) Ensayos de la actividad peroxidasa frente al sustrato ABTS de los complejos obtenidos y de aquellos ya caracterizados por el grupo de investigación de forma que su estructura fuese determinada por difracción de rayos X. Estudio más específico de alguno de los compuestos mediante técnicas de flujo detenido con el fin de obtener más información sobre el mecanismo del proceso.

7) Estudios de la acción catalítica de una selección de los compuestos en la oxidación de modelos de la lignina como el veratril alcohol utilizando peróxido de hidrógeno y corriente de aire como agentes oxidantes.

8) Estudios de la oxidación de veratril alcohol a veratril aldehído catalizada por diferentes complejos en presencia de corriente eléctrica. Optimización de las condiciones de temperatura, pH y concentraciones para las que se consiguen mayores grados de conversión del proceso.

**Catalizadores
biomiméticos
autoensamblados**
G. González-Riopedre

Capítulo **3**
**Material y
métodos**

3.1. Materiales.

3.1.1. Disolventes.

Acetato de etilo (*Panreac*). Empleado como disolvente para cromatografías.

Acetonitrilo (*s.d.s.*). Empleado en pruebas de solubilidad y en recristalizaciones.

Amoníaco (*Panreac*). Empleado en extracciones.

Cloroformo (*s.d.s.*). Como disolvente en la síntesis de ligandos y en pruebas de solubilidad.

Cloroformo deuterado (*Aldrich Chemical Company, Inc.*). Como disolvente para el registro de los espectros RMN de ^1H .

Diclorometano (s. d. s.). Utilizado en síntesis de ligandos y complejos. Empleado como disolvente para extracciones.

Dimetilsulfóxido (DMS) – D6 Merck KGaA). Como disolvente para el registro de los espectros RMN de ^1H .

Etanol absoluto (*Panreac*). Empleado en síntesis de precursores y de complejos por el método químico.

Eter dietílico ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OC}_2\text{H}_5$). Utilizado para facilitar el secado en la síntesis del ligando y de los complejos.

Metanol (CH_3OH). Utilizado en la síntesis de ligando, de complejos y en pruebas catalíticas.

n-Hexano (s.d.s.). Empleado como eluyente en separaciones cromatográficas y en hacer pulverulentos compuestos aceitosos.

Isopropanol (*Probus*). Empleado en síntesis de precursores.

Metanol (*Panreac*). En la síntesis de precursores y complejos y en extracciones.

Tetrahidrofurano (*Panreac*). Empleado en síntesis de precursores.

Tolueno (*Analema*). Empleado en la síntesis de precursores.

3.1.2. Reactivos.

Aminas.

Trietilamina (*Panreac*). Pureza: 99,5%. Peso molecular: 101,19 g/mol.

Etilendiamina ($\text{C}_2\text{H}_8\text{N}_2$) (*Aldrich*). Pureza: 99%. Peso molecular: 60,10 g/mol.

Metilamina (*Aldrich*). Líquido incoloro. Pureza: 40%. Peso molecular: 31,06 g/mol. Densidad: $0,902 \text{ g cm}^{-3}$.

1,2-Diamino-2-metilpropano (*Aldrich-Chemie*). Líquido incoloro. Densidad: $0,841 \text{ g/cm}^3$. Pureza: 99 %. Peso molecular: 88,15 g/mol.

1,3-Diaminopropano (*Aldrich-Chemie*). Líquido incoloro. Densidad: $0,888 \text{ g/cm}^3$. Pureza: 98 %. Peso molecular: 74,13 g/mol.

Aldehídos.

5-Bromo-2-Hidroxibenzaldehído (*Maybridge Chemical*). Sólido pardo claro. Pureza: 99 %. Peso molecular: 201,03 g/mol.

3,5-Dibromo-2-Hidroxibenzaldehído (*Maybridge Chemical*). Sólido pardo claro. Pureza: 99 %. Peso molecular: 249,93 g/mol.

3-Etoxi-2-Hidroxibenzaldehído (*Aldrich*). Pureza: 97 %. Peso molecular: 166,18 g/mol.

3-Metoxi-2-Hidroxibenzaldehído (*Aldrich*). Pureza: 99 %. Peso molecular: 152,15 g/mol.

Fenilsalicilato (*Acros Organics*). Sólido Blanco. Pureza: 99% Peso Molecular: 214,22 g/mol.

Compuestos de Manganeso.

Acetato de manganeso(II) tetrahidratado ($C_4H_6MnO_4 \cdot 4H_2O$) (*Fluka*). Pureza: >99%. Peso molecular: 245,09 g/mol

Perclorato de Mn(II) hexahidratado (*Ventron Alfa Producte*). Sólido rosa pálido. Pureza: 98%. Peso molecular: 361,93 g/mol.

Nitrato de Mn(II) tetrahidratado (*Aldrich*). Sólido marrón claro. Peso molecular: 251,00 g/mol.

Cloruro de Mn(II) tetrahidratado (*Riedel-de Haën*). Sólido color rosa pálido. Pureza: 98 %. Peso molecular: 197,90 g/mol.

Otros compuestos:

Peróxido de hidrógeno Pureza: 33% p/v, 110 vol. Peso molecular: 34,00 g/mol. Empleado en pruebas catalíticas.

Hidróxido de Rubidio hidratado (*Aldrich*). Peso molecular: 102,48 g/mol.

Hidróxido de Sodio (*Scharlau*). Pureza: 98%. Peso molecular: 40 g/mol.

Hidróxido de Cesio monohidratado (*Aldrich*). Pureza: 99,97%. Peso molecular: 167,93 g/mol.

3. Material y métodos

Hidróxido de Potasio (Panreac). Pureza: 90%. Peso molecular: 56,11g/mol.

Borohidruro sódico (Aldrich). Sólido blanco. Pureza: 98%. Peso molecular: 37,83 g/mol.

Bromoacetal (Aldrich). Líquido incoloro. Pureza: 97 %. Peso molecular: 197,08 g/mol. Densidad: 1,310 g cm⁻³.

Bromuro de hexadeciltributilfosfonio (Aldrich). Sólido blanco. Pureza: 97%. Peso molecular: 507,67 g/mol.

Cianoborohidruro sódico (Aldrich). Sólido blanco. Pureza: 95%. Peso molecular: 185,23 g/mol.

Dihidrógeno potasio fosfato (Scharlau). Sólido blanco empleado en las disoluciones tampón. Pureza 98 %. Peso molecular: 136,09 g/mol.

Ftalimida potásica (Aldrich). Sólido blanco. Pureza: 98 %. Peso molecular: 185,23 g/mol.

p-benzoquinona (Aldrich). Sólido amarillo empleado en las pruebas de fotólisis. Pureza: 98 %. Peso molecular: 108,01 g/mol.

Hidrazina monohidratada (Aldrich). Líquido incoloro. Pureza: 98 %. Peso molecular: 50,06 g/mol. Densidad: 1,032 g cm⁻³.

Hidróxido potásico (Panreac). Sólido en forma de lentejas, blanco. Pureza: 85%. Peso molecular: 56,10 g/mol.

Hidróxido sódico (Carlo Erba). Sólido granulado blanco. Pureza: 98%. Peso molecular: 40,00 g/mol.

Sal de diamonio del ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) ABTS (Aldrich Sigma). Sólido verde muy claro empleado como indicador en las pruebas de la actividad como catalasa por parte de los complejos. Pureza: 99 %. Peso molecular: 229,71 g/mol.

Sulfato sódico anhidro (Panreac). Sólido Blanco. Purísimo. Peso molecular: 142,04 g/mol.

3.2. Técnicas experimentales.

3.2.1. Análisis elemental.

Esta técnica facilita la determinación de los porcentajes de carbono, hidrógeno y nitrógeno de los compuestos preparados, para intentar establecer una fórmula teórica que se ajuste a los datos experimentales, tanto para el ligando como para los complejos. Esta técnica de análisis se ha llevado a cabo en un analizador *Carlo Erba Model 1108*.

3.2.2. Determinación de los puntos de fusión.

El método empleado es el de los tubos capilares. La forma de operar es introducir la sustancia finamente pulverizada en un tubo capilar cerrado por la parte inferior, calentándose lentamente en un aparato Sanyo, observándose la fusión.

Tan pronto como la sustancia se funde se determina la temperatura de fusión en el termómetro digital del aparato.

3.2.3. Medidas espectrofotométricas en el infrarrojo.

Los espectros infrarrojos de ligandos y de los complejos se realizaron en un espectrofotómetro *Bio- Rad FTS 135*.

Las muestras se prepararon en forma de pastillas de KBr para ambos casos y las medidas se realizaron en la región comprendida entre los 4000 y los 400 cm^{-1} . Las intensidades de las bandas se asignan de la siguiente manera: d=débil, m=media, f= fuerte, mf= muy fuerte y a= ancha.

3.2.4. Espectroscopía de resonancia magnética nuclear.

Las medidas de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C se realizaron a los ligandos, mientras que a los complejos tan sólo se les aplica el RMN ^1H .

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) de ^1H se han registrado en un espectrómetro *Varian Mercury*, operando a 300MHz. Las

muestras fueron disueltas en cloroformo o dimetilsulfóxido deuterados, empleando TMS como referencia interna.

3.2.5. Espectrometría de masas.

Para el ligando sintetizado se ha utilizado la técnica de bombardeo de átomos rápidos (FAB) y el alcohol m-nitribencílico (MNBA) como matriz. El espectro se ha registrado en un aparato *Micromass AutoSpec*.

Los espectros de masas electrospray se han realizado en un aparato *Hewlett Packard Series 1100 MSD*, el modo de ionización ha sido API-ES (ionización a presión atmosférica-electrospray), con polaridad positiva. La fase móvil es normalmente metanol-1% ácido fórmico.

3.2.6. Espectroscopía Ultravioleta-Visible.

Los espectros se realizaron en un espectrómetro *Varian Cary 50*. El intervalo de longitud de onda utilizado para los estudios peroxidasa fue 400-870 nm.

3.2.7. Medidas de susceptibilidad magnética.

Las medidas de susceptibilidad magnética se realizan a temperatura ambiente empleando una balanza de susceptibilidades magnéticas *MSB-MKI* basada en el diseño Evans, calibrada con tetrakis(isocianato)cobaltato (II) de mercurio y empleando como patrón de referencia $\text{Co}[\text{Hg}(\text{SCN})_4]$ midiendo la susceptibilidad molar, χ_M .

La relación entre la susceptibilidad molar, propiedad macroscópica, y el momento magnético, μ , viene dada por:

$$\mu = 2.84 \sqrt{\chi_M T}$$

Siendo χ_M la susceptibilidad molar con la corrección de las contribuciones diamagnéticas de los átomos de la molécula a partir de los

valores dados por Pascal,^{122,123} T la temperatura en grados Kelvin y μ el momento magnético medido en magnetones de Bohr (MB).

El momento magnético aparece como suma de dos contribuciones, una de ellas es el momento magnético de espín, μ_s , y la otra el momento magnético orbital, μ_l . Para los elementos de la primera serie de transición la contribución más importante es el momento magnético de espín que se puede calcular teóricamente a partir del número de electrones desapareados que presenta el ión metálico, tal como se indica posteriormente y donde n es el número de electrones desapareados y μ_s el momento magnético de espín solo.

$$\mu_s = \sqrt{n(n+2)}$$

3.2.8. Medidas de conductividad.

Las medidas de conductividad se realizaron en un Conductímetro *Crison BASIC 30* y celda de conductividad *Crison 5070*.

Los disolventes utilizados fueron metanol y DMF.

3.2.9. Resonancia de espín electrónico (RSE/EPR).

Las mediciones se llevaron a cabo en un espectrómetro *Bruker ESP300E X-band* equipado con una cavidad de doble modo *ER4116 DM* y un criostato de flujo continuo *Oxford 900*. La temperatura típica de las mediciones fueron 9 K.

3.2.10. Difracción de Rayos X.

El tipo de difractómetro empleado en la resolución de estructuras cristalinas de los distintos monocristales obtenidos así como la obtención y tratamiento de los datos cristalográficos se describen para cada caso particular.

3.2.11. Equipo de flujo detenido.

La técnica de flujo detenido es de las más utilizadas en cinética debido a su rapidez. Se utilizan pequeños volúmenes de soluciones que se expulsan rápidamente de las jeringas hasta llegar a un mezclador de alta eficiencia para iniciar una reacción rápida. El volumen de reacción resultante se desplaza hacia la celda de observación. Dicho volumen de reacción se regula por la jeringa tope que proporciona el flujo detenido. Utilizando técnicas apropiadas, la cinética de la reacción se puede medir en la célula.



Figura 3.1. Equipo de flujo detenido SFA-20.

En nuestros experimentos se utiliza un equipo SFA-20 de *High-Tech Scientific*, acoplado al espectrofotómetro *Varian Cary 50* (Figura 3.1). Tradicionalmente el flujo detenido se ha sometido a los métodos de detección UV.

Este equipo consta de jeringas que están montadas sobre una plataforma rígida para asegurar que el flujo se detiene con precisión y de forma instantánea (Figura 3.2). Esta plataforma y los bloques son extremadamente resistentes al ataque químico. Las jeringas por las que entran las dos disoluciones, son empujadas con un émbolo para que las soluciones lleguen al mezclador. El circuito está construido con materiales que también proporcionan resistencia química óptima. Los reactivos se desplazan hasta la celda a través de un tubo y es en la celda cuando las dos soluciones se mezclan homogéneamente.

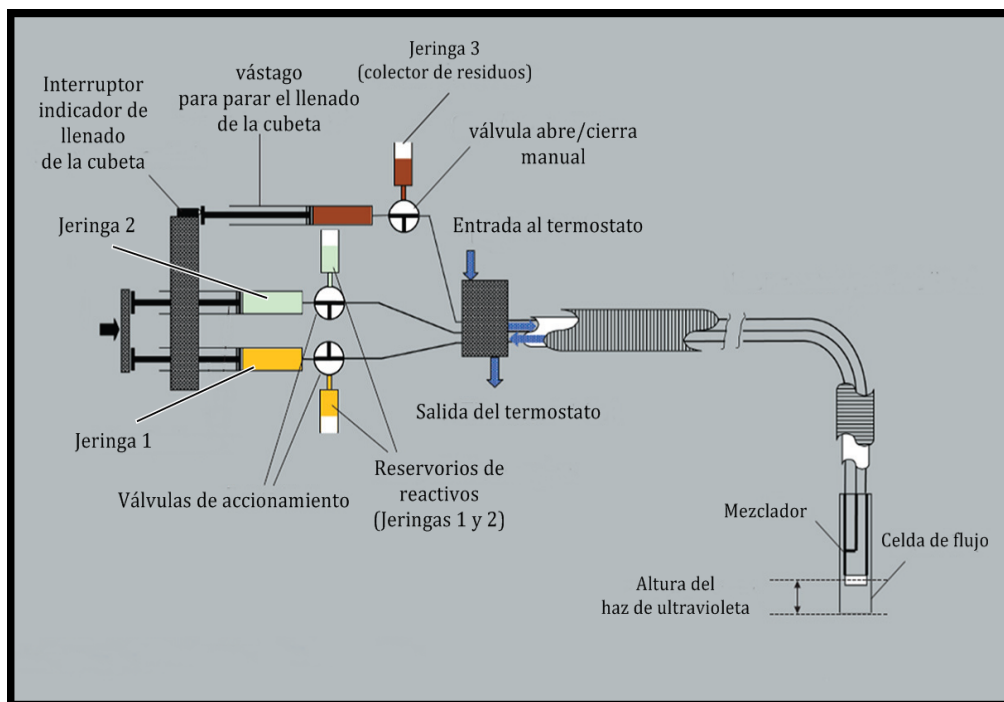
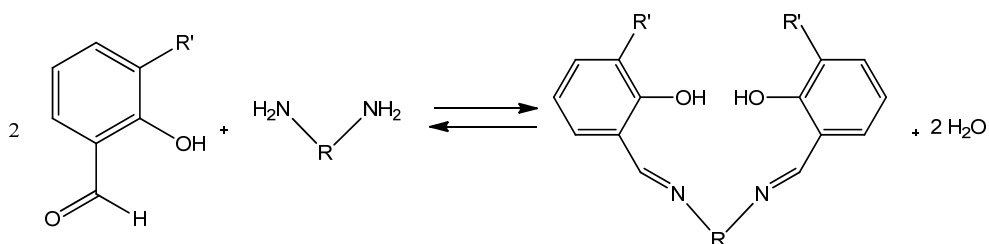


Figura 3.2. Esquema de funcionamiento del equipo de flujo detenido SFA-20.

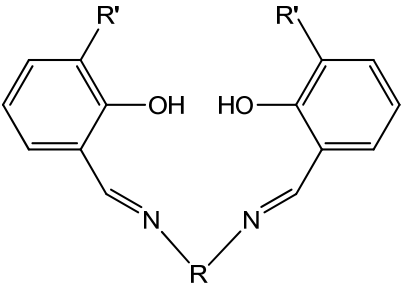
3.3. Síntesis de los ligandos orgánicos.

3.3.1. Síntesis de las bases de Schiff imino-imino.

El proceso de obtención de las bases de Schiff se realiza mediante el método general de condensación de dos moléculas de aldehído con los dos grupos amino primarios procedentes de una diamina, con lo que se consigue la formación de enlaces imino ($-C=N-$) y la liberación de moléculas de agua.^{124,125} El esquema general de reacción para la obtención de las bases de Schiff (dicompartmentales, dianiónicas y hexadentadas) se puede representar de la siguiente forma:



Los ligandos imino-imino H_2L^1 - H_2L^{12} que se utilizarán en el trabajo de la presente tesis, incorporando sustituyentes metoxi o etoxi en la cavidad externa del compuesto, han sido previamente sintetizados y caracterizados por el grupo de investigación. Durante el desarrollo del trabajo fue necesaria la síntesis de nuevas fracciones de los productos, que fueron caracterizados mediante RMN de 1H . En la tabla 3.1 se recogen estas bases de Schiff, especificando su estructura. La nomenclatura utilizada para estos ligandos es de forma abreviada H_2L^n , donde H_2 se refiere al número de protones que tiene la base.



Sustituyente R	Sustituyente R'	Ligando
$-(CH_2)_2-$	$-OCH_3$	H_2L^1
$-(CH_2)_2-$	$-OCH_2CH_3$	H_2L^2
$-CH(CH_3)-CH_2-$	$-OCH_3$	H_2L^3
$-CH(CH_3)-CH_2-$	$-OCH_2CH_3$	H_2L^4
$-C(CH_3)_2-CH_2-$	$-OCH_3$	H_2L^5
$-C(CH_3)_2-CH_2-$	$-OCH_2CH_3$	H_2L^6
$-C_6H_5-$	$-OCH_3$	H_2L^7
$-C_6H_5-$	$-OCH_2CH_3$	H_2L^8
$-(CH_2)_3-$	$-OCH_3$	H_2L^9
$-(CH_2)_3-$	$-CH_2CH_3$	H_2L^{10}
$-CH_2-C(CH_3)_2-CH_2-$	$-OCH_3$	H_2L^{11}
$-CH_2-C(CH_3)_2-CH_2-$	$-OCH_2CH_3$	H_2L^{12}

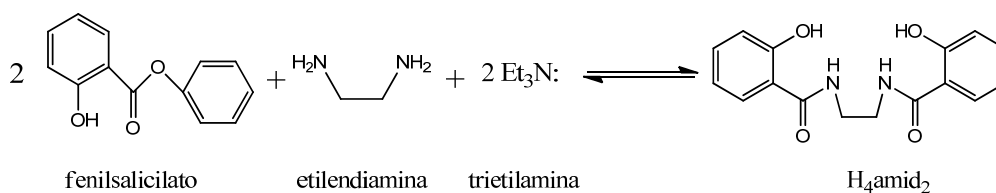
Tabla 3.1. Bases de Schiff imino-imino H_2L^1 - H_2L^{12}

3.3.2. Síntesis del ligando amido-amido H_4amid_2 .

El ligando H_4amid_2 ¹²⁶ se obtiene mediante la reacción de sustitución nucleófila del fenilsalicilato con etilendiaminas, con lo que se consigue la formación del grupo amido. H_4 se refiere al número de hidrógenos desprotonables (dos protones fenólicos y dos protones amídicos).

Este ligando ha sido preparado haciendo reaccionar el fenilsalicilato en una relación estequiométrica 2:1 con la diamina, en presencia de trietilamina.

3. Material y métodos



En un balón se pesan 2,00 grs. ($9,24 \cdot 10^{-3}$ moles) de fenilsalicilato y se le añaden 0,31 ml ($4,62 \cdot 10^{-3}$ moles) de etilendiamina y 1,3 ml ($9,24 \cdot 10^{-3}$ moles) de trietilamina. Esta mezcla se pone con agitación y calentamiento suave durante quince minutos, obteniendo así una pasta blanquecina (ligando).

Transcurrido este tiempo se deja enfriar la mezcla, sin parar la agitación. Una vez adquirida la temperatura ambiente, se añaden 30 mL de éter dietílico lo que forzaría la precipitación del ligando y se deja de nuevo con agitación durante una hora.

Finalmente el producto obtenido se filtra a vacío lavándolo con éter dietílico. Se obtiene así un sólido pulverulento de color blanco con un rendimiento del 64 % y un peso de 0,8852 g.

3.3.3. Síntesis de la base de Schiff amino-imino H₂amim.

3.3.3.1. Síntesis de precursores: Obtención del ftalamidoacetal.

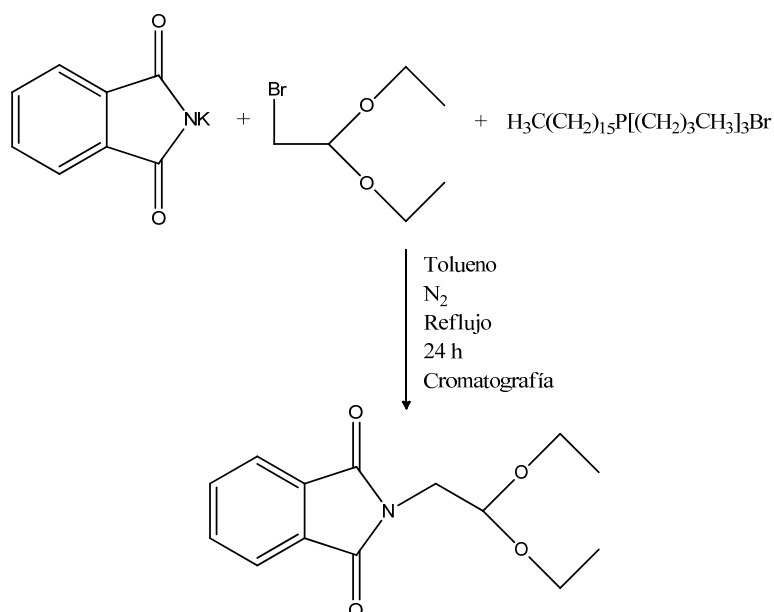
La reacción de la ftalimida potásica (1,2-bencenodicarboxiimida potásica) con un bromoacetal conduce, según la síntesis de Gabriel¹²⁷, a la N-alkilación de la ftalimida originando el ftalmidoacetal correspondiente.

Se parte de 0,5 g (2,65 mmol) de ftalimida potásica y 0,41 mL (2,65 mmol; $d = 1,310 \text{ g cm}^{-3}$) de bromoacetal, empleando 1,3869 g (2,65 mmol) de bromuro de hexadeciltributilfosfonio, agente que solubiliza a la ftalimida en el medio orgánico de reacción, tolueno. Ya solubilizada, la ftalimida puede reaccionar con el bromoacetal, originando el ftalmidoacetal según la síntesis de Gabriel.

Disueltos los tres reactivos en 100 mL de tolueno, la reacción tiene lugar a reflujo y con agitación, durante un periodo de 24 horas y manteniendo una corriente de N₂. Se observa en el transcurso del proceso un cambio de

3. Material y métodos

color, de incolora a amarilla y acabando por oscurecerse; también se aprecia una disminución del disolvente presente, debido a que el N₂ que circula se satura con el tolueno, eliminándose del medio.



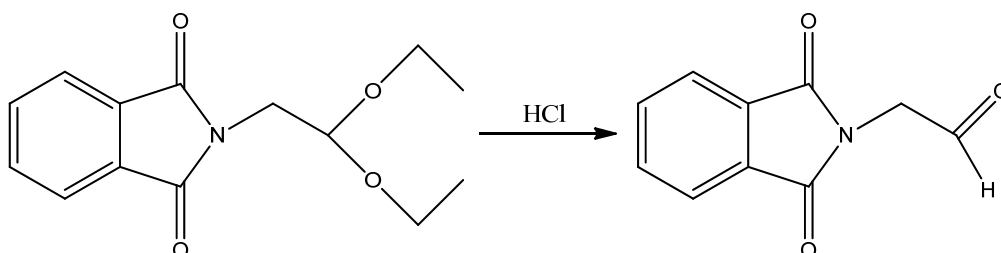
Transcurridas 24 horas se enfría la disolución hasta temperatura ambiente, y después de filtrarlo se concentra en el rotavapor para obtener un aceite amarillo. Se le hace una cromatografía en capa fina comprobándose la existencia de dos productos: los dos se quedan retenidos con hexano y los dos se diluyen en éter. El uso de una mezcla de hexano / éter (1:1) permite separarlos, reteniendo la sal de fosfonio y arrastrando el producto deseado.

Finalmente se realiza la separación mediante cromatografía en columna, empleando como eluyente hexano / éter (1:1), siguiendo el proceso por cromatografía de capa fina. Se aíslan de este modo dos sustancias, siendo el primer producto en salir un sólido blanco amarillento que se analiza y se caracteriza por RMN de ¹H.

3.3.3.2. Síntesis de precursores: Desprotección de ftalimidoacetal para la formación del ftalimidoaldehído.

Los acetales constituyen grupos protectores de la función carbonilo, no obstante pueden ser hidrolizados¹²⁸ empleando ácidos acuosos,

permitiendo obtener el grupo carbonílico que enmascaran. Este es el método usado para la desprotección del ftalimidoacetal originando el correspondiente ftalimidoaldehído bajo la acción de HCl acuoso.



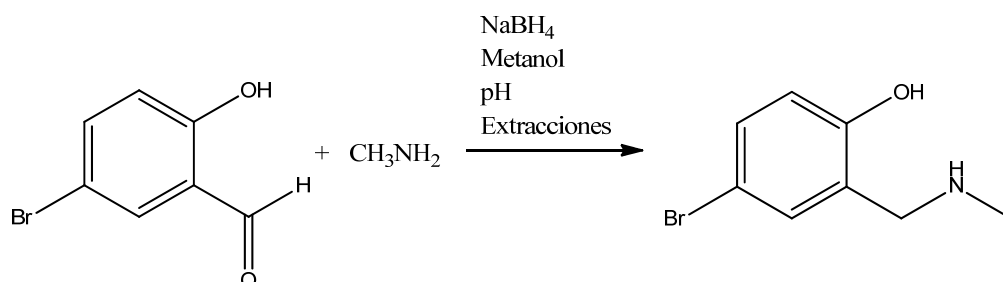
Se parte de 4 g de ftalimidoacetal, que se tratan de disolver en 20 mL de HCl acuoso, formándose en realidad una suspensión blanca con un ligero tono amarillo. El sistema se pone a refluir con agitación a una temperatura de 100 °C, durante un periodo de 30 minutos.

Transcurridos unos pocos minutos después de iniciar el proceso, se observa un cambio de color, de blanco a rojo fuerte, manteniéndose hasta el final. Acabada la media hora de reacción se enfría la mezcla. A continuación se extrae con éter, y la fracción de éter se concentra obteniendo un aceite amarillo, que se seca en la línea de vacío y posteriormente se rompe el citado aceite obteniendo un sólido blanco. Este sólido se somete a análisis elemental, IR y RMN de ¹H para poder caracterizarlo.

3.3.3.3. Síntesis de precursores: Obtención de la salicilamina.

La obtención de la siguiente amina constituye un método de síntesis a partir de secuencias de condensación-reducción con compuestos carbonílicos. Dado que las iminas se preparan por condensación de aminas con compuestos carbonílicos, este método es una forma de realizar una afinación reductora¹²⁹ de un aldehído o de una cetona.

En el procedimiento experimental¹³⁰ se mezclan 9,3 g de salicilaldehído (46,7 mmol) con 3,96 mL de metilamina (d = 0,902 g cm⁻³, 46,7 mmol) en metanol. La mezcla amarilla se pone a reflujo durante un periodo de tres horas, con agitación magnética.



A continuación, se deja enfriar la disolución a temperatura ambiente y se añaden medio equivalente de NaBH₄ (0,901 g; 23,3 mmol), cambiando a incolora la disolución nuevamente amarilla; se vuelve repetir la adición de reductor y agitación durante dos horas acabando por tener una disolución incolora, que se pone en un baño de hielo y se acidifica con HCl hasta pH = 2.

Se concentra la disolución en el rotavapor, y luego se pasa a un embudo de decantación con agua destilada; se extrae con éter rechazando la fase orgánica. La fase acuosa se lleva a pH alcalino con hidróxido potásico. Se extrae finalmente con diclorometano conservando la fase orgánica, que se seca con sulfato sódico anhidro y agitación durante dos horas.

Se filtra la disolución y se concentra en el rotavapor obteniendo un aceite ocre, el cual se logra deshacer poniéndolo a agitar con una pequeña porción de hexano, obteniendo de este modo un sólido de color blanco. La caracterización del producto se efectúa mediante análisis elemental, IR y RMN de ¹H. (Rendimiento: 24 %).

3.3.3.4. Síntesis de precursores: Condensación de salicilamina y ftalimidoaldehído.

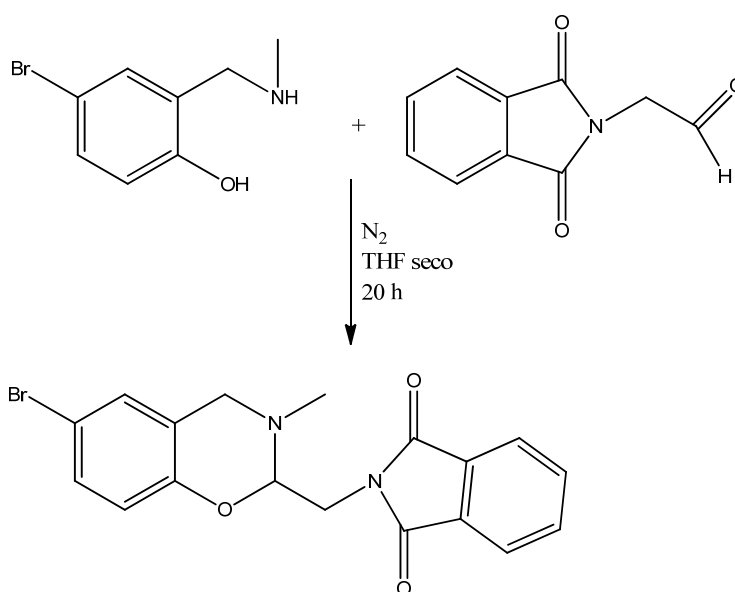
La condensación de un o-(N-metil-aminometil)fenol con un compuesto carbonílico, bajo condiciones suaves de reacción, constituye un método¹³¹ estándar de síntesis de compuestos heterocíclicos con átomos de O y N, compuestos denominados genéricamente 1,3-benzoxacinas.

En el procedimiento experimental se disuelven 0,72 g (3,33 mmol) de salicilamina en THF dentro de un balón Schlenk, haciendo vacío sobre este y pasando a continuación una corriente de N₂. Bajo esa corriente, se adicionan

3. Material y métodos

0,95 g (5,03 mmol) de ftalimidoacetaldehído. Posteriormente con el balón saturado de N_2 , se va dejar agitar durante 20 horas a temperatura ambiente.

La salicilamina es soluble en el THF dando una coloración rosácea-roja; cuando se añade el aldehído, que parece mantenerse en suspensión en un principio, tenemos una disolución ocre, pero transcurridos unos minutos el color vuelve a ser rojo y se disuelve por completo. A los 20 minutos se observa como de repente aparece un sólido muy denso y de coloración ocre muy clara.



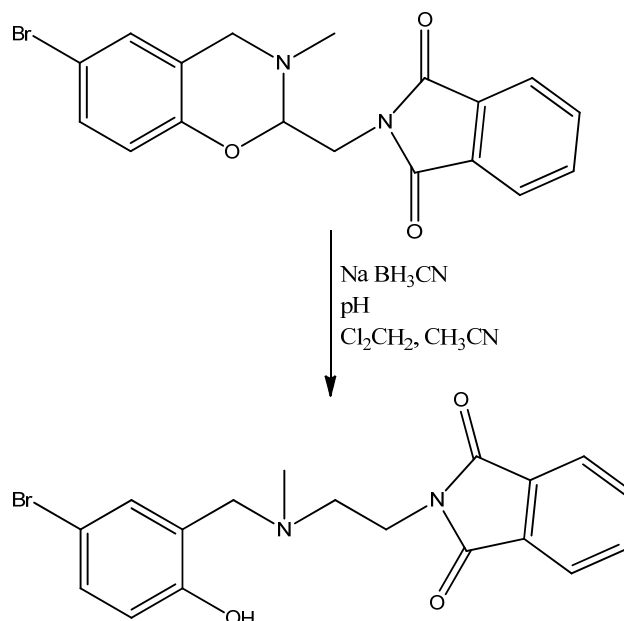
Transcurridas 20 horas, filtramos y separamos un precipitado blanco que se lava y seca con éter. El sólido se caracteriza por los métodos de análisis elemental, IR y RMN de 1H . (Rendimiento: 55%)

3.3.3.5. Síntesis de precursores: Reducción de la benzoxacina.

La reducción de la benzoxacina empleando como agente reductor cianoborohidruro sódico ($NaBH_3CN$) en medio ácido conduce a la rotura del heterociclo.

Se parte de 2 g (5,17 mmol) de reactivo, que se disuelven en 25 mL de diclorometano y 20 mL de acetonitrilo. Se hacen reaccionar con 1,25 equivalentes de $NaBH_3CN$ (0,43 g), siempre con agitación. Se añade HCl

disuelto en metanol para bajar el pH de la disolución hasta 2, dejando agitar durante 6 horas. Transcurridos ese tiempo, se añade HCl acuoso bajando el pH hasta 1, y se deja agitar una hora. Posteriormente se concentra en el rotavapor eliminando los disolventes orgánicos.



Finalmente se procede a la extracción del sólido blanco que aparece tras concentrar, con una mezcla de diclorometano / metanol (9:1) saturada con NH₃ acuoso. Se filtra la disolución, quedando retenido en la placa un sólido blanco; el líquido filtrado se seca con MgSO₄ anhidro durante dos horas. Una vez seco se concentra en el rotavapor para obtener un sólido blanco. La caracterización del mismo se efectúa mediante análisis elemental, IR y RMN de ¹H. (Rendimiento: 70%).

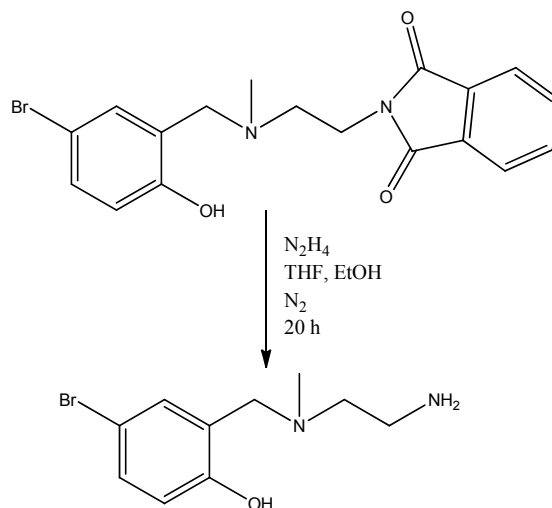
3.3.3.6. Síntesis de precursores: Obtención de la salicildiamina.

La ruptura de la imida del ácido N-alquil-1,2-bencenodicarboxílico (N-alquilftalimida) mediante hidrazina, denominada hidrazinólisis¹³², conduce a la liberación de la salicildiamina.

Se disuelve dentro de un balón Schlenk bajo corriente de N₂, 0,31 g (0,79 mmol) de reactivo en 10 mL de THF seco y 10 mL de etanol absoluto.

3. Material y métodos

Se añade, también bajo corriente de N_2 , 5 equivalentes de $N_2H_4 \cdot H_2O$ (0,26 mL; 40%; 5 mmol). Se cierra el balón y se deja agitar durante un día.



Transcurrido ese tiempo aparece un sólido blanco en suspensión. Se le añade HCl acuoso para bajar el pH hasta 1, dejando agitar 10 minutos. Se eliminan los disolventes en el rotavapor, y se extrae con agua en varias porciones rechazando un sólido blanco que se elimina por filtración. Se añaden una disolución de NaOH a la solución acuosa filtrada aumentando el pH hasta 11. Finalmente se extrae con diclorometano, disolvente que se seca con sulfato sódico anhidro.

Después de la concentración del diclorometano seco en el rotavapor se obtiene un sólido blanco que se seca con éter y que es sometido para su identificación a análisis elemental, IR y RMN de 1H . (Rendimiento: 45%).

3.3.3.7. Obtención de la base de Schiff H_2 amim.

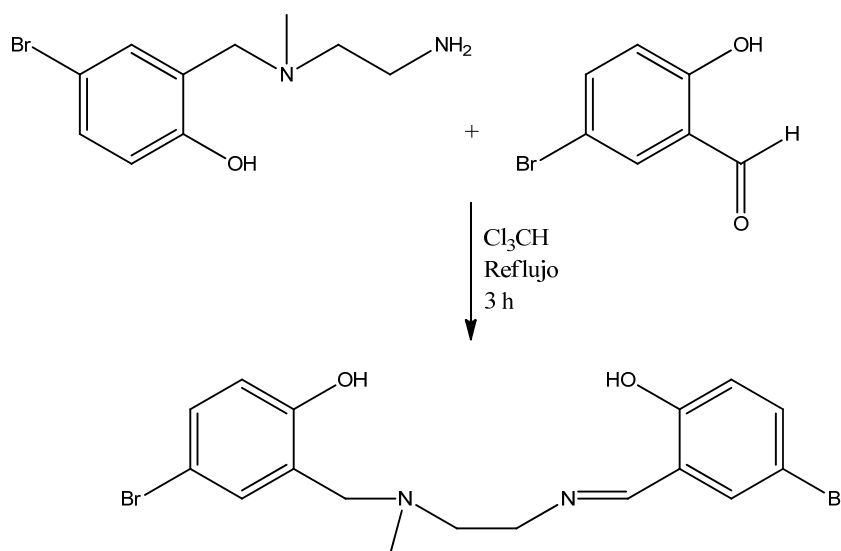
La síntesis del ligando base de Schiff se realiza mediante la condensación de un salicilaldehído a una amina primaria con la consiguiente formación de un enlace imino ($-C=N-$) y la liberación de una molécula de agua.

Se obtiene por reacción, en 100 mL de cloroformo, de 0,105 g (0,405 mmol) de amina con 0,0814 g (0,0405 mmol) de 5-bromo-2-

hidroxibenzaldehído, refluendo en un Dean-Stark durante aproximadamente 3 horas, purgando periódicamente.

Durante el proceso, la disolución amarilla se va concentrando sin lograr precipitar la base. Se deja enfriar y se concentra en el rotavapor obteniéndose un aceite amarillo, que se logra deshacer poniéndolo a agitar con una pequeña cantidad de éter.

Se consigue finalmente un sólido también amarillo que caracterizamos mediante análisis elemental, IR y RMN de ^1H . (Rendimiento: 84%).



3.4. Síntesis de los complejos.

Una vez sintetizados y caracterizados los ligandos, se procede a la preparación de los complejos.

3.4.1. Síntesis de los complejos con los ligandos H_2L^n .

Como ya se ha expuesto previamente los ligandos imino-imino H_2L^n habían sido sintetizados y caracterizados en el seno del grupo de investigación. En esta tesis doctoral únicamente se obtuvieron aquellos complejos de estos ligandos con diferentes contraiones que no fueran caracterizados con antelación. A continuación se describe la síntesis de cada uno de estos complejos metálicos en particular:

[MnL¹(H₂O)Cl](H₂O)_{2.5}, H₂L¹ (1 mmol, 0,30 g) se disolvió en metanol (40 mL) y MnCl₂·4H₂O (1 mmol, 0,20 g) disuelto en metanol se añadió a la solución inicial amarilla del ligando H₂L¹, que cambió a color verde. Después de agitar durante 10 min, se añadió a la mezcla NaOH (2,00 mmol, 0,08 g) disuelto en una cantidad pequeña de agua cambiando la mezcla a color negro. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 2 horas, y después se concentró al vacío a la mitad de volumen. Después de concentración lenta de la solución el complejo se obtuvo como cristales de color marrón, adecuados para su estudio por difracción de rayos X. Estos cristales se aislaron por filtración, se lavaron con éter dietílico y se secaron a vacío obteniéndose un rendimiento: 0,29 g (60%).

[MnL²(H₂O)₂](NO₃)(H₂O), A 50 ml de una solución en metanol de H₂L² (0,25 g, 0,70 mmol) se le añadieron 30 mL de una solución de metanol de Mn(NO₃)₂·4H₂O (0,18 g, 0,70 mmol) a temperatura ambiente. Cambiando rápidamente el color claro inicial a marrón. Después de 3 horas de agitación a temperatura ambiente, la evaporación lenta del disolvente lleva a la deposición de cristales de color marrón, adecuados para su estudio por difracción de rayos X. Estos cristales se recogieron por filtración, se lavaron con dietil éter (2x20 ml) y después se secaron a vacío, el rendimiento obtenido es: 0,11 g (30%).

[MnL³(DCA)(H₂O)]·H₂O, A una suspensión metanólica de 0,15 g (4,57·10⁻⁴ moles) del ligando H₂L¹ se le añaden directamente 0,11 g (4,57·10⁻⁴ moles) de acetato de manganeso (II) tetrahidratado. La disolución cambia a un color marrón oscuro, y tras treinta minutos con agitación magnética y calentando suavemente, se le añade una disolución de NaN(CN)₂ (0,04 g, 4,57·10⁻⁴ moles en 10 ml de metanol). Se mantiene bajo agitación calentando ligeramente, reduciendo el volumen de la disolución a la mitad. A continuación se deja en reposo a temperatura ambiente para favorecer la precipitación. Al cabo de cuatro días se observa la aparición de precipitado, el cual se filtra a vacío y se lava con éter dietílico, dejándolo secar al aire, para su posterior caracterización. Las aguas madres se dejan reposar a temperatura ambiente para favorecer la cristalización (Rendimiento 71 %).

[MnL⁶(H₂O)₂](ClO₄), Se disolvieron 0,60 g (1,56 mmol) de H₂L⁶ en 100 mL de metanol/etanol 1:1, obteniendo una disolución de color amarillo. A continuación se le añadieron 0,57 g (1,56 mmol) de Mn(ClO₄)₂·6H₂O y se comprobó como el color cambió a verde (ATENCIÓN: De ninguna manera se puede calentar debido a la existencia de aniones perclorato, que tienen un marcado carácter explosivo a temperaturas altas). La mezcla se agitó durante unos 10 minutos, antes de añadir 0,13 g (3,12 mmol) de NaOH, disuelto en la mínima cantidad de agua. El color oscureció a marrón negruzco. El progreso de la reacción se realizó mediante cromatografía de capa fina durante 3 días. Después se filtró la disolución, el complejo se obtuvo a partir del filtrado como cristales de color marrón. Los cristales se aislaron por filtración, se lavaron con dietil éter y después se secaron a vacío; el rendimiento obtenido es 0,66 g (75 %).

[MnL⁷(H₂O)₂](NO₃)(H₂O), A 50 ml de una solución en metanol de H₂L⁷ (0,37 g, 1,00 mmol) se le añadieron 30 mL de una solución de metanol de Mn(NO₃)₂·4H₂O (0,26 g, 1,00 mmol) a temperatura ambiente. Cambiando rápidamente el color claro inicial a marrón. Después de 3 horas de agitación a temperatura ambiente, la evaporación lenta del disolvente lleva a la deposición de cristales de color marrón, de uso individual para estudios de difracción de rayos-X. Estos cristales se recogieron por filtración, se lavaron con dietil éter y después se secan a vacío; el rendimiento obtenido es 0,44 g (80%).

[MnL⁷(H₂O)(OAc)](H₂O)₂, H₂L⁷ (1 mmol, 0,37 g) se disolvió en metanol (40 mL) y Mn(OAc)₂·4H₂O (1 mmol, 0,25 g), disuelto en metanol se añadió a la solución inicial amarilla, que cambió a verde. Después de agitar durante 10 min, se añadió a la mezcla NaOH (2 mmol, 0,08 g), disuelta en una cantidad pequeña de agua, volviéndose la solución negra. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 2 horas, y después se concentró al vacío a la mitad de su volumen. El complejo se obtuvo como cristales de color negro por concentración lenta de la solución, los cristales son adecuados para su estudio por difracción de rayos X. Estos cristales se aislaron por filtración, se lavaron con éter dietílico y se secaron a vacío (Rendimiento 60 %).

Esta páxina non se amosa na versión reducida desta tese que está suxeita ao **“Procedemento para teses baixo protección de dereitos de propiedade industrial e/ou intelectual ou teses con cláusulas de confidencialidade”**, aprobado pola Comisión de Doutoramento da USC o 15 de abril de 2013, o cal recolle:

“Este tipo de tese formalizarase en dúas versións: a reducida, en que se eliminarán os contidos afectados polo deber de non difundir ou polo deber de segredo ou confidencialidade, e o exemplar completo, que quedará arquivado na universidade baixo compromiso de custodia e segredo”

(...)

Unha vez aprobada a tese, o exemplar reducido será o que se publique no repositorio institucional. Unha vez que se realicen as oportunas proteccións ou venza o prazo de confidencialidade, o doutorando deberá, logo de acreditar estas circunstancias, solicitar a súa substitución polo exemplar completo”

de aniones perclorato, que tienen un marcado carácter explosivo a temperaturas altas.

Después de ese tiempo no se logra obtener por filtración de la disolución ninguna cantidad de producto, por lo que se deja la disolución en un cristizador a temperatura ambiente hasta que se evapora el disolvente, apareciendo finalmente un precipitado oscuro. Este precipitado se lava con éter permitiendo obtener finalmente un sólido polvoriento de color verde oscuro. La caracterización del complejo se efectúa mediante análisis elemental, IR, y FAB. (Rendimiento: 44 %).

3.5. Estudio de fotólisis.

La disolución de estudio tendría que contener el complejo y p-benzoquinona (1:20) en un litro de agua desionizada y desoxigenada. Sin embargo, la reducida solubilidad del complejo obtenido ha impedido la realización del experimento. En el proceso experimental, una vez obtenida la disolución de complejo y p-benzoquinona, se le pasaría corriente de argón durante el tiempo necesario para desoxigenarla guiándonos por las medidas de un oxímetro.

La disolución, contenida en un balón de dos bocas sumergido en un baño termostático con paredes de metacrilato, se mantendría a una temperatura media de 25°C. En el experimento se irradiaría con una lámpara de wolframio de 200 vatios. En la figura 3.3 se representa un esquema del montaje con todos sus elementos.

Por una de las bocas del balón se introduciría el electrodo de oxígeno, ajustado a un tapón de goma, mientras que por la otra, con un tapón septum, se introduce el gas inerte y también se inyectaría la muestra mediante un sistema de conducción continuo, movido por una bomba peristáltica, a una celda de flujo en el espectrofotómetro de ultravioleta-visible. Se situaría también un agitador magnético en la base del termostato con el que, junto con un imán en el interior del balón, se mantendría agitación.

Durante la irradiación se registraría un espectro UV-Vis cada 30 minutos aproximadamente.

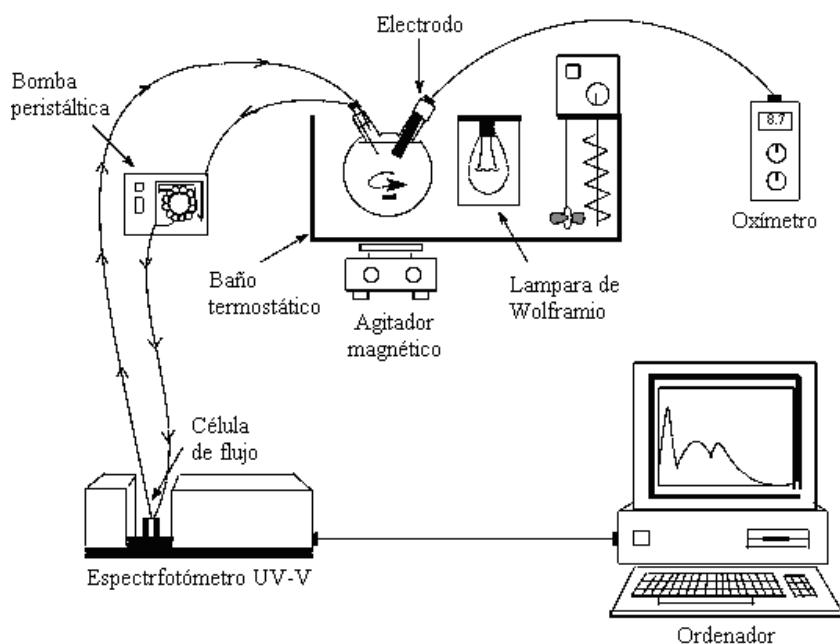


Figura 3.3. Esquema del montaje del experimento de fotólisis.

3.6. Medida actividad catalasa.

Previamente a realizar la prueba catalasa hay que preparar las disoluciones con cada uno de los complejos, de las cuales se van a tomar los 3 ml para realizar la prueba catalasa.

3.6.1. Procedimiento básico de medida.

Una vez preparadas las disoluciones homogéneas de los complejos metálicos en metanol, las pasamos a unos viales, y de éstos se irá cogiendo las cantidades para realizar la prueba.

El montaje experimental (Figura 3.4) se describe a continuación: En una probeta graduada de 10 ml se introducen 3 ml de la disolución del complejo en metanol (3 ml, 1×10^{-3} M) y un imán, se sella dicha probeta con un tapón Septum el cual se va a cubrir con film y grasa (Dow Corning – high vacuum grease) para que no haya ninguna pérdida de gas. Cuando la probeta se encuentre bien sellada se conectará a una bureta de gas de medición de 25 ml (precisión 0,2 ml). La catálisis se inicia con la introducción de una disolución de H_2O_2 (1ml, 2,5M) con una jeringa en la probeta que

contiene el complejo. Una vez inyectado el peróxido de hidrógeno se cubre de grasa y con film para que quede perfectamente sellado. Durante este proceso la disolución estará con una agitación constante y se irá midiendo cada 5 minutos la evolución del dióxígeno, de manera volumétrica.

3.6.2. Modificaciones del procedimiento básico.

Con el fin de poder estudiar la actividad catalasa de los complejos sintetizados se realizan varias pruebas variando la temperatura del baño de agua en el que se encuentra inmersa la mezcla de las disoluciones de complejo y peróxido de hidrógeno. Se realizan pruebas a temperatura ambiente ($23^{\circ}\text{C} \sim 296\text{K}$) y aumentando ésta a 36°C (309K).

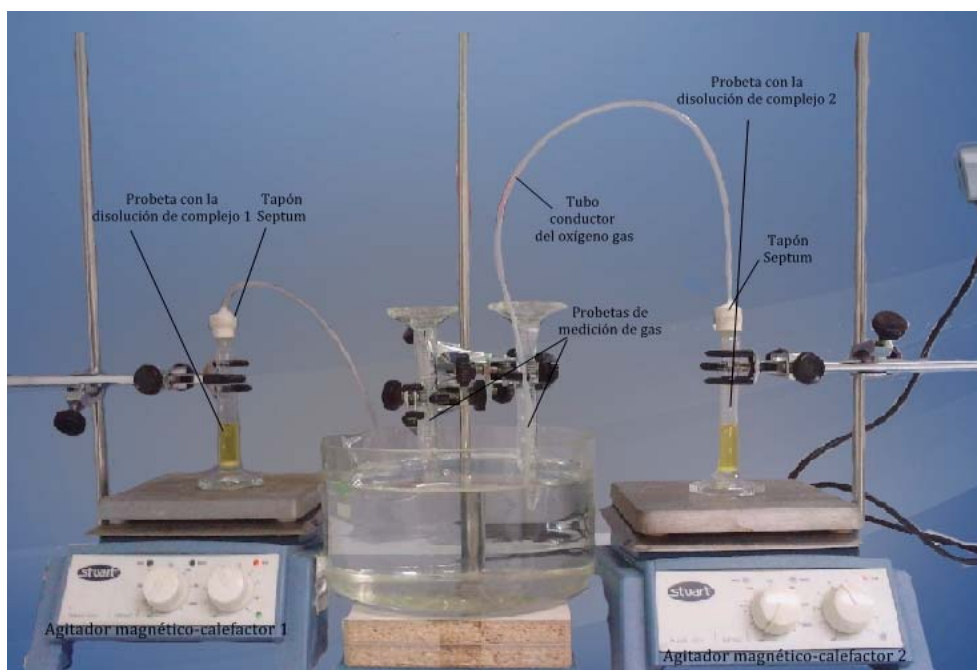
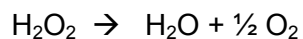


Figura 3.4. Montaje experimental de la prueba catalasa.

3.6.3. Cálculo del volumen teórico de O_2 .

Partimos de 3 mL de solución de complejo de concentración 1×10^{-3} M y 1 mL de H_2O_2 de concentración 2,5 M. La reacción a catalizar por los complejos es la propia dismutación del peróxido.



Los moles de peróxido serán $1 \times 10^{-3} \text{ L} \times 2,5 \text{ mol/L}$; es decir: 0,0025 moles.

Por estequiometría los moles de dióxígeno formados son la mitad (0,00125 mol). Según la ecuación de los gases ideales $PV=nRT$ y teniendo en cuenta que estamos trabajando a 23 °C (temperatura ambiente) y 1 atm presión, tenemos un volumen teórico de 30,34 mL. En el caso de las pruebas a 36 °C el volumen teórico de O_2 desprendido si la reacción transcurre al 100% sería de 31,67 mL. En los experimentos con H_2O_2 1M el volumen teórico de O_2 sería de 12,0 mL a 23 °C y 12,67 mL a 36 °C.

3.6.4. Cálculo de los ciclos catalíticos en función del volumen experimental de O_2 .

La relación de ciclos catalíticos teóricos serán moles de H_2O_2 entre moles de complejo considerando que el peróxido se descompone de forma completa. Los ciclos catalíticos reales en cada experimento se calculan dividiendo los moles de peróxido que reaccionan por los moles de complejo presentes en disolución. Los moles de peróxido que se descomponen se miden a partir del volumen final de dióxígeno formado, que se traduce en moles de dióxígeno reales y, posteriormente, se deducen los moles de peróxido que se descomponen en dicho experimento.

Por otra parte tomando el volumen experimental final y relacionándolo con el teórico (según el caso) se observa un rendimiento determinado. Éste variará en función de la concentración de peróxido y por tanto de los ciclos catalíticos reales.

3.7. Medida de la actividad peroxidasa.

3.7.1. Procedimiento general de medición de la actividad peroxidasa frente a ABTS.

Se empleó la sal de diamonio del ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6- sulfónico) (ABTS) como indicador de la evolución de la reacción de descomposición del peróxido de hidrógeno, siguiéndola por

ultravioleta-visible. En el procedimiento general estándar se inyecta, en una cubeta con 3 mL de agua destilada, 0,05 mL de una disolución acuosa 0,009 M de ABTS ($4,5 \cdot 10^{-7}$ moles) y 0,01 mL de una disolución metanólica 10^{-3} M del complejo para estudiar (10^{-8} moles). La disolución suele ser prácticamente incolora, pero después de añadirle 0,05 mL de H_2O_2 10 M ($5 \cdot 10^{-4}$ moles) cambia a un color verde intenso como resultado de la actividad catalítica por parte del complejo de manganeso.

En el espectro ultravioleta-visible se refleja en la aparición de cuatro bandas de absorción características a 415, 650, 735 y 815 nm, correspondientes a la oxidación del ABTS a su especie radical $ABTS^{+\cdot}$ (Figura 3.5):

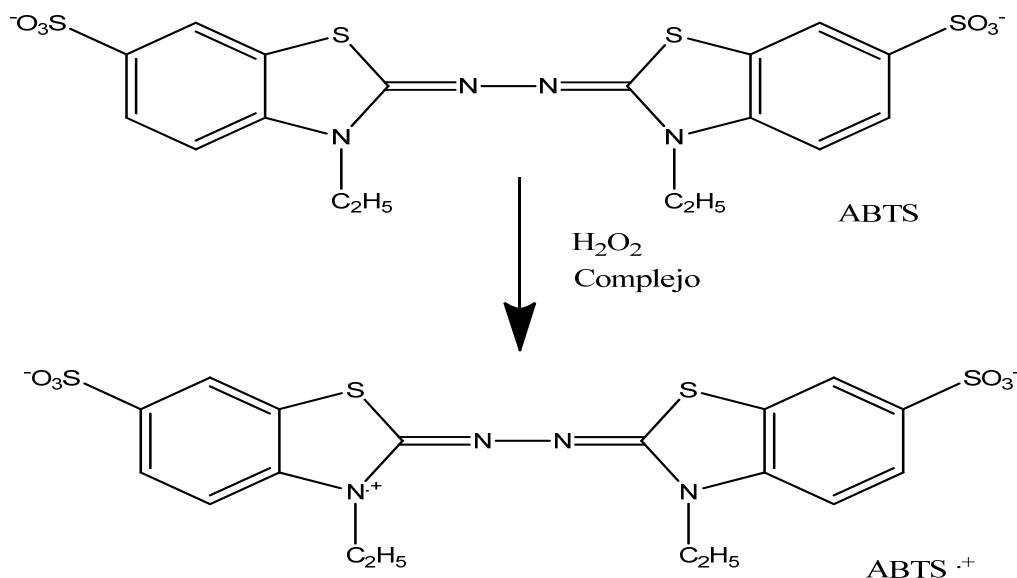


Figura 3.5. Esquema de la reacción de conversión de ABTS en $ABTS^{+\cdot}$.

3.7.2. Cálculo de la actividad peroxidasa.

Los datos obtenidos en la medida de la actividad peroxidasa se utilizaron posteriormente para determinar cuantitativamente la capacidad catalítica. Para ello, en primer lugar se establecieron los coeficientes de extinción molar para las longitudes de onda de las señales más características de la especie radical $ABTS^{+\cdot}$ (Tabla 3.3). Puesto que el radical catiónico no ha sido preparado como una sustancia pura, sus coeficientes de extinción no pueden ser medidos directamente y los valores obtenidos son

resultado de experimentos en los que se genera dicho radical. El radical catiónico ABTS puede ser preparado por reacción de ABTS con un exceso de MnO_2 , cuando se añade el óxido a una disolución acuosa de ABTS aparece instantáneamente el color verde del radical catiónico y se registra el espectro UV-Vis.

La forma del espectro corresponde con la descrita para la especie $\text{ABTS}^{*\cdot}$, con una relación de absorbancias a 415 y 734 nm de ca. 2,31, como se referencia en la bibliografía.¹³⁸ Utilizando concentraciones iniciales de ABTS 0,001M, 0,004 M, 0,007 M y 0,009 M se establecieron los coeficientes de extinción recogidos en la tabla 3.3 y que concuerdan con los valores descritos en la bibliografía.

Longitud de onda	Coefficiente de extinción molar (ϵ)	Referencia bibliográfica
415 nm	$31100 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$	139
650 nm	$12000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$	115
735 nm	$15000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$	140
815 nm	$12200 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$	141

Tabla 3.3. Coeficientes de extinción molar del $\text{ABTS}^{*\cdot}$ a las longitudes de onda más características.

Establecidos los valores de coeficientes de extinción, se selecciona el correspondiente al valor de 415 nm (el valor más elevado) para realizar los cálculos y establecer la referencia para el cálculo de la actividad peroxidasa.

Debemos considerar que el procedimiento estándar es el siguiente: 0,05 mL de la disolución 0,009 M de ABTS que se añaden en cada experimento se diluyen a un volumen total de ca. 3 mL, por lo que la concentración inicial de ABTS en los ensayos es de 0,00015 M. Una conversión del 100% de ABTS en su especie radical $\text{ABTS}^{*\cdot}$, aplicando la ley de Beer-Lambert para una cubeta con $l = 1 \text{ cm}$, implicaría un valor de absorbancia observada a la longitud de onda de 415 nm de $A = 0,00015 \times 1 \times 31100 = 4,665$.

3.7.3. Estudio cinético de la actividad peroxidasa utilizando la técnica de flujo detenido.

Para llevar a cabo el estudio cinético de la actividad peroxidasa del complejo $MnL^3(DCA)$ se empleará el equipo de flujo detenido conectado al espectrofotómetro UV-Vis, de forma que se puede monitorizar la variación de absorbancia en función del tiempo. Dicho accesorio consta de tres jeringas:

Preparamos una disolución acuosa con un volumen total de 3 mL, en la que se echan 100 μ L de la disolución de ABTS que hemos preparado y 20 μ L de la del complejo. Esta disolución se introduce en una de las jeringas (Jeringa 1).

Haremos un blanco para determinar la línea base de la absorbancia del complejo y para ello, la otra jeringa (Jeringa 2), la rellenamos con agua. Haremos pasar la suficiente cantidad de cada jeringa para asegurarnos que la cubeta esté llena. A continuación, el residuo que se acumula en la tercera jeringa se deshecha.

Después de haber hecho el blanco, ya podemos hacer el estudio de la actividad peroxidasa del complejo, de manera que rellenamos la Jeringa 2 con la disolución de peróxido cuya concentración se irá variando entre 25 y 5000 equivalentes con respecto al sustrato ABTS.

Inicialmente, en las jeringas donde se depositan las disoluciones de complejo y de peróxido de hidrógeno, tendremos el doble de concentración necesaria. Esto es debido a que se mezclan en la cubeta, entrando exactamente el mismo volumen de una jeringa que de otra de tal forma que las concentraciones iniciales se diluyen a la mitad.

Los datos obtenidos de absorbancia a 415 nm, por los que se monitoriza la formación de $ABTS^{*+}$, se representarán en función del tiempo. De las gráficas obtenidas, calcularemos la pendiente inicial, que será la velocidad inicial de formación del ABTS oxidado.

3.7.4. Oxidación de modelos de la lignina. Oxidación de veratril alcohol.

Para la oxidación de modelos de la lignina se utiliza como sustrato *3,4-Dimetoxibencil alcohol* (veratril alcohol).

3.7.4.1. Oxidación con peróxido de hidrógeno.

3.7.4.2. Procedimiento básico.

En un balón de dos bocas pesamos 0,0020 g de complejo y lo diluimos en agua destilada hasta el volumen total especificado (75 mL o 150 mL). Luego añadimos la cantidad de sustrato (veratril alcohol) propuesto para el experimento en concreto, y por último echamos el peróxido en las cantidades y de la forma requerida.

Una vez añadido todo lo calentamos a la temperatura especificada en un baño termostatado para cada experimento y le hacemos pasar una corriente de aire.

3.7.4.3. Modificaciones del procedimiento básico.

Con el fin de poder estudiar la dependencia existente entre el comportamiento catalítico de las muestras y las diferentes condiciones de partida se realizaron ensayos modificando la temperatura (40 °C y 60 °C), la cantidad de complejo respecto al veratril (1% y 3%), la cantidad de peróxido (entre 2,5 y 7 equivalentes) y la manera de añadir este último (todo al inicio o cada 20 min)

3.8. Oxidación de veratril alcohol con corriente eléctrica.

3.8.1. Procedimiento básico.

Pesamos 2,1 g NaCl y lo echamos en un vaso de precipitados, añadimos $1,35 \cdot 10^{-6}$ mol de complejo (1% respecto al veratril alcohol) y enrasamos hasta un volumen total de 75 mL con la disolución reguladora correspondiente. En último lugar añadimos 19,3 μ L de veratril alcohol, lo calentamos a la temperatura correspondiente en un baño termostatado, hacemos pasar corriente de aire y ajustamos la fuente de alimentación al voltaje adecuado al experimento.

3.8.2. Modificaciones del procedimiento básico.

Con el fin de poder estudiar la dependencia existente entre el comportamiento catalítico de las muestras y las diferentes condiciones de partida se realizaron ensayos modificando la temperatura, el voltaje, la cantidad de cloruro sódico, el pH de la disolución, la cantidad de complejo (respecto al veratril alcohol) y realizando diversos experimentos con distintos complejos que presentan elevada actividad peroxidasa en los ensayos con ABTS.



Figura 3.6. Esquema del montaje del experimento de oxidación de veratril alcohol con corriente eléctrica. A la derecha se muestra el recipiente donde se realiza la oxidación conectado a la fuente de alimentación de corriente eléctrica y a la corriente de aire. El recipiente posteriormente se introduce en el baño termostático (izquierda).

3.8.3. Estudio estabilidad complejos a distinto pH.

Se realizó un estudio de la estabilidad del complejo 6 en función del pH del medio en el que se encuentra disuelto. Para ello se utilizaron dos métodos para comprobar la posible descomposición del mismo a pH elevados:

Estudio de la estabilidad del complejo elevando el pH hasta medio alcalino fuerte. Se utilizó una disolución acuosa del complejo 6 a la que se le fue añadiendo poco a poco pequeñas cantidades de una disolución de NaOH, durante el proceso se fue comprobando el pH tras cada adición y el espectro del complejo para determinar su estabilidad.

Estudio de la estabilidad del complejo 6 a un pH fijo con respecto al tiempo. Para lo cuál se preparó una disolución del complejo 6 utilizando una disolución tampón a pH 9 y se fueron realizando espectro a distintos tiempo con el fin de determinar si el complejo es estable con el tiempo a un pH alcalino.

3.8.4. Preparación de disoluciones tampón.

Previamente a la elaboración de los buffer ajustamos los distintos elementos a la concentración adecuada. Para ello introducimos, de forma independiente, en un matraz aforado de 250 mL las siguientes cantidades y completamos hasta el enrase con agua destilada.

Preparación de:	Cantidad:
NaOH 0,1 M	1,00 g
KH ₂ PO ₄ 0,1 M	3,40 g
Na ₂ B ₄ O ₇ ·10H ₂ O 0,025 M	2,40 g
HCl 0,1M	6,95 mL
NaCH ₃ COO·3H ₂ O 0,2 M	6,80 g
CH ₃ COOH 0,2 M	2,72 mL

Tabla 3.4. *Cantidades utilizadas de los reactivos empleados en la elaboración de las disoluciones reguladoras.*

Las disoluciones reguladoras se preparan con las sustancias y cantidades indicadas en las tablas ajustando el volumen total de la disolución a 200 mL con agua destilada:

Buffer pH (5,8 – 8,0):

pH	6,00	6,50	7,00	7,50	7,75	8,00
mL NaOH 0,1 M	11,2	27,8	58,2	82,2	89,5	93,4
mL de KH_2PO_4 0,1 M	100	100	100	100	100	100

Tabla 3.5. Volúmenes de NaOH 0,1 M y de KH_2PO_4 0,1 M empleados en la elaboración de los buffer desde pH 6 hasta pH 8.

Buffer pH (8,0 – 9,1):

pH	8,25	8,50
mL HCl 0,1 M	36,5	30,4
mL $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 0,025 M	100	100

Tabla 3.6. Volúmenes de HCl 0,1 M y de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 0,025 M empleados en los buffer de pH 8,25 y pH 8,50.

Buffer pH (5,0 – 5,5):

pH	5,0	5,5
mL $\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0,2 M	70,4	86,4
mL CH_3COOH 0,2 M	29,6	13,6
mL de agua destilada	100	100

Tabla 3.7. Volúmenes de $\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0,2 M y CH_3COOH 0,2 M empleados en la elaboración de los buffer pH 5 y pH 5,5

3.8.5. Cálculo de actividad catalítica usando como modelo de la lignina veratril alcohol.

Para determinar cuantitativamente la actividad catalítica de los complejos estudiados en primer lugar se estableció el coeficiente de extinción

molar para la longitud de onda de la señal más característica del veratril aldehído, producto de oxidación principal del veratril alcohol.

Longitud de onda	Coefficiente de extinción molar (ϵ)	Referencia bibliográfica
330 nm	$1.900 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$	142

Tabla 3.8. Coeficiente de extinción molar del veratril aldehído.

Una oxidación del 100 % del veratril alcohol a la especie veratril aldehído, aplicando la ley de Beer-Lambert para una cubeta con $l = 1 \text{ cm}$, implicaría un valor de absorbancia observada a la longitud de onda de 330 nm de $A = c \times l \times 1.900$; donde c varía en función la concentración de veratril alcohol utilizada en cada experimento. A continuación se muestra una tabla de las absorbancias para el 100 % de la oxidación del veratril alcohol en función de la concentración (c) utilizada en cada experimento.

Concentración de veratril alcohol (M)	Absorbancia al 100 % de oxidación
0,0026	4,94
0,0052	9,88
0,0017	3,23

Tabla 3.9. Concentraciones de veratril alcohol y absorbancias para una oxidación total del sustrato.

En consecuencia, para los cálculos de % de oxidación se establece el valor de 100 % a 330 nm a los valores de absorbancia indicados en la tabla anterior y se asignarán porcentajes inferiores en relación directa proporcional al valor de absorbancia que se obtiene de restarle al máximo medido la contribución de la mezcla de reacción a tiempo cero.

**Catalizadores
biomiméticos
autoensamblados**
G. González-Riopedre

Capítulo 4
**Discusión de
compuestos**

4.1. Síntesis y caracterización de los ligandos.

4.1.1. Síntesis y caracterización del ligando H₄amid₂.

El ligando amido-amido H₄amid₂ se obtuvo mediante la reacción de sustitución nucleófila del fenilsalicilato con etilendiamina, con lo que se consigue la formación del grupo amido.^{126,143} El rendimiento de esta reacción sobrepasa el 60%.

Previamente a ser utilizado en la síntesis de los complejos, H₄amid₂ fue caracterizado mediante análisis elemental, espectroscopía RMN de ¹H y ¹³C, espectrometría infrarroja y espectrometría de masas, así como por la determinación de sus puntos de fusión y por difracción de rayos X.

El ligando se obtiene como un sólido blanco pulverulento, estable al aire y a la luz, con un punto de fusión de 180 °C.

4.1.1.1. Estudio de H₄amid₂ en estado sólido.

Análisis elemental. Los datos del análisis elemental para H₄amid₂ nos muestran unos valores experimentales muy próximos a los teóricos, lo que nos confirma su obtención con un grado de pureza elevado. Experimental (teórico): % C, 64,0 (64,0); % H 5,5 (5,4); % N 9,4 (9,3).

Espectroscopía IR. El estudio espectral ha sido realizado en KBr, y las señales más representativas se recogen en la Tabla 4.1.

Ligando	v (N-H)	v (O-H)	v (amido I)	v (amido II)	v (C-O)
H ₄ amid ₂	3407	3060	1642	1550	1254

Tabla 4.1. Bandas de IR (cm⁻¹) más significativas de H₄amid₂.

Como resultado del estudio IR de este ligando amido-amido, y teniendo en cuenta la asignación de bandas encontradas en la bibliografía para compuestos similares,^{144,145} podemos asignar que las bandas más características son:

1. Una banda fuerte y estrecha a 3407 cm⁻¹, correspondiente a la vibración de tensión v (N-H).
2. Una banda entre 3060 cm⁻¹, que corresponde a la vibración de tensión del grupo (O-H).
3. El grupo amídico presenta fundamentalmente dos bandas:
 - amido I*: aparece a 1642 cm⁻¹, correspondiente a la vibración de tensión del carbonilo de la amida.
 - amido II*: aparece a 1550 cm⁻¹, es una banda de combinación de la vibración de deformación o flexión del N-H y de la vibración del enlace C-N.

Los estudios IR evidencian la formación de H₄amid₂, debido a la aparición de las propias bandas del grupo amido y la desaparición de las bandas correspondientes a los productos de partida.

4.1.1.2. Estudio de H_4amid_2 en disolución.

Espectrometría de masas. Se utilizó la técnica de ión positivo-electrospray (ES). El pico correspondiente al fragmento $[L+1]^+ = 301$ resultó ser el más intenso, lo que nos confirma tanto la formación como la pureza del compuesto. En la Figura 4.1 se muestra el espectro obtenido.

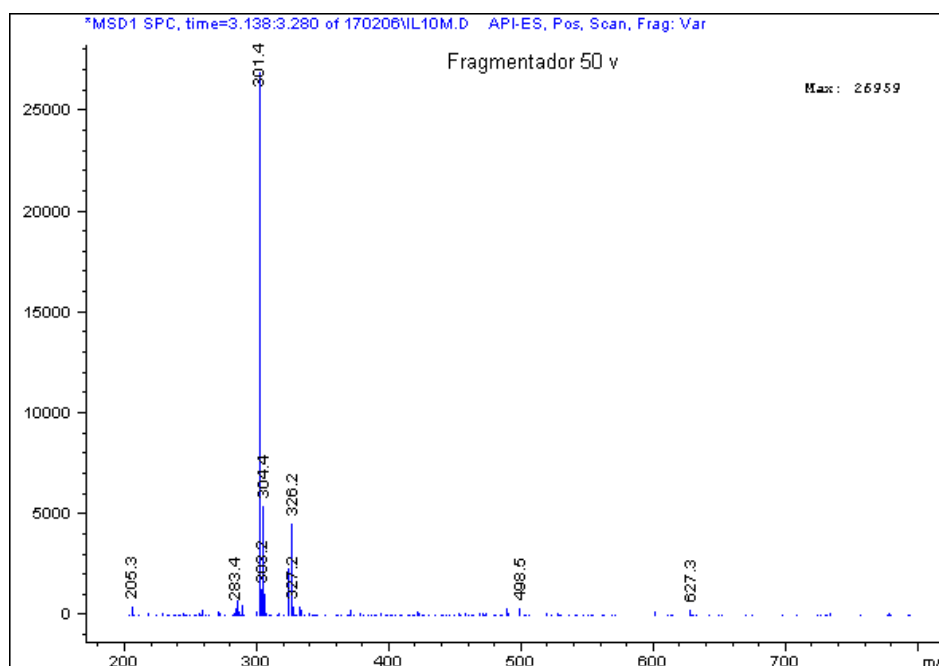
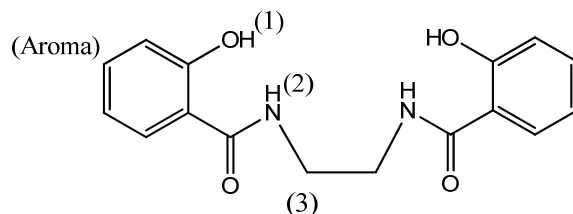


Figura 4.1. Espectro de masas del ligando H_4amid_2 .

Espectroscopía de RMN. El ligando amido-amido fue caracterizado por RMN de 1H y ^{13}C , empleando dimetilsulfóxido deuterado (DMSO- d_6) como disolvente. La asignación de las señales se ha realizado teniendo en cuenta los datos encontrados en la bibliografía.¹⁴⁵ Los valores de los desplazamientos químicos (δ) de RMN de 1H con respecto al tetrametilsilano se recogen en la Tabla 4.2, mientras que los correspondientes a RMN de ^{13}C se encuentran en la Tabla 4.3. En la Figura 4.2 se muestra el espectro de RMN de 1H del ligando y en la Figura 4.3 el espectro de RMN de ^{13}C correspondiente.

RMN de 1H . En el siguiente esquema se indican las posiciones de los hidrógenos en los ligandos.



Ligando	δ (-OH) ₍₁₎	δ (-NH) ₍₂₎	δ (arom-H)	δ (-CH ₂) ₍₃₎
H ₄ amid ₂	n.o.	8,95 (s, 2H)	6,85 7,36 7,80 (t, 4H) (t, 2H) (d, 2H)	2,48 (d, 2H)

n.o.: no observados; s: singlete; d: doblete; t: triplete; q: quintuplete; m: multiplete

Tabla 4.2. Datos de RMN de ¹H (ppm) para el ligando H₄amid₂.

Como datos de RMN de ¹H más destacables a la hora de la caracterización de estos ligandos, podemos señalar:

- Un singlete entre 13,0 y 15,0 ppm, asignado a los protones fenólicos. En nuestro caso no se ha podido observar, posiblemente como consecuencia de los intercambios con los protones del disolvente, debido a su labilidad.
- Un singlete alrededor de 8,95 ppm, debido al protón amínico del grupo amido, lo que nos indica la formación del enlace amido.
- Las señales de los protones aromáticos aparecen entre 6,8 y 7,8 ppm, y se presentan independientes y con su propia multiplicidad para estos ligandos (dobletes, tripletes...).
- Un doblete a 2,48 ppm debido a los protones metilénicos -CH₂-₍₃₎ acoplados con el H del grupo amido

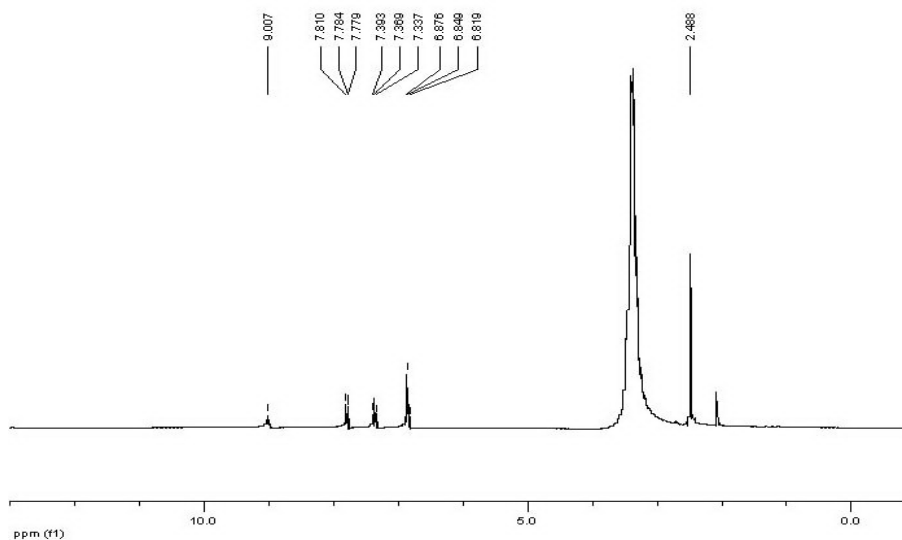


Figura 4.2. Espectro de RMN de ^1H del ligando H_4amid_2 .

RMN de ^{13}C

La espectroscopía RMN de ^{13}C del ligando sintetizado ha sido realizada empleando dimetilsulfóxido deuterado como disolvente. Para poder asignar correctamente todas las señales que aparecen en el espectro nos basamos, al igual que para RMN de ^1H , en los datos encontrados en la bibliografía.¹⁴⁵

En el espectro podemos observar las señales correspondientes a los diferentes átomos de carbono presentes en el ligando.

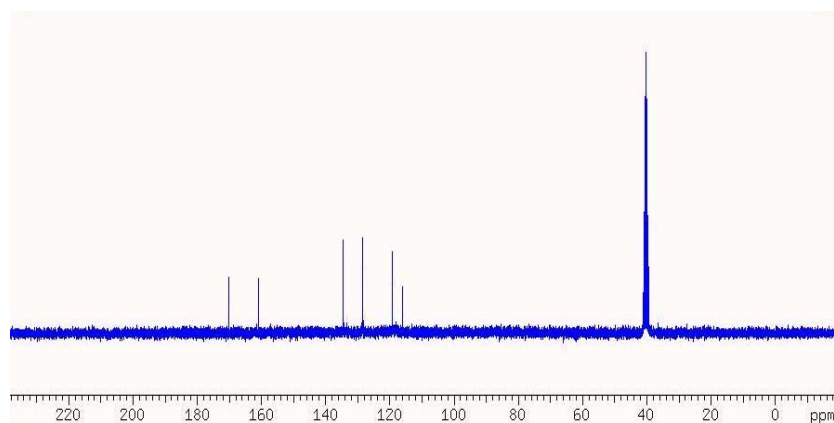


Figura 4.3. Espectro de RMN de ^{13}C del ligando H_4amid_2 .

1-La señal correspondiente al carbono amidíco C=O_(G) que aparece sobre los 169,9 ppm.

2-Se puede observar a continuación la señal del carbono fenólico C-OH_(a), alrededor de 161 ppm.

3-Las señales de los carbonos aromáticos aparecen en un intervalo comprendido entre 115 y 134 ppm.

4-Las señales correspondientes a los distintos carbonos pertenecientes a la cadena alifática se observan sobre 39 ppm.

Ligando	C-OH(a)	C=O(G)	(-CH ₂) _(H)	δ(-CH ₂) _(I)
H ₄ L ¹³	161,1	169,9	39,4	-

Tabla 4.3. Datos de RMN de ¹³C (en ppm) del ligando H₄amid₂.

4.1.1.3. Estructura cristalina de H₄amid₂.

Se ha conseguido la obtención de cristales de H₄amid₂ mediante evaporación lenta y a temperatura ambiente de la disolución metanólica preparada posteriormente a su síntesis, mostrando una gran tendencia a la cristalización. Son agujas de color transparente obtenidas por precipitación de las mismas de la disolución metanólica de dicho ligando. Los datos fueron recogidos a 293 K en un difractor Smart-CCD-1000 BRUKER con radiación de Mo-Kα (ánodo rotante). Los datos cristalográficos y los detalles experimentales se recogen en la Tabla 4.4. Los datos de las distancias y ángulos de enlace se recogen en las Tabla 4.5 y 4.6, mientras que en la Figura 4.4 se muestra la estructura cristalina.

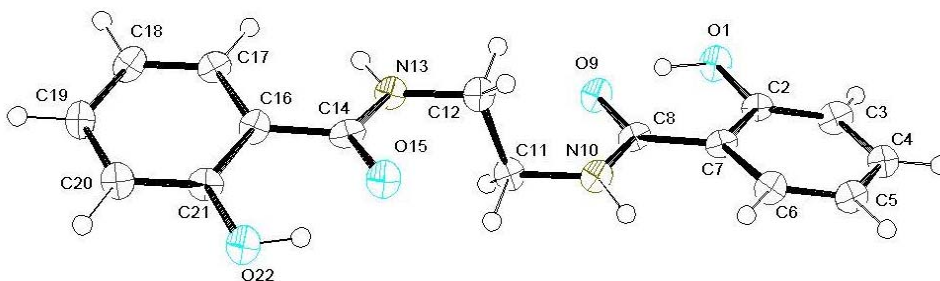


Figura 4.4. Estructura cristalina del ligando H₄amid₂.

Fórmula Empírica	$C_{16}H_{16}N_2O_4$
Peso Molecular	300,31
Temperatura	293 (2) K
Longitud de Onda	0,71073 Å
Sistema Cristalino	Triclínico
Grupo Espacial	P-1
Dimensiones de la celda unidad	a = 6,545(3) Å $\alpha = 94,318(8)^\circ$ b = 6,964(3) Å $\beta = 94,205(10)^\circ$ c = 15,297(8) Å $\gamma = 95,464(16)^\circ$
Volumen	689,9(6) Å ³
Z	2
Densidad (calculada)	1,446 Mg/m ³
Coefficiente de absorción	0,105 mm ⁻¹
F(000)	316
Reflexiones recogidas	2589
Reflexiones independientes	2589
Indices R finales	R1 = 0,0708; wR2 = 0,1799
Indices R (todos los datos)	R1 = 0,1256; wR2 = 0,21 17
Amplitud de barrido	1,34 a 25,68 °

Tabla 4.4. Datos cristalográficos y detalles experimentales del H_4 amid₂.

La molécula no presenta simetría por lo que los datos difieren ligeramente y los indicamos correlacionados para su comparación.

Distancias de enlace (Å)			
O(1)-C(2)	1,360(4)	O(22)-C(21)	1,351(4)
O(1)-H (1)	0,99(4)	O(22)-H(22)	0,91(3)
C(2)-C(7)	1,418(4)	C(21)-C(16)	1,413(4)
C(7)-C(8)	1,479(4)	C(16)-C(17)	1,393(4)
C(8)-O(9)	1,260(4)	C(14)-O(15)	1,257(4)
C(8)-N(10)	1,342(5)	C(14)-N(13)	1,340(4)
N(10)-C(11)	1,455(5)	N(13)-C(12)	1,449(4)
N(10)-H(10)	0,90(4)	N(13)-H(13)	0,89(4)
C(11)-C(12)	1,523(5)		

Tabla 4.5. Distancias de enlace (Å) más importantes para el ligando H_4 amid₂.

Como se ve en la Tabla 4.5, los enlaces C-N son los correspondientes a un enlace sencillo, observándose unos valores de C(8)-N(10) de 1,342(5) y C(14)-N(13) de 1,340(4) Å. Hay dos oxígenos de los grupos hidroxilo que conservan sus átomos de hidrógeno siendo las distancias O(1)-C(2) de 1,360(4) y O(22)-C(21) de 1,351(4) Å, dichos valores son los esperados para un enlace sencillo C-O y la distancia O(1)-H (1) de 0,99(4) Å es mas larga que la distancia O(22)-H(22) de 0,91(3) Å.

4. Discusión de compuestos

Ángulos de enlace (°)			
C(2)-O(1)-H(1)	103(3)	C(21)-O(22)-H(22)	106(3)
O(1)-C(2)-C(3)	119,3(3)	O(22)-C(21)-C(20)	119,4 (3)
C(6)-C(7)-C(8)	123,4(3)	C(17)-C(16)-C(14)	122,7(3)
C(2)-C(7)-C(8)	118,8(3)	C(20)-C(21)-C(16)	120,0(3)
O(1)-C(2)-C(7)	120,5(3)	O(22)-C(21)-C(16)	120,6 (3)
N(10)-C(8)-C(7)	119,3(3)	N(13)-C(14)-C(16)	119,0(3)
N(10)-C(11)-H(11)	110,0(2)	N(13)-C(12)-H(12 A)	119,3(3)
N(10)-C(11)-H(11A)	108(2)	N(13)-C(12)-H(12B)	109,3(18)
C(8)-N(10)-C(7)	119,3(3)	N(13)-C(14)-C(16)	119,0 (3)
C(8)-N(10)-C(11)	122,5(3)	C(14)-N(13)-C(12)	122,7 (3)
N(10)-C(11)-C(12)	112,2(3)	N(13)-C(12)-C(11)	111,7(3)
C(12)-C(11)-H(11B)	113(2)		

Tabla 4.6. Ángulos de enlace (°) más importantes para el ligando H₄amid₂.

Las distancias C-O de los grupos amido presentan unos valores para C14-O15 y C8-O9 de 1,257 y 1,260 Å más cortas que las fenólicas y correspondiendo a un doble enlace.

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(D-H...A)
N(10) --H(10) ..O(1)**	0,90(4)	2,13(4)	2,952(4)	152(3)
N(13) --H(13) ..O(22)*	0,90(3)	2,13(4)	2,926(4)	147(3)
Intra 1 O(1) --H(1) ..O(9)	0,99(3)	1,57(3)	2,502(3)	156(3)
Intra O(22) --H(22) ..O(15)	0,91(3)	1,67(4)	2,504(3)	152(3)
Intra O(22) --H(22) ..O(15)	0,94(4)	2,60(3)	2,910(4)	100(2)

$$* = -1+x,y,z, \quad ** = 1+x,y,z$$

Tabla 4.7. Distancias y ángulos de enlace de hidrógeno (Å, °) para el ligando H₄amid₂.

La molécula presenta tres enlaces hidrógeno intramolecular a través de los hidrógenos H(1), H22 de los oxígenos fenólicos O(1), O22 y los O amidícos y dos enlaces intermolecular por los H(10) y H(13) de los nitrógenos imínico N(10 y N(13) con los oxígenos fenólicos O(1) y O(22) de una molécula vecina con distancias que figuran en la Tabla 4.7.

4.1.2. Síntesis y caracterización del ligando H₂amim.

En el presente trabajo se trató de abrir una nueva y estimulante línea con la síntesis de ligandos amino-imino para la posterior obtención de los posibles complejos de manganeso correspondientes, estudiando sus propiedades físicas y químicas.

La reacción de una diamina común equivalente de salicilaldehído conduce a mezclas de productos al producirse la condensación de un sentido

no específico por uno o los dos grupos amino. Esto nos obligó a diseñar una ruta de síntesis mucho más complicada de la que se podría suponer en un principio, con siete precursores orgánicos para la obtención del ligando H₂amim.

A continuación se va a presentar y discutir conjuntamente los resultados de esta experimentación. En primer lugar se estudiará por separado cada uno de los precursores orgánicos para la obtención de H₂amim.

4.1.2.1. Estudio de los precursores: Caracterización del ftalimidoacetal.

Se realizó la síntesis de este precursor, el ftalimidoacetal, partiendo de la ftalimida potásica y del bromoacetal según el método ya comentado en la sección 3.3.3.1, que se basa en la reacción de Gabriel de síntesis de aminas.

%C	%H	%N
64,6 (63,8)	64,5 (5,8)	5,3 (5,3)

*experimental (teórico)

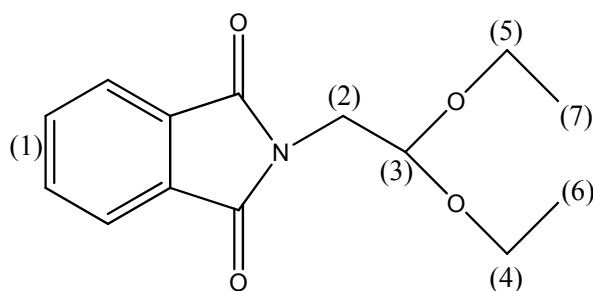
Tabla 4.8. Datos analíticos del ftalimidoacetal.

La reacción conduce al producto esperado, un sólido polvoriento de color blanco amarillento, tal como confirman su análisis elemental (Tabla 4.8) y su espectro de RMN de ¹H (Tabla 4.9) e IR.

La espectroscopía RMN de ¹H del precursor se realizó en cloroformo deuterado, y los principales señales que presenta el espectro (Tabla 4.9) se comenta a continuación:

$\delta(\text{H arom})_{(1)}$	$\delta(-\text{CH}-)_{(3)}$	$\delta(-\text{CH}_2-)_{(2)}$	$\delta(-\text{CH}_2-)_{(4),(5)}$	$\delta(-\text{CH}_3)_{(6),(7)}$
7,8-7,6	4,79	3,75	3,62-3,42	1,06

Tabla 4.9. Datos de RMN de ¹H (en ppm) del ftalimidoacetal.



Las señales multipletes que aparecen en el intervalo 7,5-8 ppm corresponden a los protones del anillo aromático.

La señal que aparece a 4,8 ppm corresponde al protón $H_{(3)}$, y presenta una estructura de triplete como consecuencia del acoplamiento que sufre con los protones pertenecientes al grupo de $(CH_2)_{(2)}$.

A 3,75 ppm tenemos un señal perteneciente a los protones del grupo $(CH_2)_{(2)}$, y que presenta una multiplicidad de doblete debido a la ligazón con el protón $H_{(3)}$.

En el intervalo que va entre 3,4-3,7 ppm aparece un par de multipletes asociados a los protones de los grupos $(CH_2)_{(4),(5)}$, debidos a la ligazón con los protones de los grupos CH_3) adyacentes.

Discusión del espectro de IR del ftalimidoacetal. El espectro fue realizado en bromuro potásico. La información que nos presenta el espectro IR (Figura 4.5) nos sirve para ver si las reacciones se llevaron a cabo, puesto que se observan los grupos funcionales que aparecen, la identificación total del producto se realiza mediante el análisis por RMN.

Como bandas más destacadas del ftalimidoacetal hay que mencionar la banda correspondiente a la tensión del grupo $C=O$ que aparece a 1721 cm^{-1} , junto con la banda asociada a la tensión éter $C-O-C$ que aparece entorno a 2800 cm^{-1} .

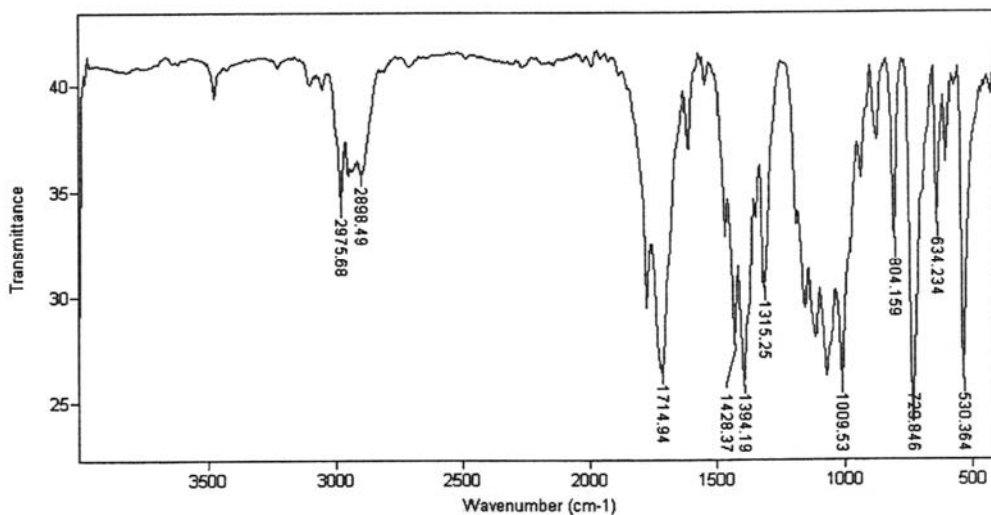


Figura 4.5. Espectro IR del ftalimidoacetal.

4.1.2.2. Estudio de los precursores: Caracterización del ftalimidoaldehído.

La síntesis del ftalimidoaldehído se realiza a partir de la desprotección del precursor ftalimidoacetal mediante una disolución acuosa de HCl, tal como se expone en la sección 3.3.3.2 obteniendo el producto esperado.

%C	%H	%N
62,4 (62,4)*	3,4 (3,7)	7,5 (7,4)

*experimental (teórico)

Tabla 4.10. Datos analíticos del ftalimidoaldehído.

El sólido blanco que se obtiene se identifica por los métodos habituales de análisis elemental (Tabla 4.10) y por espectroscopia de RMN de ^1H (Tabla 4.11).

Discusión del espectro RMN del ftalimidoaldehído. El espectro de RMN del precursor se realizó en cloroformo deuterado, y las señales del mismo (Tabla 4.11) se comenta a continuación:

La señal singlete que aparece a 9,6 ppm se asigna el protón $\text{H}_{(3)}$ correspondiente al grupo aldehído.

4. Discusión de compuestos

En el intervalo que va desde 7,5-7,9 ppm aparecen en unos multipletes correspondiente a los protones del anillo aromático.

Finalmente aparece a 4,4 ppm una señal singlete perteneciente a los protones del grupo (CH₂)₂.

$\delta(-H)^*(3)$	$\delta(Harom)_{(1)}$	$\delta(-CH_2)_{(2)}$
9,66	7,88-7,65	4,55

*El espectro fue realizado en CCl₃D.

Tabla 4.11. Datos de RMN de ¹H (en ppm) del ftalimidoaldehído.

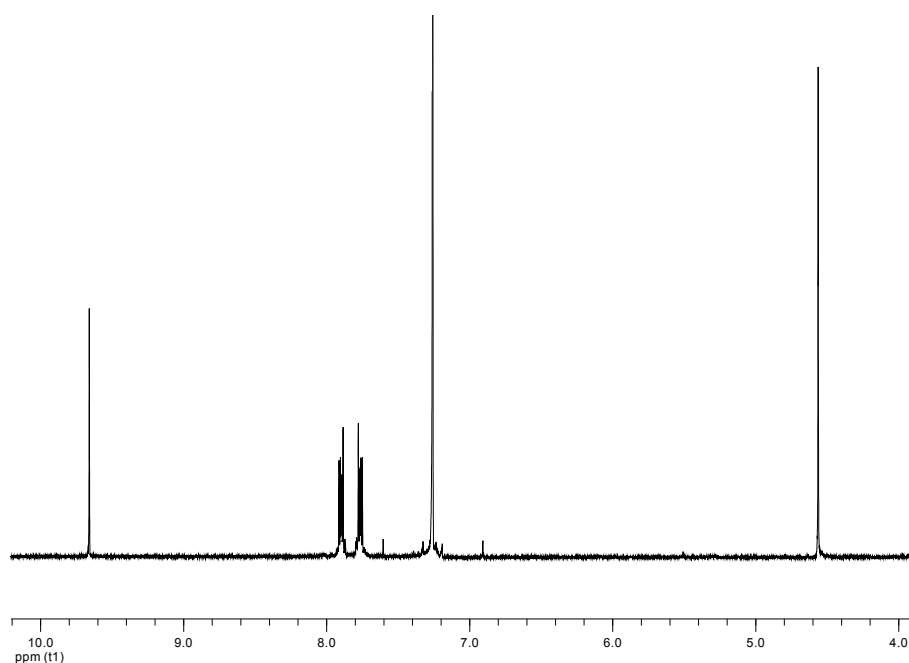
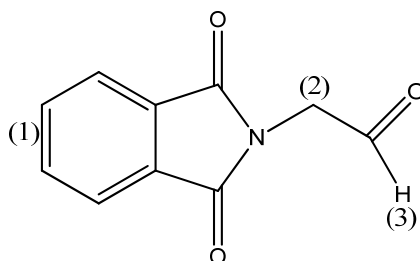


Figura 4.6. Espectro de RMN de ¹H del ftalimidoaldehído.

Discusión del espectro IR del ftalimidoaldehído. El espectro se realizó también en bromuro potásico y los aspectos más destacados del mismo se mencionan a continuación:

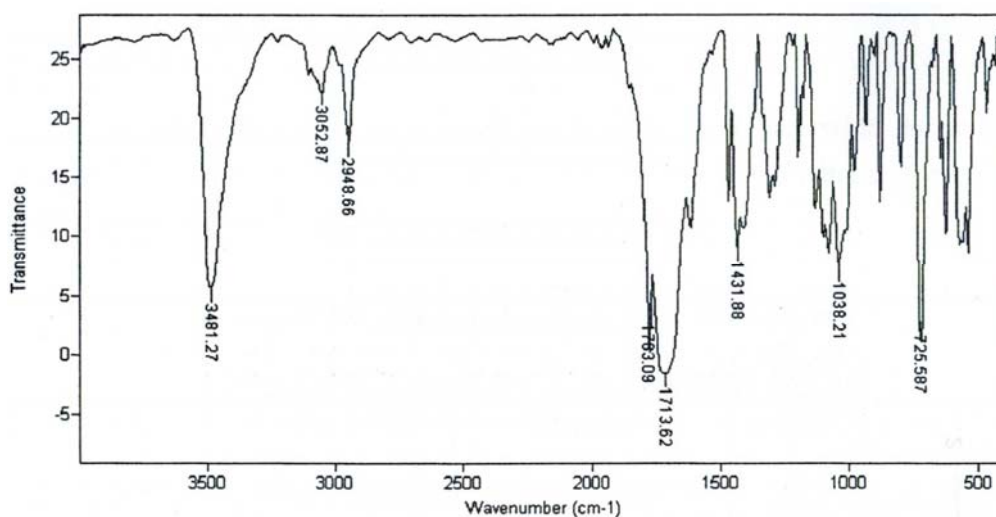


Figura 4.7. Espectro IR del ftalimidoaldehído.

Presencia de la banda intensa asociada al modo de tensión del grupo C=O, que aparece a 1713 cm^{-1} ; desaparición de la banda presente en el ftalimidoacetal asociada al grupo éter que salía sobre 2800 cm^{-1} . Estos datos están de acuerdo con el proceso que tuvo lugar de desprotección del acetal originando al correspondiente aldehído.

4.1.2.3. Estudio de los precursores: Caracterización de la salicilamina.

La síntesis de la salicilamina constituye un ejemplo de síntesis de aminas por el método de afinación reductora a partir de la condensación de un aldehído y de una amina primaria, método que se discute en la sección 3.3.3.3.

%C	%H	%N
44,2 (44,4)*	4,4 (4,6)	6,6 (6,5)

*experimental (teórico)

Tabla 4.12. Datos analíticos de la salicilamina.

4. Discusión de compuestos

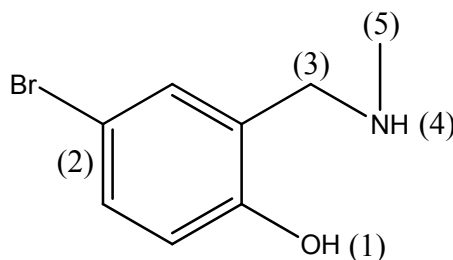
Como resultado de la síntesis se logra obtener el producto deseado, aunque con un bajo rendimiento debido a las extracciones que es preciso efectuar para lograr obtener la amina deseada.

Discusión del espectro RMN de la salicilamina. El espectro de RMN de ^1H de la salicilamina fue realizado en cloroformo deuterado, y a continuación pasamos a comentar las señales (Tabla 4.13) del mismo:

$\delta(\text{Harom})^{*(2)}$	$\delta(-\text{NH})_{(4)}$	$\delta(-\text{CH}_2-)_{(3)}$	$\delta(-\text{CH}_3)_{(5)}$
7,19-6,63	4,8-4,2	3,86	2,40

*espectro realizado en CCl_3D .

Tabla 4.13. Datos de RMN de ^1H (en ppm) de la salicilamina.



En el intervalo que va desde 7,2-6,5 aparecen unas señales de multipletes asociados a los protones del anillo aromático.

En el intervalo que incluye desde 4,8-4,2 ppm aparece una señal ancha y de baja intensidad que se corresponde con el protón del grupo amino.

Tenemos una señal singlete que aparece a 3,8 ppm, y que asociamos a los protones del grupo $(\text{CH}_2)_{(3)}$.

Aparece una última señal, también singlete, a 2,4 ppm, y que corresponde a los protones del grupo $(\text{CH}_3)_{(5)}$.

Discusión del espectro de IR de la salicilamina. El espectro de la salicilamina fue realizado en bromuro potásico y los aspectos más destacables del mismo tienen que ver con el desplazamiento a frecuencias bajas que sufren las bandas asociadas a los modos de tensión de los del grupo O-H fenólico y N-H amínico como consecuencia de interacciones de

hidrógeno intramolecular. Estas bandas deberían aparecer alrededor de los 3500 cm^{-1} , pero como consecuencia de las interacciones intramoleculares se desplazan hasta frecuencias alrededor de 2600 cm^{-1} .

4.1.2.4. Estudio de los precursores: Caracterización de la benzoxacina.

La síntesis de este precursor caracterizado por poseer un heterociclo integrado por átomos de O e N, a partir de la condensación de la salicilamina y al ftalimidoaldehído, se expone en el apartado 3.3.3.4.

%C	%H	%N
55,0 (55,9)	4,2 (3,9)	7,4 (7,2)

*experimental (teórico)

Tabla 4.14. Datos de análisis elemental de la benzoxacina.

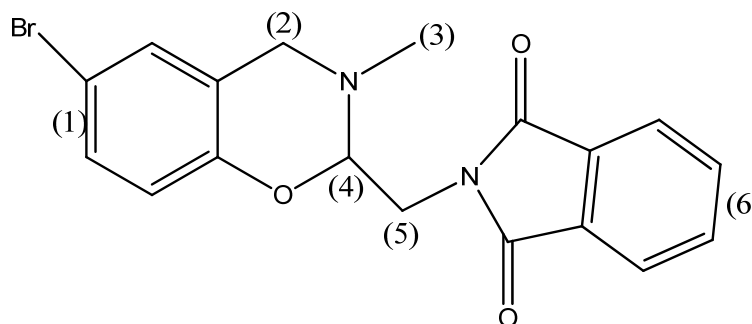
El sólido blanco que se obtiene como resultado del proceso es identificado como se hace habitualmente por las técnicas de análisis elemental (Tabla 4.14) y RMN de ^1H (Tabla 4.15), e IR, confirmando la caracterización del compuesto.

Discusión de los resultados de RMN de la benzoxacina. El espectro de RMN de ^1H de la benzoxacina fue realizado en cloroformo deuterado. Las señales del mismo, recogidos en la Tabla 4.14, se pasan a comentar a continuación:

$\delta(\text{Harom})^*_{(6)}$	$\delta(\text{Harom})_{(1)}$	$\delta(-\text{CH}-)_{(4)}$	$\delta(-\text{CH}_2-)_{(2),(5)}$	$\delta(-\text{CH}_3)_{(3)}$
7,90-7,71	7,26-6,64	5,14	4,08-3,95	2,51

*espectro realizado en CCl_3D .

Tabla 4.15. Datos de RMN de ^1H de la benzoxacina.



4. Discusión de compuestos

En el intervalo que incluye 7,9-7,7 ppm aparecen una serie de señales multipletes correspondientes al anillo aromático.

Otro grupo de señales multipletes análogos al anterior aparece en el intervalo 7,3-6,5 ppm, y que asignamos a los protones aromáticos del grupo (Harom)₍₁₎.

Aparece una señal a 5,1 ppm de multiplicidad triplete que asignamos al protón H₍₄₎, multiplicidad debida al acoplamiento del mismo con el par de protones pertenecientes al grupo (CH₂)₍₅₎.

En el intervalo que incluye 4,1-3,9 ppm aparece una serie de señales que asociamos a los grupos (CH₂)₍₂₎ y (CH₂)₍₅₎.

Finalmente tenemos una señal singlete correspondiente al grupo (CH₃)₍₃₎ que aparece a 2,51 ppm.

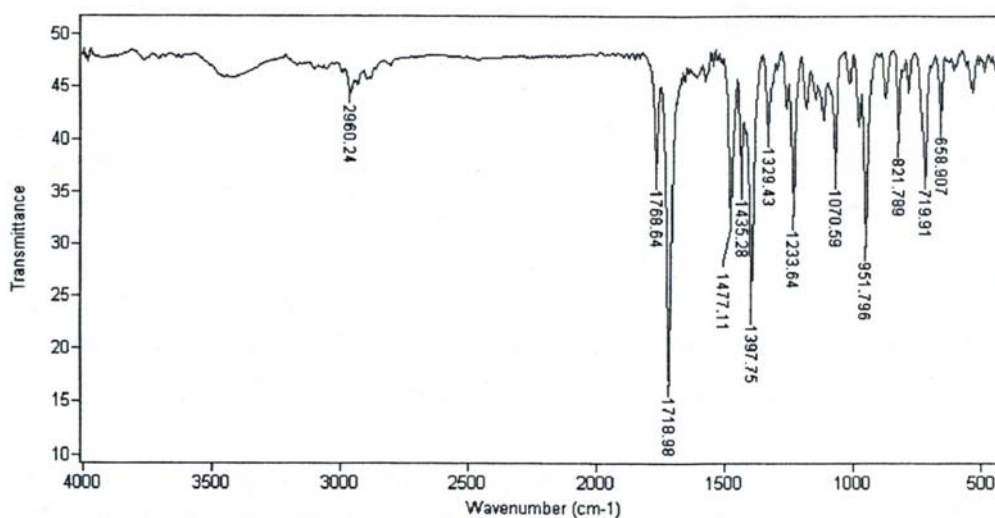


Figura 4.8. Espectro IR de la benzoxacina.

Discusión de los espectros de IR. El espectro realizado en bromuro potásico, de la benzoxacina (Figura 4.8), resultado de la condensación de la salicilamina y el ftalimidoaldehído muestra como bandas más significativas las siguientes:

Presencia de la banda correspondiente al modo de tensión del grupo C=O, que aparece a 1719 cm⁻¹, que pertenece a la parte del ftalimidoaldehído que se condensa. Por otro lado hay que hacer notar que en

el espectro de la benzoxacina no aparecen a las bandas que presentaba el espectro de la salicilamina correspondiente a los modos de tensión de los grupos fenólicos y amínicos alrededor de los 2600 cm^{-1} .

4.1.2.5. Estudio de los precursores: Caracterización del producto resultante de la reducción de la benzoxacina.

La síntesis del producto obtenido como consecuencia de la reducción de la benzoxacina rompiendo el heterociclo por reducción con cianoborohidruro sódico se expone en el apartado 3.3.3.5. La identificación del producto resultante, un sólido blanco polvoriento, por las técnicas de análisis elemental (Tabla 4.16), RMN de ^1H (Tabla 4.17), y espectroscopía infrarroja demuestra que el proceso de reducción se llevo a cabo.

%C	%H	%N
55,6 (55,5)*	4,9 (4,4)	7,6 (7,2)

*experimental (teórico)

Tabla 4.16. Datos analíticos para el producto resultante de la reducción de la benzoxacina.

Discusión del espectro de RMN de ^1H del producto resultante de la reducción de la benzoxacina. Debido a la insolubilidad de este precursor en cloroformo deuterado, el espectro de RMN de ^1H del mismo se realizó en dimetilsulfóxido deuterado, se obtiene una resolución inferior en las señales del espectro. Las señales del precursor aparecen en la tabla 4.17, y a continuación pasamos a detallarlos a continuación:

$\delta(\text{Harom})^*_{(7)}$	$\delta(\text{Harom})_{(2)}$	$\delta(-\text{CH}_2)_{(6)}$	$\delta(-\text{CH}_2)_{(3)}$	$\delta(-\text{CH}_2)_{(5)}$	$\delta(-\text{CH}_3)_{(4)}$
7,89	7,19-6,49	3,77	3,60	2,68	2,33

*espectro realizado en DMSO-d_6

Tabla 4.17. Datos de RMN de ^1H del producto resultante de la reducción de la benzoxacina.

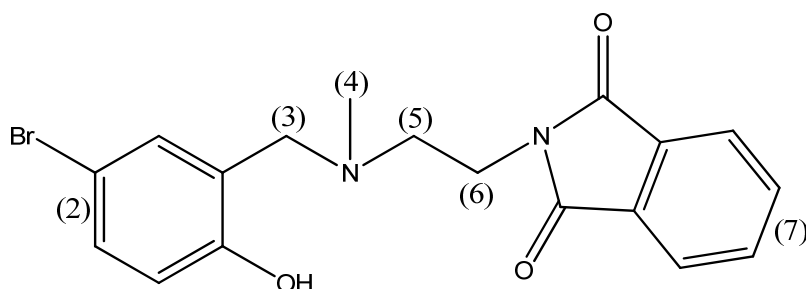
Aparece una señal a 7,9 ppm, que parece un singlete debido a la poca resolución del espectro, y que asignamos a los protones del anillo aromático (Harom)₍₇₎.

En el intervalo que abarca 7,2-6,5 ppm aparecen dos señales diferenciados que se corresponden con los protones del anillo aromático que denominamos (Harom)₍₂₎.

4. Discusión de compuestos

A 3,8 ppm aparece una señal correspondiente a los protones del grupo $(\text{CH}_2)_{(6)}$, señal que presenta multiplicidad triplete debido al acoplamiento con los protones del grupo $(\text{CH}_2)_{(5)}$.

A continuación tenemos un singlete que pertenece a los protones del grupo $(\text{CH}_2)_{(3)}$, y que sale a 3,6 ppm.



Nuevamente tenemos una señal de multiplicidad triplete que aparece a 2,7 ppm y que corresponde a los protones del grupo $(\text{CH}_2)_{(5)}$ que se acoplan con los protones del grupo adyacente $(\text{CH}_2)_{(6)}$.

Finalmente, el singlete que aparece a campo bajo a 2,3 ppm se asigna al grupo $(\text{CH}_3)_{(4)}$.

Por otra banda, hay que subrayar que en el espectro aparecen dos señales a mayores de los antes citados: aparece una señal a 3,4 ppm asociado al agua del disolvente y otra señal a 2,5 ppm asociada al DMSO.

Discusión del espectro IR del producto resultante de la reducción de la benzoxacina. El espectro de este precursor (Figura 4.9) se realizó en bromuro potásico y a continuación se tratan las principales bandas de su espectro. No logramos observar en el espectro la banda asociada al modo de tensión del grupo fenólico, que deberían aparecer sobre 3500 cm^{-1} , observando por el contrario la banda del grupo $\text{C}=\text{O}$ a 1709 cm^{-1} .

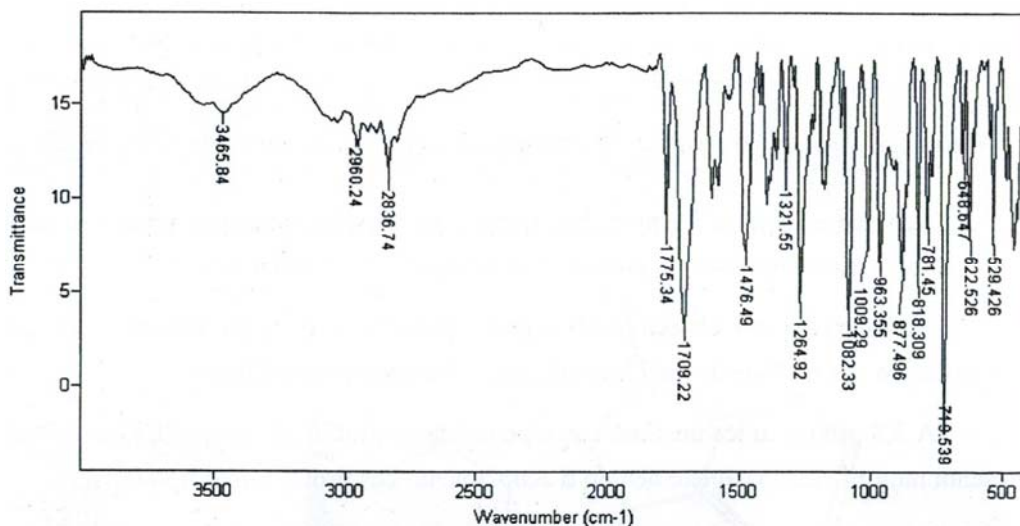


Figura 4.9. Espectro IR para el producto resultante de la reducción de la benzoxacina.

4.1.2.6. Estudio de los precursores: Caracterización de la diamina.

La síntesis de la amina se efectúa según se indica en la sección 3.3.3.6, consistiendo el proceso en la hidrazinólisis del precursor liberando consiguientemente la amina deseada. El sólido blanco polvoriento que se obtiene se va caracterizar como es habitual por las técnicas de análisis elemental (Tabla 4.18), RMN de ^1H (Tabla 4.19), y espectroscopia IR.

%C	%H	%N
10,1 (10,8)	47,3 (46,3)	5,6 (5,4)

*experimental (teórico)

Tabla 4.18. Datos analíticos para la diamina.

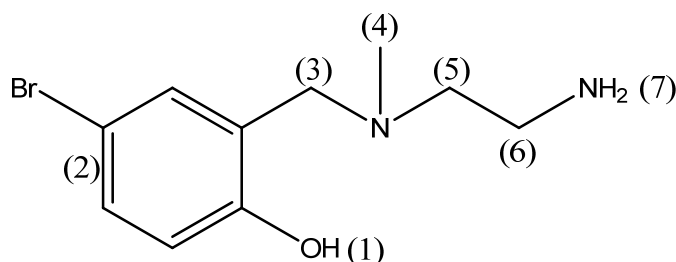
Discusión de los resultados de RMN de la diamina. El espectro de RMN de ^1H de la salicilamina (Tabla 4.19) se efectuó en cloroformo deuterado, y las señales del mismo se pasan a comentar a continuación:

4. Discusión de compuestos

$\delta(\text{Harom})^{*(2)}$	$\delta(-\text{NH}_2)_{(7)}$	$\delta(-\text{CH}_2-)_{(3)}$	$\delta(-\text{CH}_2-)_{(5)}$	$\delta(-\text{CH}_2-)_{(6)}$	$\delta(-\text{CH}_3)_{(4)}$
7,21-6,62	4,1-3,7	3,59	2,84	2,49	2,23

*espectro realizado en CCl_3D

Tabla 4.19. Datos de RMN de ^1H para la diamina.



Aparecen unas señales multipletes en el intervalo que abarca 7,2-6,6 ppm correspondientes a los protones del anillo aromático.

La siguiente señal que aparece en el espectro es una banda ancha entre 4,1-3,7 ppm y que corresponde a los protones del grupo $(\text{NH}_2)_{(7)}$.

La señal singlete a 3,59 ppm pertenece a los protones del grupo $(\text{CH}_2)_{(3)}$.

Posteriormente aparecen dos señales de multiplicidad triplete y que corresponden a los grupos $(\text{CH}_2)_{(5)}$, 2,84 ppm, y $(\text{CH}_2)_{(6)}$, 2,49 ppm. La multiplicidad de las señales se explica como consecuencia del acoplamiento mutuo entre protones de los dos grupos.

Finalmente aparece una señal singlete que corresponde a los átomos del grupo $(\text{CH}_3)_{(4)}$ a 2,23 ppm.

Discusión del espectro IR de la diamina. El espectro de la amina (Figura 4.10) realizado en bromuro potásico, presenta la siguiente información:

Ausencia de la banda del grupo CO confirmando que la hidrazinólisis transcurrió correctamente; presencia de dos bandas a 3280 y 3357 cm^{-1} , que se corresponden con los modos de tensión simétrico y asimétrico del grupo NH_2 del compuesto. También se aprecia una banda ancha a 3473 que asociamos al modo de tensión del grupo fenólico.

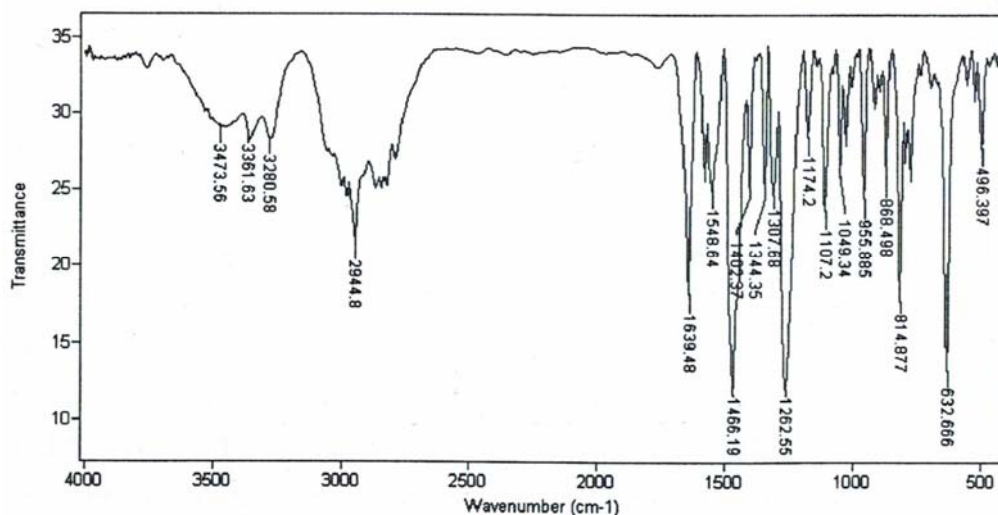


Figura 4.10. Espectro IR de la diamina.

4.1.2.7. Estudio de la base de Schiff H_2amim .

El ligando sintetizado es tetradentado dianiónico amino-imino del tipo ONNO, y el método de preparación se realiza según las condiciones de preparación ya expuestas con anterioridad (Sección 3.3.3.7).

El sólido amarillo obtenido fue filtrado, lavado con metanol frío y secado, y posteriormente lo caracterizamos por análisis elemental (Tabla 4.20), espectroscopia RMN de 1H (Tabla 4.21) y espectroscopia infrarroja. La caracterización resultó positiva y podemos concluir que obtuvimos el ligando con una elevada pureza.

La síntesis de este ligando va muy bien empleando este método estándar, pues además de la gran pureza del producto obtenido, también obtuvimos un alto rendimiento, superior al 80%.

%C	%H	%N
46,4 (46,1)	4,1 (4,3)	6,3 (6,3)

*experimental (teórico)

Tabla 4.20. Datos analíticos para el ligando H_2amim .

Espectroscopia RMN de 1H del ligando H_2amim . La espectroscopia RMN de 1H del ligando sintetizado se realizó empleando cloroformo

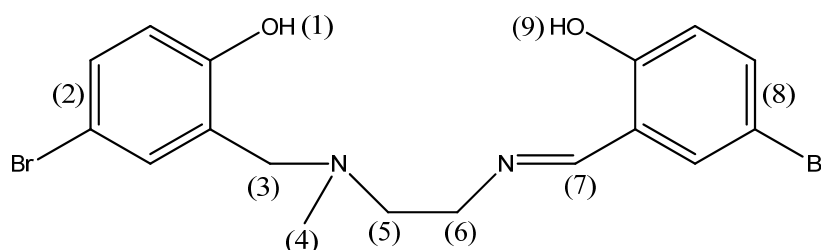
4. Discusión de compuestos

deuterado como disolvente. En la base, del tipo amino-imino, se identifica claramente la formación del enlace imino (H-C=N) por la aparición de singlete entre 8 y 9 ppm. Al mismo tiempo tenemos la seguridad de que se produjo la condensación entre el salicilaldehído y la amina por la ausencia de las señales de sus protones a 10 y 11 ppm respectivamente.

$\delta(-\text{CH})_{(7)}$	$\delta(\text{Harom})_{(2),(8)}$	$\delta(-\text{CH}_2-)_{(6)}$	$\delta(-\text{CH}_2-)_{(3)}$	$\delta(-\text{CH}_2-)_{(5)}$	$\delta(-\text{CH}_3)_{(4)}$
8,22	7,34-6,60	3,81	3,72	2,86	2,86

Tabla 4.21. Datos de RMN de ^1H del ligando H_2amim .

Para el ligando H_2amim la asignación de todas las señales se hizo de acuerdo con la bibliografía y según la figura adyacente a la tabla 4.14, en la que se recogen todos los datos de este ligando.



Como datos de RMN más destacados, a la hora de la caracterización de estas bases redestacan los siguientes hechos:

- 1) El hidrógeno imínico genera una señal singlete situándose siempre a 8-9 ppm.
- 2) Se aprecia un singlete ancho casi imperceptible entre 12 y 15 ppm correspondiente a los dos hidrógenos fenólicos, a pesar de ser no equivalentes. El comportamiento de estas señales es, en parte, debido a los intercambios con los protones del disolvente, debido a su labilidad.
- 3) Aparecen una serie de señales en el intervalo de 6 a 8 ppm correspondientes a los protones aromáticos.
- 4) Los hidrógenos correspondientes a los grupos $(\text{CH}_2)_{(5)}$ y $(\text{CH}_2)_{(6)}$ se acoplan entre sí originando señales tripletes que aparecen en los intervalos 2,5-3 y 3,5-4 respectivamente.

5) Los hidrógenos correspondientes al grupo $(\text{CH}_2)_{(3)}$ generan una señal de singlete que aparecen en el intervalo 3,6-3,8 ppm.

6) Los hidrógenos correspondientes al grupo $(\text{CH}_3)_{(4)}$ generan una señal singlete que aparece en el intervalo 2,2-2,4 ppm.

En el espectro de RMN de ^1H no se observan las señales correspondientes a los grupos OH.

Espectroscopia IR del ligando H_2amim . La banda de IR más significativa para este ligando es la correspondiente al grupo $\text{C}=\text{N}$, que aparece a 1634 cm^{-1} . La Figura 4.11 muestra el espectro IR de H_2amim .

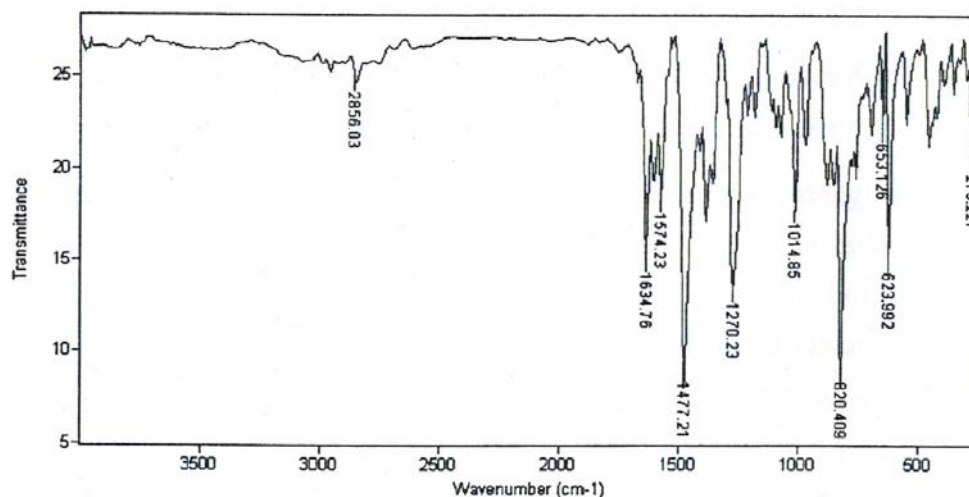


Figura 4.11. Espectro IR del ligando H_2amim .

4.2. Síntesis y caracterización de los complejos.

4.2.1. Complejos de Mn(III) con bases de Schiff H_2L^n y H_2amim .

4.2.1.1. Análisis elemental.

Teniendo en cuenta las posibilidades de coordinación y los porcentajes obtenidos experimentalmente de carbono, nitrógeno y hidrógeno, proponemos fórmulas para los complejos sintetizados (Tabla 4.22). Los datos experimentales son bastante aproximados a los teóricos, lo que nos confirma la obtención de estos compuestos con grado de pureza elevado.

4. Discusión de compuestos

COMPLEJO	% C*	% N*	% H*
[MnL ¹ (H ₂ O)Cl](H ₂ O) _{2.5}	45,2 (45,0)	5,6 (5,8)	5,1 (5,2)
[MnL ³ (N(CN) ₂)(H ₂ O)]·H ₂ O	50,5 (50,7)	4,6 (4,8)	14,5 (14,1)
[MnL ² (H ₂ O) ₂](NO ₃)(H ₂ O)	45,5 (45,7)	8,0 (8,0)	5,0 (5,3)
[MnL ⁶ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)	46,4 (46,1)	4,6 (4,9)	5,1 (5,2)
[MnL ⁷ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(H ₂ O)	48,5 (48,5)	7,7 (7,7)	4,5 (4,4)
[MnL ⁷ (H ₂ O)(OAc)](H ₂ O) ₂	53,1 (53,1)	5,2 (5,2)	4,7 (5,0)
[MnL ⁸ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(CH ₃ OH) ₂	50,4 (50,4)	6,8 (6,8)	5,4 (5,5)
[Mn(amim)(H ₂ O)(ClO ₄) ₂].3H ₂ O	30,5 (30,6)	3,8 (4,2)	3,1 (2,6)

Tabla 4.22. Datos de análisis elemental para los complejos con bases de Schiff.

4.2.1.2. Espectroscopía de IR.

La espectroscopia infrarroja nos sirve para identificar la base de Schiff, pero sobre todo para poder ver como se modifican algunas de sus bandas características por el hecho de la coordinación con el metal, cuando se forman complejos. Los espectros han sido realizados en KBr en la región de 4000-400 cm⁻¹ (Tabla 4.23).

Se debe señalar por adelantado que las variaciones producidas en las vibraciones ν_{OH} , ν_{CO} , ν_{CN} pueden no ser originadas exclusivamente por el hecho de que los átomos de nitrógeno y de oxígeno estén unidos directamente al metal. Las variaciones en estos modos de vibración pueden ser originados cuando en el ligando libre se produce algún tipo de enlace de hidrógeno intramolecular. De este modo cuando se registra el espectro IR de la base de Schiff no se encuentra en la región 3000-4000 cm⁻¹ ninguna banda intensa características del modo ν_{OH} y, como es bien sabido el modo de tensión del OH debe presentar una banda intensa en la región de 3600 cm⁻¹. Por otra banda, la existencia de moléculas de H₂O formando parte de los complejos implica la aparición en los espectros de IR de bandas anchas en la misma región que para el grupo OH. La coordinación del ligando al metal implicaría la desaparición de la supuesta banda intensa del grupo fenólico,

4. Discusión de compuestos

pero por las razones expuestas con anterioridad las modificaciones no se pueden apreciar en el caso de nuestros complejos.

Todos los complejos comparten algunas características similares en el espectro IR, mostrando una banda muy fuerte entre 1624-1601 cm^{-1} característica de la $\nu(\text{C}=\text{N})$ el modo de estiramiento, que se desplaza 6-16 cm^{-1} por debajo de la correspondiente a la ligando base de Schiff libre, lo que indica la coordinación del manganeso a través de los átomos de nitrógeno del grupo imino. La banda atribuye al modo $\nu(\text{CO})$ alrededor de 1250 cm^{-1} se desplaza entre 1 y 18 cm^{-1} por encima de las frecuencias para el ligando libre. Estos datos sugieren la coordinación de las bases de Schiff a través de los oxígenos grupos interiores fenol y los átomos de nitrógeno de los grupos imino. Las bandas fuertes centradas alrededor de 3400 cm^{-1} se pueden asignar a una combinación de los modos de $\nu(\text{OH})$ del agua coordinada o agua/metanol reticulares que están presentes en los complejos.

COMPLEJO	$\nu(\text{O-H})$	$\nu(\text{C=N})$	$\nu(\text{C-O})$	Otras bandas
$[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}](\text{H}_2\text{O})_{2.5}$	3416m	1624mf	1251f	
$[\text{MnL}^3(\text{N}(\text{CN})_2)(\text{H}_2\text{O})]\cdot\text{H}_2\text{O}$	3427	1616	1254	$\nu_{\text{s/as}}(\text{C}\equiv\text{N})$ 2142/2256 $\nu_{\text{s/as}}(\text{C-N})$ 867/1300
$[\text{MnL}^2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$	3414m	1619mf	1257f	$\nu(\text{NO}_3^-)$ 1384mf, 830m, 738f
$[\text{MnL}^6(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)$	3421m	1612mf	1257f	$\nu(\text{ClO}_4^-)$ 1120mf, 625m
$[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$	3420m	1603mf	1253f	$\nu(\text{NO}_3^-)$ 1384mf, 829m, 740f
$[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})_2$	3437m	1605mf	1253f	$\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2)$ 1559f $\nu_{\text{sim}}(\text{CO}_2)$ 1436m
$[\text{MnL}^8(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{CH}_3\text{OH})_2$	3427m	1601mf	1253f	$\nu(\text{NO}_3^-)$ 1384mf, 852m, 739f
$[\text{Mn}(\text{amim})(\text{ClO}_4)(\text{H}_2\text{O})]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$	3446m	1623mf	1267f	$\nu(\text{ClO}_4^-)$ 1119mf, 682m

Tabla 4.23. Bandas IR mas significativas de los complejos con bases de Schiff.

En el complejo $[\text{MnL}^3(\text{N}(\text{CN})_2)(\text{H}_2\text{O})]\cdot\text{H}_2\text{O}$ se pueden apreciar las bandas de la dicianamida coordinada¹⁴⁶⁻¹⁴⁷ sobre 2140 cm^{-1} y 2250 cm^{-1}

4. Discusión de compuestos

que son los valores que presentan las bandas ν_s y ν_{as} respectivamente del triple enlace (C≡N), también observamos las bandas del enlace ν_s y ν_{as} (C-N) a unos valores de 860 cm^{-1} y 1300 cm^{-1} (Figura 4.12)

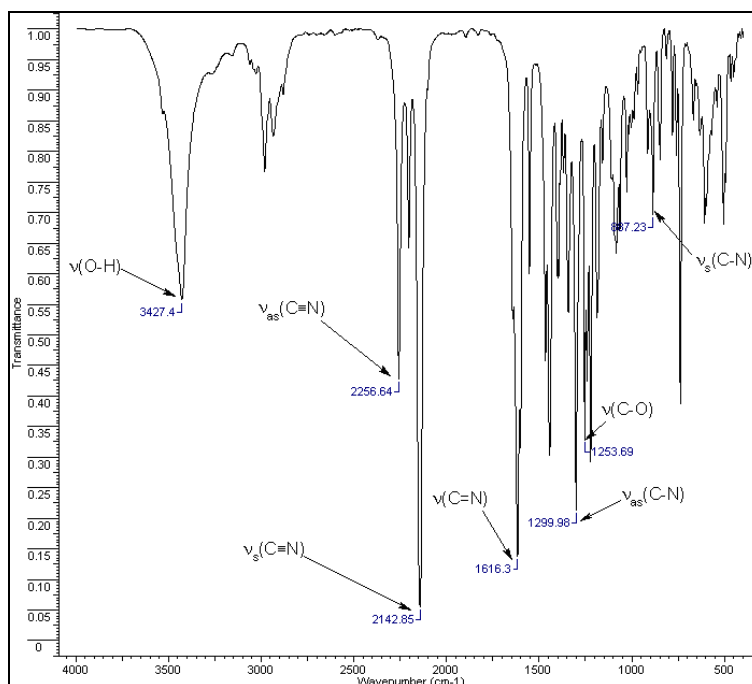


Figura 4.12. Espectro IR del complejo $[\text{MnL}^1(\text{N}(\text{CN})_2)(\text{H}_2\text{O})]\cdot\text{H}_2\text{O}$.

En el caso de los complejos $[\text{MnL}^2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$, $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$ y $[\text{MnL}^8(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{CH}_3\text{OH})_2$, la aparición de una nueva banda fuerte y aguda alrededor de 1384 cm^{-1} , junto con las bandas entorno a 740 y 850 cm^{-1} son característicos de la presencia del ión nitrato no coordinado (ver Figura 4.13), actuando este como contraión.¹⁴⁸

El complejo $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})_2$ muestra dos nuevas bandas en 1559 y 1436 cm^{-1} asignadas a los modos de vibración asimétricas y simétricos del grupo carboxilato (CO_2^-) respectivamente; además la diferencia entre estas dos bandas (123 cm^{-1}) indica que el acetato actúa como unidentado.¹⁴⁹

En cuanto a los complejos con aniones perclorato se puede diferenciar en los espectros dos tipos de coordinación diferentes; de este modo el complejo $[\text{MnL}^6(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)$ presenta las bandas características del anión perclorato sin coordinar, con simetría T_d , mientras que en el complejo

$[\text{Mn}(\text{amim})(\text{ClO}_4)(\text{H}_2\text{O})] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ se observa una banda intensa alrededor de 1100 cm^{-1} , con una estructura característica de los modos de tensión del anión ClO_4 con simetría C_{3v} , indicativo de la coordinación del mismo al átomo metálico por uno de los átomos del oxígeno. Se deduce que se trata de un complejo en el que el perclorato entra a formar parte de la primera esfera de coordinación junto con el ligando base de Schiff.

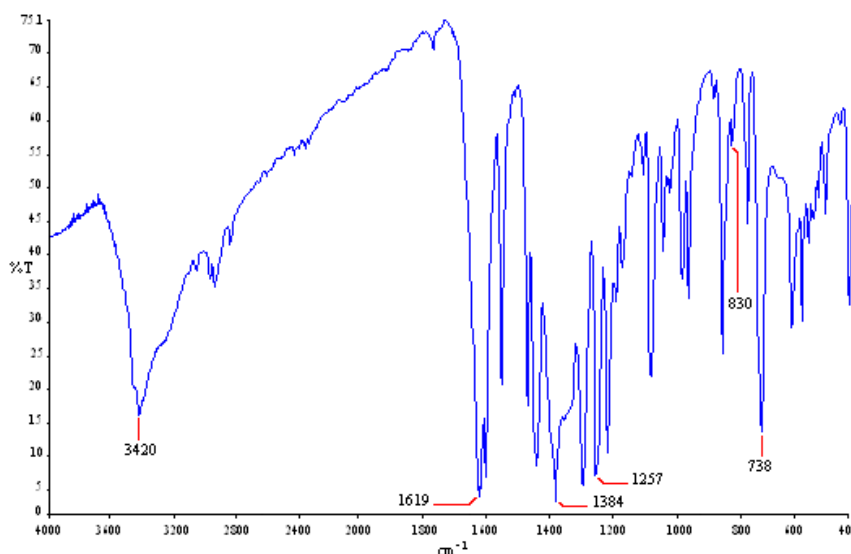


Figura 4.13. Espectro IR del complejo $[\text{MnL}^2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$.

4.2.1.3. Espectrometría de masas.

Los datos experimentales se presentan en la tabla 4.24. Los espectros ES de los complejos muestran en todos los casos el pico correspondiente al ión molecular $[\text{MnL}]^+$ lo que indica la coordinación del centro metálico a los ligandos base de Schiff.

Aparecen también otras señales de menor importancia que podrían ser asignadas a los fragmentos $[\text{Mn}_2\text{L}_2(\text{X})]^+$ (siendo X el anión correspondiente), lo que podría atribuirse a la presencia de especies diméricas. En particular, el complejo sintetizado a partir de la base H_2amim muestra un pico correspondiente a la especie molecular $[\text{Mn}(\text{amim})]^+$, que indica la coordinación del ligando con el metal, además de otro pico que asignamos a la especie $[\text{Mn}_2(\text{amim}_2)(\text{ClO}_4)]^+$. En base a los datos de esta

4. Discusión de compuestos

técnica y a los obtenidos por infrarrojo se propone que el anión perclorato se encuentra en la primera esfera de coordinación, unido al ión metálico.

COMPLEJO	ES (m/z)	$\Lambda_M(\Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1})$	$\mu(\text{MB})$
$[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}](\text{H}_2\text{O})_{2.5}$	381 $[\text{MnL}^1]^+$	22	5,0
$[\text{MnL}^3(\text{N}(\text{CN})_2)(\text{H}_2\text{O})].\text{H}_2\text{O}$	395 $[\text{MnL}^3]^+$ 464 $[\text{MnL}^3\text{N}(\text{CN})_2]^+$	72	5,0
$[\text{MnL}^2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$	409 $[\text{MnL}^2]^+$ 880 $[\text{Mn}_2\text{L}^2_2(\text{NO}_3)]^+$	82	4,9
$[\text{MnL}^6(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)$	438 $[\text{MnL}]^+$; 875 $[\text{Mn}_2\text{L}_2]^+$	88	5,0
$[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$	429 $[\text{MnL}^6]^+$ 920 $[\text{Mn}_2\text{L}^6_2(\text{NO}_3)]^+$	82	4,9
$[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})_2$	429 $[\text{MnL}^6]^+$ 918 $[\text{Mn}_2\text{L}^6_2(\text{OAc})]^+$	10	5,0
$[\text{MnL}^8(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{CH}_3\text{OH})_2$	457 $[\text{MnL}^7]^+$ 976 $[\text{Mn}_2\text{L}^7_2(\text{NO}_3)]^+$	84	4,8
$[\text{Mn}(\text{amim})(\text{ClO}_4)(\text{H}_2\text{O})].3\text{H}_2\text{O}$	495,3 $[\text{Mn}(\text{amim})]^+$; 1088,8 $[\text{Mn}_2(\text{amim})_2(\text{ClO}_4)]^+$	15	4,9

Tabla 4.24. Valores de conductividad, momento magnético y fragmentos de masas de los complejos con bases de Schiff.

4.2.1.4. Medidas de conductividad y de momento magnético.

Los valores obtenidos se muestran en la tabla 4.24. La conductividad molar de los complejos se ha medido utilizando disoluciones 10^{-3} M en metanol. Los complejos $[\text{MnL}^2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$, $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$ y $[\text{MnL}^8(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{CH}_3\text{OH})_2$ presentan valores son próximos a $80 \Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$. Estos valores son indicativos de un comportamiento atribuible a electrolitos 1:1, lo cual pone de manifiesto que el ión nitrato está libre, no coordinado al centro metálico para estos complejos.

En el caso de los complejos $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}](\text{H}_2\text{O})_{2.5}$ y $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})_2$ los valores de entre $10\text{-}20 \Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ son típicos de compuestos no electrolitos,¹⁵⁰ lo que también concuerda con la

formulación sugerida, indicando que los aniones cloruro y acetato se encuentran coordinados al ión metálico, respectivamente, formando complejos de coordinación neutros.

Por otra parte, los valores del momento magnético de los complejos (ver también tabla 4.24) están muy próximos al valor de espín solo de 4,9 M.B., correspondiente a un ión manganeso(III), sistema d^4 de espín alto magnéticamente diluido.

4.2.1.5. Espectroscopía de RMN de ^1H .

COMPLEJO	RMN de ^1H	
	$\delta\text{H4(ppm)}$	$\delta\text{H5(ppm)}$
$[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}](\text{H}_2\text{O})_{2.5}$	-25,51	-19,06
$[\text{MnL}^2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$	-29,45	-19,93
$[\text{MnL}^6(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)$	-28,01	-17,16, -18,96
$[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$	-28,80	-16,05, -18,80
$[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})_2$	-28,72	-15,55, -16,90
$[\text{MnL}^8(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{CH}_3\text{OH})_2$	-24,70, -21,14	-17,50, -19,90

Tabla 4.25. Datos de RMN de ^1H de los complejos con bases de Schiff.

Los estudios de RMN de ^1H de los complejos se registraron utilizando DMSO- d_6 como disolvente, y los datos sirven para fundamentar la formación de complejos de manganeso (III). Los valores se recogen en la tabla 4.25 y en las figuras 4.14 y 4.15 se muestran espectros de RMN de dos de los complejos.

La interpretación de los datos se basó en los hallazgos previos de manganeso (III) con ligandos base de Schiff relacionados hecha por Pecoraro y colaboradores¹⁵¹ y en nuestros propios resultados.¹¹⁵ Los espectros contienen entre dos y tres resonancias de protones a campo alto, fuera de la región de diamagnéticos ($\delta = 0-14$ ppm), debido al desplazamiento isotrópico de los protones del ligando en los complejos de manganeso (III) de alto espín en un campo octaédrico. Las señales deben surgir de los protones H4 y H5 de los anillos aromáticos fenoxi. Las señales

entre -20,73 y -30,52 ppm surgen de los protones H4, mientras que las señales de -15,70 a -21,50 ppm surgen de protones H5.

En el caso de los complejos de $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$, $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})_2$ y $[\text{MnL}^8(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{CH}_3\text{OH})_2$, con espaciadores aromáticos fenilo en sus ligandos base de Schiff, los protones de estos grupos en posiciones *para* a los nitrógenos del grupo imino también son observables, pero sus resonancias están muy cerca de los valores de protones H5, lo que impide distinguir la señal que corresponde exactamente a cada uno (Figura 4.15). Nuestra experiencia demuestra que las señales en las posiciones orto a los átomos dadores no son observables para este tipo de complejos paramagnéticos por RMN de ^1H .

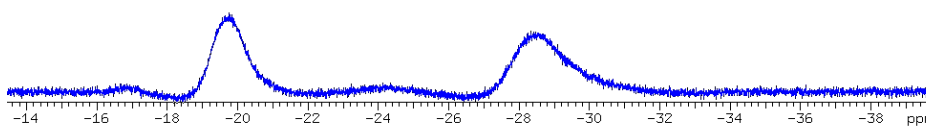


Figura 4.14. Espectro de RMN de ^1H del complejo $[\text{MnL}^2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$.

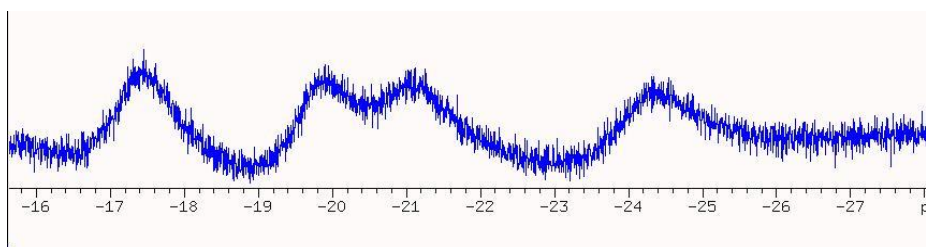


Figura 4.15. Espectro de RMN de ^1H del complejo $[\text{MnL}^8(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{CH}_3\text{OH}_2)$.

4.2.1.6. Espectroscopía UV-Visible.

Los datos espectroscópicos electrónicos registrados (UV-Visible) son muy similares para todos los complejos, lo que indica que los complejos Mn^{III} se comportan como sistemas de alto espín octaédrico d^4 , y sufren una importante distorsión de Jahn-Teller, que afecta a los espectros y complica su interpretación.

Los espectros muestran un amplio hombro alrededor de 520-600 nm ($\epsilon = 120\text{-}500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) que es atribuible a una transición d-d. La banda ancha obtenida a 480-490 nm ($\epsilon = 2600\text{-}3300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) se asigna a la transferencia de carga del fenolato $\rightarrow \text{Mn(III)}$. El pico que aparece alrededor de 300 nm ($\epsilon = 21000\text{-}23000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) se puede asignar a transiciones $\pi\text{-}\pi^*$ intraligando.

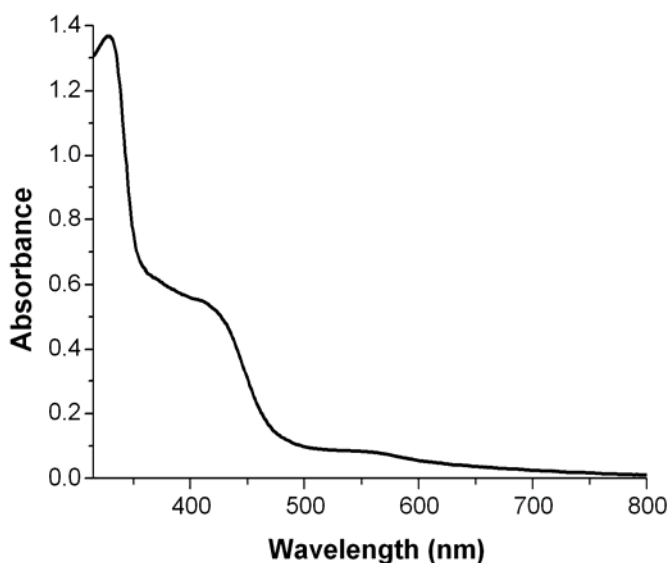


Figura 4.16. Espectro UV (en metanol) de $[\text{MnL}^6(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)$.

La energía y la intensidad de la LMCT y las transiciones d-d están de acuerdo con los datos que aparecen en la literatura para complejos de Mn(III) relacionados.¹⁵²⁻¹⁵⁴

4.2.1.7. Resonancia de espín electrónico (RSE/EPR).

La Resonancia de Espín Electrónico de modo paralelo (campo de microondas H_1 paralelo al campo estático H_0) permite profundizar en la estructura del Mn(III) en disolución. Usando esta técnica, pueden ser detectadas las transiciones de un electrón con $\Delta M_S = 0$, difícilmente observables con el método convencional perpendicular de EPR.

El ión Mn^{3+} tiene un valor de espín electrónico $S=2$, y se ha demostrado que las muestras de polvo desarrollan patrones característicos al

4. Discusión de compuestos

del sexteto de EPR de modo paralelo.¹⁵⁵ Los complejos $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}](\text{H}_2\text{O})_{2.5}$, $[\text{MnL}^2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$, $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$, $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})_2$ y $[\text{MnL}^8(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{CH}_3\text{OH})_2$ muestran este sexteto bien resuelto centrado en torno a $g_{\text{eff}} = 8,1$, lo que indica una geometría molecular bien definida sobre el centro de Mn(III).¹¹⁴ En la Figura 4.17 se recoge el espectro del complejo $[\text{MnL}^2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$; solo se muestra la parte del espectro de campo bajo, ya que no hay líneas adicionales que fueran detectadas en campo más alto.

Todos los complejos ^{55}Mn presentan un menor acoplamiento hiperfino de 43-44 G, lo cual es indicativo del estado electrónico fundamental $^5\text{B}_{1g}$ (el "hueco" que reside en el orbital $d_{x^2-y^2}$), y por lo tanto estos compuestos presentan en disolución o bien una disposición de complejos piramidales cuadrados penta-coordinados distorsionados o bien una geometría octaédrica (hexa-coordinados) con distorsión por elongación tetragonal.^{114,156}

La información proporcionada por las diferentes técnicas de caracterización utilizadas indican claramente que todos los complejos mantienen en disolución la coordinación de los ligandos base de Schiff con el ión metálico, lo que indica la gran estabilidad de la unidad Mn-base de Schiff, donde el ligando tetradentado se encuentra situado en un plano cuadrado alrededor del ión Mn(III).

Las distancias de enlace de las posiciones axiales más largas están de acuerdo a su estado de simetría fundamental $^5\text{B}_{1g}$. Esto último es indicativo de una mayor labilidad de las posiciones axiales y justifica el comportamiento en disolución de estos sistemas y el fácil desplazamiento de las moléculas de agua (o cualquier otro disolvente, como metanol) coordinadas.^{157,158}

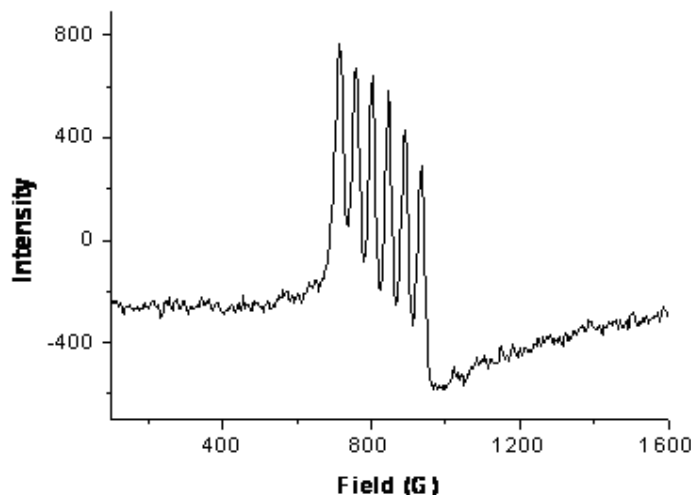


Figura 4.17. Espectro de EPR en modo paralelo del complejo $[\text{MnL}^2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$ realizado en disolución de tolueno:dmf:EtOH (2:1:alícuota). Condiciones: frecuencia, 9,37 GHz; $T = 9 \text{ K}$.

4.2.1.9. Difracción de Rayos X.

Los datos de las estructuras cristalográficas se pueden consultar en las tablas 4.25, 4.26 y 4.27 para los complejos $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}](\text{H}_2\text{O})_{2.5}$, $[\text{MnL}^2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$, $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$, $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})_2$ y $[\text{MnL}^8(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{CH}_3\text{OH})_2$ y en la tabla 4.28 para el caso del complejo $[\text{MnL}^6(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)$.

Los datos fueron recogidos en un difractómetro Bruker-Smart CCD-1000 empleando radiación $\text{Mo-K}\alpha$ para los complejos $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}](\text{H}_2\text{O})_{2.5}$ y $[\text{MnL}^2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$ a temperatura ambiente, mientras que en el caso del complejo $[\text{MnL}^8(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{CH}_3\text{OH})_2$ los datos se tomaron a 180 K, para el complejo $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$ a 120 K y para el complejo $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})_2$ a 110 K. Las estructuras fueron resueltas por métodos directos¹⁵⁹ y finalmente refinadas por mínimos cuadrados basados en F^2 . Se aplicó una corrección de la absorción empírica usando SADABS.¹⁶⁰ Todos los átomos, excepto los hidrógenos, fueron incluidos en el modelo en posiciones calculadas geoméricamente.

4. Discusión de compuestos

Los principales datos cristalográficos, longitudes y ángulos de enlace, se resumen en las Tablas 4.25, 4.26, 4.27 y 4.28.

En todos los casos la geometría alrededor del ión manganeso puede ser descrita como octaédrica distorsionada (ver Figuras 4.18, 4.19, 4.20, 4.21 y 4.22). La esfera de coordinación alrededor de cada centro de manganeso comprende el ligando base Schiff plano, fuertemente unido al ión metálico a través del interior del compartimiento N_2O_2 por los átomos N_{imino} y O_{fenol} ($Mn-N_{\text{imino}}$ longitudes de enlace de 1,96-1,99 Å y $Mn-O_{\text{fenol}}$ de 1,86-1,89 Å son típicos de estos complejos^{161,162} y corroboran la bisdeprotonación de los ligandos) que ocupan las posiciones ecuatoriales y dando lugar a dos anillos quelato de seis miembros (que son casi planos) y el anillo quelato adicional de cinco miembros.

	$[MnL^1(H_2O)Cl](H_2O)_{2.5}$	$[MnL^2(H_2O)_2](NO_3)(H_2O)$
Mn- O_p	1,878(2) 1,878(2)	1,860(6) 1,864(5)
Mn- N_i	1,968(3) 1,979(3)	1,973(8) 1,977(8)
Mn- O_{ax}	2,324(2)	2,270(6) 2,373(10)
Mn-Cl	2,5573(11)	
O_p -Mn- O_p	92,81(9)	93,0(2)
O_p -Mn- N_i	172,21(10) 91,27(10) 173,39(11) 92,44(10)	174,9(3) 91,6(3) 175,4(3) 92,1(3)
N-Mn-N	83,05(11)	83,4(4)
O_a -Mn- O_a	171,37(6) ^b	169,5(3)
Mn...Mn	4,917	4,804

Tabla 4.25. Longitudes de enlace seleccionadas y principales ángulos de enlace para los compuestos $[MnL^1(H_2O)Cl](H_2O)_{2.5}$ y $[MnL^2(H_2O)_2](NO_3)(H_2O)$. Para el compuesto $[MnL^1(H_2O)Cl](H_2O)_{2.5}$ el ángulo O_a -Mn- O_a corresponde realmente al ángulo O_a -Mn-Cl.

4. Discusión de compuestos

	$[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})_2$	$[\text{MnL}^8(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{CH}_3\text{OH})_2$
Mn-O _p	1,8922(19) 1,8940(18)	1,867(2) 1,876(2)
Mn-N _i	1,992(2) 1,992(2)	1,991(3) 1,982(3)
Mn-O _{ax} Mn-X	2,282(2) 2,127(2)	2,234(3) 2,250(2)
O _p -Mn-O _p	92,26(8)	91,72(10)
O _p -Mn-N _i	173,72(8) 92,48(8) 172,93(8) 92,59(8)	92,92(11) 82,92(11) 174,38(11) 175,63(10)
N-Mn-N	82,32(9)	89,77(11)
O _a -Mn-O _a	168,24(7)	174,50(8)
Mn...Mn	4,772	4,820

Tabla 4.26. Longitudes de enlace seleccionadas y principales ángulos de enlace para los complejos $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})_2$ y $[\text{MnL}^8(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{CH}_3\text{OH})$. X = OAc en el caso del compuesto $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})_2$.

Las posiciones axiales del octaedro son ocupados por las moléculas de agua, a excepción de uno de los sitios en los complejos $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}](\text{H}_2\text{O})_{2.5}$, y $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})_2$.

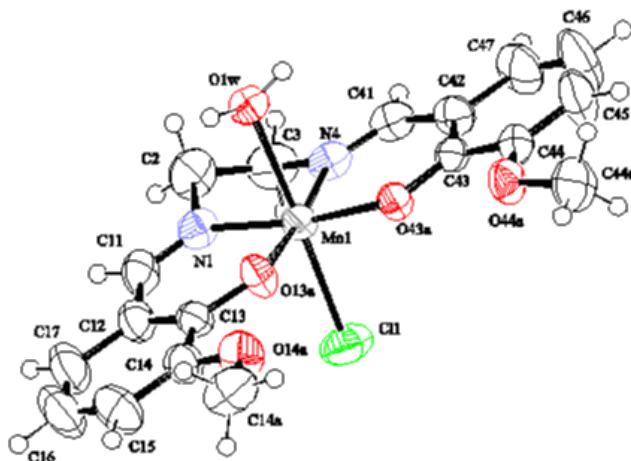


Figura 4.18. Representación ORTEP del complejo $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}](\text{H}_2\text{O})_{2.5}$.

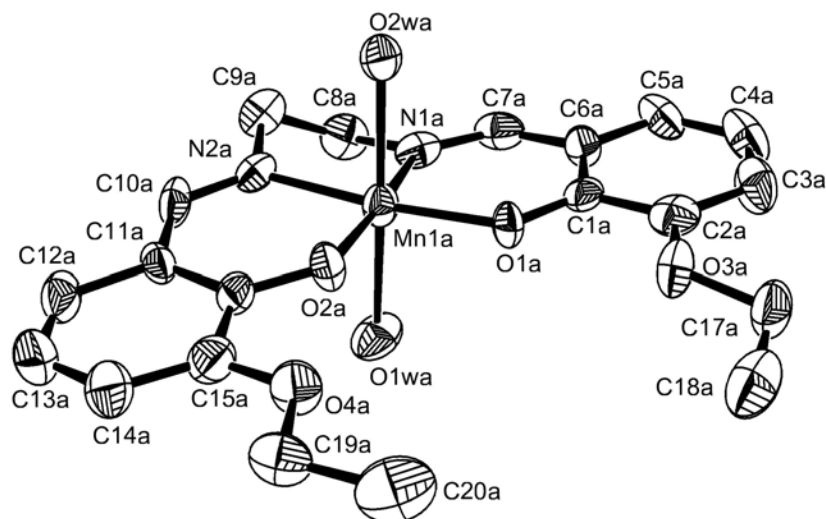


Figura 4.19. Representación ORTEP del catión complejo $[MnL^2(H_2O)_2]^+$.

	$[MnL^7(H_2O)_2](NO_3)(H_2O)$	$[MnL^7(CH_3OH)(H_2O)](NO_3)(H_2O)$
Mn-O _p	1,869(2) 1,872(2)	1,876(2) 1,882(2)
Mn-N _i	1,987(3) 1,980(3)	1,983(3) 1,987(3)
Mn-O _{ax}	2,242(3) 2,227(3)	2,258(2) 2,224(3)
O _p -Mn-O _p	91,75(9)	92,03 (9)
O _p -Mn-N _i	92,68(10) 82,79(10) 174,78(10) 175,15(10)	93,13 (10) 82,79(10) 174,29 (10) 174,99(11)
N-Mn-N	89,81(10)	82,35(11)
O _a -Mn-O _a	173,33(9)	174,24 (9)
Mn...Mn	4,778	4,778

Tabla 4.27. Longitudes de enlace seleccionadas y principales ángulos de enlace para el complejo $[MnL^7(H_2O)_2](NO_3)(H_2O)$.

En el caso de $[MnL^7(H_2O)_2](NO_3)(H_2O)$ hay dos unidades diferentes: $[MnL^7(H_2O)_2]^+$ y $[MnL^7(CH_3OH)(H_2O)]^+$ (Figura 4.20), lo cual genera dos moléculas con distancias diferentes en la resolución cristalográfica, denominadas moléculas A y B. Las distancias y ángulos de enlace son muy próximas entre sí como se recoge en la tabla 4.27. La molécula B tiene una

de las posiciones axiales ocupada por una molécula de metanol (disolvente utilizado en la síntesis).

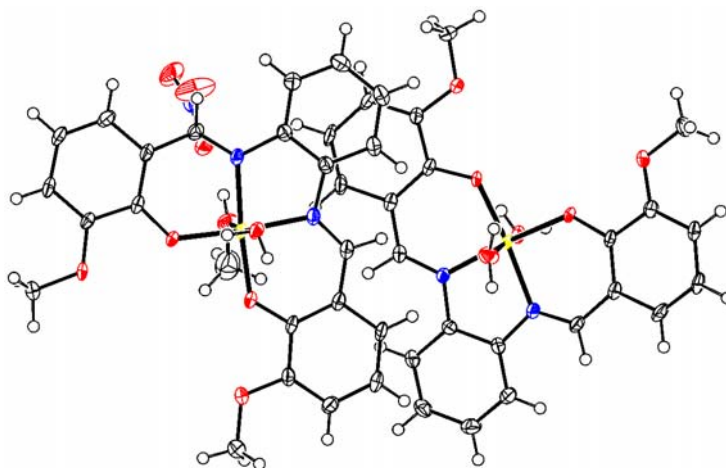


Figura 4.20. Representación ORTEP del complejo $[MnL^7(H_2O)_2](NO_3)(H_2O)$ donde se muestran las dos moléculas cocrystalizadas.

Mn1–N8	1,986(5)	Mn1–O27	2,254(5)
Mn1–N11	1,976(5)	Mn1–O28	2,271(5)
Mn1–O19	1,882(4)	C7–N8	1,300(7)
Mn1–O21	1,873(4)	C12–N11	1,275(8)
O21–Mn1–O19	93,54(15)	O19–Mn1–O27	87,26(17)
O21–Mn1–N11	92,96(17)	N11–Mn1–O27	89,6(2)
O19–Mn1–N11	172,82(18)	N8–Mn1–O27	89,8(2)
O21–Mn1–N8	175,71(18)	O21–Mn1–O28	89,36(17)
O19–Mn1–N8	90,75(18)	O19–Mn1–O28	91,23(18)
N11–Mn1–N8	82,8(2)	N11–Mn1–O28	91,91(19)
O21–Mn1–O27	90,37(18)	N8–Mn1–O28	90,61(19)
O27–Mn1–O28	178,45(16)		

Tabla 4.28. Longitudes de enlace seleccionadas y principales ángulos de enlace para el complejo $[MnL^6(H_2O)_2](ClO_4)$.

$[MnL^1(H_2O)Cl](H_2O)_{2.5}$ y $[MnL^7(H_2O)(OAc)](H_2O)_2$ incorporan el anión cloruro y el grupo de acetato, respectivamente, en una de las posiciones axiales del octaedro. Las distancias de 2,5573(11) Å para Mn-Cl en

4. Discusión de compuestos

$[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}](\text{H}_2\text{O})_{2.5}$ y $2,127(2)$ Å para Mn-O_{acetato} en $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})_2$ están en los valores comunes de sistemas similares reportados.^{163,164} La figura 4.21 muestra la primera esfera de coordinación para el $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})_2$, mientras que las figuras 4.18, 4.19 y 4.22 también recogen la primera esfera de coordinación para $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}](\text{H}_2\text{O})_{2.5}$, $[\text{MnL}^2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$ y $[\text{MnL}^8(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{CH}_3\text{OH})_2$, respectivamente.

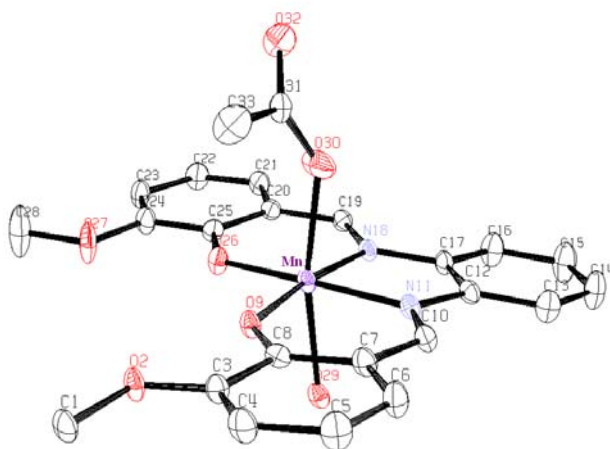


Figura 4.21. Representación ORTEP del complejo $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})_2$.

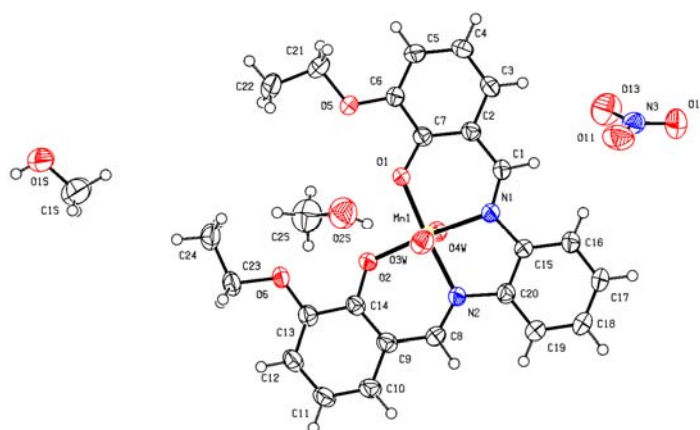


Figura 4.22. Representación ORTEP del complejo $[\text{MnL}^8(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{CH}_3\text{OH})_2$.

El alargamiento de Jahn-Teller esperado para un sistema de manganeso (III) d^4 de alto espín aparece destacado para todos los complejos en el eje ortogonal al plano del ligando de la base de Schiff, con distancias que van desde 2,23 hasta 2,37 Å, considerablemente mayores que las longitudes de enlace Mn-O ecuatorial citadas anteriormente. La desviación de una geometría octaédrica ideal se pone de manifiesto por el rango de ángulos observados entorno al centro metálico (de 82,79 ° a 94,1°), así como por el ángulo interaxial O_{ax} -Mn- O_{ax} de 168,2 ° a 174,5 °. El entorno alrededor del centro de manganeso puede ser descrito como una geometría octaédrica distorsionada elongada tetragonal.

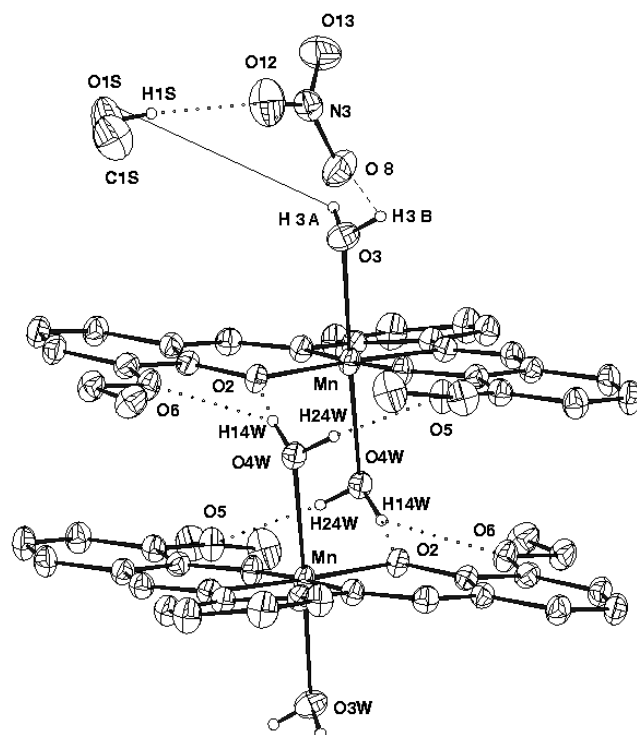


Figura 4.23. Representación ORTEP de la unidad dimérica de $[MnL^9(H_2O)_2](NO_3)(CH_3OH)_2$.

Por otra parte, la superestructura de los complejos implica asociaciones mediante una combinación de interacciones de π -arilo (3,71 a 3,89 Å) y enlaces de hidrógeno entre las moléculas de agua encapsuladas y los dos átomos de oxígeno vecinos de los grupos fenoxi y metoxi/etoxi del ligando base de Schiff, que forman dímeros en todos los complejos. En los

complejos $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}](\text{H}_2\text{O})_{2.5}$, $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$ y $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})_2$ los dímeros se forman de la misma manera ya que la molécula de cloruro, metanol o acetato, respectivamente, permanece en la posición axial exterior. Como resultado de estas interacciones supramoleculares, las distancias Mn-Mn de unos 4,8 Å son cortas para compuestos monómeros; este tipo de sistemas $[\text{MnLX}_2]_2^{n+}$ (siendo L base de Schiff y X las moléculas de agua/disolvente/anión) han sido descritos anteriormente por nosotros^{71,112,165} como dímeros μ -aquo. Un representación ORTEP de la unidad dimérica de $[\text{MnL}^8(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{CH}_3\text{OH})_2$ con esquema de numeración atómica se muestra en la Figura 4.23. La representación en sticks de la unidad dimérica de $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$ y $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})_2$ también se dan en las figuras 4.25 y 4.26.

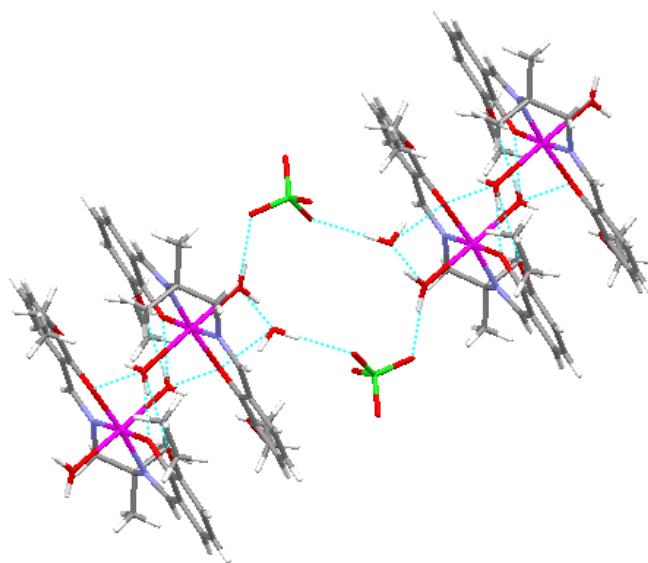


Figura 4.24. Diagrama en sticks que muestra los enlaces de hidrógeno entre las unidades de dímeros adyacentes de $[\text{MnL}^6(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ a través de aniones perclorato y moléculas de agua reticulares.

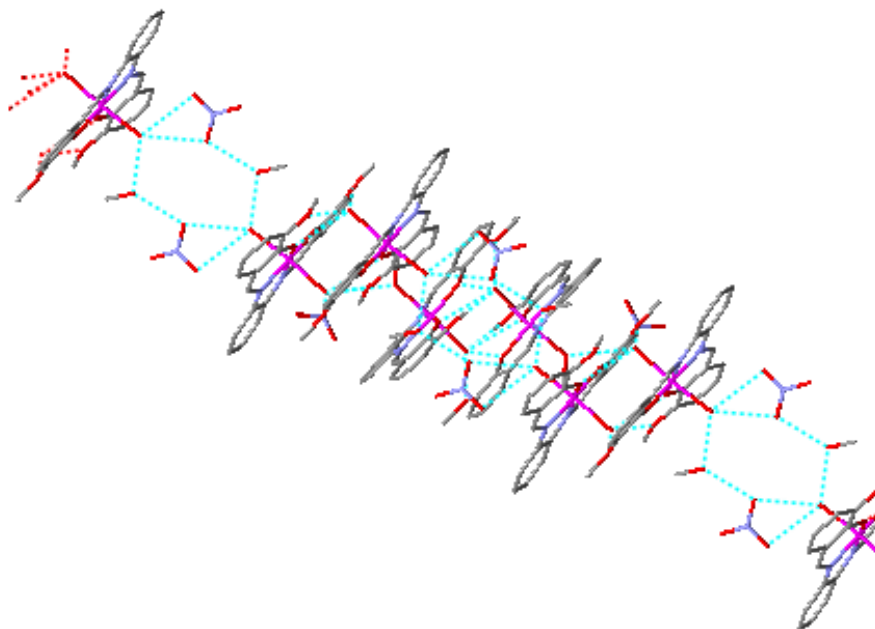


Figura 4.25. Estructura 1D en cadena de las unidades dimericas de $[MnL^7(H_2O)_2](NO_3)(H_2O)$.

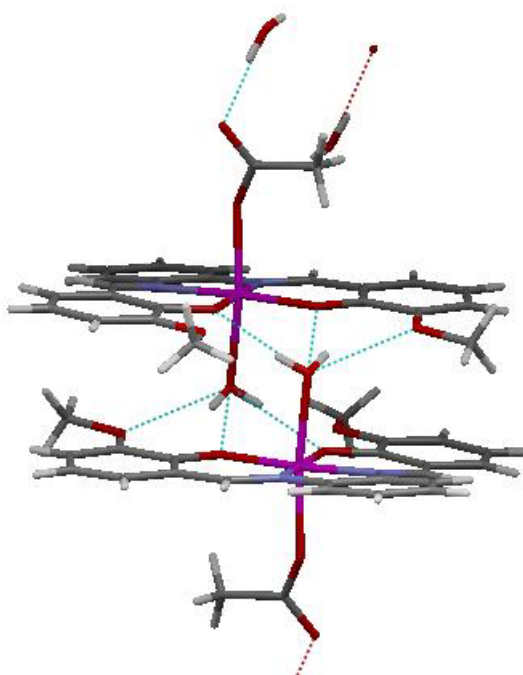


Figura 4.26. Unidad dimerica de $[MnL^7(H_2O)(OAc)](H_2O)_2$.

Esta páxina non se amosa na versión reducida desta tese que está suxeita ao **“Procedemento para teses baixo protección de dereitos de propiedade industrial e/ou intelectual ou teses con cláusulas de confidencialidade”**, aprobado pola Comisión de Doutoramento da USC o 15 de abril de 2013, o cal recolle:

“Este tipo de tese formalizarase en dúas versións: a reducida, en que se eliminarán os contidos afectados polo deber de non difundir ou polo deber de segredo ou confidencialidade, e o exemplar completo, que quedará arquivado na universidade baixo compromiso de custodia e segredo”

(...)

Unha vez aprobada a tese, o exemplar reducido será o que se publique no repositorio institucional. Unha vez que se realicen as oportunas proteccións ou venza o prazo de confidencialidade, o doutorando deberá, logo de acreditar estas circunstancias, solicitar a súa substitución polo exemplar completo”

**Catalizadores
biomiméticos
autoensamblados**
G. González-Riopedre

Capítulo **5**
**Estudios de
actividad
catalítica**

5.1. Complejos seleccionados para los estudios catalíticos.

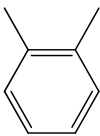

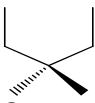

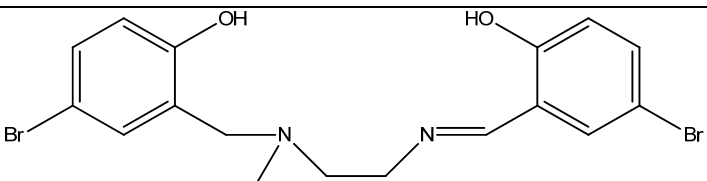
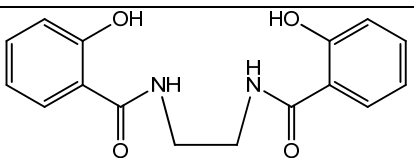
Uno de los objetivos de la presente tesis es el estudio de la actividad catalítica de los complejos de manganeso obtenidos y caracterizados en diferentes tipos de catálisis. En este trabajo se pretende analizar la actividad catalítica en la descomposición fotoquímica del agua (fotólisis del agua) y en la descomposición del peróxido de hidrógeno mediante la actividad catalasa y la actividad peroxidasa. También se estudiará la posibilidad de oxidación de compuestos orgánicos por vía electroquímica.

La solubilidad de los complejos sintetizados limita la posibilidad de realizar algunos de los ensayos programados, de esta forma el complejo que

incorpora el ligando amino-imino (H_2amim) es prácticamente insoluble y ello impide que se puedan desarrollar los experimentos de catálisis propuestos.

Ligando		Complejo	
		Núm.	Fórmula
Espac.	$R^1, R^2 (H_2L^n)^a$		
A	OMe (H_2L^1)	1	$[MnL^1(H_2O)_2](NO_3)(CH_3OH)$
	OMe (H_2L^1)	2	$[MnL^1(H_2O)Cl](H_2O)_{2.5}$
	OMe (H_2L^1)	3	$[MnL^1(H_2O)_2](ClO_4)$
	OEt (H_2L^2)	4	$[MnL^2(H_2O)_2](NO_3)(H_2O)$
B	OMe (H_2L^3)	5	$[MnL^3(H_2O)_2](NO_3)(CH_3OH)$
	OMe (H_2L^3)	6	$[MnL^3(H_2O)_2](ClO_4)(H_2O)$
	OMe (H_2L^3)	7	$[MnL^3(H_2O)_2](Cl)(H_2O)_2$
	OMe (H_2L^3)	8	$[MnL^3(H_2O)(N(CN)_2)](H_2O)$
	OEt (H_2L^4)	9	$[MnL^4(H_2O)_2](NO_3)(CH_3OH)$
	OEt (H_2L^4)	10	$[MnL^4(H_2O)_2](ClO_4)$
	OEt (H_2L^4)	11	$[MnL^4(H_2O)](Acac)$
	OMe, Br (H_2L^{13})	12	$[MnL^{13}(H_2O)](ClO_4)$
	OMe, Br (H_2L^{13})	13	$[MnL^{13}(H_2O)](Acac)$
	Br, Br (H_2L^{14})	14	$[MnL^{14}(H_2O)](ClO_4)$
	Br, Br (H_2L^{14})	15	$[MnL^{14}(H_2O)](Acac)$
	Br, Cl (H_2L^{15})	16	$[MnL^{15}(H_2O)_2](ClO_4)$
	Br, Cl (H_2L^{15})	17	$[MnL^{15}(H_2O)](Acac)$
	Cl, Cl (H_2L^{16})	18	$[MnL^{16}(H_2O)_2](ClO_4)$
	H, Br (H_2L^{17})	19	$[MnL^{17}(H_2O)_2](ClO_4)$
	H, Cl (H_2L^{18})	20	$[MnL^{18}(H_2O)_2](ClO_4)$
C	OMe (H_2L^5)	21	$[MnL^5(H_2O)_2](ClO_4)$
	OMe (H_2L^5)	22	$[MnL^5(H_2O)_2]Cl(H_2O)$
	OEt (H_2L^6)	23	$[MnL^6(H_2O)_2](NO_3)(H_2O)$
	OEt (H_2L^6)	24	$[MnL^6(H_2O)_2](ClO_4)$
	OMe, Br (H_2L^{19})	25	$[MnL^{19}(H_2O)](Acac)$
	OMe, Br (H_2L^{19})	26	$[MnL^{19}(H_2O)_2](ClO_4)$
	Br, Cl (H_2L^{20})	27	$[MnL^{20}(H_2O)_2](ClO_4)$
	OH (H_2L^{21})	28	$[MnL^{21}(H_2O)_2](NO_3)$
	H, Cl (H_2L^{22})	29	$[MnL^{22}(H_2O)_2](ClO_4)$
	Cl, Cl (H_2L^{23})	30	$[MnL^{23}(H_2O)_2](ClO_4)$

5. Estudios de actividad catalítica

	OMe (H ₂ L ⁷)	31A	[MnL ⁷ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(CH ₃ OH)
	OMe (H ₂ L ⁷)	31B	[MnL ⁷ (CH ₃ OH)(H ₂ O)](NO ₃)
	OMe (H ₂ L ⁷)	32	[MnL ⁷ (H ₂ O)(OAc)](H ₂ O)
	OMe (H ₂ L ⁷)	33A	[MnL ⁷ (H ₂ O)(O ₂ CET)]
	OMe (H ₂ L ⁷)	33B	[MnL ⁷ (H ₂ O)(O ₂ CET)]
	OMe (H ₂ L ⁷)	34	[MnL ⁷ (H ₂ O)(O ₂ CPe ⁿ)]
	OMe (H ₂ L ⁷)	35	[MnL ⁷ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)(H ₂ O)
	OEt (H ₂ L ⁸)	36	[MnL ⁸ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(CH ₃ OH) ₂
OH (H ₂ L ²⁴)	37	[MnH ₂ L ²⁴](NO ₃)(CH ₃ OH)	
	OMe (H ₂ L ⁹)	38	[MnL ⁹ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)(H ₂ O)
	OMe (H ₂ L ⁹)	39	[MnL ⁹ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(H ₂ O) ₂
	OEt (H ₂ L ¹⁰)	40	[MnL ¹⁰ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(CH ₃ OH)(H ₂ O)
	OEt (H ₂ L ¹⁰)	41	[MnL ¹⁰ (H ₂ O)(N(CN) ₂)](H ₂ O)
	OEt (H ₂ L ¹⁰)	42	[MnL ¹⁰ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)
	OMe, Br (H ₂ L ²⁵)	43	[MnL ²⁵ (H ₂ O)(EtOH)](ClO ₄)
	H, Cl (H ₂ L ²⁶)	44	[MnL ²⁶ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)(H ₂ O)
H, Br (H ₂ L ²⁷)	45	[MnL ²⁷ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)(H ₂ O)	
	OMe (H ₂ L ¹¹)	46	[MnL ¹¹ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(H ₂ O) ₂
	OMe (H ₂ L ¹¹)	47	[MnL ¹² (H ₂ O) ₂](ClO ₄)(H ₂ O) ₃
	OEt (H ₂ L ¹²)	48	[MnL ¹² (H ₂ O) ₂](NO ₃)(H ₂ O) ₂
	OEt (H ₂ L ²⁸)	49	[MnL ²⁸ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(H ₂ O)
	OMe (H ₂ L ²⁹)	50	[MnL ²⁹ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)(H ₂ O)
	OMe (H ₂ L ³⁰)	51	[MnL ³⁰ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(H ₂ O)
		52	[Mn(amim)(OH ₂)(ClO ₄)](H ₂ O) ₃
		53	Mn(amid ₂)Li(CH ₃ OH) ₂
		54	Mn(amid ₂)Na(H ₂ O)
		55	Mn(amid ₂)K(CH ₃ OH)(H ₂ O) ₃
		56	Mn(amid ₂)Rb(H ₂ O) ₄
		57	Mn(amid ₂)Cs(H ₂ O)

R² es omitido cuando corresponde a H.

Tabla 5.1. Fórmula y numeración de los complejos utilizados en alguno de los ensayos catalíticos de esta tesis.

Sin embargo se han añadido al estudio de la actividad catalítica otros complejos sintetizados y caracterizados anteriormente por el grupo de investigación en el que se ha desarrollado esta tesis doctoral.¹⁷⁹⁻¹⁸³ Como la mayoría de estos complejos tienen una estructura conocida mediante su caracterización por difracción de rayos X, el estudio de su actividad catalítica es interesante pues puede proporcionarnos información muy útil sobre las características estructurales que inciden en las diferentes actividades catalíticas y también sobre los posibles mecanismos de reacción por los que se desarrolla cada una de estas actividades catalíticas.

La tabla 5.1 recoge la serie de compuestos que se ha utilizado en alguno de los diferentes ensayos de este capítulo, con una numeración asignada del **1** al **57** para identificar los sucesivos complejos.

5.2. Estudios de actividad fotolítica del agua.

5.2.1. Actividad fotolítica de los complejos.

Los experimentos de fotólisis del agua se monitorizaron de dos formas: por la medición cuantitativa del oxígeno liberado y por la variación del espectro electrónico de la quinona durante la fotólisis. El montaje del experimento se perfeccionó con respecto a los originales de McAuliffe y colaboradores^{69,184-185} con el objeto de obtener un mejor aislamiento del sistema. El uso del baño de metacrilato, por ejemplo, permite la agitación magnética en el reactor sin necesidad del agitador mecánico, el cual provocaba un problema en la reproducibilidad de las medidas del oxígeno disuelto. Por otra parte, el uso de una celda de flujo mejora la estanqueidad del montaje experimental con respecto a la retirada de alícuotas para las medidas de UV-Vis.

La reducción de p-benzoquinona (BQ) a hidroquinona (H₂BQ) puede ser seguida por espectroscopía UV (figura 5.1). BQ en agua posee una absorción máxima a 246 nm ($\epsilon = 2.2 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), la cual disminuye durante los experimentos, mientras se desarrolla el pico característico de la hidroquinona a 290 nm (Figura 5.2). La fotólisis de una disolución acuosa que contenga únicamente BQ conduce a una lenta disminución en la cantidad de

BQ y a la formación de una mezcla de H_2BQ e 2-hidroxi-p-benzoquinona¹⁸⁶ sin generación de oxígeno molecular.

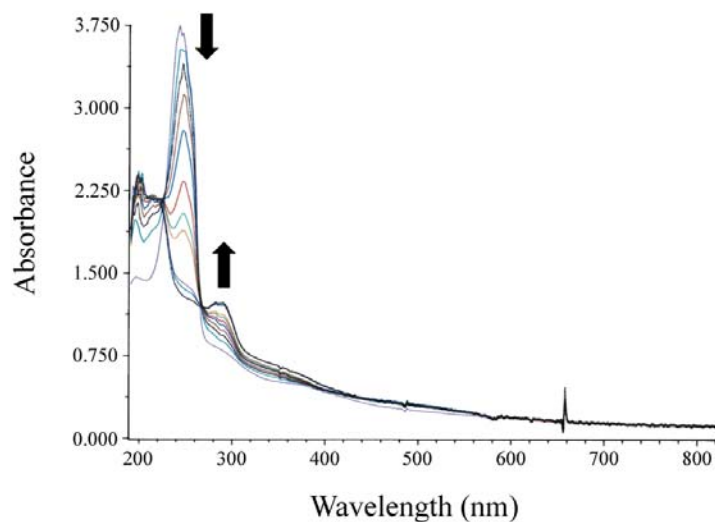


Figura 5.1. Evolución del espectro UV durante los experimentos de fotólisis del agua, mostrando la disminución de la banda a 246 nm (desaparición de BQ) y el incremento de la banda a 290 nm (formación de H_2BQ).

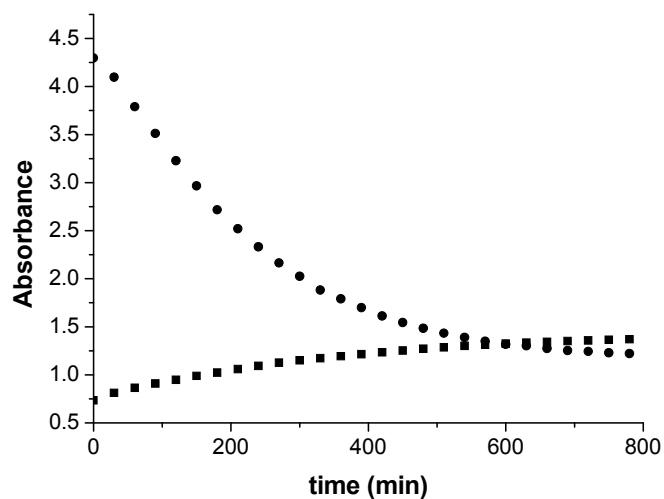


Figura 5.2. Variación de la absorbancia a 246 nm (●) y a 290 nm (■) con respecto al tiempo.

La figura 5.3 muestra la evolución del oxígeno liberado en los experimentos de irradiación con los complejos **24**, **27** y **28** en presencia de BQ. El dióxigeno no se libera en ausencia de BQ y tampoco se genera cuando se sustituye esta por 2,5-tert-butil-p-benzoquinona (tbBQ).

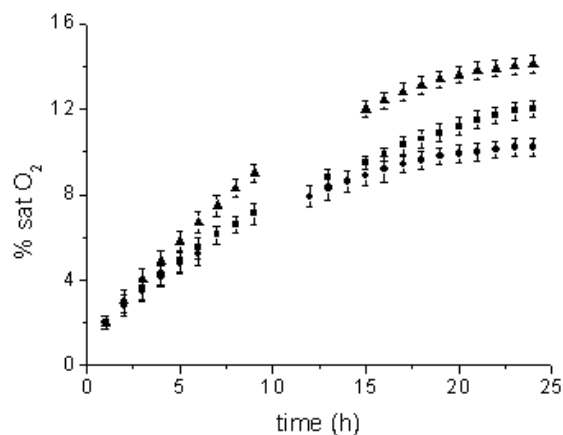


Figura 5.3. Evolución del porcentaje de saturación de O₂ disuelto en disolución en función del tiempo para los complejos dimeros μ-aquo **24** (♦), **27** (■) y **28** (▲), detallados en Apéndice I.

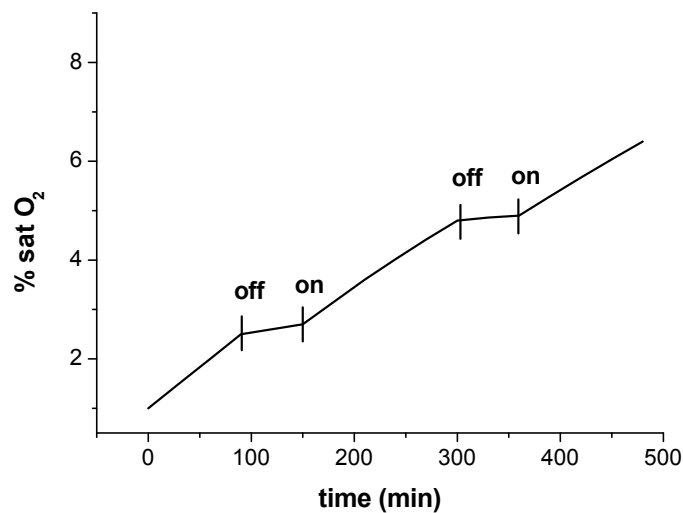


Figura 5.4. Evolución del porcentaje de saturación de O₂ disuelto en función del tiempo cuando se irradia una disolución de complejo **24** y benzoquinona en agua destilada desoxigenada. Los momentos de apagado (light off) y encendido (light on) de la fuente de luz aparecen marcados en la figura.

La concentración de dióxígeno en las disoluciones durante los experimentos se incrementa linealmente durante la irradiación, pero cuando la luz se apaga provoca una desaceleración en la evolución de oxígeno. Una posterior irradiación permite recuperar la tendencia inicial de evolución de oxígeno liberado (Figura 5.4).

5.2.2. Efecto del autoensamblaje de estructuras en la actividad fotolítica.

Un punto de discusión inicial sobre el comportamiento catalítico de estos compuestos es la estructura original de **24**, **26**, **27** y **28** en disolución. Algunos autores proponen que compuestos similares no preservan en disolución las estructuras diméricas propuestas en el capítulo anterior en base a las interacciones intermoleculares observadas en estado sólido por la cristalografía de rayos X.¹⁸⁷ Este punto puede ser argumentado, por ejemplo, por las medidas de conductividad molar de los complejos (en el rango 85–97 μS para los complejos de nuestro estudio), que son consistentes con la presencia de electrolitos 1:1.¹⁵⁰ Sin embargo, estas medidas han sido realizadas en dimetilformamida, un disolvente polar coordinante que puede interferir significativamente en la estructura de estos complejos ya que la labilidad (e intercambio de disolvente) de las posiciones axiales es un fenómeno bien conocido para este tipo de compuestos.¹⁵⁸ En realidad, otras técnicas sugieren que las estructuras diméricas con puentes μ -aquo se retienen en disolución, de este modo encontramos picos que se asignan a estas especies dímeras por espectrometría de masas usando alcohol meta-nitrobencílico como matriz líquida; también la banda observada en el espectro electrónico sobre 550-600 nm está asociada a la presencia de estos dímeros en disolución.¹⁸⁸

Por otra parte, en investigaciones previas del grupo de investigación, se ha realizado el estudio electroquímico de diferentes complejos de manganeso con bases de Schiff análogas a H_2L^n . Fruto de estos estudios se han efectuado cálculos logarítmicos sobre el límite de corriente de la onda cuasi-reversible en la voltametría de pulso normal para complejos monómeros de Mn(III) .¹¹³ Los resultados mostraban como un proceso de un electrón era el responsable de esa onda, que podría ser escrita como $[\text{Mn}^{\text{III}}] \rightarrow [\text{Mn}^{\text{II}}]$. Sin embargo, el mismo tratamiento aplicado a compuestos con

puentes μ -aquo indicaba que el número de electrones implicados estaba cercano a dos (como el grado de reversibilidad disminuye, el resultado del tratamiento logarítmico debe ser interpretado con precaución). Una oxidación de dos electrones no es la esperada para complejos monoméricos, pero el resultado se podría interpretar mediante dos procesos redox de un electrón $[\text{Mn}^{\text{III}}, \text{Mn}^{\text{III}}] \rightarrow [\text{Mn}^{\text{II}}, \text{Mn}^{\text{II}}]$ de las especies dimeras.

Tanto los compuestos monoméricos como los dímeros μ -aquo fueron medidos en condiciones similares con aproximadamente el mismo número de moles de manganeso. Sin embargo, la intensidad de corriente de los picos es diferente. Esta intensidad de corriente obedece la ecuación de Randles–Sevcik;¹⁸⁹ todos los factores de esta ecuación son similares para los dos tipos de complejos, excepto por su coeficiente de difusión. Nuestra experiencia indica que los complejos formulados como especies monoméricas exhiben intensidades de corriente mayores en sus ondas redox que los complejos formulados como μ -aquo. Este comportamiento se atribuye a la naturaleza monomérica del primer tipo de complejos, lo cual deriva en un coeficiente de difusión mayor, mientras que los dímeros μ -aquo probablemente conservan su estructura dímica en disolución.

También se han realizado ensayos de actividad peroxidasa en complejos μ -aquo, encontrándose una actividad significativa utilizando ABTS (sal diamónica de ácido 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) como sustrato e indicador. La oxidación del hidroperóxido para generar dióxígeno en los experimentos peroxidasa implica una reacción de transferencia intermolecular de dos electrones, prohibida para complejos monoméricos de Mn(III).¹¹⁵ En consecuencia, estos complejos μ -aquo tienen que preservar, al menos parcialmente, su estructura dímica en disolución.

5.2.3. Propuesta de mecanismo.

La absorción de luz a 425 nm en disolución acuosa causa una transición $\pi^* \leftarrow n$, responsable de la extracción de un hidrógeno del agua por parte de la benzoquinona ópticamente excitada (BQ*). Para el estado fundamental de la BQ se produce la primera extracción de un hidrógeno mediante una reacción endotérmica, que tiene que vencer un diferencial de

1,6 eV. Este proceso da lugar a una ganancia de estabilidad de 1,5 eV cuando la BQ posee un electrón promocionado desde el par electrónico solitario del oxígeno al orbital del anillo π^* .

Awad y Anderson realizaron un estudio químico-cuántico en la fotogeneración de O_2 a partir H_2O coordinada a complejos de Mn(III) con bases de Schiff en presencia de BQ.¹⁸⁸ En su estudio concluyen que la molécula de agua enlazada a Mn(III) formando puentes μ -aquo comienza la secuencia de reacciones al transferir un átomo de hidrógeno a un O- creado por una excitación óptica $\pi^* \leftarrow n$ en la BQ. Este proceso oxida el ión Mn(III) a Mn(IV) y crea un grupo OH- fuertemente enlazado y a su vez suficientemente polarizado para sufrir una desprotonación. Es la formación del fuerte enlace Mn-OH el que previene la formación de 2-hidroxi-p-benzoquinona, como ocurriría en la disolución acuosa en ausencia del complejo de manganeso activo.

Más recientemente se ha comprobado, por estudios catalíticos de epoxidación de olefinas utilizando este tipo de complejos, la posibilidad de la extracción de hidrógeno por complejos de Mn(IV) con ligandos terminales hidroxilo.¹⁹⁰

Durante nuestros experimentos de irradiación no se ha observado la formación de ningún precipitado. McAuliffe inicialmente sugirió la formación de $[Mn^{III}L]_2O$ (donde L es la base de Schiff) al final de sus experimentos, aunque también propuso posteriormente el dímero de manganeso (III) con puentes μ -fenoxo como producto final (II en Figura 5.6).⁶⁸

Esta última disposición para complejos de Mn(III) con bases de Schiff era casi desconocida cuando McAuliffe y colaboradores realizaron sus primeros experimentos de irradiación pero estos dímeros de manganeso(III) con puentes μ -fenoxo posteriormente se convirtieron en disposiciones comunes caracterizadas por cristalografía de rayos X.^{71,149,191}

Basados en los diferentes estudios realizados para estos experimentos de fotólisis de agua, proponemos para el proceso global el esquema de reacción recogido en la Figura 5.6.

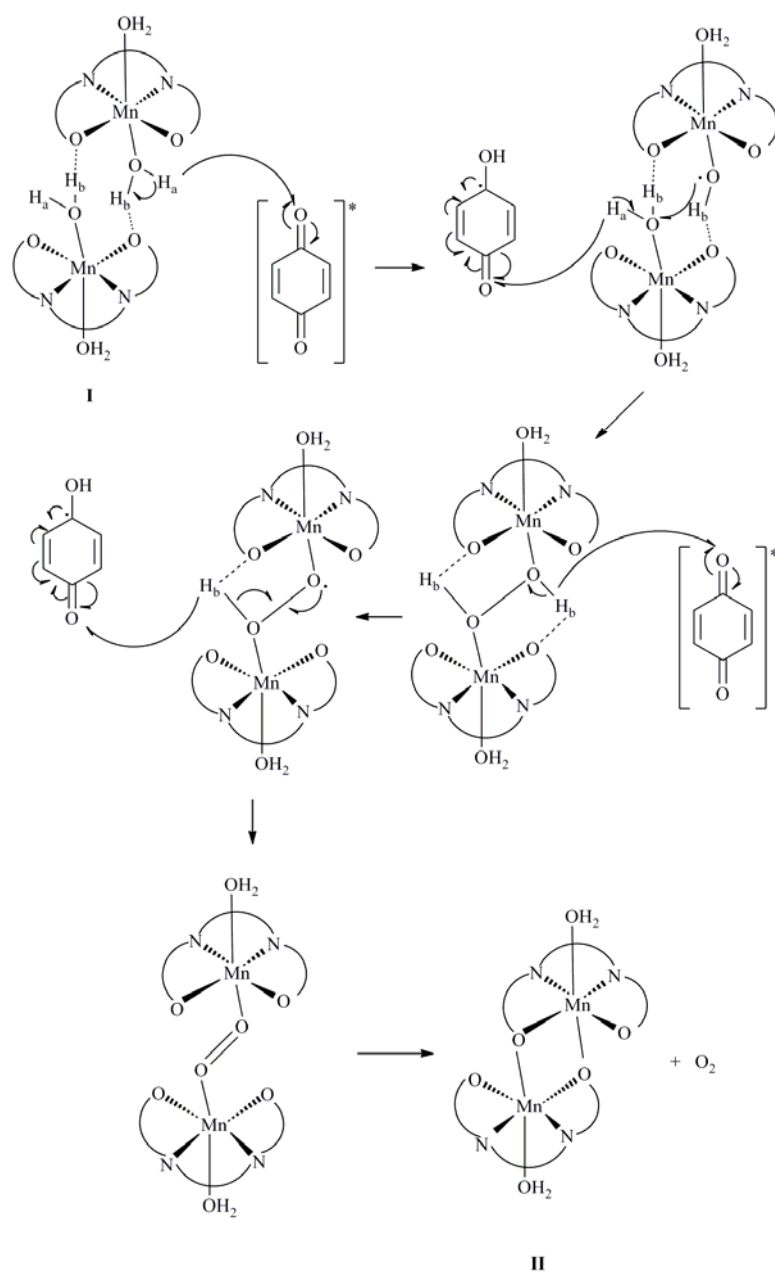


Figura 5.5. Mecanismo propuesto para la evolución de dióxígeno y conversión de I en II.

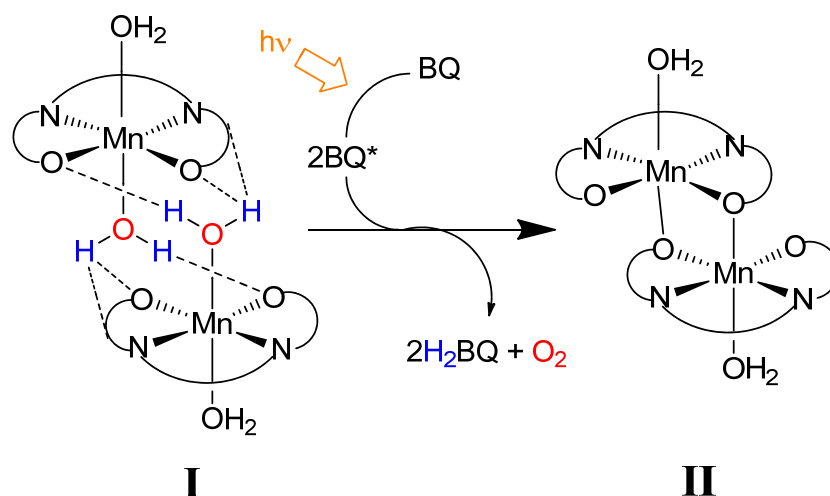


Figura 5.6. Esquema de la conversión del complejo de Mn(III) dímtero con puentes μ -aquo a dímtero con puentes μ -fenoxo.

La investigación indica la existencia de evidencias de sucesivas extracciones de hidrógeno de las moléculas de agua coordinadas al ión metálico por parte de la BQ ópticamente excitada (BQ*), pero permanece la incertidumbre sobre los complejos de manganeso intermedios que se forman durante el proceso. Para la propuesta de mecanismo, detallada en la figura 5.5, en el grupo de investigación se ha sugerido que el estado de activación podría ser un complejo transitorio de manganeso con puente de dióxígeno, el cual casi instantáneamente se descompondría para producir dióxígeno y el complejo dímtero con puentes μ -fenoxo. De hecho, se han aislado recientemente dímeros de manganeso con puentes μ_2 -oxo que podrían justificar la posibilidad de esta vía propuesta.¹⁹²

El hecho de que el dióxígeno no es liberado cuando se utiliza *tert*-butil-benzoquinona en lugar de BQ indica un requerimiento estérico para el proceso de extracción de hidrógeno. La BQ probablemente es capaz de entrar en la cavidad de coordinación de los dímeros μ -aquo, una situación que no es posible para la quinona impedida (Figura 5.7). Esta observación también reafirma la existencia de los dímeros con puentes μ -aquo en disolución.

La finalidad de nuestros estudios no es reproducir las características estructurales del CLO nativo. De todas formas, es reseñable que las características de los espectros de EPR ($g_{\text{eff}} = 8.1$ y $A_{\parallel} = 44$ G) de los complejos de Mn(III) con los imino-imino y dímeros mediante puentes μ -acuo son características muy similares a las publicadas para el Mn(III) presente en el CLO natural ($g_{\text{eff}} = 8.2$ y $A_{\parallel} = 44$ G) en el primer intermedio del cluster Mn_4 en el FSII.¹⁵⁷ Este hecho indica que los complejos miméticos que incorporan este tipo de ligandos imino-imino poseen un entorno de coordinación similar al Mn(III) del FSII, en particular una estructura hexacoordinada distorsionada mediante una elongación tetragonal o una estructura pentacoordinada distorsionada del tipo piramidal cuadrado.

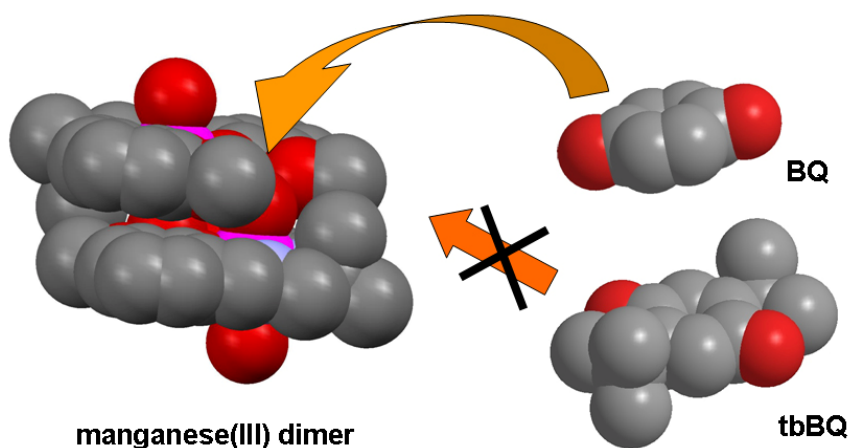


Figura 5.7. Diagramas espaciales del dímero de manganeso(III) con puentes μ -acuo, benzoquinona (BQ) y tert-butil-benzoquinona (tbBQ), mostrando la posible aproximación de BQ en la cavidad de coordinación.

El grado de elongación tetragonal también se evidencia en estado sólido por cristalografía de rayos X. Si definimos el factor de rombicidad como el radio entre la distancia manganeso-oxígeno axial y la distancia manganeso-oxígeno ecuatorial, podemos comprobar como para una veintena de complejos caracterizados por cristalografía de rayos X este factor de rombicidad presenta valores entre 1,15 y 1,27. El impedimento estérico del ligando imino-imino es decisivo para provocar esta rombicidad. Los estudios

Esta páxina non se amosa na versión reducida desta tese que está suxeita ao **“Procedemento para teses baixo protección de dereitos de propiedade industrial e/ou intelectual ou teses con cláusulas de confidencialidade”**, aprobado pola Comisión de Doutoramento da USC o 15 de abril de 2013, o cal recolle:

“Este tipo de tese formalizarase en dúas versións: a reducida, en que se eliminarán os contidos afectados polo deber de non difundir ou polo deber de segredo ou confidencialidade, e o exemplar completo, que quedará arquivado na universidade baixo compromiso de custodia e segredo”

(...)

Unha vez aprobada a tese, o exemplar reducido será o que se publique no repositorio institucional. Unha vez que se realicen as oportunas proteccións ou venza o prazo de confidencialidade, o doutorando deberá, logo de acreditar estas circunstancias, solicitar a súa substitución polo exemplar completo”

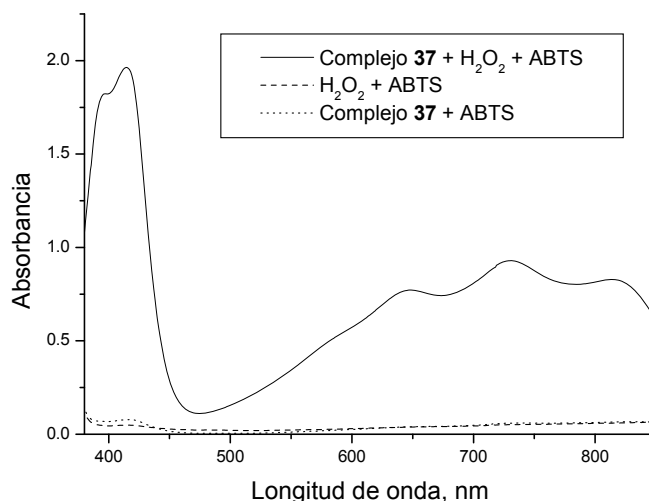


Figura 5.12. Espectros UV-Vis medidos tres minutos después de la adición en la cubeta de complejo **37** + H₂O₂ + ABTS (línea continua) y los blancos H₂O₂ + ABTS y Complejo **37** + ABTS (líneas discontinuas).

La tabla 5.7 recoge la actividad catalítica del conjunto de los complejos estudiados (el complejo **52** no tenía suficiente solubilidad para la realizar el experimento y los complejos **53-57** presentan actividad prácticamente nula), expresada tanto en porcentaje de conversión de ABTS en ABTS^{•+} como en número de ciclos catalíticos del complejo metálico. A través del valor de absorbancia obtenido en 415 nm para 100% (4,665) de la especie radical ABTS^{•+} formada se puede establecer un cálculo para obtener el % de la especie radical formada de la siguiente manera:

$$\% \text{ ABTS}^{\bullet+} = (\text{Abs.}/4,665) \cdot 100$$

Además también se establece un segundo valor de ciclos catalíticos que se obtiene del cociente entre el número de moles de la especie radical ABTS^{•+} y el número de moles de catalizador (10⁻⁸ moles). El número de ciclos indica las veces que se regenera el catalizador metálico para producir los valores que se obtienen de conversión de ABTS, lo que supone que una conversión del 100% de ABTS implica 45 ciclos catalíticos respecto de la forma monomérica del complejo de manganeso.

5. Estudios de actividad catalítica

Complejo	Actividad Peroxidasa (%)	Número de ciclos catalíticos
1 [MnL ¹ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(CH ₃ OH)	34	15
2 [MnL ¹ (H ₂ O)Cl](H ₂ O) _{2.5}	31	14
3 [MnL ¹ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)	19	8
4 [MnL ² (H ₂ O) ₂](NO ₃)(H ₂ O)	50	23
5 [MnL ³ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(CH ₃ OH)	32	14
6 [MnL ³ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)(H ₂ O)	29	13
7 [MnL ³ (H ₂ O) ₂](Cl)(H ₂ O) ₂	28	13
8 [MnL ³ (H ₂ O)(N(CN) ₂)](H ₂ O)	32	14
9 [MnL ⁴ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(CH ₃ OH)	33	15
10 [MnL ⁴ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)	61	27
11 [MnL ⁴ (H ₂ O)](Acac)	20	9
12 [MnL ¹³ (H ₂ O)](ClO ₄)	35	16
13 [MnL ¹³ (H ₂ O)](Acac)	27	12
14 [MnL ¹⁴ (H ₂ O)](ClO ₄)	19	8
15 [MnL ¹⁴ (H ₂ O)](Acac)	16	12
16 [MnL ¹⁵ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)	9	4
17 [MnL ¹⁵ (H ₂ O)](Acac)	15	7
18 [MnL ¹⁶ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)	14	6
19 [MnL ¹⁷ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)	49	22
20 [MnL ¹⁸ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)	41	18
21 [MnL ⁵ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)	30	13
22 [MnL ⁵ (H ₂ O) ₂ Cl](H ₂ O)	14	6
23 [MnL ⁶ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(H ₂ O)	24	11
25 [MnL ¹⁹ (H ₂ O)](Acac)	26	12
26 [MnL ¹⁹ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)	11	5
27 [MnL ²⁰ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)	18	8
28 [MnL ²¹ (H ₂ O) ₂](NO ₃)	49	22
31A [MnL ⁷ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(CH ₃ OH)	29	13
31B [MnL ⁷ (CH ₃ OH)(H ₂ O)](NO ₃)	29	13
32 [MnL ⁷ (H ₂ O)(OAc)](H ₂ O)	33	15
33A [MnL ⁷ (H ₂ O)(O ₂ C ₂ H ₅)]	28	13
33B [MnL ⁷ (H ₂ O)(O ₂ C ₂ H ₅)]	28	13
34 [MnL ⁷ (H ₂ O)(O ₂ C ₂ H ₅ ⁿ)]	39	18
35 [MnL ⁷ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)(H ₂ O)	23	10
36 [MnL ⁸ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(CH ₃ OH) ₂	18	8
37 [MnL ²⁴](NO ₃)(CH ₃ OH)	41	18
38 [MnL ⁹ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)(H ₂ O)	3	1
39 [MnL ⁹ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(H ₂ O) ₂	2	1
40 [MnL ¹⁰ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(CH ₃ OH)(H ₂ O)	2	1
42 [MnL ¹⁰ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)	4	2
43 [MnL ²⁵ (H ₂ O)(EtOH)](ClO ₄)	3,2	1
44 [MnL ²⁶ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)(H ₂ O)	2,4	1
45 [MnL ²⁷ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)(H ₂ O)	2,1	1
46 [MnL ¹¹ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(H ₂ O) ₂	1,1	0
47 [MnL ¹² (H ₂ O) ₂](ClO ₄)(H ₂ O) ₃	0	0
48 [MnL ¹² (H ₂ O) ₂](NO ₃)(H ₂ O) ₂	2	1
49 [MnL ²⁸ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(H ₂ O)	2	1
50 [MnL ²⁹ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)(H ₂ O)	1	0
51 [MnL ³⁰ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(H ₂ O)	0	0

Tabla 5.7. Datos de actividad peroxidasa (como porcentaje conversión ABTS) tras 10 min en las condiciones del procedimiento estándar para los distintos complejos de manganeso.

Los valores de actividad peroxidasa obtenidos varían desde el 0% al 60% de conversión de ABTS en $\text{ABTS}^{\bullet+}$. La variabilidad de resultados, que muestra desde algunos compuestos que no presentan actividad a otros que se formulan como catalizadores eficientes, se discute desde el punto de vista estructural en el apartado 5.4.2. La figura 5.13 muestra la diferente actividad peroxidasa de una serie de complejos que presentan actividad diferenciada.

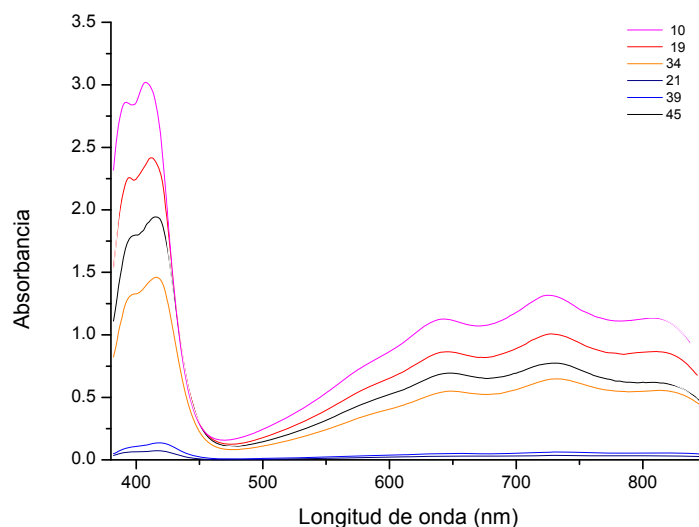
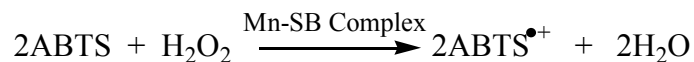


Figura 5.13. Espectros UV-Vis obtenidos en los experimentos de actividad peroxidasa para diferentes complejos (10, 19, 21, 34, 39 y 45).

5.4.2. Discusión de los factores estructurales que influyen en la actividad peroxidasa.

Uno de los objetivos de la presente tesis era intentar racionalizar el comportamiento catalítico observado en función de las características estructurales de los complejos analizados. La reducción de un mol de H_2O_2 requiere dos moles de ABTS, de acuerdo con el mecanismo:



Entre los condicionantes para que los complejos metálicos puedan comportarse como catalizadores eficientes peroxidasa está que en disolución puedan evolucionar a dímeros ya que la oxidación de hidroperóxido para generar dioxígeno implica una reacción intramolecular con la transferencia de dos electrones, la cual está prohibida para un complejo monomérico de Mn(III). En consecuencia, sólo manifestarán actividad peroxidasa aquellos complejos que presenten en disolución naturaleza dimérica de forma que puedan sufrir la reducción de dos electrones desde $\{\text{Mn}^{\text{III}}, \text{Mn}^{\text{III}}\}$ a $\{\text{Mn}^{\text{II}}, \text{Mn}^{\text{II}}\}$. En la bibliografía, sin embargo, está bastante referenciada la facilidad con la que este tipo de complejos con bases de Schiff evolucionan en disolución para formar dímeros con puentes μ -fenoxo.^{71,191,200}

El elevado número de complejos estudiados a priori permitiría establecer ciertas pautas generales aunque también lo dificulta pues aumenta la posibilidad de encontrar excepciones a esas posibles reglas. También hay que destacar que no se dispone del conocimiento exacto de la estructura de todos los complejos, la mayor parte de ellos ha sido estudiada mediante resonancia de espín electrónico y un grupo de ellos tiene resuelta su estructura cristalina mediante difracción de rayos X. Las lagunas en la determinación estructural de los complejos también dificulta el análisis de los datos con el fin de establecer qué factores estructurales influyen en la actividad peroxidasa. Ya se ha comentado que la incapacidad para formar especies diméricas en disolución es uno de los factores determinantes para limitar la capacidad catalítica, ya que imposibilita que se pueda producir la reacción de transferencia de dos electrones intramolecular en el complejo metálico.

Hechas estas consideraciones, sobre los resultados de actividad mostrados en la tabla 5.7 ya hemos indicado que arrojan un grupo de complejos que se comportan como catalizadores eficientes frente a otros que no poseen prácticamente actividad peroxidasa. En particular, aquellos complejos **38-51** con ligandos que incorporan como grupo espaciador entre los anillos salicílicos la cadena de tres o cuatro átomos de carbono entre los grupos imino (del tipo 1,3-diaminopropano o 1,4-diaminobutano) presentan, por lo general, actividades muy bajas o nulas.

Una explicación de este comportamiento puede encontrarse en las diferencias estructurales halladas entre los complejos en disolución mediante la técnica de resonancia paramagnética electrónica, manifestada en sus respectivas constantes de acoplamiento hiperfinas.^{156,168} La Figura 5.14 muestra el diferente espectro EPR de la serie de complejos con ligandos con espaciador del tipo 1,2-diiminopropano respecto a los que incorporan ligandos con espaciador del tipo 1,3-diiminopropano. La interpretación de estos resultados espectroscópicos indica la diferente tendencia a estabilizar geometrías octaédricas del tipo I (Figura 5.15).

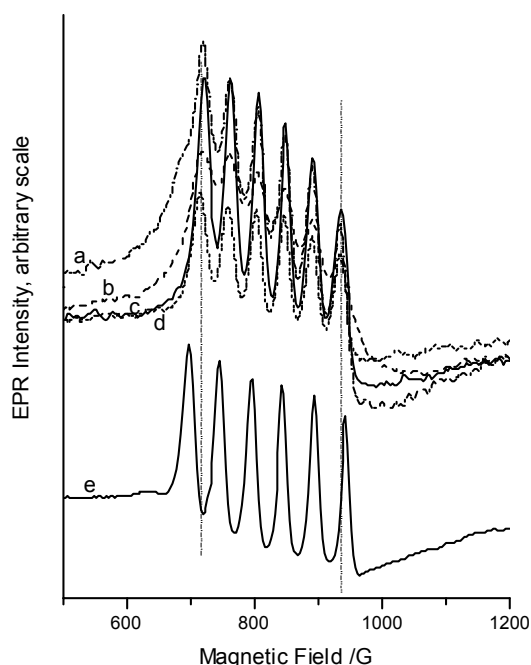


Figura 5.14. EPR en modo paralelo de complejos de Mn(III) que incorporan ligandos con espaciador del tipo 1,2-diiminopropano (espectros a, b, c, d) respecto a los que incorporan ligandos con espaciador del tipo 1,3-diiminopropano.

La cadena alquílica de tres miembros entre los grupos imino en los compuestos con espaciador del tipo 1,3-diiminopropano es más flexible y favorece una mayor estabilización del octaedro, pero los espaciadores con cadenas más cortas de dos átomos de carbono entre los grupos imino (del tipo 1,2-diiminopropano), constriñen el anillo quelato una vez que los átomos

de nitrógeno se coordinan al metal. Además, en muchos de estos tipos de ligandos, se añade un impedimento estérico debido a los grupos metilo incorporados en esta cadena. La conjunción de ambos factores afecta la estabilidad de la geometría altamente octaédrica que presentan los complejos del tipo Mn-Base de Schiff con espaciador 1,3-diaminopropano. Esta hipótesis está en concordancia con los valores de acoplamiento hiperfino $A_{||}$ de aproximadamente $56 \text{ G}^{201,202}$ para los complejos octaédricos de Mn(III) con estructura también resuelta mediante cristalografía de rayos X, mientras que el valor más pequeño de constante hiperfina, de 43 G , para los complejos con espaciadores del tipo 1,2-diaminopropano, están referenciados en la bibliografía para geometrías piramidal-cuadrada o octaédrica con elongación tetragonal.^{114,156}

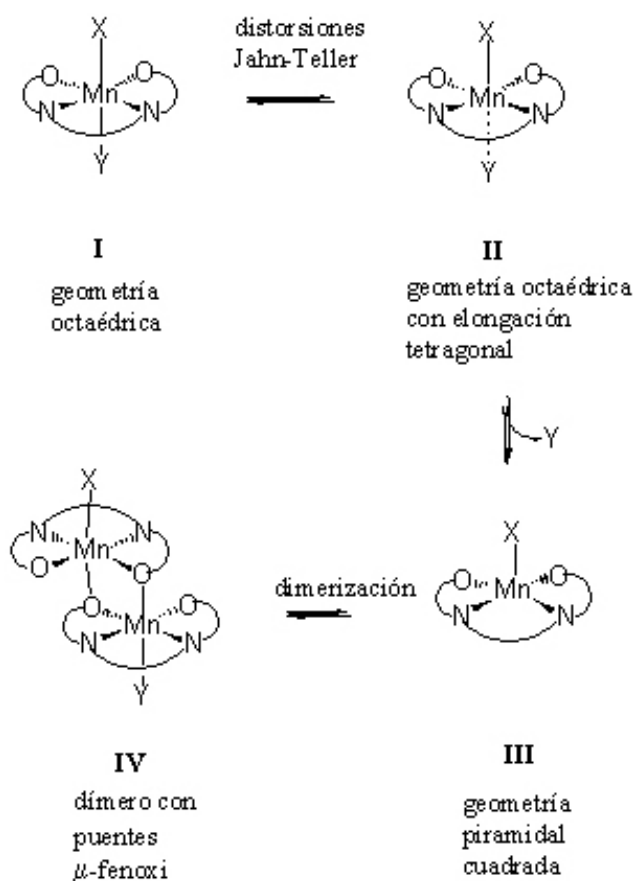


Figura 5.15. Evolución entre diferentes geometrías en el entorno del manganeso en los complejos metálicos.

Como resultado de estas consideraciones estructurales se puede proponer que los complejos con ligandos con espaciador del tipo 1,2-diaminopropano, tendrán o bien una vacante en su esfera de coordinación (geometría piramidal cuadrada) o bien un ligando lábil (geometría octaédrica con elongación tetragonal). En consecuencia, estos complejos presentarían mayor facilidad para coordinar una molécula de sustrato como el peróxido de hidrógeno.

Este comportamiento puede explicarse en disolución mediante los fenómenos de equilibrio representados en la Figura 5.15. De esta forma, este tipo complejos presentarán una mayor tendencia a coordinar la molécula de sustrato H_2O_2 y también a evolucionar a estructuras diméricas **IV** con puentes μ -fenoxo. Como la reacción de oxidación del hidroperóxido coordinado para generar O_2 debe implicar una transferencia intramolecular de dos electrones, ésta puede ser posible por reducción de los átomos de manganeso en **IV** de (III,III) a (II,II).

Por otra parte, experimentos previos con dímeros Mn(IV)-base de Schiff con puentes μ -oxo, sin posibilidad de coordinar la molécula de sustrato se comportan como catalizadores poco eficientes a pesar de su alto poder oxidante.¹¹³

Paralelamente a las consideraciones estructurales expuestas, también se ha descrito que las propiedades electroquímicas de los complejos juegan un papel determinante en la actividad peroxidasa que presentan. Los complejos con mejores propiedades catalíticas serán aquellos con un comportamiento electroquímico reversible en sus procesos redox.²⁰³

5.4.3. Estudio cinético de la reacción de catálisis peroxidasa frente ABTS.

5.4.3.1. Evolución de la reacción en el ensayo peroxidasa estándar.

Una vez realizados los ensayos de actividad peroxidasa con un número elevado de complejos siguiendo el procedimiento estándar, se pretende estudiar con mayor detalle el proceso utilizando técnicas de flujo detenido con uno de los complejos que manifestaba mayor actividad. La elevada velocidad del proceso aconseja el uso de la técnica de flujo detenido,

de forma que se reduce el tiempo muerto, o sea, el intervalo de tiempo entre el instante en que se produce la mezcla de los reactivos y el instante en el que puede iniciarse el seguimiento de la reacción por ultravioleta-visible. La técnica de flujo detenido acoplada al espectrofotómetro de ultravioleta-visible permite el seguimiento de reacciones en las que el tiempo de medida sea mucho menor que el tiempo de vida media de la reacción en estudio.

El complejo $[\text{MnL}^3(\text{N}(\text{CN})_2)(\text{H}_2\text{O})]\cdot\text{H}_2\text{O}$ presenta en el experimento con condiciones estándar una tasa de conversión ABTS en ABTS^{++} del 85 %, lo que supone un alto grado de eficiencia y de los valores más elevados de actividad peroxidasa para el conjunto de complejos estudiados en el grupo de investigación. Dicha tasa de conversión catalítica implica 39 ciclos catalíticos. Este procedimiento estándar implicaba el uso de 50000 equivalentes de peróxido de hidrógeno sobre la cantidad de complejo utilizada. La figura 5.16 muestra la evolución de la absorbancia observada a 415 nm en función del tiempo cuando se realiza el experimento en las condiciones descritas para la prueba estándar. El análisis de esta gráfica nos muestra que:

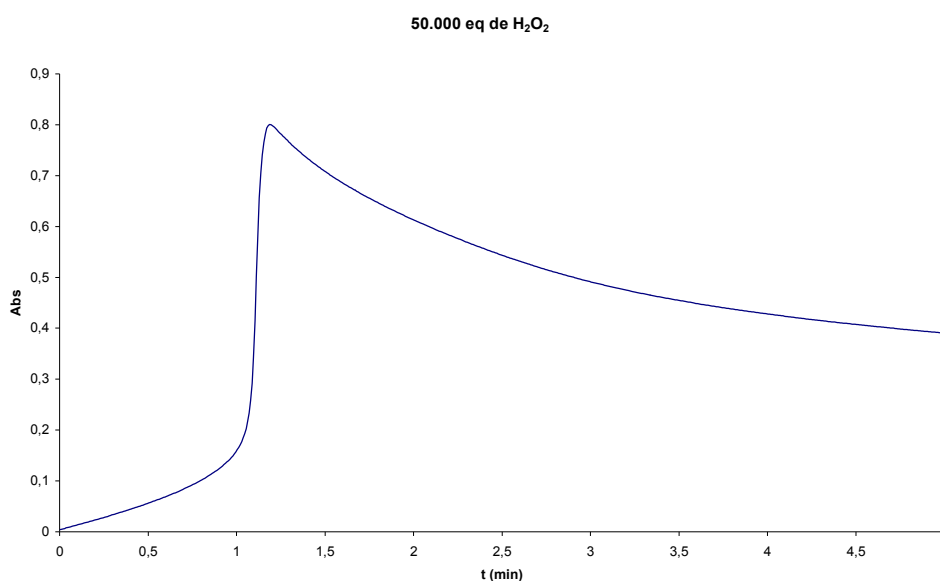


Figura 5.16. Evolución de la absorbancia a 415 nm en función del tiempo para la prueba de peroxidasa en condiciones estándar (50000 equivalentes de H_2O_2 respecto al complejo catalítico $[\text{MnL}^3(\text{N}(\text{CN})_2)(\text{H}_2\text{O})]\cdot\text{H}_2\text{O}$).

- i) la alta tasa de conversión de ABTS en ABTS^{•+} se alcanza en un tiempo 1 min y 15 s;
- ii) El radical ABTS^{•+} se descompone parcialmente en el medio de reacción, provocando el descenso de la absorbancia observada en función del tiempo; dicho descenso es evidente a partir de 1 min 15 s, pero probablemente se inicia en tiempos menores de forma que enmascara la actividad peroxidasa medida del complejo $[\text{MnL}^3(\text{N}(\text{CN})_2)(\text{H}_2\text{O})]\cdot\text{H}_2\text{O}$, que debe ser mayor incluso de la observada;
- iii) La actividad catalítica se concentra en los primeros 75 s de reacción y se pueden observar dos etapas diferenciadas: hay un aumento progresivo de la absorbancia desde el inicio de la reacción a velocidad observada de $1,61\cdot 10^{-5}\text{M}\cdot\text{min}^{-1}$, que a tiempos próximos al minuto se acelera bruscamente a velocidad observada de $1,46\cdot 10^{-3}\text{M}\cdot\text{min}^{-1}$. Este comportamiento corresponde con procesos autocatalíticos provocados por la formación *in situ* de una especie con capacidad catalítica mayor que el complejo de partida;

5.4.3.2. Estudio del ensayo peroxidasa variando la concentración de peróxido.

El análisis del seguimiento de la absorbancia a 415 nm en función del tiempo en el procedimiento estándar conduce a realizar el ensayo peroxidasa a diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno con el fin de estudiar cinéticamente el proceso y determinar la ecuación general de velocidad.

La figura 5.17 muestra la evolución de la absorbancia que se sigue para monitorizar la reacción para diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno, manteniendo estable la concentración de complejo.

Se puede observar que la velocidad de formación y descomposición de ABTS oxidado varía con la concentración de peróxido de hidrógeno, pero no sigue una tendencia ordenada. La catálisis es más lenta con 200 equivalentes de H_2O_2 , de forma que el máximo de conversión se alcanza después de los dos minutos con esta cantidad de oxidante, la reacción se

5. Estudios de actividad catalítica

acelera con 1000 equivalentes y, significativamente, con 5000 equivalentes, puesto que se alcanza el máximo de conversión en 20 segundos. Sin embargo, las catálisis con 10000 y 50000 equivalentes vuelven a ralentizarse con respecto a la obtenida con el uso de 5000 equivalentes de peróxido de hidrógeno.

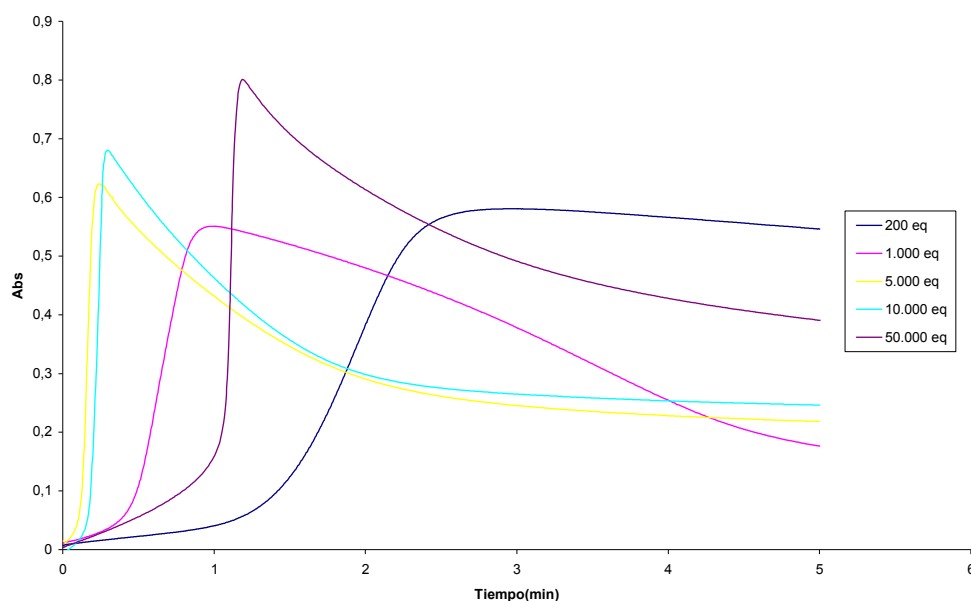


Figura 5.17. Evolución de la absorbancia a 415 nm en función del tiempo para la prueba de peroxidasa en diferentes condiciones, variando la concentración de peróxido de hidrógeno para utilizar un número de equivalentes (50000, 10000, 5000, 1000 y 200) de este oxidante con respecto a los moles de complejo catalítico $[MnL^3(N(CN)_2)(H_2O)] \cdot H_2O$.

El análisis de estos resultados indica que:

- i) en todos los experimentos variando el número de equivalentes de peróxido con respecto al H_2O_2 de partida se puede observar una primera etapa inicial de incremento paulatino de la absorbancia a 415 nm debido a la formación de $ABTS^{*+}$; una segunda etapa más rápida con un brusco aumento de la absorbancia, y una tercera etapa de descomposición parcial del $ABTS^{*+}$;

- ii) los máximos de absorbancia y los tiempos correspondientes a cada una de las etapas varían y lo hacen sin seguir una tendencia coherente con un aumento de la concentración del oxidante, por lo que se puede deducir que el proceso catalítico es complejo, se generan especies intermedias que a su vez catalizan este proceso y se generan diferentes cinéticas en función de las cantidades iniciales de peróxido añadido;
- iii) la dificultad y complejidad del proceso catalítico aconsejan el uso del método de las velocidades iniciales para el estudio cinético, de esta forma se puede establecer la cinética de la reacción entre el complejo de partida y el peróxido de hidrógeno, evitando complicaciones derivadas de reacciones secundarias;
- iv) la probable concatenación de procesos también aconseja el estudio de la evolución de la reacción entre el complejo $[\text{MnL}^3(\text{N}(\text{CN})_2)(\text{H}_2\text{O})]\cdot\text{H}_2\text{O}$ y el peróxido de hidrógeno por diferentes técnicas con la intención de poder identificar las especies que se generan.

5.4.3.3. Estudio de la reacción entre el complejo $[\text{MnL}^3(\text{N}(\text{CN})_2)(\text{H}_2\text{O})]\text{H}_2\text{O}$ y H_2O_2 .

Se realizó el estudio de la reacción entre el complejo $[\text{MnL}^3(\text{N}(\text{CN})_2)(\text{H}_2\text{O})]\cdot\text{H}_2\text{O}$ y el peróxido de hidrógeno en ausencia de ABTS. Las técnicas más inmediatas que se utilizaron fueron las medidas de conductividad en función del tiempo y el seguimiento del espectro UV-Vis del complejo.

Tal y como se puede observar en la Fig. 5.18 se obtuvieron tres tendencias distintas:

1. Cuando el número de equivalentes de H_2O_2 con respecto al complejo es menor que 1, se observa que la conductividad permanece casi invariable en el tiempo.
2. Con un número de equivalentes de H_2O_2 intermedio, entre 100 y 600 equivalentes, hay un aumento intermedio de la conductividad.

3. A partir de 2.500 equivalentes de H_2O_2 se produce un aumento brusco de la conductividad.

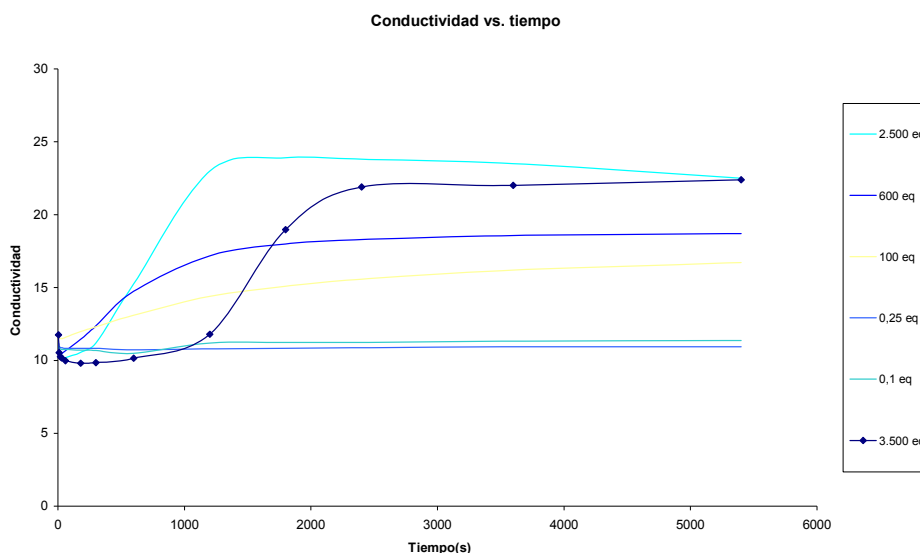


Fig. 5.18. Tendencias de la conductividad para el complejo **8** a distinto número de equivalentes de peróxido de hidrógeno frente al tiempo.

El estudio por espectrometría UV-Vis de la reacción entre el complejo y el peróxido de hidrógeno utilizando diferente número de equivalentes muestra la desaparición progresiva de la banda del complejo a medida que aumentamos el número de equivalentes de H_2O_2 por encima 1. Sin embargo cuando utilizamos un número de equivalentes inferior a 1, la banda del complejo permanece prácticamente invariable lo que indica la estabilidad del complejo para estas condiciones.

De este comportamiento podemos deducir que el potencial uso de este complejo como catalizador en procesos miméticos de la peroxidasa (frente otros sustratos como diversos alcoholes o la lignina) se debería ensayar con cantidades de peróxido de hidrógeno que no superen en el medio de reacción 1 equivalente del complejo, de forma que el complejo catalice la oxidación del sustrato en presencia del oxidante (H_2O_2 , que se consume durante la catálisis) pero quede preservado para continuar la acción catalítica al añadir sucesivas dosis de oxidante.

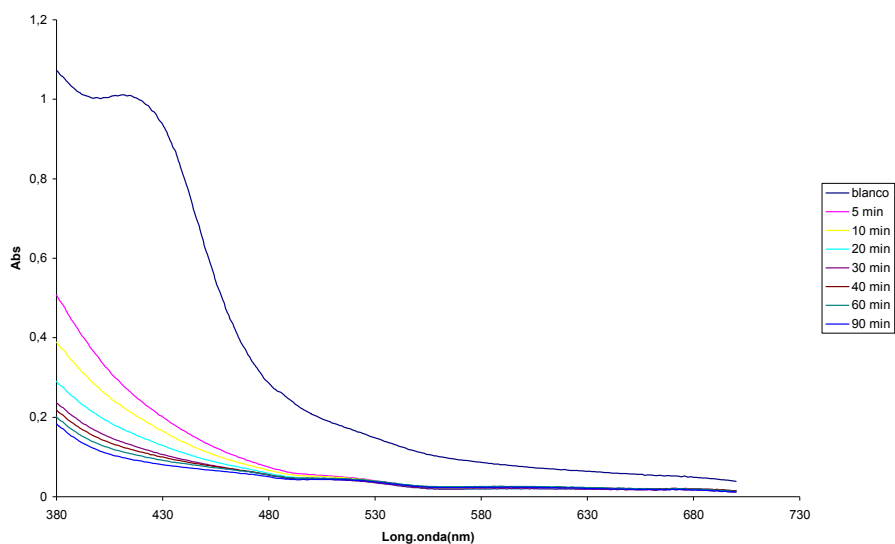


Fig. 5.19. Espectro UV-Vis para el complejo **8** con 3.500 eq H_2O_2 .

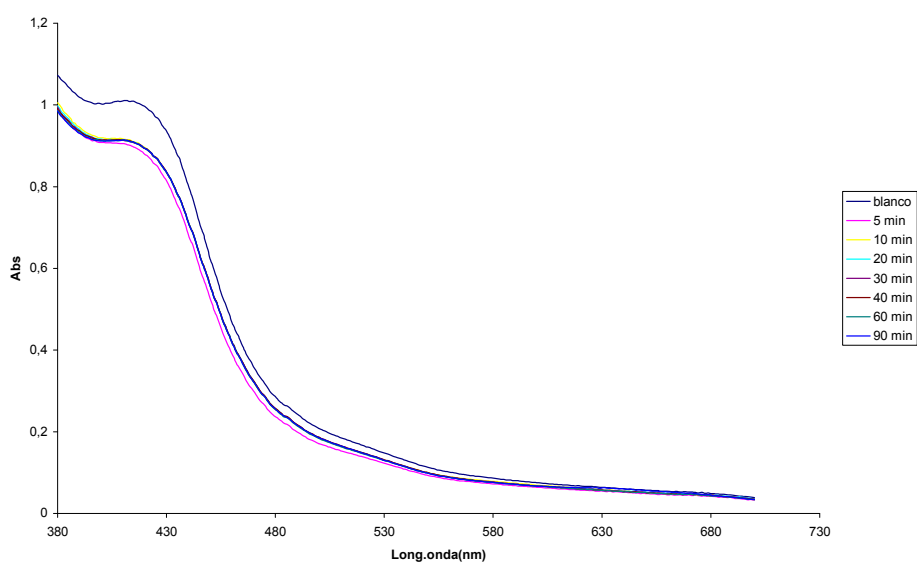


Fig. 5.20. Espectro UV-Vis para el complejo **8** con 0,25 eq H_2O_2 .

5.4.3.4. Estudio cinético por el método de las velocidades iniciales.

Se utiliza el método de velocidades iniciales cuando se pretende evitar complicaciones debidas a la presencia de reacciones secundarias.

5. Estudios de actividad catalítica

Dicho método consiste en el cálculo de la velocidad al inicio de la reacción, para ello se representa la concentración en función del tiempo para la serie de concentraciones iniciales conocidas y se calcula la tangente en el comienzo de la reacción. Ésta corresponde a la velocidad inicial para esa concentración inicial en particular. La tabla 5.8 recoge los datos obtenidos para las concentraciones iniciales de peróxido indicadas en la segunda columna. Las concentraciones del complejo y del ABTS iniciales no varían y son las mismas que las descritas para el procedimiento general.

En la tabla 5.8 se puede apreciar que aunque se disminuya considerablemente el número de equivalentes de H_2O_2 no va a repercutir de forma drástica en el número de ciclos catalíticos, sin embargo en la conversión sí se observa un descenso de la misma, aunque se mantiene dentro de unos porcentajes elevados.

Num.equivalentes H_2O_2	Concentración H_2O_2	Conversión	Abs	Número de ciclos catalíticos
100	3,34E-04	64,77	0,604	29
150	5,01E-04	62,92	0,587	28
200	6,68E-04	64,17	0,599	29
400	1,34E-03	59,57	0,556	27
500	1,67E-03	58,52	0,546	26
750	2,51E-03	58,00	0,541	26
1000	3,34E-03	57,46	0,536	26
2500	8,35E-03	61,47	0,574	28
5000	1,67E-02	61,26	0,572	28
10000	3,34E-02	73,00	0,681	33
15000	5,01E-02	71,24	0,665	32
25000	8,35E-02	74,33	0,693	33
100000	3,34E-01	95,86	0,894	43

Tabla 5.8. Conversión y número de ciclos catalíticos a distintas concentraciones de peróxido de hidrógeno.

Se calcularon las velocidades iniciales manteniendo invariable la concentración de H_2O_2 y ABTS pero modificando la concentración inicial de complejo catalítico, según los valores indicados en la primera columna de la tabla 5.9. Se puede apreciar que aunque se disminuya considerablemente la

5. Estudios de actividad catalítica

concentración del complejo, no va a repercutir de forma drástica en la conversión, sin embargo el número de ciclos catalíticos se verá afectado de forma drástica.

Concentración complejo	Conversión	Abs	Número de ciclos catalíticos
2,50E-04	83,34	0,778	150
5,00E-04	82,04	0,765	74
7,50E-04	84,4	0,787	51
1,00E-03	85,71	0,800	39
2,00E-03	88,42	0,825	20
3,00E-03	93,56	0,873	14
4,00E-03	88,33	0,824	10
5,00E-03	96,37	0,899	9
1,00E-02	94,8	0,884	4

Tabla 5.9. Conversión y número de ciclos catalíticos a distintas concentraciones de complejo.

En la tabla 5.10 se representa la velocidad inicial de formación de ABTS oxidado ($M \cdot \text{min}^{-1}$) a distintas concentraciones de H_2O_2 (M).

Concentración H_2O_2 (M)	Velocidad inicial ($M \cdot \text{min}^{-1}$)
0,000085	$2,77 \cdot 10^{-7}$
0,000136	$2,72 \cdot 10^{-7}$
0,000204	$4,13 \cdot 10^{-7}$
0,000274	$4,32 \cdot 10^{-7}$
0,0033	$8,93 \cdot 10^{-7}$
0,00833	$9,51 \cdot 10^{-6}$
0,017	$2,98 \cdot 10^{-5}$
0,033	$3,15 \cdot 10^{-5}$
0,05	$5,98 \cdot 10^{-5}$
0,0833	$4,91 \cdot 10^{-5}$

Tabla 5.10. Velocidades iniciales ($M \cdot \text{min}^{-1}$) a distintas concentraciones de peróxido de hidrógeno (M).

En la tabla 5.11 se representa la velocidad inicial de formación de ABTS oxidado ($\mu M \cdot h^{-1}$) a distintas concentraciones de H_2O_2 (μM) y sus correspondientes logaritmos en base 10.

Concentración H ₂ O ₂ (μM)	Velocidad inicial (μM.h ⁻¹)	Log[H ₂ O ₂]	Log(v _i)
85	16,63	1,93	1,10
136	16,29	2,13	1,81
204	24,80	2,31	1,39
274	25,91	2,44	1,41
3.300	53,55	3,51	2,67
8.330	570,74	3,92	2,73
17.000	1785,79	4,23	3,22
33.000	1889,28	4,52	3,27
50.000	3590,35	4,70	3,55
83.300	2944,82	4,92	3,46

Tabla 5.11. Relación de la concentración de peróxido de hidrógeno (μM) y su correspondiente velocidad inicial (μM.h⁻¹) con los logaritmos de los mismos.

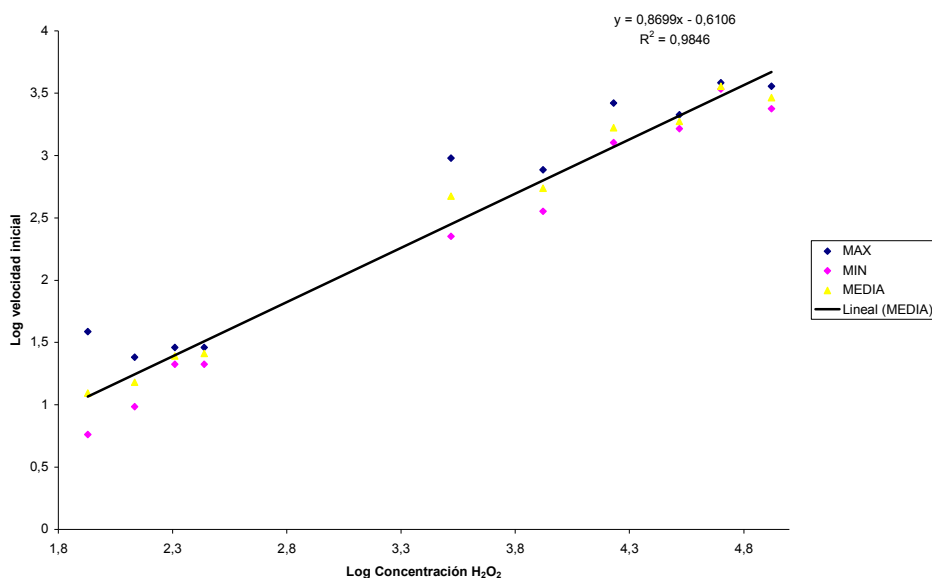


Figura 5.21. Representación gráfica del Logaritmo de la velocidad inicial de formación del ABTS oxidado con el Logaritmo de la concentración de peróxido de hidrógeno.

En la Fig. 5.21 se representa el logaritmo de la velocidad inicial de formación del ABTS oxidado frente al logaritmo de la concentración de peróxido de hidrógeno. Trazando la recta de regresión se obtiene una pendiente de 0,8699 y una ordenada en el origen de 0,6106. Con esto, y teniendo en cuenta que todos los datos calculados en la recta de regresión están en unidades logarítmicas, obtendremos v_0 (velocidad inicial de

5. Estudios de actividad catalítica

oxidación de ABTS) = $4,079 \mu\text{M} \cdot \text{h}^{-1}$ (puesto que $\log(v_0) = 0,6106$) y n (orden de reacción) = $0,8699$

En la tabla 5.12 se representa la velocidad inicial de formación de ABTS oxidado ($\text{M} \cdot \text{min}^{-1}$) a distintas concentraciones de complejo (M).

Concentración de complejo (M)	Velocidad inicial ($\text{M} \cdot \text{min}^{-1}$)
0,00025	$7,825 \cdot 10^{-6}$
0,0005	$1,26 \cdot 10^{-5}$
0,00075	$1,56 \cdot 10^{-5}$
0,001	$1,74 \cdot 10^{-5}$
0,002	$3,11 \cdot 10^{-5}$
0,003	$4,37 \cdot 10^{-5}$
0,004	$6,62 \cdot 10^{-5}$
0,005	$7,61 \cdot 10^{-5}$

Tabla 5.12. Velocidades iniciales a distintas concentraciones complejo.

En la tabla 5.13 se representa la velocidad inicial de formación de ABTS oxidado ($\mu\text{M} \cdot \text{h}^{-1}$) a distintas concentraciones de complejo (μM) y sus correspondientes logaritmos en base 10.

Concentración de complejo (μM)	Velocidad inicial ($\mu\text{M} \cdot \text{h}^{-1}$)	Log[complejo]	Log[v_i]
250	469,50	2,40	2,67
500	758,00	2,70	2,87
750	936,75	2,88	2,97
1.000	1044,00	3	2,02
2.000	1867,61	3,30	3,27
3.000	2620,20	3,48	3,42
4.000	3970,97	3,60	3,60
5.000	4564,20	3,70	3,66

Tabla 5.13. Relación de la concentración de complejo y su correspondiente velocidad inicial con los logaritmos de los mismos.

En la Fig. 5.22 se representa el logaritmo de la velocidad inicial de formación del ABTS oxidado frente al logaritmo de la concentración de complejo. Trazando la recta de regresión se obtiene una pendiente de $0,763$ y una ordenada en el origen de $0,7968$. Con esto, y teniendo en cuenta que todos los datos calculados en la recta de regresión están en unidades

logarítmicas, obtendremos v_0 (velocidad inicial de oxidación de ABTS) = 6,26 $\mu\text{M} \cdot \text{h}^{-1}$ y n (orden de reacción) = 0,763.

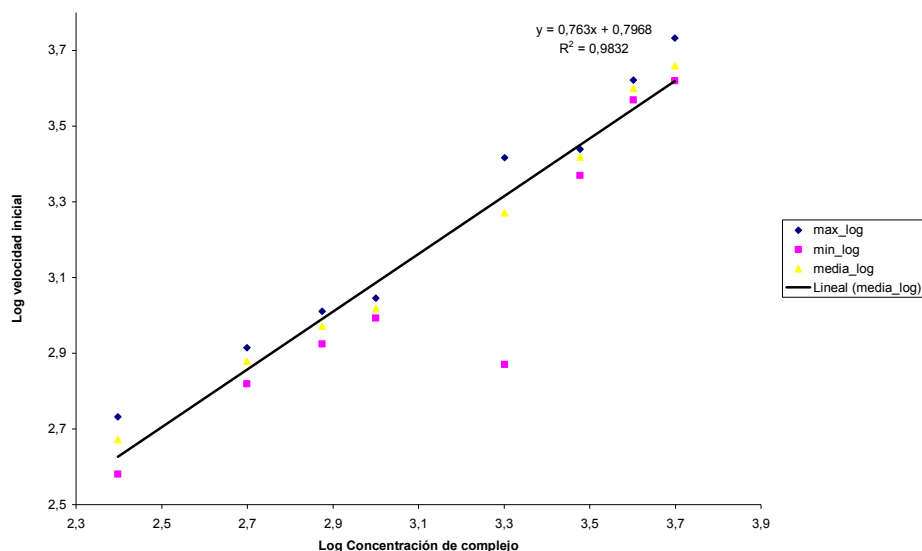
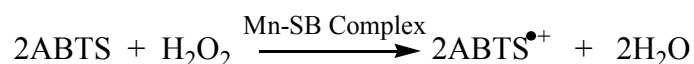


Fig. 5.22. Representación gráfica del Logaritmo de la velocidad inicial de formación del ABTS oxidado con el Logaritmo de la concentración de complejo.

5.4.3.5. Propuesta de mecanismo.

La reducción de un mol de H_2O_2 requiere dos moles de ABTS, de acuerdo con el mecanismo:



Uno de los condicionantes para que los complejos metálicos puedan comportarse como catalizadores eficientes peroxidasa es que en disolución puedan evolucionar a dímeros ya que la oxidación de hidroperóxido para generar dióxígeno implica una reacción intramolecular con la transferencia de dos electrones, la cual está prohibida para un complejo monomérico de Mn(III). En consecuencia, sólo manifestarán actividad peroxidasa aquellos complejos que presenten en disolución naturaleza dimérica de forma que puedan sufrir la reducción de dos electrones desde $\{\text{Mn}^{\text{III}}, \text{Mn}^{\text{III}}\}$.

5. Estudios de actividad catalítica

El complejo $[\text{MnL}^3(\text{N}(\text{CN})_2)(\text{H}_2\text{O})]\cdot\text{H}_2\text{O}$ se estabiliza en disolución en un dímero μ -aquo a través de interacciones supramoleculares que incluyen los enlaces de hidrógeno entre los grupos metoxi de los compartimentos exteriores del ligando y las aguas axiales enlazadas al ión metálico vecino. Será esta especie la que puede comenzar la catálisis al coordinarse una molécula de sustrato (H_2O_2) que desplaza a otra molécula de agua lábilmente coordinada.

El ión peróxido se enlaza al ión metálico vecino, puenteando los iones $\text{Mn}(\text{III})$, previamente a la oxidación de los centros metálicos. El dímero resultante $\text{Mn}(\text{IV})\text{-Mn}(\text{IV})$ podría aún incorporar otra molécula de H_2O_2 para regenerar la especie $\text{Mn}(\text{IV})\text{-Mn}(\text{IV})$ con puente peroxo que sería la especie oxidante que catalizaría la oxidación de ABTS. El mecanismo propuesto se muestra en la figura 5.23.

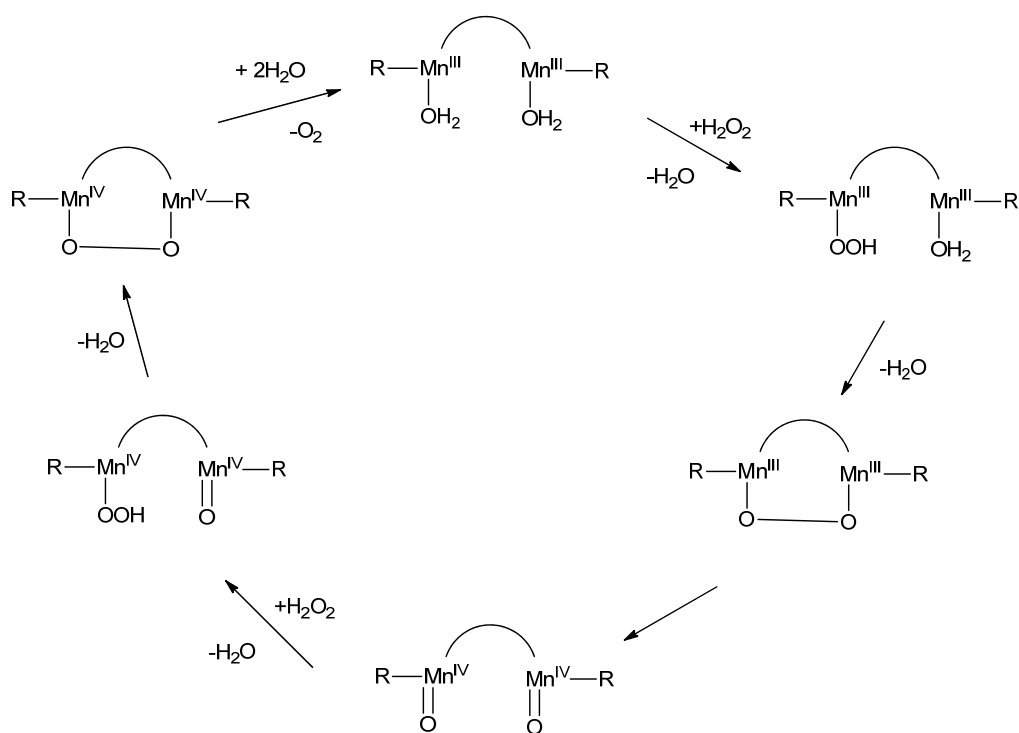


Figura 5.23. Mecanismo de catálisis propuesto para la actividad peroxidasa.

5.5. Oxidación de modelos de la lignina. Oxidación de veratril alcohol.

Se procedió al estudio de la oxidación de lignina utilizando varios de los complejos con más actividad peroxidasa incluidos en el proyecto según los procedimientos descritos en las secciones 3.7.4 y 3.8.

Como modelo de lignina se utilizó veratril alcohol (3,4-dimetoxi-benzil alcohol; ver Figura 5.24),²⁰⁴⁻²⁰⁵ líquido viscoso y transparente, miscible con agua. Este sustrato es idóneo para nuestros experimentos ya que el producto oxidado veratril aldehído absorbe fuertemente a 310 nm ($\epsilon = 9300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$),²⁰⁶ de forma que el proceso puede seguirse espectroscópicamente.

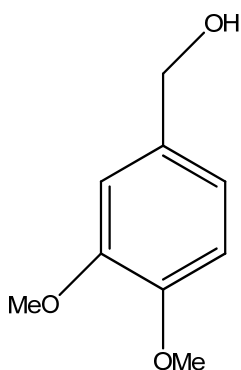


Figura 5.24. Estructura del veratril alcohol.

La reacción que tiene lugar en el proceso de oxidación de veratrilalcohol a veratrilaldehído podría describirse:

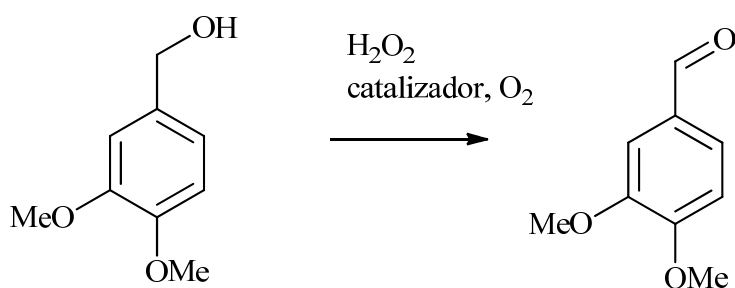


Figura 5.25. Reacción de oxidación de veratril alcohol a veratril aldehído.

5.5.1. Oxidación con peróxido de hidrógeno.

Los estudios de oxidación se han realizado en presencia y en ausencia de corriente de aire con la intención de comprobar el efecto de la atmósfera saturada de oxígeno molecular en el proceso. El dióxígeno es una elección atractiva al tratarse de un oxidante barato para los procesos industriales. Además el dióxígeno puede considerarse como no nocivo medioambientalmente, puesto que los productos secundarios de su oxidación son agua y peróxido de hidrógeno.²⁰⁷

El veratril aldehído producido en la reacción ha sido aislado y purificado. Posteriormente se ha realizado su identificación por RMN de ¹H, confirmándose la ausencia de la señal del protón metilénico a 4,61 ppm, originariamente en el veratril alcohol, así como la aparición de una nueva señal a 9,62 ppm correspondiente al aldehído. La reacción de control bajo las mismas condiciones sin catalizador no ha generado ninguna fracción de veratril aldehído.

Los resultados de la oxidación de veratril alcohol a veratril aldehído se muestran en la figura 5.26. La actividad de los catalizadores **1**, **8**, **12**, **13**, **43** y **46** disminuye conforme aumenta la longitud de la cadena alquílica puente entre los grupos imino de la base de Schiff.

Los complejos **8**, **12** y **13** se comportan como mejores catalizadores en este proceso. La explicación de este comportamiento ya ha sido mencionada en el apartado de discusión de la actividad peroxidasa para estos complejos (apartado 5.4): la cadena corta de dos carbonos entre los grupos imino constriñe el anillo quelato que se forma en el complejo de coordinación y ello conduce a una geometría octaédrica con elongación tetragonal. Con este tipo de disposición distorsionada, la molécula de agua axial constituye un ligando lábil que puede generar una posición vacante en la esfera de coordinación del manganeso en la cual se puede acomodar la molécula de sustrato. Por otra parte, la cadena alquílica entre grupos imino de mayor longitud para los complejos **43** y **46** favorece una mejor estabilización de geometrías octaédricas con mayor simetría, en las cuales la generación de la vacante es más difícil. La actividad catalítica del complejo **1**, intermedia entre estos dos grupos de complejos, puede deberse a sus

potenciales más negativos observados en los estudios electroquímicos previos para este complejo.¹⁶⁸

Las conversiones cercanas al 30% fueron obtenidas a 22°C, con corriente de aire durante 10 h utilizando el catalizador 8 y tres equivalentes de peróxido de hidrógeno con respecto al sustrato. Estas son condiciones suaves comparadas con las usadas experimentalmente por otros autores,^{204,208} que consiguen rendimientos similares con catalizadores diferentes utilizando altas temperaturas y presiones muy elevadas. Además, la mayoría de estas catálisis homogéneas con catalizadores que incorporan metales de transición se realizaron en disolventes orgánicos,^{209,210} siendo reducido el número conocido de catalizadores activos en agua.¹⁰⁴

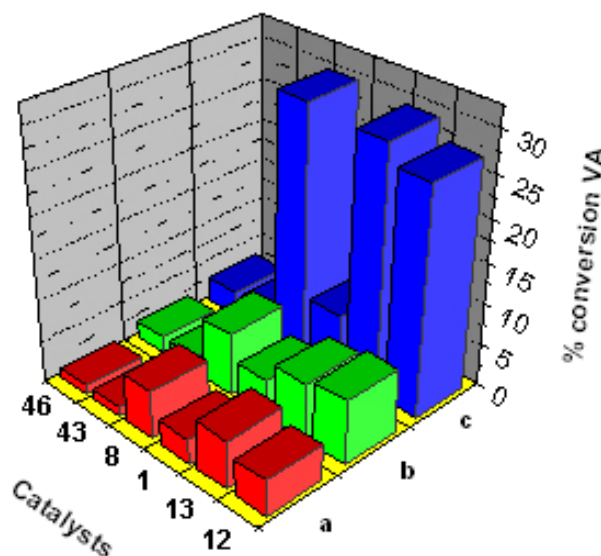


Figura 5.26. Conversiones de veratril alcohol a veratril aldehído catalizadas por los complejos 1, 12, 13, 43 y 46 a 22 °C utilizando 3 equivalentes de H₂O₂ y diferentes condiciones experimentales: a) sin corriente de aire, 10 h; b) con corriente de aire, 3h; c) con corriente de aire, 10 h.

No se ha observado ninguna conversión en ausencia de catalizador ni en ausencia de peróxido de hidrógeno. La corriente de aire se ha mostrado como crucial para incrementar el rendimiento, aunque se ha alcanzado una

degradación del 7% de veratril alcohol en ausencia de esta corriente. Sin embargo, la presencia tanto del catalizador como del oxidante H_2O_2 es necesaria para observar alguna conversión de veratril alcohol. Este comportamiento sugiere que el peróxido de hidrógeno induce la oxidación del catalizador en una especie catalíticamente más activa, como podría ser un dímero $[\text{Mn}^{\text{IV}}=\text{O}]_2$, la cual posteriormente degrada el veratril alcohol en presencia de oxígeno.

5.5.2. Oxidación con corriente eléctrica.

Se realizaron diversos experimentos de oxidación con corriente eléctrica utilizando diferentes voltajes y también diferentes compuestos catalizadores. Los ensayos para determinar las condiciones de catálisis óptimas se realizaron inicialmente con los complejos **5** y **8**.

t (min)	Complejo 8. Condiciones de oxidación: punta de espátula de NaCl; 23 °C; agua destilada					
	Conversión (%)					
	1% complejo			sin complejo		
	2V	4V	10V	2V	4V	10V
30	0,6	2,7	2,0	0,05	7,8	4,3
60	1,4	4,7	5,1	0,7	18,1	6,1
90	1,9	7,7	7,8	0,8	29,4	8,7
120	2,5	9,8	9,9	1,0	39,2	11,1
300	6,0	14,8	22,4	2,4	95,0	25,3
360	6,8	19,4	24,8	2,8	sat.	29,9
480	9,6	25,4	32,8	3,5	sat.	38,5

Tabla 5.14. Porcentajes de conversión en la oxidación de veratril alcohol con corriente eléctrica de 2 V, 4V y 10 V en presencia y ausencia del complejo **8** a 23 °C en medio acuoso con corriente de aire al que se añade previamente una punta de espátula de NaCl. La saturación de la señal del espectro UV-Vis del veratril aldehído utilizada para cuantificar el porcentaje de conversión se indica con "sat."

5. Estudios de actividad catalítica

En primer lugar se realizó un estudio de la oxidación a diferentes voltajes (2 V, 4 V y 10 V) utilizando como catalizador el complejo **8** y añadiendo a la disolución una pequeña cantidad (punta de espátula) de cloruro sódico para facilitar el paso de corriente eléctrica a través de la mezcla. Se obtuvieron los datos que figuran en la tabla 5.14 en la que se observan los valores de conversión elevados que se obtienen sin presencia de catalizador para las condiciones de oxidación utilizadas.

La existencia de algún dato anómalo hizo valorar la posibilidad de que la cantidad de sal podía influir en los resultados finales, y de acuerdo con esto se hizo un estudio sobre la influencia del NaCl en la reacción. Se decidió que uno de los experimentos se realizara con 2,1 g NaCl, para así lograr una concentración de sal similar a la del agua marina (que se suele utilizar en la industria del papel), y se compararon los resultados con los de otro experimento en las mismas condiciones, pero con 0,44 g de sal. Los resultados obtenidos figuran en la tabla 5.15.

t (min)	Complejo 5.			
	Condiciones de oxidación: 4 voltios; 23 °C; agua destilada			
	Conversión (%)			
	0,44 g NaCl		2,1 g NaCl	
	0 % complejo	1 % complejo	0 % complejo	1 % complejo
15	6,1	4,5	5,2	5,7
30	9,0	7,7	8,8	9,8
60	15,5	14,0	17,7	19,2
90	22,0	19,0	27,5	27,8
120	26,9	24,5	35,3	35,0
300	-	-	32,9	31,7
360	-	-	30,9	31,2

Tabla 5.15. Porcentajes de conversión en la oxidación de veratril alcohol con corriente eléctrica de 4V en presencia y ausencia del complejo 5 a 23 °C en medio acuoso con corriente de aire al que se añade previamente 0,44 g o 2,1 g de NaCl.

Se llegó a la conclusión de que la cantidad de NaCl tiene una elevada influencia en la reacción, aumentando considerablemente el rendimiento del proceso. Así se decidió fijar un valor constante de 2,1 g de sal para los experimentos siguientes, al ser la cantidad correspondiente a la concentración media de agua del mar.

Los resultados del primer estudio de la oxidación a distintos voltajes nos mostraron que el proceso a 4 V produce conversiones significativamente mejores que a 2 V en todos los casos. Sin embargo a 10 V, aunque en algún caso obtenemos mejores resultados que para 4 V, en líneas generales son semejantes o incluso peores y desde luego no sería justificable utilizar más del doble de voltaje para una ínfima posible mejoría.

Teniendo en cuenta los anteriores resultados hacemos un estudio del proceso a 2 V, 3 V y 4 V, con experimentos a distinta temperatura (23 °C, 40 °C y 50 °C) y una cantidad constante de 2,1 g NaCl, obteniendo los resultados que se recogen en la Tabla 5.16.

Complejo 5 (1 %). Condiciones de oxidación: 2,1 g NaCl; agua destilada Conversión (%)								
t (min)	2V 23 °C	3V 23 °C	4V 23 °C	2V 40 °C	3V 40 °C	4V 40 °C	2V 50 °C	2V 50 °C blanco
15	2,5	4,2	5,6	5,3	7,3	20,6	5,6	16,2
30	5,5	9,6	10,5	10,1	12,6	35,2	12,4	23,4
60	10,7	18,1	22,2	19,3	21,4	43,0	26,8	-
90	15,9	25,7	31,4	30,6	29,6	dismin.	41,6	-
120	21,4	32,9	39,3	40,1	37,0	-	51,6	69,5
300	40,4	51,9	75,3	-	-	-	sat.	sat.
360	46,4	58,8	sat.	-	-	-	-	-
480	56,2	68,3	-	-	-	-	-	-

Tabla 5.16. Porcentajes de conversión en la oxidación de veratril alcohol con corriente eléctrica de 2V, 3V y 4V en presencia del complejo 5 a distintas temperaturas en medio acuoso con corriente de aire al que se añade previamente 2,1 g de NaCl.

5. Estudios de actividad catalítica

A la vista de los datos obtenidos fijamos el valor de 4 V como el voltaje más adecuado para lograr un buen rendimiento en nuestro proceso.

En lo referente a la temperatura observamos, como podríamos esperar, que en las pruebas a 40 °C obtenemos rendimientos significativamente mejores que en las de 23 °C. En los experimentos a 50 °C la conversión es todavía un poco superior a los de 40 °C pero consideramos que este aumento de temperatura repercute de forma importante en el coste del proceso mientras que en rendimiento, pese a aumentar, lo hace en menor medida, lo que significaría una disminución de la eficiencia desde el punto de vista energético.

La Figura 5.27 representa la evolución en función del tiempo transcurrido de reacción de la absorbancia del veratril aldehído a 330 nm en estos experimentos a diferentes temperaturas. La Figura 5.28 muestra los porcentajes de conversión a diferentes temperaturas.

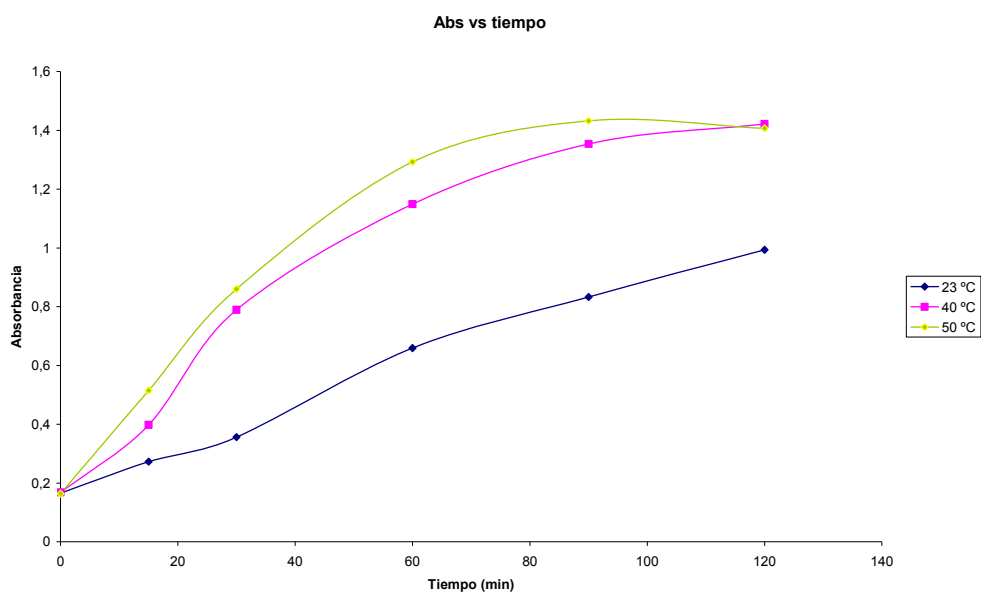


Figura 5.27. Evolución de la absorbancia a 330 nm con respecto al tiempo para la oxidación de veratril alcohol a veratril aldehído catalizada por el complejo **8** a diferentes temperaturas. Otras condiciones de reacción: 1% de complejo; 2,1 g de NaCl; pH 8,25; corriente de aire.

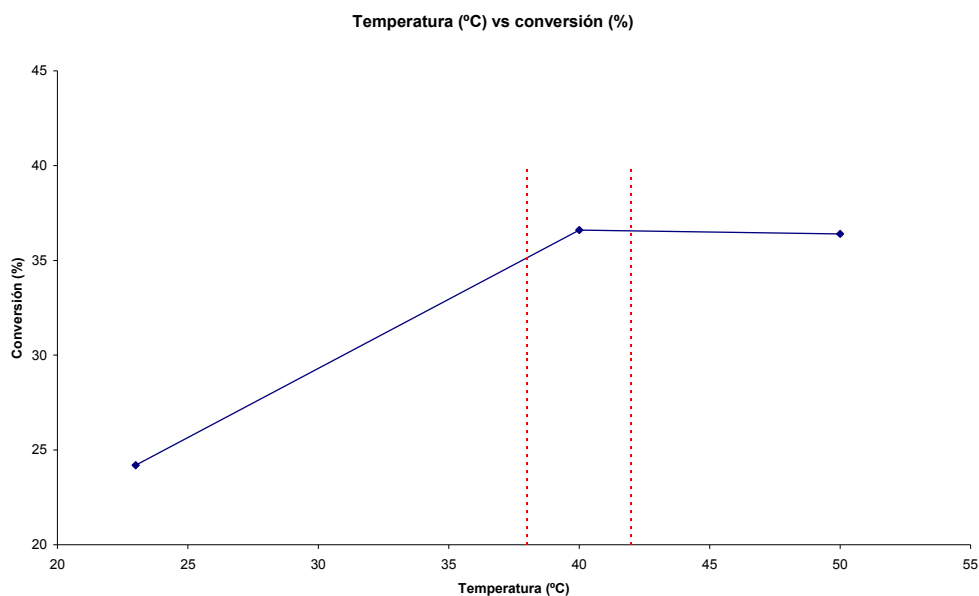


Figura 5.28. Porcentajes de conversión de veratril alcohol a veratril aldehído catalizada por el complejo **8** a diferentes temperaturas. Otras condiciones de reacción: 1% de complejo; 2,1 g de NaCl; pH 8,25; corriente de aire.

A lo largo de estos primeros estudios de oxidación con corriente eléctrica advertimos que el pH de la disolución presentaba una alta variabilidad a lo largo del experimento, y de una forma aparentemente arbitraria, lo cual nos impedía tener un buen control del proceso. Los experimentos en disolución acuosa sin tamponar provocaban oscilaciones de pH entre medio ácido (pH 3) a medio básico (pH 10). Este amplio intervalo de pH puede generar dos tipos de procesos: 1º) la descomposición complejo catalizador por su posible inestabilidad en ese intervalo de pH, 2º) la oxidación del ión cloruro en disolución, que se ve afectada muy directamente, generando Cl_2 a pH ácidos, hipoclorito a pH neutros o ligeramente alcalino o clorato/perclorato a pH fuertemente básicos.

Con el fin de delimitar la extensión de estos procesos se decidió estudiar la reacción a diferentes pH, utilizando disoluciones reguladoras en lugar de agua destilada.

5. Estudios de actividad catalítica

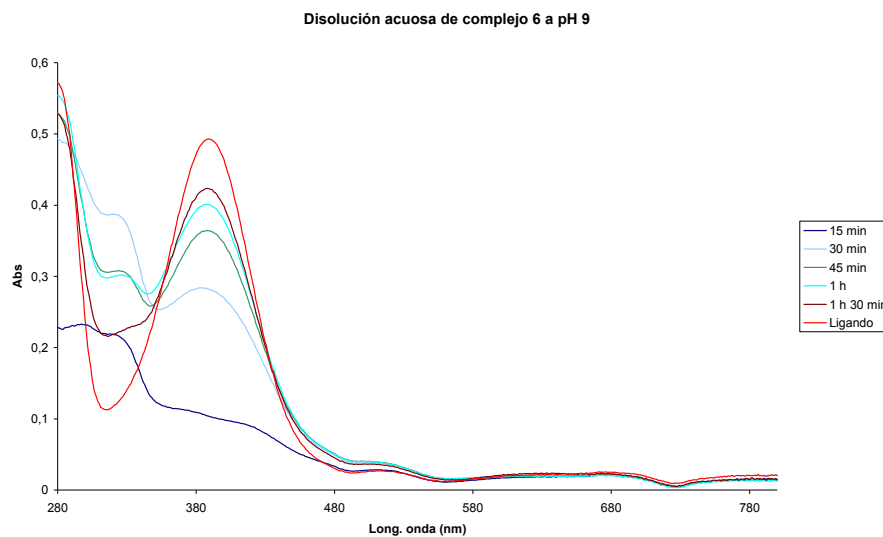


Figura 5.29. Evolución del espectro UV-Vis del complejo 8 a pH 9 con el transcurso del tiempo.

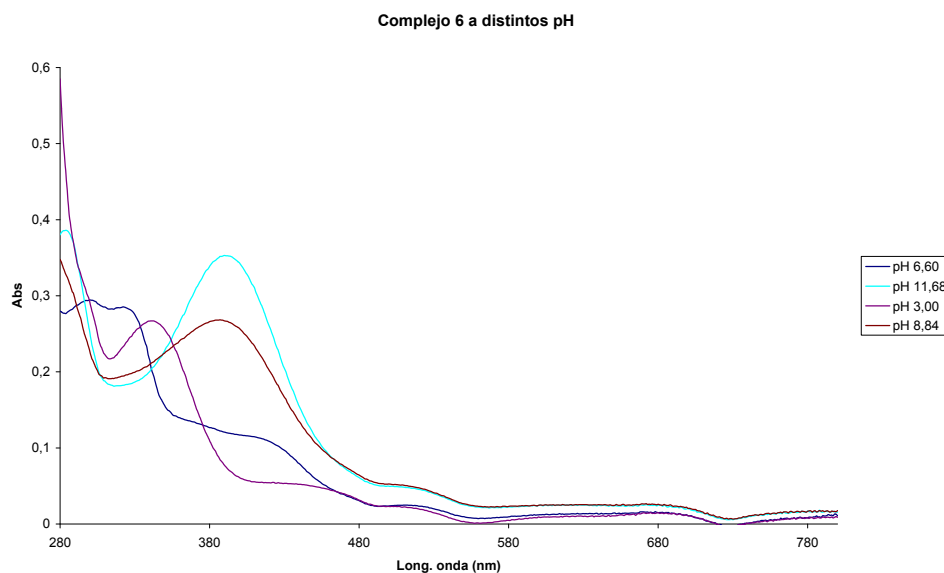


Figura 5.30. Espectros UV-Vis registrados del complejo 6 a diferentes pH.

Las figuras 5.29 y 5.30 muestran que el complejo **8** no es estable a pH básicos superiores a 9 ni tampoco a pH ácidos inferiores a 5. En consecuencia el intervalo de pH en el que el catalizador podría mantener su actividad se restringe a pH 5-pH 8,5.

Complejo 6.		
Condiciones de oxidación: 4 V; 2,1 g NaCl; 23 °C;		
pH	Conversión 2 horas (%)	
	Sin catalizador	1% catalizador
5,00	22,3	16,7
5,50	24,3	19,5
6,00	21,6	20,4
6,50	28,9	23,1
7,00	19,0	16,1
7,50	8,6	17,8
7,75	9,0	23,3
8,00	12,0	21,0
8,25	8,6	21,3
8,50	28,1	18,2

Tabla 5.17. Porcentaje de conversión de veratril alcohol a veratril aldehído en presencia y ausencia del complejo **8** a diferentes pH (5-8,5). Otras condiciones: 4 V; 2,1 g NaCl; 23 °; corriente de aire.

En este intervalo de pH 5- pH 8,5 se estudió la reacción de oxidación de veratril alcohol a veratril aldehído utilizando diferentes disoluciones reguladoras indicadas en el apartado 3.8.4. Los estudios se realizaron en presencia de 1% de catalizador (complejo **8**) y en ausencia de catalizador, con corriente de 4 V y añadiendo 2,1 g de cloruro sódico. La tabla 5.17 recoge los datos obtenidos en estos experimentos y la figura 5.31 muestra la comparativa de conversiones en la oxidación a diferentes pH entre los experimentos con presencia y ausencia de catalizador. A pH inferiores a 7 se observa un mayor porcentaje de conversión en veratril aldehído sin la presencia de catalizador, probablemente provocada por la oxidación con el Cl₂ generado a partir del cloruro. A pH superiores a 8,5 se obtiene de nuevo mejores rendimientos en ausencia de catalizador. En el intervalo de pH 7,5-

5. Estudios de actividad catalítica

pH 8,25 la presencia de catalizador provoca mejores resultados en la conversión de veratril alcohol a veratril aldehído. Por otra parte, en este intervalo de pH el producto principal de la oxidación del cloruro sería hipoclorito.

Dado que los mejores resultados fueron obtenidos a pH 7,75 y a pH 8,25 se decidió continuar el estudio en las condiciones de pH 8,25 porque en la industria del papel, en la etapa de blanqueo, se suele operar en medio alcalino.

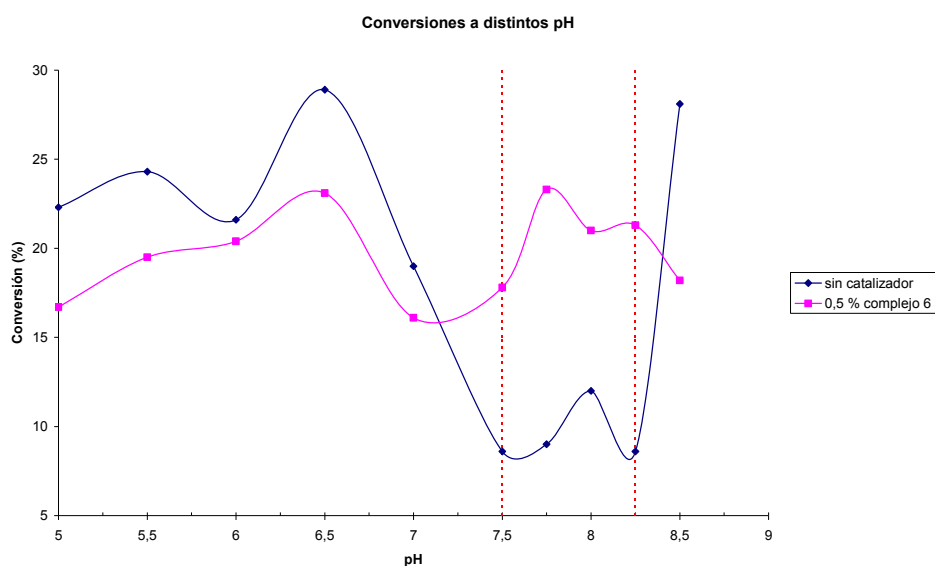


Figura 5.31. Porcentaje de conversión de veratril alcohol a veratril aldehído en presencia y ausencia del complejo **8** a diferentes pH (5-8,5). Otras condiciones: 4 V; 2,1 g NaCl; 23 °C; corriente de aire.

Una vez fijados el voltaje, la cantidad de sal y el pH se procede al estudio de la influencia de la cantidad de catalizador, y así utilizar la cantidad de complejo más adecuada. Los resultados se recogen en la tabla 5.18.

Según los resultados obtenidos llegamos a la conclusión de que la cantidad adecuada de catalizador es de 0,5 % respecto al veratril alcohol. La figura 5.32 ilustra el intervalo de mayor grado de conversión en función de la cantidad de catalizador añadida.

Complejo 8.	
Condiciones de oxidación: 4 V; 2,1 g NaCl; 23 °C; pH 8,25	
Catalizador (%)	Conversión 2 horas (%)
0,00	8,6
0,25	22,5
0,50	24,2
1,00	21,3
3,00	12,7

Tabla 5.18. Porcentaje de conversión de veratril alcohol a veratril aldehído en función del porcentaje de complejo catalizador añadido (0-3 %). Otras condiciones: 4 V; 2,1 g NaCl; 23 °C; pH 8,25; corriente de aire.

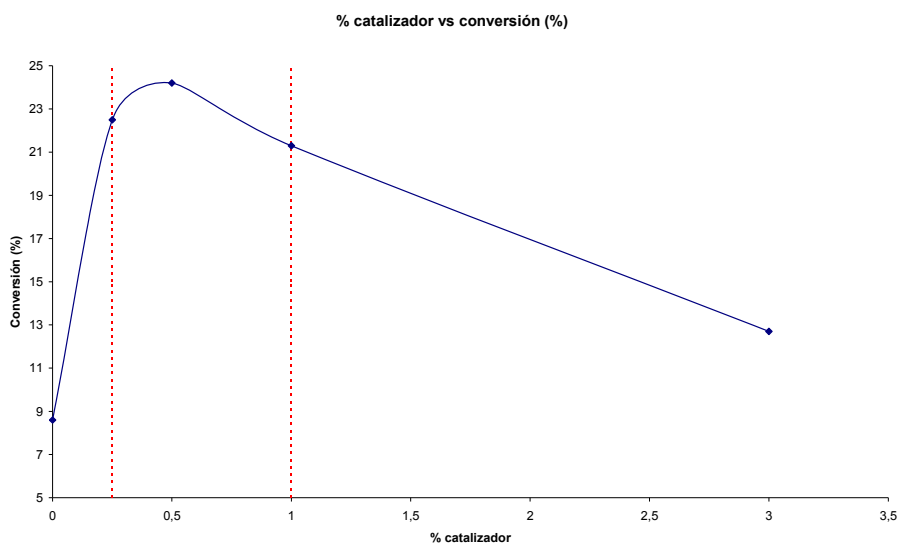


Figura 5.32. Porcentaje de conversión de veratril alcohol a veratril aldehído en función del porcentaje de complejo catalizador añadido (0-3 %). Otras condiciones: 4 V; 2,1 g NaCl; 23 °C; pH 8,25; corriente de aire.

5. Estudios de actividad catalítica

Fijadas las condiciones óptimas del proceso catalítico para los complejos **5** y **8** en:

- Corriente de 4 V;
- pH 8,25;
- Porcentaje de catalizador 0,5 %;
- Cantidad de electrolito 2,1 g NaCl;
- Temperatura 40 °C;
- Corriente de aire;

Por último se realizó una comparativa de los diferentes catalizadores, todos con alta actividad peroxidasa. Los resultados se recogen en la tabla 4.9.

Condiciones de oxidación: 4 V; 2,1 g. NaCl; pH 8,25; 0,5 % catalizador		
Catalizador	Conversión 2 horas (%)	T ^a (°C)
Sin catalizador	18,4	40,0
Complejo 5	36,4	40,0
Complejo 8	36,6	40,0
Complejo 12	32,6	40,0
Complejo 13	17,6	40,0
Complejo 11	35,9	40,0
Complejo 32	32,9	40,0
Complejo 8	36,4	50,0

Tabla 5.19. Porcentaje de conversión de veratril alcohol a veratril aldehído tras dos horas de reacción para diferentes complejos añadidos como catalizadores. Otras condiciones: 4 V; 2,1 g NaCl; 23 °C; pH 8,25; corriente de aire.

Tal y como podríamos suponer dadas sus altas actividades peroxidasa, la mayoría de los catalizadores empleados llevan a cabo una

5. Estudios de actividad catalítica

conversión de veratril alcohol a veratril aldehído semejante, salvo el complejo **11**, lo cual es normal teniendo en cuenta que su actividad peroxidasa es menor.

Se realizó un experimento a 50 °C con el complejo **8** y observamos que, al igual que en experimentos anteriores, repercute de forma más significativa en el coste del proceso que en el rendimiento del mismo.

**Catalizadores
biomiméticos
autoensamblados**
G. González-Riopedre

Capítulo 6
Conclusiones

1. Se han sintetizado y caracterizado los complejos de Mn(III) con ligandos de tipo imino-imino: $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}](\text{H}_2\text{O})_{2.5}$, $[\text{MnL}^2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$, $[\text{MnL}^3(\text{DCA})(\text{H}_2\text{O})](\text{H}_2\text{O})$, $[\text{MnL}^6(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)$, $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$, $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})_2$ y $[\text{MnL}^8(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{CH}_3\text{OH})_2$. Además se han obtenido monocristales válidos para la resolución de su estructura por Difracción de Rayos X de los complejos: $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}](\text{H}_2\text{O})_{2.5}$, $[\text{MnL}^2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$, $[\text{MnL}^6(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)$, $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$, $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})_2$ y $[\text{MnL}^8(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{CH}_3\text{OH})_2$. La superestructura de los complejos implica asociaciones mediante una combinación de interacciones de π -arilo y enlaces de hidrógeno entre las moléculas de agua encapsuladas y los dos átomos de oxígeno vecinos de los grupos fenoxi y metoxi/etoxi del ligando base de Schiff, que forman dímeros en todos los complejos.

2. Se ha obtenido el ligando amino-imino H₂amim con elevada pureza y se ha caracterizado por análisis elemental, espectroscopia IR y espectrometría de masas. Se ha validado la ruta de síntesis de este ligando caracterizando cada uno de sus precursores: ftalamidoacetal, ftalamidoaldehído, salicilamina, benzoxacina, producto de reducción de la benzoxacina y salicildiamina.

3. Se ha obtenido el complejo metálico [Mn(amim)(ClO₄)(H₂O)].3H₂O, caracterizado positivamente por análisis elemental, espectroscopia IR y espectrometría de masas.

4. En la reacción del ligando amido-amido H₄amid₂ con acetato de manganeso (II) y con distintos tipos de hidróxidos de metales alcalinos se obtuvieron complejos de manganeso (III) y del catión presente en el hidróxido. Resultan esenciales para la formación de estos complejos la presencia de los cationes utilizados ya que ejercen una doble función, la de estabilizar la carga y la de coordinarse con todos los tipos de oxígenos de los ligandos favoreciendo las interacciones intermoleculares. La estructura cristalina resuelta para los complejos [Mn(amid₂)K(CH₂OH)]₂(H₂O)₃, [Mn(amid₂)Rb(CH₃OH)(H₂O)]₂ y [Mn(amid₂)Cs(H₂O)]₂ muestra la formación de disposición de cajas supramoleculares.

5. Se han realizado diferentes estudios de catálisis con los complejos obtenidos y otros previamente sintetizados y caracterizados por el grupo de investigación. Los complejos utilizados **1-57** se recogen en la tabla 5.1, y en todos los estudios se manifiesta la importancia de las estructuras autoensambladas de los diferentes complejos. Las conclusiones particulares a la fotólisis, la actividad peroxidasa, la acción catalasa y la oxidación electroquímica del modelo de la lignina veratrilalcohol son las siguientes:

6. En los experimentos de fotólisis se observa la liberación de oxígeno con los complejos **24-28** (ver tabla 5.1) en presencia de p-benzoquinona. El

dioxígeno no se libera en ausencia de esta quinona y tampoco se genera cuando se sustituye esta por 2,5-tert-butil-p-benzoquinona (tbBQ). Se propone un mecanismo basado en la estructura dimérica autoensamblada de los complejos que permite la inclusión de la quinona en la cavidad de coordinación de las moléculas de agua a los iones manganeso, de forma que se pueden producir sucesivas extracciones protónicas por la benzoquinona fotoexcitada. El control en la reconstitución de los dímeros μ -acu a partir de los dímeros con puentes μ -fenoxo permitiría incrementar la eficiencia del sistema, de forma que se podrían desarrollar catalizadores adecuados desde una perspectiva tecnológica.

7. En el estudio de la actividad catalasa y peroxidasa de los complejos que incorporan ligandos bases de Schiff imino-imino **1-51** se ha constatado una diferencia notable en la actividad catalítica en los compuestos en función de la longitud del espaciador entre los grupos imino de la base de Schiff. La actividad es mayor si el espaciador es rígido y disminuye cuando es más flexible. Estudios espectroscópicos indican que los espaciadores rígidos provocan geometrías con elongación tetragonal en las que aumenta la labilidad de los ligandos de las posiciones axiales, lo cual permitiría incorporar la molécula de sustrato a la primera esfera de coordinación del metal y proceder a la catálisis. Estas geometrías también tendrían mayor facilidad para evolucionar a estructuras diméricas con puentes μ -aquo.

8. La actividad catalasa estudiada en el laboratorio indica una descomposición significativa del peróxido de hidrógeno catalizada por los complejos **53-57**, con disposición de cajas supramoleculares, en medio neutro alcohol/auga, lo cual permite su ensayo en medios biológicos. En el caso del complejo $Mn_2L_2K_2(CH_3OH)_2$ se consigue el 100% de descomposición de peróxido en 20 min a 36°C. El hecho de la naturaleza de caja supramolecular de estos nuevos catalizadores incrementa su selectividad en los procesos catalíticos, al limitar su actividad a las moléculas que puedan introducirse dentro de la cavidad. Además, el tamaño de la cavidad de la caja supramolecular se puede modular en función del metal alcalino utilizado, lo que le confiere a esta nueva familia de catalizadores una potencial aplicabilidad selectiva frente diferentes sustratos.

9. Se ha estudiado la cinética de la catálisis de la peroxidasa con el complejo $[\text{MnL}^3(\text{N}(\text{CN})_2)(\text{H}_2\text{O})]\cdot\text{H}_2\text{O}$ (**8**), indicando que se trata un proceso catalítico complejo, en el cual se generan especies intermedias que a su vez catalizan este proceso. Este análisis nos sugiere el uso del método de las velocidades iniciales para realizar el estudio cinético de la reacción, evitando la interferencia de sucesivas reacciones secundarias. Se ha propuesto un mecanismo de catálisis que incluye la oxidación del dímero μ -aquo a dímero Mn(IV)-Mn(IV) con puente peroxo que sería la especie oxidante que catalizaría la oxidación de ABTS.

10. Se ha estudiado la capacidad de catalizar la oxidación del modelo de la lignina veratril alcohol utilizando como oxidante peróxido de hidrógeno con los complejos **1**, **8**, **12**, **13**, **43** y **46**. Se comprueba que la actividad disminuye conforme aumenta la longitud de la cadena alquílica puente entre los grupos imino de la base de Schiff de los catalizadores. Los experimentos manifestaron que la presencia tanto del catalizador como del oxidante H_2O_2 es necesaria para observar alguna conversión de veratril alcohol, pero la eficiencia aumenta en presencia de corriente de aire, que aporta O_2 . Este comportamiento sugiere que el peróxido de hidrógeno induce la oxidación del catalizador en una especie catalíticamente más activa, como podría ser un dímero $[\text{Mn}^{\text{IV}}=\text{O}]_2$, la cual posteriormente degrada el veratril alcohol en presencia de oxígeno.

11. En los estudios de oxidación del veratril alcohol catalizada por los complejos **5**, **8**, **11**, **12**, **13** y **32** con corriente eléctrica se observa que el rendimiento de la oxidación está influenciado por la cantidad de NaCl presente. El voltaje donde se obtienen mejores resultados en relación rendimiento/eficacia es 4V. El mejor rango de rendimientos entre blanco y con catalizador se obtiene a una temperatura de 40 °C, en una ventana de pH de 7,75 a 8,25 y con un porcentaje de catalizador en el intervalo entre 0,25 y 1%.

**Catalizadores
biomiméticos
autoensamblados**
G. González-Riopedre

Capítulo **7**
Bibliografía

- [1] P. A. Young; *J. Anat. Physiol.*, **5**, 158-164 (1870).
- [2] R.J.P. Williams; *Biol. Rev.*, **28**, 381-412 (1953).
- [3] J. J. R. Frausto da Silva, R. J. P. Williams; *The biological chemistry of the elements*; Oxford University Press. Oxford. U.K. (1991).
- [4] V. Amendola, M. Boiocchi, B. Colasson, L. Fabbrizzi, M. Rodriguez-Douton, F. Ugozzoli; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 6920-6924 (2006).
- [5] P.A. Gale, S.E. Garcia-Garrido, J. Garric.; *Chem. Soc. Rev.*, **37**, 151-190 (2008).
- [6] B. Notash, N. Safari, H.R. Khavasi; *Inorg. Chem.*, **49**, 11415-11420 (2010).
- [7] Govindjee, T. Kambara, W. Coleman; *Photochem. Photobiol.*, **42**, 187-210 (1985).

- [8] J. K. Hurst; *Science*, **328**, 315-316 (2010).
- [9] E. A. J. Delwiche; *Bacteriol.*, **81**, 416-418 (1961).
- [10] V. V. Barynin, M. M. Whittaker, S. V. Antonyuk, V. S. Lamzin, P. M. Harrison, P. J. Artymyuk, J. W. Whittaker; *Structure*, **9**, 725-738 (2001).
- [11] S.V. Antonyuk, W.R. Melik-Adamiyan, V.R. Popov, V.S. Lamzin, P.D. Hempstead, P.M. Harrison, P.J. Artymyuk, V.V. Barynin; *Crystallogr. Rep.* **45**, 105-116 (2000).
- [12] K.Phucharoen, Y. Takenaka, T. Shinozawa; *DNA Sequence*, **12**, 413-417 (2001).
- [13] M. Kagawa, N. Murakoshi, T. Mizobata, Y. Kawata, J.Nagai; *FASEB J.*, **11**, A1138 (1997).
- [14] V. Robbe-Saule, C. Coynault, M. Ibanez-Ruiz, D. Hermant, F. Norel; *Mol. Microbiol.*, **39**, 1533-1535, (2001).
- [15] T. Amo, H. Atomi, T. J. Imanaka; *Bacteriol.*, **184**, 3305-3312 (2002).
- [16] G. Berggren, P. Huang, L. Eriksson, S. Styring, M. F. Anderlund, A. Thapper; *Dalton Trans.*, 11035-11044 (2010).
- [17] B. K. Shin, M. Kim, J. Han; *Polyhedron*, **29**, 2560-2568 (2010).
- [18] H. Galliano, G. Gas, J. L. Seris, A. M. Boudet; *Enzyme Microb. Technol.*, **13**, 478-482 (1991).
- [19] D. Pokhrel, T. Viraraghavan; *Sci. Total Environ.*, **333**, 37-58 (2004).
- [20] I. Muñoz, J. Rieradevall, F. Torrades, J. Peral, X. Domènech; *Chemosphere*, **62**, 9-16 (2006).
- [21] R. Hage, A. Lienke; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 206-222 (2006).
- [22] H. Biava, S. Signorella; *Polyhedron*, **29**, 1001-1006 (2010).
- [23] P. Zucca, F. Sollai, A. Garau, A. Rescigno, E. Sanjust; *J. Mol. Catal. A*, **306**, 89-96 (2009).
- [24] M. Yagi, A. Syouji, S. Yamada, M. Komi, H. Yamazaki, S. Tajima; *Photochem. Photobiol. Sci.*, **8**, 139-147 (2009).

- [25] A. Magnuson, M. Anderlund, O. Johansson, P. Lindblad, R. Lomoth, T. Polivka, S. Ott, K. Stensjö, S. Styring, V. Sundström, L. Hammarström; *Acc. Chem. Res.*, **42**, 1899–1909 (2009).
- [26] A. Inagaki, M. Akita; *Coord. Chem. Rev.*, **254**, 1220–1239 (2010).
- [27] J. McEvoy, G. Brudvig; *Chem. Rev.*, **106**, 4455–4483 (2010).
- [28] C. Cady, R. Crabtree, G. Brudvig; *Coord. Chem. Rev.*, **252**, 444–455 (2008).
- [29] F. Armstrong; *Phil. Trans. R. Soc. B*, **363**, 1263–1270 (2008).
- [30] M. Maneiro, W. F. Ruettinger, E. Bourles, G. L. McLendon, G. C. Dismukes; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **100**, 3707–3712 (2003).
- [31] S. Mukhopadhyay, S. Mandal, S. Bhaduri, W. Armstrong; *Chem. Rev.*, **104**, 3981–4026 (2004).
- [32] J. P. McEvoy, G. Brudvig; *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **6**, 4754–4763 (2004).
- [33] J. Mayer, I. Rhile, F. Larsen, E. Mader, T. Markle, A. DiPasquale; *Photosynthesis Res.*, **87**, 3–20 (2006).
- [34] C. Mullins, V. Pecoraro; *Coord. Chem. Rev.*, **252**, 416–443 (2008).
- [35] E. Sproviero, J. Gascon, J. McEvoy, G. Brudvig, V. Batista; *Coord. Chem. Rev.*, **252**, 395–415 (2008).
- [36] D. Pantazis, M. Orio, T. Petrenko, S. Zein, E. Bill, W. Lubitz; *Chem. Eur. J.*, **15**, 5108–5123 (2009).
- [37] G. Dismukes, R. Brimblecombe, G. Felton, R. Pryadun, J. Sheats, L. Spiccia; *Acc. Chem. Res.*, **42**, 1935–1943 (2009).
- [38] M. Kanan, D. Nocera; *Science*, **321**, 1072–1075 (2008).
- [39] R. Brimblecombe, G. Dismukes, G. Swiegers, L. Spiccia; *Dalton Trans.*, 9374–9384 (2009).
- [40] M. Yagi, M. Toda, S. Yamada, H. Yamazaki; *Chem. Commun.*, **46**, 8594–8596 (2010).
- [41] H. Karunadasa, C. Chang, J. Long; *Nature*, **464**, 1329–1333 (2010).

- [42] A. Z. Pirson; *Bot.*, **31**, 193-267 (1937).
- [43] Y. Umena, K. Kawakami, J. R. Shen, N. Kamiya; *Nature*, **473**, 55-60 (2011).
- [44] L. Hammastrom, S. Styring; *Energy & Environ. Sci.*, **4**, 2379-2388 (2011).
- [45] A. Grundmeier, H. Dau ; *Biochim. Biophys. Acta -Bioenergetics*, **1817**, 88-105 (2012).
- [46] M. Wiechen, H. Berends, P. Kurz; *Dalton Trans.*, **41**, 21-31 (2012).
- [47] R. J. Pace, R. Stranger, S. Petrie ; *Dalton Trans.*, **41**, 7179-7189 (2012).
- [48] H. Isobe, M. Shoji, S. Yamanaka, Y. Umena, K. Kawakami, N. Kamiya, J. R. Shen, K. Yamaguchi ; *Dalton Trans.*, **41**, 13727-13740 (2012).
- [49] A. Galstyan, A. Robertazzi, E. W. Knapp; *J. Am. Chem. Soc.*, **134**, 7442-7449 (2012).
- [50] E. M. Siegbahn; *Chem. Phys. Chem.*, **12**, 3274-3280 (2011).
- [51] S. Styring, J. Sjöholm, F. Mamedov; *Biochim. Biophys. Acta - Bioenergetics*, **1817**, 76-87 (2012).
- [52] B. Kok, B. Forbush, M. McGloin; *Photochem. Photobiol.*, **11**, 457-475 (1970).
- [53] P. Joliot; *Photosynth. Res.*, **20**, 371-378 (2005).
- [54] Y. Gao, T. Akermark, J. Liu, L. Sun, B. Akermark; *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 8726-8727 (2009).
- [55] J. Limburg, J. S. Vrettos, L. M. Liable-Sands, A. L. Rheingold, R. H. Crabtree, G. W. Brudvig; *Science*, **283**, 1524-1527 (1999).
- [56] Yagi, M., Wolf, K. V., Baesjou, P. J., Bernasek, S. L. & Dismukes, G. C. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **40**, 2925-2928, (2001).
- [57] A. E. Kuznetsov, Y. V. Geletii, C. L. Hill, D. G. Musaev; *J. Phys. Chem.*, **A 114**, 11417-11424 (2010).
- [58] C. Mullins, V. Pecoraro; *Coord. Chem. Rev.*, **252**, 416–443 (2008).
- [59] M. Kanan, D. Nocera; *Science*, **321**, 1072–1075 (2008).

- [60] R. Zhang, J. H. Horner, M. Newcomb; *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 6573–6582 (2005).
- [61] A. Poulsen, A. Rompel, C. McKenzie; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 6916–6920 (2005).
- [62] M. Calvin; *Science*, **184**, 375–381(1974).
- [63] R. Ramaraj, A. Kira, M. Kaneko; *Chem. Lett.*, 261–264 (1987).
- [64] P. Kurz; *Dalton Trans.*, 6103–6108 (2009).
- [65] M. Yagi, K. Narita, S. Maruyama, K. Sone, T. Kuwabara, K. Shimizu; *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1767**, 660–665 (2007).
- [66] M. Collomb, A. Deronzier; *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2025–2046 (2009).
- [67] H. Yamazaki, A. Shouji, M. Kajita, M. Yagi; *Coord. Chem. Rev.*, **254**, 2483–2491 (2010).
- [68] N. Aurangzeb, C. E. Hulme, C. A. McAuliffe, R. G. Pritchard, M. Watkinson, M. R. Bermejo, A. Garcia-Deibe, J. Sanmartin, A. Sousa; *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1153–1155, (1994).
- [69] F. Ashmawy, C. McAuliffe, R. Parish, J. Tames; *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1391–1397 (1985).
- [70] A. Magnuson, M. Anderlund, O. Johansson, P. Lindblad, R. Lomoth, T. Polivka, S. Ott, K. Stensjö, S. Styring, V. Sundström, L. Hammarström, *Acc. Chem. Res.*, **42**, 1899–1909 (2009).
- [71] M. R. Bermejo, A. Castineiras, J. C. Garcia-Monteagudo, M. Rey, A. Sousa, M. Watkinson, C. A. McAuliffe, R. G. Pritchard, R. L. Beddoes, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2935–2944 (1996).
- [72] H. Diaz-Albiter, R. Mitford, F. A. Genta, M. R. V. Sant’Anna, R. J. Dillon; *Plos ONE*, **6**, e17486-e17495 (2011).
- [73] J. E. Penner-Hahn; *Manganese Redox Enzymes*; Ed. V. L. Pecoraro, VCH Publishers: New York, (1992).
- [74] D. R. Gamelin, M. L. Kirk, T. L. Stemmler, S. Pal, W. H. Armstrong, J. E. Penner-Hahn, E. I. Solomon; *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 2392–2399 (1994).

- [75] M. Zheng, S. V. Khangulov, G. C. Dismukes, V. V. Barynin; *Inorg. Chem.*, **33**, 382-387 (1994).
- [76] B. K. Shin, M. Kim, J. Han; *Polyhedron*, **29**, 2560-2568 (2010).
- [77] W. James, Whittaker; *Biochemistry and Biophysics*, **525**, 111-120 (2012).
- [78] S. V. Khangulov, M. G. Goldfeld, V. V. Gerasimenko, N. E. Andreeva, V. V. Barynin, A. I. Grebenko; *J. Inorg. Biochem.*, **40**, 279-292 (1990).
- [79] P. Mathur, M. Crowder, G. C. Dismukes; *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 5227-5233 (1987).
- [80] A. E. M. Boelrijk, G. C. Dismukes; *Inorg. Chem.*, **39**, 3020-3028 (2000).
- [81] A. E. M. Boelrijk, S. V. Khangulov, G. C. Dismukes; *Inorg. Chem.*, **39**, 3009-3019 (2000).
- [82] E. J. Larson, V. L. Pecoraro; *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 7809-7810 (1991).
- [83] J. A. Lessa, A. Horn Jr., E. S. Bull, M. R. Rocha, M. Benassi, R. R. Catharino, M. N. Eberlin, A. Casellato, C. J. Noble, G. R. Hanson, G. Schenk, G. C. Silva, O. A. C. Antunes, C. Fernandes; *Inorg. Chem.*, **48**, 4569-4579 (2009).
- [84] S. Bahramikia, R. Yazdanparast; *Medicinal Chemistry Research*, **21**, 3224-3232 (2012).
- [85] http://www.merck-chemicals.com/spain/life-science-research/euk-8/EMD_BIO-341209/p_Ux6b.s1LILYAAAEWIWEfVhTm?PortalCatalogID=merck4biosciences. Página comercial del producto EUK-8 con actividad catalasa **30/05/13**.
- [86] H. Koyama, H. Nojiri, S. Kawakami, T. Sunagawa, T. Shirasawa; *Molecules*, **18**, 1383-1393 (2013).
- [87] Y. Xu, S. J. Armstrong, I. A. Arenas; *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*, **287**, H165-H171 (2004).
- [88] R. Alireza, Y. Razieh; *Clinical Biochemistry.*, **44**, S227-S228 (2011).
- [89] T. W. Snell, A. M. Fields, R. K. Johnston; *Biogerontology*, **13**, 261-275 (2012).

- [90] M. Sundaramoorthy, M. Gold, T. Poulos, *J. Inorg. Biochem.*, **104**, 683-690 (2010).
- [91] H. Wariishi, V. Khadar, M.H. Gold; *Biochemistry*, **28**, 6017-6023 (1989).
- [92] A. Sigel, H. Rigel, “*Metal Ions in Biological Systems*”, Vol. 37, Ed. Marcel Dekker, Inc., New York (2000).
- [93] M. Kuwahara, J. K. Glenn, M. A. Morgan, M. H. Gold; *FEBS Lett.*, **169**, 247-250 (1984).
- [94] D. Li, N. Li, B. Ma, M. B. Mayfield, M. H. Gold; *Biochim. Biophys. Acta*, **1434**, 356-364 (1999).
- [95] A. Paszczynski, R. L. Crawford; *Biotechnol. Prog.*, **11**, 368-379 (1995).
- [96] G. T. Austin, En *Manual de procesos químicos en la industria*, McGrawHill, México (1993).
- [97] H. Sixta (Ed.), *Handbook of Pulp*, Ed. Wiley-VCH, Weinheim (2006).
- [98] G. Gellerstedt, E. L. Lindfors, M. Petterson, E. Sjöholm, D. Robert; *6th Int. Symp. Wood and Pulping Chemistry*, Melbourne, 331-336 (1991).
- [99] A. Magaton, J. L. Colodette, A. D. G. Gouvea, J. L. Gomide, M. C. D. Muguet, C. Pedrazzi; *Tappi J.*, **8**, 32-39 (2009).
- [100] G. A. Smook; *Handbook for Pulp and Paper Technologists*, Technical Association for the Pulp and Paper Industry, Atlanta (1989)
- [101] J. F. Kadla, S. Kubo; *Composites Part A*, **35**, 395-400 (2004).
- [102] J. Gierer, F. Imsgard; *Svensk Pap.*, **16**, 510-518 (1977).
- [103] H. M. Chang; *Emerging Pulping and Bleaching Workshop*, Durham, NC, (1995).
- [104] V. O. Sippola, A.O.I. Krause; *Catalysis Today*, **100**, 237–242 (2005).
- [105] G. Feijoo, M. T. Moreira, P. Alvarez, T. A. Lú-Chau, J. M. Lema; *J. Appl. Polym. Sci.*, **109**, 1319-1327, (2008).
- [106] Q. Xiang, Y. Lee; *Appl. Biochem. Biotech.*, **84–86**, 153-162 (2000).

- [107] C. C. Walker, R. J. Dinus, T. J. McDonough, K. E. Eriksson; *Tappi J.*, **78**, 103-109 (1995).
- [108] P. Zucca, G. Mocci, A. Rescigno, E. Sanjust; *J. Mol. Cat. A-Chem.*, **278**, 220-227 (2007).
- [109] C. Crestini, P. Pro, V. Neri, R. Saladino; *Bioorg. & Med. Chem.*, **13**, 2569–2578 (2005).
- [110] R. Hage, J. E. Iburg, J. Kershner, J. K. Koek, E. L. M. Lempers, R. Martens, U. S. Racheria, S. W. Russell, T. Swarthof, M. R. P. van Vliet, J. B. Warnaar, L. van der Wolf, B. Krijnen; *Nature*, **369**, 637-638 (1994).
- [111] R. Hage, B. Krijnen, J. B. Warnaar, F. Hartl, D. J. Stufkens, T. L. Snoeck; *Inorg. Chem.*, **34**, 4973-4978 (1995).
- [112] M. Maneiro, M. R. Bermejo, A. Sousa, M. Fondo, A. M. González, A. Sousa-Pedrares, C. A. McAuliffe; *Polyhedron*, **19**, 47-54 (2000).
- [113] M. Maneiro, M. R. Bermejo, M. Fondo, A. M. González, J. Sanmartín, J. C. García-Monteagudo, R. G. Pritchard, A. M. Tyryshkin; *Polyhedron*, **20**, 711-719 (2001)
- [114] M. Maneiro, M. R. Bermejo, M. I. Fernández, E. Gómez-Fórneas, A. M. González-Noya, A. M. Tyryshkin; *New J. Chem.*, **27**, 727-733 (2003).
- [115] M. R. Bermejo, M. I. Fernández, A. M. González-Noya, M. Maneiro, R. Pedrido, M. J. Rodríguez, J. C. García-Monteagudo, B. Donnadieu, *J. Inorg. Biochem.*, **100**, 1470-1478 (2006).
- [116] S. Mukherjee, J. A. Stull, J. Yano, T. C. Stamatatos, K. Pringouri, T. A. Stich, K. A. Abboud, R. D. Britt, V. K. Yachandra, G. Christou; *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **109**, 2257-2262 (2012).
- [117] P. Glatzel, H. Shroeder, Y. Pushkar, T. Boron, S. Mukherjee, G. Christou, V. L. Pecoraro, J. Messinger, V. K. Yachandra, U. Bergmann, J. Yano; *Inorg. Chem.*, **52**, 5642-5644 (2013).
- [118] R. A. Rosenthal, B. Fish, R. P. Hill, K. D. Huffman, Z. Lazarova, J. Mahmood, M. Medhora, R. Molthen, J. E. Moulder, S. T. Sonis, P. J.

- Tofilon, S. R. Doctrow; *AntiCancer Agents Med. Chem.*, **11**, 359-372 (2011).
- [119] S. Signorella, C. Hureau; *Coord. Chem. Rev.*, **256**, 1229-1445 (2012).
- [120] O. L. Hoyos, M. R. Bermejo, M. Fondo, A. García-Deibe, A. M. Gonzdlez, M. Maneiro, R. Pedrido; *J. Chem. Soc, Dalton Trans.*, 3122-3127 (2000).
- [121] M. R. Bermejo, M. I. Fernández, E. Gómez-Fórneas, A. González-Noya, M. Maneiro, R. Pedrido, M. J. Rodríguez; *Eur. J. Inorg. Chem.*, 3789-3797 (2007).
- [122] R. L. Carlin; *"Magnetochemistry"*, Ed. Springer-Verlag (1986).
- [123] A. Earnshaw; *"Magnetochemistry"*, Ed. Academic Press (1968).
- [124] H. Schiff; *Ann.*, **131**, 118-119 (1864).
- [125] P. G., Cozzi; *Chem. Soc. Rev.*, **33**, 410-421 (2004).
- [126] G. Daidone, D. Raffa, B. Maggio; *Farmaco*, **45**, 285-292 (1990).
- [127] M.S. Gibson, R.W. Bradshaw; *Angew. Chem Int. Ed.*, **7**, 919-930 (1968).
- [128] E.H. Cordes, H.G. Bull; *Chem. Rev.*, **74**, 581-603 (1970).
- [129] K. Harada, J. Or-Hashi; *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **43**, 960-963 (1970).
- [130] A. Berkessel, J.W. Bats, M. Huber, W. Haase, T. Neumann, L. Seidel; *Chem. Ber.*, **128**, 125-129 (1995).
- [131] K. Neuvonen, K. Pihlaja; *J. Chem. Soc. , Perkin Trans. , 2*, 461-467 (1988).
- [132] M.S. Gibson, R.W. Bradshaw; *Angew. Chem Int. Ed.*, **7**, 928-939 (1968).
- [133] Y. Sunatsuki, M. Mimura, H. Shimada, F. Kai, N. Matsumoto; *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **71**, 167-173 (1998).
- [134] A. Stassinopoulos, G. Schulte, G. C. Papaefthymiou, J. P. Caradonna; *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 8686-8697 (1991).

- [135] L. J. Boucher, M. O. Farrell; *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **35**, 3731-3738, (1973).
- [136] B. Sharma, C. Patel; *Ind. J. Chem.*, **8**, 747 (1970).
- [137] A. Van der Bergen, K.S. Murray, M.J. O'Connor, B.O. West; *Aust. J. Chem.*, **22**, 39, (1969).
- [138] S. L. Scott, W-J Chen, A. Bakac, J. H. Espenson; *J. Phys. Chem.*, **97**, 6710-6714 (1993).
- [139] D. Villaño, M. S. Fernández-Pachón, A. M. Troncoso, M. C. García-Parrilla; *Talanta*, **64**, 501-509 (2004).
- [140] C. Henriquez, E. Lissi; *Bol. Soc. Chil. Quím.*, **47**, 363-366 (2002).
- [141] C. Aliaga, E. A. Lissi; *Can. J. Chem.*, **78**, 1052-1059 (2000).
- [142] M. Tien, D. Ma; *J. of Biol. Chem.*, **272**, 8912-8917 (1997).
- [143] E. Ziegler, G. Kollenz, T. Kappe; *Monatsh. Chem.*, **100**, 1722-1740, (1969).
- [144] G. Sócrates; *"Infrared Characteristic Group Frecuencias"*, Ed. John Wiley & Sons, New York (1980).
- [145] J. P. Costes, F. Dahan, B. Donnadiou, M. J. Rodríguez-Doutón, M. I. Fernández-García, A. Bousseksou, J. P. Tuchagues; *Inorg. Chem.*, **43**, 2736-2744, (2004).
- [146] S. Sen, P. Talukder, S. Mitra, G. Rosair, G. Yap, V. Gramlich, J. Kim, T. Matsushita, C. Desplanches, J.-P. Sutter; *Inorg. Chim. Acta*, **358**, 4534-4540 (2005).
- [147] A. Majumder, G. Pilet, M. T. Garland, S. Mitra; *Polyhedron*, **25**, 2550-2558 (2006).
- [148] D. Kong, Y. Xie; *Inorg. Chim. Acta*, **338**, 142-148 (2002).
- [149] M. Watkinson, M. Fondo, M. R. Bermejo, A. Sousa, C. A. McAuliffe, R. G. Pritchard, N. Jaiboon, N. Aurangzeb, M. Naeem; *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 31-41 (1999).
- [150] W.J. Geary; *Coord. Chem. Rev.*, **7**, 81-122 (1971).

- [151] J.A. Bonadies, M.L. Maroney, V.L. Pecoraro; *Inorg. Chem.*, **28**, 2044-2051 (1989).
- [152] V. Daier, D. Moreno, C. Duhayon, J. Tuchagues, S. Signorella; *Eur. J. Inorg. Chem.*, 965-974 (2010).
- [153] M.-N. Collomb, C. Mantel, S. Romain, C. Duboc, J.-C. Leprêtre, J. Pécaut, A. Deronzier; *Eur. J. Inorg. Chem.*, 3179-3187 (2007).
- [154] D. Pursche, M. V. Triller, C. Slinn, N. Redding, A. Rompel, B. Krebs; *Inorg. Chim. Acta*, **357**, 1695-1702 (2004).
- [155] E. Talsi, K. Bryliakov; *Mendeleev Commun.*, 111-112 (2004).
- [156] K. Campbell, D. Force, P. Nixon, F. Dole, B. Diner, R. Britt; *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 3754-3761 (2000).
- [157] S. Lee, S. Chang, D. Kossakovski, H. Cox, J. Beauchamp; *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 10152-10156 (1999).
- [158] J. Laskin, Z. Yang, I. K. Chu; *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 3218-3230 (2008).
- [159] G.M. Sheldrick, SHELX-97 (Shelxs 97 and Shelxl 97), Programs for Crystal Structure Analyses, University of Göttingen, Germany (1998).
- [160] G.M. Sheldrick, SADABS, Program for Scaling and Correction of Area Detector Data, University of Göttingen, Germany (1996).
- [161] M.R. Bermejo, M.I. Fernandez, A.M. Gonzalez-Noya, M. Maneiro, R. Pedrido, M.J. Rodriguez, M. Vazquez; *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2769-2774 (2004).
- [162] M.R. Bermejo, A.M. Gonzalez-Noya, V. Abad, M.I. Fernandez, M. Maneiro, R. Pedrido, M. Vazquez; *Eur. J. Inorg. Chem.*, 3696-3705 (2004).
- [163] C. Holloway, M. Melnik; *Rev. in Inorg. Chem.*, **16**, 101-314 (1996).
- [164] H. Biava, C. Palopoli, S. Shova, M. De Gaudio, V. Daier, M. Gonzalez-Sierra; *J. Inorg. Biochem.* **100**, 1660-1671 (2006).

- [165] N. Aurangzeb, C.E. Hulme, C.A. McAuliffe, R.G. Pritchard, M. Watkinson, M.R. Bermejo, A. Garcia-Deibe, J. Sanmartin, A. Sousa; *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1153-1155 (1994).
- [166] Y. Sunatsuki, M. Mimura, H. Shimada, F. Kai, N. Matsumoto; *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **71**, 167-173 (1998).
- [167] A. Stassinopoulos, G. Schulte, G. C. Papaefthymiou, J. P. Caradonna; *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 8686-8697 (1991).
- [168] M. A. Vázquez-Fernández, M. R. Bermejo, M. I. Fernández-García, G. González-Riopedre, M. J. Rodríguez-Doutón, M. Maneiro; *J. Inorg. Biochem.*, **105**, 1538-1547 (2011).
- [169] Y. Sunantsuki, T. Matsuo, M. Nakamura, F. Kai, N. Matsumoto, J. P. Tuchagues; *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **71**, 2611-2619 (1998).
- [170] S. Filipek, K. Krzysko, M. K. Kalinowski, *Pol. J. Chem.*, **75**, 1887-1893 (2001)
- [171] G. Aromi, S. Bhaduri, P. Artus, J. C. Huffman, D. N. Hendrickson, G. Christov; *Polyhedron*, **21**, 1779-1786 (2002).
- [172] C. J. Pedersen; *J. Amer. Chem. Soc.*, **92**, 386-391 (1970).
- [173] M. J. Bennett, F. A. Cotton, P. Legzdins, S. J. Lippard; *Inorg. Chem.*, **7**, 1770-1776 (1968).
- [174] L. A. Berben, J. R. Long; *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 11588-11589 (2002).
- [175] J. J. Christensen, D. J. Eatough, R. M. Izatt; *Chem. Rev.*, **74**, 351-384 (1974).
- [176] A. Wong, S. Sham, S. Wang, G. Wu; *Can. J. Chem.*, **78**, 975-985 (2000).
- [177] N. S. Poonia, A. V. Bajaj; *Chem. Rev.*, **79**, 389-445 (1979).
- [178] K. Venkatasubramanian, K. Joshi, N. S. Poonia, W. R. Montfort, S. R. Ernst, M. L. Hackert; *J. Incl. Phen.*, **3**, 453-459 (1985).
- [179] M. Maneiro, "Fotosíntesis artificial: síntese de novos complexos miméticos", Tesis doctoral, USC (1998).

- [180] A. M. González-Noya, Novas vías de síntese de compostos de manganeso en estados de oxidación superiores, Tesis doctoral, USC (1999).
- [181] O. L. Hoyos-Saavedra, "Síntesis de complejos metálicos como posibles modelos de manganoenzimas", Tesis doctoral, USC (2001).
- [182] M. J. Rodríguez-Doutón, "Compuestos mono y heterodinucleares de Mn con ligandos N_2O_4 y N_3O_4 . Actividad peroxidasa", Tesis doctoral, USC (2004).
- [183] M. A. Vázquez-Fernández, "Síntesis, diversidad estructural, propiedades y actividad catalítica de complejos de manganeso con diferentes grupos funcionales", Tesis doctoral, USC (2012).
- [184] F. Ashmawy, C. A. McAuliffe, R. Parish, J. Tames, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 14-16 (1984).
- [185] C.-K. Tan, V. Newberry, T. R. Webb, C. A. McAuliffe; *J. Chem. Soc., Dalton Trans*, 1299-1303 (1987).
- [186] A. Ononye, A. McIntosh and J. Bolton, *J. Phys. Chem.*, **90**, 6266–6270 (1986).
- [187] P. Pospisil, D. Carsten and E. Jacobsen, *Chem. Eur. J.*, **2**, 974–980 (1996).
- [188] M. Awad and A. Anderson, *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 802–806 (1989).
- [189] R. C. Kapoor, B. S. Aggarwal, *Principles of polarography*, John Wiley, New York (1991).
- [190] G. Yin, A. Danby, D. Kitko, J. Carter, W. Scheper, D. Busch; *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 16245–16253 (2008).
- [191] M. Maneiro, M. R. Bermejo, M. I. Fernandez, A. M. Gonzalez-Noya, A. M. Tyryshkin and R. G. Pritchard, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, **629**, 285–290 (2003).
- [192] K. Ghosh, A. Eroy-Reveles, M. Olmstead and P. Mascharak; *Inorg. Chem.*, **44**, 8469–8475 (2005).

- [193] M. Corbella, G. Fernández, P. González, M. Maestro, M. Font-Bardia, H. Stoeckli-Evans; *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2203-2212 (2012).
- [194] Z. Guo, S. Kozlov, M. F. Lavin, M. D. Person, T. T. Paull; *Science*, **330**, 517-521 (2010).
- [195] M. Carboni, J.-M. Latour; *Coord. Chem. Rev.*, **255**, 186-202 (2011).
- [196] M. F. Zippies, W. A. Lee, T. C. Bruice; *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 4433-4445 (1986).
- [197] C.L. Hunter, R. Maurus, M.R. Mauk, H. Lee, E.L. Raven, H. Tong, N. Nguyen, M. Smith, G.D. Brayer, A.G. Mauk; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 3647 (2003).
- [198] B. Eulering, M. Schmidt, V. Pinkernell, U. Karst, and B. Krebs; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **35**, 1973-1974 (1996).
- [199] E.S. Ryabova, P. Rydberg, M. Kolberg, E. Harbitz, A.-L. Barra, V. Ryde, K. K. Andersson, E. Nordlander; *J. Inorg. Biochem.*, **99**, 852-863 (2005).
- [200] C.E. Hulme, M. Watkinson, M. Haynes, R.G. Pritchard, C.A. McAuliffe, N. Jaiboon, B. Beagley, A. Sousa, M.R. Bermejo, M. Fondo; *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1805-1814 (1997).
- [201] S. L. Dexheimer, J. W. Gohdes, M. K. Chan, K. S. Hagen, W. H. Armstrong, M. P. Klein, *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 8923-8925 (1989).
- [202] A.-L. Barra, D. Gatteschi, R. Sessoli, G. L. Abbati, A. Cornia, A. C. Fabretti, M. G. Uytterhoeven; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **36**, 2329-2331 (1997).
- [203] M. Maneiro, M. R. Bermejo, M. Fondo, A. M. González, M. Rey, J. Sanmartín; *Trans. Met. Chem.*, **26**, 120-126 (2001).
- [204] J. Zakzeski, A. L. Jongerius, B. M. Weckhuysen; *Green Chem.*, **12**, 1225-1236 (2010).
- [205] K. Kervinen, P. Lahtinen, T. Repo, M. Svanh, M. Leskela; *Catal. Today* **75**, 183-188 (2002).
- [206] A. Liu, X. Huang, S. Song, D. Wang, L. Xuemei, Y. Qu, P. Gao; *Spectrochim. Acta Part A*, **59**, 2547-2551 (2003).

- [207] L. Simandi, *Advances in Catalytic Activation of Dioxygen by Metal Complexes*; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, The Netherlands (2003).
- [208] H. Korpi, V. Sippola, I. Filpponen, J. Sipilä, O. Krausse, M. Leskeläm, M.; T. Repo; *Appl. Catal. A*, **302**, 250–256 (2006).
- [209] C. Crestini, A. Pastorini, P. Tagliatesta; *Eur. J. Inorg. Chem.*, 4477–4483 (2004).
- [210] F. Cui, D. Dolphin; *Can. J. Chem.*, **70**, 2314–2318 (1992).

**Catalizadores
biomiméticos
autoensamblados**
G. González-Riopedre

Capítulo **8**
Apéndice

**Catalizadores
biomiméticos
autoensamblados**
G. González-Riopedre

**APÉNDICE I
Manganese-Schiff
base complexes as
catalysts for water
photolysis**

Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis[†]

Gustavo González-Riopedre,^a M. Isabel Fernández-García,^a Ana M. González-Noya,^a M. Ángeles Vázquez-Fernández,^a Manuel R. Bermejo^b and Marcelino Maneiro.^a

Published in Physical Chemistry Chemical Physics, 2011, 13, 18069-18077 (DOI: 10.1039/c1cp21154d)

[†] In memory of the late Professor Charles A. McAuliffe

^a Departamento de Química Inorgánica, Facultade de Ciencias, Universidade de Santiago de Compostela, Avda. Alfonso X, Lugo E-27002.

^b Departamento de Química Inorgánica, Facultade de Química, Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, E-15782, Spain.

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

Abstract.

Four manganese(III)-Schiff base complexes (**1–4**) of formula $[\text{MnL}^n(\text{H}_2\text{O})_2]_2(\text{ClO}_4)_2 \cdot m\text{H}_2\text{O}$ ($n = 1–4$; $m = 0, 1$) have been prepared. The multidentate H_2L^n Schiff base ligands consist of 3R,5R-substituted N,N' -bis(salicylidene)-1,2-diimino-2,2-dimethylethane, where R = OEt, OMe, Br or Cl. The complexes have been thoroughly characterized by elemental analysis, mass spectrometry, magnetic susceptibility measurements, IR, UV, paramagnetic ^1H NMR and EPR spectroscopies. Other properties, including redox studies and molar conductivity measurements, have also been assessed. The crystal structure of **1** was solved by X-ray diffraction, which revealed the dimeric nature of the compound through μ -aqua bridges. The ability of these complexes to split water has been studied by water photolysis experiments, with the oxygen evolution measured in aqueous media in the presence of a hydrogen acceptor (*p*-benzoquinone), the reduction of which was followed by UV-spectroscopy. The discussion of the photolytic behaviour includes advances in the knowledge of the structural motifs and the chemical activity of this type of complex, as revealed by the development of several characterization techniques in the last decade. Parallel-mode Mn^{III} EPR shows that complexes **1–4** not only mimic reactivity but also share some structural characteristics from partially assembled natural OEC clusters.

Introduction.

The development of a catalyst for the production of oxygen from water is crucial in order to achieve environmentally clean fuel combustion.¹⁻³ The Oxygen Evolving Complex (OEC) is the native enzyme that catalyses this process in Photosynthesis and this is the most efficient system for splitting water catalytically.⁴⁻⁶ Modelling the OEC with artificial inorganic complexes is a powerful tool for testing different aspects and scientific hypotheses concerning the nature and behaviour of the OEC cluster,⁷⁻¹⁴ but this research also represents a way to develop a stable and highly active catalyst for electrochemical and photochemical water oxidation.¹⁵⁻¹⁸

The vast amount of work that is now being carried out in this field has been covered in the recent review articles listed above. The growing world energy demand, along with the need for control of gas emissions, explains the current relevance of this research, which has not always been supported to

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

the same extent in the last few decades. This idea can be illustrated with an example: Over the last decade a number of publications have appeared that were inspired by the $[(\text{bpy})_2\text{Mn}^{\text{III}}(\mu\text{-O})_2\text{Mn}^{\text{IV}}(\text{bpy})_2]^{3+}$ model (see, for instance references 19-22), but none of these papers refer back to the original work by Calvin in the seventies, at the time of the first oil crisis, when this model was first proposed for photosynthetic solar energy conversion.²³ However, Calvin's model has inspired scientists for decades; for example, in the eighties, Kaneko *et al.*²⁴ used this complex for water oxidation with Ce(IV) in a heterogeneous phase by adsorbing it into kaolin clay, in a way that seems to evoke more recent publications. Surprisingly, this paper has barely been cited in the last decade either, probably due to the lack of continuity in research into this area.

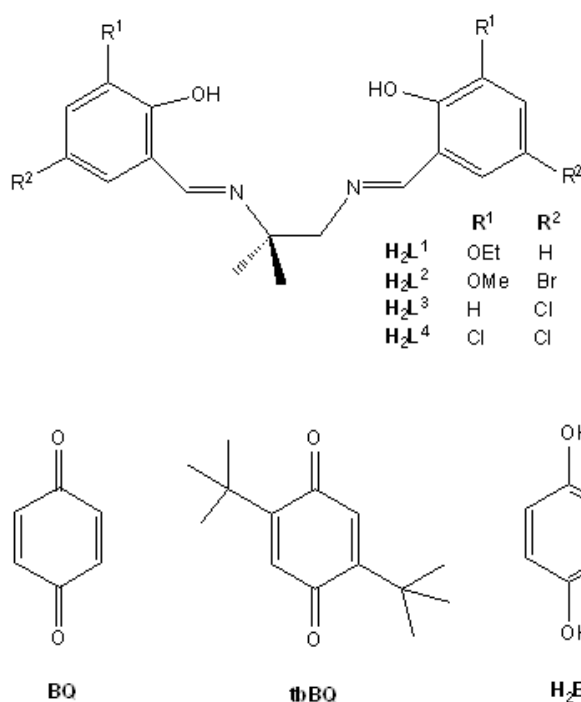
On the other hand, a significant part of the scientific community has been fascinated for years by artificial models with very complicated architectures. Simple models did not appear to be valid. The first expiration date of the original Calvin model seemed to be just several months after its proposal²⁵ but nearly four decades later it is still revisited often. In fact, simple models have afforded some of the best results for water oxidation.^{11,15,18,26,27}

McAuliffe and co-workers proved the suitability of the manganese complexes of tetradentate Schiff base ligands (with an N_2O_2 donor set) as catalysts for water photolysis.^{28,29} Schiff bases are well-known and economical organic ligands and some of them can reproduce the chemistry of the most expensive porphyrins.^{2,11} The energetics involved in the formation of the azomethine group and its stability versus primary amines would explain why Nature is likely to choose these organic residues instead of other more unfavourable systems. Besides, this type of ligand allows very versatile designs, which are able to modify their basic character or steric properties depending on the nature of the substituents on the aromatic rings.³⁰ The strong chelate effect provided by these ligands confers an increased robustness on their complexes in comparison to other systems.

Herein we report four novel manganese-Schiff base complexes that are able to coordinate water molecules. The Schiff bases employed are depicted in Scheme 1. The new complexes were found to possess photolytic activity, as measured through the oxygen evolution from these systems in

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

aqueous media. These complexes represent a model based on previous findings in water photolysis²⁸ and they produce similar activity. However, in the present work, the discussion concerning the photolytic behaviour encompasses the advances made in recent years, particularly the new insights on the structural features ascertained through the development of characterization techniques, as well as our own experience in manganese-Schiff base systems as catalysts for other manganese-redox-based catalytic processes.³¹⁻³³



Scheme 1. Representation of the Schiff bases (up) and p-benzoquinone (BQ), 2,5-tert-butyl-p-benzoquinone (tbBQ) and hydroquinone (H₂BQ).

Results.

The multidentate Schiff bases, H₂Lⁿ (n = 1–4), used in this study readily react with manganese perchlorate, in the presence of sodium hydroxide and air, to give compounds **1–4**. Elemental analysis of the complexes indicated that they have the general stoichiometry [MnLⁿ(H₂O)₂]₂(ClO₄)₂.mH₂O, where L signifies the ligand in its dianionic form

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

and $m = 0, 1$. The analytical, magnetic, spectroscopic and mass spectrometry data are given in the Experimental Section.

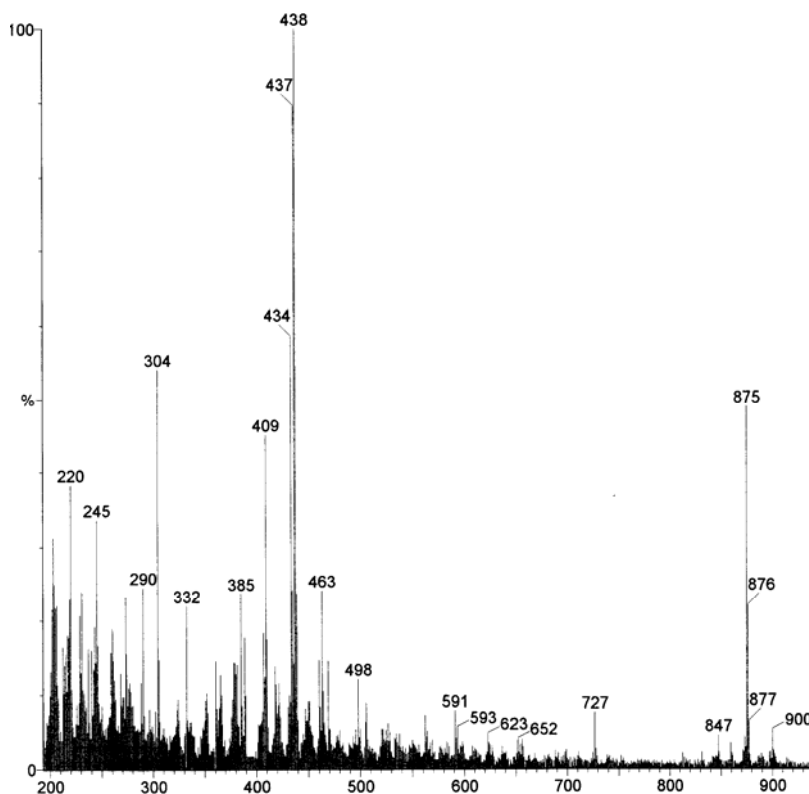


Figure 1. FAB mass spectrum of **1**, showing $[\text{MnL}]^+$ and $[\text{Mn}_2\text{L}_2]^+$ peaks.

All of the complexes exhibit room temperature magnetic moments close to the spin only value of 4.9 B.M. expected for a high spin magnetically dilute d^4 manganese(III) ion. Such behaviour is typical for this class of compound. Previous magnetic studies on related compounds between 300 and 5 K indicated little or no antiferromagnetic interaction between the metal centres.^{30,34} The room temperature magnetic moments observed in this study do not give cause to suppose that any different magnetic behaviour should occur. All of the FAB mass spectra show peaks relating to fragments of the form $[\text{MnL}]^+$, thus indicating ligand coordination to the metal centre. Furthermore, some complexes exhibit peaks due to the fragment $[\text{Mn}_2\text{L}_2]^+$, which can be tentatively attributed to the presence of dimeric species in solution (Figure 1).

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

All of the complexes show similar IR features, with a strong band observed between 1626–1612 cm^{-1} attributable to $\nu(\text{C}=\text{N}_{\text{imine}})$, which is 6–18 cm^{-1} lower than the corresponding band in the free ligand. A shift in the $\nu(\text{C}-\text{O}_{\text{phenol}})$ band to higher frequency (6–9 cm^{-1}) is also observed (Figure 2). These data suggest the coordination of the Schiff base in its dianionic form to the metal through the inner phenol oxygen and the imine nitrogen atoms. The IR spectra also show broad unsplit bands at ca. 1120 cm^{-1} along with bands at 630 cm^{-1} , which is indicative of the presence of the uncoordinated perchlorate anion. The presence of a broad band at about 3400 cm^{-1} is associated with coordinated and/or solvated water molecules.

The electronic spectroscopic data are very similar for compounds **1–4**, indicating that the Mn(III) complexes behave as high-spin octahedral d^4 systems that probably suffer a significant Jahn–Teller distortion, which affects the spectra and complicates their interpretation (Figure 3). A broad shoulder at around 540–600 nm ($\epsilon = 120\text{--}500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) is attributable to a d-d transition, while it is reasonable to assign the broad band at 440–480 nm ($\epsilon = 2400\text{--}3100 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) to the phenolate \rightarrow Mn(III) charge-transfer. The peak at around 330 nm ($\epsilon = 7000\text{--}10000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) can be assigned to an intraligand $\pi\text{-}\pi^*$ transition. The energy and intensity of the LMCT and d-d transitions are consistent with those reported for related Mn^{III} complexes.^{35,36}

Paramagnetic ^1H NMR studies of the complexes serve to substantiate the formation of the manganese(III) complexes.^{31,37-39} The spectra contain between two and three upfield proton resonances, outside the diamagnetic region ($\delta = 0\text{--}14$ ppm) and these are due to the isotropically shifting ligand protons for high-spin manganese(III) complexes in an octahedral field. The signals must arise from the H4 and H5 protons of the aromatic phenoxy rings. The signals between -20.73 and -30.52 ppm are due to the H4 protons, while the resonances from -15.70 to -21.50 ppm are due to H5 protons. The signal corresponding to the H5 protons appears to be split into a doublet owing to the asymmetric nature of the Schiff base ligand in these complexes (Figure 4).³⁵

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

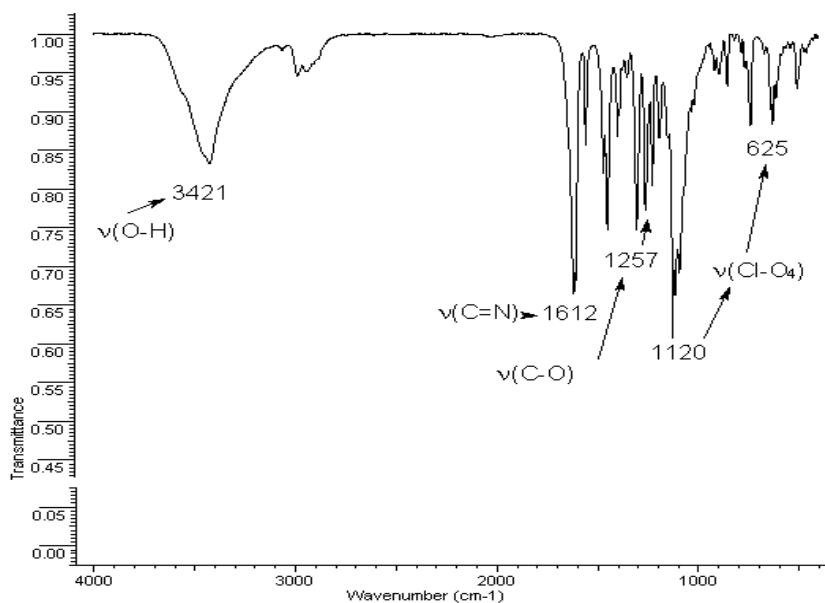


Figure 2. IR spectrum of 1.

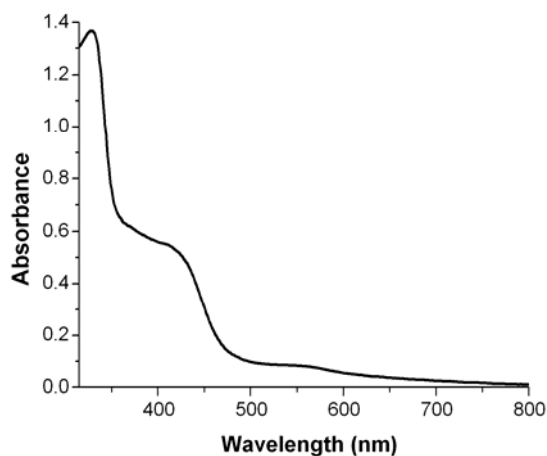


Figure 3. UV spectrum (in methanol) of 1 (2×10^{-4} M).

The electrochemical behaviour of complexes **1–4** with both reduction and oxidation waves can be defined as quasi-reversible as their peak to peak separation varies with the scan rate (a slower scan rate gives rise to more reversible character). Normal pulse voltammetry can be applied to such systems and provides additional proof of the oxidation state of the

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

manganese in the former complexes. Anodic and cathodic currents were observed when the initial potentials were more negative than the wave range. However, when the initial potentials were more positive than the wave voltage range, only cathodic currents were observed (Figure 5). These data indicate that in solution only the oxidised forms of the redox systems exist, i.e. manganese(III).

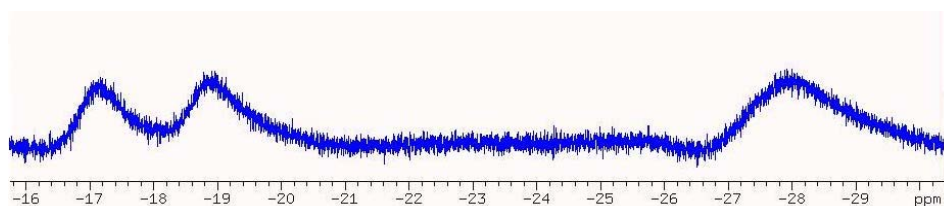


Figure 4. Paramagnetic ^1H NMR spectrum of **4**.

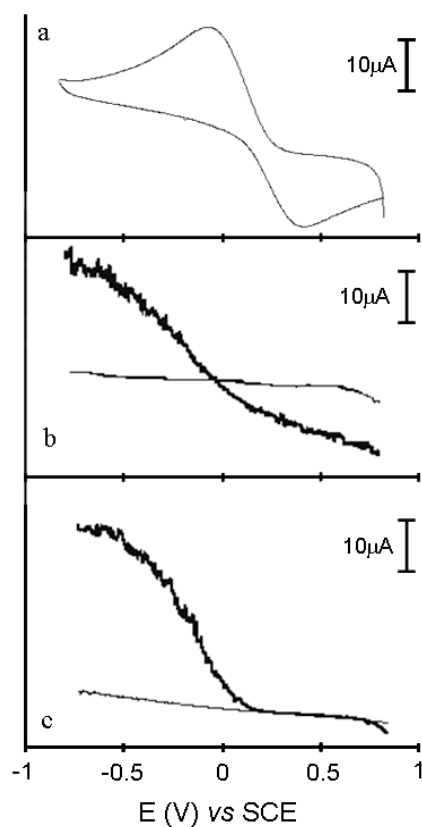


Figure 5. a) Cyclic voltammogram for **4** at a scan rate of 0.05 V s^{-1} ; b) Normal pulse voltammogram (NPV) for **4** using an anodic scan; c) NPV for **4** using a cathodic scan.

Crystal structure of 1.

Recrystallisation of $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]_2(\text{ClO}_4)_2$ (**1**) from methanol by slow evaporation afforded reddish-brown crystals from which we determined the molecular structure. A stick view of **1** is shown in Figure 6. The main bond lengths and angles are listed in Table 1. Experimental details are given in Table 2.

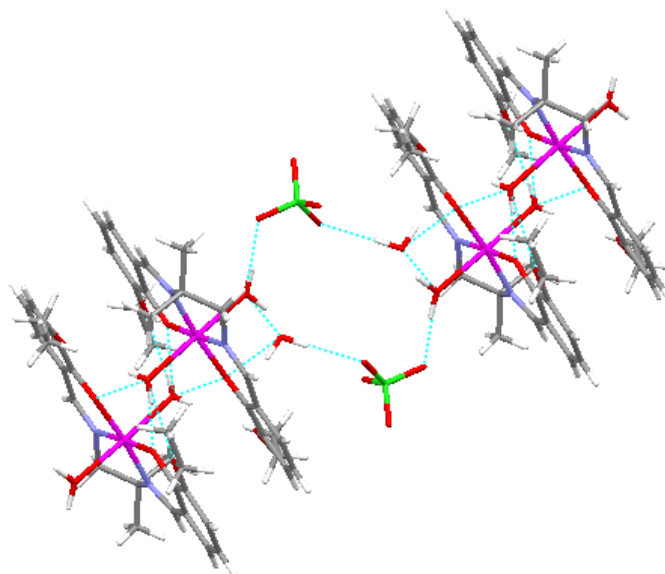


Figure 6. Stick diagram for **1** showing the hydrogen bonding between adjacent $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]_2^{2+}$ dimeric units through perchlorate anions and water lattice molecules.

The crystallographic data show that the geometry around the manganese ion is distorted octahedral. The coordination sphere around each manganese centre comprises the planar Schiff base ligand, which is tightly bound to the metal ion through the inner N_2O_2 compartment by the N_{imine} and O_{phenol} atoms. The equatorial $\text{Mn}-\text{N}_{\text{imine}}$ (1.976–1.986 Å) and $\text{Mn}-\text{O}_{\text{phenol}}$ (1.873–1.882 Å) bond lengths are typical of such complexes^{33,38} and corroborate the bisdeprotonation of the ligands.

The coordination sphere around each manganese centre is completed by capping water molecules. The $\text{Mn}-\text{O}_{\text{water}}$ distances of 2.254 and 2.271 Å are considerably longer than the equatorial $\text{Mn}-\text{O}$ bond lengths quoted above, indicating that the Jahn–Teller elongation expected for a high-spin d^4

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

manganese(III) ion is present in these complexes. The deviation from an ideal octahedral geometry is also revealed by the range of angles observed around the metal centre (from 82.8 to 93.54°), as well as by the interaxial OW–Mn–OW angle of 178.45°. The perchlorate anion constitutes the second coordination sphere.

Mn1–N8	1.986(5)	Mn1–O27	2.254(5)
Mn1–N11	1.976(5)	Mn1–O28	2.271(5)
Mn1–O19	1.882(4)	C7–N8	1.300(7)
Mn1–O21	1.873(4)	C12–N11	1.275(8)
O21–Mn1–O19	93.54(15)	O19–Mn1–O27	87.26(17)
O21–Mn1–N11	92.96(17)	N11–Mn1–O27	89.6(2)
O19–Mn1–N11	172.82(18)	N8–Mn1–O27	89.8(2)
O21–Mn1–N8	175.71(18)	O21–Mn1–O28	89.36(17)
O19–Mn1–N8	90.75(18)	O19–Mn1–O28	91.23(18)
N11–Mn1–N8	82.8(2)	N11–Mn1–O28	91.91(19)
O21–Mn1–O27	90.37(18)	N8–Mn1–O28	90.61(19)
O27–Mn1–O28	178.45(16)		

Table 1. Selected bond lengths (Å) and angles (°) for **1**

The superstructure of the complexes involves associations through a combination of π -aryl interactions and hydrogen bonds between capping water and outer phenoxy and axial water oxygen atoms of the neighbouring Schiff base ligand. The distances and angles involving hydrogen bonding are shown in Table 3. The oxygen atom of an axial water molecule O(28) establishes a hydrogen bond with O(20) and O(22) of the ethoxy groups and with O(19) and O(21) of the phenoxy group of the ligand of the neighbouring complex, thus acting as μ -aquo bridges. The dimeric units are also stabilized through π -stacking interactions between the aromatic rings. This results in Mn \cdots Mn distances of about 4.917 Å, which are considerably shorter than the 10 Å for monomeric compounds,⁴⁰ but they are longer than those in other complexes with μ -phenoxo bridges.³⁰ These types of $[\text{MnL}(\text{H}_2\text{O})_2]_2^{2+}$ systems have previously been reported^{31,33} as μ -aqua dimers. However, these Mn \cdots Mn distances are too long to establish intermetallic interactions between

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

neighbouring manganese ions, a situation in accordance with the non-antiferromagnetic behaviour shown by the magnetic studies.

Empirical formula	C ₂₂ H ₂₈ ClMnN ₂ O ₁₀
Formula weight	590.89
Temperature [K]	293(2)
Wavelength [Å]	1.5418
Crystal system	Monoclinic
Space group	P21/c
<i>a</i> [Å]	13.7192(13)
<i>b</i> [Å]	15.7383(10)
<i>c</i> [Å]	13.6309(10)
α [°]	90
β [°]	119.689(4)
γ [°]	90
Volume [Å ³]	2556.8(3)
Z	4
D _{calcd.} [g cm ⁻³]	1.535
μ [mm ⁻¹]	5.715
F(000)	1232
$\theta_{\min/\max}$ [°]	0.982/65.089
Total data	3572
Unique data	3020
R _{int}	0.0984
Restraints/parameters	7/361
GOF	1.066
Final R indices [<i>I</i> >2 σ (<i>I</i>)]	R ₁ = 0.0794, wR ₂ = 0.2112
R indices (all data)	R ₁ = 0.0899 wR ₂ = 0.2202

Table 2. Crystal data and structure refinement for **1**.

Moreover, the μ -aqua dimers are interconnected by hydrogen bonds involving the perchlorate counterions. In this way, pairs of neighbouring μ -aquo dimers are linked by two perchlorate anions. This hydrogen bonding scheme arises from the interactions of two perchlorate ions, which establish two pairs of hydrogen bonds to two adjacent μ -aquo dimers.

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

D–H...A	d(D–H)	d(H...A)	d(D...A)	<(D–H...A)
O27–H27A...O32 ^c	0.89	1.96	2.8278	164
O27–H27B...O29 ^b	0.89	1.97	2.7785	151
O28–H28A...O19 ^a	0.79	2.32	2.9813	142
O28–H28A...O20 ^a	0.79	2.41	3.0739	143'
O28–H28B...O21 ^a	0.77	2.18	2.8821	153
O28–H28B...O22 ^a	0.77	2.39	3.0018	139
O29–H29A...O19 ^d	0.85	2.29	2.9752	137
O29–H29A...O20 ^d	0.85	2.46	3.2467	154
O29–H29B...O34	0.85	2.02	2.8927	175

Symmetry operations: ^a -x, 1-y, -z; ^b -1+x, 1/2-y, -1/2+z; ^c 1-x, 1/2+y, 3/2-z; ^d 1-x, 1-y, 1-z

Table 3. Selected hydrogen bond geometry (Å, °) for **1**.

EPR spectroscopy.

Parallel-mode EPR (microwave field H_1 is parallel to the static field H_0) enables one-electron $\Delta M_S = 0$ transitions to be detected that are hardly observable with a conventional EPR method ($H_1 \perp H_0$, perpendicular mode). Mn^{3+} has an integer electron spin, $S = 2$, and has been shown for powdered samples to develop a characteristic sextet pattern in parallel-mode EPR.⁴¹ The sextet is centred at around $g_{eff} = 8$ and is split by a hyperfine interaction $A = 44\text{--}55$ G due to the Mn nucleus ($I = 5/2$). A similar sextet is also detectable by perpendicular-mode EPR but the signal intensity is significantly weaker and the peak resolution is worse.

The parallel-mode EPR spectrum of **1** is shown in Figure 7. Only the low-field portion of the spectrum is shown, since additional lines were not detected at higher fields. The centre position of the sextet ($g_{eff} = 8.09$) and hyperfine splitting ($A_{||} = 44$ G) are identical for all of the complexes and are close to those previously reported for similar compounds.^{32,42}

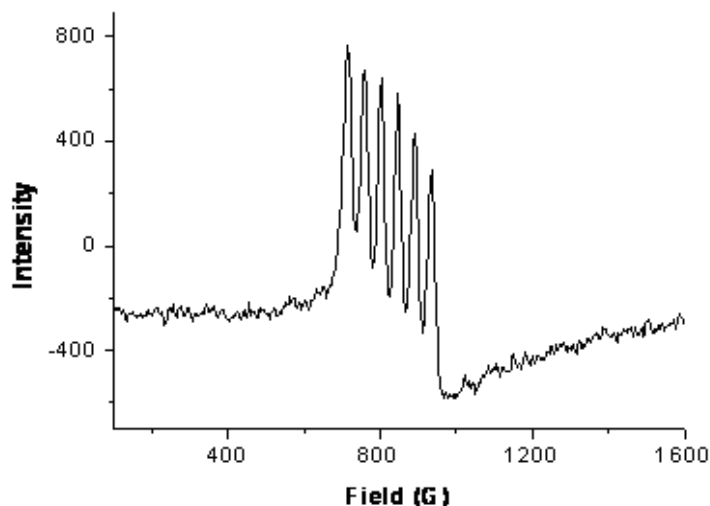


Figure 7. Parallel-mode EPR of **1** in toluene:dmf:EtOH (2:1:drop) solution. Conditions: frequency, 9.37 GHz; T = 9 K; 20 mW microwave power.

Water photolysis experiments.

The course of the water photolysis experiments was followed in two ways: quantitative oxygen evolved and variation of the electronic spectrum of the quinone during photolysis. The experimental setup was improved with respect to the original experiments by McAuliffe and co-workers^{28,29} in order to obtain better sealing of the system (Figure 8). The use of a methacrylate bath allows magnetic stirring and avoids the use of a mechanical stirrer, since this latter option has a detrimental effect on the reproducibility of the dissolved oxygen measurements. On the other hand, the use of a flow cell enhances the airtight nature of the experimental setup for the withdrawal of aliquots for UV monitoring.

The reduction of p-benzoquinone (BQ) to hydroquinone (H₂BQ) can be easily followed by UV spectroscopy (Figure 9). BQ in water has a major absorption at 246 nm ($\epsilon = 2.2 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), which decreased during the experiments, whilst a characteristic hydroquinone peak at 290 nm developed (Figure 10). Photolysis of an aqueous solution containing only BQ leads to a slow decrease in the amount of BQ and to the formation of a mixture of H₂BQ and 2-hydroxy-p-benzoquinone⁴³ without the generation of molecular oxygen.

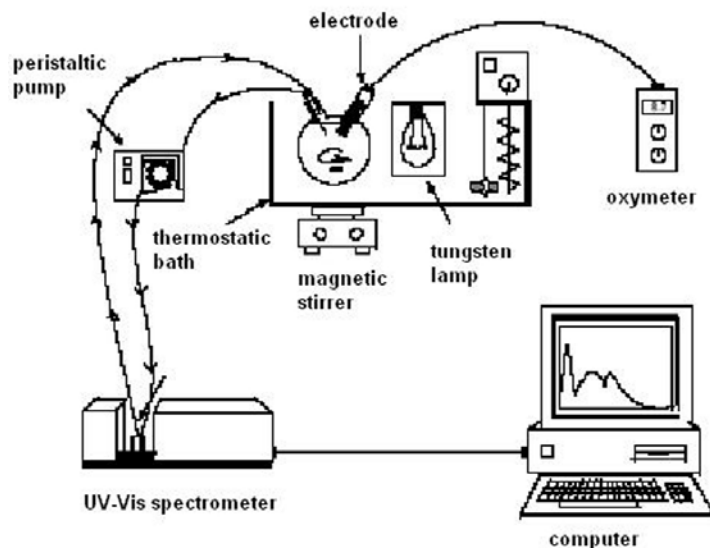


Figure 8. Setting up of the photolytic experiments.

The time courses of oxygen evolution on irradiating solutions of complexes **1–4** containing BQ are shown in Figure 11. Oxygen was not evolved in the absence of BQ in the present studies. The use of 2,5-tert-butyl-p-benzoquinone (tbBQ) instead of BQ did not generate dioxygen either.

The concentration of dioxygen in the solutions during the experiments increased linearly during irradiation, but when the light was switched off the evolution of dioxygen into the solution fell sharply; on starting irradiation once more the dioxygen evolution rate returned to the level originally observed (Figure 12).

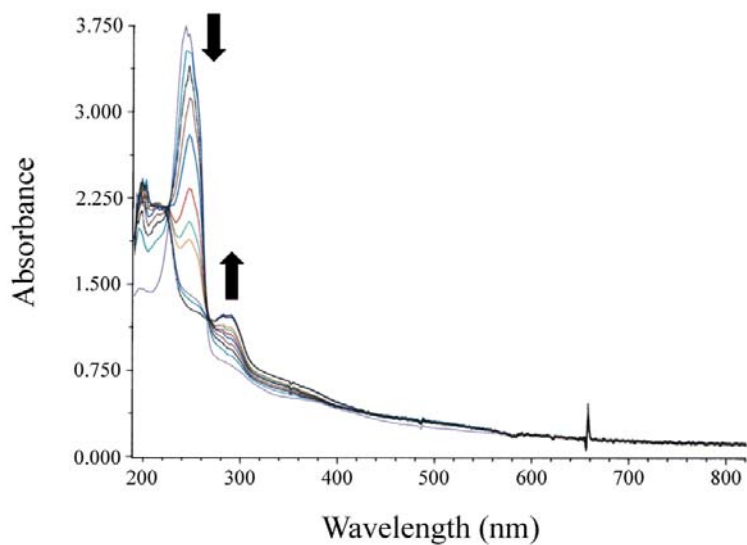


Figure 9. Evolution of the UV spectra during water photolysis experiments, showing the decrease of the 246 nm band (disappearance of BQ) and increase of the 290 nm band (formation of H₂BQ).

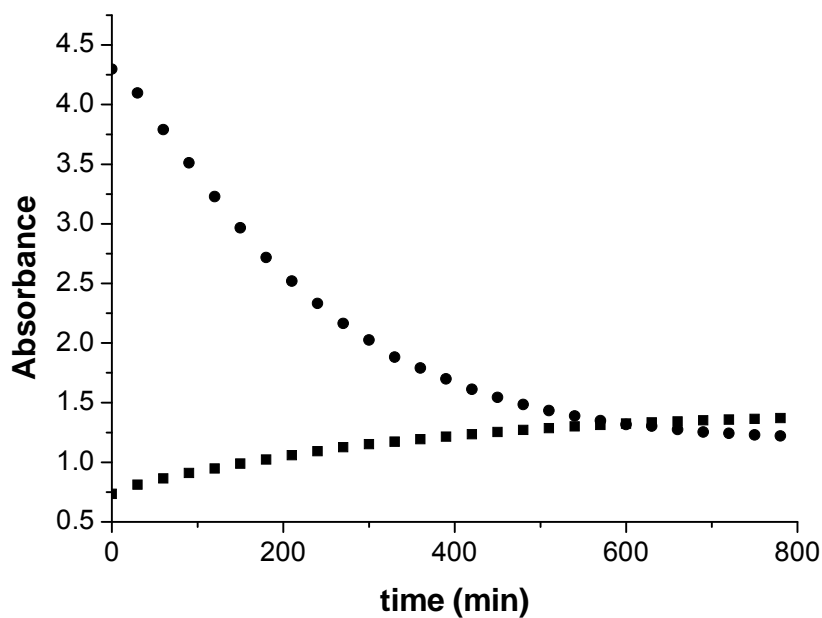


Figure 10. Variation of the absorbance at 246 nm (●) and at 290 nm (■) versus time.

Discussion.

Structural studies in solution.

An initial discussion point for the catalytic behaviour of these compounds concerns the original structure of **1–4** in solution. Some authors proposed for similar compounds that the dimeric structure found in the solid state by X-ray crystallography is not preserved in solution.⁴⁴ This point could be supported, for instance, by molar conductivity measurements for the complexes (in the range 85–97 μS for the complexes reported here), which are consistent with the presence of 1:1 electrolytes.⁴⁵ Nevertheless, these measurements were carried out on samples in the coordinating solvent DMF, and this solvent could interfere significantly in the structure of these complexes since the lability (and solvent exchange) of the axial positions is a well known phenomenon for this type of compound.⁴⁶ In fact, other techniques suggest that the μ -aqua dimeric structures are retained in solution, e.g. the dimeric peaks found by FAB mass spectrometry using meta-nitrobenzyl alcohol as liquid matrix, or the band observed in the electronic spectra in water at about 550–600 nm, which is associated with the existence of these dimers in solution.⁴⁷

Moreover, a dimeric nature in solution is also suggested by electrochemical studies. Logarithmic calculations above the limit current of the quasi-reversible wave in the normal pulse voltammogram have been reported for monomeric Mn(III) complexes⁴⁸ comparable to the compounds presented here. The results show that a one-electron process is responsible for this wave, which can be written as $[\text{Mn}^{\text{III}}] \rightarrow [\text{Mn}^{\text{II}}]$. However, the same treatment applied to the quasi-reversible processes of **1–4** provides a number of electrons close to two (as the rate of reversibility decreases the result of the logarithmical treatment should be interpreted with caution). A two electron oxidation is not expected for monomeric complexes, but a two one-electron redox processes $[\text{Mn}^{\text{III}}, \text{Mn}^{\text{III}}] \rightarrow [\text{Mn}^{\text{II}}, \text{Mn}^{\text{II}}]$ from dimeric species can explain these redox waves. The previously reported monomeric compounds and the present complexes were all measured under the same conditions with approximately equal numbers of moles of manganese. However, the current intensity of the peaks is different. This intensity obeys the Randles–Sevcik equation⁴⁹ and all factors in this equation are similar for all of the complexes,

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

except for the diffusion coefficient of each. We found that complexes formulated as monomeric species exhibit higher current intensities in their redox waves than **1–4**. This behaviour is attributed to the monomeric nature of the first type of complex and this gives rise to a higher diffusion coefficient than for **1–4**, which probably have a dimeric structure in solution.

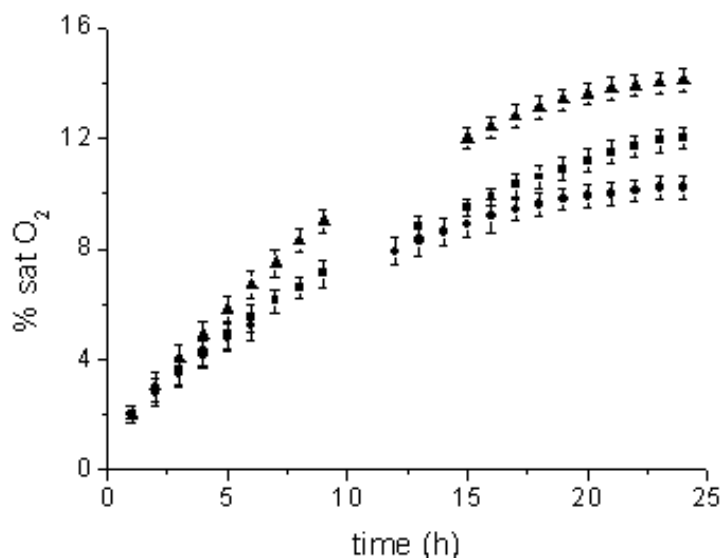


Figure 11. Plot of percentage O₂ dissolved in solution vs time for complexes **1** (♦), **3** (■) and **4** (▲).

We also carried out peroxidase activity tests with **1–4** and found significant activity using ABTS [2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid diammonium salt] as a water-soluble trap. The oxidation of the hydroperoxide to generate dioxygen in the peroxidase experiments involves an intramolecular two-electron transfer reaction that is forbidden for monomeric Mn(III) complexes.³¹ We conclude that **1–4** should preserve their dimeric structure in solution, either completely or to significant extent.

The coordination environment around the metal ion is also a relevant feature for catalysis. Parallel-mode EPR has proven to be a powerful tool to investigate integer-spin paramagnetic species as Mn³⁺. The spectra of this metal ion are interpreted taking into account that the zero-field splitting (ZFS) dominates the spin Hamiltonian of Mn³⁺. ZFS was reported to be about $D \sim 3.4\text{--}5.0 \text{ cm}^{-1}$ for Mn³⁺ in tetragonal complexes, while the electron Zeeman

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

interaction in X-band EPR magnetic fields is an order of magnitude smaller, $0.2\text{--}0.3\text{ cm}^{-1}$, and the Mn hyperfine term is $\sim 0.1\text{ cm}^{-1}$.⁵⁰⁻⁵²

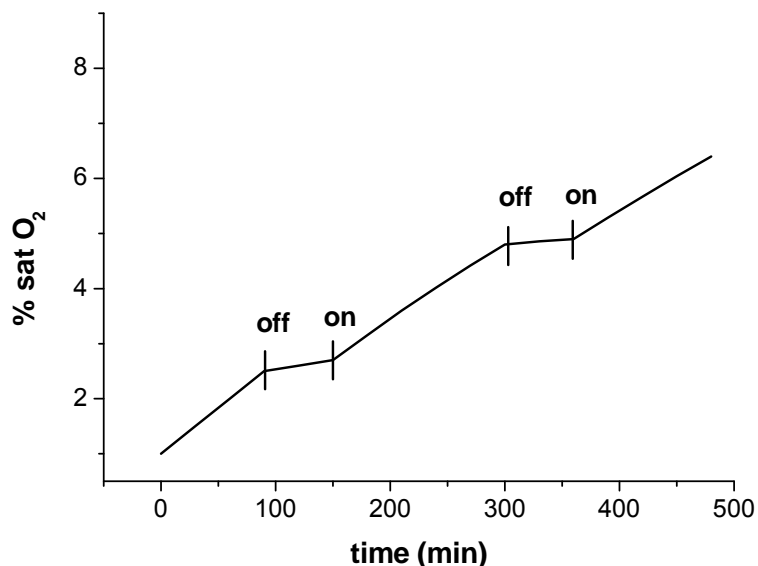


Figure 12. Plot of dissolved O₂ versus time for irradiation of a solution of **4** and benzoquinone in deoxygenated distilled water. The momentums of *light off* and *light on* are marked in the figure.

The case where $S = 2$ in strong ZFS has been considered in detail, and the expressions for the energy levels have been derived to the second order in perturbation theory. Strong ZFS splits the spin levels into two non-Kramer (NK) doublets, nominally $M_S = \pm 1$ and $M_S = \pm 2$ states, and a singlet $M_S = 0$ state. The splitting between the doublets and the singlet is large in comparison to the X-band EPR microwave quantum and, therefore, inter-doublet and singlet-to-doublet transitions are *not* allowed. The only transitions allowed are those between the levels within each NK doublet. With the magnetic field oriented along the principal axis of the ZFS tensor ($D \parallel H_0$), these transitions are centred at⁵³ for the $M_S = \pm 1$ and $M_S = \pm 2$ NK doublets, respectively. The transitions $g_{eff(1)}$ or $g_{eff(2)}$ can only be observed using parallel-mode EPR and even then only if the splitting between the levels in the respective doublet at zero field, $6E$ or $3E^2/D$, does not exceed the microwave quantum, $h\nu_0$. In the case of negligible E ($h\nu_0 \gg 6E$ and $3E^2/D$), the transitions are centred exactly at $g_{eff(1)} = 2g_{\parallel} \sim 4.0$ and at $g_{eff(1)} = 4g_{\parallel} \sim 8.0$. In frozen solutions, Mn³⁺ complexes are present with many different orientations

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

of the ZFS tensor relative to the magnetic field direction. Each orientation resonates at different g_{eff} , which results in a field-extended “powder” EPR spectrum. In practice, however, only the resonances of eqn (1) for the complexes with $D||H_0$ are sharp and observable in the powder spectrum.

$$g_{eff(1)} = 2g_{||} \left[1 + \frac{36E^2}{(h\nu_0)^2 - 36E^2} \right]^{1/2} \quad (1)$$

$$g_{eff(2)} = 4g_{||} \left[1 + \frac{(3E^2/D)^2}{(h\nu_0)^2 - (3E^2/D)^2} \right]^{1/2} \quad (2)$$

The signal of **1-4** at $g_{eff} = 8.09$ should be assigned to $g_{eff(2)}$. Using (1) and assuming typical values of $D \sim 3.4\text{--}5.0 \text{ cm}^{-1}$ and $g_{||} = 1.99$,⁵⁴ a value of $E = 0.25\text{--}0.31 \text{ cm}^{-1}$ can be estimated ($h\nu_0 = 0.31 \text{ cm}^{-1}$ corresponds to $\nu_0 = 9.37 \text{ GHz}$ in our experiments). Thus, significant rhombic splitting within the $M_S = \pm 1$ NK doublet ($6E = 1.5\text{--}1.8 \text{ cm}^{-1}$) explains the absence of the second $g_{eff(1)}$ transition in the spectra. The $E/D = 0.05\text{--}0.09$ is indicative of ZFS rhombicity in frozen solutions. Slight rhombicity has also been observed for substitutional Mn^{3+} in rutile single crystal ($E/D = 0.04$)⁵⁵ and $\text{Mn}^{3+}(\text{dibenzoylmethane})_3$ in polycrystalline powder ($E/D = 0.06$).⁵⁴ In the latter two cases, Mn^{3+} has an approximately tetragonal coordination, with two axial O ligands that are slightly more distant than the four equatorial O ligands.

On the other hand, the small⁵⁵ Mn hyperfine coupling of 43–44 G in **1-4** is also indicative of the electronic ground state ${}^5B_{1g}$ (the “hole” residing in the $d_{x^2-y^2}$ orbital), and thus these compounds are either five-coordinate distorted square-pyramidal complexes or six-coordinate distorted tetragonally elongated complexes,⁵⁶ with two axial O atoms from coordinated water molecules and two O and two N atoms from a tetradentate Schiff base ligand that is equatorially coordinated to the ion.

Photolytic studies.

Light absorption at 425 nm in aqueous solution causes a $\pi^* \leftarrow n$ transition and this is responsible for the H abstraction from H_2O by optically

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

excited BQ (BQ^{*}). For BQ in the ground state, an endothermic reaction, uphill by 1.6 eV, was found for the first H abstraction. A stability gain of 1.5 eV occurred for this process when BQ had an electron promoted from an oxygen lone-pair orbital to a ring π^* orbital. The hole site has the ability to abstract a hydrogen atom from water to form a semiquinone without the energetic expense of promoting a electron to the ring π^* orbital, as must occur for ground state BQ.⁴⁷

Awad and Anderson carried out a quantum chemical study into the photogeneration of O₂ from H₂O coordinated to Mn^{III}-Schiff base complexes in the presence of BQ.⁴⁷ They concluded that H₂O bonded to Mn^{III} as bridges in the Mn^{III} dimer (an identical model to the structure of **1** reported here; **I** in Scheme 2) starts off the reaction sequence by transferring a hydrogen atom to an O⁻ created by a $\pi^* \leftarrow n$ optical excitation in BQ (see Figure 13). This process oxidizes Mn^{III} to Mn^{IV} and creates tightly bound OH⁻ groups that are polarized sufficiently for easy deprotonation. It is the formation of the strong Mn-OH bond that prevents the formation of 2-hydroxy-p-benzoquinone, as occurs in aqueous solution in the absence of the active Mn complexes. More recently, catalytic studies on olefin epoxidation using this type of complex also revealed the possibility of hydrogen abstraction by Mn^{IV} complexes with terminal hydroxo ligands.⁵⁷

A precipitate was not observed during or after the irradiation experiments catalysed by **1-4**. McAuliffe initially suggested the formation of [Mn^{III}L]₂O (where L is the Schiff base) at the end of their experiments, although he subsequently proposed a μ -phenoxy-bridged manganese(III) dimer as the final product (**II** in Scheme 2).²⁸ This latter arrangement for Mn^{III}-Schiff base complexes was almost unknown when McAuliffe and co-workers reported their first irradiation experiments but μ -phenoxy-bridged manganese(III) dimers subsequently became quite common dispositions found by X-ray crystallography.^{30,42,58}

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

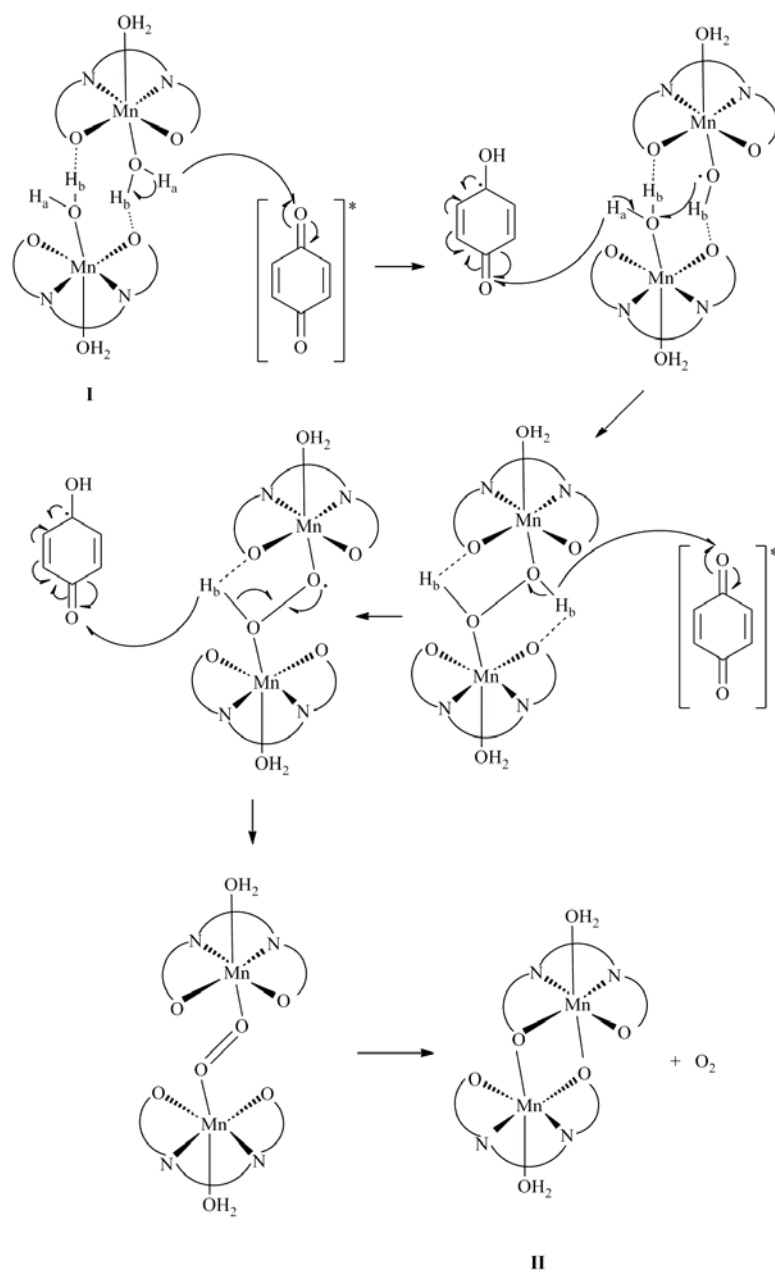
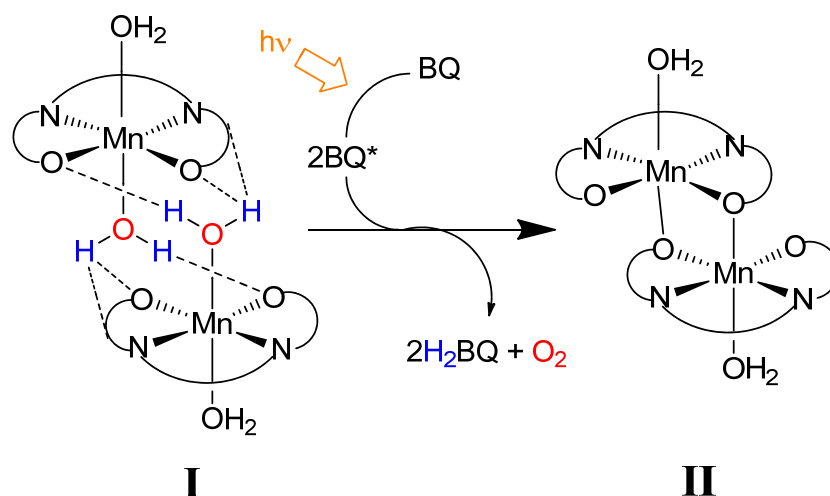


Figure 13. Proposed mechanism for the evolution of dioxygen and conversion of I to II.

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis



Scheme 2.

On the basis of the different studies carried out on this type of water photolysis experiment, we propose the overall reaction depicted in Scheme 2 – as suggested previously by McAuliffe and us²⁸ in a previous tentative mechanism – in an attempt to explain our findings. There is strong evidence for successive hydrogen abstractions from water molecules coordinated to the metal ion by optically excited BQ (BQ*), but uncertainty remains about the manganese complex intermediates formed during this process. We have suggested that the activation state would be a transient dioxygen-bridged manganese complex, which would almost instantaneously decompose to produce dioxygen and a μ -phenoxy-bridged manganese(III) dimer. Recently, μ_2 -oxo-bridged manganese dimers have been crystallographically solved⁵⁹ and this supports the feasibility of our proposal.

The fact that dioxygen is not evolved when tbBQ is used instead of BQ indicates a steric requirement in the hydrogen abstraction process. BQ is probably able to enter into the coordination cleft of the μ -aquo dimers, a situation that is not possible for the sterically hindered quinone (Figure 14). This observation further supports the existence of aqua-bridged dimers in solution.

Our studies with this type of model did not aim to reproduce the structural features of the native OEC. However, it is noteworthy that the EPR characteristics of complexes 1–4 ($g_{\text{eff}} = 8.1$ and $A_{\parallel} = 44$ G) are almost

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

identical to those reported ($g_{\text{eff}} = 8.2$ and $A_{\parallel} = 44$ G) for Mn^{III} bound at the high-affinity Mn site in photosystem II (corresponding to the first intermediate of the Mn_4 cluster photo-assembly in PSII).⁵⁶ This indicates that the complexes reported here have a ligand coordination structure similar to Mn^{III} in PSII, particularly a six-coordinate distorted tetragonally elongated structure or a five-coordinate distorted square-pyramidal structure.

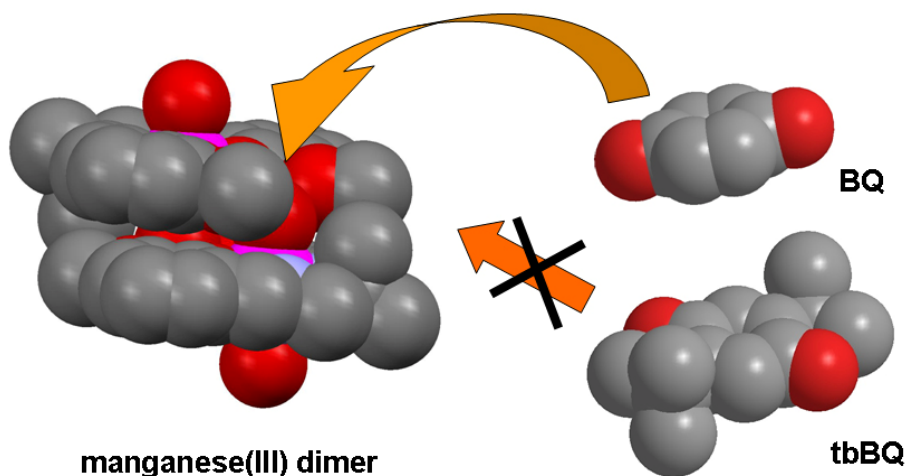


Figure 14. Spacefilling diagrams of the manganese(III) dimer, BQ and tbBQ, showing the feasible approach of BQ to the coordination cleft. The μ -aqua-bridges are in a cleft with one hydrogen pointing outwards from each side of the dimer.

The rate of tetragonal elongation is also evidenced in the solid state by X-ray crystallography. If we consider the rhombicity factor as the ratio between the manganese-axial oxygen distances and the manganese-equatorial oxygen distances of two dozen or so reported complexes of this type, we calculated values ranging from 1.159 to 1.27. The steric hindrance of the Schiff base is decisive in modulating this rhombicity. We also found a correlation between the peroxidase activity and the rhombicity factor.³¹ The peroxidase activity is favoured by a higher $\text{Mn}-\text{O}_{\text{axial}}$ distance since the latter is indicative of a labile ligand that can exchange with the H_2O_2 substrate. In the case of the photolytic activity the H_2O is already coordinated to the manganese ion, but the rhombicity should probably be taken into account for subsequent steps in the reaction, such as the feasible $\text{Mn}^{\text{IV}}-\text{OH}$ intermediates and their subsequent reactions.

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

Another factor that can be modulated by the choice of a suitable Schiff base is the rate of reversibility in the electrochemical processes of the complexes. The electron-donating or -withdrawing character of the substituents in the phenyl rings induces stabilization of a particular oxidation state for manganese and/or a variation in the redox reversibility of the complex.³²

Control of all these variables in the design of new compounds inspired by this type of complex is the key issue to achieve more efficient water photolysis systems. The control of the reconstitution of the μ -aqua dimers from the μ -phenoxy-bridged manganese dimers would also allow an increase in the number of turnovers in the catalytic cycle. In turn, this would lead to the development of suitable catalysts from a technological perspective.

Experimental.

Materials.

All the starting materials (Aldrich) and solvents (Probus) used for the synthesis were of commercially available reagent grade and were used without further purification.

Physical measurements.

Elemental analyses were performed on a Carlo Erba Model 1108 CHNS-O elemental analyser. The IR spectra were recorded on KBr pellets on a Bio-Rad FTS 135 spectrophotometer in the range 4000–400 cm^{-1} . ^1H spectra were recorded on a Bruker AC-300 spectrometer using DMSO-d_6 (296 K) as solvent and SiMe_4 as an internal reference. FAB mass spectra were recorded on a Kratos MS50TC spectrometer connected to a DS90 data system, using meta-nitrobenzyl alcohol as a matrix. Room-temperature magnetic susceptibilities were measured using a digital measurement system MSB-MKI, calibrated using mercury tetrakis(isothiocyanato)cobaltate(II), $\text{Hg}[\text{Co}(\text{NCS})_4]$, as a susceptibility standard. Electronic spectra were recorded on a Cary 230 spectrometer. Conductivities of 10^{-3} M solutions in DMF were measured on a Crison microCM 2200 conductivimeter. EPR measurements were carried out on a Bruker ESP300E X-band spectrometer equipped with an ER4116 DM dual-mode cavity and an Oxford 900 continuous flow cryostat.

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

The typical temperature for EPR measurements was 9 K and other experimental conditions are shown in figure captions.

Electrochemical experiments (cyclic voltammetry, CV; and normal pulse voltammetry, NPV) were performed using an EG&G PAR model 273 potentiostat, controlled by EG&G PAR model 270 software. A Metrohm model 6.1204.000 graphite disc coupled to a Metrohm model 628-10 rotating electrolyte device was used as a working electrode. A saturated calomel electrode was used as a reference and a platinum wire as an auxiliary electrode. All measurements were made with *ca.* 10^{-3} mol dm⁻³ solutions of the complexes in dimethylformamide using 0.2 mol dm⁻³ NBu₄PF₆ as a supporting electrolyte. Cyclic voltammetry measurements were performed with a static graphite electrode, whilst direct-current and pulse voltammograms were recorded with the graphite disc rotating at 2000 revolutions per minute.

Preparation of the Schiff base ligands.

The asymmetrical Schiff bases were prepared in an analogous manner by the reaction of the appropriately substituted salicylaldehyde with diamine, and is typified by the following preparation.

To an ethanolic solution (100 mL) of 1,2-diamino-2,2-dimethylethane (0.83 mL, 7.8 mmol) was added 3OEt-salicylaldehyde (2.60 g, 15.60 mmol). The mixture was heated under reflux in a round-bottomed flask fitted with a Dean–Stark trap to remove the water produced during the reaction. After heating for 3 h, the solution was concentrated to yield a yellow solid. The product was collected by filtration, washed with diethyl ether and dried in air.

Yields were almost quantitative.

H₂L¹ (Found: C, 68.8; H, 7.0; N, 7.1% Calc. for C₂₂H₂₈N₂O₄ (384.47): C, 68.7; H, 7.3; N, 7.3%); ¹H NMR (300 MHz, [D₆]DMSO): δ = 13.70 (s, 2H), 8.53 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 6.69–7.00 (d, d, t, 6H), 4.00 (q, 4H), 3.96 (s, 2H), 1.34 (s, 6H), 1.30 (t, 6H) ppm. ES-MS: *m/z* = 385.4. IR ν (O–H) 3433 (m), ν (C=N) 1628 (vs), ν (C–O) 1248 cm⁻¹ (s); m. p. 88 °C.

H₂L² (Found: C, 46.5; H, 4.5; N, 5.7% Calc. for C₂₀H₂₂Br₂N₂O₄ (514.21): C, 46.7; H, 4.3; N, 5.4%); ¹H NMR δ 1.42 (s, 6H), 3.72 (d, 2H), 3.88 (s, 6H), 6.9–7.3 (m, 4H), 8.21 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 13.80 (s, 1H), 14.45

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

(s, 1H); ES-MS: $m/z = 515.1$. IR $\nu(\text{O-H})$ 3069 (m), $\nu(\text{C=N})$ 1632 (vs), $\nu(\text{C-O})$ 1254 cm^{-1} (s); m. p. 133 °C.

H_2L^3 (Found: C, 58.6; H, 5.2; N, 7.9% Calc. for $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2$ (365.26): C, 59.1; H, 5.0; N, 7.7%); $^1\text{H NMR}$ δ 1.39 (s, 6H), 3.71 (d, 2H), 6.8–7.2 (m, 6H), 8.28 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 13.23 (s, 1H), 13.78 (s, 1H); ES-MS: $m/z = 366.2$. IR $\nu(\text{O-H})$ 3063 (m), $\nu(\text{C=N})$ 1634 (vs), $\nu(\text{C-O})$ 1260 cm^{-1} (s); m. p. 137 °C.

H_2L^4 (Found: C, 49.2; H, 3.6; N, 6.4% Calc. for $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{Cl}_4\text{N}_2\text{O}_2$ (434.15): C, 49.8; H, 3.7; N, 6.4%); $^1\text{H NMR}$ δ 1.46 (s, 6H), 3.80 (d, 2H), 7.1–7.4 (m, 4H), 8.17 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 14.05 (s, 1H), 14.82 (s, 1H); ES-MS: $m/z = 425.2$. IR $\nu(\text{O-H})$ 3078 (m), $\nu(\text{C=N})$ 1631 (vs), $\nu(\text{C-O})$ 1259 cm^{-1} (s); m. p. 150 °C.

Complex preparation.

All of the complexes were synthesised by air oxidation of solutions of $\text{Mn}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ and the Schiff base.⁶⁰ A typical preparation is outlined below.

$[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]_2(\text{ClO}_4)_2$, **1**: H_2L^1 (1.56 mmol, 0.60 g) was dissolved in 1:1 methanol/ethanol (100 mL) and $\text{Mn}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1.56 mmol, 0.57 g) was added to the initial yellow solution, which changed to green (**CAUTION**: Although problems were not encountered in this work, perchlorates are potentially explosive and should be handled in small quantities and with care!). The mixture was stirred for 10 min and NaOH (3.12 mmol, 0.13 g), dissolved in a small quantity of water, was added. The mixture became dark. The progress of the reaction was followed by TLC for 3 d and the mixture was then filtered. The complex was obtained from the filtrate as a brown solid after crystallisation. The solid was filtered off and washed with diethyl ether and dried in air. Yield: 0.66 g (75%). Anal. Calc. for $\text{C}_{44}\text{H}_{60}\text{Cl}_2\text{Mn}_2\text{N}_4\text{O}_{20}$ (1145.7): C, 46.1; H, 5.2; N, 4.9. Found: C, 46.4; H, 5.1; N, 4.6%. MS FAB (m/z): 438 $[\text{MnL}]^+$; 875 $[\text{Mn}_2\text{L}_2]^+$. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu(\text{O-H})$ 3421 (m), $\nu(\text{C=N})$ 1612 (vs), $\nu(\text{C-O})$ 1257 (s), $\nu(\text{ClO}_4^-)$ 1120 (vs), 625 (m). $\mu = 5.0$ BM. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = -28.01$ (H4), -17.16 , -18.96 (H5) ppm. Conductivity (in DMF) $\Lambda_M = 88$ μS . $E_{\text{ox}} = -0.092$ V; $E_{\text{red}} = -0.534$ V; $E_{1/2} = -0.313$ V.

$[\text{MnL}^2(\text{H}_2\text{O})_2]_2(\text{ClO}_4)_2$, **2**, 1.94 mmol (1.00 g) of H_2L^2 ; 1.94 mmol (0.70 g) of $\text{Mn}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 3.88 mmol (0.16 g) of NaOH; Yield: 1.07 g (80%). Anal.

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

Calc. for $C_{40}H_{48}Br_4Cl_2Mn_2N_4O_{20}$ (1405.22): C, 34.2; H, 3.4; N, 4.0. Found: C, 34.6; H, 3.2; N, 4.1%. MS FAB (m/z): 566 $[MnL]^+$; 1133 $[Mn_2L_2]^+$. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu(O-H)$ 3421 (m), $\nu(C=N)$ 1626 (vs), $\nu(C-O)$ 1262 (s), $\nu(ClO_4^-)$ 1120 (vs), 625 (m). $\mu = 4.7$ BM. 1H NMR (300 MHz, $[D_6]DMSO$): $\delta = -27.82$ (H4), -16.91 , -18.70 (H5) ppm. Conductivity (in DMF) $\Lambda_M = 78$ μS . $E_{ox} = -0.011$ V; $E_{red} = -0.414$ V; $E_{1/2} = -0.213$ V.

$[MnL^3(H_2O)_2]_2(ClO_4)_2$, **3**, 2.74 mmol (1.00 g) of H_2L^3 ; 2.74 mmol (0.99 g) of $Mn(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$; 5.48 mmol (0.22 g) of NaOH; Yield: 0.91 g (60%). Anal. Calc. for $C_{36}H_{40}Cl_6Mn_2N_4O_{16}$ (1107.3): C, 39.0; H, 3.6; N, 5.1. Found: C, 39.8; H, 3.4; N, 5.3%. MS FAB (m/z): 419 $[MnL]^+$; 876 $[Mn_2L_2]^+$. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu(O-H)$ 3421 (m), $\nu(C=N)$ 1616 (vs), $\nu(C-O)$ 1268 (s), $\nu(ClO_4^-)$ 1121 (vs), 625 (m). $\mu = 4.7$ BM. 1H NMR (300 MHz, $[D_6]DMSO$): $\delta = -28.30$ (H4), -17.46 , -18.85 (H5) ppm. Conductivity (in DMF) $\Lambda_M = 93$ μS . $E_{ox} = 0.060$ V; $E_{red} = -0.325$ V; $E_{1/2} = -0.133$ V.

$MnL^4(H_2O)_2(ClO_4)$, **4**, 1.36 mmol (0.59 g) of H_2L^4 ; 1.36 mmol (0.49 g) of $Mn(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$; 2.72 mmol (0.11 g) of NaOH; Yield: 0.61 g (75%). Anal. Calc. for $C_{36}H_{40}Cl_{10}Mn_2N_4O_{18}$ (1281.1): C, 33.7; H, 3.1; N, 4.4. Found: C, 34.5; H, 3.1; N, 4.2%. MS FAB (m/z): 487 $[MnL]^+$; 974 $[Mn_2L_2]^+$. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu(O-H)$ 3421 (m), $\nu(C=N)$ 1622 (vs), $\nu(C-O)$ 1268 (s), $\nu(ClO_4^-)$ 1118 (vs), 625 (m). $\mu = 5.0$ BM. 1H NMR (300 MHz, $[D_6]DMSO$): $\delta = -28.15$ (H4), -17.16 , -18.81 (H5) ppm. Conductivity (in DMF) $\Lambda_M = 84$ μS . $E_{ox} = 0.212$ V; $E_{red} = -0.178$ V; $E_{1/2} = 0.017$ V.

Crystallographic data collection and refinement of the structure.

Single crystals of complex **1**, suitable for X-ray diffraction studies, were obtained by slow evaporation of the methanolic solution at room temperature.

Detailed crystal data collection and refinement are summarized in Table S1. Intensity data were collected on an Bruker-Nonius KCCD2000 diffractometer using graphite-monochromated $Cu-K\alpha$ radiation ($\lambda = 1.54184$ Å) for **1** at room temperature. The structure was solved by direct methods⁶¹ and finally refined by full-matrix least-squares base on F^2 . An empirical absorption correction was applied using sadabs.⁶² All non-hydrogen atoms were included in the model at geometrically calculated positions.

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

CCDC 821534 (for **1**) contains the supplementary crystallographic data for this paper. These data can be obtained free of charge from The Cambridge Crystallographic Data Centre via www.ccdc.cam.ac.uk/

Irradiation experiments.

The irradiation of aqueous solutions of the manganese complexes was carried out in a colourless two-necked glass flask (1 L) placed in a methacrylate thermostatted water bath. A magnetically stirred solution of **1** (5×10^{-6} mol; 5.7 mg) and p-benzoquinone (2×10^{-4} mol; 21 mg) in deoxygenated and deionised water was irradiated with light (in the 350-2500 nm range) from a 200 W tungsten lamp for 24 h. The solution was connected to a UV spectrophotometer through a peristaltic pump and a flow cell. Quantitative measurements of the amount of dioxygen formed during irradiation were performed using a dissolved-oxygen probe-type electrode (Crison Oxi45P).

The setting up of the experiment is depicted in Figure 8. In a typical experiment deionised deoxygenated water was placed in the two-necked glass flask: one neck contained the oxygen electrode and the second a septum. The whole flask arrangement was immersed in the thermostatted bath so that the water came up the base of the necks. Stirring was begun, the complex and quinone were added, and the septum fitted to make the system airtight. Four needles were pushed through the septum, one reaching into the liquid, and a stream of dinitrogen was introduced into the solution until the reading of the oxygen meter fell to <3%. Once this value was reached the N₂ needle and the purge needle were removed and the system was left stirring for 10 min to equilibrate. The light was switched on. Only the two needles connected to the flow cell remained through the septum.

Oxygen readings were recorded as % dissolved oxygen where 100% corresponds to a fully saturated aqueous solution at 25 °C ($6 \text{ cm}^3 \text{ O}_2 \text{ dm}^{-3}$) and 0% corresponds to no dissolved oxygen. Reproducible results were obtained with this method provided that the temperature of the bath remained constant (25.0 ± 0.1 °C) and a constant stirring rate was maintained.

Conclusions.

The results obtained demonstrate the photogeneration of dioxygen from H₂O coordinated to manganese(III)-Schiff base μ -aqua dimers in the presence of p-benzoquinone. On the basis of a range of studies we propose that this reaction follows a mechanism involving successive hydrogen abstractions from water molecules coordinated to the metal ion by optically excited p-benzoquinone, and subsequent formation of a μ -phenoxy-bridged manganese(III) dimer.

Manganese(III)-Schiff base complexes were found to be active systems for water photolysis, although some questions remain about how they act. Further studies are necessary to address some of these questions in the search for more efficient catalysts.

Today we know that the structure of a Schiff base with essentially identical donor atoms can have a profound and often intriguing effect on the solid state and reactivity of the resultant complexes. Thus, novel synthetic systems should be tested. In our laboratories we are currently investigating the response to variations in the conductivity of the media, as well as the effect of changing the quinone and the use of bandpass filters through which the monitoring beam enters the sample solution in irradiation experiments. The use of these types of compound as electrocatalysts for water oxidation is another planned research line. However, it would be extremely advantageous if scientists with diverse backgrounds set out to investigate, from the different perspectives of their own disciplines, the role and behaviour of these systems.

Acknowledgments.

We thank Xunta de Galicia (09DPI004291PR) for financial support.

References.

- 1 M. Yagi, A. Syouji, S. Yamada, M. Komi, H. Yamazaki and S. Tajima, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2009, **8**, 139–147.

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

- 2 A. Magnuson, M. Anderlund, O. Johansson, P. Lindblad, R. Lomoth, T. Polivka, S. Ott, K. Stensjö, S. Styring, V. Sundström and L. Hammarström, *Acc. Chem. Res.*, 2009, **42**, 1899–1909.
- 3 A. Inagaki and M. Akita, *Coord. Chem. Rev.*, 2010, **254**, 1220–1239.
- 4 J. McEvoy and G. Brudvig, *Chem. Rev.*, 2006, **106**, 4455–4483.
- 5 C. Cady, R. Crabtree and G. Brudvig, *Coord. Chem. Rev.*, 2008, **252**, 444–455.
- 6 F. Armstrong, *Phil. Trans. R. Soc. B*, 2008, **363**, 1263–1270.
- 7 M. Maneiro, W. F. Ruettinger, E. Bourles, G. L. McLendon and G. C. Dismukes, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2003, **100**, 3707–3712.
- 8 S. Mukhopadhyay, S. Mandal, S. Bhaduri and W. Armstrong, *Chem. Rev.*, 2004, **104**, 3981–4026.
- 9 J. P. McEvoy and G. Brudvig, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2004, **6**, 4754–4763.
- 10 J. Mayer, I. Rhile, F. Larsen, E. Mader, T. Markle and A. DiPasquale, *Photosynthesis Res.*, 2006, **87**, 3–20.
- 11 C. Mullins and V. Pecoraro, *Coord. Chem. Rev.*, 2008, **252**, 416–443.
- 12 E. Sproviero, J. Gascon, J. McEvoy, G. Brudvig and V. Batista, *Coord. Chem. Rev.*, 2008, **252**, 395–415.
- 13 D. Pantazis, M. Orio, T. Petrenko, S. Zein, E. Bill and W. Lubitz, *Chem. Eur. J.*, 2009, **15**, 5108–5123.
- 14 G. Dismukes, R. Brimblecombe, G. Felton, R. Pryadun, J. Sheats and L. Spiccia, *Acc. Chem. Res.*, 2009, **42**, 1935–1943.
- 15 M. Kanan and D. Nocera, *Science*, 2008, **321**, 1072–1075.
- 16 R. Brimblecombe, G. Dismukes, G. Swiegers and L. Spiccia, *Dalton Trans.*, 2009, 9374–9384.
- 17 M. Yagi, M. Toda, S. Yamada and H. Yamazaki, *Chem. Commun.*, 2010, **46**, 8594–8596.
- 18 H. Karunadasa, C. Chang and J. Long, *Nature*, 2010, **464**, 1329–1333.

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

- 19 P. Kurz, *Dalton Trans.*, 2009, 6103–6108.
- 20 M. Yagi, K. Narita, S. Maruyama, K. Sone, T. Kuwabara and K. Shimizu, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, 2007, **1767**, 660–665.
- 21 M. Collomb and A. Deronzier, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2009, 2025–2046.
- 22 H. Yamazaki, A. Shouji, M. Kajita and M. Yagi, *Coord. Chem. Rev.*, 2010, **254**, 2483–2491.
- 23 M. Calvin, *Science*, 1974, **184**, 375–381.
- 24 R. Ramaraj, A. Kira and M. Kaneko, *Chem. Lett.*, 1987, 261–264.
- 25 S. Cooper and M. Calvin, *Science*, 1974, **185**, 376–376.
- 26 J. Limburg, J. S. Vrettos, L. M. Liable-Sands, A. L. Rheingold, R. H. Crabtree and G. W. Brudvig, *Science*, 1999, **283**, 1524–1527.
- 27 A. Poulsen, A. Rompel and C. McKenzie, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2005, **44**, 6916–6920.
- 28 N. Aurangzeb, C. E. Hulme, C. A. McAuliffe, R. G. Pritchard, M. Watkinson, M. R. Bermejo, A. Garcia-Deibe, J. Sanmartin and A. Sousa, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1994, 1153–1155.
- 29 F. Ashmawy, C. McAuliffe, R. Parish and J. Tames, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1985, 1391–1397.
- 30 M. R. Bermejo, A. Castineiras, J. C. Garcia-Monteagudo, M. Rey, A. Sousa, M. Watkinson, C. A. McAuliffe, R. G. Pritchard and R. L. Beddoes, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1996, 2935–2944.
- 31 M. R. Bermejo, M. I. Fernandez, A. M. Gonzalez-Noya, M. Maneiro, R. Pedrido, M. J. Rodriguez, J. C. Garcia-Monteagudo and B. Donnadiu, *J. Inorg. Biochem.*, 2006, **100**, 1470–1478.
- 32 M. Maneiro, M. R. Bermejo, M. Isabel Fernandez, E. Gomez-Forneas, A. M. Gonzalez-Noya and A. M. Tyryshkin, *New J. Chem.*, 2003, **27**, 727–733.
- 33 M. R. Bermejo, M. I. Fernandez, E. Gomez-Forneas, A. Gonzalez-Noya, M. Maneiro, R. Pedrido and M. J. Rodriguez, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2007, 3789–3797.

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

- 34 M. Maneiro, M. R. Bermejo, A. Sousa, M. Fondo, A. M. Gonzalez, A. Sousa-Pedrares and C. A. McAuliffe, *Polyhedron*, 2000, **19**, 47–54.
- 35 V. Daier, D. Moreno, C. Duhayon, J. Tuchagues and S. Signorella, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2010, 965–974.
- 36 M. Collomb, C. Mantel, S. Romain, C. Duboc, J. Lepretre and J. Pecaut, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2007, 3179–3187.
- 37 J. A. Bonadies, M. L. Maroney and V. L. Pecoraro, *Inorg. Chem.*, 1989, **28**, 2044–2051.
- 38 M. R. Bermejo, M. I. Fernandez, A. M. Gonzalez-Noya, M. Maneiro, R. Pedrido, M. J. Rodriguez and M. Vazquez, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2004, 2769–2774.
- 39 M. R. Bermejo, A. M. Gonzalez-Noya, V. Abad, M. I. Fernandez, M. Maneiro, R. Pedrido and M. Vazquez, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2004, 3696–3705.
- 40 M. R. Bermejo, A. G. Deibe, M. Rey, J. Sanmartin, A. Sousa, N. Aurangzeb, C. E. Hulme, C. A. McAuliffe and R. G. Pritchard, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1994, 1265–1269.
- 41 E. Talsi and K. Bryliakov, *Mendeleev Commun.*, 2004, 111–112.
- 42 M. Maneiro, M. R. Bermejo, M. I. Fernandez, A. M. Gonzalez-Noya, A. M. Tyryshkin and R. G. Pritchard, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 2003, **629**, 285–290.
- 43 A. Ononye, A. McIntosh and J. Bolton, *J. Phys. Chem.*, 1986, **90**, 6266–6270.
- 44 P. Pospisil, D. Carsten and E. Jacobsen, *Chem. Eur. J.*, 1996, **2**, 974–980.
- 45 W. J. Geary, 1971, **7**, 81–122.
- 46 S. Lee, S. Chang, D. Kossakovski, H. Cox and J. Beauchamp, *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, **121**, 10152–10156.
- 47 M. Awad and A. Anderson, *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, **111**, 802–806.
- 48 M. Maneiro, M. R. Bermejo, M. Fondo, A. M. Gonzalez, J. Sanmartin, J. C. Garcia-Monteaquedo, R. G. Pritchard and A. M. Tyryshkin, *Polyhedron*, 2001, **20**, 711–719.

APD I Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

- 49 R. C. Kapoor and B. S. Aggarwal, *Principles of polarography*, John Wiley, New York, 1991.
- 50 S. Hung, F. Yang, J. Chen, S. Wang and J. Tung, *Inorg. Chem.*, 2008, **47**, 7202–7206.
- 51 M. Horitani, H. Yashiro, M. Hagiwara and H. Hori, *J. Inorg. Biochem.*, 2008, **102**, 781–788.
- 52 C. Mantell, H. Chen, R. Crabtree, G. Brudvig, J. Pecaut and M. Collomb, *ChemPhysChem*, 2005, **6**, 541–546.
- 53 A. Abragam and B. Bleaney, *Electron paramagnetic resonance of transition ions*, Dover Publications, New York, 1986.
- 54 A. Barra, D. Gatteschi, R. Sessoli, G. Abbati, A. Cornia and A. Fabretti, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1997, **36**, 2329–2331.
- 55 H. Gerritsen and E. Sabisky, *Phys. Rev.*, 1963, **132**, 1507.
- 56 K. Campbell, D. Force, P. Nixon, F. Dole, B. Diner and R. Britt, *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, **122**, 3754–3761.
- 57 G. Yin, A. Danby, D. Kitko, J. Carter, W. Scheper and D. Busch, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 16245–16253.
- 58 M. Watkinson, M. Fondo, M. R. Bermejo, A. Sousa, C. A. McAuliffe, R. G. Pritchard, N. Jaiboon, N. Aurangzeb and M. Naeem, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1999, 31–42.
- 59 K. Ghosh, A. Eroy-Reveles, M. Olmstead and P. Mascharak, *Inorg. Chem.*, 2005, **44**, 8469–8475.
- 60 L. Boucher and C. Coe, *Inorg. Chem.*, 1975, **14**, 1289–1295.
- 61 G. M. Sheldrick, SHELX-97 (shelxs 97 and shelxl 97), Programs for Crystal Structure Analyses, University of Göttingen, Germany, 1998.
- 62 G. M. Sheldrick, SADABS, Program for Scaling and Correction of Area Detector Data, University of Göttingen, Germany, 1996.

**Catalizadores
biomiméticos
autoensamblados**
G. González-Riopedre

**APÉNDICE II
Self-assembled
biomimetic catalysts**

Self-assembled biomimetic catalysts: Studies of the catalase and peroxidase activities of Mn(III)-Schiff base complexes

M. Ángeles Vázquez-Fernández,^a M. Isabel Fernández-García,^a Gustavo González-Riopedre,^a Marcelino Maneiro^a and M. Jesús Rodríguez-Doutón.^b

Published in Journal of Coordination Chemistry, 2011,64, 3843-3858 (DOI: 10.1080/00958972.2011.633164).

^a Departamento de Química Inorgánica, Facultad de Ciencias, Universidade de Santiago de Compostela, Avda. Alfonso X, Lugo E-27002, Spain.

^b Department of Chemistry and INSTM Research Unit, University of Modena and Reggio Emilia, Via G. Campi 183, 41100 Modena, Italy.

Abstract.

Five Mn(III) nitrate complexes have been synthesized from dianionic hexadentate Schiff bases obtained by condensation of 3-ethoxy-2-hydroxybenzaldehyde with different diamines. The complexes have been characterized by elemental analysis, ESI mass spectrometry, IR and ^1H NMR spectroscopy, r. t. magnetic and molar conductivity measurements. Parallel-mode EPR spectroscopy of **1** is also reported. Ligand H_2L^3 and complexes $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{CH}_3\text{OH})$ (**1**), $[\text{MnL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]_2(\text{NO}_3)_2(\text{CH}_3\text{OH})(\text{H}_2\text{O})$ (**3**) and $[\text{MnL}^4(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})_2$ (**4**) were crystallographically characterized. The X-ray structures show the self-assembly of the Mn(III)-Schiff base complexes through μ -aquo bridges between neighboring axial water molecules and also by π - π stacking interactions, establishing dimeric and polymeric structures. The peroxidase and catalase activities of the complexes have been studied. Complexes with the shorter spacer between the imine groups (**1-2**) behave as better peroxidase and catalase mimics, probably due to their ability to coordinate the hydrogen peroxide substrate molecule to the manganese.

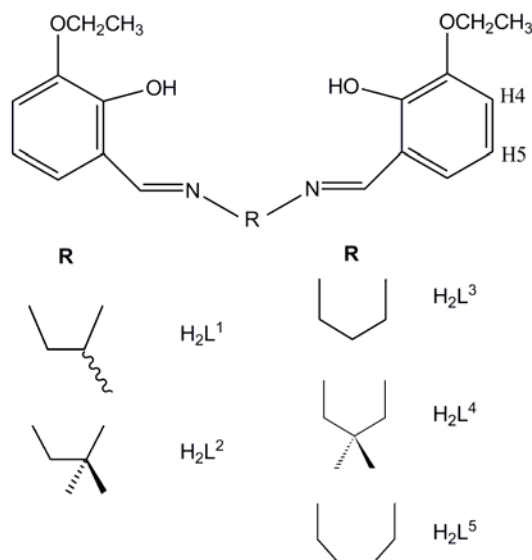
Introduction .

Manganese complexes involving tetradentate ONNO Schiff bases are one of the most versatile and interesting synthetic systems that can act as artificial mimics of peroxidases and catalases.^{1,2} Catalases are able to disproportionate H_2O_2 into water and dioxygen,³ peroxidases catalyze oxidation of a broad range of substrates by hydrogen peroxide.⁴ These enzymes protect organisms against oxidative stress by removing the appreciable levels of hydrogen peroxide, a by-product of respiration.⁵

In our continuing research using Mn(III)-Schiff base as biomimetic models of several enzymes,⁶⁻⁹ we report here five complexes stabilized with nitrate counterions. Our scheme consists of obtaining ionic compounds in order to enhance their solubility in alcoholic or aqueous solutions; hence their catalytic activity in this media should also be usable.

There are few examples of Mn(III)-Schiff base (or porphyrin) complexes with the nitrate anion. Of those found in the literature some of them incorporate the ion to the first coordination sphere;¹⁰ the nitrate group

may also be bridging manganese ions in Mn-carboxylate complexes,¹¹ but there a small number of cases where the nitrate acts as counterion in these type of systems [12-13].^{12,13} We have also previously added nitrate groups to Mn(III)-Gd(III)-Schiff base complexes but this anion stabilized joining the Gd.¹⁴



Scheme 1. Structures of the Schiff base ligands.

On the other hand, the ability of these anions for establishing hydrogen bonds would lead to new supramolecular architectures.^{15,16} The key role of anions in tuning the resultant structural topologies is a growing area of interest,¹⁷ and also its potential effect on the catalytic activity of this type of compounds is less studied. The selected Schiff-base ligands, H_2L^n (see Scheme 1), contain six potential donor atoms. They have in common an inner compartment with two imine nitrogen atoms and two phenol oxygen atoms and present two outer ethoxy groups, which may be involved in the supramolecular interactions.

2. Experimental.

2.1 Materials.

All the starting materials (Aldrich) and solvents (Probus) used for the synthesis were of commercially available reagent grade and were used without further purification.

2.2 Physical measurements.

Elemental analyses were performed on a Carlo Erba Model 1108 CHNS-O elemental analyzer. The IR spectra were recorded as KBr pellets on a Bio-Rad FTS 135 spectrophotometer in the range of 4000-400 cm^{-1} . ^1H and ^{13}C NMR spectra were recorded on a Bruker AC-300 spectrometer using DMSO-d_6 (296 K) as solvent and SiMe_4 as an internal reference. The electro-spray mass spectra of the compounds were obtained on a Hewlett-Packard model LC-MSD 1100 instrument (positive ion mode, 98:2 $\text{CH}_3\text{OH-HCOOH}$ as mobile phase, 30 to 100 V). Room-temperature magnetic susceptibilities were measured using a digital measurement system MSB-MKI, calibrated using mercury tetrakis(isothiocyanato)cobaltate(II) $\text{Hg}[\text{Co}(\text{NCS})_4]$ as a susceptibility standard. Electronic spectra were recorded on a Cary 230 spectrometer. Conductivities of 10^{-3} M solutions in DMF were measured on a Crison microCM 2200 conductivity meter. EPR measurements were carried out on a Bruker ESP300E X-band spectrometer equipped with an ER4116 DM dual-mode cavity and an Oxford 900 continuous flow cryostat.

2.3 Preparation of the Schiff base ligands.

All the Schiff bases used in this study were prepared by condensation of the appropriate diamine with 3-ethoxy-2-hydroxybenzaldehyde. H_2L^1 - H_2L^4 have been already reported and characterised by standard techniques.^{6,8,18} The crystal structure of H_2L^3 is described in the present work after obtaining of crystals adequate for X-ray diffraction studies by slow evaporation of their respective methanol solutions. H_2L^5 was prepared by the method outlined below. It was characterised by elemental analysis, ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy, ESI mass spectrometry and IR spectroscopy.

H_2L^5 . 1.00 g (6.02 mmol) of 3-ethoxy-2-hydroxybenzaldehyde and 0.30 mL (3.01 mmol) of 1,4-diaminobutane. M.p. 135 °C. Anal. Calc. for $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$ (384.5): C, 68.7; H, 7.3; N, 7.3. Found: C, 69.0; H, 7.5; N, 7.3%. MS ESI (m/z): 385. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu(\text{O-H})$ 3092 (m), $\nu(\text{C=N})$ 1624 (vs), $\nu(\text{C-O})$ 1248 (s). ^1H NMR (DMSO-d_6 , ppm): δ 1.31 (t, 6H), 1.71 (q, 4H), 3.64 (t, 4H), 4.01 (c, 4H), 6.75 (t, 2H), 6.99 (d, 2H), 7.01 (d, 2H), 8.54 (s, 2H), 13.99 (br). ^{13}C NMR (DMSO-d_6 , ppm): δ 15.0 (- CH_3), 28.2 (- CH_2 -), 57.4 (=N- CH_2 -), 64.2 (- OCH_2 -), 116.3-123.5 (Car), 147.5 (C- OH), 152.7 (C- OCH_2CH_3), 166.2 (C=N).

2.4 Complex preparation.

All the manganese(III) Schiff base complexes were prepared by stirring a methanol solution (50 mL) of the corresponding ligand and adding subsequently a methanol solution (30 mL) of $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ at room temperature. The initial light colour of the solutions rapidly changed to brown. After 3 h of stirring at room temperature slow evaporation of solvent leads to deposition of brown compounds. The products were collected by filtration, washed with diethyl ether (2 x 20 mL) and then dried *in vacuo*. Yields of the complexes vary, but are typically of the order of 70%.

$[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{CH}_3\text{OH})$, (1). H_2L^1 (0.20 g, 0.54 mmol); $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.14 g, 0.54 mmol); yield: 0.19 g (65%). Anal. Calc. for $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{MnN}_3\text{O}_{10}$ (553.45): C, 47.7; H, 5.7; N, 7.6. Found: C, 47.0; H, 5.7; N, 7.7%. MS ESI (m/z): 423 $[\text{MnL}^1]^+$, 908 $[\text{Mn}_2\text{L}^1_2(\text{NO}_3)]^+$. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu(\text{O-H})$ 3425 (m), $\nu(\text{C=N})$ 1616 (vs), $\nu(\text{C-O})$ 1253 (s), $\nu(\text{NO}_3)$ 1384 (vs), 852 (m), 740 (s). ^1H NMR (DMSO- d_6 , ppm): δ -30.09 (H4), -17.50, -20.63 (H5). $\Lambda_M = 68 \mu\text{S}$.

$[\text{MnL}^2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$, (2). H_2L^2 (0.20 g, 0.52 mmol); $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.14 g, 0.52 mmol); yield: 0.20 g (70%). Anal. Calc. for $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{MnN}_3\text{O}_{10}$ (553.4): C, 47.7; H, 5.8; N, 7.6. Found: C, 47.2; H, 5.6; N, 7.6%. MS ESI (m/z): 437 $[\text{MnL}^2]^+$, 936 $[\text{Mn}_2\text{L}^2_2(\text{NO}_3)]^+$. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu(\text{O-H})$ 3427 (m), $\nu(\text{C=N})$ 1610 (vs), $\nu(\text{C-O})$ 1254 (s), $\nu(\text{NO}_3)$ 1384 (vs), 855 (m), 738 (s). ^1H NMR (DMSO- d_6 , ppm): δ -27.30 (H4), -17.40, -18.48 (H5). $\Lambda_M = 71 \mu\text{S}$.

$[\text{MnL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]_2(\text{NO}_3)_2(\text{CH}_3\text{OH})(\text{H}_2\text{O})$, (3). H_2L^3 (0.25 g, 0.68 mmol); $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.18 g, 0.68 mmol); yield: 0.29 g (79%). Anal. Calc. for $\text{C}_{43}\text{H}_{62}\text{Mn}_2\text{N}_6\text{O}_{20}$ (1092.84): C, 47.2; H, 5.7; N, 7.7. Found: C, 46.3; H, 5.7; N, 7.5%. MS ESI (m/z): 423 $[\text{MnL}^3]^+$, 908 $[\text{Mn}_2\text{L}^3_2(\text{NO}_3)]^+$. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu(\text{O-H})$ 3427 (m), $\nu(\text{C=N})$ 1609 (vs), $\nu(\text{C-O})$ 1254 (s), $\nu(\text{NO}_3)$ 1384 (vs), 850 (m), 739 (s). ^1H NMR (DMSO- d_6 , ppm): δ -21.97 (H4), -18.00 (H5). $\Lambda_M = 68 \mu\text{S}$.

$[\text{MnL}^4(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})_2$, (4). H_2L^4 (0.20 g, 0.50 mmol); $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.13 g, 0.50 mmol); yield: 0.25 g (85%). Anal. Calc. for $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{MnN}_3\text{O}_{11}$ (585.5): C, 47.2; H, 6.2; N, 7.2. Found: C, 46.9; H, 6.1; N, 7.2%. MS ESI (m/z): 451 $[\text{MnL}^4]^+$, 964 $[\text{Mn}_2\text{L}^4_2(\text{NO}_3)]^+$. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu(\text{O-H})$

3395 (m), $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1612 (vs), $\nu(\text{C}-\text{O})$ 1258 (s), $\nu(\text{NO}_3)$ 1384 (vs), 840 (m), 739 (s). ^1H NMR (DMSO- d_6 , ppm): δ -20.73 (H4), -16.75 (H5). $\Lambda_M = 86 \mu\text{S}$.

$[\text{MnL}^5(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$, (5). H_2L^5 (0.25 g, 0.65 mmol); $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.17 g, 0.52 mmol); yield: 0.24 g (83%). Anal. Calc. for $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{MnN}_3\text{O}_{10}$ (553.4): C, 47.7; H, 5.8; N, 7.6. Found: C, 47.8; H, 5.6; N, 7.6%. MS ESI (m/z): 437 $[\text{MnL}^5]^+$, 936 $[\text{Mn}_2\text{L}^5_2(\text{NO}_3)]^+$. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu(\text{O}-\text{H})$ 3410 (m), $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1613 (vs), $\nu(\text{C}-\text{O})$ 1254 (s), $\nu(\text{NO}_3)$ 1384 (vs), 858 (m), 740 (s). ^1H NMR (DMSO- d_6 , ppm): δ -29.80 (H4), -21.05 (H5). $\mu = 5.0 \text{ BM}$. $\Lambda_M = 67 \mu\text{S}$.

2.5. Peroxidase probes.

Oxidation of 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS) with H_2O_2 at ca. pH 7 in the presence of the complexes was tested in the following manner. An aqueous solution of ABTS (50 μL ; 0.009 M; 4.5×10^{-7} mol) and a methanolic solution of the complex (10 μL ; 10^{-3} M; 10^{-8} mol) were added to water (3 mL). The intensity of the UV absorption bands of ABTS started to increase immediately after addition of an aqueous solution of H_2O_2 (50 μL ; 10 M; 5×10^{-4} mol).

2.6 Studies on catalase-like function.

A 10 mL flask containing the solution of the complexes in methanol (3 mL, 1 mM) was sealed with septum and connected to a gas-measuring burette (precision of 0.1 mL) through double-ended needle. The solution was stirred at constant temperature on a water bath. The catalysis was initiated by introducing H_2O_2 solution (1 mL, 2.5 M) using syringe, and the evolved dioxygen was volumetrically measured.

2.7. Crystallographic data collection and refinement of the structure.

Single crystals of the ligand H_2L^3 , and of the complexes **1**, **3** and **4**, suitable for X-ray diffraction studies, were obtained by slow evaporation of the methanolic solution at room temperature.

Detailed crystal data collection and refinement are summarised in Tables 1 and 2. Intensity data were collected on a Enraf-Nonius FR590 diffractometer using graphite-monochromated $\text{Cu}-K\alpha$ radiation ($\lambda = 1.54184 \text{ \AA}$) for H_2L^3 at room temperature; on a Bruker-Smart CCD-1000 diffractometer

employing graphite-monochromated *Mo-K α* radiation ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$) for **1** and **3** at room temperature, and for **4** at 110 K. The structures were solved by direct methods¹⁹ and finally refined by full-matrix least-squares based on F^2 . An empirical absorption correction was applied using SADABS.²⁰ All non-hydrogen atoms were included in the model at geometrically calculated positions.

3. Results and discussion.

3.1. Synthesis and characterization of the complexes.

The manganese(III) complexes **1-5** were prepared as detailed in the Experimental Section. They appear to be stable in the solid state and in solution, and they are moderately soluble in common organic solvents and soluble in polar aprotic coordinating solvents such as DMF and DMSO. Elemental analysis establishes their general formulae as $[\text{MnL}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{D})_n$ ($\text{D} = \text{H}_2\text{O}$ or CH_3OH). These formulations are in agreement with molar conductivity measurements in 10^{-3} M DMF solutions, which are in the range $67\text{-}86 \mu\text{S cm}^{-1}$, indicating behaviour attributable to 1:1 electrolytes.²¹ Furthermore, other spectroscopic techniques support such formula and give insights into both solid and solution structure of the complexes.

All the complexes show similar IR spectra, exhibiting a strong band between 1616 and 1609 cm^{-1} characteristic of the $\nu(\text{C}=\text{N})$ stretching mode, which is shifted $8\text{-}17 \text{ cm}^{-1}$ lower with respect to the free Schiff base ligand, indicating the coordination to the manganese through the nitrogen atoms of the imine group. The band attributed to the $\nu(\text{C}-\text{O})$ mode is shifted $4\text{-}8 \text{ cm}^{-1}$ to higher frequencies with respect to the free ligand. These data suggest the coordination of the Schiff bases through the inner phenol oxygens and the imine nitrogen atoms. Strong bands centered at *ca.* 3400 cm^{-1} can be assigned to a combination of the $\nu(\text{O}-\text{H})$ modes of coordinated and lattice water/methanol, now present in the complexes. The appearance of a new strong and sharp band at 1384 cm^{-1} , together with bands at *ca.* 740 and 850 cm^{-1} is characteristic of the presence of the non-coordinated nitrate counterion.²²

ESI mass spectra registered in methanol show peaks corresponding to the fragment $[\text{MnL}]^+$ for all the complexes, indicating the coordination of the Schiff base ligand to the metal centre. Other minor signals could be assigned to $[\text{Mn}_2\text{L}_2(\text{NO}_3)]^+$ units, which could be attributed to the presence of dimeric species.

	H_2L^3
Empirical formula	$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4$
Formula weight	370.44
Temperature [K]	293(2)
Wavelength [Å]	0.71073
Crystal system	Monoclinic
Space group	$P2_1/c$
a [Å]	10.024(5)
b [Å]	17.794(5)
c [Å]	11.761(5)
α [°]	90
β [°]	101.485(5)
γ [°]	90
Volume [Å ³]	2055.8(15)
Z	4
$D_{\text{calcd.}}$ [g cm ⁻³]	1.197
μ [mm ⁻¹]	0.083
F(000)	792
$\theta_{\text{min/max}}$ [°]	2.07/24.71
Total data	3614
Unique data	3437
R_{int}	0.0173
Restraints/parameters	0/249
GOF	1.018
Final R indices [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0.0515$ $wR_2 = 0.1397$
R indices (all data)	$R_1 = 0.1231$ $wR_2 = 0.1720$

Table 1. Crystal data and structure refinement for H_2L^3 .

The $\chi_m T$ values of all of the five complexes at room temperature are nearly equal and lie in the range of 5.91–6.16 cm³ mol⁻¹ K. These results are in good agreement with the expected contribution of two non-interacting or weakly interacting high-spin Mn^{III} ions (theoretical spin-only $\chi_m T$ value per dinuclear Mn^{III} unit = 6.00 cm³ mol⁻¹ K for $g = 2.00$). Such behaviour is typical for this class of compounds. Previous magnetic studies on related compounds between 300 and 5 K indicated little or no antiferromagnetic interaction between the metal centres.^{18,23} The room temperature magnetic moments observed in this study do not give cause to suppose that any different magnetic behaviour should occur.

The electronic spectroscopic data recorded are very similar for compounds 1–5. A broad shoulder at around 520–600 nm ($\epsilon = 120\text{--}500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) is attributable to a d-d transition, while it is reasonable to assign the broad band at 480–490 nm ($\epsilon = 2600\text{--}3300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) to the phenolate→Mn(III) charge-transfer. The peak at around 300 nm ($\epsilon = 21000\text{--}23000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), can be assigned to intraligand $\pi\text{--}\pi^*$. The energy and intensity of the LMCT and d-d transitions are in agreement with those reported for related Mn^{III} complexes.^{24,25}

3.2 ¹H NMR studies of the complexes.

The spectra of the paramagnetic ¹H NMR of the complexes contain between two and three upfield proton resonances, outside the diamagnetic region ($\delta = 0\text{--}14 \text{ ppm}$) and these are due to the isotropically shifting ligand protons for high-spin manganese(III) complexes in an octahedral field.²⁶ The signals must arise from the H4 and H5 protons of the aromatic phenoxy rings. The signals between -20.73 and -30.52 ppm are due to the H4 protons, while the resonances from -15.70 to -21.50 ppm are due to H5 protons. The signal corresponding to the H5 protons in 1-2 appears to be split into a doublet owing to the asymmetric nature of H₂L¹ and H₂L² Schiff bases. The ¹H NMR data serve to substantiate the formation of the manganese(III) complexes.

3.3. EPR spectroscopy.

Parallel-mode EPR allows further inside into structure of complex 1. This technique enables one-electron $\Delta M_S = 0$ transitions to be detected that are hardly observable with a conventional EPR method ($H_1 > H_0$,

perpendicular mode). Mn^{3+} has an integer electron spin, $S = 2$, and has been shown for powdered samples to develop a characteristic sextet pattern in parallel-mode EPR.²⁷ Figure 1 shows the spectrum of **1** recorded at 9 K (conditions: frequency, 9.37 GHz; 20 mW microwave power).

	1	3	4
Empirical formula	$\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{MnN}_3\text{O}_{10}$	$\text{C}_{43}\text{H}_{62}\text{Mn}_2\text{N}_6\text{O}_{20}$	$\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{MnN}_3\text{O}_{11}$
Formula weight	553.45	1092.84	585.49
Temperature [K]	293(2)	293(2)	110(2)
Wavelength [Å]	0.71073	0.71073	0.71073
Crystal system	Triclinic	Triclinic	Triclinic
Space group	P-1	P-1	P-1
<i>a</i> [Å]	9.9779(25)	12.80(3)	7.8808(18)
<i>b</i> [Å]	11.8256(30)	13.45(3)	13.052(3)
<i>c</i> [Å]	12.8719(32)	15.38(3)	14.502(3)
α [°]	116.872(4)	91.41(4)	113.046(4)
β [°]	105.001(4)	95.75(4)	92.638(4)
γ [°]	93.161(4)	107.15(3)	103.791(4)
Volume [Å ³]	1282.3 (6)	2513(9)	1316.8(5)
Z	2	2	2
$D_{\text{calcd.}}$ [g cm ⁻³]	1.433	1.442	1.477
μ [mm ⁻¹]	0.573	0.584	0.565
F(000)	580	1140	616
$\theta_{\text{min/max}}$ [°]	1.87/27.22	1.33/23.26	1.54/26.37
Total data	15155	21750	15141
Unique data	5655	7213	5357
R_{int}	0.034	0.0295	0.0345
Restraints/parameters	6/370	0/701	0/379
GOF	1.069	1.033	1.038
Final <i>R</i> indices	$R_1 = 0.0515$	$R_1 = 0.0439$	$R_1 = 0.0331$,
[$I > 2\sigma(I)$]	$wR_2 = 0.1425$	$wR_2 = 0.1126$	$wR_2 = 0.0724$
<i>R</i> indices (all data)	$R_1 = 0.076$	$R_1 = 0.0651$	$R_1 = 0.0499$,
	$wR_2 = 0.1537$	$wR_2 = 0.1276$	$wR_2 = 0.0796$

Table 2. Crystal data and structure refinement for **1**, **3** and **4**.

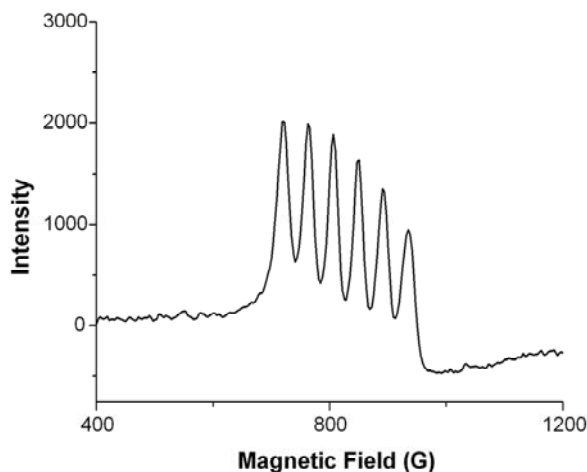


Figure 1. Parallel-mode EPR of **1** in toluene:dmf:EtOH (2:1:drop) solution. Conditions: frequency; 9.37 GHz; T = 9 K; 20 mW microwave power.

Only the low-field portion of the spectrum is shown, since additional lines were not detected at higher fields. A well-resolved sextet signal centred at $g_{\text{eff}} = 8.1$ is observed, with a hyperfine splitting of $A_{\parallel} = 44$ G.

The centre position of the sextet and hyperfine splitting for **1** are close to those previously reported for related μ -aquo bridged Mn(III)-Schiff base complexes.^{6,9,28} The small ^{55}Mn hyperfine coupling of 44 G is indicative of the electronic ground state $^5\text{B}_{1g}$, and thus this compound is either a five-coordinated distorted square-pyramidal complex or a six-coordinated distorted tetragonally elongated complex, with two axial O atoms from coordinated water molecules and two O and two N atoms from a tetradentate Schiff base ligand that is equatorially coordinated to the ion.

3.4. Crystallographic studies.

3.4.1. Crystal structure of H_2L^3 . Main bond lengths and angles of the Schiff base H_2L^3 are collected in Table 3. The structure of H_2L^3 consists of discrete molecules where two identical parts are twisted about the central aliphatic chain which acts as a spacer (Figure 2). The N1-C11 and N1-C4 distances of 1.291(3) and 1.260(3) Å, respectively, are practically identical and consistent with C=N double bonding, being both imine groups fully localised in the molecule. The distance C17-O1 of 1.294(3) Å is considerably

shorter than the C10-O2 distance of 1.34 Å; the last one fits the corresponding C-O distances for a single bond and, consequently, the former shows certain double-bond character. This behaviour can be explained by the attraction of the phenol hydrogen atom (H1) by the neighbouring nitrogen atom N1. This process is favoured by the so-called “proton-sponge” effect^{29,30} which consists of the increase in the basicity of the imine nitrogen atoms due to the spatial nearness of their lone pairs. The instability of a situation of proximity of these two lone pairs is then solved by the attraction of the proton from the hydroxy group by one of the nitrogen atoms.

H ₂ L ³	
N1-C11	1.291(3)
O1-C17	1.294(3)
O3-C16	1.372(3)
N2-C4	1.260(3)
O2-C10	1.338(3)
O4-C9	1.361(4)
N1-C1	1.457(3)
O3-C20	1.400(3)
N2-C3	1.468(3)
O4-C18	1.408(4)
C11-N1-C1	122.9(2)
N1-C1-C2	111.5(2)
N1-C11-C12	123.6(2)
C4-N2-C3	118.7(3)
N2-C3-C2	109.6(2)
N2-C4-C5	122.5(3)
O1-C17-C16	120.1(2)
O1-C17-C12	121.5(2)
O2-C10-C5	122.2(2)
O2-C10-C9	118.1(3)

Table 3. Selected bond lengths (Å) and angles (°) for H₂L³.

Despite the symmetry of the compound, the other imine/phenol pair does not show this phenomenon, just yielding a typical hydrogen bond interaction [H2...N2 1.85(3) Å, O2...N1 2.574(3) Å and O2–H2...N 147 °].

Besides, intermolecular interactions by hydrogen bonds can also be observed between the phenol oxygen atoms of neighbouring molecules.

The conformation of the free ligand in the solid state is of particular interest in relation to that required in a metal complex. Clearly, this conformation is not suitable for direct coordination to a metal ion in the usual arrangement for a tetradentate ligand. Therefore, significant rearrangement of the molecule must occur, involving rotation about the C2-C3 bond to give a near eclipsed conformation, for a mononuclear complexation.

3.4.2. Crystal structures of 1, 3 and 4. The structures of the complexes **1**, **3** and **4** have been crystallographically solved. Main crystallographic data for these complexes are summarised in Table 2, and bond lengths and angles are listed in Table 4.

	1	3A	3B	4
Mn-O _p	1.8693(18)	1.885(5)	1.887(4)	1.8852(13)
	1.8705(17)	1.890(4)	1.894(5)	1.8910(13)
Mn-N _i	1.977(2)	2.038(4)	2.034(4)	1.9947(16)
	1.988(3)	2.050(4)	2.048(4)	1.9927(16)
Mn-O _{ax}	2.230(2)	2.205(4)	2.225(4)	2.2586(16)
	2.271(2)	2.243(4)	2.203(4)	2.2538(16)
O _p -Mn-O _p	92.92(8)	86.94(11)	87.06(11)	90.59(6)
O _p -Mn-N _i	92.92(9)	89.48(12)	89.00(14)	90.48(6)
	91.52(9)	89.26(12)	90.17(12)	90.48
	174.14(9)	174.96(11)	176.02(12)	176.92(6)
	175.28(9)	175.94(11)	176.78(11)	177.33(6)
N-Mn-N	82.64(11)	95.20(12)	87.6(2)	88.31(7)
O _a -Mn-O _a	176.11(8)	172.39(9)	174.50(10)	177.12(6)
Mn...Mn	4.912	5.073	5.073	5.160

[a] O_p = O_{phenolic}; N_i = N_{iminic}; O_a = O_{axial};

Table 4. Selected bond lengths (Å) and angles (°) for the complexes **1**, **3** and **4**.^[a]

In all cases the geometry around the manganese ion can be described as distorted octahedral. An ORTEP view of **3** with the atomic numbering scheme is shown in Figure 3. The coordination sphere around each manganese centre comprises the planar Schiff base ligand, tightly bound to the metal ion through the inner N_2O_2 compartment by the N_{imine} and O_{phenol} atoms ($Mn-N_{\text{imine}}$ bond lengths of 1.97–2.05 Å and $Mn-O_{\text{phenol}}$ of 1.87–1.89 Å which are typical of such complexes and corroborate the bisdeprotonation of the ligands),^{8,31} occupying the equatorial positions and giving rise to two six-membered chelate rings (which are nearly planar) and an additional five-, six- or seven-membered chelate ring (depending of the diamine R). The axial positions of the octahedron are occupied by capping water molecules in all cases. The Jahn-Teller elongation expected for d^4 high-spin manganese(III) appears outstanding in the axis orthogonal to the plane of the Schiff base ligand, with distances ranging from 2.20 to 2.27 Å, considerably longer than the equatorial $Mn-O$ bond lengths quoted earlier.

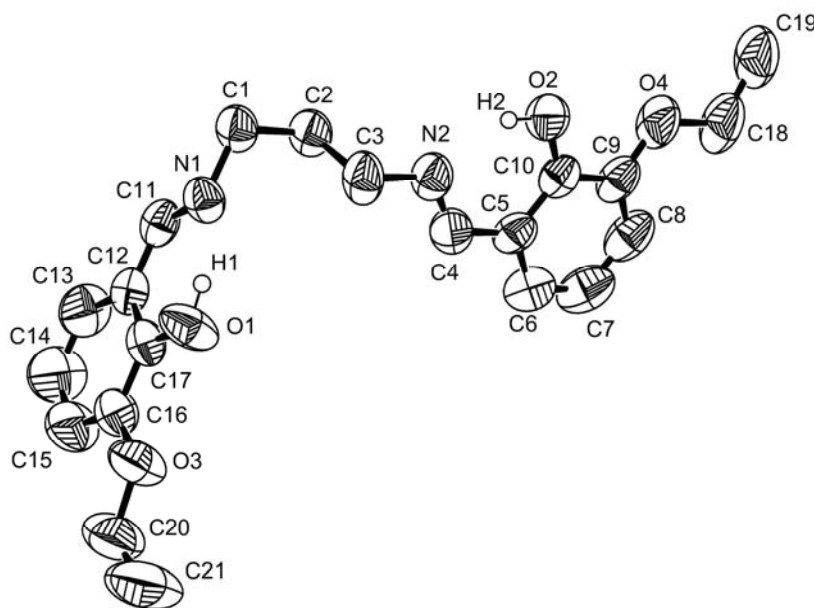


Figure 2. Molecular structure of H_2L^3 showing the atomic numbering scheme.

The deviation from an ideal octahedral geometry is also revealed by the range of angles observed around the metal centre (from 82.64 ° to 95.20°), as well as by the interaxial angle $OW-Mn-OW$ of 172.39° to 177.12°.

In the case of **3** and **4**, the disposition of the Schiff base ligand is not planar, and the two phenyl rings are located on the same (**3**) or different (**4**) (out)side of the N_2O_2 coordination site plane. The deviation from the $\text{Mn-N}_2\text{O}_2$ mean plane in such a way gives rise to a boat-shaped conformation for **3** or to a chair conformation in **4**, already observed in literature for similar cases.^{14,32}

Moreover, the superstructure of the complexes involves associations via a combination of π -aryl offset interactions (3.71 to 3.89 Å) and hydrogen bonds between capping water molecules and both phenoxy and methoxy/ethoxy oxygen atoms of the neighboring Schiff base ligand, forming dimers in **1** and **3** and polymers in **4**. These hydrogen bonds are charge-assisted, that is, the hydrogen bond donor and/or acceptor carry positive and negative ionic charges, respectively, and hence are rather strong and short.³³ The complex **3** presents in the dimer two different molecules with $\text{Mn}(1a)$ - $\text{Mn}(1a)$, $\text{Mn}(1b)$ - $\text{Mn}(1b)$, with $\text{Mn-O}_{\text{phenol}}$ and $\text{Mn-N}_{\text{imine}}$ slightly different distance values.

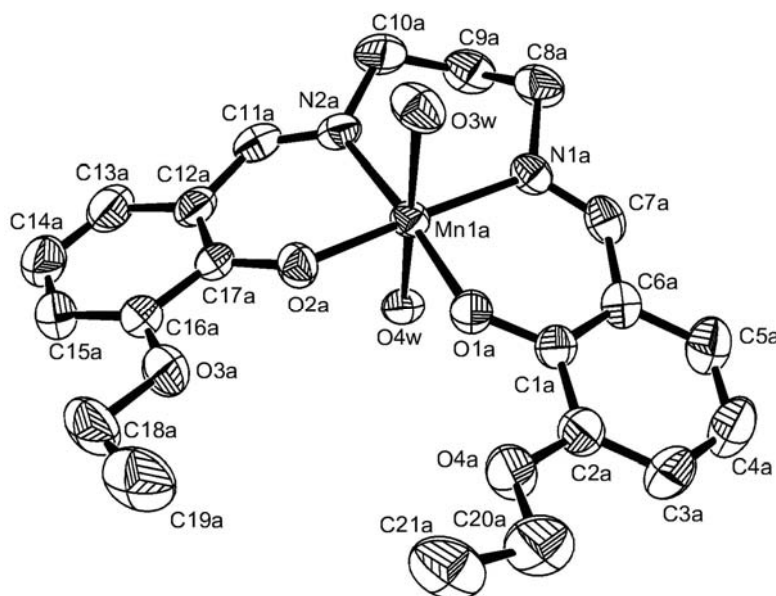


Figure 3. An ORTEP view of the environment around the manganese centre for **3**, including the atomic numbering scheme. Thermal ellipsoids are drawn at the 50 % probability level. Hydrogens are omitted for clarity.

As a result of these supramolecular interactions, the $\text{Mn}\cdots\text{Mn}$ distances of about 4.70 Å for **1** and **3** are short for monomeric compounds; these types

of $[\text{MnL}(\text{H}_2\text{O})_2]_2^{2+}$ systems (being L Schiff base) have been previously reported by us^{7-9,28} as μ -aquo dimers (Figure 4). These cationic $[\text{MnL}(\text{H}_2\text{O})_2]_2^{2+}$ entities are electrostatically stabilised by nitrate counterions, which are acting as hydrogen-bonding acceptors, interconnecting the μ -aquo dimers and enriching the final supramolecular structure. The external apical water/methanol molecules of the dimers form two hydrogen bonds with two oxygen atoms of the nitrate group; one of them is also bound to a methanol molecule. Thus, there are two nitrate groups and two methanol molecules between μ -aquo dimers, generating a 1D chain (Figure 5).

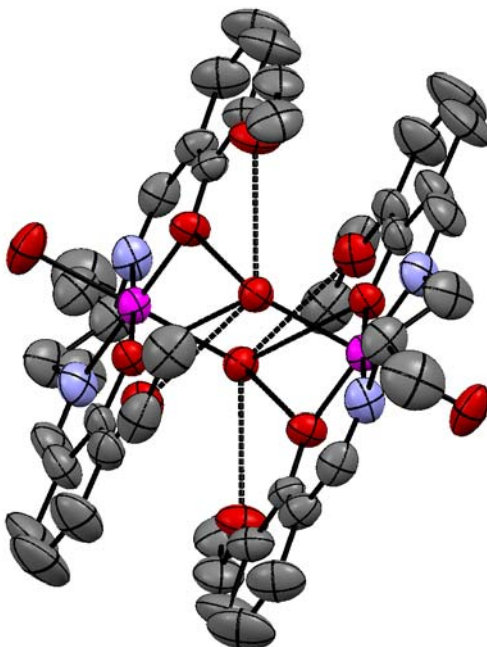


Figure 4. Molecular structure of 1.

The polymeric structures of **4** grow in one dimension, through hydrogen bonding between capping water molecules and both phenoxy and methoxy/ethoxy oxygen atoms of the neighbouring Schiff base ligand. In this case, nitrate groups and solvent water molecules are connecting through hydrogen bonds but they do not establish any of these interactions to the Mn-Schiff base moiety. This result in a 1D Mn-Schiff base chain, parallel to a channel made up of the nitrate counterions and the water molecules (Figure 6).

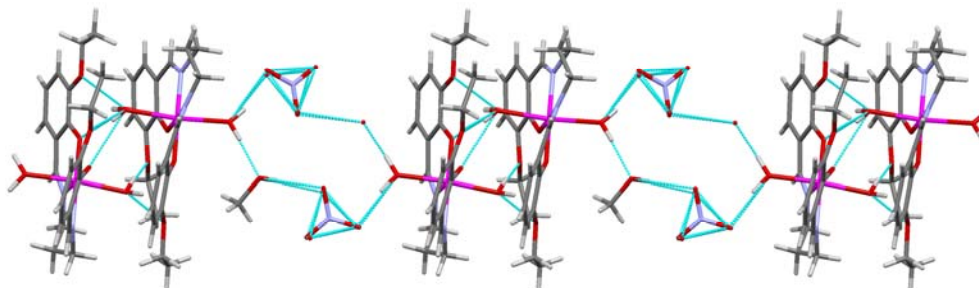


Figure 5. Stick diagram for **3** showing the hydrogen bonding between adjacent $[\text{MnL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]_2^{2+}$ dimeric units through nitrate anions and methanol solvent molecules.

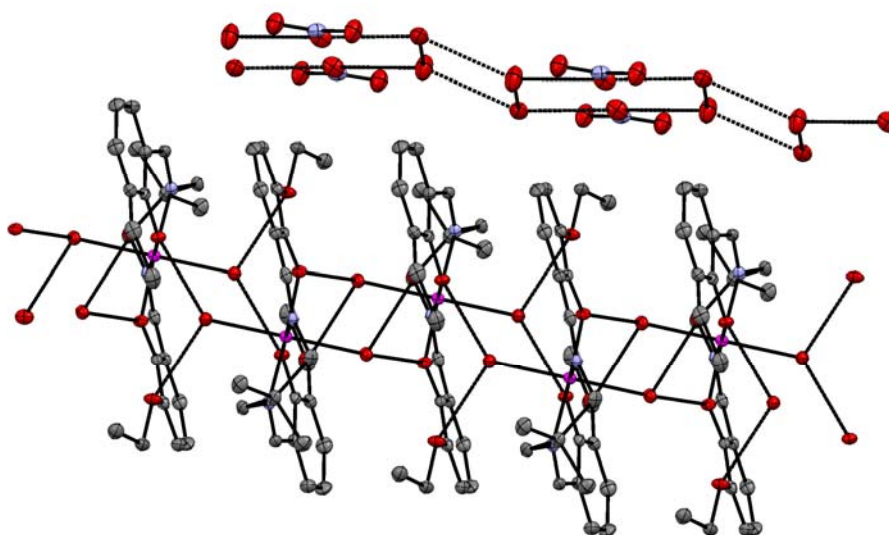


Figure 6. View along the *c*-axis of **4** showing the 1-D chains placing nitrates and solvent water molecules in channels. The chair conformation of the Schiff base ligand around the metal ion also observed.

3.5. Peroxidase and catalase studies.

The peroxidase-like activity of the complexes was followed by the oxidation of the diammonium salt of 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS) at pH 6.8 in aqueous solution. ABTS is colorless and it reacts readily with H_2O_2 in the presence of a peroxidase catalyst to yield a stable green colored radical cation $\text{ABTS}^{\cdot+}$,³⁴ which presents characteristic

absorption bands at 415, 650, 735 and 815 nm. The extent of the reaction can be measured quantitatively at $\lambda = 650$ nm since $\varepsilon = 12000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ has been determined. The oxidation potential of ABTS to provide $\text{ABTS}^{\bullet+}$ is invariable over a wide range of pH. In the absence of the complex, a solution of ABTS and H_2O_2 is stable for several hours without showing any formation of $\text{ABTS}^{\bullet+}$. The reaction of ABTS with H_2O_2 in the presence of **1–2** generates $\text{ABTS}^{\bullet+}$ and the characteristic absorption bands of this species could be established (Figure 7; Table 5). Further oxidation to the corresponding dication was not observed. Complexes **3–5** do not show significant peroxidase-like activity since the UV absorbances corresponding to the $\text{ABTS}^{\bullet+}$ radical cation are negligible in the assays with these complexes. The rate of formation of $\text{ABTS}^{\bullet+}$ of about 24–33% indicates a relevant peroxidase activity by complexes **1–2**.^{7,8}

Complex	Catalysis	
	Peroxidase ^a	Catalase ^b
1	33 ± 1	11 ± 1
2	24 ± 1	16 ± 1
3	2 ± 0.4	2 ± 0.4
4	2 ± 0.3	2 ± 0.4
5	2 ± 0.4	3 ± 0.4

^a Peroxidase activity expressed as percentage of conversion of ABTS 10 min after mixing the solutions.

^b Catalase activity expressed as percentage of H_2O_2 decomposed after 60 min.

Table 5. Peroxidase and catalase activities for 1-5.

We have also measured the stoichiometry of the disproportionation of H_2O_2 catalyzed by **1–5** by volumetric determination of the evolved O_2 . Experiments were made in methanol. The experimental setup was evaluated by the measurements for the catalytic decomposition of H_2O_2 (2.5×10^{-3} mol) with MnO_2 : ca. 30 mL of dioxygen evolution was measured by a burette, which agrees with the calculated value based on the assumption that catalytic decomposition of H_2O_2 to H_2O and O_2 takes place. Table 5 collects the results of the catalase activities. Complexes **1–2** achieve percentages of H_2O_2

dismutation from 11 to 16 %, while complexes **3-5** show considerably smaller percentages, with values lower than 3 %.

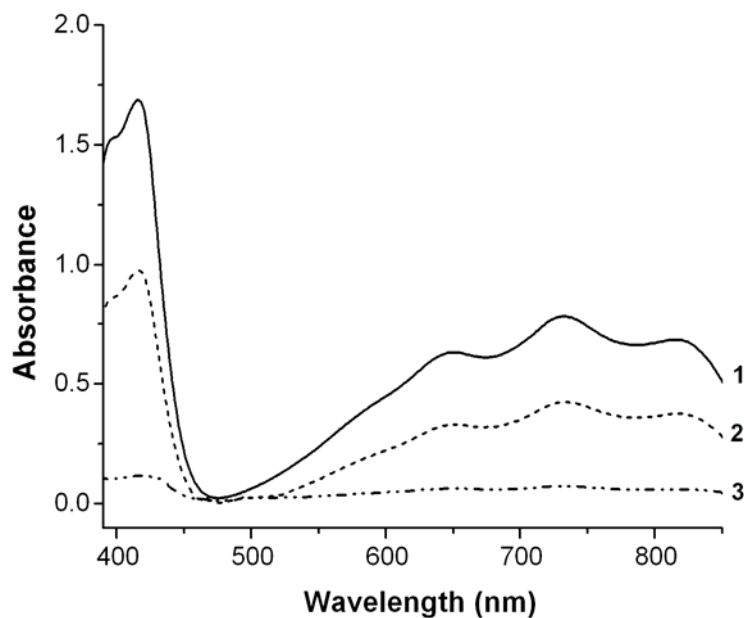


Figure 7. UV absorption spectra of **1**, **2** and **3** recorded 10 min after injecting 10 μ L of a 10⁻³ methanolic solution of the appropriate complex to 3 mL aqueous solution in the peroxidases probes. Blank spectra of ABTS + H₂O₂ and ABTS+ complex, measured separately, show absorptions lower than **3**.

Peroxidase and catalase studies clearly identify two trends of catalytic behavior. Complexes **1-2** with a spacer of 2-membered alkyl chain between the imine groups are active catalysts, while **3-5**, with 3- or 4-membered alkyl chains between the imine groups, do not present significant catalytic activities.

The dimeric nature of the complexes is decisive on their peroxidase activity since the oxidation of the hydroperoxide to generate dioxygen involves an intramolecular two-electron transfer reaction which is forbidden for a monomeric Mn(III) complex. The X-ray crystallographic studies reveal dimeric μ -aquo entities for **1**, which are able to perform a two one-electron redox process $[\text{Mn}^{\text{III}}, \text{Mn}^{\text{III}}] \rightarrow [\text{Mn}^{\text{II}}, \text{Mn}^{\text{II}}]$, while the polymeric structure of **4** probably gives monomeric complexes in solution and therefore this type of complex

may not mimic peroxidases. The self-assembly of the manganese complexes through hydrogen bonding arises as a key issue to enhance the peroxidase activity for this type of complex.^{28,35}

However, complex **3** also show a dimeric structure but poor catalytic activity. This can be explained by the ability of these compounds to coordinate the substrate molecule. We have already proposed a better catalytic behavior when the complex is able to easily coordinate the substrate molecule,⁷ and this is favored if the catalyst has either a vacancy in the coordination sphere or a labile ligand. The short two-carbon chain between imine groups in **1-2** constricts the chelate ring once nitrogens coordinate to the metal and it leads to a tetragonally elongated octahedral geometry. An axial water molecule in this class of distorted geometries constitutes a quite labile ligand, which would generate a vacant position in the coordination sphere to accommodate the substrate molecule. On the other hand, the flexible three- or four-membered alkyl chain between the imine groups in the Mn compounds **3-5** favors a better stabilization of a high-symmetry octahedral geometry, which subsequently makes the generation of a vacant difficult.

4. Conclusions.

This work again further emphasizes the suitability of Schiff bases with inner and outer O –X (X = CH₂CH₃ in the present work) groups for establishing rich hydrogen-bonding networks, and shows that the counterion is a key factor in order to achieve supramolecular architectures.

The correlation of peroxidase and catalase activities of the complexes with the length of the spacer of the Schiff base should be also taken into account for the designing of new potential catalytic systems.

Supplementary Material.

CCDC 785921(for H₂L³), CCDC 786037 (for **1**), CCDC 786040 (for **3**), CCDC 786042 (for **4**), contain the supplementary crystallographic data for

this paper. These data can be obtained free of charge from The Cambridge Crystallographic Data Centre via www.ccdc.cam.ac.uk/

Acknowledgements.

We thank Xunta de Galicia (09DPI004291PR) for financial support.

References.

- 1 C. Baleizao, H. Garcia. *Chem. Rev.*, **106**, 3987 (2006).
- 2 F. Rosati, G. Roelfes. *ChemCatChem*. **2**, 916 (2010).
- 3 R. Li, F.P. Huang, X.J. Jiang, M.Y. Liu, Y.Y. Song, H. Liu, J.Y. Zhang. *J. Coord. Chem.*, **63**, 1611 (2010).
- 4 J. Steinreiber, T. R. Ward. *Coord. Chem. Rev.*, **252**, 751 (2008).
- 5 V. Calabrese, C. Cornelius, C. Mancuso, G. Pennisi, S. Calafato, F. Bellia. *Neurochem. Res.*, **33**, 2444 (2008).
- 6 M. Maneiro, M.R. Bermejo, M.I. Fernandez, E. Gomez-Forneas, A.M. Gonzalez-Noya, A.M. Tyryshkin. *New J. Chem.*, **27**, 727 (2003).
- 7 M.R. Bermejo, M.I. Fernandez, A.M. Gonzalez-Noya, M. Maneiro, R. Pedrido, M.J. Rodriguez, J.C. Garcia-Monteagudo, B. Donnadieu. *J. Inorg. Biochem.*, **100**, 1470 (2006).
- 8 M.R. Bermejo, M.I. Fernandez, E. Gomez-Forneas, A. Gonzalez-Noya, M. Maneiro, R. Pedrido, M.J. Rodriguez. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 3789 (2007).
- 9 G. González-Riopedre, M.I. Fernández-García, A.M. González-Noya, M.A. Vázquez-Fernández, M.R. Bermejo, M. Maneiro. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2011, DOI: 10.1039/C1CP21154D.
- 10 H. Shyu, H. Wei, Y. Wang. *Inorg. Chim. Acta*, **290**, 8 (1999).
- 11 G. Aromi, S. Bhaduri, P. Artus, K. Folting, G. Christou. *Inorg. Chem.*, **41**, 805 (2002).
- 12 G. Morgan, K. Murnaghan, H. Muller-Bunz, V. Mckee, C. Harding. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 7192 (2006).

- 13 G. Fernandez, M. Corbella, G. Aullon, M. Maestro, J. Mahia. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 1285 (2007).
- 14 J.P. Costes, F. Dahan, B. Donnadieu, M.I. Fernandez-Garcia, M.J. Rodriguez-Douton. *Dalton Trans.*, 3776 (2003).
- 15 V. Amendola, M. Boiocchi, B. Colasson, L. Fabbrizzi, M. Rodriguez-Douton, F. Ugozzoli. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 6920 (2006).
- 16 P.A. Gale, S.E. Garcia-Garrido. J. Garric. *Chem. Soc. Rev.*, **37**, 151 (2008).
- 17 B. Notash, N. Safari, H.R. Khavasi. *Inorg. Chem.*, **49**, 11415 (2010).
- 18 M. Maneiro, M.R. Bermejo, A. Sousa, M. Fondo, A.M. Gonzalez, A. Sousa-Pedrares, C.A. McAuliffe. *Polyhedron*, **19**, 47 (2000).
- 19 G.M. Sheldrick. *SHELX-97 (shelxs 97 and shelxl 97), Programs for Crystal Structure Analyses*, University of Göttingen, Germany, 1997.
- 20 G.M. Sheldrick. *SADABS, Program for Scaling and Correction of Area Detector Data*, University of Göttingen, Germany, 1996.
- 21 W.J. Geary. *Coord. Chem. Rev.*, **7**, 81 (1971).
- 22 D. Kong, Y. Xie. *Inorg. Chim. Acta*, **338**, 142 (2002).
- 23 P. Przychodzen, M. Rams, C. Guyard-Duhayon, B. Sieklucka. *Inorg Chem Commun.*, **8**, 350 (2005).
- 24 V. Daier, D. Moreno, C. Duhayon, J. Tuchagues, S. Signorella. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 965 (2010).
- 25 D. Pursche, M.V. Triller, C. Slinn, N. Redding, A. Rompel, B. Krebs. *Inorg. Chim. Acta*, **357**, 1695 (2004).
- 26 J.A. Bonadies, M.L. Maroney, V.L. Pecoraro. *Inorg. Chem.*, **28**, 2044 (1989).
- 27 E. Talsi, K. Bryliakov, *Mendeleev Commun.*, **14**, 111 (2004).
- 28 A. Vázquez-Fernández, M.R. Bermejo, M.I. Fernández-García, G. González-Riopedre, M.J. Rodríguez-Doutón, M. Maneiro, *J. Inorg. Biochem.*, 2011, DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2011.09.002.

- 29 A.L. Llamas-Saiz, C. Foces, J. Elguero. *J. Mol. Struct.*, **328**, 297 (1994).
- 30 D. Mekhatria, S. Rigolet, C. Janiak, A. Simon-Masseron, M.A. Hasnaoui, A. Bengueddach. *Cryst. Growth Des.*, **11**, 396 (2011).
- 31 Q. Wu, Q. Shi, Y.G. Li, E.B. Wang. *J. Coord. Chem.*, **61**, 3080 (2008).
- 32 M.R. Bermejo, M. Fondo, A. Garcia-Deibe, A.M. Gonzalez, A. Sousa, J. Sanmartin, C.A. McAuliffe, R.G. Pritchard, M. Watkinson, V. Lukov. *Inorg. Chim. Acta*, **293**, 210 (1999).
- 33 H.A. Habib, B. Gil-Hernández, K. Abu-Shandi, J. Sanchiz, C. Janiak. *Polyhedron*, **29**, 2537 (2010).
- 34 M. Zippies, W. Lee, T. Bruice. *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 4433 (1986).
- 35 W. Huang, J.X. Jiang, Z. Q. Feng, X. X. Kai, C. J. Hu, H. Yu, W. Yang. *J. Coord. Chem.*, **64**, 2101 (2011).

**Catalizadores
biomiméticos
autoensamblados**
G. González-Riopedre

**APÉNDICE III
Influence of the
geometry around the
manganese ion on the
catalytic activity**

**Influence of the geometry around the manganese ion on
the peroxidase and catalase activities of Mn(III)-Schiff
base complexes**

**M. Ángeles Vázquez-Fernández,^a Manuel R. Bermejo,^b M. Isabel
Fernández-García,^a Gustavo González-Riopedre,^a M. Jesús Rodríguez
Doutón,^a Marcelino Maneiro.^a**

***Published in Journal of Inorganic Biochemistry, 2011, 105, 1538-1547
(DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2011.09.002).***

^a *Departamento de Química Inorgánica, Facultade de Ciencias, Universidade de Santiago de Compostela, Avda. Alfonso X O Sabio s/n, Lugo, Galicia E-27002, Spain.*

^b *Departamento de Química Inorgánica, Facultade de Química, Universidade de Santiago de Compostela, Avda. das Ciencias s/n, Santiago de Compostela, Galicia E-15782, Spain.*

Abstract.

The peroxidase and catalase activities of eighteen manganese-Schiff base complexes have been studied. A correlation between the structure of the complexes and their catalytic activity is discussed on the basis of the variety of systems studied. Complexes **1-18** have the general formulae $[\text{MnL}^n(\text{D})_2](\text{X})(\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{OH})_m$, where $\text{L}^n = \text{L}^1\text{-L}^{13}$; $\text{D} = \text{H}_2\text{O}$, CH_3OH or Cl ; $m=0\text{-}2.5$ and $\text{X} = \text{NO}_3^-$, Cl^- , ClO_4^- , CH_3COO^- , $\text{C}_2\text{H}_5\text{COO}^-$ or $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{COO}^-$. The dianionic tetradentate Schiff base ligands H_2L^n are the result of the condensation of different substituted (OMe-, OEt-, Br-, Cl-) hydroxybenzaldehyde with diverse diamines (1,2-diaminoethane for $\text{H}_2\text{L}^1\text{-H}_2\text{L}^2$; 1,2-diamino-2-methylethane for $\text{H}_2\text{L}^3\text{-H}_2\text{L}^4$; 1,2-diamino-2,2-dimethylethane for H_2L^5 ; 1,2-diphenylenediamine for $\text{H}_2\text{L}^6\text{-H}_2\text{L}^7$; 1,3-diaminopropane for $\text{H}_2\text{L}^8\text{-H}_2\text{L}^{11}$; 1,3-diamino-2,2-dimethylpropane for $\text{H}_2\text{L}^{12}\text{-H}_2\text{L}^{13}$). The new Mn(III) complexes $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}](\text{H}_2\text{O})_{2.5}$ (**2**), $[\text{MnL}^2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$ (**4**), $\text{MnL}^6(\text{H}_2\text{O})_2[\text{MnL}^6(\text{CH}_3\text{OH})(\text{H}_2\text{O})](\text{NO}_3)_2(\text{CH}_3\text{OH})$ (**8**), $[\text{MnL}^6(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})$ (**9**) and $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{CH}_3\text{OH})_2$ (**12**) were isolated and characterised by elemental analysis, magnetic susceptibility and conductivity measurements, redox studies, ESI spectrometry and UV, IR, paramagnetic ^1H NMR, and EPR spectroscopies. X-ray crystallographic studies of these complexes and of the ligand H_2L^6 are also reported. The crystal structures of the rest of complexes have been previously published and herein we have only revised their study by those techniques still not reported (EPR and ^1H NMR for some of these compounds) and which help to establish their structures in solution. Complexes **1-12** behave as more efficient mimics of peroxidase or catalase in contrast with **13-18**. The analysis between the catalytic activity and the structure of the compounds emphasizes the significance of the existence of a vacant or a labile position in the coordination sphere of the catalyst.

1. Introduction.

Antioxidative enzymes like peroxidases and catalases protect organisms against oxidative damage by removing the appreciable levels of hydrogen peroxide, a by-product of respiration.¹ Catalases are able to disproportionate H_2O_2 into water and dioxygen; peroxidases catalyse

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

oxidation of a broad range of substrates by hydrogen peroxide.² The peroxidase activity may be successfully used for different industrial processes since peroxidases are capable of degrading a broad range of chemical structures as lignin or different recalcitrant pollutants as polycyclic aromatic hydrocarbons.^{3,4} Interestingly, many of these processes can be catalyzed by either the biological enzyme or by synthetic catalysts. Therefore, the synthesis and study of new biomimetic catalysts is an active field of research.⁵ Synthetic manganese peroxidases have been applied in the laundry detergent industry⁶ or may be used for biopulping and biobleaching in the paper industry.⁷

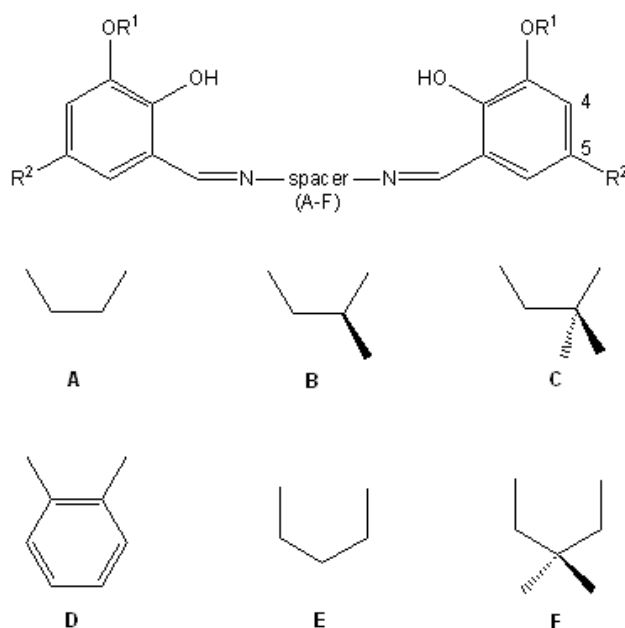
Manganese complexes involving tetradentate ONNO Schiff bases are one of the most versatile and interesting synthetic systems that can act as artificial mimics of peroxidases and catalases.^{8,9} These systems are able to modify their basic character or steric properties as a function of the substituents on the aromatic rings. The energetics involved in the azometine group formation and its stability versus primary amines would explain why Nature is likely to choose these organic residues, instead of other more unfavorable systems.¹⁰⁻¹² Besides, the high stabilization of the manganese-Schiff base complexes by the strong chelate effect makes it possible to operate in industrial processes as economic catalysts under a broad range of conditions (pH, high temperature, concentration).

We have previously reported a number of these synthetic complexes capable of mimicking peroxidases^{13,14} in contrast to other non-active models.¹⁵ A comparison of the activity of structurally characterized complexes can help delineate the functional roles of the bridging ligands and structural motifs that play a key role in the peroxidase activity.

Herein we report the study as peroxidase and catalase mimics of eighteen complexes using Schiff bases with different spacers between the imine groups or different substituents on the phenyl rings, and also stabilized by different anions (nitrate, chloride, perchlorate, acetate and other carboxylates). The incorporation of these different anions enhances the solubility of these systems in polar solvents and it enables its possible industrial application. The different motifs of the Schiff bases are depicted in Scheme 1. The list of anions is collected in Table 1. Complexes **2**, **4**, **8**, **9** and

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

12 are new compounds and they have been fully characterised by all techniques. The study of the previously reported complexes **1**, **3**, **5-7**, **10-11** and **13-18**¹³⁻²¹ includes those techniques not always found in literature (EPR and ¹H NMR spectroscopies), with the aim of a suitable characterization in solution for all complexes, in order to assess the influence of the structure in the catalytic activity of these compounds.



Scheme 1. Structures for the spacers A-F placed in the main skeleton structure of the Schiff bases H₂L¹-H₂L¹³.

2. Experimental.

2.1. Chemicals.

All the starting materials (Aldrich) and solvents (Probus) used for the synthesis were of commercially available reagent grade and were used without further purification.

2.2. Physical measurements.

Elemental analyses were performed on a Carlo Erba Model 1108 CHNS-O elemental analyzer. The IR spectra were recorded as KBr pellets on

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

a Bio-Rad FTS 135 spectrophotometer in the range 4000-400 cm^{-1} . ^1H and ^{13}C NMR spectra were recorded on a Bruker AC-300 spectrometer using DMSO-d_6 (296 K) as solvent and SiMe_4 as an internal reference. The electro-spray mass spectra of the compounds were obtained on a Hewlett-Packard model LC-MSD 1100 instrument (positive ion mode, 98:2 $\text{CH}_3\text{OH-HCOOH}$ as mobile phase, 30 to 100 V). Room-temperature magnetic susceptibilities were measured using a digital measurement system MSB-MKI, calibrated using mercury tetrakis(isothiocyanato) cobalt(II) $\text{Hg}[\text{Co}(\text{NCS})_4]$ as a susceptibility standard. Electronic spectra were recorded on a Cary 230 spectrometer. Conductivities of 10^{-3} M solutions in DMF were measured on a Crison microCM 2200 conductivimeter. EPR measurements were carried out on a Bruker ESP300E X-band spectrometer equipped with an ER4116 DM dual-mode cavity and an Oxford 900 continuous flow cryostat. Typical temperature for EPR measurements was 9 K, and other experimental conditions are shown in figure caption.

Electrochemical experiments (cyclic voltammetry, CV) were performed with a BAS 100B/W Electrochemical Workstation. The working electrode was a platinum microsphere and the counter electrode a platinum wire. An Ag/AgCl electrode was used as pseudo-reference and was calibrated vs. ferrocene as an internal standard. The measured potentials were referred to the Fc/Fc^+ couple (425 mV vs. SCE). Measurements were made with *ca.* 10^{-3} M solutions of complexes in DMF using 0.1 M in tetraethylammonium perchlorate as a supporting electrolyte.

2.3. Preparation of the Schiff base ligands.

All the thirteen Schiff bases used in this study were prepared by condensation of the appropriate diamine (1,2-diaminoethane, 1,2-diamino-2-methylethane; 1,2-diamino-2,2-dimethylethane, 1,2-diphenylenediamine, 1,3-diaminopropane, 1,3-diamino-2,2-dimethylpropane) with 3-methoxy-2-hydroxybenzaldehyde, 3-ethoxy-2-hydroxybenzaldehyde, 3-methoxy-5-bromo-2-hydroxybenzaldehyde, 5-chloro-2-hydroxybenzaldehyde or 5-bromo-2-hydroxybenzaldehyde. Schiff bases H_2L^1 - H_2L^{13} have been already reported by us and characterised by elemental analysis, ^1H - and ^{13}C NMR spectroscopy, ES mass spectroscopy and IR spectroscopy.¹³⁻²¹ The crystal structure of H_2L^6 is described in the present work after obtaining of crystals

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

adequate for X-ray diffraction studies by slow evaporation of a methanol solution.

Schiff base Spacer	R ¹ , R ² (H ₂ L ⁿ) ^a	Complex	Crystal distances		CCDC no. ^b
			Mn-O _{ax}	Mn-O _{eq}	
A	OMe (H ₂ L ¹)	1 [MnL ¹ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(CH ₃ OH)	2.326	1.872	785922
	OMe (H ₂ L ¹)	2 [MnL ¹ (H ₂ O)Cl](H ₂ O) _{2.5}	2.318	1.878	This work
	OMe (H ₂ L ¹)	3 [MnL ¹ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)	2.314	1.865	636347
	OEt (H ₂ L ²)	4 [MnL ² (H ₂ O) ₂](NO ₃)(H ₂ O)	2.373	1.862	This work
B	OMe (H ₂ L ³)	5 [MnL ³ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(CH ₃ OH)	2.263	1.880	785923
	OEt (H ₂ L ⁴)	6 [MnL ⁴ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(CH ₃ OH)	2.271	1.870	786037
C	OMe (H ₂ L ⁵)	7 [MnL ⁵ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)	2.36	1.851	636348
D	OMe (H ₂ L ⁶)	8A [MnL ⁶ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(CH ₃ OH)	2.246	1.871	This work
	OMe (H ₂ L ⁶)	8B [MnL ⁶ (CH ₃ OH)(H ₂ O)](NO ₃)	2.258	1.879	This work
	OMe (H ₂ L ⁶)	9 [MnL ⁶ (H ₂ O)(OAc)](H ₂ O)	2.282	1.893	This work
	OMe (H ₂ L ⁶)	10A [MnL ⁶ (H ₂ O)(O ₂ CET)]	2.308	1.869	291521
	OMe (H ₂ L ⁶)	10B [MnL ⁶ (H ₂ O)(O ₂ CET)]	2.338	1.876	291521
	OMe(H ₂ L ⁶)	11 [MnL ⁶ (H ₂ O)(O ₂ CPe ⁿ)]	2.339	1.865	291522
	OEt (H ₂ L ⁷)	12 [MnL ⁷ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(CH ₃ OH) ₂	2.25	1.872	This work
E	OEt (H ₂ L ⁸)	13 [MnL ⁸ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(CH ₃ OH)(H ₂ O)	2.243	1.889	786040
	OMe, Br (H ₂ L ⁹)	14 [MnL ⁹ (H ₂ O)(EtOH)](ClO ₄)	2.203	1.863	127776
	H, Cl (H ₂ L ¹⁰)	15 [MnL ¹⁰ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)(H ₂ O)	2.22	1.88	Ref. 20
	H, Br (H ₂ L ¹¹)	16 [MnL ¹¹ (H ₂ O) ₂](ClO ₄)(H ₂ O)	2.21	1.90	Ref. 17
F	OMe (H ₂ L ¹²)	17 [MnL ¹² (H ₂ O) ₂](NO ₃)(H ₂ O) ₂	2.206	1.904	786041
	OEt (H ₂ L ¹³)	18 [MnL ¹³ (H ₂ O) ₂](NO ₃)(H ₂ O) ₂	2.258	1.888	786042

^a Substituent on the phenyl ring of the Schiff base, R² is omitted when corresponds to H, which is the case of all the ligands except H₂L⁹-H₂L¹¹.

^b CCDC number in parentheses (reference number for complexes **15** and **16**).

Table 1. Complexes **1-18** classified by the spacer between the imine groups and the substituents on the phenyl rings (R¹ and R²) of the Schiff bases employed (see Scheme 1 for the main skeleton structures for ligands and the spacer structures); axial and equatorial crystal distances around the manganese ion for each complex, indicating the CCDC for the crystal structure.

2.4. Complex preparation.

The eighteen complexes used in this work have been obtained by different preparations in function of the starting salts and some of them have been already detailed in previous publications.¹⁴⁻²¹ Herein we describe the synthesis of the new complexes not reported before (**2**, **4**, **8**, **9**, **12**).

[MnL¹(H₂O)Cl](H₂O)_{2.5}, (2): H₂L¹ (1 mmol, 0.30 g) was dissolved in methanol (40 mL) and MnCl₂·4H₂O (1 mmol, 0.20 g), dissolved in methanol was added to the initial yellow solution, which changed to green. After stirring for 10 min, NaOH (2 mmol, 0.08 g), dissolved in a small quantity of water, was added and the mixture turned black. The reaction mixture was refluxed for 2 hours, and then concentrated in vacuo to half its volume. The complex was obtained as brown crystals, suitable for single-crystal X-ray diffraction studies, after slow concentration of the solution. These crystals were isolated by filtration, washed with diethyl ether and dried in air, yield: 0.29 g, 60 %. Anal. Calc. for C₁₈H₂₅ClMnN₂O_{7.5} (479.79): C, 45.0; N, 5.8; H, 5.2. Found: C, 45.2; N, 5.6; H, 5.1%. MS ES (*m/z*): 381 (calc. 381) [MnL¹]⁺. IR (KBr, cm⁻¹): ν(O-H) 3416 (m (medium)), ν(C=N) 1624 (vs (very strong)), ν(C-O) 1251 (s (strong)). μ = 5.0 BM. ¹H NMR (300 MHz, [D₆]DMSO): δ = -25.51(H4), -19.06 (H5) ppm. Conductivity (in DMF) Λ_M = 22 μS. E_{ox} = -0.585 V; E_{red} = -0.464 V; E_{1/2} = -0.525 V.

[MnL²(H₂O)₂](NO₃)(H₂O), (4): To 50mL of a methanol solution of H₂L² (0.25 g, 0.70 mmol) were added 30 mL of a methanol solution of Mn(NO₃)₂·4H₂O (0.18 g, 0.70 mmol) at room temperature. The initial light colour of the solution rapidly changed to brown. After 3 h of stirring at room temperature slow evaporation of solvent lead to deposition of brown crystals, suitable for single-crystal X-ray diffraction studies. These crystals were collected by filtration, washed with diethyl ether (2x20 mL) and then dried in air, yield: 0.11 g, 30%. Anal. Calc. for C₂₀H₂₈MnN₃O₁₀ (525.4): C, 45.7; H, 5.3; N, 8.0. Found: C, 45.5; H, 5.0; N, 8.0%. MS ES (*m/z*): 409 (calc. 409) [MnL²]⁺, 880 (calc. 880) [Mn₂L²₂(NO₃)]⁺. IR (KBr, cm⁻¹): ν(O-H) 3414 (m), ν(C=N) 1617 (vs), ν(C-O) 1258 (s), ν(NO₃) 1384 (vs), 846 (m), 735 (s). μ = 4.9 BM. ¹H NMR (300 MHz, [D₆]DMSO): δ = -29.45 (H4), -19.93 (H5) ppm. Conductivity (in DMF) Λ_M = 82 μS. E_{ox} = -0.643 V; E_{red} = -0.779 V; E_{1/2} = -0.711 V.

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

[MnL⁶(H₂O)₂][MnL⁶(CH₃OH)(H₂O)](NO₃)₂(CH₃OH), (8): The preparation procedure is similar to the nitrate complex **4**, using 0.37 g of H₂L⁶ (1.00 mmol) and 0.26 g of Mn(NO₃)₂·4H₂O (1.00 mmol); yield: 0.44 g (80%). Recrystallisation in methanol gave brown crystals, suitable for single-crystal X-ray diffraction studies. Anal. Calc. for C₄₆H₅₀Mn₂N₆O₁₉ (1100.8): C, 50.1; H, 4.5; N, 7.6. Found: C, 48.5; H, 4.5; N, 7.7% (Although the elemental analysis value for C for compound **8** was unsatisfactory, the MS ES result and other spectroscopic analysis data (IR and ¹H NMR), and most definitively, the crystal structure (Fig. 3) support the formula). MS ES (*m/z*): 429 (calc. 429) [MnL⁶]⁺, 920 (calc. 920) [Mn₂L⁶₂(NO₃)]⁺. IR (KBr, cm⁻¹): ν(O-H) 3420 (m), ν(C=N) 1603 (vs), ν(C-O) 1253 (s), ν(NO₃) 1384 (vs), 829 (m), 740 (s). μ = 4.9 BM. ¹H NMR (300 MHz, [D₆]DMSO): δ = -28.80 (H4), -16.05, -18.80 (H5) ppm. Conductivity (in DMF) Λ_M = 82 μS. E_{ox} = -0.545 V; E_{red} = -0.445 V; E_{1/2} = -0.495 V.

[MnL⁶(H₂O)(OAc)](H₂O)₂, (9): H₂L⁶ (1 mmol, 0.37 g) was dissolved in methanol (40 mL) and Mn(OAc)₂·4H₂O (1 mmol, 0.25 g), dissolved in methanol was added to the initial yellow solution, which changed to green. After stirring for 10 min, NaOH (2 mmol, 0.08 g), dissolved in a small quantity of water, was added and the mixture turned black. The reaction mixture was refluxed for 2 hours, and then concentrated in vacuo to half its volume. The complex was obtained as black crystals, suitable for single-crystal X-ray diffraction studies, after slow concentration of the solution. These crystals were isolated by filtration, washed with diethyl ether and dried in air. Anal. Calc. for C₂₄H₂₇MnN₂O₉ (542.0): C, 53.1; H, 5.0; N, 5.2. Found: C, 53.1; H, 4.7; N, 5.2%. MS ES (*m/z*): 429 (calc. 429) [MnL⁶]⁺, 918 (calc. 917) [Mn₂L⁶₂(OAc)]⁺. IR (KBr, cm⁻¹): ν(O-H) 3437 (m), ν(C=N) 1605 (vs), ν(C-O) 1253 (s), ν_{asym}(CO₂) 1559 (s), ν_{sym}(CO₂) 1436 (m). μ = 5.0 BM. ¹H NMR (300 MHz, [D₆]DMSO): δ = -28.72 (H4), -15.55, -16.90 (H5) ppm. Conductivity (in DMF) Λ_M = 10 μS.

[MnL⁷(H₂O)₂](NO₃)(CH₃OH)₂, (12). The preparation procedure is similar to the nitrate complex **4**, using 0.30 g of H₂L⁷ (0.74 mmol) and 0.19 g of Mn(NO₃)₂·4H₂O (0.74 mmol); yield: 0.36 g (78%). Recrystallisation in methanol gave brown crystals, suitable for single-crystal X-ray diffraction studies. Anal. Calc. for C₂₆H₃₄MnN₃O₁₁ (619.5): C, 50.4; H, 5.5; N, 6.8. Found: C, 50.4; H, 5.4; N, 6.8%. MS ES (*m/z*): 457 (calc. 457) [MnL⁷]⁺, 976 (calc. 976) [Mn₂L⁷₂(NO₃)]⁺. IR (KBr, cm⁻¹): ν(O-H) 3427 (m), ν(C=N) 1601 (vs), ν(C-

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

O) 1253 (s), $\nu(\text{NO}_3)$ 1384 (vs), 852 (m), 739 (s). $\mu = 4.8 \text{ BM}$. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = -24.70, -21.14$ (H4), $-17.50, -19.90$ (H5) ppm. Conductivity (in DMF) $\Lambda_M = 84 \text{ }\mu\text{S}$. $E_{\text{ox}} = -0.715 \text{ V}$; $E_{\text{red}} = -0.638$; $E_{1/2} = -0.677 \text{ V}$.

2.5. Peroxidase probes.

Oxidation of 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS) with H_2O_2 at ca. pH 7 in the presence of the complexes was tested in the following manner. An aqueous solution of ABTS (50 μL ; 0.009 M; 4.5×10^{-7} mol) and a methanolic solution of the complex (10 μL ; 10^{-3} M; 10^{-8} mol) were added to water (3 mL). The intensity of the UV absorption bands of ABTS started to increase immediately after addition of an aqueous solution of H_2O_2 (50 μL ; 10 M; 5×10^{-4} mol). Spectra were recorded every 30 s, and the data reported in Table 4 is taken from the spectra recorded 10 min after mixing.

2.6 Studies on catalase-like function.

A 10 mL flask containing the solution of the complexes in methanol (3 mL, 1 mM) was sealed with septum and connected to a gas-measuring burette (precision of 0.1 mL) through double-ended needle. The solution was stirred at constant temperature on a water bath. The catalysis was initiated by introducing H_2O_2 solution (1 mL, 2.5 M) using syringe, and the evolved dioxygen was volumetrically measured.

2.7. X-ray diffraction studies.

Single crystals of the ligand H_2L^6 , and of the complexes **2**, **4**, **8**, **9** and **12** suitable for X-ray diffraction studies, were obtained by slow evaporation of the methanolic solution at room temperature.

Detailed crystal data collection and refinement are summarized in Table 2 (for the ligand H_2L^6) and Tables 3A and 3B (for the complexes). Intensity data were collected on an Enraf-Nonius FR590 diffractometer using graphite-monochromated $\text{Cu-K}\alpha$ radiation ($\lambda = 1.54184 \text{ \AA}$) for H_2L^6 at room temperature; on a Bruker-Smart CCD-1000 diffractometer employing graphite-monochromated $\text{Mo-K}\alpha$ radiation ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$) for **2** and **4** at room temperature, for **12** at 180 K, for **8** at 120 K, and 110 K for **9**. The structures were solved by direct methods²² and finally refined by full-matrix least-squares base on F^2 . An empirical absorption correction was applied using

SADABS.²³ All non-hydrogen atoms were included in the model at geometrically calculated positions.

3. Results and Discussion.

3.1. Synthesis of the complexes.

The synthesis of the new manganese(III) complexes reported herein **2**, **4**, **8**, **9** and **12** is detailed in the Experimental Section. In this publication the discussion about the characterization will be mainly limited to these five complexes. They appear to be stable in the solid state and in solution, and they are moderately soluble in common organic solvents and soluble in polar aprotic coordinating solvents such as DMF and DMSO. Elemental analysis establishes their formulae as $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}](\text{H}_2\text{O})_{2.5}$ (**2**), $[\text{MnL}^2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$ (**4**), $[\text{MnL}^6(\text{H}_2\text{O})_2][\text{MnL}^6(\text{CH}_3\text{OH})(\text{H}_2\text{O})](\text{NO}_3)_2(\text{CH}_3\text{OH})$ (**8**), $[\text{MnL}^6(\text{H}_2\text{O})(\text{OAc})](\text{H}_2\text{O})$ (**9**) and $[\text{MnL}^7(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{CH}_3\text{OH})_2$ (**12**). These formulations are in agreement with molar conductivity measurements in 10^{-3} M DMF solutions, which are at about $80 \mu\text{S cm}^{-1}$ for **4**, **8** and **12**, indicating behaviour attributable to 1:1 electrolytes, and at about $10\text{-}20 \mu\text{S cm}^{-1}$ for **2** and **9**, typical of non-electrolyte complexes.²⁴ Also it has been found that other carboxylate complexes **10-11** behave as non-electrolytes,¹⁴ while **1**, **3**, **5-7**, **13-18** show conductivity values consistent with 1:1 electrolytes.^{13,15-20} Furthermore, other spectroscopic techniques support such formulae and give insights into both solid and solution structure of the complexes.

3.2. Characterization in solid state: IR spectroscopy, magnetic moments and X-ray crystallography.

All the complexes **1-18** share some similar features in the IR spectra, exhibiting a strong band between $1620\text{-}1601 \text{ cm}^{-1}$ characteristic of the $\nu(\text{C}=\text{N})$ stretching mode, which is shifted $8\text{-}25 \text{ cm}^{-1}$ lower respect to the free Schiff base ligand, indicating the coordination to the manganese through the nitrogen atoms of the imine group. The band attributed to the $\nu(\text{C}-\text{O})$ mode at about 1250 cm^{-1} is shifted $4\text{-}10 \text{ cm}^{-1}$ to higher frequencies respect to the free ligand. These data suggest the coordination of the Schiff bases through the inner phenol oxygens and the imine nitrogen atoms. Strong bands centered at

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

ca. 3400 cm⁻¹ can be assigned to a combination of the $\nu(\text{O-H})$ modes of coordinated and lattice water/methanol, now present in the complexes.

In the case of complexes **1**, **4-6**, **8**, **12-13** and **17-18**, the appearance of a new strong and sharp band at 1384 cm⁻¹, together with bands at ca. 740 and 850 cm⁻¹ are characteristic of the non-coordinated nitrate counterion.²⁵

	H ₂ L ⁶
Empirical formula	C ₂₂ H ₂₀ N ₂ O ₄
Formula weight	376.41
Temperature [K]	293(2)
Wavelength [Å]	1.54184
Crystal system	Monoclinic
Space group	P2 ₁ /c
a [Å]	6.6552(8)
b [Å]	16.8679(11)
c [Å]	17.1788(11)
β [°]	97.925(10)
Volume [Å ³]	1910.1(3)
Z	4
D _{calcd.} [g cm ⁻³]	1.309
μ [mm ⁻¹]	0.744
F(000)	792
$\theta_{\text{min/max}}$ [°]	3.69/74.87
Total data	4236
Unique data	3899
R _{int}	0.0238
Restraints/parameters	0 / 267
GOF	1.058
Final R indices [$I > 2\sigma(I)$]	R ₁ = 0.0589 wR ₂ = 0.1548
R indices (all data)	R ₁ = 0.114 wR ₂ = 0.1819

Table 2. Crystal data and structure refinement for H₂L⁶.

Complex **9** shows two new bands at 1559 and 1436 cm⁻¹ assigned to asymmetrical and symmetrical carboxylate CO₂⁻ vibrational modes, respectively; besides, the difference between these two bands (123 cm⁻¹) indicates the acetate is acting as unidentate.^{26,27} Also a similar behaviour has

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

been already reported for complexes **10** and **11**,¹⁴ with differences between these bands ranging from 128 to 132 cm⁻¹.

	2	4	8
Empirical formula	C ₃₆ H ₅₀ Cl ₂ Mn ₂ N ₂ O ₁₅	C ₂₀ H ₂₅ MnN ₃ O _{8.50}	C ₄₆ H ₅₀ Mn ₂ N ₆ O ₁₉
Formula weight	959.58	498.37	1100.8
Temperature [K]	293(2)	293(2)	120(2)
Wavelength [Å]	0.71073	0.71073	0.71073
Crystal system	Trigonal	Triclinic	Triclinic
Space group	R-3	P -1	P-1
<i>a</i> [Å]	26.493(5)	12.115(4)	11.589(3)
<i>b</i> [Å]	26.493(2)	12.877(4)	13.824(4)
<i>c</i> [Å]	16.070(5)	16.101(5)	16.118(5)
α [°]	90.00	99.074(6)	87.808(4)
β [°]	90.00	98.016(5)	81.874(4)
γ [°]	120	112.373(5)	67.392(4)
Volume [Å ³]	9768(3)	2238.4(13)	2359.4(12)
Z	9	4	2
D _{calcd.} [g cm ⁻³]	1.468	1.479	1.549
μ [mm ⁻¹]	0.775	0.643	0.622
F(000)	4482	1036	1140
$\theta_{\min/\max}$ [°]	1.55 /26.39	1.76/21.73	1.92/27.24
Total data	23547	5311	38959
Unique data	4375	2677	10416
R _{int}	0.0512	0.0539	0.0610
Restraints/parameters	6/280	78/618	1/700
GOF	0.929	0.944	0.972
Final R indices [<i>I</i> >2 σ (<i>I</i>)]	R ₁ = 0.0441 wR ₂ = 0.1235	R ₁ = 0.0717 wR ₂ = 0.1858	R ₁ = 0.0521 wR ₂ = 0.1381
R indices (all data)	R ₁ = 0.0724 wR ₂ = 0.1343	R ₁ = 0.1443 wR ₂ = 0.2143	R ₁ = 0.0872 wR ₂ = 0.1551

Table 3A. Crystal data and structure refinement for **2**, **4** and **8**.

Moreover, complexes **3**, **7** and **14-16** show broad unsplit bands at ca. 110 cm⁻¹, together with bands at 630 cm⁻¹, that are indicative of the presence of a non-coordinated perchlorate counterion.^{15-17,19}

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

	9	12
Empirical formula	C ₂₄ H ₂₅ MnN ₂ O ₈	C ₂₆ H ₃₀ MnN ₃ O ₁₁
Formula weight	524	615.47
Temperature [K]	110(2)	180(2)
Wavelength [Å]	0.71073	0.71073
Crystal system	Triclinic	Triclinic
Space group	P -1	P-1
<i>a</i> [Å]	10.5184(32)	10.791(5)
<i>b</i> [Å]	11.0230(34)	12.638(5)
<i>c</i> [Å]	11.0670(34)	12.788(5)
α [°]	101.951(5)	111.183(5)
β [°]	97.690(5)	101.704(5)
γ [°]	114.251(5)	109.990(5)
Volume [Å ³]	1109.5(5)	1418.2(10)
Z	2	2
D _{calcd.} [g cm ⁻³]	1.568	1.441
μ [mm ⁻¹]	0.651	0.529
F(000)	512	640
$\theta_{\min/\max}$ [°]	1.94/25.67	2.26/23.25
Total data	4200	8259
Unique data	3396	3816
R _{int}	0.075	0.0436
Restraints/parameters	15/331	0/372
GOF	1.067	1.046
Final <i>R</i> indices	<i>R</i> ₁ = 0.0417	<i>R</i> ₁ = 0.0544
[<i>I</i> > 2 σ (<i>I</i>)]	<i>wR</i> ₂ = 0.0981	<i>wR</i> ₂ = 0.1473
R indices (all data)	<i>R</i> ₁ = 0.0579	<i>R</i> ₁ = 0.0642
	<i>wR</i> ₂ = 0.1056	<i>wR</i> ₂ = 0.1561

Table 3B. Crystal data and structure refinement for **9** and **12**..

Values for the magnetic moments for **1-18** at room temperature are very close to the spin-only value of 4.9 B.M., as expected for a high-spin magnetically diluted *d*⁴ manganese(III) ion. Previous magnetic studies on complexes **14** and **16** between 300 and 5 K have also indicated little or non-antiferromagnetic interaction between the metal centres.^{16,19}

3.2.1. Crystal structure of the Schiff base H₂L⁶.

Crystallographic data of the Schiff base H₂L⁶ are collected in the Table 2 and 4. The crystal structure, with the atomic numbering scheme, is shown in Figure 1.

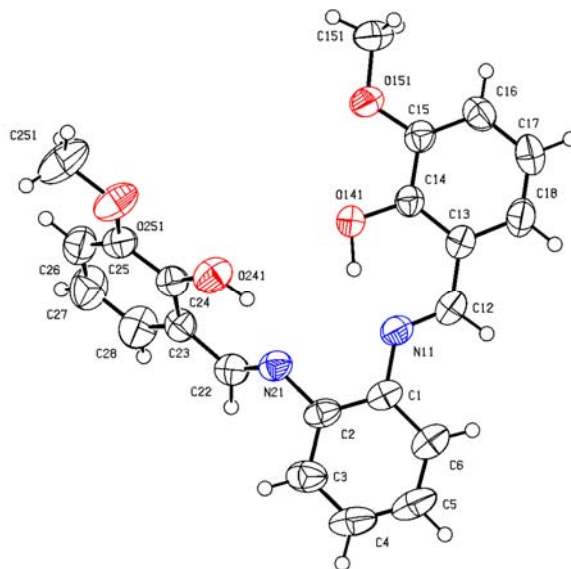


Figure 1. Molecular structure of H₂L⁶ showing the atomic numbering scheme.

The N11-C12 and N21-C22 distances of 1.279(3) and 1.280(3) Å, respectively, are practically identical and consistent with C=N double bonding, being both imine groups fully localized in the molecule. The two oxygen atoms O141 and O241 are forming phenolic groups; the observed C14-O141 and C24-O241 bond distances of 1.341(2) and 1.348(3) Å, respectively, are consistent with the C-O single bonds, as well as the external C-OR bond distances: C15-O151 1.365(2) Å and C25-O251 1.373(3) Å. Intramolecular hydrogen bonds exist between the imine nitrogen atoms N11 and N21 and the neighboring phenolic oxygen atoms O141 and O241, respectively: [H141...N11 1.623(4) Å, O141...N11 2.561(2) Å; O141-H141...N11 149.13(3)°] and [H241...N21 1.900(4) Å, O241...N21 2.641(3) Å; O241-H241...N21 137.87(3)°]. These intramolecular hydrogen bonds are typical of Schiff bases derived from salicylaldehydes.^{28,29} Despite the mentioned intramolecular interactions and a partial conjugation of the molecule, this one is not planar, probably due to the packing based on the intermolecular hydrogen bonds and

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

the π -stacking interactions between the salicyl residues of neighbouring molecules. One of the two aromatic rings is arranged almost perpendicular to the tetradentate cavity O141-N11-N21-O241.

H ₂ L ⁶	
N11-C12	1.279(3)
C14-O141	1.341(2)
C15-O151	1.365(2)
N21-C22	1.280(3)
C24-O241	1.348(3)
C25-O251	1.373(3)
C1-N11	1.411(3)
O151-C151	1.423(3)
C2-N21	1.423(3)
O251-C251	1.423(3)
C2-C1-N11	116.77(19)
C6-C1-N11	124.6(2)
C12-N11-C1	123.52(19)
N11-C12-C13	121.2(2)
C3-C2-N21	121.5(2)
C1-C2-N21	118.33(19)
C22-N21-C2	118.51(19)
N21-C22-C23	121.8(2)
C15-O151-C151	117.71(19)
C25-O251-C251	116.8(2)

Table 4. Selected bond lengths (Å) and angles (°) for H₂L⁶.

3.2.2. Crystallographic studies for the complexes 2, 4, 8, 9 and 12.

Main crystallographic data are summarized in Tables 3A and 3B and bond lengths and angles are listed in Tables 5A and 5B.

In all cases the geometry around the manganese ion can be described as distorted octahedral. The coordination sphere around each manganese centre comprises the planar Schiff base ligand, tightly bound to the metal ion through the inner N₂O₂ compartment by the N_{imine} and O_{phenol} atoms (Mn–N_{imine}

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

bond lengths of 1.96–1.99 Å and Mn–O_{phenol} of 1.86–1.89 Å are typical of such complexes^{30,31} and corroborate the bisdeprotonation of the ligands) occupying the equatorial positions and giving rise to two six-membered chelate rings (which are nearly planar) and an additional five- or six-membered chelate ring (depending of the starting diamine).

	2	4	8A	8B
Mn–O _p	1.878(2)	1.860(6)	1.869(2)	1.877(2)
	1.878(2)	1.864(5)	1.873(2)	1.881(2)
Mn–N _i	1.968(3)	1.973(8)	1.986(3)	1.982(2)
	1.980(3)	1.977(8)	1.980(2)	1.988(3)
Mn–O _{ax}	2.318(2)	2.270(6)	2.246(2)	2.258(2)
		2.373(10)	2.230(2)	2.225(2)
Mn–X ^a	2.5576(10)			
O _p –Mn–O _p	92.85(9)	93.0(2)	91.69(9)	92.01 (9)
O _p –Mn–N _i	172.13(10)	174.9(3)	92.69(9)	93.16 (10)
	91.27(10)	91.6(3)	89.84(10)	92.59(10)
	173.42(10)	175.4(3)	174.77(10)	174.30 (10)
	92.38(10)	92.1(3)	175.18(10)	174.99(10)
N–Mn–N	83.08(11)	83.4(4)	82.77(10)	82.34(10)
O _a –Mn–O _a	171.16(6) ^b	169.5(3)	173.42(9)	174.30 (9)
Mn...Mn	4.917	4.804	4.778	4.778

^a X=Cl for **2** and X=OAc for **9**; ^b O_a–Mn–Cl

Table 5A. Selected bond lengths (Å) and angles (°) for the complexes **2**, **4** and **8**.

The axial positions of the octahedron are occupied by capping water molecules, except for one of the sites in complexes **2**, **8** and **9**. In the case of **8** there are two different units; one of them has an axial position occupied by a methanol molecule (solvent used in the synthesis). **2** and **9** incorporate the chloride anion and the acetate group, respectively, in one of the axial positions of the octahedron. The distances of 2.5573(11) Å for Mn–Cl in **2** and 2.127(2) Å for Mn–O_{acetate} in **9** are also into the common range of those corresponding to reported similar systems.^{32,33} Figure 2 shows the first

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

coordination sphere for **9**, while Figures 3 and 4 also collect the first coordination sphere for **2** and **4**, respectively.

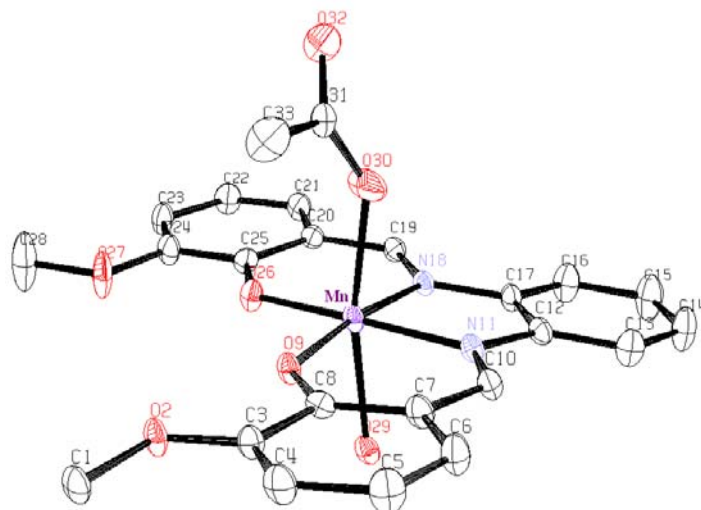


Figure 2. ORTEP view of the environment around the manganese centre for **9**, including the atomic numbering scheme. Hydrogen atoms are omitted for clarity.

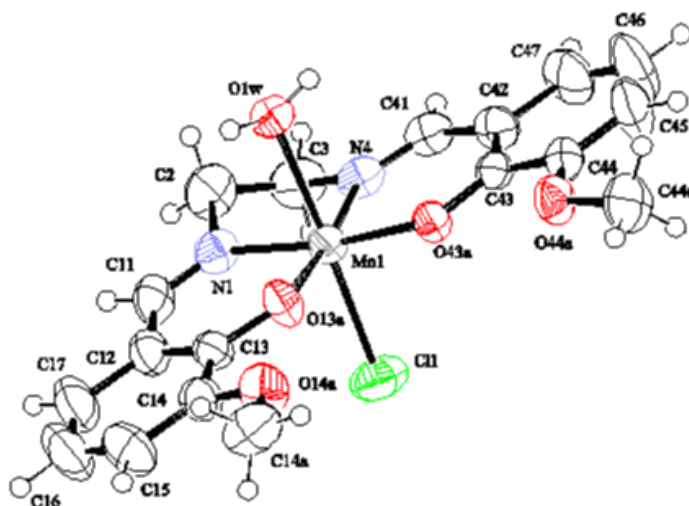


Figure 3. ORTEP view of the environment around the manganese centre for **2**, including the atomic numbering scheme. Hydrogen atoms are omitted for clarity.

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

The Jahn-Teller elongation expected for d^4 high-spin manganese(III) appears outstanding for **2**, **4**, **8**, **9** and **12** in the axis orthogonal to the plane of the Schiff base ligand, with distances ranging from 2.23 to 2.37 Å, considerably longer than the equatorial Mn–O bond lengths quoted earlier. The deviation from an ideal octahedral geometry is also revealed by the range of angles observed around the metal centre (from 82.32° to 93.16°), as well as by the interaxial angle O_{ax} –Mn– O_{ax} of 168.2° to 174.5°. The environment around the manganese centre can be then described as distorted tetragonally elongated octahedral geometry.

	9	12
Mn-O _p	1.8922(19)	1.867(2)
	1.8940(18)	1.876(2)
Mn-N _i	1.992(2)	1.991(3)
	1.992(2)	1.982(3)
Mn-O _{ax}	2.282(2)	2.234(3)
		2.250(2)
Mn-X ^a	2.127(2)	
O _p -Mn-O _p	92.26(8)	91.72(10)
O _p -Mn-N _i	173.72(8)	92.92(11)
	92.48(8)	92.50(11)
	172.93(8)	174.38(11)
	92.59(8)	175.63(10)
N-Mn-N	82.32(9)	82.92(11)
O _a -Mn-O _a	168.24(7)	174.50(8)
Mn...Mn	4.772	4.820

^a X=Cl for **2** and X=OAc for **9**; ^b O_a-Mn-Cl

Table 5B. Selected bond lengths (Å) and angles (°) for the complexes **9** and **12**.

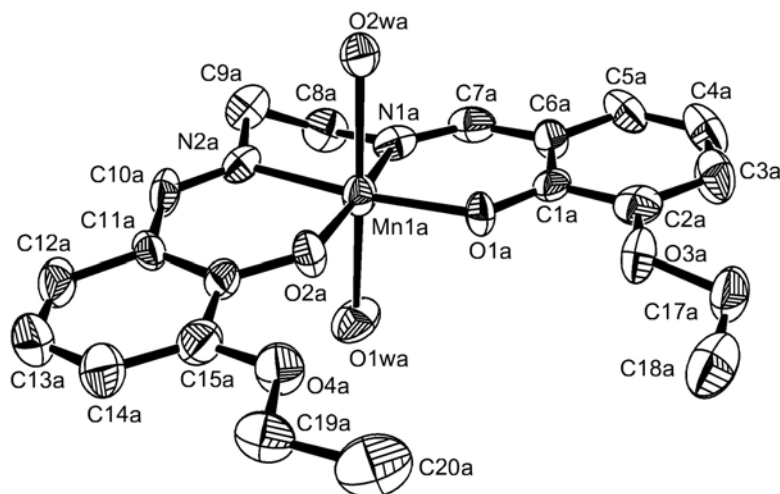


Figure 4. ORTEP view of the environment around the manganese centre for **4**, including the atomic numbering scheme. Hydrogen atoms are omitted for clarity.

Moreover, the superstructure of the complexes involves associations via a combination of π -aryl interactions (3.71 to 3.89 Å) and hydrogen bonds between capping water molecules and both phenoxy and methoxy/ethoxy oxygen atoms of the neighbouring Schiff base ligand, forming dimers in **2**, **4**, **8**, **9** and **12**. In the complexes **2**, **8** and **9** the dimers are formed in the same way since the chloride, methanol or acetate molecule, respectively, remain in the outer axial position. As result of these supramolecular interactions, the Mn \cdots Mn distances of about 4.8 Å are short for monomeric compounds; these types of $[\text{MnLX}_2]_2^{n+}$ systems (being L Schiff base and X the water/solvent/anion molecules) have been reported previously by us^{14,15,34} as μ -aquo dimers. An ORTEP view of this dimeric unit in **12** with the atomic numbering scheme is shown in Figure 5. Stick diagram views of the dimeric unit for **8** and **9** are also given in Figures 6 and 7.

Despite the dimeric character, the cited Mn \cdots Mn distances are too long (see Tables 5A and 5B) to establish intermetallic interactions between neighbouring manganese ions, in accordance with the non-antiferromagnetic behaviour shown by the magnetic studies.

The cationic $[\text{MnLX}_2]_2^{2+}$ entities in **4**, **8** and **12** are electrostatically stabilized in by nitrate counterions, which are acting as hydrogen-bonding acceptors, interconnecting the μ -aquo dimers. In fact, there are multiple

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

intermolecular hydrogen bonds between the external apical water molecules of dimers and solvent molecules or counterions groups to yield infinite networks. The dimensionality of the final supramolecular array depends on the number and disposition of these contacts.¹⁵

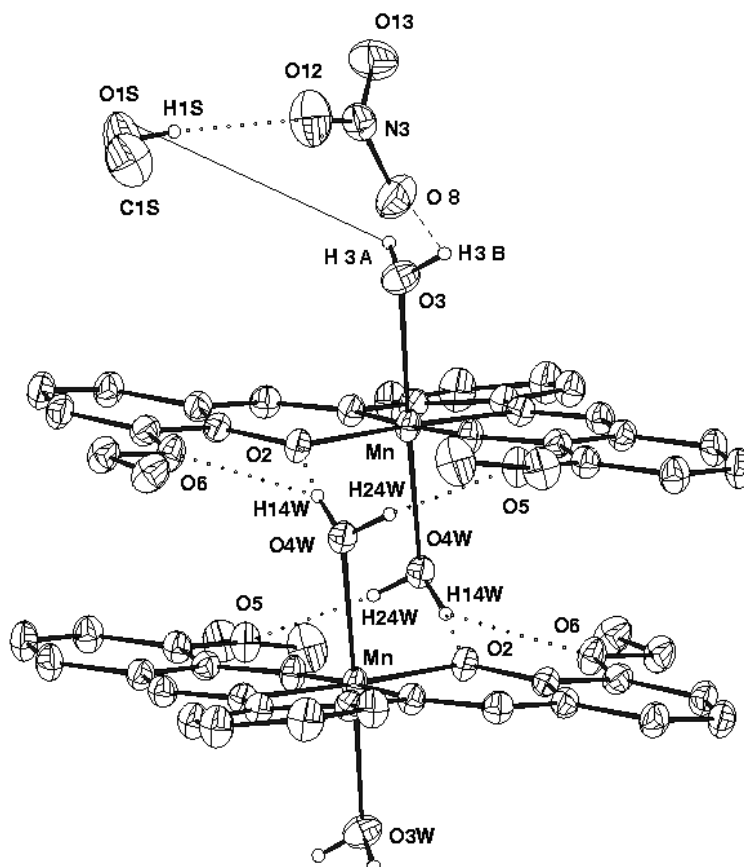


Figure 5. Crystal structure of **12**; broken lines represent the hydrogen bonds between axially coordinated water molecules and phenoxy and methoxy oxygens of the μ -aqua dimer and the hydrogen bonds with the nitrate group and methanol.

3.3. Characterization in solution state: ESI spectrometry, UV, ^1H NMR and EPR spectroscopies.

ES mass spectra show peaks corresponding to the molecular ion $[\text{MnL}]^+$ for all the complexes, indicating the coordination of the Schiff base ligand to the metal centre. Other minor signals could be assigned to

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

$[\text{Mn}_2\text{L}_2(\text{X})]^+$ units (being X the corresponding anion), which could be attributed to the presence of dimeric species.

The electronic spectroscopic data recorded are very similar for all the complexes, indicating that the Mn^{III} complexes are behaving as high-spin octahedral d^4 systems, probably suffering a significant Jahn–Teller distortion which affects the spectra and complicates its interpretation. A broad shoulder at about 520–600 nm ($\epsilon = 120\text{--}500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) is attributable to a d-d transition, while it is reasonable to assign the broad band obtained at 480–490 nm ($\epsilon = 2600\text{--}3300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) to the phenolate $\rightarrow \text{Mn}(\text{III})$ charge-transfer. The peak appearing around 300 nm ($\epsilon = 21000\text{--}23000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) can be assigned to intraligand $\pi\text{-}\pi^*$. The energy and intensity of the LMCT and d-d transitions are in agreement with those reported for related Mn^{III} complexes.³⁵

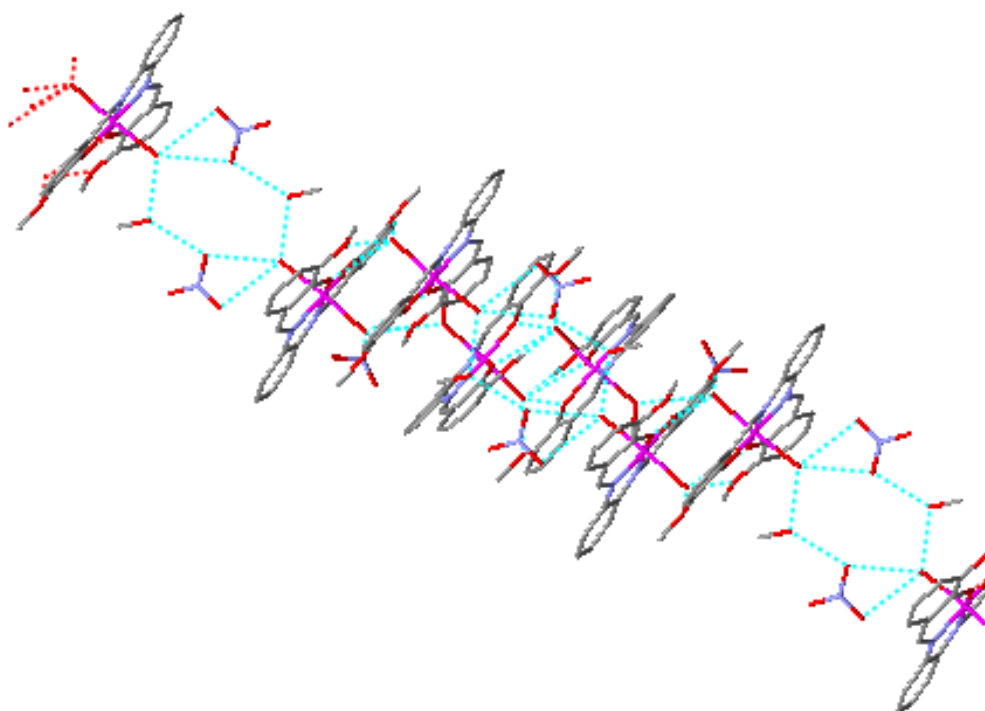


Figure 6. View along the c axis of **8**, placing the nitrate ion and methanol solvent molecules between the dimeric units.

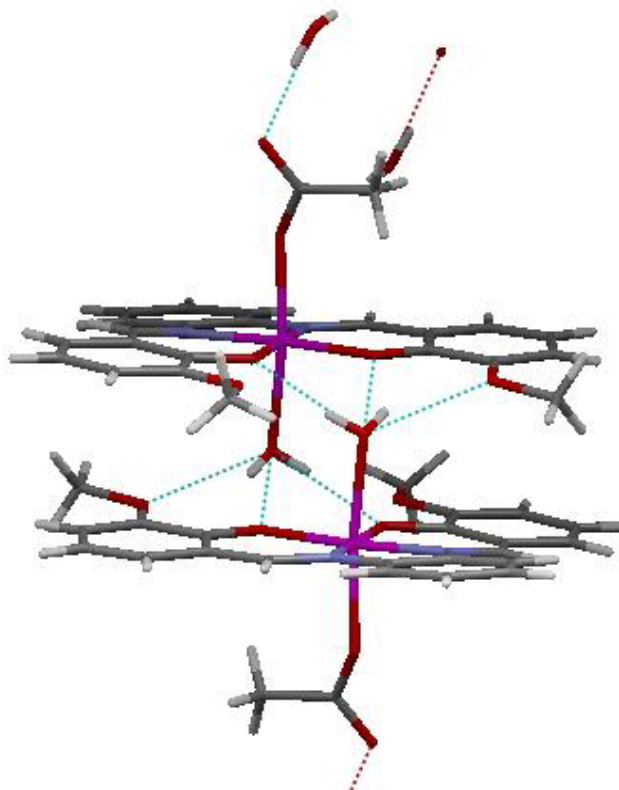


Figure 7. Stick diagram of the dimeric unit of **9**.

Paramagnetic ^1H NMR studies of the complexes were registered using DMSO-d_6 as solvent, and the data serve to substantiate the formation of the manganese(III) complexes. The data interpretation was based on previous findings for manganese(III) complexes with related Schiff base ligands made by Pecoraro and co-workers³⁶ and on our own results.¹⁴ The spectra contain between two and three upfield proton resonances, outside the diamagnetic region ($\delta = 0\text{--}14$ ppm), due to the isotropically shifting of the ligand protons for high-spin manganese(III) complexes in an octahedral field. The signals must arise from the H4 and H5 protons of the aromatic phenoxy rings. The signals between -20.73 and -30.52 ppm arise from the H4 protons, while the resonances from -15.70 to -21.50 ppm arise from H5 protons. In the case of complexes **8**, **9** and **12**, with aromatic phenyl spacers in their Schiff base ligands, the protons of these groups in para positions to the imine nitrogens are also observable, but their resonances, very close to the H5 protons values, prevents to distinguish which signal exactly corresponds to each one

(see Figure 8). Our experience shows that signals in *ortho* positions to donor atoms are not observable for these kinds of complexes by paramagnetic ^1H NMR spectroscopy.

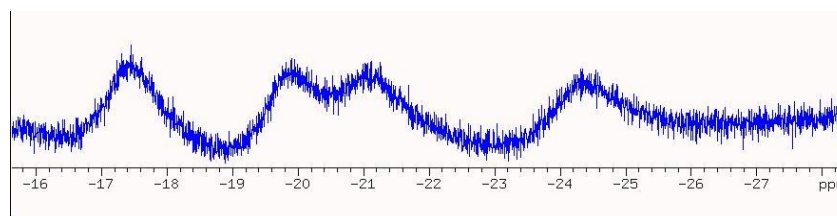


Figure 8. Example of paramagnetic ^1H NMR spectrum, in this case corresponding to complex **12**.

Parallel-mode EPR (microwave field H_1 is parallel to the static field H_0) allows further insight into the structure of the Mn(III) complexes in solution. Using this technique, an electron $\Delta M_S=0$ transitions can be detected which are hardly observable with a conventional perpendicular EPR method. Mn^{3+} has integer electron spin, $S=2$, and has been shown for powdered samples to develop characteristic sextet pattern in parallel-mode EPR.³⁷ Complexes **1-18** show this well-resolved sextet centered at around $g_{\text{eff}} = 8.1$, indicative of a well-defined molecular geometry about the Mn(III) center with no significant distribution of zero-field splitting parameters. Although the parallel mode EPR spectra for the complexes are similar, their hyperfine splittings are slightly different, ranging from 43 to 56 G, pointing out to different structural features for these complexes.¹³ Figure 9 illustrates such differences, showing the EPR spectra of **9** and **14**. Low-field portion of the spectra is only shown, since no additional lines were detected at the higher fields.

Complexes **13-18** have the center position of the sextet at $g_{\text{eff}} = 8.1$ and hyperfine splitting of $A_{\parallel} = 56$ G. Assuming typical $D \sim 3.4\text{-}5.0$ cm^{-1} and $g_{\parallel}=1.99$,³⁸ one estimates $E = 0.25\text{-}0.31$ cm^{-1} ($h\nu_0 = 0.31$ cm^{-1} corresponds to $\nu_0 = 9.37$ GHz in our experiments). Therefore, slight ZFS rhombicity $E/D = 0.05\text{-}0.09$ is derived from the spectra, which assumes highly-symmetric octahedral coordination geometry of complexes **13-18** in frozen solutions.

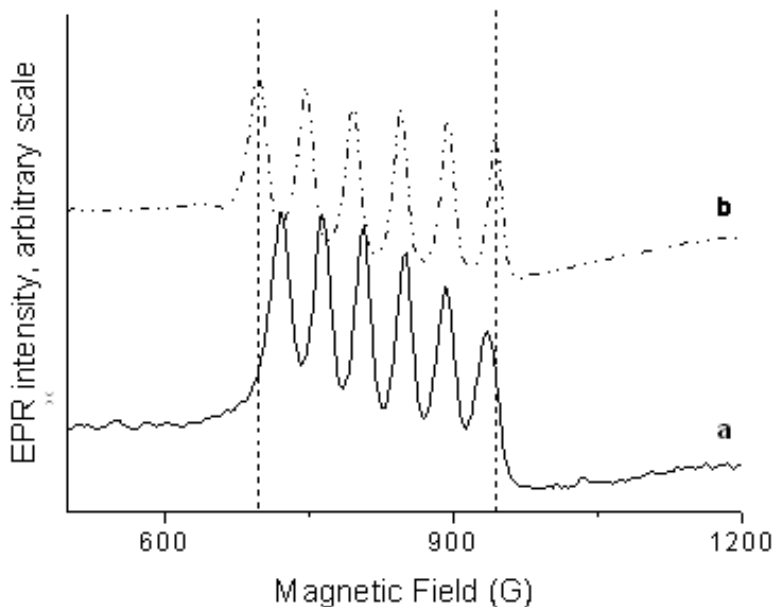


Figure 9. Parallel-mode EPR (microwave field H_1 is parallel to the static field H_0) of **14** (a) and **9** (b) in toluene:dmf:EtOH (2:1:drop) solution (0.6 mL). Conditions: frequency, 9.37 GHz; $T = 9$ K; 20 mW microwave power.

Complexes **1-12** present a smaller ^{55}Mn hyperfine coupling of 43-44 G, which is indicative of the electronic ground state $^5B_{1g}$ (the “hole” residing in the $d_{x^2-y^2}$ orbital), and thus these compounds are either a five-coordinate distorted square-pyramidal complexes or a six-coordinated distorted tetragonally elongated complexes.^{13,39}

The information provided by the different characterization techniques used strongly indicate that all the complexes preserve in solution the coordination of the Schiff base ligand to the metal ion, indicating the highly stable Mn-Schiff base unit, where the tetradentate ligand is situated in a square plane around the Mn(III) ion. The bond distances of the axial positions are shorter to **13-18**, which display a rather symmetry octahedral geometry, while **1-12** show longer axial distances according to their ground state $^5B_{1g}$ symmetry. The latter is indicative of higher lability for **1-12** than **13-18** of the axial positions and it justifies the behaviour in solution by these systems with the easy displacement of a coordinated water (or any other solvent) molecule.⁴⁰

3.4. Electrochemical studies.

The electrochemical behaviour in DMF of all complexes (**1-18**) was studied by cyclic voltammetry. The experiments for complexes **2**, **4**, **8**, **9** and **12** have been done as described in the experimental section, while the rest of complexes have been studied as reported before, versus SCE.¹⁴ Figure 10 shows a typical cyclic voltammogram, in this case corresponding to complex **12**.

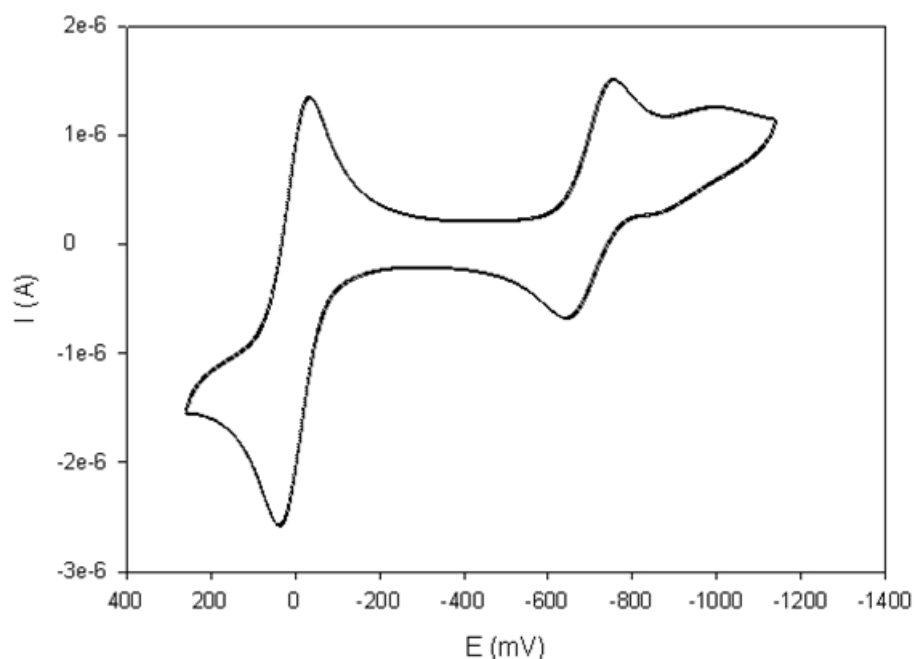


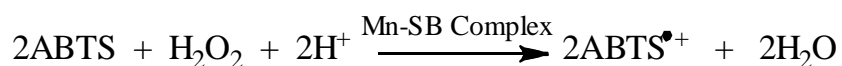
Figure 10. Cyclic voltammogram for **12** at scan rate of 0.2 V s^{-1} , using ferrocene as an internal standard.

The ligands are electro inactive in a range of potentials varying from +1.5 to -1.5 V. The redox properties of the manganese(III) complexes show grossly similar behavior consisting of a quasi-reversible $\text{Mn}^{\text{III}}/\text{Mn}^{\text{II}}$ reduction. The criteria of reversibility were checked by observing constancy of peak-peak separation ($\Delta E_p = E_{\text{pa}} - E_{\text{pc}} = 60\text{-}140 \text{ mV}$) and the ratio of peak heights ($i_{\text{pa}}/i_{\text{pc}} \approx 1$) with variation of scan rates (a slower scan rate implies more reversible character). The complexes display a quasi-reversible one-electron reduction-oxidation wave, assigned to $\text{Mn}(\text{III}) \rightarrow \text{Mn}(\text{II})$ reduction and $\text{Mn}(\text{II}) \rightarrow \text{Mn}(\text{III})$ oxidation. The reversibility character of these redox processes makes these systems suitable potential models for catalytic purposes.

The electron-donor or –withdrawing character of the substituents on the phenyl rings of the ligands has a decisive influence on the electrochemical behavior of the complexes.⁴¹ A comparison of the $E_{1/2}$ values for the complexes reveals a better stabilization of the higher oxidation state Mn(III) by the complexes with electron-donor character substituents in the phenyl ring. Another observable trend is the higher $E_{1/2}$ value for complexes with the 3-methoxy substituent salicylidene moiety in contrast to those with the 3-ethoxy substituent, indicating the better stabilization of the lower oxidation state Mn(II) by the 3-ethoxy substituent.

3.5. Peroxidase activity.

The peroxidase-like activity of the complexes was followed by the oxidation of ABTS at pH 6.8 in aqueous solution. The results are collected in Table 6. ABTS is colourless and it reacts readily with H_2O_2 in the presence of a peroxidase catalyst to yield a stable green coloured radical cation $ABTS^{\bullet+}$,⁴² which presents characteristic absorption bands at 415, 650, 735 and 815 nm. The extent of the reaction can be measured quantitatively at $\lambda = 650$ nm since $\epsilon = 12000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ has been determined. A reduction of one mole of H_2O_2 requires two moles of ABTS, according to the mechanism:



The oxidation potential of ABTS to provide $ABTS^{\bullet+}$ is invariable over a wide range of pH.⁴³ In the absence of the complex, a solution of ABTS and H_2O_2 is stable for several hours without showing any formation of $ABTS^{\bullet+}$. The reaction of ABTS with H_2O_2 in the presence of **1–12** generates $ABTS^{\bullet+}$ and the characteristic absorption bands of this species could be established (Table 7, Figure 11). Further oxidation to the corresponding dication was not observed. Complexes **13–18** do not show significant peroxidase-like activity since the UV absorbances corresponding to the $ABTS^{\bullet+}$ radical cation are negligible in the assays with these complexes. The high rate of formation of $ABTS^{\bullet+}$ up to 50% indicates a noteworthy catalytic activity by complexes **1–12**, which behave as efficient peroxidase mimics. These values are higher than previous reported manganese complexes incorporating carboxylate or perchlorate counterions.¹⁴

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

The dimeric nature of the complexes plays a crucial role in the peroxidase activity since the oxidation of the hydroperoxide to generate dioxygen involves an intramolecular two-electron transfer reaction which is forbidden for monomeric Mn(III) complexes. Thus, **1–12** should maintain their described dimeric structure in solution or evolve to another binuclear system as the μ -phenoxo-bridged dimers (rather abundant behaviour for this type of complexes in solution)^{13,44} in order to suffer the two electron reduction from {Mn^{III}, Mn^{III}} to {Mn^{II}, Mn^{II}} during the H₂O₂ peroxidase reaction. ESI experiments in methanolic solution also suggest the existence of these dimeric species.

The higher catalytic behaviour of **1-12** in relation to **13-18** is in agreement with our previous peroxidase studies. We have already proposed a better catalytic behaviour when the complex is able to easily coordinate the substrate molecule,¹³ and this is favoured if the catalyst has either a vacancy in the coordination sphere or a labile ligand.³³ The short two-carbon chain between imine groups in **1-12** constricts the chelate ring once nitrogens coordinate to the metal and it leads to a tetragonally elongated octahedral geometry. An axial water molecule in this class of distorted geometries constitutes a quite labile ligand, which would generate a vacant position in the coordination sphere to accommodate the substrate molecule.⁴⁵ On the other hand, the flexible three-membered alkyl chain between the imine groups in the Mn compounds **13-18** favours a better stabilization of a high-symmetry octahedral geometry, which subsequently makes the generation of a vacant difficult.

The poor peroxidase activity of **13-18** is comparable to previous reported complexes with similar flexible spacer in the Schiff base ligand.¹⁶ The hypothesis about the relation between the catalytic behaviour and the symmetry of the structure is in accordance with the results of our studies in solution by EPR spectroscopy, but also we have been investigating how to establish a prediction about this activity on the basis of the crystallographic data of the complexes. In order to measure the degree of the elongation of the orthogonal axis to the plane of the Schiff base ligand we have calculated the tetragonal elongation of the crystal structure of the octahedral complexes.

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

Complex	Tetragonal Elongation ^a	Catalytic activities	
		Peroxidase ^b	Catalase ^c
1	1.243	34 ± 3	22 ± 2
2	1.234	31 ± 2	18 ± 2
3	1.24	19 ± 2	20 ± 2
4	1.27	50 ± 3	9 ± 1
5	1.203	32 ± 1	17 ± 1
6	1.214	33 ± 1	11 ± 1
7	1.27	30 ± 3	18 ± 2
8A	1.200	29 ± 1	13 ± 2
8B	1.202	29 ± 1	13 ± 2
9	1.205	33 ± 1	19 ± 3
10A	1.235	28 ± 2	18 ± 1
10B	1.246	28 ± 2	18 ± 1
11	1.254	39 ± 2	13 ± 1
12	1.202	18 ± 1	12 ± 1
13	1.187	2.0 ± 0.4	2.1 ± 0.4
14	1.183	3.2 ± 0.4	3.1 ± 0.4
15	1.181	2.4 ± 0.4	2.2 ± 0.3
16	1.163	2.1 ± 0.4	2.0 ± 0.4
17	1.159	1.1 ± 0.3	3.0 ± 0.5
18	1.196	1.8 ± 0.3	1.7 ± 0.4

a Tetragonal elongation expressed as the ratio between the manganese-axial oxygen distances and the manganese-equatorial oxygen distances.

b Peroxidase activity expressed as percentage of conversion of ABTS to ABTS•+ measured 10 min after mixing the solutions.

c Catalase activity expressed as percentage of H₂O₂ decomposed after 60 min.

Table 6. Peroxidase and catalase activities for **1-18** and the tetragonal elongation factor calculated from the crystal data.

This tetragonal elongation may be calculated as the ratio between the manganese-axial oxygen distances and the manganese-equatorial oxygen distances of each complex. The Mn-O_{ax} distance selected was the longer value since it should correspond to the more labile ligand (water molecule in all cases). A correlation between the factor of tetragonal elongation and

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

peroxidase activity has been already reported,¹⁴ although its validity was limited by the small number of crystallographic solved complexes. In the present work we use a large number of crystallographic solved structures to extend the strength of this correlation between the capacity of substrate oxidation and the tetragonal elongation of the octahedral geometry in the crystal structure. Figure 12 shows the plot of the tetragonal elongation factors versus their peroxidase activity of this collection of complexes.

Complex	Wavelength, λ (nm)			
	415	650	735	815
1	1.67	0.59	0.69	0.61
2	1.40	0.55	0.64	0.56
3	0.99	0.33	0.37	0.33
4	2.48	0.88	1.00	0.87
5	1.51	0.58	0.69	0.60
6	1.62	0.60	0.70	0.61
7	1.25	0.54	0.63	0.55
8	1.35	0.53	0.63	0.56
9	0.60	0.60	0.71	0.61
10	1.26	0.50	0.59	0.53
11	1.75	0.69	0.82	0.67
12	0.95	0.32	0.36	0.31
13	0.10	0.04	0.07	0.05
14	0.20	0.06	0.09	0.07
15	0.06	0.04	0.05	0.04
16	0.06	0.03	0.05	0.04
17	0.04	0.02	0.03	0.02
18	0.11	0.04	0.05	0.04

Table 7. Values of the intensity of the absorption at different wavelengths in the UV/Vis spectrum corresponding to the ABTS⁺ formed in the peroxidase experiments.

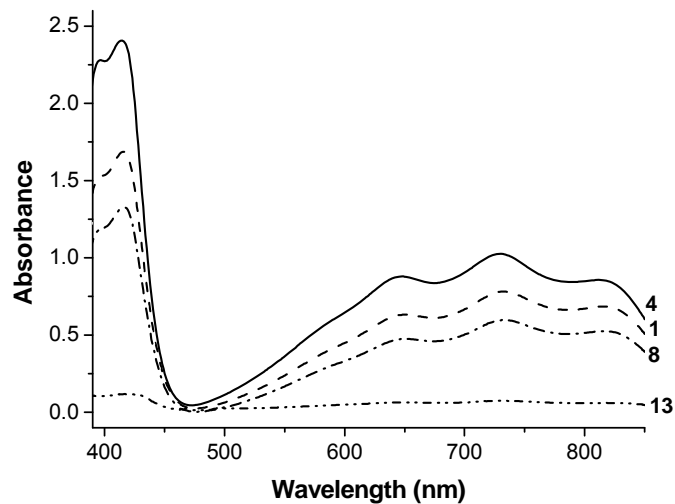


Figure 11. UV absorption spectra of complexes **1**, **4**, **8** and **13** recorded 10 min after injecting 10 μL of a 10^{-3} methanolic solution of the appropriate complex to 3 mL aqueous solution in the peroxidases probes. Blank spectra of ABTS + H_2O_2 and ABTS + complex, measured separately, show absorptions lower than **13**.

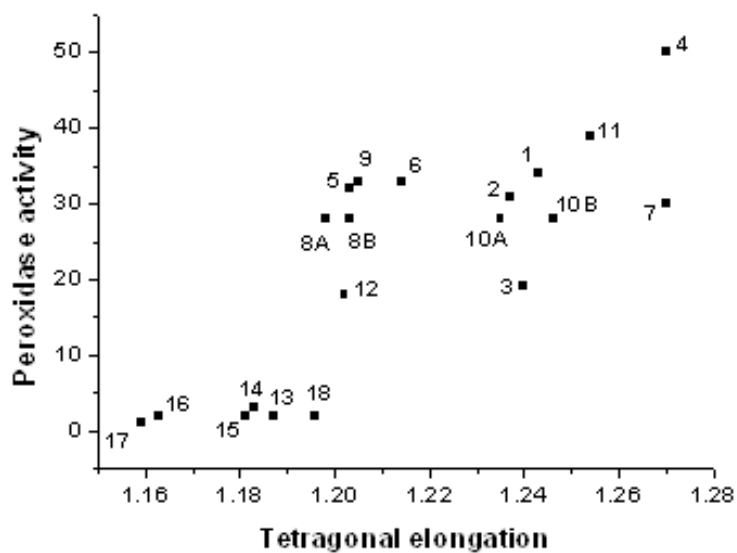


Figure 12. Peroxidase activity, expressed as percentage of ABTS conversion to $\text{ABTS}^{\bullet+}$, in function of the tetragonal elongation of the catalyst, expressed as the ratio between the Mn-O axial and Mn-O equatorial distances in the crystal structures of **1-18**.

3.6. Catalase activity.

We have measured the stoichiometry of the disproportionation of H_2O_2 catalyzed by **1-18** by volumetric determination of the evolved O_2 . Experiments were made in methanol. The experimental setup was evaluated by the measurements for the catalytic decomposition of H_2O_2 (2.5×10^{-3} mol) with MnO_2 : ca. 30 mL of dioxygen evolution was measured by a burette, which agrees with the calculated value based on the assumption that catalytic decomposition of H_2O_2 to H_2O and O_2 takes place.

Table 6 collects the results of the catalase activities, more modest than the peroxidase catalytic behaviour. The time course of oxygen production (Figure 13) is similar for each of the complexes. The reaction proceeds quickly during the first 5-10 min and over time the total amount of oxygen evolved approaches an asymptotic limit. Complexes **1-12** achieve percentages of H_2O_2 dismutation from 9 to 22 %, while complexes **13-18** show considerably smaller percentages, showing values lower than 3 %. These results again highlight the importance of the existence of a vacant or a labile position in the coordination sphere of the catalyst.

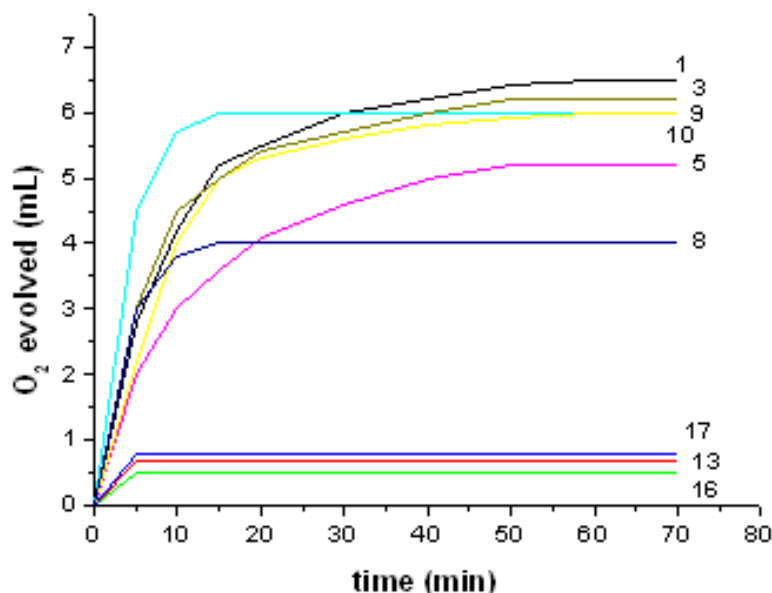


Figure 13. Time course of oxygen production by complexes **1, 3, 5, 8, 9, 10, 13, 16** and **17** in the catalase experiments.

The geometry around the manganese ion turned out the decisive factor for the peroxidase and catalase activity by this type of complexes. Although it is quite clear that the electrochemical properties play also a key role, and a redox reversible character of this process is a *sine qua non* for catalysis, we have not found a correlation for **1-18** between their peroxidase activity and their oxidation peak-reduction peak separation. Neither an association between the anion used (nitrate, perchlorate, acetate or other carboxylates) nor the nature of the substituent on the phenyl rings of the ligand can be clearly established. However a noticeably difference in the catalytic activity can be checked by changing the length of the spacer between the imines groups of the ligand. This behaviour should be also taken into account for the designing of new potential catalytic systems, which ought to lead to or square-pyramidal or else tetragonally elongated octahedral geometries.

4. Conclusions.

Dimeric manganese-Schiff base complexes are suitable systems for mimicking peroxidases and catalases. The stability of these systems is probed by preserving the essential features of the solid state structure into solution, where only it is likely the exchange of no more than one position of the first coordination sphere of the manganese. Precisely the lability of this position enhances their peroxidase and catalase activity because the substrate molecule can be subsequently accommodated in this site. Schiff base ligands with short two-carbon chain between imine groups (**1-8**) force to tetragonally elongated octahedral geometries and induce a vacant or a labile position in the first coordination sphere of the metal ion.

The correlation of peroxidase activity of the dimeric complexes with the tetragonal elongation of the octahedral geometry around the manganese ion stresses the importance of the designing of new systems which would induce this type of geometries.

5. Abbreviations.

ABTS 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

DMF	dimethylformamide
ES	electrospray
Fc/Fc ⁺	ferrocene/ferrocenium
SCE	saturated calomel electrode
ZFS	zero field splitting

Acknowledgments.

We thank Xunta de Galicia (09DPI004291PR) for financial support.

References.

- 1 V. Calabrese, C. Cornelius, C. Mancuso, G. Pennisi, S. Calafato, F. Bellia, *Neurochem. Res.* 33 (2008) 2444-2471.
- 2 J.J.R. Frausto da Silva, R.J.P. Williams, *The Biological Chemistry of the Elements*, Clarendon Press, Oxford, 1993.
- 3 J. Steinreiber, T. Ward, *Coord. Chem. Rev.* 252 (2008) 751-766.
- 4 M. Sundaramoorthy, M. Gold, T. Poulos, *J. Inorg. Biochem.* 104 (2010) 683-690.
- 5 Y. Lu, *Angew. Chem. Int. Ed.* 45 (2006) 5588-5601.
- 6 R. Hage, J. Iburg, J. Kerschner, J. Koek, E. Lempers, R. Martens, *Nature* 369 (1994) 637-639.
- 7 J. Zakzeski, P. Bruijninx, A. Jongerius, B. Weckhuysen, *Chem. Rev.* 110 (2010) 3552-3599.
- 8 C. Baleizao, H. Garcia, *Chem. Rev.* 106 (2006) 3987-4043.
- 9 F. Rosati, G. Roelfes, *ChemCatChem.* 2 (2010) 916-927.
- 10 A. Wu, J. Penner-Hahn, V. Pecoraro, *Chem. Rev.* 104 (2004) 903-938.

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

- 11 R. Rosenthal, K. Huffman, L. Fiset, C. Damphousse, W. Callaway, B. Malfroy, *J. Biol. Inorg. Chem.* 14 (2009) 979-991.
- 12 D. Moreno, V. Daier, C. Palopoli, J. Tuchagues, S. Signorella, *J. Inorg. Biochem.* 104 (2010) 496-502.
- 13 M. Maneiro, M.R. Bermejo, M. Isabel Fernandez, E. Gomez-Forneas, A.M. Gonzalez-Noya, A.M. Tyryshkin, *New J. Chem.* 27 (2003) 727-733.
- 14 M.R. Bermejo, M.I. Fernandez, A.M. Gonzalez-Noya, M. Maneiro, R. Pedrido, M.J. Rodriguez, J.C. Garcia-Monteagudo, B. Donnadieu, *J. Inorg. Biochem.* 100 (2006) 1470-1478.
- 15 M.R. Bermejo, M.I. Fernandez, E. Gomez-Forneas, A. Gonzalez-Noya, M. Maneiro, R. Pedrido, M.J. Rodriguez, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2007) 3789-3797.
- 16 M. Maneiro, M.R. Bermejo, A. Sousa, M. Fondo, A.M. Gonzalez, A. Sousa-Pedrares, C.A. McAuliffe, *Polyhedron* 19 (2000) 47-54.
- 17 M.R. Bermejo, M. Fondo, A. Garcia-Deibe, M. Rey, J. Sanmartin, A. Sousa, M. Watkinson, C.A. McAuliffe, R.G. Pritchard, *Polyhedron* 15 (1996) 4185-4194.
- 18 M.R. Bermejo, A. Castineiras, J.C. Garcia-Monteagudo, M. Rey, A. Sousa, M. Watkinson, C.A. McAuliffe, R.G. Pritchard, R.L. Beddoes, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1996) 2935-2944.
- 19 M. Maneiro, M.R. Bermejo, M. Fondo, A.M. Gonzalez, J. Sanmartin, J.C. Garcia-Monteagudo, R.G. Pritchard, A.M. Tyryshkin, *Polyhedron* 20 (2001) 711-719.
- 20 C.A. McAuliffe, R.G. Pritchard, A. Garcia-Deibe, A. Sousa, M.R. Bermejo, *Acta Cryst. C* 48 (1992) 364-366.

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

- 21 M. Watkinson, M. Fondo, M.R. Bermejo, A. Sousa, C.A. McAuliffe, R.G. Pritchard, N. Jaiboon, N. Aurangzeb, M. Naeem, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1999) 31-42.
- 22 G.M. Sheldrick, SHELX-97 (Shelxs 97 and Shelxl 97), Programs for Crystal Structure Analyses, University of Göttingen, Germany, 1998.
- 23 G.M. Sheldrick, SADABS, Program for Scaling and Correction of Area Detector Data, University of Göttingen, Germany, 1996.
- 24 W.J. Geary, *Coord. Chem. Rev.* 7 (1971) 81-122.
- 25 D. Kong, Y. Xie, *Inorg. Chim. Acta* 338 (2002) 142-148.
- 26 N. Aurangzeb, C.E. Hulme, C.A. McAuliffe, R.G. Pritchard, M. Watkinson, A. Garcia-Deibe, M.R. Bermejo, A. Sousa, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1992) 1524-1526, and references therein.
- 27 F. Paulat, V. Praneeth, C. Nather, N. Lehnert, *Inorg. Chem.* 45 (2006) 2835-2856.
- 28 U. Casellato, P. Guerriero, S. Tamburini, P.A. Vigato, C. Benelli, *Inorg. Chim. Acta* 207 (1993) 39-58.
- 29 M. Albrecht, J. Ingo, R. Frohlich, *Chem. Commun.* (2005) 157-165.
- 30 M.R. Bermejo, M.I. Fernandez, A.M. Gonzalez-Noya, M. Maneiro, R. Pedrido, M.J. Rodriguez, M. Vazquez, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2004) 2769-2774.
- 31 M.R. Bermejo, A.M. Gonzalez-Noya, V. Abad, M.I. Fernandez, M. Maneiro, R. Pedrido, M. Vazquez, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2004) 3696-3705.
- 32 C. Holloway, M. Melnik, *Rev. in Inorg. Chem.* 16 (1996) 101-314.

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

- 33 H. Biava, C. Palopoli, S. Shova, M. De Gaudio, V. Daier, M. Gonzalez-Sierra, *J. Inorg. Biochem.* 100 (2006) 1660-1671.
- 34 N. Aurangzeb, C.E. Hulme, C.A. McAuliffe, R.G. Pritchard, M. Watkinson, M.R. Bermejo, A. Garcia-Deibe, J. Sanmartin, A. Sousa, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1994) 1153-1155.
- 35 V. Daier, D. Moreno, C. Duhayon, J. Tuchagues, S. Signorella, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2010) 965-974.
- 36 J.A. Bonadies, M.L. Maroney, V.L. Pecoraro, *Inorg. Chem.* 28 (1989) 2044-2051.
- 37 E. Talsi, K. Bryliakov, *Mendeleev Commun.* (2004) 111-112.
- 38 A. Barra, D. Gatteschi, R. Sessoli, G. Abbati, A. Cornia, A. Fabretti, *Angew. Chem. Int. Ed.* 36 (1997) 2329-2331.
- 39 K. Campbell, D. Force, P. Nixon, F. Dole, B. Diner, R. Britt, *J. Am. Chem. Soc.* 122 (2000) 3754-3761.
- 40 S. Lee, S. Chang, D. Kossakovski, H. Cox, J. Beauchamp, *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999) 10152-10156.
- 41 K. Ghosh, N. Tyagi, P. Kumar, U. Singh, N. Goel, *J. Inorg. Biochem.* 104 (2010) 9-18.
- 42 M. Zippel, W. Lee, T. Bruice, *J. Am. Chem. Soc.* 108 (1986) 4433-4445.
- 43 J. Zhang, D. Garner, L. Liang, D. Barrios, Y. Lu, *Chem. Eur. J.* 15 (2009) 7481-7489.
- 44 M. Maneiro, M.R. Bermejo, M.I. Fernandez, A.M. Gonzalez-Noya, A.M. Tyryshkin, R.G. Pritchard, *Z. Anorg. Allg. Chem.* 629 (2003) 285-290.

APD III Influence of the geometry around the Mn(III) on the catalytic activity

45 A. Haikarainen, J. Sipilä, P. Pietikäinen, A. Pajunen, I. Mutikainen, *Bioorg. Med. Chem.* 9 (2001) 1633-1638.

**Catalizadores
biomiméticos
autoensamblados**

G. González-Riopedre

**APÉNDICE IV
Biomimetic
catalysts for oxidation of a
lignin model compound**

Biomimetic Catalysts for Oxidation of Veratryl Alcohol, a Lignin Model Compound

**Gustavo González-Riopedre,^a María Isabel Fernández-García,^a Esther
Gómez-Fórneas^a and Marcelino Maneiro.^a**

***Published in Catalysts, Special Issue “Biomimetic catalysts”, 2013, 3(1),
232-246 (DOI:10.3390/catal3010232).***

^a Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Sciences, University of Santiago de
Compostela, Lugo 27002, Spain.

Abstract.

Kraft pulp has to be bleached to eliminate the chromophoric structures, which cause a darkening of the pulp. In Nature, an equivalent role is assumed by ligninolytic enzymes such as lignin peroxidases, manganese peroxidases and laccases. The development of low molecular weight manganese peroxidase mimics may achieve environmentally-safe bleaching catalysts for the industry. Herein we report the synthesis and characterization of six manganese(III) complexes **1–6**, incorporating dianionic hexadentate Schiff base ligands ($H_2L^1-H_2L^4$) and different anions. Complex **4**, $Mn_2L^2_2(H_2O)_2(DCA)_2$ was crystallographically characterized. Complexes **1–4** behave as more efficient mimics of peroxidase in contrast to **5–6**. We have studied the use of these complexes as catalysts for the degradation of the lignin model compound veratryl alcohol. The biomimetic catalysts were used in conjunction with chlorine-free inexpensive co-oxidants as dioxygen or hydrogen peroxide. Yields up to 30% of veratryl alcohol conversion to veratraldehyde have been achieved at room temperature in presence of air flow using 0.5% of catalyst.

1. Introduction.

The predominant chemical pulping process used nowadays is the Kraft process, which, at high temperatures and under forceful alkaline conditions, is able to remove large amounts of lignin from the cellulose fiber by reductive depolymerisation with sulfide.¹ The formation of various chromophoric structures giving rise to absorption of visible light cannot be avoided in the Kraft process and will cause a darkening of the pulp.²

The objective of pulping and bleaching of wood is the selective removal of lignin without degrading the polysaccharides, and the removal of colored structures, which are originally present in the wood pulp or have been formed during the pulping process. Since toxic chlorinated compounds have been detected in the waste water streams of mills that use molecular chlorine as bleaching agent, the paper and pulp industry has been sought to design alternative bleaching sequences which use other oxidizing agents.³ So far, several different bleaching processes have been developed using dioxygen, hydrogen peroxide and ozone as proposed oxidants.⁴

A singular approach in this field is to mimic biological systems.⁵ Enzymes called lignin peroxidases, manganese peroxidases and laccases are able to catalyze such lignin degradation.⁶ Synthetic models for manganese peroxidase have been developed⁷ from polydentate ligands^{8,9} or porphyrins.^{10,11}

In our search of biomimetic models for peroxidase, we have also reported active manganese complexes involving tetradentate ONNO Schiff bases, and the influence of the geometry around the manganese ion on peroxidase activity has also been studied by us.¹²⁻¹⁴

The dimeric nature of the complexes is decisive on their peroxidase activity.¹⁵ Dimeric complexes can be achieved using the appropriate ligands, for instance polydentate Schiff bases with both inner and outer compartments.

Herein we report six Mn(III) complexes obtained from the reaction between different manganese salts and the Schiff base ligands (see Figure 1): *N,N'*-bis(3-methoxy-5-bromo-salicylidene)propane-1,2-diamine (H_2L^1); *N,N'*-bis(3-methoxysalicylidene)ethylenediamine (H_2L^2); *N,N'*-bis(3-methoxy-5-bromo-salicylidene)propane-1,3-diamine (H_2L^3) and *N,N'*-bis(3-methoxysalicylidene)-2,2'-dimethylpropane-1,3-diamine (H_2L^4).

We have also tried to take advantage of the ability of the anions perchlorate (in the case of Complexes **1** and **5**), AcAc (acetylacetonate, in the case of **2**) and DCA (diacyanamide, in the case of **4**) and nitrate (in the case of **3** and **6**) for establishing hydrogen bonds that would lead to new supramolecular architectures.

Peroxidase-like activity of the complexes was followed by the oxidation of the diammonium salt of 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS) at pH 6.8 in aqueous solution. The possibility of evaluating catalyst properties of **1–6** for pulp-bleaching purposes has been studied using veratryl alcohol (VA), which can be considered as a model compound for lignin substructures.¹⁶

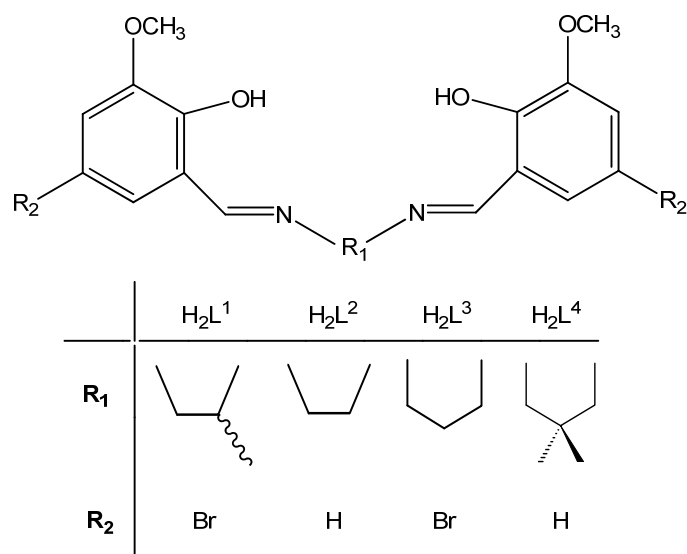


Figure 1. Structure of the Schiff base ligands H₂L¹-H₂L⁴.

2. Results and Discussion.

2.1. Synthesis and Characterization of the Complexes.

Complexes **1–6** were prepared in high yield as detailed in Section 3.3. Elemental analyses establish the formula MnL¹(H₂O)₂(ClO₄) for **1**, MnL¹(H₂O)₂(AcAc) for **2**, MnL²(H₂O)₂(NO₃)(CH₃OH) for **3**, MnL²(H₂O)(DCA) for **4**, MnL³(H₂O)₂(ClO₄) for **5**, and MnL⁴(H₂O)₂(NO₃)(H₂O)₃ for **6**. Molar conductivity measurements in 10⁻³ M dimethylformamide solutions, in the range 68–115 μS, show the electrolyte behavior for **1**, **3**, **5** and **6**, while **2** and **4** show non-electrolyte behavior.

ESI (electrospray-ionization) mass spectra registered in methanol show peaks corresponding to the fragment [MnL]⁺ for all the complexes, indicating the coordination of the Schiff base ligand to the metal centre. Other minor signals could be assigned to [Mn₂L₂(X)]⁺ units (being X the anion), which could be attributed to the presence of dimeric species.

Values for the magnetic moments at room temperature are very close to the spin-only value of 4.9 B.M., as expected for a high-spin magnetically diluted d⁴ manganese(III) ion.

Infrared spectroscopy (IR) verifies the coordination of the Schiff base ligand to the manganese ion, since in all cases we observe a negative shift (4–10 cm^{-1}) of the $\nu(\text{CN}_{\text{imine}})$ band and also a positive shift (10–30 cm^{-1}) of the $\nu(\text{CO}_{\text{phenol}})$ mode with respect to the free ligand. These data suggest the coordination of the Schiff base in its dianionic form through the inner phenol oxygen and the imine nitrogen atoms. Some other IR spectroscopical features allow understanding how the former manganese salt anions are bound to the central ion or even indicating their coordination behavior:

- a. The broad unsplit band at 1120 cm^{-1} in **1** and **5** is indicative of the presence of the uncoordinated perchlorate anion,¹² its characteristic ν_4 stretching mode at ca. 635 cm^{-1} can also easily be identified;
- b. Two new bands at 1546 and 1438 cm^{-1} in **2** are assigned to the symmetric and asymmetric acetylacetonate bidentate modes suggesting its coordination to the manganese ion;¹⁷
- c. The appearance of a new strong and sharp band at 1384 cm^{-1} , together with bands at ca. 740 and 850 cm^{-1} are characteristic of the non-coordinated nitrate counterion in complexes **3** and **6**;¹⁸
- d. Two new bands at 2148 and 2266 cm^{-1} in **4** are assigned to the symmetric and asymmetric diacyanamide modes.¹⁹

2.2. Crystal Structure of 4.

Single crystals of Complex **4**, suitable for X-ray diffraction studies, were obtained by slow evaporation of the methanolic solution at room temperature. Intensity data were collected on a Bruker X8 APEXII diffractometer employing graphite-monochromated *Mo-K α* radiation ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$) at 100 K.

The geometry around the manganese ion can be described as distorted octahedral. Main bond distances and angles are collected in Table 1. An ORTEP view of **4** with the atomic numbering scheme is shown in Figures 2A and 2B.

The coordination sphere around each manganese center comprises the planar Schiff base ligand, tightly bound to the metal ion through the inner

N_2O_2 compartment by the N_{imine} and O_{phenol} atoms ($\text{Mn}-\text{N}_{\text{imine}}$ bond lengths of 1.98–1.99 Å and $\text{Mn}-\text{O}_{\text{phenol}}$ of 1.88 Å which are typical of such complexes and corroborate the bisdeprotonation of the ligands), occupying the equatorial positions and giving rise to two six-membered chelate rings (which are nearly planar) and an additional five-membered chelate ring.

The axial positions of the octahedron are occupied by a capping water molecule and a dicyanamide molecule. The Jahn-Teller elongation expected for d^4 high-spin manganese(III) appears outstanding in the axis orthogonal to the plane of the Schiff base ligand, with distances ranging from 2.26 to 2.30 Å, considerably longer than the equatorial $\text{Mn}-\text{O}$ bond lengths quoted earlier.¹²⁻¹⁵

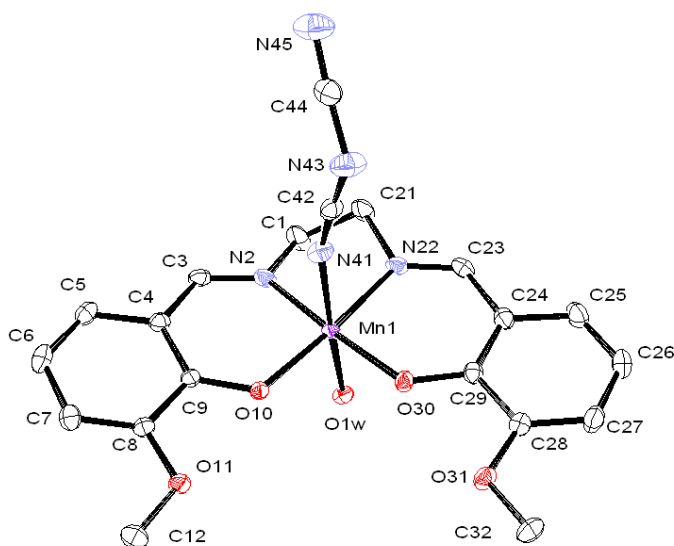


Figure 2A. ORTEP view of the environment around the manganese ion in **4**.

The superstructure of **4** involves associations *via* a combination of π -aryl offset interactions²⁰ and hydrogen bonds between capping water molecules and both phenoxy and methoxy oxygen atoms of the neighboring Schiff base ligand, forming μ -aquo dimeric units. These hydrogen bonds are charge-assisted, that is, the hydrogen bond donor and/or acceptor carry positive and negative ionic charges, respectively, and hence are rather strong and short. As result of these supramolecular interactions, the $\text{Mn}\cdots\text{Mn}$ distances of about 4.84 Å are short for monomeric compounds.

Mn1-O10	1.885(15)	Mn1-O30	1.881(15)
Mn1-N2	1.981(18)	Mn1-N22	1.990(19)
Mn1-N41	2.255(2)	Mn1-O1w	2.303(16)
O10-Mn1-O30	93.78(6)	N2-Mn1-N22	82.52(8)
N41-Mn1-O1w	174.32(7)	O10-Mn1-N41	94.00(7)
O10-Mn1-O1w	90.66(7)	O30-Mn1-O1w	90.11(6)

Table 1. Selected bond lengths (Å) and angles (°) for Complex **4**.

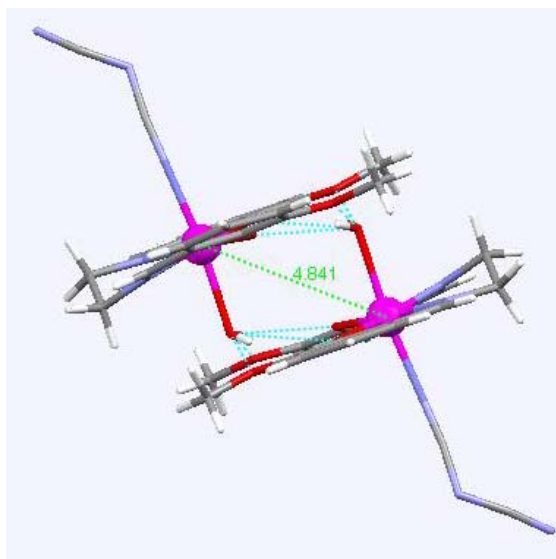


Figure 2B. Mercury drawing of the resulting μ -aquo dimer.

2.3. Electrochemical Studies.

The electrochemical behavior of complexes **1**, **3**, **4** and **5** has been studied. Cyclic voltammograms of the complexes exhibit a quasi-reversible one-electron reduction-oxidation wave, which at slow scan rates of about 0.02 V s^{-1} is reversible (Figure 3, Table 2).

The shape of the cyclic voltammograms for all the complexes is quite similar, with a peak-to-peak separation from 0.080 to 0.108. The rate of reversibility of these compounds suggests that they could act as catalysts in different processes. The redox potentials of **1**, **4** and **5** appear in the same range, the values of **5** being slightly more positive. The reduction wave of **3** is

observed at more negative potentials ($E_{\text{red}} = -0.237 \text{ V}$).

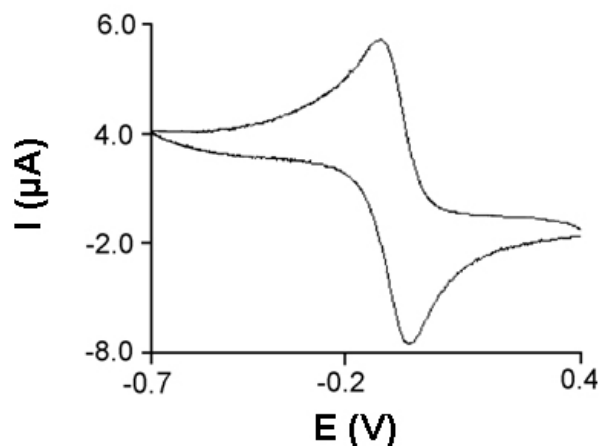


Figure 3. Cyclic voltammogram (versus saturated calomel electrode) for **1** at a scan rate of 0.02 V s^{-1} .

Normal pulse voltammetry can be applied to such systems and provides an additional proof of the oxidation state of the manganese in the former complexes. Anodic and cathodic currents were observed when the initial potentials were more negative than the wave range. However, when the initial potentials were more positive than the wave voltage range, only cathodic currents were observed. These data indicate that in solution only the oxidized forms of the redox systems exist, *i.e.*, manganese(III).

	E_{ox}	E_{red}	$E_{1/2}$	$\Delta E_{(\text{ox-red})}$
1	-0.034	-0.114	-0.074	0.080
3	-0.154	-0.237	-0.196	0.083
4	0.047	-0.057	-0.005	0.104
5	0.068	-0.040	0.014	0.108

Table 2. Electrochemical data for the complexes (values in V).

2.4. Peroxidase Studies.

ABTS is colorless and it reacts readily with H_2O_2 in the presence of a peroxidase catalyst to yield a stable green colored radical cation $\text{ABTS}^{\cdot+}$,²¹

which presents characteristic absorption bands at 415, 650, 735 and 815 nm. The extent of the reaction can be measured quantitatively at $\lambda = 650$ nm since $\epsilon = 12000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ has been determined. The oxidation potential of ABTS to provide $\text{ABTS}^{\cdot+}$ is invariable over a wide range of pH. In the absence of the complex, a solution of ABTS and H_2O_2 is stable for several hours without showing any formation of $\text{ABTS}^{\cdot+}$.

The reaction of ABTS with H_2O_2 in the presence of **1–4** generates $\text{ABTS}^{\cdot+}$ and the characteristic absorption bands of this species could be established (Figure 4). The rate of formation of $\text{ABTS}^{\cdot+}$ of about 40–62% indicates a relevant peroxidase activity by Complexes **1–4**. Complexes **5–6** do not show significant peroxidase-like activity since the UV absorbances corresponding to the $\text{ABTS}^{\cdot+}$ radical cation are negligible in the assays with these complexes.

The extent of the conversion of ABTS increases to 70–76% using a larger amount of the oxidant (250 μL 10 M). However the higher turnovers numbers (TON; calculated as the number of moles of substrate that a mole of catalyst can convert before becoming inactivated) of catalytic cycles is achieved by reducing the concentration of the catalyst in solution (Figure 5). This behavior can be explained by the reaction completion so that more turnovers are observed with lower catalyst load. The percentages of conversions in these conditions range from 53 to 61%.

The exact mechanism of oxidation process is not clear at present. High-valent intermediates such as Mn(IV) or Mn(V) have been proposed in different redox processes catalyzed by other synthetic manganese complexes.²²⁻²⁵ Accordingly, Complexes **1–4** could follow a pathway involving the interconversion between the Mn^{III}_2 and $[\text{Mn}^{\text{IV}}=\text{O}]_2$ forms. The resolution of the crystal structure of **4** reveals a short distance between the manganese ions. Both the short intermetallic separation and the occurrence of two labile coordination sites could facilitate the μ -bridging mode of peroxide leading to O-O cleavage and formation of the $[\text{Mn}^{\text{IV}}=\text{O}]_2$ form of catalyst.

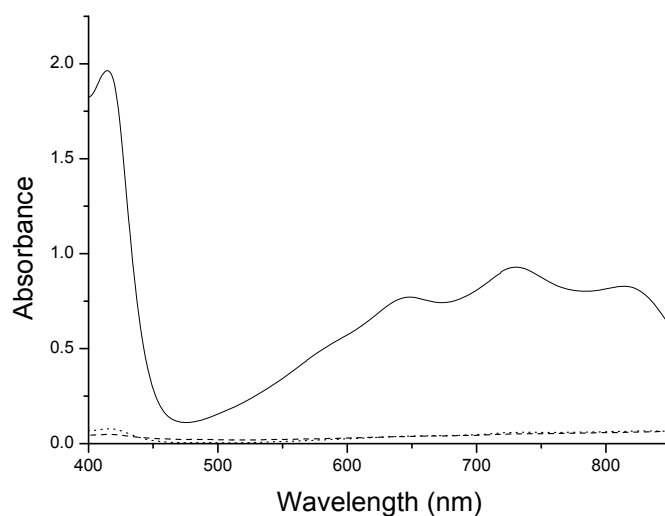


Figure 4. UV absorption spectra of Complex 4 (straight line) recorded 10 min after injecting 10 μL of a 10^{-3} methanolic solution of the appropriate complex to 3 mL aqueous solution in the peroxidases probes. Broken lines are spectra of ABTS + H_2O_2 and 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS) + complex, measured separately.

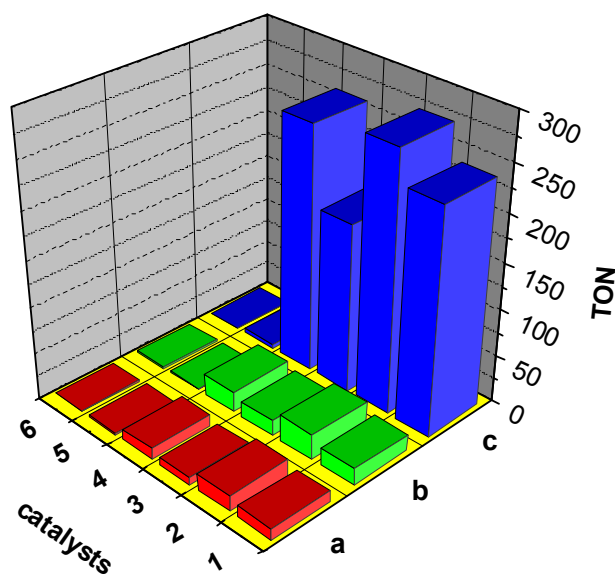


Figure 5. Turnovers numbers of catalytic cycles for 1–6 using the standard conditions detailed in Section 3.5 (a); increasing the $[\text{H}_2\text{O}_2]$ adding 250 μL 10 M instead of 50 μL (b); reducing the [complex] adding 1 μL 10^{-3} M instead of 10 μL (c).

The way to achieve the dimeric nature of the complexes is decisive on their peroxidase activity since the oxidation of the hydroperoxide ion involves an intramolecular two-electron transfer reaction which is forbidden for a monomeric Mn(III) complex. In this sense, the self-assembly of the manganese complexes through hydrogen bonding arises as a key issue to enhance the peroxidase activity for this type of complex.¹³ The methoxy groups of the outer compartments of the Schiff bases H₂L¹-H₂L⁴ are essential to establish a supramolecular network that approximates the manganese ions to distances below 5 Å, which is considerably shorter than the 10 Å for monomeric compounds.²⁶

2.5. Oxidation of the Lignin Analogue Veratryl Alcohol.

Veratryl alcohol (3,4-dimethoxybenzyl alcohol) is a commonly used lignin model.²⁷ This substrate is optimal for our experiments since Complexes **1–6** have no absorbance at 310 nm, whereas its oxidized product veratraldehyde absorbs strongly at 310 nm ($\epsilon = 9300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).²⁸ The oxidation studies have been done both in presence and absence of air flow bubbling in order to check for the effect of a saturated atmosphere of molecular oxygen in the process. Dioxygen is an attractive choice as a nonpoisonous and inexpensive oxidant for industrial processes. The processes that are based on molecular oxygen can also be considered to be ecologically benign processes, because water and hydrogen peroxide are the main side products derived from the oxidant.²⁹

Veratraldehyde product were isolated and purified following the procedure described in Section 3.6. ¹H nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy confirms the absence of the methylene proton signal at 4.61 ppm from the original veratryl alcohol as well as the appearance of a new peak at 9.62 ppm corresponding to the aldehyde. A control reaction under the same conditions without catalyst did not give any fraction of veratraldehyde. The results of the oxidation of veratryl alcohol to veratraldehyde are shown in Figure 6. The activity of the catalysts **1–6** decreases as the length of the alkyl bridge between the coordinating amines increases.

Complexes **1**, **2** and **4**, behave as better catalysts in this process. An explanation arises from the short two-carbon chain between imine groups in

these complexes; the short chain length constricts the chelate ring once nitrogens coordinate to the metal and it leads to a tetragonally elongated octahedral geometry. An axial water molecule in this class of distorted geometries constitutes a quite labile ligand, which would generate a vacant position in the coordination sphere to accommodate the substrate molecule. On the other hand, the flexible three-membered alkyl chain between the imine groups in the Mn compounds **5–6** favors a better stabilization of a high-symmetry octahedral geometry, which subsequently makes the generation of a vacancy difficult. The activity of **3**, intermediate between these two groups of complexes, may be derived from its more negative potentials observed in electrochemical studies.

Conversions up to 30% were obtained at 22 °C with an air flow bubbling for 10 h, using the Catalyst **4** and three equivalents of H₂O₂ respective to the substrate. These are mild conditions compared with the experimental setup of other authors,^{30,31} where high temperatures and pressures are needed to reach similar yields with different catalysts. Moreover, most of the oxygen-activating homogeneous transition-metal catalysts are investigated in organic solvents,^{32,33} however, only a few are known to be active in water.³⁴

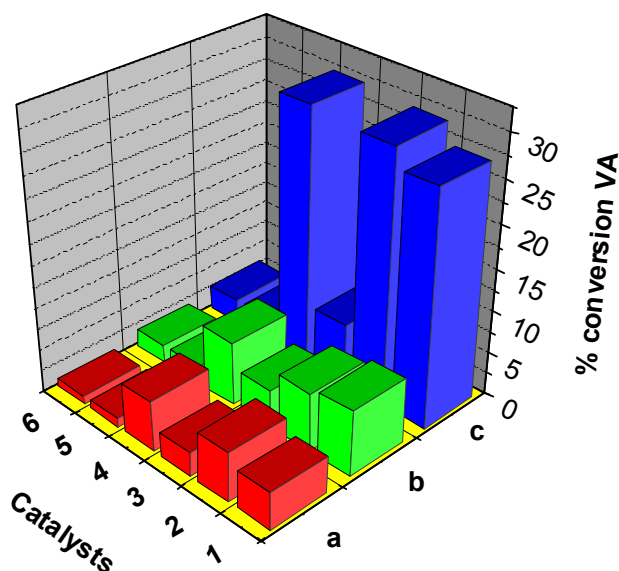


Figure 6. Conversions of veratryl alcohol (VA) to veratraldehyde catalyzed by **1–6**: (a) reaction conditions as detailed in Section 3.6 but in absence of air flow; (b) reaction conditions as

detailed in Section 3.6 but reducing reaction time to 3 h; (c) reaction conditions as detailed in Section 3.6.

No conversion has been shown in absence of catalyst or in absence of hydrogen peroxide. Air flow providing oxygen as oxidant is crucial to increase the yield, but a degradation of about 7% of veratryl alcohol is observed when the experiment was done without air flow. However, presence of both catalyst and H₂O₂ is necessary to find some degradation of veratryl alcohol. This behavior suggests that hydrogen peroxide could induce the oxidation of the catalyst to a more catalytically active species, such as [Mn^{IV}=O]₂ dimers, which subsequently would degrade the veratryl alcohol using dioxygen as oxidant.

3. Experimental Section.

3.1. Materials.

All the starting materials (Aldrich) and solvents (Probus) used for the synthesis were of commercially available reagent grade and were used without further purification.

3.2. Physical Measurements.

Elemental analyses were performed on a Carlo Erba Model 1108 CHNS-O elemental analyzer. The IR spectra were recorded as KBr pellets on a Bio-Rad FTS 135 spectrophotometer in the range of 4000–400 cm⁻¹. ¹H NMR spectra were recorded on a Bruker AC-300 spectrometer using CD₃OD (296 K) as solvent and SiMe₄ as an internal reference. The electro-spray mass spectra of the compounds were obtained on a Hewlett-Packard model LC-MSD 1100 instrument (positive ion mode, 98:2 CH₃OH-HCOOH as mobile phase, 30 to 100 V). Room-temperature magnetic susceptibilities were measured using a digital measurement system MSB-MKI, calibrated using mercury tetrakis(isothiocyanato)cobaltate(II) Hg[Co(NCS)₄] as a susceptibility standard. Conductivities of 10⁻³ M solutions in DMF were measured on a Crison microCM 2200 conductivity meter.

Electrochemical experiments were performed using an EG&G PAR model 273 potentiostat, controlled by EG&G PAR model 270 software. A Metrohm

model 6.1204.000 graphite disc coupled to a Metrohm model 628-10 rotating electrolyte device was used as a working electrode. A saturated calomel electrode was used as a reference and a platinum wire used as an auxiliary electrode. All measurements were made with ca. 10^{-3} mol dm $^{-3}$ solutions of the complexes in dimethylformamide using 0.2 mol dm $^{-3}$ NBu $_4$ PF $_6$ as a supporting electrolyte. Cyclic voltammetry measurements were performed with a static graphite electrode, whilst direct-current and pulse voltammograms were recorded with the graphite disc rotating at 2000 revolutions per minute.

3.3. Synthesis of the Complexes.

Mn $_2$ L 1_2 (H $_2$ O) $_4$ (ClO $_4$) $_2$ (1), 1.99 mmol (1.00 g) of H $_2$ L 1 was dissolved in 100 mL of a 1:1 methanol-ethanol mixture and 1.99 mmol (0.72 g) of Mn(ClO $_4$) $_2$ ·6H $_2$ O was added to the initial yellow solution which changed to green (**CAUTION**: Although no problems were encountered in this work, perchlorates are potentially explosive and should be handled in only small quantities and with care!). After stirring for 10 min, 3.98 mmol (0.16 g) of NaOH, dissolved in a small quantity of water, was added, and the mixture turned dark. The progress of the reaction was followed by thin-layer chromatography (TLC) for three days and the mixture was then filtered. The complex was obtained from the filtrate as a brown solid after crystallization. It was isolated by filtration and washed with diethyl ether and dried in air. Anal. Calcd. for C $_{38}$ H $_{44}$ Br $_4$ Cl $_2$ Mn $_2$ N $_4$ O $_{16}$ (1312.4): C, 34.7; H, 3.4; N, 4.3. Found: C, 34.0; H, 3.4; N, 4.0 %. MS ES (m/z): 553 [MnL] $^+$. IR (KBr, cm $^{-1}$): ν (O-H) 3438 (m), ν (C=N) 1625 (vs), ν (C-O) 1295 (s), ν_3 (ClO $_4^-$) 1120 (vs). μ = 4.7 BM. Conductivity (in DMF) Λ_M = 82 μ S.

Mn $_2$ L 1_2 (H $_2$ O) $_4$ (AcAc) $_2$ (2), H $_2$ L 1 (1.4 mmol, 0.70 g) was dissolved in methanol (40 mL) and Mn(AcAc) $_3$ ·4H $_2$ O (1.4 mmol, 0.40 g), dissolved in methanol was added to the initial yellow solution, which changed to green. After stirring for 10 min, NaOH (2.8 mmol, 0.11 g), dissolved in a small quantity of water, was added and the mixture turned black. The reaction mixture was refluxed for 2 hours, and then concentrated *in vacuo* to half its volume. The complex was obtained as black crystals, which were isolated by filtration, washed with diethyl ether and dried in air. Anal. Calcd. for C $_{48}$ H $_{58}$ Mn $_2$ Br $_4$ N $_4$ O $_{16}$ (1375.8): C, 41.8; H, 4.2; N, 4.1. Found: C, 40.4; H, 3.9; N, 4.3 %. MS ES (m/z): 553 [MnL] $^+$. IR (KBr, cm $^{-1}$): ν (O-H) 3432 (m), ν (C=N)

1626 (vs), $\nu(\text{C-O})$ 1298 (s), $\nu_{\text{asym}}(\text{CO}_2)$ 1546 (s), $\nu_{\text{sym}}(\text{CO}_2)$ 1438 (m). $\mu = 5.0$ BM. Conductivity (in DMF) $\Lambda_M = 10 \mu\text{S}$.

$\text{Mn}_2\text{L}^2(\text{H}_2\text{O})_4(\text{NO}_3)_2(\text{CH}_3\text{OH})_2$ (3). 1.00 mmol (0.33 g) of H_2L^2 was dissolved in methanol (50 mL) and 1.00 mmol (0.26 g) of $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ was added to the initial yellow solution which changed to brown. After 3 h of stirring at room temperature slow evaporation of solvent lead to deposition of a brown compound. The product was collected by filtration, washed with diethyl ether and then dried *in vacuo*. Anal. Calcd. for $\text{C}_{38}\text{H}_{52}\text{Mn}_2\text{N}_6\text{O}_{20}$ (511.4): C, 44.6; H, 5.1; N, 8.2. Found: C, 44.5; H, 4.9; N, 8.3%. MS ESI (m/z): 381 $[\text{MnL}^1]^+$, 824 $[\text{Mn}_2\text{L}^1_2(\text{NO}_3)]^+$. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu(\text{O-H})$ 3420 (m), $\nu(\text{C=N})$ 1619 (vs), $\nu(\text{C-O})$ 1257 (s), $\nu(\text{NO}_3)$ 1384 (vs), 830 (m), 738 (s). ^1H NMR (DMSO- d_6 , ppm): δ -30.52 (H4), -21.50 (H5). $\mu = 5.1$ BM. $\Lambda_M = 81 \mu\text{S}$.

$\text{Mn}_2\text{L}^2(\text{H}_2\text{O})_2(\text{DCA})_2$ (4), 0.46 mmol (0.15 g) of H_2L^2 was dissolved in methanol (40 mL) and 0.46 mmol (0.11 g) of $\text{Mn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ was added to the initial yellow solution which changed to brown. The mixture was gently heated and stirred for 30 min, and then 0.46 mmol (0.04 g) of $\text{NaN}(\text{CN})_2$ in 10 mL of methanol was added. Anal. Calcd. for $\text{C}_{40}\text{H}_{40}\text{Mn}_2\text{N}_{10}\text{O}_{10}$ (930.8): C, 51.6; H, 4.3; N, 15.0. Found: C, 50.8; H, 4.4; N, 14.8 %. MS ES (m/z): 381 $[\text{MnL}]^+$; 828 $[\text{MnL}(\text{DCA})]^+$. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu(\text{O-H})$ 3421 (m), $\nu(\text{C=N})$ 1624 (vs), $\nu(\text{C-O})$ 1259 (s), $\nu_{\text{sym}}(\text{C}\equiv\text{N})$ 2148 (vs), $\nu_{\text{asym}}(\text{C}\equiv\text{N})$ 2266 (m). $\mu = 5.0$ BM. Conductivity (in MeOH) $\Lambda_M = 33 \mu\text{S}$.

$\text{MnL}^3(\text{H}_2\text{O})_2(\text{ClO}_4)$ (5), Synthetic procedure similar to **1**, using 2.00 mmol (1.0 g) of H_2L^3 , 2.00 mmol (0.72 g) of $\text{Mn}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ and 4.00 mmol (0.16 g) of NaOH. Anal. Calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{Br}_2\text{ClMnN}_2\text{O}_{10}$ (688.2): C, 33.1; H, 3.2; N, 4.1. Found: C, 33.5; H, 3.2; N, 4.0 %. MS ES (m/z): 554 $[\text{MnL}]^+$. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu(\text{O-H})$ 3431 (m), $\nu(\text{C=N})$ 1624 (vs), $\nu(\text{C-O})$ 1294 (s), $\nu_3(\text{ClO}_4^-)$ 1119 (vs). $\mu = 4.6$ BM. Conductivity (in DMF) $\Lambda_M = 115 \mu\text{S}$.

$\text{MnL}^4(\text{H}_2\text{O})_2(\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})_3$ (6). Synthetic procedure similar to **3**, using 0.68 mmol (0.25 g) of H_2L^4 , and 0.68 mmol (0.18 g) of $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Anal. Calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{MnN}_3\text{O}_{11}$ (557.4): C, 45.2; H, 5.8; N, 7.5. Found: C, 45.3; H, 5.7; N, 7.5%. MS ESI (m/z): 423 $[\text{MnL}^5]^+$, 908 $[\text{Mn}_2\text{L}^5_2(\text{NO}_3)]^+$. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu(\text{O-H})$ 3427 (m), $\nu(\text{C=N})$ 1609 (vs), $\nu(\text{C-O})$ 1254 (s), $\nu(\text{NO}_3)$ 1384 (vs), 850 (m), 739 (s). ^1H NMR (DMSO- d_6 , ppm): δ -21.97 (H4), -18.00 (H5). $\mu = 5.3$

BM. $\Lambda_M = 68 \mu\text{S}$.

3.4. X-ray Diffraction Studies.

Single crystals of Complex **4** suitable for X-ray diffraction studies were obtained by slow evaporation of the methanolic solution at room temperature. Detailed crystal data collection and refinement are summarized in Table 3. The structures were solved by direct methods³⁵ and finally refined by full-matrix least-squares base on F^2 . An empirical absorption correction was applied using SADABS.³⁶ All non-hydrogen atoms were included in the model at geometrically calculated positions.

Empirical formula	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{MnN}_5\text{O}_5$
Formula weight	465.35
Temperature [K]	100(2)
Wavelength [Å]	0.71073
Crystal system	Monoclinic
Space group	$P2_1/c$
a [Å]	11.3350(4)
b [Å]	21.7336(9)
c [Å]	8.5965(3)
α [°]	90
β [°]	108.591(2)
γ [°]	90
Volume [Å ³]	2007.24(13)
Z	4
$D_{\text{calcd.}}$ [g cm ⁻³]	1.540
μ [mm ⁻¹]	0.702
$F(000)$	960
$\theta_{\text{min/max}}$ [°]	1.87/27.88
Total data	28313
Unique data	4792
Final R indices [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0.0417$; $wR_2 = 0.1109$
R indices (all data)	$R_1 = 0.0494$; $wR_2 = 0.1163$

Table 3. Crystal data and structure refinement for **4**.

The Cambridge crystallographic data centre (CCDC) reference number
336

916337 contains the supplementary crystallographic data for **4**. These data can be obtained free of charge at www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrieving.html (or from the Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK [Fax: + 44-1223/336-033; E-Mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk]).

3.5. Peroxidase Probes.

Oxidation of ABTS with H₂O₂ at ca. pH 7 in the presence of the complexes was tested in the following manner. An aqueous solution of ABTS (50 μL; 0.009 M; 4.5 × 10⁻⁷ mol) and a methanolic solution of the complex (10 μL; 10⁻³ M; 10⁻⁸ mol) were added to water (3 mL). The intensity of the UV absorption bands of ABTS started to increase immediately after addition of an aqueous solution of H₂O₂ (50 μL; 10 M; 5 × 10⁻⁴ mol). The disproportionation of hydrogen peroxide by the Complexes **1–6** (catalase activity) was not observed for the concentrations of this peroxidase assay.

3.6. Oxidation of Veratryl Alcohol.

Veratryl alcohol (200 mmol, 0.29 mL), previously dissolved in 20 mL of dihydrogenphosphate/NaOH buffer pH 8, was mixed with a methanolic solution (15 mL) of the catalytic complex (0.5 mmol, ca. 6 mg). The oxidant (600 mmol) was added in three portions at 20 min intervals. The reaction mixture was stirred for 10 hours at 22 °C with an air flow bubbling through the solution and then filtered through a short silica gel plug to remove the catalyst and excess oxidant. The reaction mixture was extracted in CH₂Cl₂ in the presence of saturated aqueous NaCl solution. The organic layer was dried over MgSO₄ and evaporated under reduced pressure. The mixture was then purified by column chromatography using a 1:1 mixture of ethyl acetate:hexane as eluent. The veratraldehyde fraction was characterized by NMR spectrometry. ¹H NMR (300 MHz) for the veratraldehyde fraction: 9.62 (s, 1H); 7.44 (d, 1H); 7.33 (s, 1H); 7.18 (d, 1H); 3.83 (s, 6H); ¹H NMR (300 MHz) for original commercial veratryl alcohol: 7.03 (s, 1H); 6.81 (d, 1H); 6.55 (d, 1H); 4.61 (s, 2H); 3.83 (s, 6H).

4. Conclusions.

This work again further emphasizes the suitability of Schiff bases with inner and outer O–R (R = CH₃ in the present work) groups for establishing rich hydrogen-bonding networks. The X-ray structure of **4** shows the self-assembly of the Mn(III)-Schiff base complexes through μ -aquo bridges. This type of structure is crucial to obtain peroxidase-like activity for these complexes. **1–4** behave as efficient peroxidase mimics achieving TON close to 300 catalytic cycles. The four complexes are also able to decompose veratryl alcohol, a lignin analogue, with relevant yields in very mild conditions.

Acknowledgments.

We thank Xunta de Galicia (09DPI004291PR) for financial support. We also thank Juan C. García-Montegudo for the use of his potentiostat and for his invaluable help with electrochemical measurements. The authors especially thank the reviewers of the manuscript for their helpful suggestions.

References.

- 1 Sixta, H.; Potthast, A.; Krottschek, A.W. Chemical pulping processes. In *Handbook of Pulp*; Sixta, H., Ed.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2006.
- 2 Isroi, I.; Millati, R.; Syamsiah, S.; Niklasson, C.; Cahyanto, M.N.; Lundquist, K.; Taherezadeh, M.J. Biological pretreatment of lignocelluloses with white-rot fungi and its applications: a review. *Bioresources* **2011**, *6*, 5224–5259.
- 3 Pokhrel, D.; Viraraghavan, T. Treatment of pulp and paper mill wastewater –a review. *Sci. Total Environ.* **2004**, *333*, 37–58.
- 4 Muñoz, I.; Rieradevall, J.; Torrades, F.; Peral, J.; Domènech, X. Environmental assessment of different advanced oxidation processes applied to a bleaching Kraft mill effluent. *Chemosphere* **2006**, *62*, 9–16.
- 5 Bajpai, P. Biological bleaching of chemical pulps. *Crit. Rev. Biotechnol.* **2004**, *24*, 1–58.

- 6 Galliano, H.; Gas, G.; Seris, J.L.; Boudet, A.M. Lignin degradation by rigidoporus-lignosus involves synergistic action of 2-oxidizing enzymes-Mn peroxidase and laccase. *Enzyme Microb. Technol.* **1991**, *13*, 478–482.
- 7 Hage, R.; Lienke, A. Applications of transition-metal catalysts to textile and wood-pulp bleaching. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 206–222.
- 8 Chen, C.-L.; Capanema, E.A.; Gracz, H.S. Reaction mechanisms in delignification of pine Kraft-AQ pulp with hydrogen peroxide using Mn(IV)-Me₄DTNE as catalyst. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 1932–1941.
- 9 Biava, H.; Signorella, S. Peroxidase activity of dimanganese(III) complexes with the [Mn₂(μ-OAc)(μ-OR)₂]³⁺ core. *Polyhedron* **2010**, *29*, 1001–1006.
- 10 Dolphin, D.; Traylor, T.G.; Xie, L.Y. Polyhaloporphyrins: Unusual ligands for metals and metal-catalyzed oxidations. *Acc. Chem. Res.* **1997**, *30*, 251–259.
- 11 Crestini, C.; Pastorini, A.; Tagliatesta, P. Metalloporphyrins immobilized on motmorillonite as biomimetic catalysts in the oxidation of lignin model compounds. *J. Mol. Catal. A* **2004**, *208*, 195–202.
- 12 Bermejo, M.R.; Fernández, M.I.; Gómez-Fórneas, E.; González-Noya, A.; Maneiro, M.; Pedrido, R.; Rodríguez, M.J. Self-assembly of dimeric Mn(III)-Schiff-base complexes tuned by perchlorate anions. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2007**, *2007*, 3789–3797.
- 13 Vázquez-Fernández, M.A.; Bermejo, M.R.; Fernández-García, M.I.; González-Riopedre, G.; Rodríguez-Doutón, M.J.; Maneiro, M. Influence of the geometry around the manganese ion on the peroxidase and catalase activities of Mn(III)-Schiff base complexes. *J. Inorg. Biochem.* **2011**, *105*, 1538–1547.
- 14 Maneiro, M.; Bermejo, M.R.; Fernández, M.I.; Gómez-Fórneas, E.; González-Noya, A.M.; Tyryshkin, A.M. A new type of manganese-Schiff base complex, catalysts for the disproportionation of hydrogen peroxide as peroxidase mimics. *New J. Chem.* **2003**, *27*, 727–733.
- 15 Bermejo, M.R.; Fernández, M.I.; González-Noya, A.M.; Maneiro, M.; Pedrido, R.; Rodríguez, M.J.; García-Monteagudo, J.C.; Donnadiou, D.

- Novel peroxidase mimics: μ -Aqua manganese-Schiff base dimers. *J. Inorg. Biochem.* **2006**, *100*, 1470–1478.
- 16 Zucca, P.; Sollai, F.; Garau, A.; Rescigno, A.; Sanjust, E. Fe(III)-5,10,15,20-tetrakis(pentafluorophenyl)porphine supported on pyridyl-functionalized, crosslinked poly(vinyl alcohol) as biomimetic versatile-peroxidase-like catalyst. *J. Mol. Catal. A* **2009**, *306*, 89–96.
- 17 Bermejo, M.R.; Fondo, M.; Garcia-Deibe, A.; González-Noya, A.M.; Sousa, A.; Sanmartín, J.; McAuliffe, C.A.; Pritchard, R.G.; Watkinson, M.; Lukov, V. Studies of the binding modes of carboxylate donors with manganese(III) complexes containing tetradentate Schiff base ligands. Crystal structures of the complexes $[\text{Mn}(3\text{-CH}_3\text{Osalp})(\text{HO}_2\text{CC}_6\text{H}_4\text{CO}_2)]_n$ and $\{[\text{Mn}(5\text{-NO}_2\text{salpn})(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})]\}$ $\{[\text{Mn}(5\text{-NO}_2\text{salpn})(\text{HO}_2\text{CC}_6\text{H}_4\text{CO}_2)(\text{H}_2\text{O})]\}$ ·C₂H₅OH. *Inorg. Chim. Acta* **1999**, *293*, 210–217.
- 18 Kong, D.; Xie, Y. Synthesis, structural characterization of tetraazamacrocyclic ligand, five-coordinated zinc(II). *Inorg. Chim. Acta* **2002**, *338*, 142–148.
- 19 Majumder, A.; Pilet, G.; Garland, M.T.; Mitra, S. Synthesis and structural characterisation of three dicyanamide complexes with Mn(II), Zn(II) and Cd(II): Supramolecular architectures stabilised by hydrogen bonding. *Polyhedron* **2006**, *25*, 2550–2558.
- 20 Constable, E.C.; Housecroft, C.E.; Kopecky, P.; Schonhofer, E.; Zampese, J.A. Restricting the geometrical relaxation in four-coordinate copper(I) complexes using face-to-face and edge-to-face π -interactions. *CrystEngComm* **2011**, *13*, 2742–2752.
- 21 Eulerling, B.; Schmidt, M.; Pinkernell, V.; Karst, U.; Krebs, B. An unsymmetrical dinuclear iron(III) complex with peroxidase properties. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, *35*, 1973–1974 (in English).
- 22 Cozzi, P.G. Metal-Salen Schiff base complexes in catalysis: practical aspects. *Chem. Soc. Rev.* **2004**, *33*, 410–421.

- 23 Hage, R.; Lienke, A. Bleach and oxidation catalysis by manganese-1,4,7-triazacyclononane complexes and hydrogen peroxide. *J. Mol. Catal. A* **2006**, *251*, 150–158.
- 24 Signorella, S.; Hureau, C. Bioinspired functional mimics of the manganese catalases. *Coord. Chem. Rev.* **2012**, *256*, 1229–1245.
- 25 Oliveri, V.; Puglisi, A.; Vecchio, G. New conjugates of β -cyclodextrin with manganese(III) salophen and porphyrin complexes as antioxidant systems. *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 2913–2919.
- 26 González-Riopedre, G.; Fernández-García, M.I.; González-Noya, A.M.; Vázquez-Fernández, M.; Bermejo, M.R.; Maneiro, M. Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13*, 18069–18077.
- 27 Kervinen, K.; Lahtinen, P.; Repo, T.; Svanh, M.; Leskela, M. The effect of reaction conditions on the oxidation of veratryl alcohol catalyzed by cobalt salen-complexes. *Catal. Today* **2002**, *75*, 183–188.
- 28 Liu, A.; Huang, X.; Song, S.; Wang, D.; Xuemei, L.; Qu, Y.; Gao, P. Kinetics of the H_2O_2 -dependent ligninase-catalyzed oxidation of veratryl alcohol in the presence of cationic surfactant studied by spectrophotometric technique. *Spectrochim. Acta Part A* **2003**, *59*, 2547–2551.
- 29 Simandi, L. *Advances in Catalytic Activation of Dioxygen by Metal Complexes*; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, The Netherlands, 2003.
- 30 Korpi, H.; Sippola, V.; Filpponen, I.; Sipilä, J.; Krausse, O.; Leskeläm, M.; Repo, R. Copper-2,2'-bipyridines: Catalytic performance and structures in aqueous alkaline solutions. *Appl. Catal. A* **2006**, *302*, 250–256.
- 31 Zakzeski, J.; Jongerius, A.L.; Weckhuysen, B.M. Transition metal catalyzed oxidation of Alcell lignin, soda lignin, and lignin model compounds in ionic liquids. *Green Chem.* **2010**, *12*, 1225–1236.
- 32 Crestini, C.; Pastorini, A.; Tagliatesta, P. The immobilized porphyrin-mediator system Mn(TMePyP)/clay/HBT (clay-PMS): A Lignin peroxidase

- biomimetic catalyst in the oxidation of lignin and lignin model compounds. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2004**, 4477–4483.
- 33 Cui, F.; Dolphin, D. Iron porphyrin catalyzed oxidation of lignin model compounds: the oxidation of veratryl alcohol and veratryl acetate. *Can. J. Chem.* **1992**, *70*, 2314–2318.
- 34 Sippola, V.O.; Krause, A.O.I. Bis(O-phenanthroline)copper-catalysed oxidation of lignin model compounds for oxygen bleaching of pulp. *Catal. Today* **2005**, *100*, 237–242.
- 35 Sheldrick, G.M. SHELX-97 (shelxs 97 and shelxl 97), Programs for Crystal Structure Analyses, version 97-1; University of Göttingen: Göttingen, Germany, 1997.
- 36 Sheldrick, G.M. SADABS (Program for Scaling and Correction of Area Detector Data), version 2008/1; University of Göttingen: Göttingen, Germany, 2008.

**Catalizadores
biomiméticos
autoensamblados**
G. González-Riopedre

**APÉNDICE V
Publicaciones y
contribuciones resultado
de la tesis**

a) Publicaciones en revistas científicas con revisión por pares:

Publicación 1

Autores: Gustavo González-Riopedre, M. Isabel Fernández-García, Ana M. González-Noya, M. Ángeles Vázquez-Fernández, Manuel R. Bermejo and Marcelino Maneiro.

Título: Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis

Publicado en: *Physical Chemistry Chemical Physics*, **13**, 18069-18077 (2011) (DOI: 10.1039/c1cp21154d)

Publicación 2

Autores: M. Ángeles Vázquez-Fernández, M. Isabel Fernández-García, Gustavo González-Riopedre, Marcelino Maneiro y M. Jesús Rodríguez-Doutón

Título: Self-assembled biomimetic catalysts: Studies of the catalase and peroxidase activities of Mn(III)-Schiff base complexes

Publicado en: *Journal of Coordination Chemistry*, **64**, 3843-3858 (2011) (DOI: 10.1080/00958972.2011.633164).

Publicación 3

Autores: M. Ángeles Vázquez-Fernández, Manuel R. Bermejo, M. Isabel Fernández-García, Gustavo González-Riopedre, M. Jesús Rodríguez Doutón, Marcelino Maneiro.

Título: Influence of the geometry around the manganese ion on the peroxidase and catalase activities of Mn(III)-Schiff base complexes

Publicado en: *Journal of Inorganic Biochemistry*, **105**, 1538-1547 (2011) (DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2011.09.002).

Publicación 4

Autores: Gustavo González-Riopedre, María Isabel Fernández-García, Esther Gómez-Fórneas, Marcelino Maneiro.

Título: Biomimetic Catalysts for Oxidation of Veratryl Alcohol, a Lignin Model Compound

Publicado en: *Catalysts*, **3**, 232-246 (2013) (DOI:10.3390/catal3010232).

Publicación 5

Autores: Gustavo González-Riopedre, Manuel R. Bermejo, María Isabel Fernández-García, Ana González-Noya, M. Ángeles Vázquez-Fernández, Marcelino Maneiro.

Título: Alkali metal ion directed self-assembled Mn(III) supramolecular boxes

Publicado en: *Manuscrito en preparación para Chemical Communications*

Publicación 6

Autores: Gustavo González-Riopedre, María Isabel Fernández-García, Ana González-Noya, Marcelino Maneiro.

Título: Electrocatalytic oxidation of a lignin model compound using manganese-Schiff base complexes

Publicado en: *Manuscrito en preparación para Catalysis Communications*

b) Publicaciones como capítulos de libro

Autores: Gustavo González-Riopedre, Manuel R. Bermejo, María Isabel Fernández-García, Ana González-Noya, Marcelino Maneiro.

Título: Self-assembled Mn(III) complexes as catalysts for degradation of lignin analogues

Publicado en: *11th European Biological Inorganic Chemistry Conference EUROBIC 11*, Ed. Medimond International Proceedings, Bologna-Italia, 2013; ISBN 978-88-7587-658-6

c) Contribuciones en congresos científicos**Contribución 1**

Título: Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis
Nombre del congreso: Faraday Discussion 155: Artificial Photosynthesis
Tipo de participación: Póster **Publicado en:** "Abstracts, P27".
Ciudad de realización: Edinburgh **Fecha de realización:** 05-07/09/2011
Entidad organizadora: Royal Society of Chemistry
Autores: Marcelino Maneiro; M. Isabel Fernández-García; Ana M^a González-Noya; Gustavo González-Riopedre; Manuel R. Bermejo Patiño

Contribución 2

Título: Complejos de Manganeso(III)-Bases de Schiff con aniones cloruro, acetato y nitrato: estructura, propiedades y actividad peroxidasa
Nombre del congreso: VII Reunión Científica de Bioinorgánica
Tipo de participación: Póster **Publicado en:** "Libro de Abstracts, CP-15".
Ciudad de realización: Águilas **Fecha de realización:** 03-06/07/2011
Entidad organizadora: Universidad de Murcia
Autores: M. Isabel Fernández García; M^a Angeles Vázquez; M. Jesús Rodríguez-Doutón; Gustavo González-Riopedre; Marcelino Maneiro Maneiro.

Contribución 3

Título: Generación fotoinducida de O₂ a partir de agua coordinada a manganeso en complejos dímeros con ligandos bases de Schiff.
Nombre del congreso: VII Reunión Científica de Bioinorgánica
Tipo de participación: Póster **Publicado en:** "Libro de Abstracts, CP-16".
Ciudad de realización: Águilas **Fecha de realización:** 03-06/07/2011
Entidad organizadora: Universidad de Murcia
Autores: Marcelino Maneiro; M. Isabel Fernández-García; Gustavo González-Riopedre; M^a Angeles Vázquez-Fernández; Manuel R. Bermejo.

Contribución 4

Título: Peroxidase activity of Manganese(III) complexes with Schiff bases and rigid bidentate ligand
Nombre del congreso: 11th European Biological Inorganic Chemistry Conference
Tipo de participación: Póster **Publicado en:** "Book of abstracts, P-60".
Ciudad de realización: Granada **Fecha de realización:** 12-16/09/2012
Entidad organizadora: Universidad de Granada
Autores: M. Isabel Fernández-García; Ángeles Vázquez-Fernández; Gustavo González-Riopedre; Marcelino Maneiro; M. J. Rodríguez-Doutón; Beatriz Fernández-Fernández.

Contribución 5

Título: Self-assembled Mn(III)-salen type complexes as catalysts for degradation of lignin analogues

Nombre del congreso: 11th European Biological Inorganic Chemistry Conference

Tipo de participación: Póster **Publicado en:** "Book of abstracts, P-125".

Ciudad de realización: Granada **Fecha de realización:** 12-16/09/2012

Entidad organizadora: Universidad de Granada

Autores: Marcelino Maneiro; M. Isabel Fernández-García; Esther Gómez-Fórneas; Ana González-Noya; Gustavo González-Riopedre.

Contribución 6

Título: Alkali metal ion directed self-assembled Mn(III) supramolecular boxes

Nombre del congreso: 15ª Reunión Científica Plenaria de Química Inorgánica

Tipo de participación: Póster **Publicado en:** Libro de resúmenes, PSII-78.

Ciudad de realización: Girona, **Fecha de realización:** 1-4/07/2012

Entidad organizadora: Universitat de Girona

Autores: Gustavo González-Riopedre; M. Isabel Fernández-García; Esther Gómez-Fórneas; Marcelino Maneiro; Ángeles Vázquez-Fernández

Contribución 7

Título: Cajas supramoleculares de Mn(III) como catalizadores biomiméticos de la catalasa

Nombre del congreso: VIII Reunión Científica de Bioinorgánica

Tipo de participación: Póster **Publicado en:** "Libro de Abstracts".

Ciudad de realización: Burgos **Fecha de realización:** 07-10/07/2013

Entidad organizadora: Universidad de Burgos

Autores: Gustavo González-Riopedre, M. Isabel Fernández-García, Esther Gómez-Fórneas, Ángeles Vázquez-Fernández, Marcelino Maneiro

Contribución 8

Título: Actividad peroxidasa de agregados polímeros de complejos de Manganeso(III) y Dicianamida

Nombre del congreso: VIII Reunión Científica de Bioinorgánica

Tipo de participación: Póster **Publicado en:** "Libro de Abstracts".

Ciudad de realización: Burgos **Fecha de realización:** 07-10/07/2013

Entidad organizadora: Universidad de Burgos

Autores: M. Isabel. Fernández-García, Gustavo González-Riopedre, M. Angeles Vázquez, Marcelino. Maneiro, M. Jesús Rodríguez-Doutón