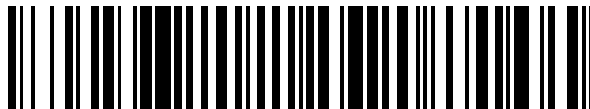


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 802 422**

21 Número de solicitud: 201930641

51 Int. Cl.:

C01G 3/08 (2006.01)
C01G 3/02 (2006.01)
B01J 23/72 (2006.01)
B01J 37/34 (2006.01)
A01N 59/20 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

10.07.2019

43 Fecha de publicación de la solicitud:

19.01.2021

71 Solicitantes:

UNIVERSIDAD CARLOS III DE MADRID (50.0%)
Área de Transferencia de Tecnología, Parque
Científico Universidad Carlos III Leganés
Tecnológico
28918 LÉGANES (Madrid) ES;
UNIVERSIDAD REY JUAN CARLOS (20.0%) y
UNIVERSIDAD DE ALCALÁ (30.0%)

72 Inventor/es:

ENTEZAR SHABESTARI, Marjan;
MARTÍN CÁDIZ, Olga;
BASELGA LLIDÓ, Juan;
GÓMEZ RUÍZ, Santiago;
DÍAZ GARCÍA, Diana;
MONTALVO GARCÍA, Gemma;
GUILLEN CARRETERO, Francisco y
VIDEIRA QUINTELA, Diogo Manuel

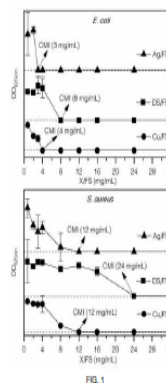
74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

54 Título: **MÉTODO DE OBTENCIÓN DE NANOCOMPUESTOS DE SALES DOBLES DE COBRE Y SU USO COMO CATALIZADOR Y MICROBICIDA**

57 Resumen:

Método de obtención de nanocompuestos de sales dobles de cobre. La presente invención se refiere a un método de obtención de nanocompuestos de sales dobles de cobre soportadas sobre diferentes soportes, como grafeno oxidado y sílice pirogénica, que comprende mezclar los materiales de partida en un disolvente, sonicar con ultrasonidos e irradiar con microondas la mezcla. Los nanocompuestos de sales de cobre obtenidos pueden ser empleados como catalizadores en diferentes reacciones químicas y en el sector biosanitario y alimentario como microbicida.



ES 2 802 422 A1

DESCRIPCIÓN

MÉTODO DE OBTENCIÓN DE NANOCOMPUESTOS DE SALES DOBLES DE COBRE Y SU USO COMO CATALIZADOR Y MICROBICIDA

5

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención pertenece al campo técnico de nuevos materiales y, más específicamente, a nanomateriales basados en sales dobles de cobre.

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El estudio y la investigación de nuevos materiales ambientalmente seguros, poco tóxicos y más efectivos ha ganado mayor atención académica e industrial en los últimos tiempos.

15 Algunas propuestas actuales son las nanopartículas de metales nobles, específicamente las nanopartículas de plata (AgNPs) y cobre (CuNPs), las cuales son bien conocidas por su actividad antibacteriana frente a una gran variedad de microorganismos [1], y ya se aplican en dispositivos médicos, textiles, cosméticos, alimentarios, o materiales de embalaje [2].

20 Específicamente, el tamaño de partícula, además de su forma, puede variar las propiedades antibacterianas de las nanopartículas metálicas [3]. Por ejemplo, las nanopartículas coloidales de Ag y Cu con tamaños medios de partículas de 793 y 292 nm, respectivamente, mostraron valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) muy buenos, concretamente 0,793 y 0,469 mg / L para *Escherichia coli* [4].

25 Por otra parte, los compuestos de cobre son particularmente atractivos para la comunidad científica porque pueden ser un buen reemplazo para los compuestos de paladio en algunas reacciones catalíticas y mejoran la eficiencia por varias razones: el cobre es muy barato en comparación con el paladio, tiene una mayor abundancia natural y es menos tóxico que el paladio, especialmente en reacciones a gran escala. Es por ello que, en los últimos años, el
30 cobre ha recibido una atención creciente debido a su actividad catalítica en las reacciones de oxidación y reducción, y otras reacciones catalíticas de gran alcance, como la cicloadición, la hidrogenación, etc. [5].

35 Todos los estudios catalíticos han demostrado que, en general, las nanopartículas de cobre, con tamaños pequeños y formas diferentes presentan resultados catalíticos más interesantes que los complejos de cobre o materiales no nanométricos a base de cobre debido a que sus áreas superficiales son altamente accesibles y presentan una mayor reactividad [6].

Con el objetivo de mejorar las propiedades físicas y químicas de las nanopartículas metálicas, al prevenir su agregación y mejorar su flexibilidad en términos de aplicabilidad, se puede emplear la inmovilización en un determinado soporte. Se han descrito numerosos materiales de soporte como óxidos metálicos [7, 8], quitosán [9], óxido de grafeno [10, 11], sílices mesoporosas [12], polímeros [13], dióxido de sílice [14, 15], zeolitas [16] y arcilla [17, 18], entre otros.

Por ejemplo, son conocidos al menos 2 rutas de síntesis de nanocompuestos basados en cobre soportados con grafeno u óxido de grafeno. En la primera ruta, las nanopartículas de cobre y el grafeno se sintetizan por separado y luego, la decoración se lleva a cabo a través de diferentes métodos como la deposición química de vapor (CVD) [19], la ultrasonificación [20] y / o procedimientos hidrotermales [21].

Por otro lado, la segunda vía consiste en mezclar una solución de óxido de grafeno y una sal de cobre para posteriormente reducir ambas simultáneamente [22].

Sin embargo, en la mayoría de los métodos se requieren algunos parámetros sintéticos específicos como alta temperatura, control de pH y largo tiempo de reacción [23, 24]. Además, la mayoría de las mezclas resultantes están compuestas de cobre en diferentes estados de oxidación (Cu (0), Cu (I) y Cu (II) [25]).

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención resuelve los problemas presentes en el estado de la técnica mediante un método de obtención de sales dobles de cobre soportadas sobre grafeno oxidado y sílice pirogénica de una forma sencilla y ambientalmente limpia que favorece su dispersión, posterior reciclaje y aplicabilidad en el sector biosanitario y alimentario.

En un aspecto de la invención, se proporciona un método de obtención de nanocompuestos de sales dobles de cobre que comprende las siguientes etapas:

- a) añadir nitrato de cobre, un soporte y un disolvente,
- b) sonicar con ultrasonidos la mezcla obtenida en la etapa a), e
- c) irradiar con microondas.

En este método, gracias a la correcta selección del disolvente se logra la transformación selectiva de los iones Cu^{2+} , procedentes del nitrato de cobre, en la estructura nanométrica deseada, CuO , Cu_2O o sal doble de cobre, $\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{NO}_3$, obteniendo derivados puros, evitando posteriores procesos de purificación.

En el método de la presente invención, el proceso de sonicación favorece tamaños menores de nanopartículas por dispersar adecuadamente todos los componentes.

5 Además, la radiación de microondas focaliza el aporte de energía favoreciendo la nucleación para el crecimiento de partícula sobre la superficie del soporte, disminuyendo las reacciones colaterales y reduciendo el tiempo de reacción.

10 En definitiva, se aumenta el rendimiento de reacción y se evita el uso innecesario de disolventes y reactivos de purificación.

En otro aspecto de la invención, el soporte empleado se selecciona de óxido de grafeno o sílice pirogénica.

15 En otro aspecto de la invención, el disolvente es etanol.

En otro aspecto de la invención, los nanocompuestos de sal doble de cobre soportada en óxido de grafeno son adecuados para su uso como catalizador de reacciones de oxidación y/o de acoplamiento.

20 En un último aspecto de la invención, los nanocompuestos de sal doble de cobre soportada en sílice pirogénica son adecuados para su uso como microbicida de grado alimentario.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

25 Figura 1. Representación de los resultados de CMI en mg/mL de DS/FS, Cu/FS y Ag/ FS para *E. coli* y *S. aureus*. La CMI es la concentración más baja de un agente antimicrobiano que inhibe el crecimiento de un microorganismo (capacidad bacteriostática), y se determina por la disminución de OD a 625 nm (turbidez de la suspensión bacteriológica). En este caso, en las muestras de DS/FS, Cu/FS, y Ag/FS, los valores de CMI determinados fueron 8, 4 y 3 mg/mL para *E. coli* y 24, 12 y 12 mg/mL, para *S. aureus*, respectivamente.

30 Figura 2. Representación de los resultados de CMB (concentración mínima bactericida) en mg/mL de DS/FS, Cu/FS y Ag/ FS para *E. coli* y *S. aureus*. La determinación de la CMB es la concentración más baja de un agente antimicrobiano que produce la muerte de un microorganismo (capacidad bactericida). En este caso, en las muestras de DS/FS, Cu/FS, y 35 Ag/FS, los valores de CMB determinados fueron 8, 16 y 3 mg/mL para *E. coli* y 24, 12 y 32 mg/mL, para *S. aureus*, respectivamete.

DESCRIPCIÓN DE MODOS DE REALIZACIÓN

Habiendo descrito la presente invención, se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1. Método de obtención de una sal doble soportada en óxido de grafeno

5 (Cu₂(OH)₃NO₃/ Óxido de grafeno (DS/ GO))

Se llevó a cabo la síntesis de cuatro nanocompuestos de Cu/ GO. Inicialmente se sintetizó una sal doble de cobre (Cu₂(OH)₃NO₃, DS) utilizando como soporte el óxido de grafeno (GO) y posteriormente se sintetizaron otros nanocompuestos con el mismo soporte, los cuales no son objeto de la invención, pero son empleados para demostrar la actividad y propiedades mejoradas de la sal doble frente a otros nanomateriales de cobre.

10 1. Síntesis de Cu₂(OH)₃NO₃/Óxido de grafeno (DS/GO)

Se agregaron 100 mg de GO en etanol (50 mL) y 100 mL de Cu (NO₃)₂ (0,1-1) M y la mezcla se sonicó con ultrasonidos durante 5 min. Posteriormente se calentó en un microondas de 15 1450 W (Sharp R-742 (IN) W) durante un tiempo total de 2-3 minutos en pasos de 5 a 10 segundos de calentamiento y 10 segundos de enfriamiento.

Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se filtró y el sólido obtenido se lavó con agua desionizada y etanol caliente, al menos 5 veces, y finalmente se secó en un horno de 20 vacío a 60mmHg / 90 °C durante la noche.

2. Síntesis de Cu₂O / GO

Cambiando el solvente a etilenglicol en las mismas condiciones que se mencionaron anteriormente, se obtuvieron nanopartículas de óxido cuproso (Cu₂O) en GO en lugar de la 25 sal doble.

3. Síntesis de Cu / GO

Se agregaron 50 mL de una solución de ácido ascórbico 0,5-2 M en 1 g de DS/GO y se agitó durante 30 minutos. El color de la mezcla cambió de verde azul a marrón rojizo, lo que indica la formación de partículas de Cu/ GO. Cuando se completó la reacción, el producto final se 30 separó por filtración.

4. Síntesis de CuO / GO

El óxido de cobre sobre óxido de grafeno (CuO/ GO) se preparó calentando 1 g de DS/GO en 35 un horno a 250 °C durante 10 min en atmósfera de aire.

Ejemplo 2. Aplicación de la sal doble de cobre soportada en óxido de grafeno (Cu₂(OH)₃NO₃/ Óxido de grafeno (DS/GO)) como catalizador en reacciones de oxidación

Todas las reacciones se realizaron utilizando técnicas estándar de tubo de Schlenk en una atmósfera de nitrógeno seco. Los disolventes se destilaron de los agentes de secado apropiados y se desgasificaron antes de su uso. Los reactivos de las reacciones catalíticas: alcohol bencílico (Fluorochem), yodobenceno (Sigma-Aldrich), ácido fenil borónico (Sigma-Aldrich), 3,5-dimetiltiofenol (Fluorochem), bencilamina (Fluorochem) y metilamina (30% en agua, Sigma-Aldrich) y H₂O₂ (Sigma-Aldrich) se usaron directamente sin purificación adicional.

5

En este ejemplo se llevó a cabo en la oxidación selectiva de alcohol bencílico utilizando H₂O₂ como agente oxidante en dimetil formamida, DMF.

10

La actividad catalítica en la reacción de oxidación del alcohol bencílico se estudió para determinar la actividad catalítica preliminar y selectividad hacia la formación de benzaldehído de los materiales que contienen Cu sintetizados en el ejemplo 1 (DS/GO, Cu/GO, CuO/GO y Cu₂O/GO).

15

En un experimento catalítico típico, 108 mg (1,0 mmol) de alcohol bencílico se disolvieron en DMF (5 mL), 0,15 mL (4,4 mmol) de solución de peróxido de hidrógeno al 30 % (p/p) en H₂O y 25 mg de material que contiene cobre. se añadieron bajo atmósfera de nitrógeno a un tubo Schlenk. La mezcla se agitó a 110 °C durante 24 horas. Posteriormente, la mezcla de reacción se filtró a través de un filtro de nailon (0,45 µm) y el filtrado se analizó mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama o GC-FID (GC Clarus 580 de Perkin-Elmer) con una columna Velocity® (dimetilpolisiloxano, 30 m, 0,25 mm, 1,00 µm) para cuantificar la conversión a benzaldehído. El programa de temperatura para la columna para la detección y cuantificación fue de 90°C (5 minutos), calentamiento durante 3 minutos (rampa 20 °C/min) a 150°C (5 minutos), calentamiento durante 4 minutos (rampa 25 °C/min) a 250°C (6 minutos) y calentamiento durante 2 minutos (rampa 20°C/min) a 290°C. El cromatógrafo de gases tenía una temperatura de inyección de 240 °C y la temperatura del detector era de 300°C.

20

25

30

El estudio se llevó a cabo a 110 °C durante 24 horas y los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados de la oxidación catalítica a las 24 horas empleando como catalizadores: DS/GO, Cu/GO, CuO/GO y Cu₂O/GO.

Reacción	Catalizador	Conversión (%mol) ^a	TON
Oxidación del alcohol bencílico	Cu/ GO	53,0 [>99]	1,46
	DS/ GO	86,9 [>98]	4,72
	Cu ₂ O/ GO	47,5 [>99]	1,8
	CuO/ GO	68,9 [>98]	2,27

^a Los datos entre corchetes se refieren a la selectividad hacia el benzaldehído.

TON (*Turnover number*): % de conversión / Cantidad de sitios activos de catalizador

El estudio catalítico muestra una conversión de oxidación mucho mayor para el material DS/GO con conversiones de hasta el 85 % en comparación con la conversión de los otros materiales que varían de 47 a 69%, lo que indica que la capacidad de oxidación del DS soportado es muy alta, teniendo en cuenta que este material muestra el valor de TON = (% de conversión / cantidad de sitios activos de catalizador). El valor de 4,72 obtenido para DS/GO es mucho más alto que todos los demás, que oscilan entre 1,46 y 2,27. En todos los casos, los sistemas son bastante selectivos ya que la cantidad de benzaldehído obtenido es superior al 98% y solo se obtuvieron trazas de ácido benzoico y benzoato de bencilo. Estos últimos materiales presentan valores de TON similares, que otros sistemas compatibles basados en nanopartículas de Pd [26].

Ejemplo 3. Aplicación de la sal doble de cobre soportada en óxido de grafeno ($\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{NO}_3$ /Óxido de grafeno (DS/GO)) como catalizador en reacciones de acoplamiento C-C

La versatilidad de los compuestos a base de cobre soportados en óxido de grafeno se estudió evaluando su actividad catalítica en diferentes reacciones de acoplamiento. Primero, se analizaron las reacciones de acoplamiento C-C.

La reacción estudiada fue el acoplamiento de yodobenceno (Ph-I) con ácido fenilborónico (Ph-Bor) a 110 °C durante 24 h. La reacción de acoplamiento se llevó a cabo en 5 mL de una mezcla 95:5 DMF:H₂O. Se utilizó yodobenceno como reactivo limitante y con una relación molar entre el haluro y el ácido borónico de 1:1,2. Además, la relación molar entre el haluro y la base (Cs_2CO_3) fue de 1:1 y la cantidad de catalizador fue en todos los casos 25mg.

Todas las reacciones se llevaron a cabo utilizando disolventes desgasificados y en atmósfera de nitrógeno. Para preparar la solución de yodobenceno, se disolvieron 153 mg (0,75 mmol) de yodobenceno en 5,0 ml de una mezcla de disolventes desgasificados (DMF: H₂O 95: 5) bajo nitrógeno en un tubo Schlenk. Posteriormente, se llenó un matraz Schlenk con ácido fenilborónico (110 mg, 0,90 mmol) y Cs_2CO_3 (244 mg, 1,50 mmol) y materiales a base de cobre como catalizador(25mg) y tres ciclos de vacío/N₂ (10 min/1min) se llevaron a cabo para eliminar el oxígeno de la atmósfera de reacción y reducir la cantidad de agua adsorbida hipotética de los sólidos.

Posteriormente, la solución de 1-yodobenceno se transfirió bajo N₂ al matraz Schlenk que contenía la mezcla sólida y la suspensión resultante se calentó a 110 °C y se agitó durante 24 horas. Después de este tiempo, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se filtró sobre un filtro de nailon (0,4 µm). La mezcla de reacción filtrada se inyectó luego en un cromatógrafo

de gases con detector de ionización de llama o GC-FID (Perkin-Elmer GC Clarus 580) con la misma columna, programa de temperatura, temperatura de inyección y temperatura del detector que las descritas en el ejemplo 2.

5 Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Resultados de la reacción de acoplamiento C-C a las 24 horas empleando como catalizadores: DS/GO, Cu/GO, CuO/GO y Cu₂O/GO.

Reacción	Catalizador	Conversión (%mol)	TON
Acoplamiento C-C [(Ph-I) +(Ph-Bor)]	Cu/ GO	45,5	0,95
	DS/ GO	41,1	1,67
	Cu ₂ O/ GO	34,3	0,97
	CuO/ GO	36,5	0,90

TON (*Turnover number*): % de conversión / Cantidad de sitios activos de catalizador

10

Los nanocompuestos estudiados muestran una actividad catalítica moderada con valores de conversión muy similares de alrededor del 40%, sin diferencias significativas de conversión entre los diferentes materiales estudiados. Sin embargo, nuevamente, como sucedió en las reacciones de oxidación, se observan valores TON más altos para DS/GO, que apuntan hacia una actividad catalítica más alta que sus análogos de Cu, CuO o Cu₂O.

15

Ejemplo 4. Aplicación de la sal doble de cobre soportada en óxido de grafeno (Cu₂(OH)₃NO₃/GO (DS/GO)) como catalizador en reacciones de acoplamiento C-S

La versatilidad de los compuestos a base de cobre soportados en óxido de grafeno se estudió evaluando su actividad catalítica en una reacción de acoplamiento C-S.

20

La reacción estudiada fue el acoplamiento de yodobenceno (Ph-I) y 3,5-dimetiltiofenol (Me₂PhSH) a 110°C durante 24 h. La reacción se llevó a cabo utilizando DMSO (5 ml) como disolvente y Cs₂CO₃ como base. El yodobenceno, el 3,5-dimetiltiofenol y el Cs₂CO₃ estaban en una relación molar de 1: 1,2: 2 y la cantidad de catalizador fue en todos los casos ente 22 y 30mg. Todas las reacciones se llevaron a cabo utilizando disolventes desgasificados y en atmósfera de nitrógeno. Para preparar la solución de yodobenceno, se disolvieron 153 mg (0,75 mmol) de yodobenceno en 5,0 mL de DMSO desgasificado bajo nitrógeno en un tubo Schlenk.

25

30

Posteriormente, se llenó un matraz Schlenk con 3,5-dimetiltiofenol (124 mg, 0,9 mmol) y Cs₂CO₃ (488 mg, 1,50 mmol) y materiales a base de cobre como catalizador (25 mg) y tres ciclos de vacío /N₂ (10 min/ 1 min) se llevaron a cabo para eliminar el oxígeno de la atmósfera de reacción y reducir la cantidad de agua adsorbida hipotética de los sólidos.

Posteriormente, la solución de 1-yodobenceno se transfirió bajo N₂ al matraz Schlenk que contenía la mezcla sólida y la suspensión resultante se calentó a 110 °C y se agitó durante 24 horas. Después de este tiempo, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se filtró sobre un filtro de nailon (0,4 µm). La mezcla de reacción filtrada se inyectó luego en un cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama o GC-FID (Perkin-Elmer GC Clarus 580) con la misma columna, programa de temperatura, temperatura de inyección y temperatura del detector que las descritas en el ejemplo 2.

10 Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Resultados de la reacción de acoplamiento C-S a las 24 horas empleando como catalizadores: DS/GO, Cu/GO, CuO/GO y Cu₂O/GO.

Reacción	Catalizador	Conversión (%mol)	TON
Acoplamiento C-S [(Ph-I) +(Me ₂ PhSH)]	Cu/GO	98,1	2,03
	DS/GO	88,4	3,6
	Cu ₂ O/GO	82,2	2,33
	CuO/GO	98,5	2,43

TON (*Turnover number*): % de conversión / Cantidad de sitios activos de catalizador

15

En esta reacción catalítica se observaron conversiones muy altas cercanas al 100% para Cu/GO y Cu₂O /GO y cercanas al 90 % para DS/GO y CuO/ GO, lo que indica que todos los materiales estudiados presentan una muy buena actividad catalítica.

20 Cuando se analizaron los valores de TON, se pudo observar que, al igual que en las reacciones de oxidación y acoplamiento C-C, el catalizador más efectivo fue DS/ GO con un valor de TON de 3.6. Nuevamente, se demostró la versatilidad catalítica de estos materiales basados en Cu y se confirmó la actividad catalítica ligeramente mayor de DS/ GO [27].

25 Ejemplo 5. Aplicación de la sal doble de cobre soportada en óxido de grafeno (Cu₂(OH)₃NO₃/GO (DS/ GO)) como catalizador en reacciones de acoplamiento C-N

La versatilidad de los compuestos a base de cobre soportados en óxido de grafeno se estudió evaluando su actividad catalítica en diferentes reacciones de acoplamiento. Se analizaron las siguientes 3 reacciones de acoplamiento C-N.

30

5.1 Reacción del yodobenceno (Ph-I) con metilamina (MeNH₂)

La reacción estudiada fue el acoplamiento de yodobenceno (Ph-I) y metilamina (MeNH₂) a 110°C durante 24h. La reacción se llevó a cabo utilizando una mezcla de DMF/H₂O como

disolvente (utilizando un volumen final de 5 ml) y Cs_2CO_3 como base. Yodobenceno, metilamina y Cs_2CO_3 estaban en una relación molar de 1: 1,2: 2 y la cantidad de catalizador era de 25 mg. La reacción se llevó a cabo utilizando DMF desgasificado / agua y bajo una atmósfera de nitrógeno. Para preparar la solución de yodobenceno, se disolvieron 153 mg (0,75 mmol) de yodobenceno en 5,0 mL de DMF desgasificado bajo nitrógeno en un tubo Schlenk. Posteriormente, se llenó un matraz Schlenk con 65,2 μl (0,90 mmoles) de metilamina (solución acuosa al 40%), Cs_2CO_3 (488 mg, 1,50 mmoles) y materiales a base de cobre como catalizador (25 mg), y se llevaron a cabo tres ciclos de vacío/ N_2 para eliminar el oxígeno de la atmósfera de reacción. Después, la solución de 1-yodobenceno se transfirió bajo N_2 al matraz Schlenk que contenía la mezcla sólida y la suspensión resultante se calentó a 110°C y se agitó durante 24 horas. Después de este tiempo, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se filtró sobre un filtro de nailon (0,4 μm). La mezcla de reacción filtrada se inyectó luego en un cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama o GC-FID (Perkin-Elmer GC Clarus 580) con la misma columna, programa de temperatura, temperatura de inyección y temperatura del detector que las descritas en el ejemplo 2.

5.2 Reacción del yodobenceno (Ph-I) con bencilamina (BzNH_2)

La reacción estudiada fue el acoplamiento de yodobenceno y bencilamina (BzNH_2) a 110°C durante 24 h. La reacción se llevó a cabo utilizando DMF (5 ml) como disolvente y Cs_2CO_3 como base. Iodobenceno, bencilamina y Cs_2CO_3 estaban en una relación molar de 1:1.2:2 y la cantidad de catalizador fue en todos los casos 25 mg. La reacción se llevó a cabo utilizando DMSO desgasificado bajo una atmósfera de nitrógeno. Para preparar la solución de yodobenceno, se disolvieron 153 mg (0,75 mmol) de yodobenceno en 5,0 mL de DMSO desgasificado bajo nitrógeno en un tubo Schlenk. Posteriormente, se llenó un matraz Schlenk con bencilamina (5,35 mg, 0,050 mmol), Cs_2CO_3 (16,3 mg, 0,050 mmol) y materiales a base de cobre como catalizador (25 mg) y se llevaron a cabo tres ciclos de vacío/ N_2 para eliminar el oxígeno del Atmósfera de reacción. Posteriormente, la solución de 1-yodobenceno se transfirió bajo N_2 al matraz Schlenk que contenía la mezcla sólida y la suspensión resultante se calentó a 110°C y se agitó durante 24 horas. Después de este tiempo, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se filtró sobre un filtro de nailon (0,4 μm). La mezcla de reacción filtrada se inyectó luego en un cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama o GC-FID (Perkin-Elmer GC Clarus 580) con la misma columna, programa de temperatura, temperatura de inyección y temperatura del detector que las descritas en el ejemplo 2.

5.3 Reacción del 4-yodoanisol (Ani-I) con bencilamina (BzNH_2)

La reacción estudiada fue el acoplamiento de 4-yodoanisol (Ani-I) y bencilamina (BzNH_2) a 110°C durante 24 h. La reacción se llevó a cabo utilizando un procedimiento y cantidades

molares idénticos a los descritos en el ejemplo 5.2. Para la reacción del yodobenceno con bencilamina.

Los resultados se muestran en la Tabla 4.

5

Tabla 4. Resultados de las reacciones de acoplamiento C-N a las 24 horas empleando como catalizadores: DS/GO, Cu/GO, CuO/GO y Cu₂O/GO.

Reacción		Catalizador	Conversión (%mol)	TON
Acoplamiento C-S	Ph-I + MeNH ₂	Cu/ GO	99,1	2,05
		DS/ GO	98,6	4,01
		Cu ₂ O/ GO	89,9	2,55
		CuO/ GO	90,6	2,24
	Ph-I + BzNH ₂	Cu/ GO	92,2	1,91
		DS/ GO	88,1	3,59
		Cu ₂ O/ GO	79,8	2,26
		CuO/ GO	80,5	1,99
	Ani-I + BzNH ₂	Cu/ GO	68,5	1,42
		DS/ GO	68,8	2,80
		Cu ₂ O/ GO	60,2	1,71
		CuO/ GO	63,5	1,57

TON (*Turnover number*): % de conversión / Cantidad de sitios activos de catalizador

10 En todos los casos, las conversiones son cercanas al 90 % o más, lo que indica una buena actividad catalítica de estos materiales para esta reacción. Nuevamente la sal doble con óxido de grafeno (DS/GO) presenta el valor TON más alto de 4,01.

15 Los nanocompuestos estudiados se probaron en reacciones de acoplamiento C-N similares, pero reemplazando la metilamina por bencilamina. Los resultados catalíticos muestran una ligera disminución de la conversión, a valores de entre 80-90 %. La disminución de la actividad se debe a la menor reactividad de la bencilamina en comparación con la metilamina debido a los efectos estéricos y electrónicos de la amina. Además, la difusión de la bencilamina en un sistema heterogéneo es más difícil y esto también hace disminuir la actividad catalítica.

20

Finalmente, el estudio catalítico se completó probando los nanocompuestos estudiados en la reacción de 4-yodoanisol con bencilamina, observando que la conversión del derivado de yodofenilo disminuye a valores entre 60-70 %. En este caso, esta disminución de la actividad catalítica se debe a efectos estéricos al comparar el yodobenceno con el 4-yodoanisol.

25 Nuevamente, en todos los casos se observan los valores TON más altos para DS/GO como sucedió con las otras reacciones estudiadas.

Ejemplo 6. Método de obtención una sal doble soportada en sílice pirogénica (Cu₂(OH)₃NO₃/Sílice pirogénica (DS/FS))

Se llevó a cabo la síntesis de nanocompuestos de metal/sílice con estructuras que consistían en plata (Ag) y cobre (Cu), los cuales no son objeto de la invención, y una sal doble de cobre ($\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{NO}_3$, DS) utilizando como soporte sílice pirogénica (*fumed silica*, FS) para todos.

5 1. Síntesis de $\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{NO}_3$ /Sílice pirogénica (DS/FS)

Se agregaron $\text{CuNO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (1 M) en EtOH absoluto a 0,1 g de sílice pirogénica y la mezcla se sonicó con ultrasonidos durante 10 min.

10 Posteriormente, la disolución mixta se irradió con microondas mediante un microondas de 1450 W (Sharp R-742 (IN) W) durante un tiempo total de 2 minutos en pasos de 5 segundos de calentamiento y 30 segundos de enfriamiento.

Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se filtró y el sólido obtenido se lavó con etanol caliente, al menos 5 veces, y finalmente se secó a vacío a temperatura ambiente durante 48 horas.

15

2. Síntesis de Cu/ FS

Para la síntesis de Cu/ FS, se empleó un método en dos etapas. La primera etapa corresponde a la síntesis de DS/FS descrita anteriormente.

20 En la segunda etapa, se dispersaron de 0,1 a 0,2 g de DS/FS en 6 mL de EtOH absoluto durante 15 minutos mediante sonicación con ultrasonidos. Una solución acuosa de ácido ascórbico (1 M, 2 mL) se añadió gota a gota a la suspensión de DS/ FS con agitación vigorosa a temperatura ambiente, para obtener Cu/FS. Después de 10 minutos de reacción, el producto final se recogió por centrifugación y se lavó con agua destilada y etanol varias veces, y luego
25 se secó al vacío a temperatura ambiente durante 48 horas.

3. Síntesis de Ag/FS

El nanocompuesto Ag/FS se sintetizó mediante un método hidrotérmico de una etapa, a través de la reducción de Ag^+ utilizando sólo EtOH como agente reductor. En un experimento típico,
30 se agregaron 10 mL de AgNO_3 (0,1 M) en EtOH absoluto a 0.1 g de sílice pirogénica y se sonicaron durante 10 min. Posteriormente, la solución mezclada se añadió a un reactor hidrotermal y se calentó a 200 °C durante 1 h. El producto resultante, Ag/FS, se recogió por filtración, se lavó con etanol caliente varias veces y se secó al vacío a temperatura ambiente durante 48 h.

35

Las partículas de plata (Ag), sal doble de cobre ($\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{NO}_3$) y cobre (Cu) se sintetizaron mediante los mismos métodos, pero sin la sílice pirogénica. En la síntesis de la sal doble de cobre, después de la irradiación en microondas de 100 ml de $\text{CuNO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (1 M) en EtOH

absoluto, la solución se vertió en una placa de Petri de vidrio y se calentó hasta que se formó el precipitado de $\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{NO}_3$.

Ejemplo 7. Aplicación de la sal doble de cobre soportada en sílice pirogénica ($\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{NO}_3$ /

5 Sílice pirogénica (DS/FS)) como microbicida

La prueba de actividad antibacteriana realizada se basó en la ISO 20776-1:2006 ("*Método de referencia para probar la actividad in vitro de agentes antimicrobianos contra bacterias aeróbicas de rápido crecimiento involucradas en enfermedades infecciosas*") con ligeras modificaciones.

10

Se emplearon *E. coli*, como bacteria modelo Gram negativa, y *Staphylococcus aureus*, como bacteria modelo Gram positiva. Ambas se incubaron en placas de agar de recuento en placa (PCA) a 37°C durante 24h. A continuación, se cultivaron de dos a tres colonias de bacterias en medio de cultivo Mueller-Hinton (MH) durante 2-3 horas a 37°C hasta alcanzar en su

15

crecimiento exponencial un valor de densidad óptica a 625 nm (DO 625nm) de 0.11, correspondiente a 10^8 UFC/ mL.

Posteriormente, el medio bacteriano se expuso a diferentes concentraciones de las muestras de nanocompuestos (de 32 a 0,75 mg / mL), partículas de referencia (de 8 a 0,1875 mg / mL)

20

y los espacios en blanco correspondientes (sin las bacterias) a 37°C durante 24 h con agitación constante (1000 rpm), en placas de 96 pocillos.

La turbidez del crecimiento bacteriano se determinó midiendo la DO 625nm utilizando un espectrofotómetro (lector de absorbancia BioTeK ELx808), para determinar la CMI.

25

La CMI se refiere a la concentración más baja de las muestras compuestas que inhiben el crecimiento dentro de las 24 h. Después de la determinación de la CMI, cada conjunto de bacterias/nanocompuestos se cultivó en placas de agar a 37°C durante 24 h para la determinación de la concentración mínima bactericida (CMB).

30

La concentración bactericida mínima (MBC) se refiere a la concentración más baja de las muestras compuestas que matan el 99% de las bacterias en 24 h. Todos los experimentos se realizaron por triplicado, y los resultados se presentan como media \pm desviación estándar.

35

La actividad antibacteriana se observa claramente por la disminución de DO 625nm en función de las diversas concentraciones de nanocompuestos de las muestras (Fig. 1), siendo el primer valor de DO cercano a cero el considerado como CMI, lo que significa que no hay crecimiento

bacteriano. Para DS/FS, Cu/FS y Ag/FS, los valores de CMI fueron 8, 4 y 3 mg / ml para *E. coli*, y 24, 12 y 12 mg / mL de CMI para *S. aureus*, respectivamente.

5 Se comprobó una clara diferencia entre la actividad antibacteriana de los nanocompuestos, siendo menor en todos los casos con *E. coli* que con *S. aureus*. Este resultado suele deberse a las diferencias en la estructura de la pared celular de bacterias gram negativas y positivas, ya que en estas últimas la presencia de una capa de peptidoglucano más gruesa (aproximadamente 30 nm) confiere mayor resistencia.

10 Para verificar la viabilidad de las bacterias después de determinar la CMI, se evaluó el crecimiento bacteriano en función de las diversas concentraciones de nanocompuestos de las muestras (Fig. 2), con objeto de determinar la CMB. Se observa claramente una inhibición visual con el compuesto Cu/ FS, en las concentraciones 4, 6, 8 y 12 mg/mL para *E. coli*, donde el crecimiento de las colonias se ve claramente afectado, en comparación con el alto
15 crecimiento a bajas concentraciones. Con DS/FS, Cu/FS y Ag/FS, se determinaron valores de CMB de 8, 16 y 3 mg /ml de CMB para *E. coli*, y 24, 12 y 32 mg / mL para *S. aureus*, respectivamente.

20 En la tabla 5 se muestran los resultados de CMI y CMB para *E. coli* y *S. aureus*, con las siguientes nanopartículas:

- Derivados de Ag
 - AgNO₃ (Ag⁺)
 - Nanopartículas de Ag metal (Ag^{*})
 - Nanopartículas de plata sobre sílice (Ag/FS)
- Derivados de Cu
 - CuNO₃ (Cu²⁺)
 - Nanopartículas de cobre metal (Cu)
 - Nanopartículas sal doble de cobre (DS)
 - Nanopartículas de cobre metal sobre sílice (Cu/FS)
 - Nanopartículas sal doble de cobre sobre sílice (DS/FS)
- Sílice pirogénica pura (FS)

25 Las concentraciones en mg/ml (mg nanopartículas en ml de cultivo) obtenidas para CMI o CMB pueden estar referidas a la masa efectiva de metal Cu o Ag o la de nanopartículas (metal + soporte de sílice, X/FS) indicado en cada una de las tres columnas.

Tabla 5. Resultados de la actividad antimicrobiana de las nanopartículas

	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
--	----------------	------------------

	CMI (mg/mL)			CMB (mg/mL)			CMI (mg/mL)			CMB (mg/mL)		
	X/FS	Cu	Ag	X/FS	Cu	Ag	X/FS	Cu	Ag	X/FS	Cu	Ag
DS/FS	8	1.1	-	8	1.1	-	24	3.4	-	24	3.4	-
Cu/FS	4	1.4	-	16	5.5	-	12	4.2	-	12	4.2	-
Ag/FS	3	-	1.3	3	-	1.3	12	-	5.2	32	-	5.2
FS	>32	-	-	>32	-	-	>32	-	-	>32	-	-
DS	-	0.8	-	-	0.8	-	-	1.5	-	-	1.5	-
Cu	-	0.8	-	-	0.8	-	-	2	-	-	2-3	-
Ag⁺	-	-	1-2	-	-	1-2	-	-	4	-	-	8
Cu²⁺	-	1	-	-	1.5	-	-	1.5	-	-	2	-
Ag⁺	-	-	<0.2	-	-	<0.2	-	-	<0.2	-	-	<0.2

5 En conclusión, los valores de CMI y CMB (expresados en mg/ml) para la doble sal son del mismo orden que los que se obtienen en las mismas condiciones para las nanopartículas de plata metálica (que es el microbicida más empleado actualmente). Por lo tanto, la sal doble de cobre ($\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{NO}_3$) utilizando como soporte sílice pirogénica es una alternativa real al uso de plata como microbicida.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] G.V. Vimbela, S.M. Ngo, C. Frazee, L. Yang, D.A. Stout, *Int. J. Nanomed.*, 12 (2017) 3941-3965.
- [2] X.J. He, H. Deng, H.M. Hwang, *J. Food Drug Anal.*, 27 (2019) 1-21.
- 5 [3] D. Acharya, K.M. Singha, P. Pandey, B. Mohanta, J. Rajkumari, L.P. Singha, *Sci Rep*, 8 (2018) 11.
- [4] N.M. Zain, A.G.F. Stapley, G. Shama, *Carbohydr. Polym.*, 112 (2014) 195-202.
- [5] M. B. Gawande, A. Goswami, F. Felpin, T. Asefa, X. Huang, R. Silva, X. Zou, R. Zboril, R. S. Varma, *Chem. Rev.* 116 (2016) 3722-3811.
- 10 [6] A. Fedorov, H. Liu, H. Lo and C. Copéret, *J. Am. Chem. Soc.* 138 (2016) 16502-507.
- [7] J. Albadi, A. Mansournezhad, Z. Derakhshandeh, *Chin. Chem. Lett.* 24 (2013) 821-824.
- [8] Y.M. Chen, Y.M. Deng, Y.T. Pu, B.J. Tang, Y.K. Su, J.N. Tang, *Mater. Sci. Eng. C-Mater. Biol. Appl.*, 65 (2016) 27-32.
- [9] T. Jayaramudu, K. Varaprasad, R.D. Pyarasani, K.K. Reddy, K.D. Kumar, A. Akbari-Fakhrabadi, R.V. Mangalaraja, J. Amalraj, *Int. J. Biol. Macromol.*, (2019).
- 15 [10] T.T.T. Vi, S.R. Kumar, B. Rout, C.H. Liu, C.B. Wong, C.W. Chang, C.H. Chen, D.W. Chen, S.J. Lue, *Nanomaterials*, 8 (2018) 15.
- [11] P. Munnik, P. E. de Jongh, K. P. de Jong, *Chem. Rev.* 115 (2015) 6687-6718.
- [12] S. K. Das, S. Mukherjee, L. M. F. Lopes, Laura M. Ilharco, A. M. Ferraria, A. M. Botelho do Rego, A. J. L. Pombeiro, *Dalton Trans.* 43 (2014) 3215-26.
- 20 [13] Y. He, C. Cai, *Catal. Sci. Technol.* 2 (2012) 1126-29.
- [14] G.A. Sotiriou, S.E. Pratsinis, *Environ. Sci. Technol.*, 44 (2010) 5649-5654.
- [15] M.M. Lu, Q.J. Wang, Z.M. Chang, Z. Wang, X. Zheng, D. Shao, W.F. Dong, Y.M. Zhou, *Int. J. Nanomed.*, 12 (2017) 3577-3589.
- 25 [16] A.P. Osonio, M.R. Vasquez, *Applied Surface Science*, 432 (2018) 156-162.
- [17] S. Jana, A.V. Kondakova, S.N. Shevchenko, E.V. Sheval, K.A. Gonchar, V.Y. Timoshenko, A.N. Vasiliev, *Colloid Surf. B-Biointerfaces*, 151 (2017) 249-254.
- [18] H.L. Su, C.C. Chou, D.J. Hung, S.H. Lin, I.C. Pao, J.H. Lin, F.L. Huang, R.X. Dong, J.J. Lin, *Biomaterials*, 30 (2009) 5979-5987.
- 30 [19] S. Wang, X. Huang, Y. He, H. Huang, Y. Wu, L. Hou, X. Liu, T. Yang, J. Zou, B. Huang, *Carbon*, 50 (2012) 2119-2125.
- [20] P. Fakhri, B. Jaleh, M. Nasrollahzadeh, *J. Molecul. Catal. A: Chemical* 2014, 383–384, 17-22.
- [21] A. P. Periasamy, J. Liu, H. M. Lin, H. T. Chang, *J. Mater. Chem. A* 1 (2013) 5973-5981.
- 35 [22] X. Guo, C. Hao, G. Jin, H. Y. Zhu, X. Y. Guo, *Angew. Chem., Int. Ed.* 2014, 53, 1973–7.
- [23] A. Honraedt, F. Le Callonnec, E. Le Grogneq, V. Fernandez, F. X. Felpin, *J. Org. Chem.* 78 (2013) 4604-4609.

[24] S. Frindy, A. El Kadi, M. Lahcini, A. Primo, H. García, *Catal. Sci. Technol.* 6 (2016) 4306-4317.

[25] P. Mondal, A. Sinha, N. Salam, A. S. Roy, N. R. Jana, S. M. Islam, *RSC Adv.* 3 (2013) 5615-5623.

5 [26] A. Didi, L. M. Gómez-Calcerrada, A. Benhamou, S. Gómez-Ruiz, *Ceramics Int.* 44 (2018) 17266-17276.

[27] A. Sujatha, A. M. Thomas, A. P Thankachan, G. Anilkumar, *Reviews and Accounts* (2015) 1-28, ID: 15-8779LR.

10

REIVINDICACIONES

1. Método de obtención de nanocompuestos de sales dobles de cobre caracterizado por que comprende las siguientes etapas:
 - a) añadir nitrato de cobre, un soporte y un disolvente,
 - 5 b) sonicar con ultrasonidos la mezcla obtenida en la etapa a), e
 - c) irradiar con microondas.
2. Método de obtención de nanocompuestos de sales dobles de cobre según la reivindicación 1, donde el soporte se selecciona de óxido de grafeno o sílice pirogénica.
- 10 3. Método de obtención de nanocompuestos basados en sales dobles de cobre según la reivindicación 1, donde el disolvente es etanol.
4. Uso de un nanocompuesto de sal doble de cobre soportada en óxido de grafeno como catalizador de reacciones de oxidación y/o de acoplamiento.
- 15 5. Uso de un nanocompuesto de sal doble de cobre soportada en sílice pirogénica como microbicida.

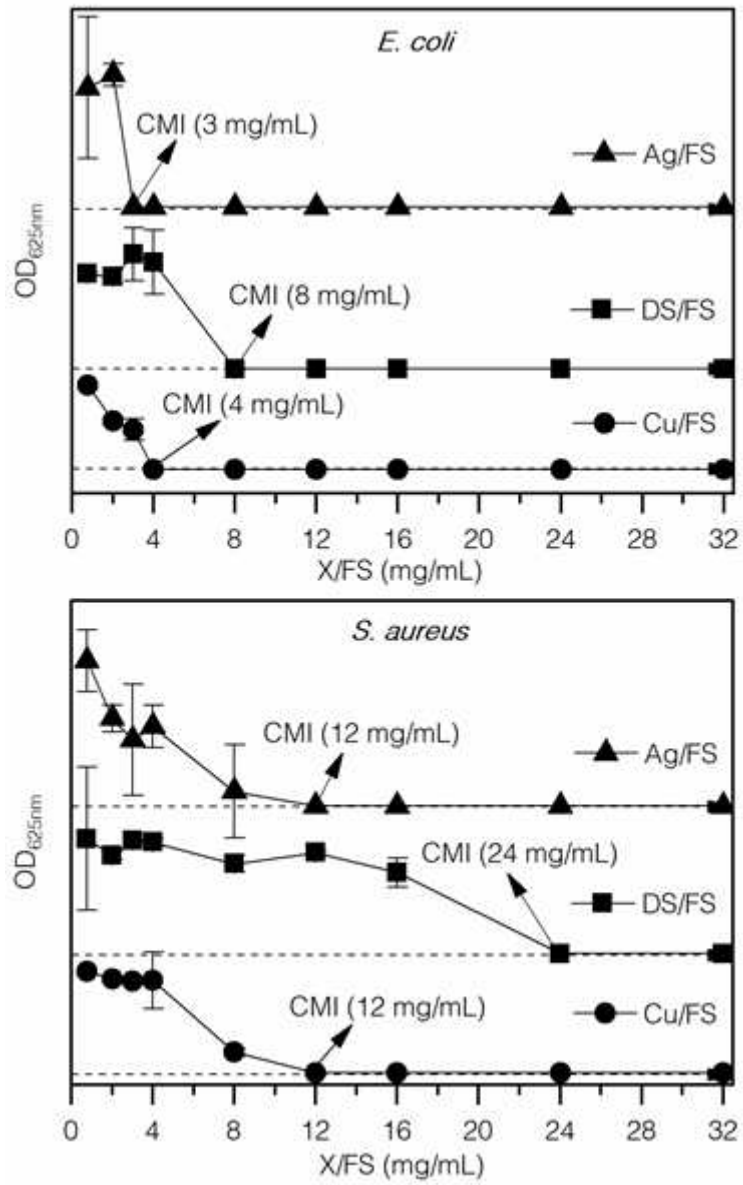


FIG. 1

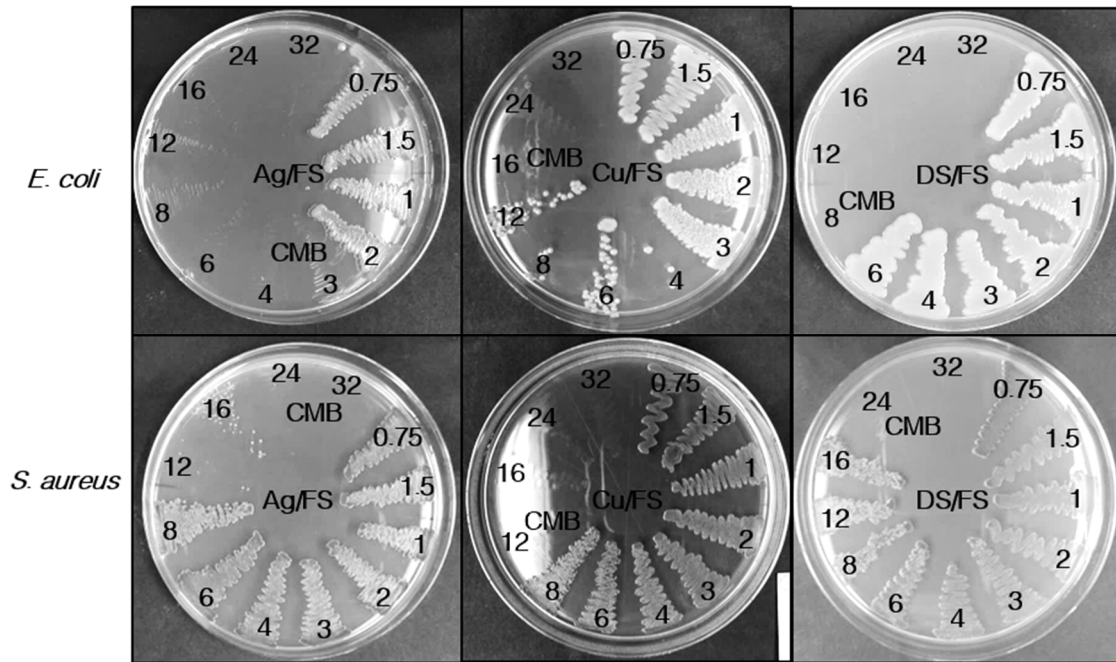


FIG. 2



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201930641

②② Fecha de presentación de la solicitud: 10.07.2019

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	GONZÁLEZ VELÁZQUEZ, V.J., Nanomateriales de Carbono, síntesis, funcionalización y aplicaciones, Tesis Doctoral, 2015 Recuperado de Internet <URL: https://e-archivo.uc3m.es/handle/10016/21605 >. Apartado: 2.3.2.Anclaje de Nanopartículas de Cobre a Cox.	1-3
X	ARCIBAR-OROZCO, J.A., et al., Copper Hydroxyl Nitrate/Graphite Oxide Composite as Superoxidant for the Decomposition/Mineralization of Organophosphate-Based Chemical Warfare Agent Surrogate, Advances Materials Interfaces, 09/11/2015, Vol. 2, Páginas 1500215, <DOI: 10.1002/admi.201500215>. Esquema 1 y apartados: "Introduction" y "Experimental Section".	4
X	DIAZ-GARCIA, D., et al., Preparation and Study of the Antibacterial Applications and Oxidative Stress Induction of Copper Maleamate-Functionalized Mesoporous Silica Nanoparticles, Pharmaceutics, 31/12/2018, Vol. 11, N° 1, Páginas No.: 30, ISSN 1999-4923(print) ISSN 1999-4923(electronic), <DOI: doi:10.3390/pharmaceutics11010030>. Resumen.	5
A	COLLINS, C., et al., A unique structure of Cu ₂ (OH) ₃ NH ₃ crystals in the "silica garden" and their degradation under electron beam irradiation, Chemical Physics Letters, 11/06/1999, Vol. 306, N° 3-4, Páginas 145 - 148, ISSN 0009-2614 (print), <DOI: doi:10.1016/S0009-2614(99)00438-8>. Apartado: "Experimental" y figs.	1-5
A	RAGHAVENDRA, G.M., et al., Chitosan-mediated synthesis of flowery-CuO, and its antibacterial and catalytic properties. CARBOHYDRATE POLYMERS, 24/04/2017, Vol. 172, Páginas 78 - 84, ISSN 0144-8617, <DOI: doi:10.1016/j.carbpol.2017.04.070>. Resumen y figs.	1-5
A	CN 101273723 A (UNIV QUFU NORMAL) 01/10/2008, Resumen.	1-5
A	CN 105032353 A (UNIV KUNMING SCIENCE & TECH) 11/11/2015, Resumen.	1-5

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

21.02.2020

Examinador

M. d. García Poza

Página

1/2

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C01G3/08 (2006.01)

C01G3/02 (2006.01)

B01J23/72 (2006.01)

B01J37/34 (2006.01)

A01N59/20 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C01G, B01J, A01N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, NPL, INSPEC, COMPENDEX