



UNIVERSIDAD MICHOCANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO
BIOLÓGICAS

**“Reactividad de Derivados de Metalaxil frente
Zinc(II) y Cobre(II)”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICAS

Presenta

Ing. Héctor Eliseo Villicaña Meza

Directores

D.Q. Mario Armando Gómez Hurtado

D.Q. Gabriela Rodríguez García

Comité Tutorial

D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres

D.C. Alfonso Luna Cruz

D.C. Héctor Manuel Arreaga González

Morelia, Michoacán

Mayo de 2022

ÍNDICE

	pág
Abreviaturas.....	3
Agradecimientos.....	6
Resumen	7
Abstract	9
Introducción.....	11
Antecedentes.....	13
Justificación.....	28
Hipótesis.....	29
Objetivos.....	30
Resultados y discusión.....	31
Conclusiones.....	44
Parte experimental.....	45
Bibliografía.....	51

Abreviaturas y símbolos

°	Grados
°C	Grados Celsius
Å	Angstrom
A. E.	Análisis Elemental
AcOEt	Acetato de Etilo
AINE	Antiinflamatorio no esteroideo
atm	Atmósfera
CCF	Cromatografía en capa fina
cm	Centímetro
d	Señal doble
da	Señal doble ancha
dd	Señal doble de dobles
dda	Señal doble de dobles ancha
dt	Señal doble de triples
eq.	Equivalentes
g	Gramos
h	Horas
H1N1	Influenza virus A tipo H1N1 (gripe porcina)
Hz	Hertz
<i>i</i> -PrOH	Isopropanol
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
Km	kilómetro
MHz	Megahertz
δ	Desplazamiento químico
Δ	Diferencia
μm	Micrómetro
L	Ligando
M	Metal
m	Señal múltiple

mg	Miligramo
mL	Mililitro
min	Minutos
mmol	Milimol
N°	Número
nm	Nanómetro
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMN de ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono-13
RMN de ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Protón
sa	Señal simple ancha
t	Señal triple
T. A.	Temperatura ambiente
ta	Señal triple ancha
td	Señal triple de dobles
TMS	Tetrametilsilano
v	Frecuencia de tensión
v _{as}	Frecuencia de tensión asimétrica
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana
v _s	Frecuencia de tensión simétrica

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Química de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo bajo la asesoría del D.Q. Mario Armando Gómez Hurtado y la D.Q. Gabriela Rodríguez García.

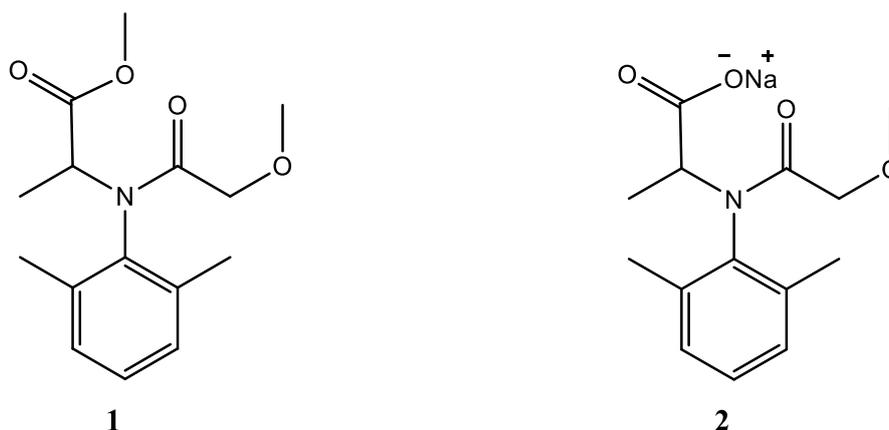
Agradecimientos

A todas las personas que me apoyaron e hicieron posible que este trabajo se haya realizado con éxito y a toda mi familia y amigos por acompañarme en este proceso.

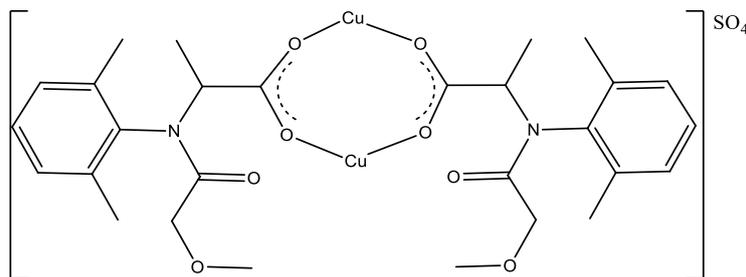
Me gustaría expresar mi gran agradecimiento al D.Q. Mario Armando Gómez Hurtado y la D.Q. Gabriela Rodríguez García por sus valiosas y constructivas sugerencias durante la planificación y desarrollo de este trabajo de investigación. Su disposición a dar su tiempo tan generosamente, ha sido muy apreciada.

Resumen

El presente trabajo describe la reactividad de derivados de Metalaxil frente a sales de Zinc(II) y Cobre(II), para la generación de complejos de coordinación, mediante condiciones suaves de reacción, la cuales se llevaron a cabo mediante el aislamiento del ligante (**1**) de un producto comercial, y por medio de una hidrólisis alcalina se obtuvo su carboxilato sódico de Metalaxil (**2**), ambos compuestos se identificaron por RMN de ^1H y de ^{13}C .



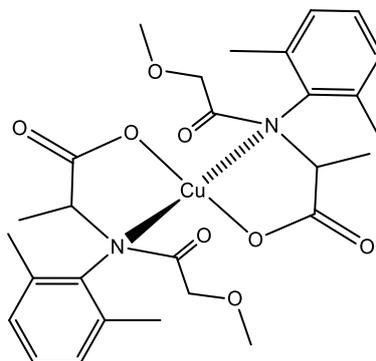
Una vez aislada, la sal sódica de Metalaxil (**2**), se hizo reaccionar con $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, para la formación del complejo **3**, bajo condiciones alcalinas, el cual fue caracterizado por espectroscopia de infrarrojo, proponiéndose la formación de un complejo iónico constituido por dos moléculas de carboxilato de Metalaxil coordinados de manera bidentada puente a dos átomos de cobre(II).



3

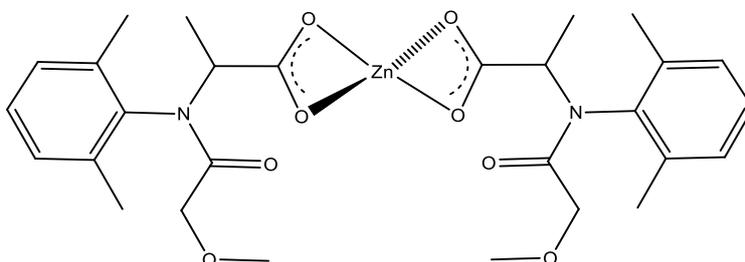
Cambiando las condiciones de reacción a ácidas, se obtuvo el complejo **4**, según lo mostrado en IR, se propone que la naturaleza del complejo es neutra y está formado por dos moléculas de carboxilato de Metalaxil coordinadas de manera bidentada a través del

átomo de nitrógeno y uno de los oxígenos del grupo carboxilato, formando quelatos de cinco miembros.



4

Adicionalmente se obtuvo al complejo de Zn(II) (5), bajo condiciones ácidas, proponiéndose la formación de un complejo neutro constituido por dos moléculas de carboxilato de Metalaxil coordinado de manera bidentada a través de los átomos de oxígeno del grupo carboxilato, según lo mostrado en la espectroscopía de infrarrojo.

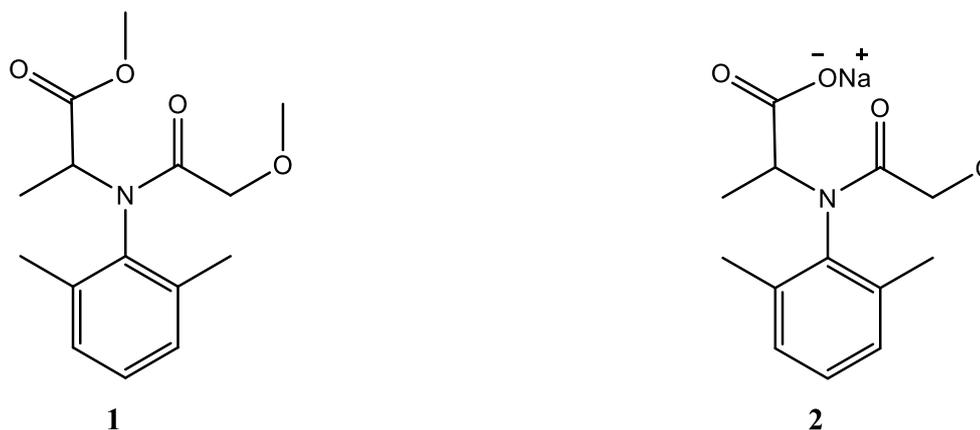


5

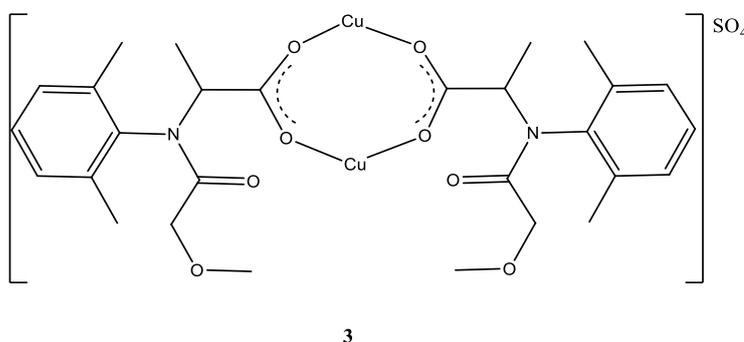
Palabras clave: carboxilato, cobre, complejos, fenilamina, fungicida.

Abstract

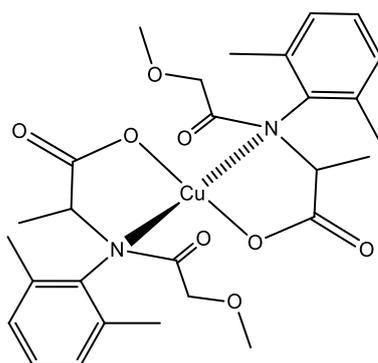
The present work describes the reactivity of Metalaxyl derivatives against Zinc(II) and Copper(II) salts, for the generation of coordination complexes, through mild reaction conditions, which were carried out by isolating the ligand (1) of a commercial product, and by means of an alkaline hydrolysis its Metalaxyl sodium carboxylate (2) was obtained, both compounds were identified by ^1H and ^{13}C NMR.



Once isolated, the sodium salt of Metalaxyl (2), was reacted with $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, for the formation of complex 3, under alkaline conditions, which was characterized by infrared spectroscopy, proposing the formation of an ionic complex constituted by two Metalaxyl carboxylate molecules coordinated in a bidentate manner bridging two copper(II) atoms.

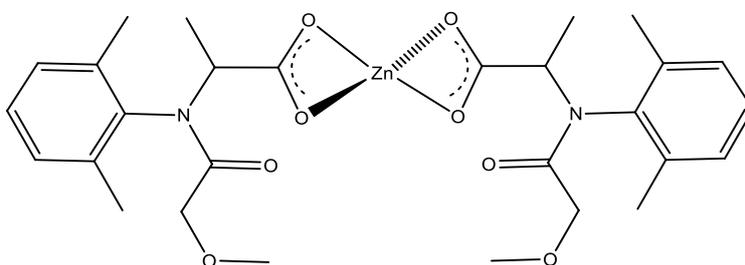


Changing the reaction conditions to acid, complex 4 was obtained, as shown in IR, it is proposed that the nature of the complex is neutral and is formed by two molecules of Metalaxyl carboxylate coordinated in a bidentate manner through the nitrogen atom and one of the oxygens of the carboxylate group, forming five-membered chelates.



4

Additionally, the Zn(II) complex (5) was obtained under acidic conditions, proposing the formation of a neutral complex consisting of two molecules of Metalaxyl carboxylate coordinated in a bidentate manner through the oxygen atoms of the carboxylate group, as shown in infrared spectroscopy.



5

Introducción

Muchos elementos metálicos juegan un papel crucial en los seres vivos. Una característica de los metales es que fácilmente pueden perder electrones de su estado elemental para formar iones cargados positivamente tendiendo a ser afines a sistemas biológicos. Los iones metálicos son deficientes en electrones, la mayoría de moléculas como las proteínas y el ADN, son ricas en electrones, la atracción de éstas cargas opuestas conduce a una tendencia general a unirse e interactuar con moléculas biológicas. Dado este amplio margen de interacciones con metales, no es sorprendente como la evolución natural ha incorporado muchos metales en funciones biológicas esenciales. Los metales realizan una amplia variedad de tareas, como transportar oxígeno por todo el cuerpo y trasladar electrones, un ejemplo de ellos es la hemoglobina, molécula vital transportadora de oxígeno a tejidos corporales, por otro lado, el zinc proporciona el marco estructural para la función de los genes en el núcleo de las células. Del mismo modo, es un componente natural de la insulina, una sustancia crucial para la regulación del azúcar en el metabolismo. Metales como el cobre, zinc, hierro y manganeso se incorpora a las proteínas catalíticas (metaloenzimas), facilitando una multitud de reacciones químicas necesarias para la vida (Orving, 1999). Por ende, el estudio del comportamiento de los metales resulta de interés para la comunidad científica, lo cual se estudia en la Química de Coordinación.

Un complejo de coordinación es una entidad química constituida por un metal de transición, ya sea un átomo neutro o un ion, unido covalentemente a uno o más ligandos. En un complejo de coordinación, el metal de transición actúa como ácido de Lewis y los ligandos como bases de Lewis. El número de átomos donadores de electrones con los cuales un metal puede formar enlaces se le conoce como número de coordinación, los más comunes son 6 y 4. El número de coordinación, está en función de la naturaleza del ión, tamaño, carga de los ligandos y la configuración electrónica del ión metálico (Paul *et al.*, 2009). Los ligandos enlazados constituyen la esfera de coordinación del complejo (Ouellette, 2018).

Los complejos de coordinación presentan una variedad de aplicaciones en beneficio de la humanidad, un ejemplo de esto son las moléculas miméticas a enzimas. En este caso la química de coordinación juega un papel importante, permitiendo comprender el papel que tienen los cationes metálicos en importantes procesos

biológicos, a través del estudio de moléculas análogas a los sitios activos de las enzimas, ya que se sabe que los metales del bloque *d* con una valencia de II son el sitio activo de muchas enzimas de importancia biológica (Krstic, 2015). Algunas de estas enzimas son la anhidrasa carbónica y el alcohol deshidrogenasa; la primera de ellas permite la interconversión del dióxido de carbono y agua en bicarbonato, manteniendo el equilibrio ácido-base en la sangre y otros tejidos; mientras que la enzima alcohol deshidrogenasa permite la interconversión de alcoholes o cetonas, eliminando moléculas de alcohol tóxicas para la célula (Parkin, 2000).

El desarrollo de agentes anticancerosos basados en metales se inició con el complejo de coordinación *cis*-diclorodiaminoplatino(II), clínicamente conocido como cisplatino. Su actividad citostática fue descubierta, como hecho fortuito, por el biofísico Barnett Rosenberg a finales de los sesentas (López *et al.*, 2013), posterior a esto aumento el interés en la síntesis de moléculas con centros metálicos, en los que se destaca el Rutenio(II), Zinc(II), Platino(II), Paladio(II), Cobre(II) y Níquel(II), obteniendo moléculas con propiedades catalíticas, biológicas y luminiscentes.

En este trabajo se estudió la reactividad del Metalaxil (**1**), el cual es una molécula utilizada en el área agrícola, con propiedad antifúngica, la cual se hizo reaccionar frente a sales de Cobre(II) y Zinc(II) para obtener compuestos novedosos con posible actividad biológica y/o catalítica.

Antecedentes

Los iones metálicos desempeñan funciones críticas en los seres humanos. La deficiencia de algunos iones metálicos puede provocar enfermedades como anemia resultante de la deficiencia de hierro, retraso del crecimiento derivado de la insuficiencia del zinc en la dieta y enfermedades cardíacas en los lactantes debido a deficiencia de cobre. La capacidad de comprender a nivel molecular y tratar enfermedades causadas por una función inadecuada de iones metálicos constituye un aspecto importante de la medicina bioinorgánica. Los iones metálicos son necesarios en medicina para su función como productos farmacéuticos y como agentes de diagnóstico. Los metales tienen la característica de tener actividad redox, modos de coordinación variable y reactividad hacia sistemas orgánicos. Debido a esto, los metales están asociados con diversos trastornos patológicos, que incluyen cáncer. Por estas razones, los complejos de coordinación, ya sea como drogas o profármacos, se convierten en agentes importantes en el área médica. En la naturaleza, muchos sistemas biológicos hacen un uso extensivo de iones metálicos, como el zinc y el cobre, que desempeñan un papel fundamental en el funcionamiento normal de los organismos (Ravinderpal, 2019).

En ciertos procesos bioquímicos numerosas moléculas esenciales para la vida, forman interacciones con ciertos metales como el hierro y el magnesio, algunas proteínas, al interactuar con algunos iones metálicos pueden modificar su estructura secundaria, terciaria y/o cuaternaria ocupando posiciones específicas en metaloenzimas, los cationes metálicos esenciales establecen enlaces e interacciones con biomoléculas (fundamentalmente con las proteínas y los ácidos nucleicos) siendo con frecuencia los responsables del mantenimiento de su estructura tridimensional y de su función biológica (Baran, 1995).

Se ha descrito extensa literatura en donde se involucran ligandos específicos para la obtención de complejos coordinados, principalmente con actividad antimicrobiana (Kamalakaran, 2002), lo que inspira a los químicos sintéticos a buscar nuevos complejos de metales para compuestos bioactivos. Probablemente el catión más ampliamente estudiado a este respecto es el Cu^{2+} , por las propiedades antifúngicas y microbianas que posee, (Raman, 2006). Los complejos de Cobre(II) han sido ampliamente estudiados como fármacos antiinflamatorios, demostrando que la actividad de este tipo de compuestos es superior a la de los ligandos libres cuando éstos los presentan, o no

presentan la actividad cuando el ligando no la posee. Esto es especialmente interesante ya que parece posible que la actividad antiinflamatoria de ciertas sustancias orgánicas tenga su origen en la formación de los complejos de Cobre (Sorenson, 1984).

El cobre, es un elemento esencial necesario como cofactor y/o componente estructural de numerosas metaloenzimas, se encuentra en una posición única para el estudio de problemas asociados con la evaluación de riesgos para la salud de los metales esenciales y su regulación; ya que una ingesta demasiado pequeña o excesiva puede producir consecuencias adversas para la salud (Stern, 2010).

El papel fundamental del cobre y el reconocimiento de sus complejos como compuestos bioactivos importantes *in vitro* e *in vivo*, despierta un interés cada vez mayor en estos agentes como posibles fármacos para la intervención terapéutica en diversas enfermedades, se encuentra un vasto conjunto de información disponible por sus propiedades bioinorgánicas y modo de acción en varios sistemas biológicos, combinado con las nuevas oportunidades que ofrecen las tecnologías florecientes de la química medicinal creando un escenario emocionante para desarrollo de una nueva generación de fármacos altamente activos con efectos secundarios minimizados que podrían aumentar significativamente la corriente investigación clínica y práctica. El interés actual en los complejos de Cu proviene de su uso potencial como antimicrobiano y anti-fúngico en el área agrícola, antiviral, antiinflamatorio, agentes antitumorales, inhibidores enzimáticos o nucleasas químicas y de manera notable, la acción bioquímica de los complejos de Cu con medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) han sido estudiado, numerosos complejos de Cu(II) de AINE's que muestran actividad antiinflamatoria y antiulcerogénica mejorada, así como la reducción de la toxicidad gastrointestinal en comparación con el drogas no complejas. Por otro lado, el estudio y el desarrollo de complejos de Cu podrían ser útiles en el diseño y producción de materiales antivirales capaces para desactivar los virus VIH o H1N1. El mecanismo antiviral se entiende en parte, con lo que se ha especulado que se lleva a cabo la degradación del ácido nucleico viral después de la intervención de iones de cobre (Iakovidis *et al.*, 2011).

En la tabla periódica de los elementos, el cobre se incluye en el grupo 11, junto con plata y oro. El cobre, como elemento de transición, presenta un rango de oxidación con estados de 0, +1, +2, +3 y +4, siendo los más frecuentes +1, +2, +3. En la química inorgánica y de coordinación, el Cu(II) es el más abundante, y se considera el más estable, aunque se conocen numerosos ejemplos de complejos de coordinación de Cu(I), su

química es bastante limitada, ya que se oxidan fácilmente a especies de Cu(II) (Krause, 2002).

Los números de coordinación y de los complejos de cobre varían con el estado de oxidación. Así, la mayoría de los complejos Cu(III) (d^8) caracterizados tienen geometría cuadrada y son diamagnéticos. Para especies de Cu(I)(d^{10}) y Cu(II)(d^9), las geometrías más comunes son lineares, y tetraédrica para números de coordinación de 2 y 4 respectivamente. La estabilidad de los complejos es afectada dependiendo del estado de oxidación del metal que lo forma, por ejemplo, el ion Cu(II) es más pequeño y más duro que el ión Cu(I), interactuando fuertemente con las moléculas de agua, el resultado es la mayor estabilidad del Cu(II) en soluciones acuosas, con respecto al ion de Cu(I). Las especies de Cu(II) se clasifican como un ácido duro así, su química de coordinación está dominado por ligandos donantes de nitrógeno y oxígeno, seguido de especies que contienen cloruro y azufre.

Los complejos de cobre en síntesis orgánica, cumplen de una manera útil y exitosa como catalizadores, para efectuar la formación de enlaces C-C y C-Heteroátomo. Entre los cientos de reacciones catalizadas o mediadas por cobre, se pueden destacar el organocuprato nucleofílico para la formación de enlaces C-C y reacciones de acoplamiento cruzado C-Heteroátomo (reacciones de condensación de Ullmann y procesos de intercambio de haluro). Los complejos de cobre(II) pueden ser de tipo 1 con el característico color azul intenso (Figura 1a). Presentan una banda de absorción muy intensa a 600 nm y con un coeficiente de absorción molar elevado, y son paramagnéticos. Los complejos de cobre(II) tipo 2 (Figura 1b), son también paramagnéticos, pero poseen un espectro electrónico típico, mientras que los complejos de cobre(II) tipo 3 resultan diamagnéticos ya que están constituidos por un par de iones cobre(II) sometidos a un fuerte acoplamiento antiferromagnético. Presentan una banda de absorción muy intensa a 330 nm pero no pueden ser detectados por RMN (Baran, 1995).

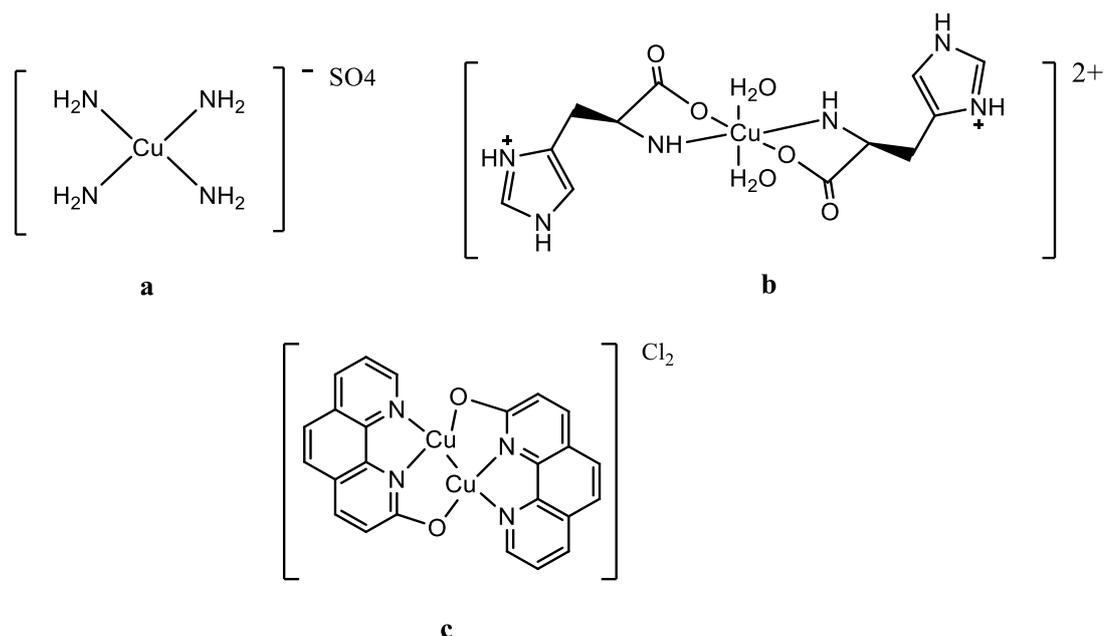


Figura1. (a) Complejo de Sulfato de tetraamín cobre(II), (b) Complejo de Cobre(II) derivado de la *L*-Histidina, (c) Complejo [Cu₂(ophen)₂]Cl₂

Otro metal de transición indispensable para el funcionamiento del cuerpo humano es el zinc es un elemento químico clasificado como metal de transición; su nombre proviene del alemán zink, que significa “diente o pico”. Se trata de un sólido color blanco azulado, dúctil y maleable a temperaturas mayores a 212 °C (Greenwood *et al.*, 2012). La importancia del zinc para la salud humana se ha reconocido desde algunos años atrás y es cada vez más evidente que la deficiencia de zinc es prevalente, acompañando una ingesta inadecuada de proteínas, como se observa en los casos de desnutrición proteicoalórica en poblaciones que subsisten con bajos ingresos y en casos geriátricos (Prasad, 1988).

El Zn al igual que el Mn, Fe, Co, Cu y Mo, son algunos de los metales de la primera y segunda serie, como lo son el Na, K, Mg y Ca, son esenciales para la fisiología humana. En el cuerpo humano, el zinc, después del hierro, es el segundo oligoelemento más abundante. Aproximadamente 3 g de zinc, localizados principalmente en testículos, músculos, hígado y cerebro, están presentes en un adulto promedio proporcionados por una ingesta diaria de 8-11 mg. La concentración fisiológica del zinc, es crucial para aumentar la supervivencia y protección de los tejidos contra daños. La concentración de zinc (aproximadamente 0,6 mM) está regulada por una homeostasis específica y, de manera similar a los otros microelementos, una deficiencia o una sobrecarga pueden dar lugar a efectos tóxicos para el organismo. La deficiencia de zinc puede deprimir la función inmunológica, ya que el Zn juega un papel crucial en el sistema inmunológico a través de

la proliferación celular y la síntesis de ARN y ADN, además de ser necesario para el desarrollo de linfocitos T. De igual forma, puede determinar otros efectos, incluido el retraso del crecimiento, impotencia e hipogonadismo. Además de su función fisiológica, el zinc puede tener efectos terapéuticos y preventivos beneficiosos sobre enfermedades infecciosas y, en comparación con otros medicamentos a base de metales, los complejos de Zn(II) generalmente ejercen menor toxicidad y menos efectos secundarios. Un ejemplo es el medicamento piritiona de Zinc, descrita por primera vez en 1930 y utilizada como antimicrobiano tópico para tratar hongos o bacterias de infecciones de piel y cabello (Jain, 2017).

En investigaciones a lo largo del tiempo, diferentes clases de complejos de coordinación de zinc han mostrado una variedad de aplicaciones, entre las que se encuentran, agentes radioprotectores, fotosensibilizadores, antidiabético, anticonvulsivo, antiinflamatorio, antimicrobiano, antioxidantes, antitumoral, contra la enfermedad de Alzheimer, en el área agrícola, entre otros.

En sistemas biológicos el zinc presenta como único estado de oxidación el Zn^{2+} , y puede garantizar una alta flexibilidad de geometría de coordinación determinada principalmente por la carga y el impedimento estérico de los ligandos. Puede estar coordinado de una forma tetra, penta o hexacoordinada hacia átomos donantes de N, O, S y halógenos, por ejemplo, donde intervienen ligantes de histidina, glutamato, aspartato y cisteína. En proteínas, la geometría más frecuente es la tetraédrica, y puede llegar a formar estructuras tipo clústers, que comprenden de dos a cuatro iones metálicos (Porchia, 2020), teniendo la particularidad de ser diamagnéticos e incoloros (Greenwood, 2012).

Recientemente, los compuestos de coordinación, especialmente aquellos contruidos a partir de ácidos carboxílicos han ganado mucha atención en la investigación científica. Estos híbridos inorgánicos-orgánicos manifiestan interesantes patrones estructurales, y propiedades valiosas, con potenciales aplicaciones en varios campos como química de materiales, magnetoquímica, química supramolecular y farmacología (Batoool, 2017). La presencia de ligandos donantes de nitrógeno como enlazadores neutros en la construcción de complejos de coordinación puede alterar el modo de coordinación de los grupos carboxilato hacia el centro metálico, por lo que se pueden obtener arquitecturas topológicas atractivas. Esto ha llevado al descubrimiento exitoso de polímeros de coordinación (híbridos materiales inorgánicos-orgánicos) como materiales prometedores que tienen diversas aplicaciones tales como la administración de fármacos,

propiedades redox, etc. Los aniones de diferentes ligandos aromáticos que tienen grupos carboxilato, incluidos los AINE's se han utilizado para construir complejos de coordinación, entre ellas se destaca las estructuras tipo puente en las cuales se pueden encontrar dos centros metálicos, lo que conduce a un marco diverso de estructuras.

Ejemplo de ello es la Aspirina o ácido acetilsalicílico, conocido como agente antipirético, analgésico y antiinflamatorio. Se ha informado que el complejo aspirinato de Cobre(II) presenta interesantes propiedades como anticancerogénico, antimutagénico, bactericida, anticonvulsivante y como potente agente antioxidante en sistemas biológicos. Demostrando que es un mejor antioxidante que el salicilato de Cu(II) y el acetato de Cu(II) (Figura 2) (Seguel, 2013).

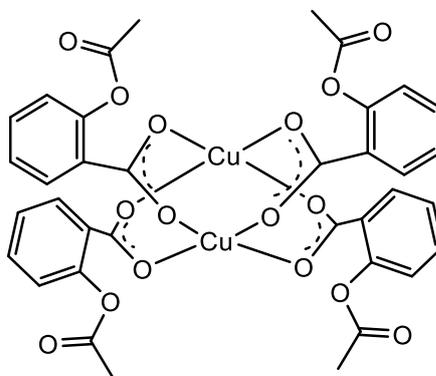


Figura 2. Estructura de aspirinato de Cobre(II).

Los carboxilatos exhiben diferentes modos de coordinación. Por lo general cuando se coordinan de manera monodentada al átomo de Zn(II), forman complejos con geometría tetraédrica (Figura 3) (Braga *et al.*, 2008) (Rundstadler, 2018).

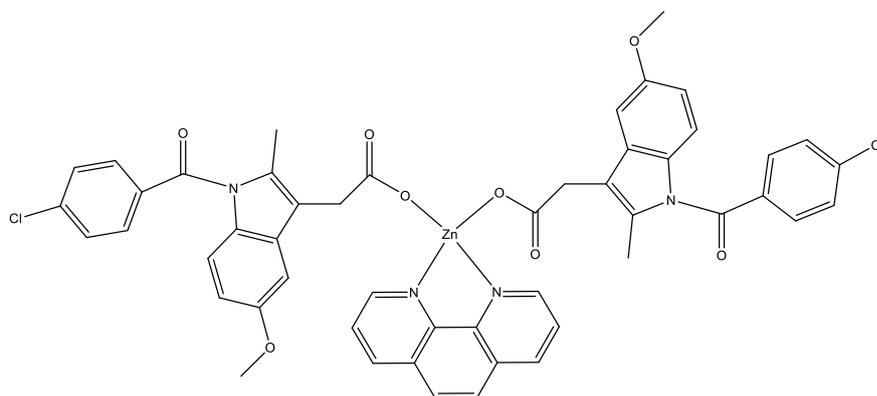


Figura 3. Complejos de zinc con carboxilatos monodentados con el ligante Indometacina.

Cuando el grupo carboxilato se comporta como ligante bidentado frente al zinc, forma anillos quelato de cuatro miembros, que le confieren mayor estabilidad a los complejos, los cuales adoptan principalmente una geometría tetraédrica (Figura 4) (Mitic *et al.*, 2008) (Raymoni, 2018).

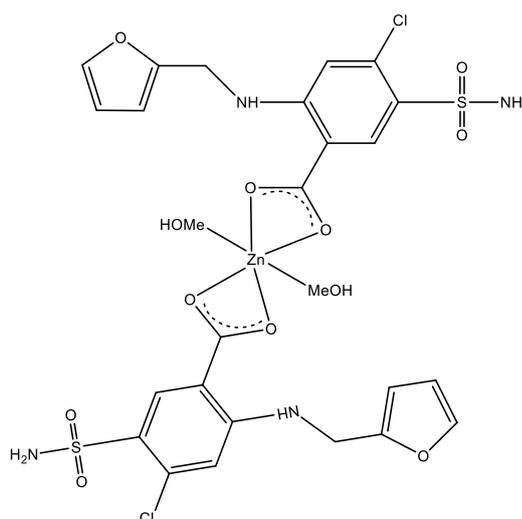


Figura 4. Complejos de zinc bidentado quelato con ligando Furosemida.

En complejos de zinc con ligandos carboxilato puente, predomina la geometría tetraédrica (Bury *et al.*, 2012). Debido a esta versatilidad, se han descrito carboxilatos coordinados de distinta manera en el mismo complejo; incrementando las posibilidades de coordinación del ligando en un solo compuesto (Krajníková *et al.*, 2010), pudiendo obtenerse clústers, algunos de ellos recientemente reportados como precursores para favorecer las propiedades ópticas en puntos cuánticos (QD) de fosfuro de indio mediante el control de la reactividad de los carboxilatos de zinc (Kangyong, 2020) (Figura 5).

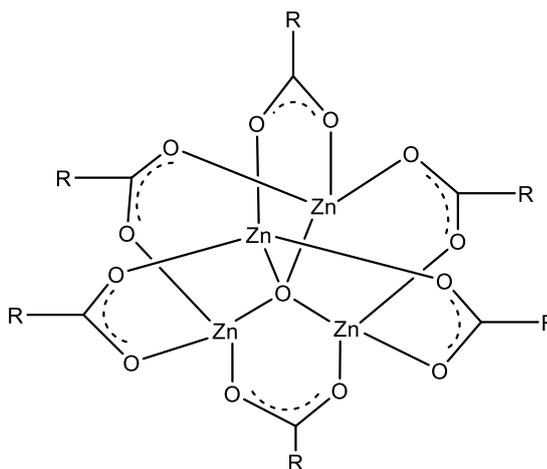
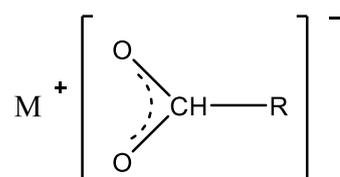


Figura 5. Complejos de zinc con carboxilatos puente.

Como se describió anteriormente, el grupo carboxilato puede coordinarse de diferentes maneras: (a) una forma iónica o no coordinada, (b) mediante coordinación monodentada, (c) mediante coordinación de quelación bidentada, y (d) a través de la coordinación de puentes bidentados (Figura6) (Papageorgiou, 2010).

a) Forma iónica o no coordinada

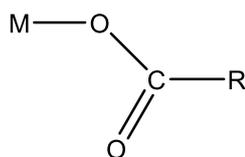
Tienen poca interacción catión-anión, ya que sólo hay fuerzas de atracción de coulomb, en los carboxilatos iónicos los electrones se encuentran deslocalizados, por lo que tienen la misma longitud de enlace C-O.



(a)

b) Coordinación monodentada

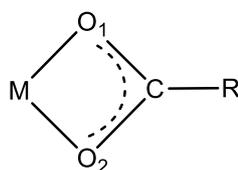
Un ejemplo de esta coordinación se observa en el acetato de litio [Li (OOCCH₃) 2H₂O], en donde el carboxilato se coordina en forma monodentada, dando resultado, una distancia mayor de enlace C-O, unido directamente al litio (1.33 Å) mientras que la distancia C= O es de (1.22 Å).



(b)

c) Coordinación quelato bidentada

En este modo de coordinación, el ion carboxilato actúa como un ligando bidentado al coordinarse al centro metálico a través de los átomos de O formando un anillo de cuatro miembros. Esta coordinación puede ser bidentada simétrica, con la misma longitud de enlace C-O, o bidentada asimétrica, que tienen diferentes longitudes de enlace C-O. Un ejemplo de tales complejos es $[\text{Zn}(\text{OOCCH}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$, con distancia de O-Zn de 1,97 Å en su forma simétrica, y en su forma asimétrica variará dependiendo de los ligandos que intervengan, por ejemplo, el complejo de Furosemida (Figura 6) en presencia de ligandos nitrogenados la distancia de O₁-Zn y O₂-Zn es de 2,33 Å y 2,15 Å, respectivamente (Raymoni, 2018).



(c)

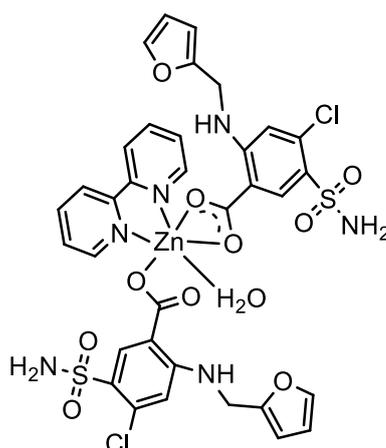
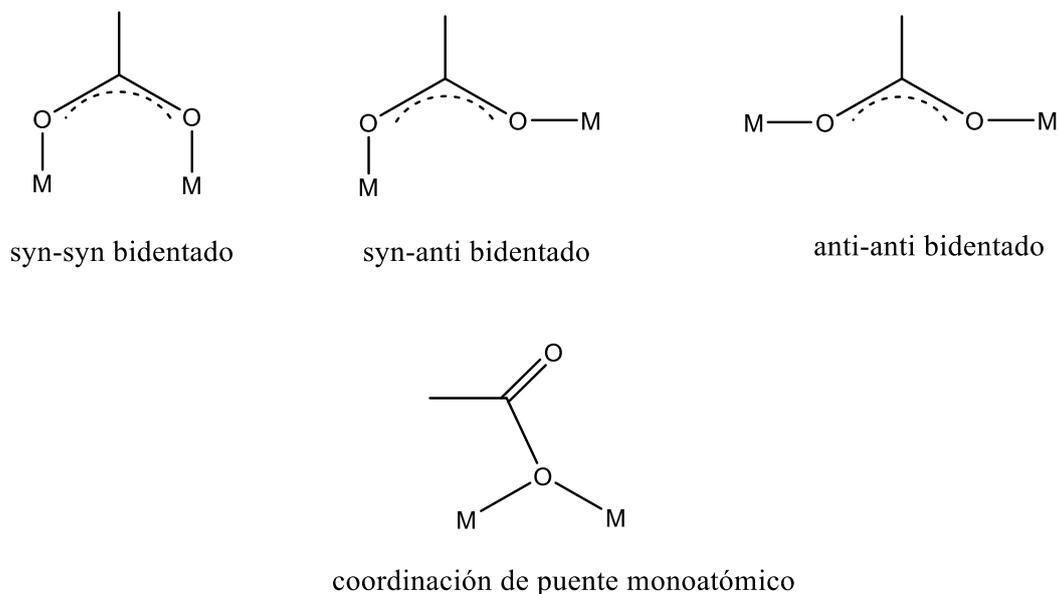


Figura 6. Complejo de Zinc con Furosemida.

d) Coordinación bidentada puente

Los modos de puenteo se pueden clasificar en cuatro tipos básicos (Figura 7), dependiendo de qué pares de electrones libres del oxígeno del carboxilato se utilizan para coordinarse con el metal central. Estos incluyen puentes de terminal *syn-syn*, *syn-anti*, *anti-anti* y monodentado o modos de coordinación de puente monoatómico (Durot, 2002).



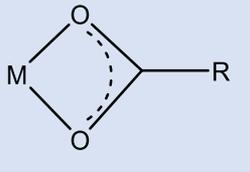
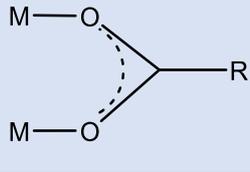
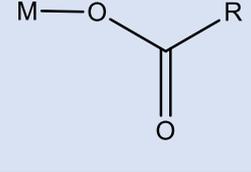
(d)

Figura 7. Modos de coordinación del grupo carboxilato en configuración bidentado puente.

Para definir la forma de enlace coordinado del grupo carboxilato con el centro metálico, las técnicas cristalográficas son comúnmente utilizadas. Otra técnica que también es usada frecuentemente ya que no requiere de monocristales es la espectroscopia de infrarrojo, ya que permite proponer e identificar el modo de coordinación con base en la diferencia de desplazamiento entre las bandas de estiramiento asimétrico y simétrico características del grupo carboxilato $\Delta = [\nu_{as}(\text{COO}^-) - \nu_s(\text{COO}^-)]$, en el cual, los complejos con carboxilatos monodentados presentan valores de Δ mucho mayores que los carboxilatos libres (valor iónico), los complejos quelato muestran un Δ significativamente menor que los valores iónicos, y en complejos con carboxilatos puente la diferencia es ligeramente menor o igual al valor iónico (Deacon, 1980), también se ha reportado una correlación entre los espectros de infrarrojo de los carboxilatos de zinc y sus estructuras, concluyendo que valores de $\Delta > 180 \text{ cm}^{-1}$ sugieren una coordinación

monodentada, una $\Delta=170\pm 10\text{ cm}^{-1}$ corresponden a una coordinación bidentada puente, y valores de $\Delta < 120\text{ cm}^{-1}$ normalmente indican grupos carboxilatos bidentados quelato (Tabla 1) (Zeleňák, 2006).

Tabla 1. Modos de coordinación del grupo carboxilato según la diferencia de $\nu(\text{COO}^-)$

			Referencia
Bidentado quelato $\Delta_{\text{complejo}} \ll \Delta_{\text{iónico}}$ $\Delta_{\text{complejo}} < 120\text{ cm}^{-1}$	Bidentado puente $\Delta_{\text{complejo}} = \Delta_{\text{iónico}}$ $\Delta_{\text{complejo}} = 170\pm 10\text{ cm}^{-1}$	Monodentado $\Delta_{\text{complejo}} \gg \Delta_{\text{iónico}}$ $\Delta_{\text{complejo}} > 180\text{ cm}^{-1}$	Deacon y Phillips, 1988 Zelen'ak <i>et al.</i> , 2006

En nuestro grupo de trabajo se ha explorado de manera exitosa la reactividad de ligantes que dentro de su estructura química contienen un grupo ácido carboxílico, con lo que se han generado complejos de coordinación novedosos y de potencial aplicación química y farmacológica. Entre ellos se encuentran complejos de zinc empleando diterpenos naturales (Figura 8a) (Gómez-Hurtado, 2017), así como AINE's (Figura 8b) (Rodríguez, 2017) como ligantes.

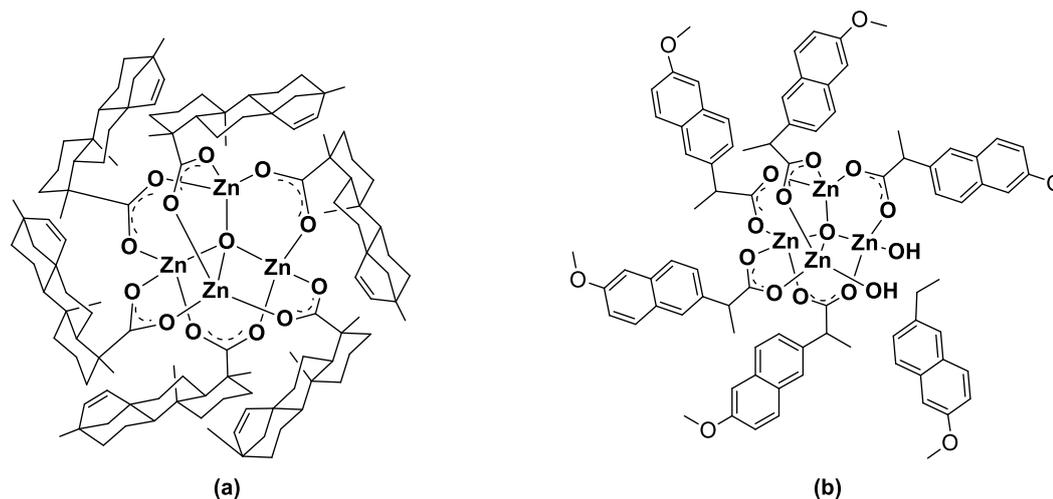


Figura 8. a) Complejo de Zn(II) con ligantes diterpénicos y b) complejo de Zn(II) con moléculas de ibuprofeno como ligantes.

En el área agrícola la utilización de sustancias para el control de ciertos patógenos abre un extenso panorama para la química de coordinación mejorando y encontrando nuevas propiedades que ayuden en el control de plagas y patógenos. El objetivo del presente trabajo fue la obtención de los complejos 3-5 a partir del fungicida Metalaxil y los metales Cu y Zn. Un fungicida se define como una sustancia tóxica empleada para impedir la proliferación de hongos perjudiciales para las plantas o animales, su aplicación es diversa, ya sea pulverizado, rociado, revestimiento, etc. (Barioglio, 2006). Desde los orígenes de la agricultura, se observaron enfermedades en los cultivos, en los cuales, por ejemplo, el exceso de humedad en el medio propicia el crecimiento de patógenos causantes de pérdidas y disminución de producción, un ejemplo de ello fue la hambruna ocasionada en Irlanda en 1840, por la enfermedad de la papa o tizón tardío (Figura 9). Por esta razón las aplicaciones de fungidas en los suelos de cultivo es una práctica recurrente hasta nuestros días (Zwankhuizen, 1998).



Figura 9. Daño ocasionado por tizón tardío (*Phytophthora infestans*) en papa.

En los últimos años, ha aumentado el interés ecológico y científico de los efectos de los plaguicidas sobre los organismos benéficos del suelo y el funcionamiento biológico del mismo, los efectos de plaguicidas en organismos del suelo (poblaciones microbianas, biomasa microbiana, hongos micorrízicos, patógenos de raíces y fauna del suelo) y funciones biológicas del suelo, es decir, enzimas, nitrógeno-transformaciones (fijación de nitrógeno, mineralización de nitrógeno, desnitrificación). En términos generales, los plaguicidas tienen efectos variables sobre la biología del suelo, generalmente los herbicidas recaen dentro de la categoría "sin efecto" teniendo menor impacto ecológico que los insecticidas, nematicidas y fungicidas, sin embargo, todos los plaguicidas mencionados (herbicidas incluidos) tienen un efecto negativo en algún componente biológico del suelo. Estos efectos son generalmente transitorios. La recuperación de la función biológica a los niveles previos al tratamiento suele ser cuestión de días, semanas o incluso meses, muchas de las veces las dosis no controladas, o uso desmedido debido a

la resistencia de los patógenos recae indirectamente en la infertilidad de los suelos (Rajbongshi, 2014).

Los patógenos responden al uso de fungicidas desarrollando resistencia, pudiendo identificar varios mecanismos de resistencia. La evolución de la resistencia a los fungicidas puede ser gradual o repentina e involucran dos tipos de resistencia: cualitativa y cuantitativa. La resistencia cuantitativa surge como resultado de la modificación de varios genes y los patógenos muestran un rango variable de sensibilidad continua al fungicida, que depende de la cantidad de cambios genéticos, en este caso, en los controles se ve una pérdida paulatina de eficiencia que al inicio se puede recuperar mediante el uso de dosis más altas o aumentando la frecuencia de aplicaciones, obteniendo al final niveles de estrés en la planta por intoxicación; mientras que la resistencia surge como resultado de la modificación de un solo gen principal. Esto hace que los patógenos sean sensibles o muy resistentes. Entonces en la población resistente, el control de la enfermedad ya no se puede llevar a cabo con el fungicida en cuestión, aun con dosis más altas o mayores frecuencias de aplicación. Estas variedades resistentes también tienden a mostrar estabilidad, persistiendo después de que el fungicida ha sido retirado del mercado. Por ejemplo, la mancha de la hoja de la remolacha azucarera sigue siendo resistente a los azoles años después de que ya no se usaran para el control de la enfermedad (Keith, 2007) (Figura 10). Esto se debe a que tales mutaciones tienen una alta presión de selección cuando se usa el fungicida, pero existe una baja presión de selección para eliminarlas en ausencia del fungicida. En los casos en que la resistencia ocurre de manera más gradual, se puede observar un cambio en la sensibilidad del patógeno al fungicida. Esta resistencia es poligénica: una acumulación de muchas mutaciones en diferentes genes, cada una de las cuales tiene un pequeño efecto aditivo. Este tipo de resistencia se conoce como resistencia cuantitativa o continua. En este tipo de resistencia, la población de patógenos volverá a un estado sensible si ya no se aplica el fungicida (Deising, 2008).

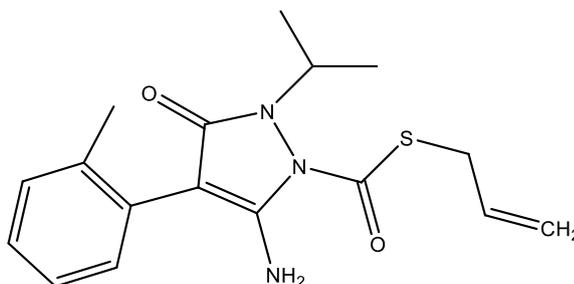


Figura 10. Molécula de fenpirazamina que contiene un grupo azol.

Se sabe poco acerca de cómo las variaciones en el tratamiento con fungicidas afectan la presión de selección para desarrollar resistencia a ese fungicida. La evidencia muestra que las dosis que brindan el mayor control de la enfermedad también proporcionan la mayor presión de selección para adquirir resistencia, y que las dosis más bajas disminuyen la presión de selección (Metcalf, 2000).

En algunos casos, cuando un patógeno desarrolla resistencia a un fungicida, automáticamente obtiene resistencia a otros, un fenómeno conocido como resistencia cruzada. Estos fungicidas adicionales son normalmente de la misma familia química o tienen el mismo modo de acción, o eliminación (Pattnaik, 1996). Ejemplos de esta resistencia se puede observar en estudios realizados en cepas de *Fusarium graminearum*, la cual es relacionada por la frecuencia de aplicación de carbendazim y otros benzimidazoles (Liu, 2019).

Los fungicidas fenilamídicos son una clase de compuestos sistémicos que muestran excelentes propiedades antifúngicas, protectoras, curativas y un control exclusivo de enfermedades causadas por Peronosporales (hongos productores de mildius). El Metalaxil (**1**) fue el primer fungicida del grupo de las fenilamidas, el cual se introdujo al mercado en 1977. Posteriormente, otras fenilamidas se han desarrollado: Ofurace, Benalaxil, Oxadixil, Furalaxil y Mefenoxam (Metalaxil-M), que son inhibidores específicos de polimerasas de ARN ribosómico en los hongos objetivo (Gisi, 1996). Estos fungicidas crearon una gran expectativa por su acción post-infeccional, y actividad sobresaliente bajo condiciones muy favorables para la enfermedad, aunque difieren en su actividad intrínseca, comportamiento sistémico y persistencia de actividad.

El uso extensivo e intensivo de Metalaxil (**1**) como único fungicida en el control de diversos tipos de patógenos fúngicos a lo largo del ciclo de producción y frecuentemente utilizado cuando ya se observaban síntomas de la enfermedad, creó una

presión para la aparición de variantes de *P. infestans* resistentes al Metalaxil (1) a los tres años de su introducción (Dowley, 1981). Los fungicidas basados en estructuras fenilamídicas incluyen las acilalaninas Metalaxil (1), Furalaxil (6) y Benalaxil (7) (Figura 11).

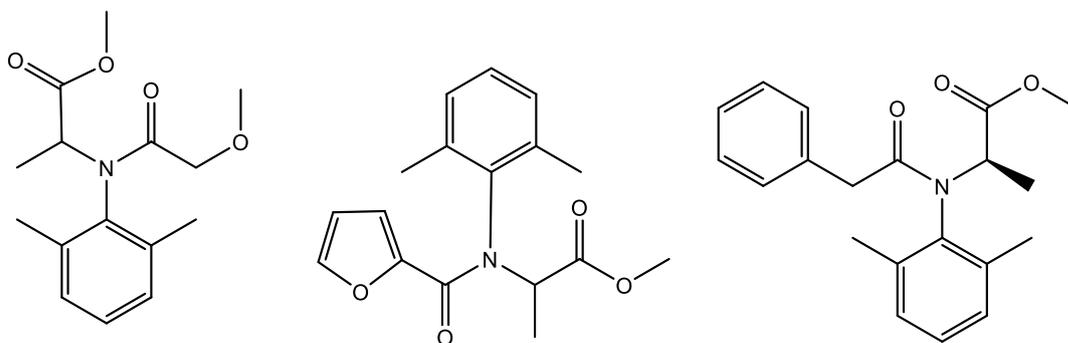


Figura 11. Estructuras de fungicidas basados en Fenilamidas, Metalaxil (1), Furalaxil (6) y Benalaxil (7) respectivamente.

Las cepas de *P. infestans* y la resistencia a las fenilamidas, se ha expandido gradualmente en los campos agrícolas a nivel mundial. Sin embargo, las mezclas de fungicidas que contienen un componente de fenilamida siguen siendo una estrategia eficaz para el control del tizón tardío en la papa y el tomate. Los continuos cambios en las poblaciones de *P. infestans* requieren una cuidadosa adaptación de los programas exitosos de control de enfermedades (Lozoya *et al.*, 2017).

Justificación

El creciente uso desmedido de fungidas basados en fenilamidas para el control químico de *Phytophthora infestans* y *Fusarium graminearum*, principalmente, así como la resistencia que estos patógenos han adquirido, es un hecho preocupante, principalmente por la eliminación de biótica benéfica del ecosistema agrícola y a futuro, el riesgo hacia la contaminación de mantos freáticos, por lo cual es necesario la modificación estructural de estas moléculas por intercambio de grupos funcionales con actividad similar o el uso de centros metálicos sinérgicos que puedan potencializar la actividad biológica y poder disminuir considerablemente las dosis a emplear, por lo cual la química de coordinación, puede ser la herramienta clave para este propósito, tomando como ligante de partida, una fenilamida de última generación como es el Metalaxil (1) y para su coordinación la utilización de centros metálicos de cobre y zinc.

Hipótesis

El aislamiento de Metalaxil (**1**) de un producto comercial y la posterior modificación a la sal sódica (**2**), permitirá explorar su reactividad frente a sales de ZnCl_2 y CuSO_4 , obteniendo compuestos de interés dentro de la química de coordinación, así como potencial actividad fungicida, basado en un ligante con una estructura fenilamídica y metales que puedan incrementar las propiedades fungicidas, microbicidas con la finalidad de combatir fitopatógenos.

Objetivos

Objetivo general

Estudiar la reactividad de derivados de Metalaxil (**1**) frente a Zinc(II) y Cobre(II), para la generación de complejos de coordinación con posible aplicación biológica.

Objetivos específicos

- Obtener y caracterizar al Metalaxil (**1**) a partir de productos agrícolas comerciales.
- Preparar derivados de Metalaxil (**1**) que favorezcan la reactividad del grupo Carboxilato.
- Promover reacciones de coordinación empleando derivados de Metalaxil frente a Zn(II) y Cu(II).
- Caracterizar los complejos metálicos mediante métodos físicos, espectroscópicos y espectrométricos.

Metodología

- Aislamiento y caracterización de **1** a partir de productos agrícolas comerciales, a través de técnicas de extracción que incluyen técnicas de precipitación, bipartición y cromatografía.
- Exploración de las condiciones de reacción que promuevan la hidrólisis del éster metílico presente en la molécula de **1**, para su posterior coordinación a Zn(II) y Cu(II) así como la formación de complejos de coordinación, las variaciones contempladas son: de temperatura, disolventes, tiempos de reacción y equivalentes químicos.
- Caracterización de ligantes y complejos metálicos a través de métodos físicos (punto de fusión o descomposición y solubilidad) y espectroscópicos (IR, RMN).

Resultados y Discusión

Para la obtención de Metalaxil (**1**) se utilizó el producto comercial **Metalkil CL**[®] en forma de polvo humectable (PH), que dentro de su composición química contiene Clorotalonil (**8**) (Figura 12), el cual es insoluble en metanol, facilitando la extracción de **1** por simple decantación, para obtener 1.6 g de **1** cuyo espectro de RMN de ¹H (figura 13), mostró entre 7.30 y 7.10 ppm las señales correspondientes a la parte aromática del compuesto (H-7, H-6 y H-8), en 4.52 ppm se aprecia una señal cuádruple ($J = 8.0$ Hz), asignada al hidrógeno del centro estereogénico H-2, en 3.79 ppm se encuentra una señal simple correspondiente al grupo metilo H-15. En 3.61 ppm y 3.48 ppm se observan dos señales dobles correspondientes a los hidrógenos metilénicos del éter H-13/H-13'; la señal simple en el desplazamiento de 3.33 ppm corresponde a H-14, en 2.47 ppm y 2.15 ppm, se observan dos singuletes atribuidos a los metilos H-10 y H-11, respectivamente. Por último, en 1.00 ppm se encuentra la señal doble correspondiente al metilo H-3.

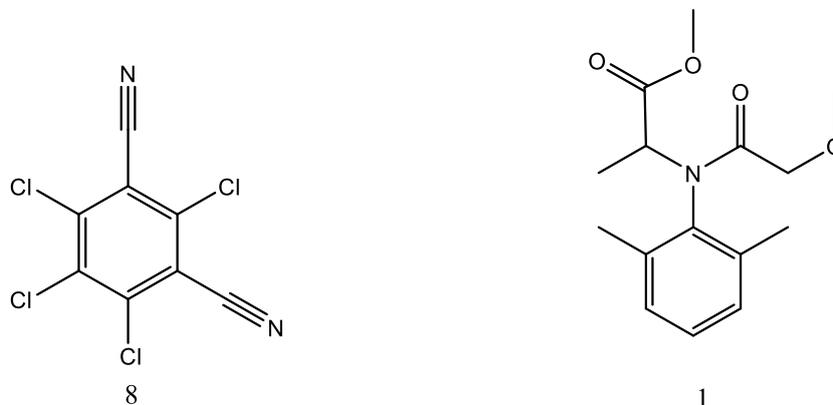


Figura 12. Estructura química del Clorotalonil (**8**) y Metalaxil (**1**).

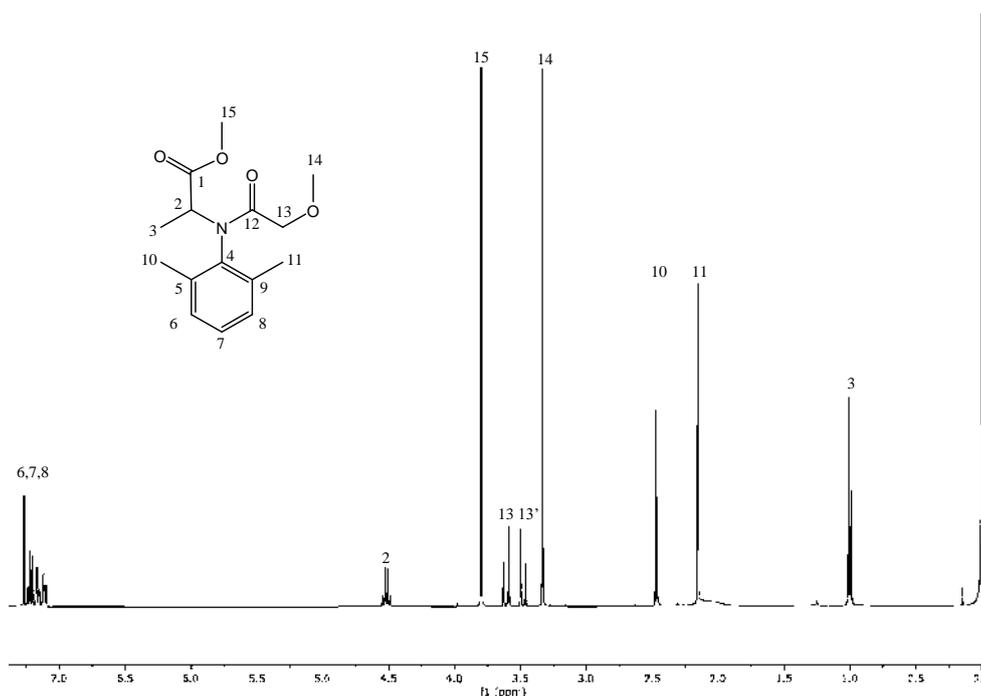


Figura 13. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz en CDCl₃ del Metalaxil (1).

El análisis de RMN de ¹³C del Metalaxil (1) (figura 14), se observa una señal en 172.8 ppm correspondiente al carbonilo de éster (C-1), en 170.0 ppm se encuentra la señal de C-12, entre 138.6 y 128.7 ppm se encuentran los carbonos aromáticos (C-5, C-9, C-4, C-6, C-7 y C-8), en 70.5 ppm se observa la señal correspondiente a C-13, en 59.2 ppm se encuentra la señal correspondiente a un metilo de éster (C-14), en 55.2 ppm se aprecia la señal del carbono estereogénico (C-2), en 52.2 ppm se observa la señal del otro metilo de éster (C-15), en 18.4 y 18.1 ppm se encuentran las señales de los metilos aromáticos C-10 y C-11 respectivamente, por último en 14.6 ppm se aprecia la señal del metilo C-3.

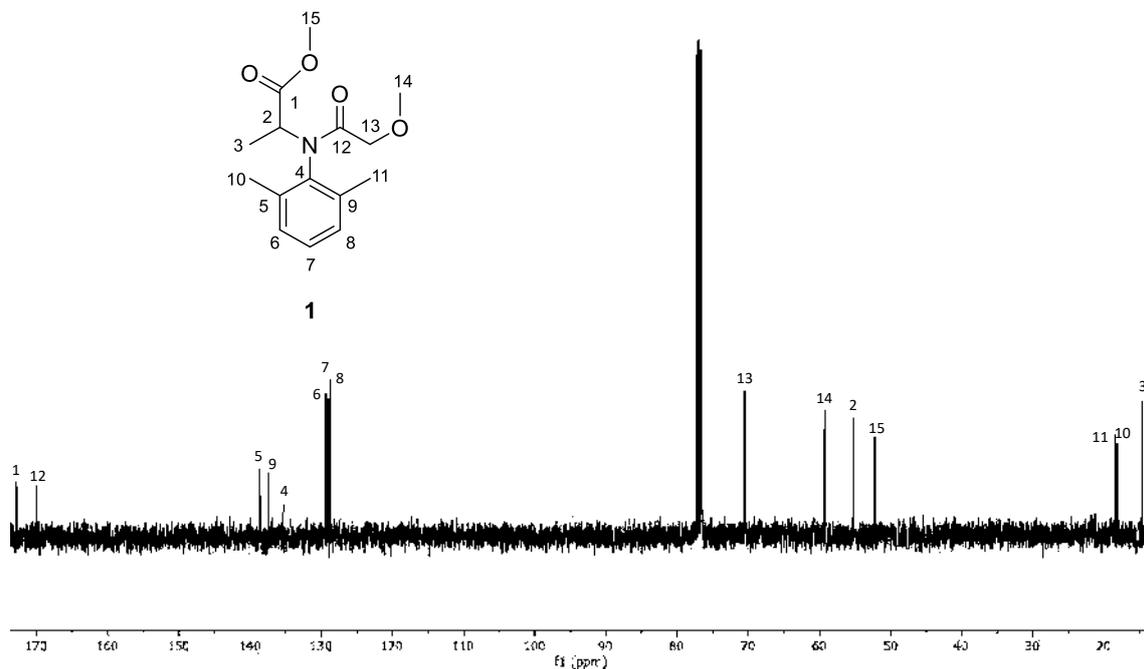


Figura 14. Espectro de RMN de ¹³C a 100 MHz en CDCl₃ de Metalaxil (1).

En el espectro FTIR de transmitancia de Metalaxil (1) (figura 15) se pueden apreciar dos bandas vibracionales principales. En 1755 cm⁻¹ y 1667 cm⁻¹ bandas atribuidas a los enlaces C-N de la amida disustituida y C-O del éster, respectivamente. Confirmando el aislamiento y purificación del Metalaxil (1); que será usado como materia prima para la preparación de derivados, los cuales serán usados para probar la reactividad frente a metales con estado de oxidación 2+ (Cu y Zn).

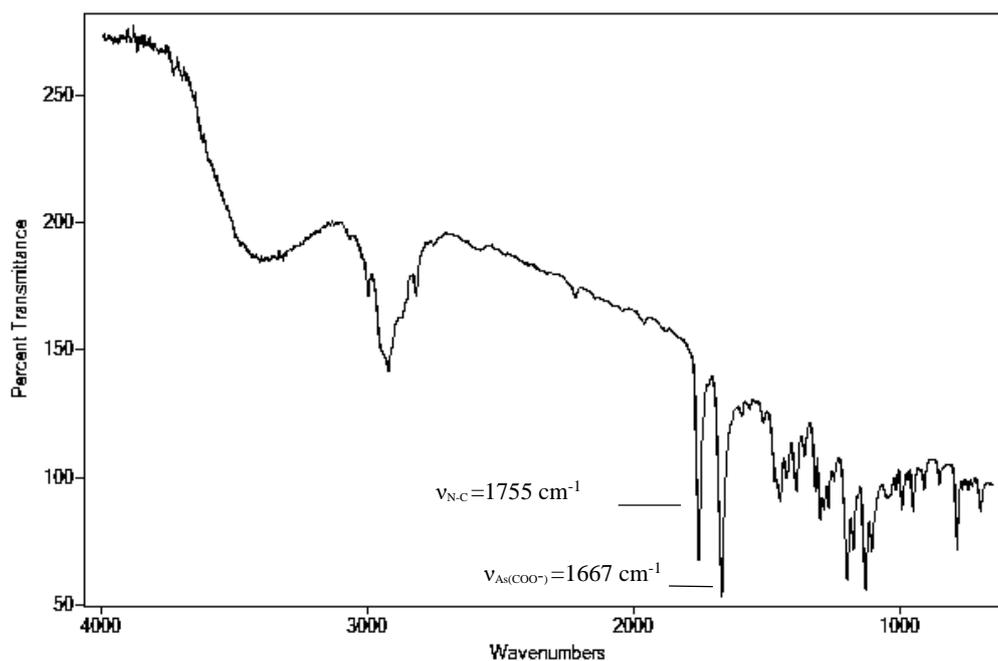


Figura 15. Espectro de transmitancia de IR de Metalaxil (**1**).

Para la obtención de **2** se pesaron 114.47 mg (2.861 mmol) de NaOH, se adicionaron 10 mL de una solución H₂O-CH₃OH (1:1), obteniéndose 455 mg de un sólido, que fue lavado con hexanos, acetato de etilo y diclorometano, respectivamente. El sólido obtenido mostró ser insoluble en CHCl₃ por lo que fue analizado por RMN de ¹H en D₂O (figura 16), observándose un patrón de señales muy similar al del Metalaxil (**1**). La única diferencia es la ausencia de la señal de H-15, sugiriendo la formación del carboxilato de sodio de Metalaxil (**2**) (Figura 17).

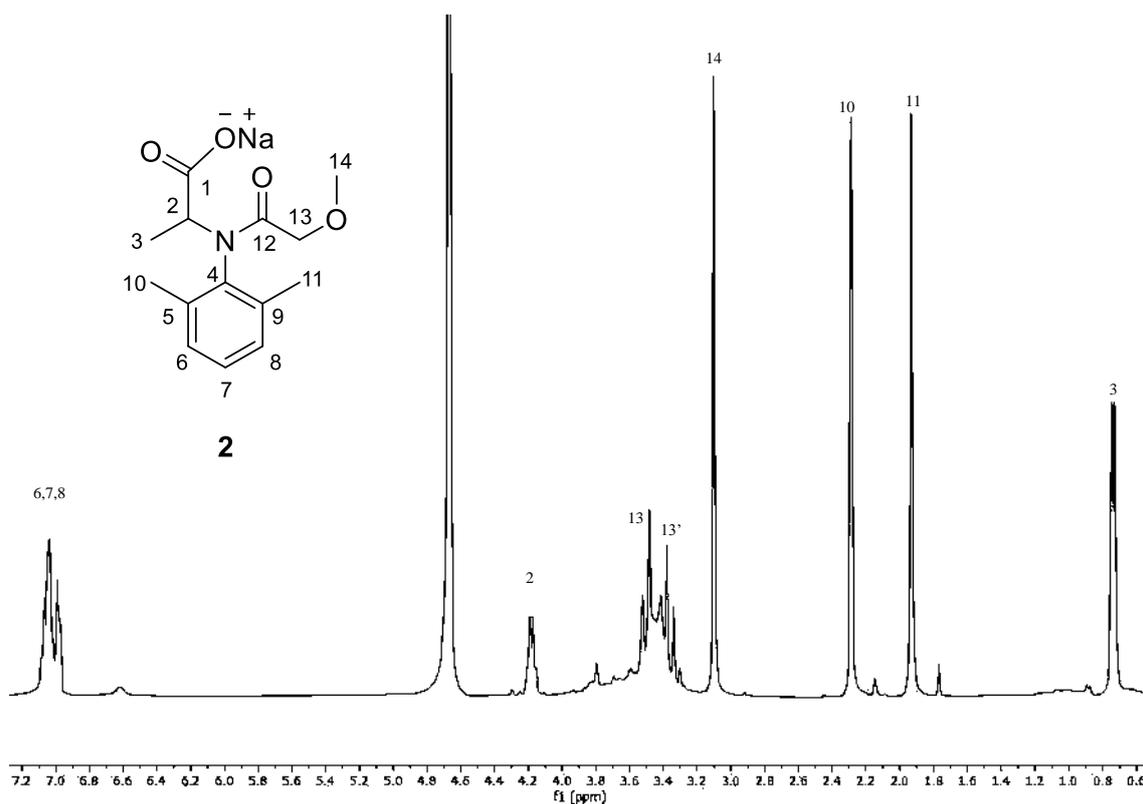


Figura 16. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en D_2O del compuesto de Carboxilato de sodio de Metalaxil (**2**).

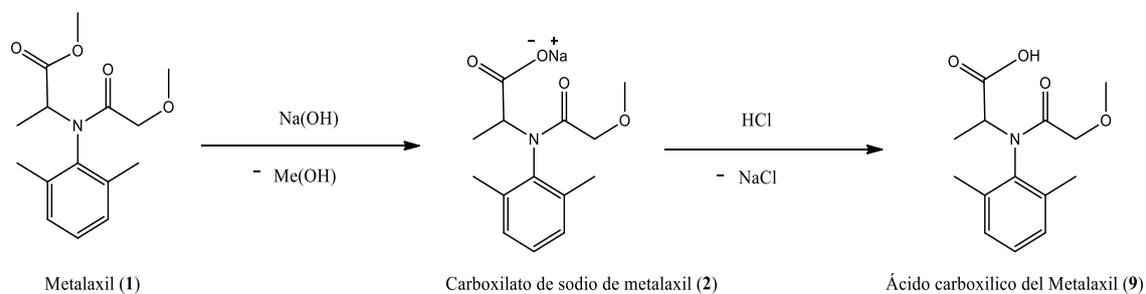


Figura 17. Reacciones para la obtención del carboxilato de sodio del Metalaxil (**2**) y ácido de Metalaxil (**3**).

En el análisis de IR de **2** (figura 18) muestra la frecuencia vibracional atribuida al enlace C-N con 1644 cm^{-1} , la vibración asimétrica y simétrica del carboxilato en 1590 cm^{-1} y 1455 cm^{-1} respectivamente.

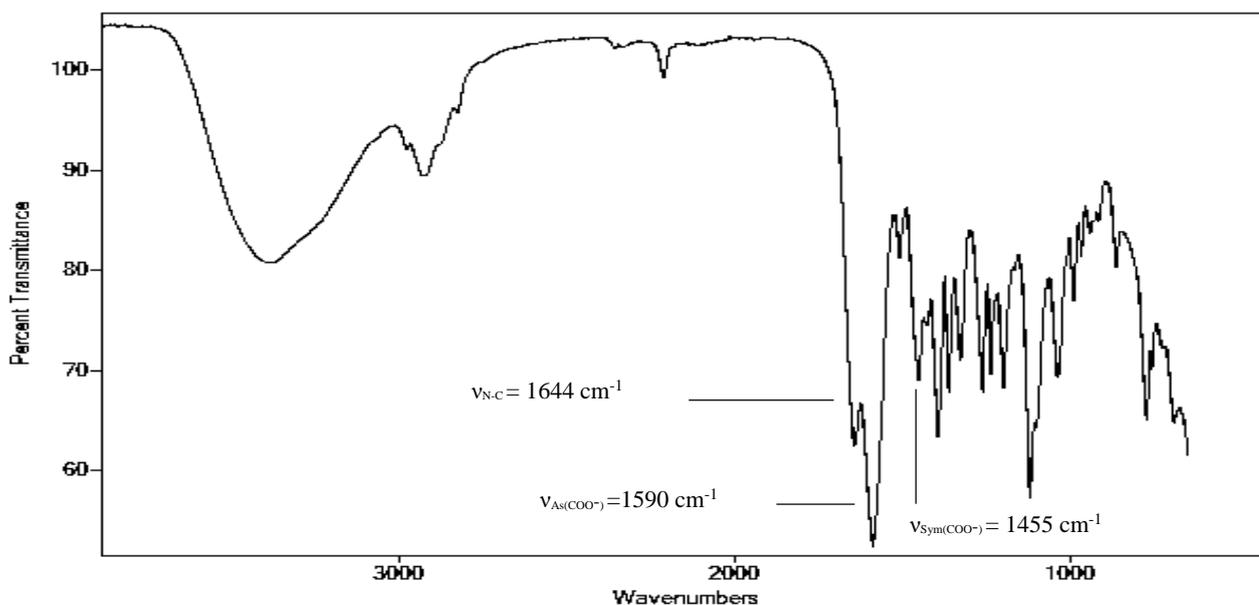


Figura 18. Espectro de transmitancia IR del carboxilato de sodio de Metalaxil (2)

Para la obtención del derivado carboxílico **9**, se pesaron 200 mg del compuesto **2** y se adicionaron en un matraz, posteriormente se añadió lentamente una disolución de HCl al 10% hasta llevar a $\text{pH} \approx 3$, obteniendo una solución marrón claro. La solución fue evaporada a temperatura ambiente, obteniendo un sólido color marrón, el cual fue lavado con hexanos y acetato de etilo por separado. El sólido resultante fue analizado por RMN de ^1H y ^{13}C (Figura 19 y 20, respectivamente) mostrando que se trataba del ácido carboxílico del Metalaxil (**9**). La formación del compuesto **9** resulta importante ya que confirma la formación del compuesto **2**.

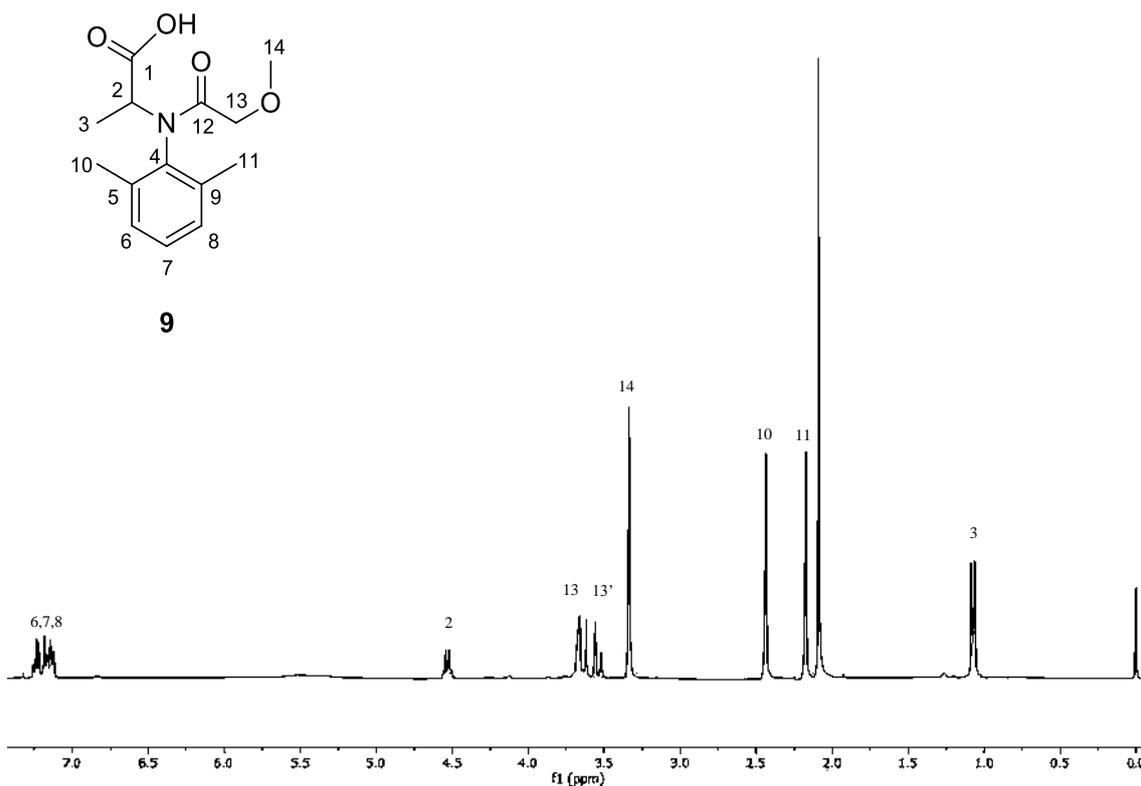


Figura 19. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 del compuesto Ácido carboxílico de Metalaxil (**9**).

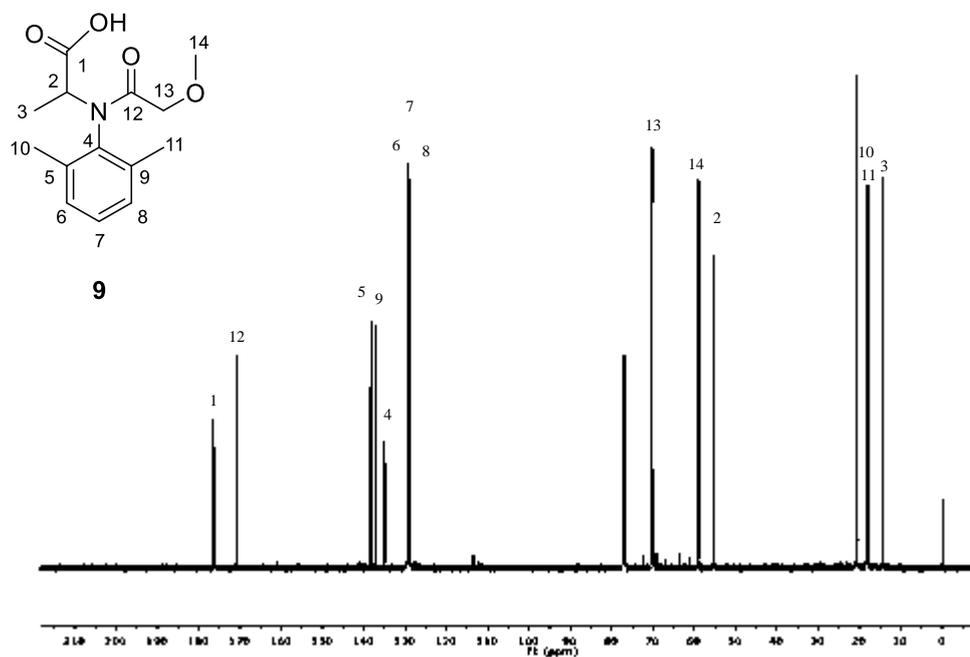


Figura 20. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 de Ácido Carboxílico del Metalaxil (**9**).

Una vez obtenido y caracterizado el carboxilato de sodio del Metalaxil (**2**), se procedió a llevar a cabo el estudio de reactividad frente al Cu(II), en condiciones suaves de reacción, obteniéndose un sólido café que se disolvió en 10 mL de agua para posteriormente hacer biparticiones con hexanos, AcOEt y finalmente con CH₂Cl₂. La fase acuosa fue evaporada a presión reducida obteniéndose un sólido amorfo de color verde con punto de fusión mayor a 300 °C. En su espectro de infrarrojo (Figura 21), se pueden observar las señales características del esqueleto del de carboxilato de sodio del Metalaxil (**2**) desplazadas ligeramente hacia frecuencias mayores (Tabla 2); esto atribuido a la coordinación hacia el centro metálico. Por lo que se realizó un análisis de las bandas de vibración como reportó Deacon y Phillips en 1988 y Zelenak en el 2007, observándose un $\Delta = 139$ para el complejo **3** y $\Delta = 135$ para la materia de partida **2**, lo que sugirió un modo de coordinación quelato puente por el grupo carboxilato.

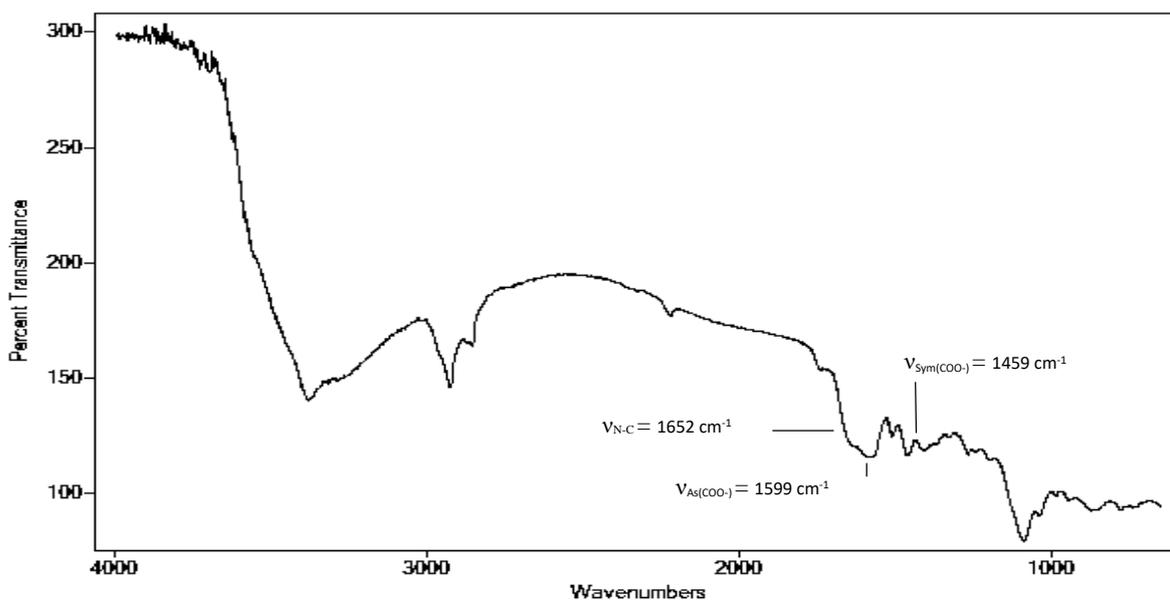


Figura 21. Espectro IR de Complejo Metalaxil de Cobre(II) (**3**).

Tabla 2. Frecuencias de vibraciones simétricas y asimétricas del complejo de cobre en medio básico.

Vibraciones	Complejo Cobre(II) (cm ⁻¹)	Carbox. de Metalaxil (cm ⁻¹)
V _{N-C}	1652	1644
V _{As(COO⁻)}	1599	1590
V _{Sym(COO⁻)}	1459	1455
$\Delta = V_{As(COO-)} - V_{Sym(COO-)}$	139	135

Por lo anterior y considerando que el 4 es el número de coordinación más común para el átomo de cobre se propone la formación de un complejo formado por dos átomos de Cu(II) unidos por dos moléculas de carboxilato de Metalaxil coordinado de manera quelato puente, obteniéndose un complejo catiónico que es estabilizado por el ión sulfato (figura 22).

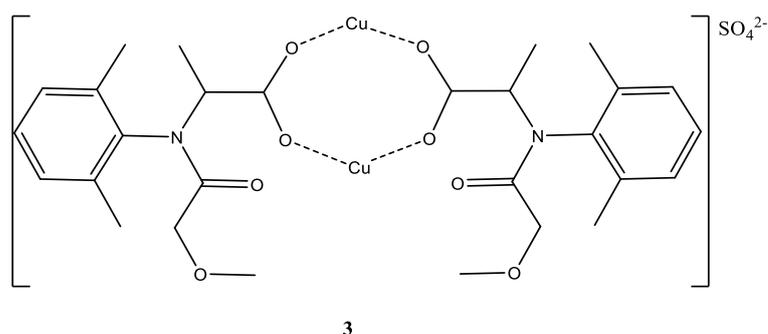


Figura 22. Propuesta del complejo Metalaxil-Cobre(II) (**3**).

Con la finalidad de estudiar la reactividad del derivado carboxilato de sodio de Metalaxil (**2**) frente a Cu(II) se decidió hacer una modificación en la técnica de extracción. La variante consistió en modificar el pH ya que en la técnica antes mencionada se tenía un pH ≈ 8 , ahora se decidió llevarlo a pH ácido. Por lo que al realizar la última bipartición con CH₂Cl₂ se agregó HCl al 10% gota a gota hasta llegar a pH de ≈ 5 , observándose que, la coloración verde característica de complejos de cobre, ahora se encontraba en la fase orgánica, por lo que se separó y evaporó a presión reducida en rotavapor, obteniéndose una miel color verde.

El sólido se analizó por IR observándose en 1744 cm⁻¹ una banda atribuida a la vibración C-N desplazada hacia frecuencias mayores con respecto a la del ligante **2**, lo que sugiere una coordinación del ligante a través del átomo de nitrógeno. También se observaron las bandas características a las vibraciones del grupo carboxilato V_{asym} y V_{sym} en 1673 cm⁻¹ y 1454 cm⁻¹ respectivamente (Figura 23), Posteriormente, se llevó a cabo un análisis vibracional de Δ entre los datos de las bandas de grupo carboxilato del compuesto **2** y el crudo de reacción obtenido en medio ácido (**4**) (Tabla 3), en la cual se puede observar un $\Delta = 135$ cm⁻¹ para **2** y $\Delta = 219$ cm⁻¹ para **4**; correspondiente a una coordinación monodentada por parte del grupo carboxilato.

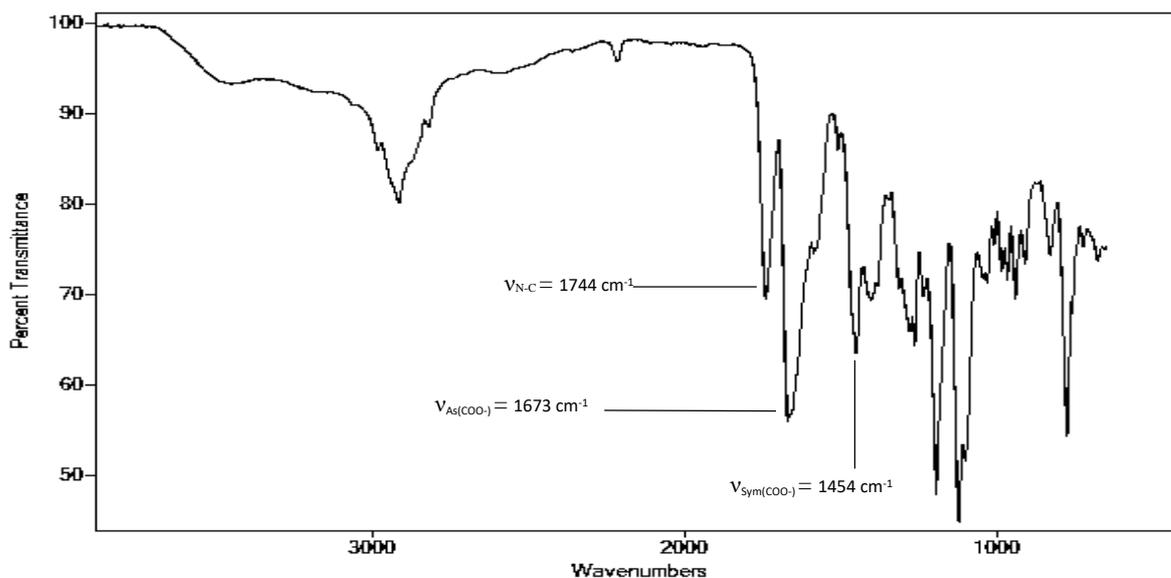
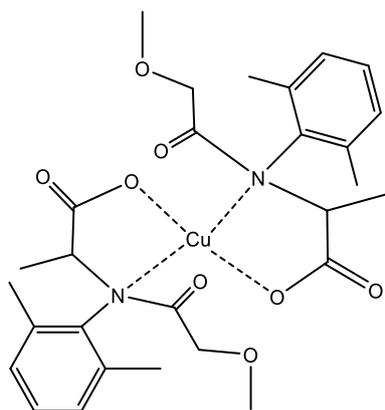


Figura 23. Espectro IR del complejo de Cobre(II) de Metalaxil (4).

Tabla 3. Frecuencias de vibraciones simétricas y asimétricas del Complejo de Cobre(II) (4) y el carboxilato de sodio de Metalaxil (2).

Vibraciones	Complejo Cobre(II) (4) (cm ⁻¹)	Carboxilato de sodio del Metalaxil (2)(cm ⁻¹)
ν_{N-C}	1744	1644
$\nu_{As(COO^-)}$	1673	1590
$\nu_{Sym(COO^-)}$	1454	1455
$\Delta = \nu_{As(COO^-)} - \nu_{Sym(COO^-)}$	219	135

Por lo antes mencionado se propone la formación de un complejo monometálico neutro constituido por dos moléculas de carboxilato de Metalaxil coordinadas de manera bidentado quelato a través de un oxígeno del grupo carboxilato y del nitrógeno amídico (Figura 24).



4

Figura 24. Estructura propuesta para el complejo **4**.

Continuando con el estudio de reactividad del compuesto **2**, se hicieron reaccionar 200 mg (0.695mmol) del carboxilato de sodio de Metalaxil (**2**), con $ZnCl_2$, para posteriormente llevar a cabo biparticiones con hexanos, AcOEt y CH_2Cl_2 . Observándose una coloración café en la fase acuosa, por lo que se dejó secar a temperatura ambiente obteniéndose una miel color café, la cual fue analizada por RMN de 1H (Figura 25), en donde se observaron las señales características del carboxilato de Metalaxil (**2**) (Tabla 4). Obteniéndose tres desplazamientos químicos significativos atribuido a la presencia del Zn, un $\Delta\delta$ de 0.12 ppm de la señal asignada a H-2, $\Delta\delta$ de 0.11 ppm para la señal de CH_3 -10, y $\Delta\delta$ de 0.08 ppm para el CH_3 -3 (Figura 24).

Tabla 4. Comparativa de desplazamientos de señales de RMN de 1H entre los compuestos **2** y **5**.

Señal	Compuesto 2	Compuesto 5	Compuesto $\Delta\delta$ ppm
H-2 ppm	4.18	4.31	0.12
CH_3 -10 ppm	2.29	2.18	0.11
CH_3 -3 ppm	0.73	0.81	0.08

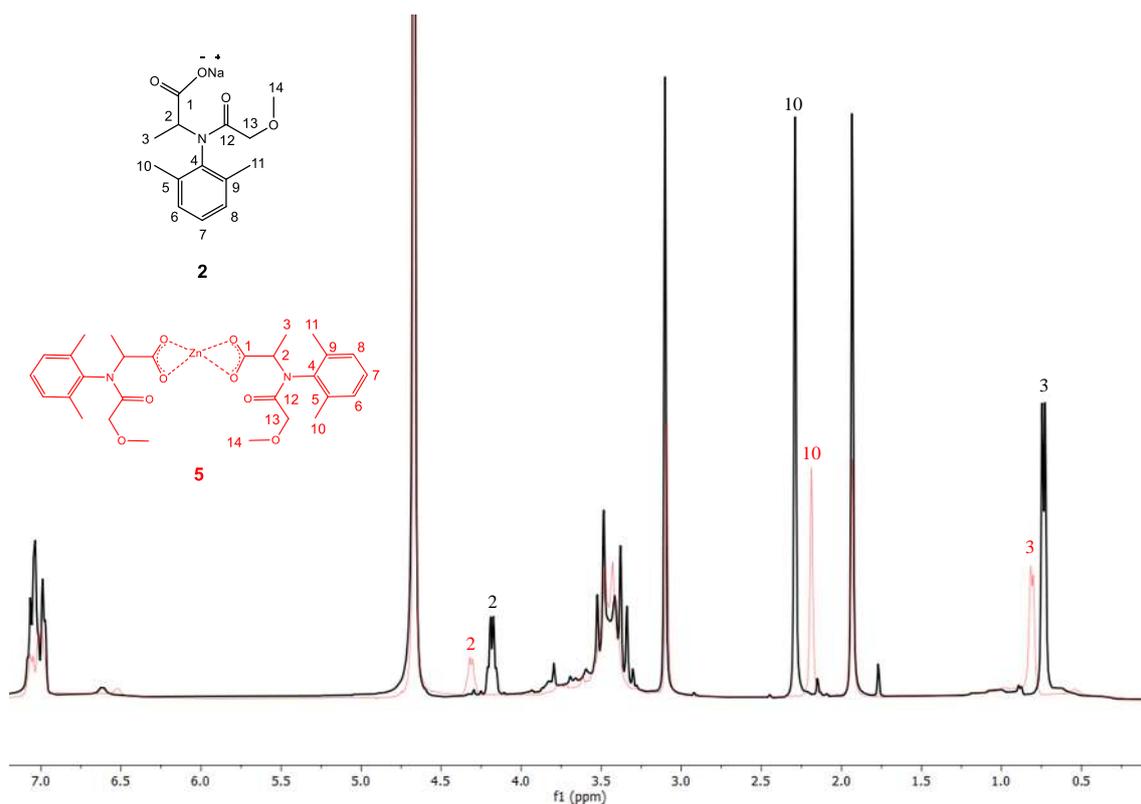


Figura 25. Espectro comparativo de RMN de ^1H a 400 MHz en D_2O del complejo de Metalaxil-Zn(II) (5) y el carboxilato de Metalaxil (2).

El análisis por espectroscopia de infrarrojo, muestra las señales típicas para un grupo carboxilato (Figura 26).

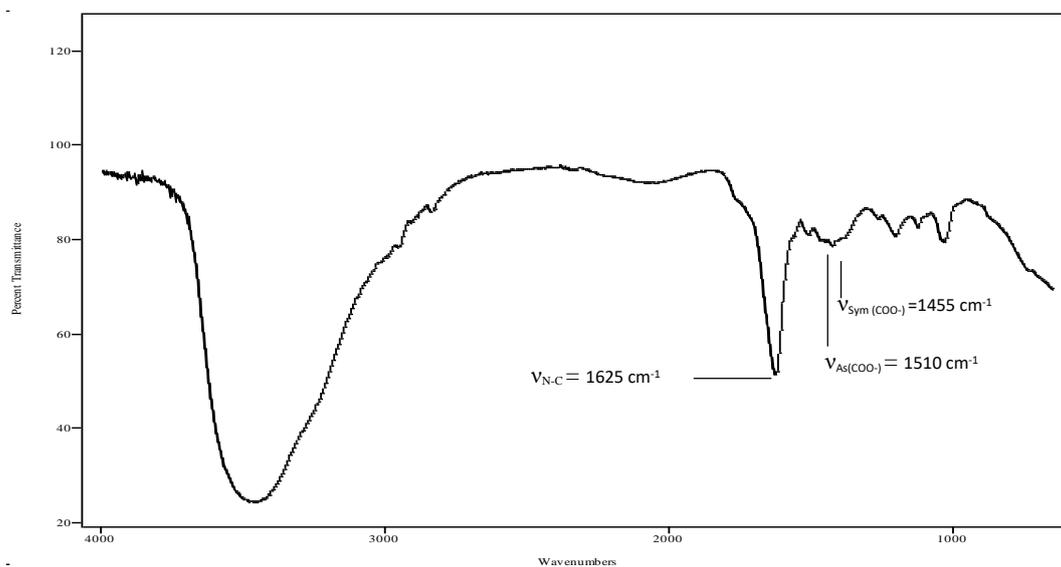


Figura 26. Espectro IR del complejo de Zinc(II) de Metalaxil (5).

El análisis comparativo de infrarrojo entre la materia de partida **2** y el crudo de la reacción **5** mostró un $\Delta_{\text{complejo}} \ll \Delta_{\text{carboxilato}}$ (Deacon y Phillips, 1988) y $\Delta_{\text{complejo}} < 120 \text{ cm}^{-1}$ (Zelenák, 2007) (Tabla 5), sugiriendo un modo de coordinación bidentado quelato por parte del ligante **2**.

Tabla 5. Frecuencias de vibraciones simétricas y asimétricas del complejo de Zinc(II) (**5**) en medio ácido.

Vibraciones	Complejo Zinc(II) (cm^{-1})	Carbox. de Metalaxil (cm^{-1})
$\nu_{\text{N-C}}$	1625	1644
$\nu_{\text{As(COO-)}}$	1510	1590
$\nu_{\text{Sym(COO-)}}$	1469	1455
$\Delta = \nu_{\text{As(COO-)}} - \nu_{\text{Sym(COO-)}}$	41	135

Con base a lo discutido anteriormente, se propone la formación de un complejo de zinc neutro, formado por dos moléculas del carboxilato **2**, coordinado de manera bidentado quelato formando dos ciclos de cuatro miembros (figura 27).

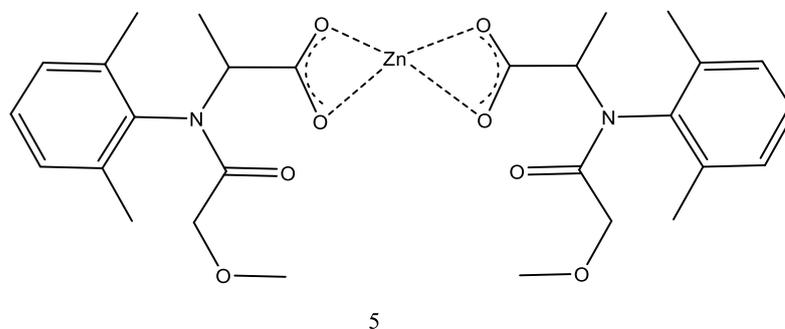
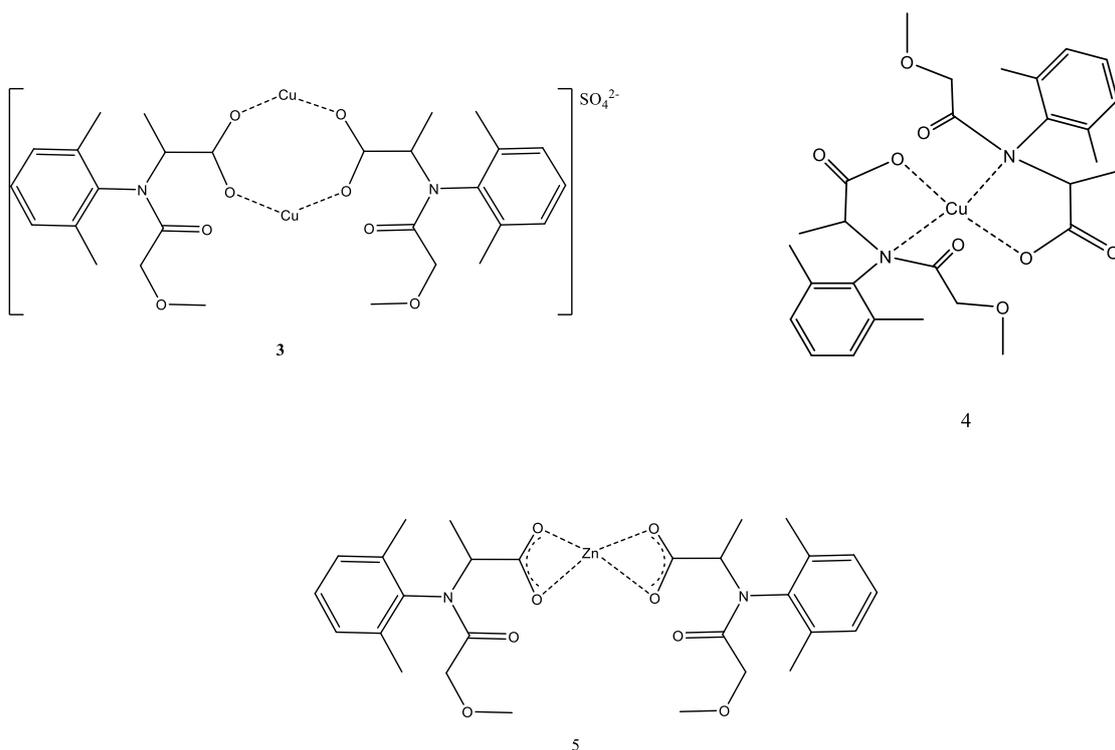


Figura 27. Propuesta del complejo Metalaxil-Zinc(II) (**5**).

Conclusiones

Durante el desarrollo de este proyecto se llevó a cabo el estudio de la reactividad de derivados de metalaxil frente a dos metales de fácil acceso y biocompatibles como lo son el cobre(II) y zinc(II). Quedando de manifiesto la versatilidad de modos de coordinación del ligante **2**. Observándose que para el caso de los complejos de Cu(II) **3** y **4** las condiciones de reacción y las propiedades estructurales del ligante **2** pueden favorecer la formación de complejos de distinta naturaleza. Ya que al modificar las condiciones de reacción y eliminar el ion SO_4^{2-} del complejo **3**; la molécula pierde estabilidad, por lo que, el ligante **2** se ve forzado a cambiar el modo de coordinación dando la formación del complejo **4** de naturaleza neutra. Situación que no fue observada con el complejo zinc(II) ya que este mostró un modo de coordinación más estable por parte del grupo carboxilato dando desde un inicio un complejo de naturaleza neutra.



Los complejos obtenidos **3-5** al ser compuestos novedosos abren la posibilidad de ser probados en futuros ensayos frente a sepas biológicas resistentes a patógenos, pudiendo ser candidatos en las aplicaciones en el área agrícola, área médica, catalítica, electrónica, entre otras.

Parte experimental

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y de ^{13}C se midieron en un equipo Varian Mercury plus 400, a 400 MHz y 100 MHz, respectivamente, usando CDCl_3 y D_2O como disolventes y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los espectros fueron procesados en el software MestReNova.

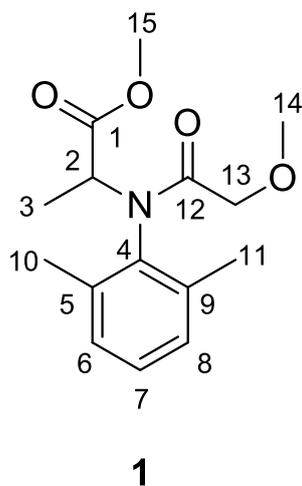
Los espectros de IR se obtuvieron en un espectrofotómetro Thermo Scientific modelo Nicolet iS10 empleando la técnica de ATR. Los datos se expresan en números de onda (V cm^{-1}) para los máximos principales de absorción.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Scientific y no están corregidos.

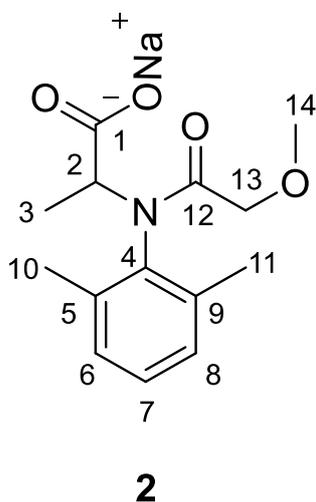
El Metalaxil se obtuvo del producto comercial de la marca Metalkil CL[®].

El NaOH, ZnCl_2 , fueron adquiridos de la marca JT Baker[®], $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ de la marca COMET[®].

Los disolventes utilizados durante el proceso fueron destilados en el laboratorio.

Metalaxil (1)

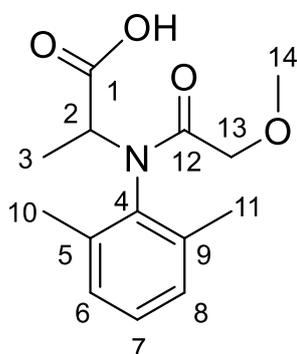
Para la extracción de Metalaxil (**1**) se utilizó el producto comercial Metalkil CL[®] (9% de Metalaxil). Un lote de 20 g de Metalkil CL[®] fueron disueltos en 150 mL de metanol se dejó en agitación por 3 h, posteriormente se dejó reposar durante 24 h; transcurrido este tiempo, se filtró y el solvente se evaporó a presión reducida (45 °C a 250 mbars), para obtener 1.6 g de una miel amarilla correspondiente al Metalaxil (**1**). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ en ppm: 7.22 (1H, t, *J*= 8.0 Hz, H-7), 7.16 (1H, d, *J*= 8.0 Hz, H-8), 7.11 (1H, t, *J*= 8.0 Hz, H-6), 4.52 (1H, q, *J*= 8.0 Hz, H-2), 3.79 (3H, s, H-15), 3.61 (1H, d, *J* = 10.0 Hz, H-13), 3.48 (1H, d, *J* = 10.0 Hz, H-13'), 3.33 (3H, s, H-14), 2.47 (3H, s, H-10), 2.15 (3H, s, H-11), 1.00 (3H, s, *J*= 7.5 Hz, H-3); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ en ppm: 172.8 (C-1), 170.0 (C-12), 138.6 (C-5), 137.3 (C-9), 135.3 (C-4), 139.3 (C-6), 129.0 (C-7), 128.7 (C-8), 70.5 (C-13), 59.2 (C-14), 55.2 (C-2), 52.2 (C-15), 18.4 (C-10), 18.1 (C-11), 14.6 (C-3); IR (cm⁻¹): ν_(N-C) = 1755 cm⁻¹, ν_(C-O) = 1667 cm⁻¹.

**Carboxilato de sodio de Metalaxil (2)**

Para la obtención de **2** se pesaron 114.47 mg (2.861 mmol) de NaOH y se adicionaron 10 mL de una solución H₂O-CH₃OH (1:1), se dejó en agitación a temperatura ambiente por 1 h, posteriormente se adicionaron 400 mg (1.431 mmol) de Metalaxil (**1**) lentamente y se dejó en agitación constante a temperatura ambiente por 12 h. Transcurrido el tiempo de reacción se observó la formación de una fase líquida color marrón oscuro, se evaporó el agua y el metanol obteniendo 455 mg de un sólido, que fue lavado con hexanos, acetato de etilo y finalmente en diclorometano, se dejó secar a temperatura ambiente, obteniendo un sólido café oscuro con punto de fusión de 83-85 °C ; RMN de ¹H (400 MHz, D₂O) δ en ppm: 7.02 (3H, m, *J*= 8.0 Hz, H-7, H-8, H-6), 4.18 (1H, q, *J*= 8.0 Hz, H-2), 3.51 (1H, d, *J*= 10.0 Hz, H-13), 3.36 (1H, d, *J*= 10.0 Hz, H-13'), 3.10 (3H, s, H-14), 2.29 (3H, s, H-10), 1.93 (3H, s, H-11), 0.74 (3H, d, *J*= 8.0 Hz, H-3).

IR (cm^{-1}): $\nu_{(\text{N-C})} = 1644 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{As}(\text{COO}^-)} = 1667 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{Sym}(\text{COO}^-)} = 1455 \text{ cm}^{-1}$.

Carboxilato ácido de Metalaxil (9)

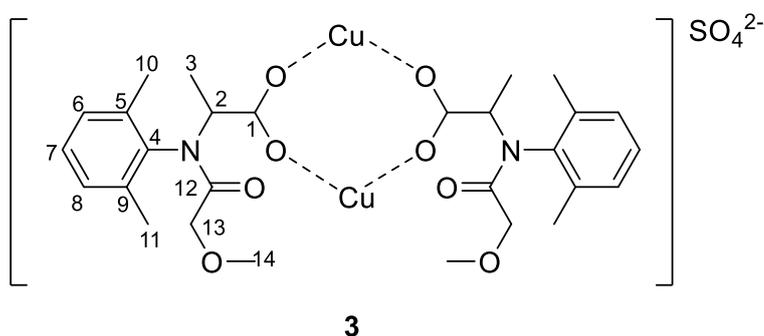


9

Para la obtención del derivado **9**, se adicionaron en un matraz 200 mg de **2**, posteriormente se adicionó lentamente, una disolución de HCl al 10% llevándolo a pH ≈ 3 , obteniendo una solución marrón claro, con olor característico a ácido acético, la cual fue evaporada a temperatura ambiente, obteniendo un sólido color marrón, el cual fue lavado con solventes de menor a mayor polaridad, el cual fue soluble en CHCl_3 , con peso molecular de 265.0 g/mol; RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ en ppm: 7.18 (3H, m, $J = 8.0$ Hz, H-7, H-8, H-6), 4.53

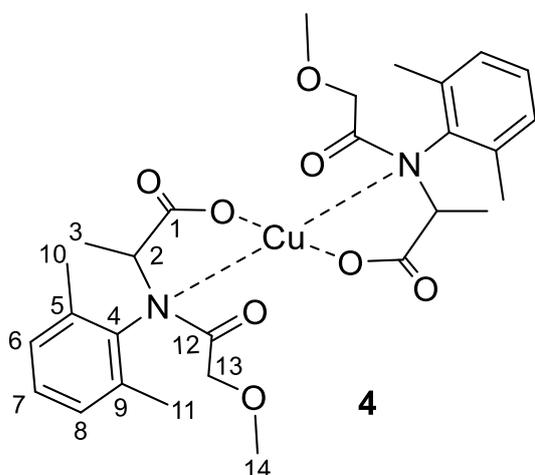
(1H, q, $J = 8.0$ Hz, H-2), 3.65 (1H, m, $J = 10.0$ Hz, H-13), 3.54 (1H, m, $J = 10.0$ Hz, H-13'), 3.33 (3H, s, H-14), 2.43 (3H, s, H-10), 2.17 (3H, s, H-11), 4.53 (1H, q, $J = 8.0$ Hz, H-2), 1.07 (3H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ en ppm: 176.4 (C-1), 170.6 (C-12), 138.2 (C-5), 137.0 (C-9), 134.9 (C-4), 129.2, (C-6), 129.0 (C-7), 128.6 (C-8), 70.2 (C-13), 59.0 (C-14), 55.3 (C-2), 18.3 (C-10), 17.9 (C-11), 14.2 (C-3).

Derivado de Metalaxil (3)



Para la obtención de **3** se tomó un lote de 222 mg (0.772 mmol) de carboxilato de Metalaxil (**2**) fue disuelto en 10 mL de agua destilada a temperatura ambiente en agitación constante, hasta la completa homogenización, posteriormente se agregó $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (55 mg)(0.22 mmol) disueltos en 5 mL de agua destilada, se midió y mantuvo constante el $\text{pH} \approx 8$, obteniéndose un cambio de coloración a marrón, posteriormente, la solución se evaporó a presión reducida obteniéndose un sólido que se disolvió en 10 ml de agua para posteriormente hacer biparticiones con hexanos, AcOEt y finalmente con CH_2Cl_2 , se dejó evaporar a temperatura ambiente, obteniendo un sólido verde amorfo con peso de 231 mg con punto de fusión mayor a $300\text{ }^\circ\text{C}$, mostró poca solubilidad en agua y solventes orgánicos.

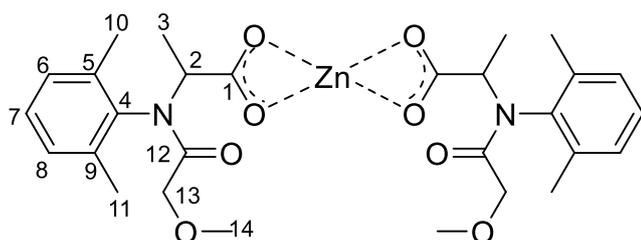
IR (cm^{-1}): $\nu_{(\text{N-C})} = 1625\text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{As}(\text{COO}^-)} = 1510\text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{Sym}(\text{COO}^-)} = 1455\text{ cm}^{-1}$.

Derivado de Metalaxil (4)

Para la obtención de **4**, un lote de 222 mg (0.772 mmol) de carboxilato de Metalaxil (**2**) fue disuelto en 10 mL de agua destilada a temperatura ambiente en agitación constante, hasta la completa homogenización, posteriormente se agregó $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (55 mg)(0.22 mmol) disueltos en 5 mL de agua destilada, se midió y mantuvo constante el $\text{pH} \approx 8$, obteniéndose un cambio de

coloración a marrón, posteriormente, la solución se evaporó a presión reducida obteniéndose un sólido que se disolvió en 10 mL de agua para posteriormente hacer biparticiones con hexanos, AcOEt y finalmente con CH_2Cl_2 , en esta última bipartición, la solución se llevó a pH de ≈ 5 , se mezcló y se extrajo la fase orgánica CH_2Cl_2 , obteniendo una solución de color verde esmeralda, la cual se dejó secar a temperatura ambiente, obteniendo una miel, con un peso de 127 mg.

IR (cm^{-1}): $\nu_{(\text{N-C})} = 1744 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{As}(\text{COO}^-)} = 1673 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{Sym}(\text{COO}^-)} = 1454 \text{ cm}^{-1}$.

Derivado de Metalaxil (5)**5**

Para la obtención de **5**, se pesaron 200 mg (0.695mmol) del carboxilato de Metalaxil (**2**), se adicionaron 15 mL de agua destilada y se puso en agitación hasta su completa homogenización, posteriormente se adicionaron 568 mg (0.416 mmol) de ZnCl₂, previamente disueltos en 5 mL de agua destilada, se dejó en agitación por 12 h, posteriormente, el crudo de reacción se dividió en dos fracciones (C y D) que fueron evaporadas a temperatura ambiente. La fracción C se disolvió en una solución acuosa de HCl a pH ≈ 4, se separó por biparticiones con hexanos, AcOEt y CH₂Cl₂, por último, la fase acuosa se dejó secar a temperatura ambiente por 8 horas, obteniéndose una miel color café, con peso de 62 mg; RMN de ¹H (400 MHz, D₂O) δ en ppm: 7.02 (3H, m, J= 8.0 Hz, H-7, H-8, H-6), 4.31 (1H, d, J= 8.0 Hz, H-9), 3.50 (1H, d, J= 10.0 Hz, H-13), 3.41 (1H, d, J= 10.0 Hz, H-13'), 3.09 (3H, s, H-14), 2.19 (3H, s, H-10), 1.93 (3H, s, H-11), 0.81 (3H, d, J= 4.0 Hz, H-3);

IR (cm⁻¹): ν_(N-C) = 1652 cm⁻¹, ν_{As(COO⁻)} = 1599 cm⁻¹, ν_{Sym(COO⁻)} = 1459 cm⁻¹.

Bibliografía

- Baran, E.J. (1995), Libro "Química Bioinorgánica". Madrid: McGraw-Hill. cap 2, p.13-15
- Barioglio, C. F. (2014). Diccionario de las Ciencias Agropecuarias. Ed. Paredes Guevara, Guayaquil, Ecuador, p.204
- Batool, S. S., Gilani, S. R., Tahir, M. N., & Rüffer, T. (2017). Synthesis, and structural characterization of mixed ligand copper(II) complexes of N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine incorporating carboxylates. *Journal of Molecular Structure*, 1148: 7–14.
- Braga, D., Grepioni, F., Maini, L., Brescello, R., & Cotarca, L. (2008). Simple and quantitative mechanochemical preparation of the first zinc and copper complexes of the neuroleptic drug gabapentin. *CrystEngComm*, 10(5): 469–471.
- Bury, W., Justyniak, I., Prochowicz, D., Rola-Noworyta, A., & Lewiński, J. (2012). Oxozinc carboxylate complexes: A new synthetic Approach and the Carboxylate Ligand Effect on the Noncovalent-Interactions-Driven Self-Assembly. *Inorganic Chemistry*, 51(13): 7410–7414.
- Deacon, G.B. & Phillips, R.J. (1980). Relationships between the carbon-oxygen stretching frequencies of carboxylato complexes and the type of carboxylate coordination. *Coordination Chemistry Reviews*, 33(3): 227–250.
- Deising, H. B., Reimann, S., & Pascholati, S. F. (2008). Mechanisms and significance of fungicide resistance. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39(2), 286–295.
- Dowley, L. J., & O'sullivan, E. (1981). Metalaxyl-resistant strains of *Phytophthora infestans* (Mont.) de bary in Ireland. *Potato Research*, 24(4), 417–421.
- Durot, S., Policar, C., Pelosi, G., Bisceglie, F., Mallah, T., & Mahy, J.-P. (2003). Structural and Magnetic Properties of Carboxylato-Bridged Manganese(II) Complexes Involving Tetradentate Ligands: Discrete Complex and 1D Polymers. Dependence of the Nature of the Carboxylato Bridge. *Inorganic Chemistry*, 42(24), 8072–8080.
- Gisi, U., & Cohen, Y. (1996). Resistance to phenylamide fungicides: A Case Study with *Phytophthora infestans* Involving Mating Type and Race Structure. *Annual Review of Phytopathology*, 34(1), 549–572.
- Gómez-Hurtado M. A.; Nava-Andrade K.; Villagómez-Guzmán K.; del Río R. E.; Andrade-López N.; Alvarado-Rodríguez J. G.; Martínez-Otero D.; Morales-Morales D.; Rodríguez-García G.; Facile synthesis and structural characterization of μ_4 -oxo tetrazinc clusters of beyerenoic and kaurenioic acids; *Tetrahedron Lett.* (2017): 58. 1112-1116.
- Greenwood N. N., Earnshaw A. (2012) *Chemistry of the Elements*, Elsevier.
- Iakovidis, I., Delimaris, I., & Piperakis, S. M. (2011). Copper and Its Complexes in Medicine: A Biochemical Approach. *Molecular Biology International*, 2011, 1–13.
- Jain, A. K., & Tesema, A. F. (2017). Development of antimicrobial textiles using zinc pyrithione. *Research Journal of Textile and Apparel*, 21(3), 188–202.

- Kamalakaran P, V. D. (2002). Synthesis and characterization of cobalt and nickel chelates of 5-dimethylaminomethyl-2-thiouracil and their evaluation as antimicrobial and anticancer agents. *Jornal Inorganic Biochemistry*, 22-37
- Keith J. Brent and Derek W. Hollomon (2007). Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed? 2nd, revised edition. Published by the fungicide resistance action committee.
- Krajníková, A., Gyepes, R., & Györyová, K. (2010). Crystal Structure of [Zn(2-Bromobenzoato)2] n and [Zn(2-Bromobenzoato)2(N-Methylnicotinamide)]2. *Journal of Chemical Crystallography*, 40(8), 650–655.
- Krstic, N., Nikolic, R., Stankovic, M., Nikolic, N., & Dordevic, D. (2015). Coordination Compounds of M(II) Biometal Ions with Acid- Type Anti-inflammatory Drugs as Ligands – A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 14(2), 337.
- Liu, S., Fu, L., Wang, S., Chen, J., Jiang, J., Che, Z., ... Chen, G. (2019). Carbendazim Resistance of *Fusarium graminearum* from Henan Wheat. *Plant Disease*.
- López, J. M., Ensuncho, A. E., & Robles, J. (2013). Estudio Teórico de la Reactividad Química y Biológica de Cisplatino y algunos Derivados con Actividad Anticancerosa. *Información Tecnológica*, 24(3), 3–14.
- Lozoya-Saldaña, Héctor, Robledo-Esqueda, Martha Nayeli, Rivas-Valencia, Patricia, Sandoval-Island, Sergio, Colinas y León, María Teresa Beryl, & Nava-Díaz, Cristian. (2017). Sensibilidad a fungicidas del *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary en Chapingo, México. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 23(3), 175-187.
- Metcalf, R. J., Shaw, M. W., & Russell, P. E. (2000). The effect of dose and mobility on the strength of selection for DMI fungicide resistance in inoculated field experiments. *Plant Pathology*, 49(5), 546–557.
- Mitic, Dragana & Miodragovic, Denana & Sladic, Dusan & Vitnik, Zeljko & Miodragovic, Zoran & Andjelkovic, Katarina & Radulović, Milanka & Juranic, Nenad. (2008). Synthesis, NMR, DFT and antimicrobial studies of Zn(II) complexes with N-benzyloxycarbonyl-S-alanine. *Journal of the Serbian Chemical Society*. 73.
- Jastrzebski, J.T.B.H. and van Koten, G. (2002). Structures and Reactivities of Organocopper Compounds. In *Modern Organocopper Chemistry*, N. Krause (Ed.), p.3-40.
- Orvig, C., & Abrams, M. J. (1999). Medicinal Inorganic Chemistry: Introduction. *Chemical Reviews*, 99(9), 2201–2204
- Ouellette, R. J., & Rawn, J. D. (2018). Organometallic Chemistry of Transition Metal Elements and Introduction to Retrosynthesis. *Organic Chemistry*, 537–559

- Papageorgiou, S. K., Kouvelos, E. P., Favvas, E. P., Sapalidis, A. A., Romanos, G. E., & Katsaros, F. K. (2010). Metal–carboxylate interactions in metal–alginate complexes studied with FTIR spectroscopy. *Carbohydrate Research*, 345(4), 469–473.
- Parkin, G. (2000). The bioinorganic chemistry of zinc: synthetic analogues of zinc enzymes that feature tripodal ligands. *Chemical Communications*, (20), 1971–1985.
- Pattnaik S, Subramanyam VR, Kole C. Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils in vitro. *Microbios*. 1996 ;86(349):237-246.
- Paul B. Kelter, Michael D. Mosher, Andrew Scott. (2009). *Chemistry: The Practical Science*, Volumen 10, Cengage Learning, p. 875.
- Porchia, M., Pellei, M., Del Bello, F., & Santini, C. (2020). Zinc Complexes with Nitrogen Donor Ligands as Anticancer Agents. *Molecules*, 25(24), 5814.
- Prasad, A. S. (1988). Zinc in growth and development and spectrum of human zinc deficiency. *Journal of the American College of Nutrition*, 7(5), 377–384.
- Rajbongshi, Poppy & Yumnam, Devashree & Dutta, Biman. (2014). A study on the effect of some fungicides on the population of soil mycoflora. *Journal of international academic research for multidisciplinary*. 1. 8.
- Raman, J. Joseph, A. Senthil Kumara Velan & C. Pothiraj (2006). Antifungal Activities of Biorelevant Complexes of Copper(II) with Biosensitive Macrocyclic Ligands, *Mycobiology*, 34:4, 214-218
- Ravinderpal Kour Sodhi & Satya Paul, (2019). *Metal Complexes in Medicine: An Overview and Update from Drug Design Perspective*. Department of Chemistry, University of Jammu, Jammu-180 006, India
- Raymoni, G., & Abu Ali, H. (2018). Synthesis, Structures and Various Biological Applications of New Zn(II) Complexes Having Different Coordination Modes Controlled by the Drug Furosemide in Presence of Bioactive Nitrogen Based Ligands. *Applied Organometallic Chemistry*, e4680.
- Rodríguez L. E. (2017). Reactividad de naproxeno frente a ZnCl₂ bajo condiciones de formación de clusters metálicos; Tesis presentada en la Facultad de Químico Farmacobiología, UMSNH.
- Rundstadler, T., Eskandari, A., Norman, S., & Suntharalingam, K. (2018). Polypyridyl Zinc(II)-Indomethacin Complexes with Potent Anti-Breast Cancer Stem Cell Activity. *Molecules*, 23(9), 2253.
- Seguel, g. V., rivas, b. L., & contreras, j. G. (2013). Synthesis and characterization of copper complexes: interaction of metalliccarboxylates with 1,3-thiazole ligand. *Journal of the chilean chemical society*, 58(4), 1967–1970.

- Sorenson, J. R. J., Kishore, V., Pezeshk, A., Oberley, L. W., Leuthauser, S. W. C., & Oberley, T. D. (1984). Copper complexes: a physiological approach to the treatment of “inflammatory diseases.” *Inorganica Chimica Acta*, 91(4), 285–294.
- Stern, B. R. (2010). Essentiality and Toxicity in Copper Health Risk Assessment: Overview, Update and Regulatory Considerations. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 73(2-3), 114–127.
- Zeleňák, V., Vargová, Z., & Györyová, K. (2007). Correlation of infrared spectra of zinc(II) carboxylates with their structures. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 66(2), 262–272.
- Zwankhuizen, M. J., Govers, F., & Zadoks, J. C. (1998). Development of Potato Late Blight Epidemics: Disease Foci, Disease Gradients, and Infection Sources. *Phytopathology*, 88(8), 754–763.