

00572
3
2y



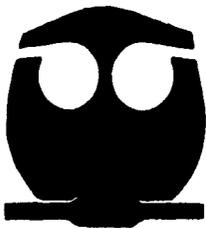
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO DE LA ASOCIACION DE
COPROPORFIRINA I EN DISOLUCION ACUOSA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS QUIMICAS
(QUIMICA INORGANICA)
P R E S E N T A :
HUGO MORALES ROJAS



CIUDAD UNIVERSITARIA, MEX. D.F. JUNIO 1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

TESIS

COMPLETA

JURADO ASIGNADO SEGÚN EL TEMA:

PRESIDENTE	Dr. Miguel Costas Basín
PRIMER VOCAL	Dr. Armando Cabrera Ortíz (I.Q.)
SECRETARIO	Dr. David Díaz
PRIMER SUPLENTE	Dr. Jesús Valdés Martínez
SEGUNDO SUPLENTE	Dra. Laura María Gasque Silva

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 213

Departamento de Química Inorgánica y Nuclear

División de Estudios de Posgrado

Facultad de Química , U.N.A.M.

Asesor:

Dr. Anatoli K. Iatsimirski

Sustentate:

Q. Hugo Morales Rojas

RESUMEN

Se estudió por espectrofotometría UV-vis, fluorescencia y RMN ^1H , la autoasociación de la Coproporfirina I (Cpl) en disolución acuosa como modelo para explorar los factores que contribuyen a las interacciones denominadas π - π . Se cuantificaron diferentes efectos del medio como son: el pH, la fuerza iónica, la naturaleza del electrolito, codisolventes y la temperatura.

Las sales como NaCl, KNO_3 y KCl, promueven la dimerización de Cpl y los cationes Ca^{2+} son aún más efectivos. Por el contrario, las sales cuaternarias de amonio y los codisolventes empleados (metanol, etanol, dioxano y acetona) promueven la monomerización. Los efectos del pH y la fuerza iónica se explicaron mediante un ciclo de equilibrios que involucran el monómero, el dímero y las respectivas especies protonadas.

Los parámetros termodinámicos evaluados para el proceso de asociación dependen de la característica observada en la molécula y se encontró compensación con los valores de otras porfirinas en diferentes disolventes.

Se estudió la cinética de inserción del ion Cu^{2+} en la molécula de Cpl, utilizando el complejo de bis(etilendiamina) de cobre (II). Se corroboró el mecanismo que involucra un intermediario tipo SAT (sitting-atop) y se presenta evidencia de la baja reactividad de la Cpl dimerizada. Como un efecto paralelo, se observó que la molécula de etilendiamina interacciona con la Cpl aún en ausencia del ion metálico.

ÍNDICE

	Página
1. Introducción	
1.1. Naturaleza de las interacciones π - π	3
2. Antecedentes	
2.1. Porfirinas. Generalidades.....	9
2.2. Asociación de porfirinas y metaloporfirinas.....	12
2.3. Coproporfirina I.....	17
3. Objetivos.....	21
4. Metodología Experimental.....	25
5. Resultados y Discusión	
5.1. Dimerización de Coproporfirina I en función del pH y la fuerza iónica.....	31
5.2. Efecto de la naturaleza del electrolito.....	51
5.3. Efecto del disolvente.....	59
5.4. RMN y dependencia de la temperatura.....	72
5.5. Cinética de inserción de un ión metálico (Metalación).....	85
6. Conclusiones.....	99
7. Apéndices.....	103
8. Bibliografía.....	121
Agradecimientos	

1.1 Naturaleza de las interacciones π - π

Las interacciones no covalentes entre moléculas aromáticas tienen un papel determinante en el tipo de estructuras y propiedades de los sistemas moleculares en biología, química y la ciencia de los materiales. Estas interacciones llamadas comúnmente π - π , se conocen desde hace mucho tiempo, mucho antes de que el concepto de aromaticidad fuera bien entendido.¹

Se sabe que estas interacciones controlan diversos fenómenos de reconocimiento molecular y autoensamblaje, tales como la estabilidad del DNA por medio de la interacción entre pares de sus bases, el reconocimiento molecular de fármacos por receptores biológicos y enzimas, la estructura terciaria de las proteínas, la complejación en muchos sistemas huésped-anfitrión y la agregación de porfirinas. No obstante, la fuerza directriz que promueve este tipo de interacciones aún no está bien entendida. Cuando los investigadores obtienen resultados inesperados en un sistema que contiene electrones π , normalmente tienden a invocar *los poderes mágicos* de las interacciones π - π , del apilamiento π (π -stacking), de las transferencias de carga, de las interacciones π ácido-base o de las interacciones electrodonador-electroaceptor. El amplio número de términos utilizados para describir el mismo fenómeno refleja la confusión existente acerca de la naturaleza exacta de estas interacciones.^{2,3}

Hasta el momento, no existe un modelo adecuado que explique las observaciones experimentales para este tipo de sistemas. A partir de cálculos *ab initio*, semiempíricos y de dinámica molecular se han podido reproducir resultados experimentales para un número limitado de sistemas, pero no explican el mecanismo básico de estas interacciones.⁴⁻⁸

Hunter y Sanders⁹ han propuesto un modelo electrostático donde las interacciones π - π ocurren cuando una interacción atractiva entre los electrones π y la estructura σ producen contribuciones más favorables con respecto a la repulsión de los electrones π . También han informado que mediante la inclusión de la molécula 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano (DABCO) en el dímero de una metaloporfirina unida covalentemente, **figura 1.1.1**, es posible evaluar la magnitud de la interacción entre los planos de la molécula de porfirina. El valor estimado para la energía de esta interacción fue de -11 ± 2.4 Kcal/mol.⁴⁷

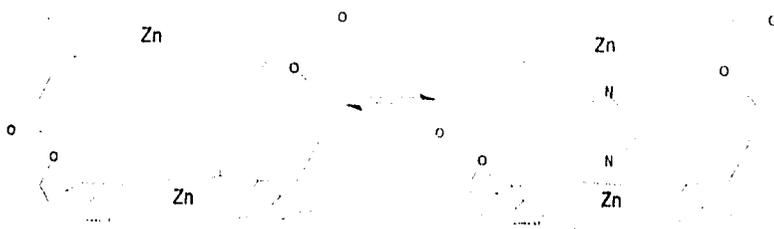


Figura 1.1.1 Dímero covalente de una metaloporfirina de Zn y su interacción con la molécula DABCO. $\Delta H_{f,r} = -11 \pm 2.4$ Kcal/mol⁴⁷. Se han omitido los nitrógenos pirrólicos para mayor claridad.

En general, son varios los factores que contribuyen a la magnitud de cualquier interacción no covalente entre dos moléculas¹⁰: i) *Las interacciones de van der Waals*, también llamadas *fuerzas de dispersión*, que es la suma de la energía de atracción y de repulsión debida a dipolos transitorios en una molécula, ii) *la interacción electrostática*, término que se utiliza para referirse a las diferentes contribuciones debido a cargas permanentes, dipolos o multipolos en una molécula, iii) *la energía de inducción* que es la interacción entre distribuciones estáticas de carga de una molécula y el cambio inducido en la distribución de carga de la otra, iv) *las transferencias de carga (charge transfer, CT por sus siglas en inglés)* que se explican como una estabilización debido a la mezcla del estado basal (AB) de las moléculas y el estado excitado de cargas separadas (A^+B^-) y v) la diferencia en la energía de solvatación de las moléculas separadas y la especie asociada.

Una contribución adicional es que las especies de carbono aromáticas son generalmente consideradas hidrofóbicas debido al comportamiento que el benceno y sus derivados no polares muestran al ser transferidos de un líquido puro hacia un medio acuoso (ΔH es pequeño y positivo o negativo, ΔS es grande y negativo, ΔC_p es grande y positivo). Estas características termodinámicas, también mostradas por hidrocarburos saturados, han sido comúnmente explicadas como una preferencia de las moléculas de agua a interactuar más entre sí que con el hidrocarburo. Las moléculas de agua forzadas a estar cerca del soluto no polar tienen un exceso de energía libre que se manifiesta por el alto grado de orden que presenta el seno de la disolución acuosa.^{11,12}

Por el contrario, la autoasociación de heterociclos aromáticos en disolución acuosa, por ejemplo derivados de purinas y pirimidinas, es entálpicamente favorable pero entrópicamente desfavorable. La explicación que se ha dado es que este tipo de asociaciones son promovidas por atracciones entre cargas parciales dentro de los anillos adyacentes, más que por la exclusión mutua de las moléculas de agua. Esto también se ha denominado como un efecto hidrofóbico no clásico.¹³

En el campo de los sistemas huésped-anfitrión, Diederich ha estudiado la importancia de las interacciones entre moléculas aromáticas en la formación de complejos entre ciclofanos y diversos huéspedes. Ha establecido que la polaridad del disolvente (correlacionada con el parámetro de solvatación de Reichardt, E_T) incrementa las constantes de asociación ($\approx 10^6$ veces) al pasar de un disolvente no polar a uno polar.^{14,15}

En los últimos años se han aportado pruebas a favor de que las interacciones electrostáticas son las que determinan la orientación de las interacciones entre moléculas aromáticas¹⁶⁻²⁰ Por ejemplo, en el estudio de la energía de la barrera de rotación para diarilnaftalenos sustituidos, **figura 1.1.2**, la menor energía de rotación se tiene cuando los sustituyentes son electrodonadores ($X=Y=OMe$), mientras que la barrera energética más alta se manifiesta con sustituyentes electroatrayentes ($X=NO_2$, $Y=COOMe$). La energía intermedia se tiene cuando hay un sustituyente electroatrayente y otro electrodonador. Este último caso es el que favorecería la interacción mediante un mecanismo de transferencia de carga o por interacciones donador-aceptor. La evidencia anterior indica que los anillos aromáticos mantienen una posición paralela más estable cuando la repulsión electrostática disminuye.^{2, 19, 20}

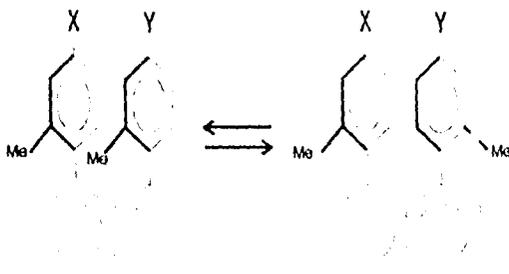


Figura 1.1.2 Equilibrio de epimerización para 1,8-diarilnaftalenos sustituidos.

Otra ejemplo es la geometría que presenta la asociación de la molécula de benceno en estado sólido y en el estado líquido.^{7,16,19} La resolución de la estructura cristalina y simulaciones del tipo Monte Carlo han permitido determinar que la geometría cara a cara tiene una menor estabilidad que una geometría cara a cara ligeramente desplazada (A) o un arreglo perpendicular (B), figura 1.1.3.

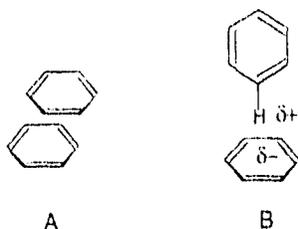


Figura 1.1.3 Geometrías estables para el dímero de benceno.

Existen evidencias que confirman la importancia de las interacciones de van der Waals, electrostáticas e hidrofóbicas en las llamadas interacciones π - π . En el caso de las transferencias de carga (CT) y las interacciones donador-aceptor (*electrodonor-acceptor*, EDA por sus siglas en inglés) se ha encontrado de forma teórica y experimental que consisten principalmente de contribuciones de origen electrostático.^{21,22}

Si deseamos entender verdaderamente el papel de las interacciones π - π en el control de varios sistemas químicos y biológicos o construir receptores sintéticos con propiedades específicas en el reconocimiento, es muy importante conocer la magnitud relativa de cada una de estas contribuciones.

A pesar de la gran cantidad de literatura existente acerca de estas interacciones, no hay aún un estudio experimental sistemático de moléculas aromáticas simples que sin ambigüedades establezca la importancia relativa de estas contribuciones. Dentro de las moléculas aromáticas, las porfirinas presentan un comportamiento químico y propiedades espectroscópicas particulares, que las hacen muy atractivas como modelo para estudiar la naturaleza de éstas interacciones en disolución.



2. Antecedentes

2.1 Porphirinas. Generalidades

Las porfirinas son compuestos derivados de la porfina, figura 2.1.1, por la sustitución de alguna o todas las posiciones periféricas. La química de este tipo de compuestos ha sido estudiada extensamente desde el siglo pasado y existen compendios espléndidos acerca de su reactividad, distribución e importancia biológica.²³⁻²⁵

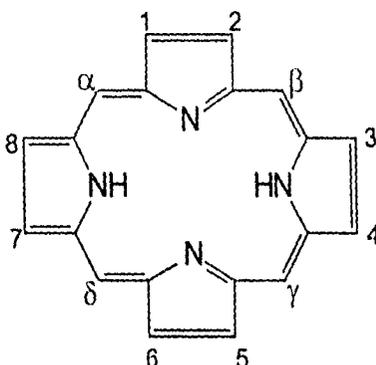
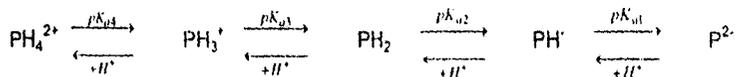


Figura 2.1.1. Anillo de la molécula de Porfina. Posiciones periféricas sustituibles 1-8 y posiciones interpirrolicas α, β, γ y δ , llamadas comúnmente *meso*.

El macrociclo de la porfina está altamente conjugado y pueden escribirse muchas formas resonantes. Hay 22 electrones π , pero solamente 18 de estos están incluidos en la deslocalización de acuerdo con la regla de Hückel ($4n+2$) para el criterio de aromaticidad. Las porfirinas son compuestos altamente coloridos y sus principales bandas de absorción tienen coeficientes de absorptividad muy grandes siendo la banda de Soret, ubicada alrededor de los 400 nm, característica de la conjugación del macrociclo.

La porfina puede verse como un anfótero con dos átomos de nitrógeno capaces de aceptar protones y dos grupos NH susceptibles de perderlos. Formalmente pueden escribirse los siguientes equilibrios para las constantes de acidez de una porfina sin grupos laterales ionizables:



Las porfirinas se comportan como ácidos muy débiles, de manera que para observar la especie deprotonada (P^{2-}) se requiere de sustancias tales como el alcóxido de sodio. Las porfirinas que se encuentran en la Naturaleza, poseen normalmente cadenas laterales de ácidos carboxílicos, para estos grupos se ha propuesto una ionización de manera simultánea con los nitrógenos pirrólicos con un aparente incremento en la basicidad de la porfirina.²⁶ Normalmente, para evitar esta complicación se trabaja con los ésteres de los ácidos carboxílicos pero con el inconveniente de la insolubilidad en medios acuosos. Las cadenas de ácidos carboxílicos comúnmente encontradas en las porfirinas naturales, son los grupos carboximetil y β -carboxietil. A pesar de que no se ha podido determinar directamente la acidez de estos grupos en las porfirinas, algunos cálculos han propuesto que el pK_a para una porfirina monocarboxilada es de 4.8, dicarboxilada \approx 5.6, tetracarboxilada \approx 6.5 y octacarboxilada \approx 7.3.²⁷

Los pigmentos pirrólicos (porfirinas, clorofilas, vitamina B₁₂, pigmentos biliares) constituyen la materia colorida más abundante en los sistemas naturales. Algunos de ellos se presentan como complejos con iones metálicos y tienen un papel importante en los sistemas vivos, por ejemplo el grupo hemo (complejo de hierro (II) de la protoporfirina IX) que es el grupo prostético de la hemoglobina y la mioglobina y se encuentra presente en los citocromos y en las enzimas peroxidasa y catalasa.²⁸⁻³⁰

Los isómeros I y III de coproporfirina y uroporfirina, así como la protoporfirina IX, **tabla 2.1.1**, son encontrados frecuentemente en su forma libre en sistemas biológicos. Se conoce que son intermediarios en la biosíntesis del grupo hemo y normalmente se encuentran en cantidades pequeñas en los tejidos y en la orina, además de que son excretados por muchos microorganismos.³¹ Altas concentraciones de estas especies se presentan bajo ciertas condiciones patológicas junto con cantidades reducidas de otros isómeros. La Protoporfirina IX y las coproporfirinas se encuentran también en las raíces de las leguminosas y en trazas en plantas más grandes, mientras que pequeñas cantidades de uroporfirinas se encuentran en las hojas.

Tabla 2.1.1 Porfirinas que se encuentran en la Naturaleza en su forma libre.

Las posiciones están referidas a lo indicado en la figura 2.1.1.

Porfirina	1	2	3	4	5	6	7	8	meso
<i>Deuteroporfirina-IX</i>	Me	H	Me	H	Me	P ^H	P ^H	Me	H
<i>Protoporfirina-IX</i>	Me	V	Me	V	Me	P ^H	P ^H	Me	H
<i>Coproporfirina I</i>	Me	P ^H	H						
<i>Coproporfirina III</i>	Me	P ^H	Me	P ^H	Me	P ^H	P ^H	Me	H
<i>Uroporfirina I</i>	A ^H	P ^H	H						
<i>Uroporfirina III</i>	A ^H	P ^H	A ^H	P ^H	A ^H	P ^H	P ^H	A ^H	H

Me= metilo, V= vinilo, P^H=β-carboxietil, A^H= carboximetil

2.2 Asociación de Porphirinas y Metaloporphirinas

La reactividad de las porfirinas es amplia y variada, figura 2.2.1. En este espacio queremos hacer énfasis solamente en la gran capacidad que tienen para formar agregados estables con ellas mismas o con otras moléculas aromáticas y de interés biológico, mediante interacciones no covalentes. Esta característica hace a la porfirina una molécula interesante como modelo para estudiar la naturaleza de las interacciones π - π .

Las asociaciones que pueden presentar las porfirinas son de dos tipos:

- 1) autoasociación
- 2) heteroasociación.

La autoasociación es el proceso por el cual un determinado soluto interacciona consigo mismo para formar especies estables, que pueden ser dímeros, trímeros o polímeros de orden mayor.

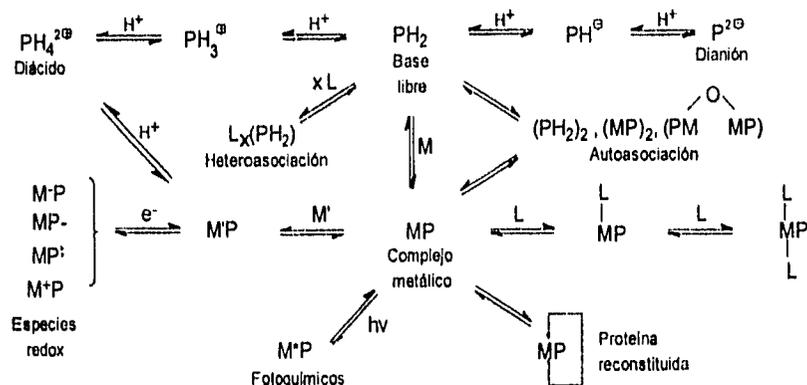


Figura 2.2.1. Reactividad de las porfirinas, PH_2 = porfirina libre, M= ion metálico, L= ligante

La autoasociación de las porfirinas y las metaloporphirinas es un fenómeno que se conoce desde hace tiempo. Se ha detectado principalmente por métodos espectroscópicos (UV-visible, fluorescencia, RMN, Raman).^{1,32-39} El espectro electrónico en la región ultravioleta-visible (UV-vis) presenta dependencia de la concentración de la porfirina.³³⁻³⁴ La observación de batocromicidad en el espectro se ha tomado como evidencia de la especie asociada y en muchos casos ésta se promueve por la presencia

de sales en medios acuosos.^{38,40-41} Las porfirinas tienen la ventaja de ser evaluadas por la observación de los cambios espectrales en la banda de Soret ($\epsilon \approx 5 \times 10^5$), lo que permite detectarlas en concentraciones muy pequeñas.

Por otra parte, el espectro de resonancia magnética nuclear protónica (RMN H^1) depende del disolvente, la concentración y la temperatura. Esto refleja también la tendencia de las porfirinas hacia la autoasociación.⁴² El cambio en los desplazamientos químicos en las porfirinas se ha explicado como la combinación de la fuerte anisotropía magnética que presentan los sistemas aromáticos debido a la inducción de un campo magnético por la corriente generada en el movimiento de los electrones π (corriente de anillo), provocando una protección adicional a los protones *meso* y además, debido también a las interacciones intermoleculares específicas del sistema π de una molécula de porfirina con los protones de la otra.⁴³

Durante los últimos años se ha puesto énfasis en el estudio de porfirinas sintéticas que son solubles en agua, en particular, aquellas que están sustituidas en la posición *meso*, **tabla 2.2.1**. Estas porfirinas forman agregados que presentan una fuerte dependencia de la carga de la porfirina y del medio (fuerza iónica, pH y disolvente).

La preferencia a la autoasociación de las porfirinas cargadas negativamente (i.e. TPPS₄ o TCPP) es notable. Esta tendencia no se había observado en porfirinas cargadas positivamente como TMPyP (tetrakis(N-metil-2-piridinio) porfirina) hasta hace poco tiempo que se encontró evidencia cualitativa de porfirinas con grupos amonio o aminas terciarias con cargas positivas que tienden a la autoasociación en medio acuoso.^{44,45,55}

De acuerdo con varias observaciones experimentales se han propuesto tres tipos de autoasociación en las porfirinas y metaloporfirinas:^{36,46} i) una asociación débil de la porfirina libre en disolventes no acuosos debido a "interacciones π - π ", ii) una asociación que se incrementa por la presencia en el macrociclo de iones metálicos tetracoordinados en medios acuosos y iii) una asociación que se promueve por la interacción del ion metálico de una molécula de metaloporfirina y los sustituyentes periféricos de otra.

Como se ha descrito, el grado de autoasociación de las porfirinas es afectado por diversos factores como la presencia de sales, la presencia de un ión metálico y el disolvente. Sin embargo, hasta la fecha no se ha llevado a cabo un estudio sistemático para evaluar la influencia de cada uno de estos factores y el mecanismo de la asociación.

Tabla 2.2.1 Constantes de formación del dímero para diversas porfirinas

Porfirina	K_f (M^{-1})	medio	referencia
no sustituidas en meso			
PPIX(en) ₄	7.5×10^5	H ₂ O, 0.1 M KNO ₃ , pH= 6.0, 25 °C	32
PPIX(en) ₄	1×10^5	25% etanol, 0.1 M KNO ₃ , pH= 6.0, 25°C	32
Protoporfirina IX	$> 10^0$	H ₂ O, 0.1 M NaCl, pH= 7.0, 25 °C	39
sustituidas en meso			
TPPS ₃	4.82×10^4	H ₂ O, 0.1 M KNO ₃ , pH=7.5 (TRIS), 25°C	33
TPPS ₄	9.6×10^4	H ₂ O, 20°C	35
T CPP	4.55×10^4	H ₂ O, 0.1 M KNO ₃ , pH=7.5 (TRIS), 25°C	33
CuTPPS ₄	6.7×10^4	H ₂ O, 20°C	35
PdTPPS ₄	2.1×10^5	H ₂ O, 20°C	35
CuT CPP	1.7×10^5	H ₂ O, 0.1 M KNO ₃ , pH=7.5 (TRIS), 25°C	34
NITCPP	1.6×10^5	H ₂ O, 0.1 M KNO ₃ , pH=7.5 (TRIS), 25°C	34

PPIX(en)₄ = tetrakis(etilendiamina) protoporfirina IX, TPPS₃ = tris(4-sulfonatofenil) porfirina, TCPP = tetrakis(carboxifenil) porfirina, TSSP₄ = tetrakis(4-sulfonatofenil) porfirina

Por otra parte, el proceso de heteroasociación, que se presenta cuando la porfirina interacciona con especies diferentes a ella (*ligantes*), es por mucho el más estudiado. La gran mayoría de las investigaciones se han realizado con porfirinas sintéticas sustituidas en la posición *meso* y con dímeros unidos covalentemente.^{46,47} El tipo de *ligante* estudiado ha sido muy diverso: ciclodextrinas,^{48,49} quinonas,⁵⁰ aminoácidos,⁵¹ fenantrolinas,⁵² ftalocianinas,⁵³ nucleótidos y nucleósidos,⁵⁴ DNA^{44,45,55,56} y diversas moléculas aromáticas con sustituyentes con carga.^{57,58}

Parte de esta preferencia se debe a que el estudio experimental de la autoasociación es más difícil que el de la heteroasociación, ya que se dispone de un grado de libertad menos, el que corresponde a la concentración del ligante. Por otra parte, para poder detectar, evaluar e interpretar correctamente los procesos de heteroasociación es necesario conocer la posible autoasociación de las moléculas que estén implicadas.

Por mucho tiempo se ha creído que la estructura de los agregados formados por la asociación de porfirinas es simplemente un arreglo paralelo donde la superficie de contacto es máxima, lo que optimiza las interacciones de van der Waals. Algunos cálculos de mecánica molecular predicen esta conformación, sin embargo, se ha encontrado

evidencia experimental mediante estudios por RMN de metaloporfirinas^{43,59} y dímeros covalentes,⁴⁶ en donde la conformación preferida es una estructura ligeramente desplazada (offset) figura 2.2.2.

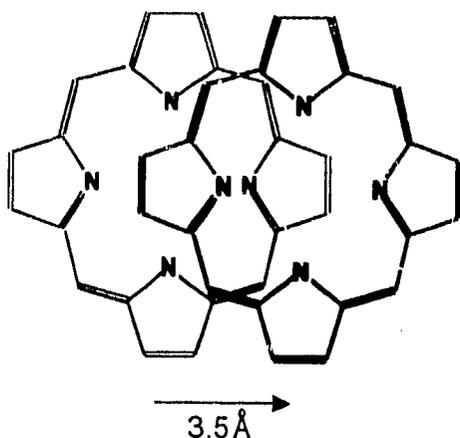


Figura 2.2.2. Estructura de la asociación en metaloporfirinas y dímeros covalentes. Se ha omitido el metal para mayor simplicidad.

Por otra parte, se ha estudiado también la heteroasociación de porfirinas con diferente carga o diferente centro metálico, **tabla 2.2.2**. El valor de la constante para la heteroasociación es mucho mayor que para la autoasociación ya que principalmente se trata de interacciones ion-ion. Estos estudios son muy importantes debido a sus posibles aplicaciones como sistemas fotosintéticos artificiales.⁶⁰⁻⁶⁴ Precisamente, una gran motivación para la realización de investigación en este campo es la mimetización del centro de reacción de las clorofilas, el cual es un oligómero de clorinas, donde se llevan a cabo transferencias electrónicas eficientes.⁶⁵

La presencia de surfactantes es uno de los efectos del medio que ha tenido especial atención, por que evita la asociación de las porfirinas en disolución acuosa y además, permite estudiar la heteroasociación en un medio organizado.^{40,41,66}

Tabla 2.2.2 Heteroasociación entre porfirinas con diferente carga

Porfirinas	K_f (M^{-1})	Medio	Referencia
TPPPS ₂ -TTAP	9×10^7	H ₂ O-Acetona (1:1), 25°C	39
CuTTAP-ZnTPPS ₄	1.37×10^7	H ₂ O-Acetona (1:1), 25°C	39
ZnTCCP-ZnTMPyP	6.2×10^5	H ₂ O-Metanol (4:1), 25°C	38

TTAP= meso-tetrakis(p-trimetilfenilammonio) porfirina, TMPyP= tetrakis(N-metil-2-piridinio) porfirina, TSPS₄ = tetrakis(4-sulfonatofenil) porfirina

La forma como se ha explicado la acción de los surfactantes con las porfirinas es mediante una interacción entre las partes polares de la porfirina (los nitrógenos pirrólicos y los sustituyentes laterales) y la parte polar del surfactante, mientras que las partes no polares e hidrofóbicas también interaccionan, evitando así, la asociación con otras moléculas.

Por si mismo, el estudio de la autoasociación es de gran relevancia, pues constituye la base de los fenómenos de autoensamblaje, mecanismo que es utilizado por los biopolímeros para construir estructuras complejas. La información necesaria para la construcción de estas estructuras está contenida en las propias moléculas, sin que se requieran mecanismos de regulación adicionales.⁶⁷⁻⁶⁸

Dentro de los equilibrios de autoasociación, la formación de dímeros tienen una importancia especial, ya que son los procesos de asociación más sencillos y en cierto modo, los más frecuentes. Se piensa que el primer paso en la asociación de las biomoléculas es precisamente el encuentro de un par de ellas controlado por difusión.

En este sentido, la autoasociación de las porfirinas tiene un gran interés debido a la influencia que presenta en propiedades tales como la transferencia electrónica fotoinducida,⁶¹⁻⁶⁴ el enlazamiento a proteínas y al DNA,⁶⁵ en la relajación de los protones del agua inducida por compuestos porfirínicos usados como agentes de contraste en RMN,⁶⁹ en la cinética de inserción de los iones metálicos y sus aplicaciones analíticas,⁷⁰ así como en los usos potenciales de las porfirinas como fármacos antineoplásicos,⁷¹ en sistemas catalíticos⁷² y fotoquímicos.⁶⁵

2.3 Coproporfirina I

En la mayoría de los trabajos en autoasociación y heteroasociación de porfirinas se han utilizado porfirinas sintéticas sustituidas en la posición *meso* y sus complejos metálicos. La razón del cambio hacia el estudio con estas especies obedece a que introduciendo grupos ionogénicos en los sustituyentes *meso* facilitan la disolución en agua y en muchos casos, se evita la autoasociación. Sin embargo, este cambio puede tener sus inconvenientes, ya que la sustitución en *meso* cambia las propiedades de las porfirinas y la extensión de los resultados hacia sistemas biológicos, donde la mayoría de las porfirinas tiene la posición *meso* libre, no es del todo realista. Por esta razón, decidimos estudiar una porfirina natural, caracterizando primero su comportamiento en disolución acuosa como un primer paso hacia el estudio de otros efectos.

La Coproporfirina I (Cpl), **figura 2.3.1**, es una porfirina natural soluble en agua. La molécula es un tetraanión si están desprotonados los carboxilos en disolución acuosa. La basicidad del éster de Cpl en disolución acuosa se ha determinado únicamente en presencia de medios micelares de dodecil sulfato de sodio y el valor encontrado para el pK_{a3} fue de 5.5 a 20°C.²⁶ Sin embargo, este valor no es adecuado para el estudio que pretendemos, ya que los surfactantes tienden a desplazar el pK_a por lo que se podría esperar un valor diferente para la Cpl no esterificada en disolución acuosa.

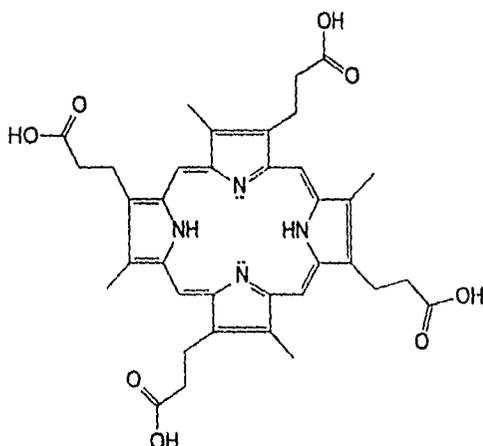


Figura 2.3.1 Coproporfirina I (Cpl).

Por otra parte, sólo se ha informado la constante de asociación para el isómero III de la Coproporfirina en CDCl_3 por RMN ^1H y tiene un valor de 3.5 M^{-1} .⁷³ Para el mismo isómero el complejo con Ti (III) tiene una constante de asociación de 4.11 M^{-1} en CDCl_3 .⁷⁴

El espectro de fluorescencia de Cpl a $\text{pH} > 6.9$ se ha observado que presenta dos máximos, uno en 670 nm y otro más intenso en 610 nm, **figura 2.3.2**. Las especies metaladas de Cu, Ni, Co, Fe, y Mn no presentan fluorescencia, mientras que el complejo con Zn tiene dos máximos en 580 nm y 630 nm.⁷⁰

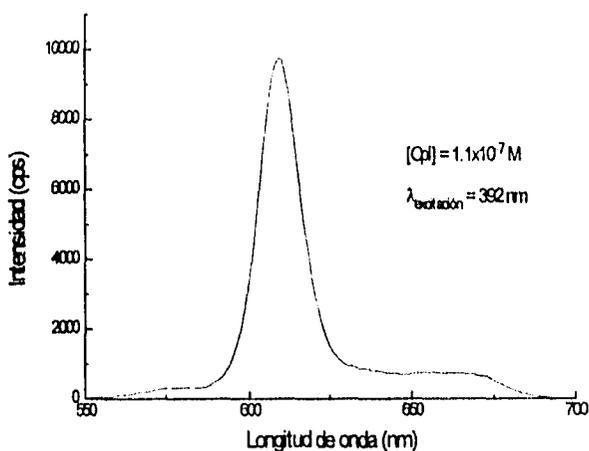


Figura 2.3.2 Espectro de fluorescencia para Cpl



3. Objetivos

Con el fin de encontrar evidencia experimental que nos permita elucidar el mecanismo de asociación de las porfirinas en medio acuoso y evaluar las diferentes contribuciones a la interacción denominada π - π , en este trabajo se estudiará el comportamiento en disolución acuosa de la Coproporfirina I (Cpl) y se cuantificarán los efectos que presentan los siguientes factores sobre el equilibrio de autoasociación:

- ◊ La presencia de sales y su naturaleza
- ◊ El pH del medio
- ◊ La presencia de codisolventes
- ◊ La temperatura

Adicionalmente, se estudiará la cinética de inserción de un ion metálico en la Coproporfirina I, con el objeto de elucidar el mecanismo de la reacción y los efectos derivados de la autoasociación de la porfirina.



4. Metodología Experimental

4.1 Reactivos

La coproporfirina I (21H,23H-Porfina-2,7,12,17-tetraácido propanoico-3,8,13,18-tetrametil [531-14-6]) se obtuvo comercialmente de *Aldrich* en la forma del clorhidrato. Se verificó su pureza mediante las espectroscopias en UV-vis y RMN H^1 , y se utilizó sin purificación posterior.

Los disolventes utilizados fueron Metanol Anhidro (*Mallinckrodt*), Etanol Absoluto (*Mallinckrodt*), Acetona (*Baker*) y Dioxano (*Mallinckrodt*) los cuales se purificaron, en caso necesario, de acuerdo con los métodos descritos en la literatura.⁷⁵

La etilendiamina se obtuvo en la forma de clorhidrato a partir de la etilendiamina comercial (*Baker*) y se purificó por recristalizaciones sucesivas. Las disoluciones stock utilizadas fueron preparadas momentos antes de cada experimento.

Todas las sales utilizadas que se enlistan a continuación fueron de calidad RA, se secaron en una estufa al vacío hasta peso constante y se utilizaron sin ulterior purificación.

$Cu(NO_3)_2 \cdot 2.5 H_2O$ (*Mallinckrodt*), $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ (*Baker*), $NaCl$ (*Mallinckrodt*), KNO_3 (*Baker*), KCl (*Merck*), KI (*Baker*), $KSCN$ (*Merck*), $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ (*Merck*), $(CH_3CH_2)_4NCl$ (*Fluka*), $(CH_3(CH_2)_3)_4NCl$ (*Aldrich*), $CH_3(CH_2)_{15}N(CH_3)Br$ (*Aldrich*).

4.2 pH

El pH de todas las disoluciones se determinó con un pH-metro *Orion* modelo 710-A con una precisión de ± 0.005 unidades de pH y electrodos de vidrio combinado y semimicro de la marca *ROSS®*. Las disoluciones amortiguadoras se prepararon de acuerdo a las técnicas descritas en la literatura utilizando reactivos de calidad RA y agua purificada con el equipo *Milli-Q Water Reagent System*.⁷⁶

4.3 Estudios por espectroscopia de absorción electrónica en la región UV-visible

Se utilizó un espectrofotómetro HP8452 de arreglo de diodos (ventana espectral de 190 nm a 820 nm y resolución de 2 nm) acoplado a un controlador de temperatura *Peltier* HP 89090 ($\pm 0.1^\circ C$) y celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico.

Los estudios se llevaron a cabo con disoluciones de Cpl entre 5×10^{-7} M y 1×10^{-5} M, las cuales se prepararon a partir de una disolución stock de Cpl 5×10^{-3} M mediante las

diluciones adecuadas. La disolución stock se preparó pesando la cantidad necesaria de Cpl, disolviéndola en un volumen pequeño de NaOH 0.1 M, neutralizando el exceso de sosa con HCl conc y adicionando agua deionizada suficiente para el volumen requerido. La disolución es estable por varias semanas si se guarda a bajas temperaturas.

4.4 Estudios por espectroscopia de emisión electrónica (fluorescencia)

Se utilizó un espectrofluorómetro *Fluoromax-Spex* (ventana espectral de 200 nm a 800 nm) acoplado a un baño de temperatura controlada ($\pm 1^\circ\text{C}$) y celdas de cuarzo de 1 cm. Los estudios se llevaron a cabo en concentraciones de Cpl entre 1×10^{-8} M y 1×10^{-6} M, las cuales se prepararon a partir de disoluciones stock de Cpl 5×10^{-3} M mediante las diluciones adecuadas. Los espectros de emisión para Cpl se obtuvieron con una longitud de onda de excitación en 392 nm (λ_{max} del espectro UV-vis) y una apertura (slit) de 0.5 mm.

La Cpl metalada con Zn^{2+} se preparó adicionando un exceso de $\text{Zn}(\text{Acetato})_2$ a una disolución de Cpl para tener una concentración total de Zn^{2+} igual a 5.5×10^{-4} M y de Cpl 5.5×10^{-6} M. Se observó el cambio en los espectros de fluorescencia hasta que permanece constante la banda en 376 nm correspondiente al complejo de Cpl-Zn (≈ 1 Hora). A partir de esta disolución stock se tomaron alícuotas para preparar las disoluciones utilizadas en los experimentos.

4.5 Estudios por espectroscopia de RMN ^1H

Se utilizaron dos equipos de marca *Varian* a 500 Mhz y 300 Mhz. En este último se llevaron a cabo los experimentos a diferentes temperaturas y concentraciones de Cpl. En ambos casos se partió de una disolución stock preparada momentos antes del experimento en D_2O , adicionando una cantidad estequiométrica de Na_2CO_3 y realizando las diluciones adecuadas.

4.6 Condiciones generales para el estudio de cinética

Los estudios cinéticos se llevaron a cabo manteniendo condiciones de pseudoprimer orden con respecto a la concentración de Cpl, con el Cu^{2+} y la etilendiamina en exceso. El pH se mantuvo constante en un valor de 9 con buffer de boratos y la

temperatura en 25°C. La concentración de etilendiamina utilizada (1×10^{-4} - 1×10^{-2} M) se mantuvo en el intervalo donde predomina, para el ion Cu^{2+} , el complejo bis(etilendiamina) de cobre (II) y para el ion Cd^{2+} , los complejos etilendiamina de Cd (II) y bis(etilendiamina) de Cd(II), de acuerdo con los diagramas de predominio de especies presentados en las figuras 4.6.1 y 4.6.2.

4.7 Cálculos y ajustes

Todos los cálculos y ajustes de regresión lineal y no lineal requeridos se llevaron a cabo con el programa *Microcal Origin*, versión 3.5, tomando como criterio el mejor ajuste que reproduzca parámetros físicamente congruentes con nuestras observaciones experimentales y modelos empleados.

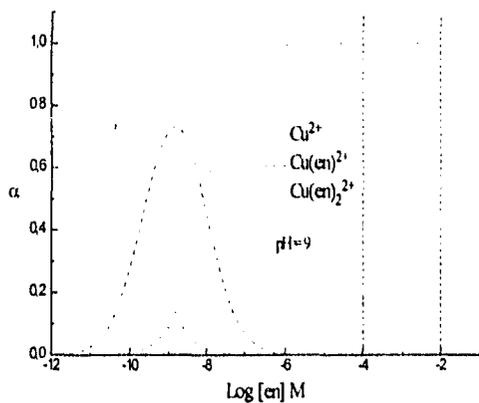


Figura 4.6.1 Diagrama de predominio de especies para los complejos con Cu^{2+} y etilendiamina (en). $\text{Log}\beta_1 = 10.55$, $\text{Log}\beta_2 = 19.6$ ⁷⁷ Las líneas verticales corresponden al intervalo de concentraciones utilizado.

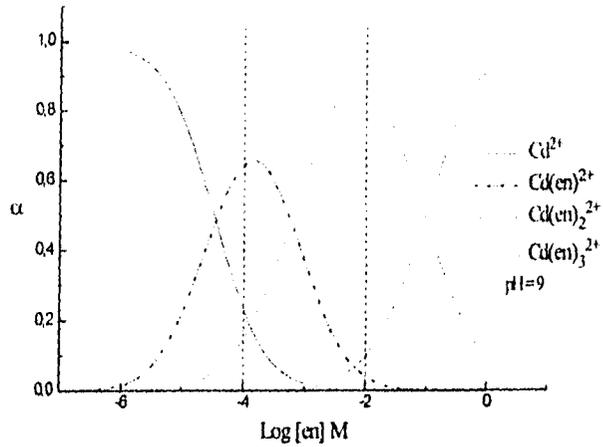


Figura 4.6.2 Diagrama de predominio de especies para los complejos con Cd^{2+} y etilendiamina(en). $\text{Log}\beta_1 = 5.4$, $\text{Log}\beta_2 = 9.6$, $\text{Log}\beta_3 = 11.6$ ⁷⁷ Las líneas verticales corresponden al intervalo de concentraciones utilizado.



5. Resultados y Discusión

5.1 Dimerización de la Coproporfirina I en función del pH y la fuerza iónica

El espectro de absorción electrónica en la región UV-visible de Cpl muestra dos tipos de bandas: una banda muy ancha ubicada en la región entre 360-400 nm que corresponde a la típica banda de Soret, la cual presenta una mayor absorción que el grupo de bandas comprendidas entre los 500-650 nm, llamadas bandas Q. El ancho de la banda en la región de Soret y los cambios que presenta en función de la concentración de Cpl, indican que tiende a asociarse, figura 5.1.1. En concentraciones bajas de Cpl donde la forma no asociada predomina la banda en 392 nm es más intensa y al aumentar la concentración de Cpl la banda en 372 nm crece más rápido. Esta última banda se asignó a la forma asociada de Cpl.

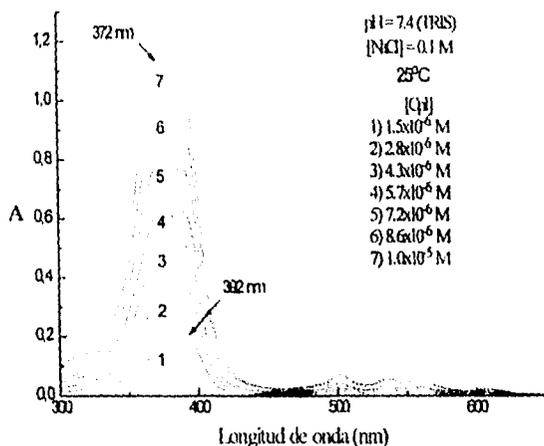


Figura 5.1.1 Espectro UV-vis a diferentes concentraciones de Cpl.

Para el estudio cuantitativo es cómodo trabajar en condiciones donde predomina una especie con carga eléctrica conocida. Debido a que los valores de pK_a para Cpl son desconocidos (ver sección 2.3), la única opción es convertir Cpl hacia su forma tatraiónica que se muestra en la figura 5.1.2. Las condiciones se escogieron a partir del comportamiento de la Cpl con el pH a fuerza iónica constante, figura 5.1.3.

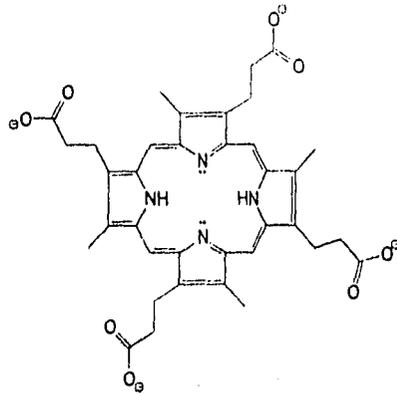


Figura 5.1.2 Coproporfirina I (Cpl).

La observación de los cambios espectrales muestra que la forma deprotonada de Cpl ($\lambda = 392$) predomina a pH's mayores de 8. Los cambios en el espectro electrónico UV-vis con el pH muestran un punto isobéptico, que en este momento solo es indicativo del equilibrio entre la forma protonada y deprotonada de Cpl.

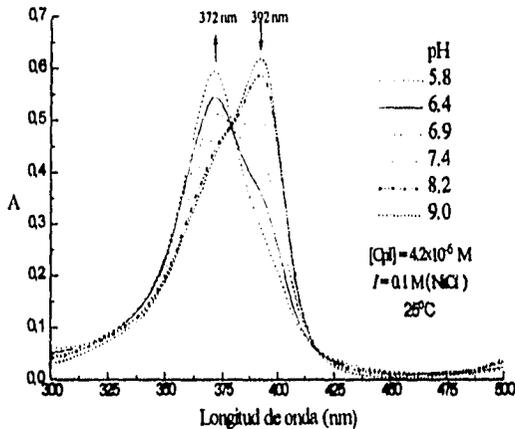


Figura 5.1.3. Cambios espectrales en la región de Soret para la dependencia del pH. La flecha indica la dirección del cambio en el espectro al aumentar la fuerza iónica.

Inicialmente se llevo a cabo el estudio observando el cambio del espectro electrónico UV-vis en diferentes concentraciones de Cpl bajo la presencia de diferentes concentraciones de NaCl a pH = 9 en buffer de boratos. Los espectros típicos obtenidos se muestran en la **figura 5.1.4**. Se observa un cambio notable de la absorción en 392 nm al aumentar la concentración de NaCl.

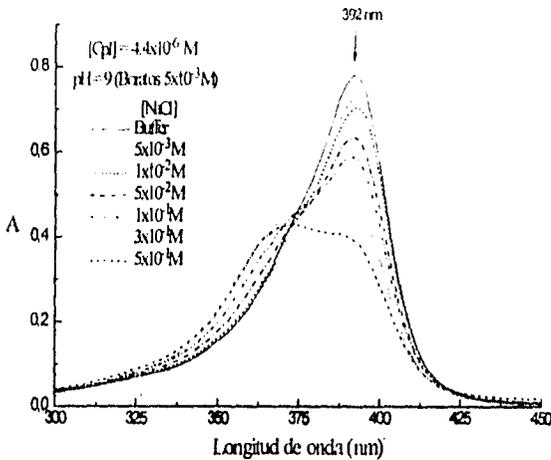


Figura 5.1.4. Cambios del espectro UV-vis de Cpl como función de la fuerza iónica. La flecha indica la dirección del cambio en el espectro al aumentar la fuerza iónica.

Para cuantificar este comportamiento asumimos el equilibrio más simple, esto es, la forma monomérica de Cpl representada como PH_2 y su dímero:



con una constante de disociación definida como

$$K_d = \frac{[PH_2]^2}{[(PH_2)_2]} \quad (5.1.1)$$

El cálculo de K_d se realizó mediante una regresión no lineal a partir de los datos de absorbancia, figura 5.1.5. La ecuación de ajuste no lineal utilizada para ello es la siguiente (ver apéndice 7.1) :

$$A = \frac{K_d}{4} \left(\epsilon_{PH_2} - \frac{\epsilon_{(PH_2)_2}}{2} \right) \left\{ \left(1 + \frac{8[PH_2]_0}{K_d} \right)^{1/2} - 1 \right\} + \frac{\epsilon_{(PH_2)_2}[PH_2]_0}{2} \quad (5.1.2)$$

Donde ϵ_{PH_2} y $\epsilon_{(PH_2)_2}$ son los coeficientes de absorptividad molar del monómero y del dímero respectivamente. La ecuación 5.1.2 tiene 3 parámetros desconocidos (K_d , ϵ_{PH_2} y $\epsilon_{(PH_2)_2}$), demasiados para lograr un buen ajuste con el número de datos experimentales que se tienen. Para disminuir el número de los parámetros el valor de ϵ_{PH_2} fue evaluado mediante la extrapolación del ϵ_{obs} a concentración $[Cpl] = 0$.

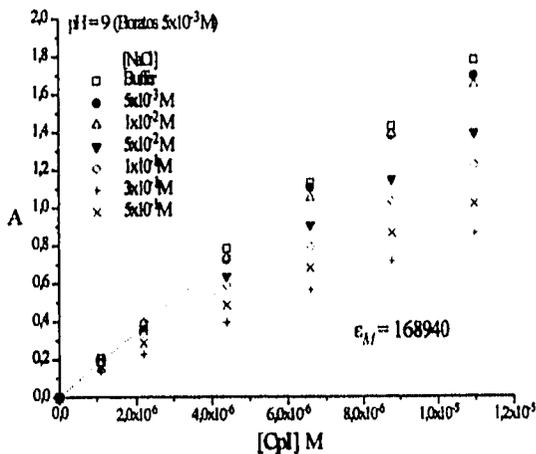


Figura 5.1.5. Ajuste no lineal de las dependencias de la absorbancia de Cpl como función de la fuerza iónica. pH = 9 (boratos 5x10⁻³ M). $\epsilon_M = 168940 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

Las constantes de disociación obtenidas mediante este método, tabla 5.1.1, muestran un cambio de ≈ 100 veces en el valor de K_d al aumentar la concentración del electrolito. El decremento en K_d y su independencia de la naturaleza de algunos iones con

carga $Z=1$ (ver sección 5.2) sugiere un tratamiento de estos efectos con la descripción de Debye-Hückel del cambio en los coeficientes de actividad (γ_i) en función de la fuerza iónica I .⁷⁸

Las constantes obtenidas en presencia de NaCl se ajustan muy bien al modelo de Debye-Hückel, **ecuación 5.1.3** (ver apéndice 7.2). No obstante la carga total calculada para Cpl (-2.5) resultó diferente del valor esperado (-4), **figura 5.1.6**.

$$\text{Log}K_d = \text{Log}K_d^0 - \frac{1.02z_i^2\sqrt{I}}{1 + 1.15\sqrt{I}} \quad (5.1.3)$$

Tratamientos similares han sido utilizados por Hambricht y sus colaboradores^{79,80} para las constantes de velocidad en la cinética de inclusión de Zn^{2+} en Deuteroporfirina IX, Coproporfirina III y Uroporfirina I (di-, tetra y octacarboxiladas respectivamente). Ellos observan una marcada dependencia de la fuerza iónica en la velocidad de incorporación de Zn^{2+} , la velocidad disminuye al aumentar la fuerza iónica, y obtienen correlaciones con una ecuación semejante a la **ecuación 5.1.3**, con cargas efectivas de -2.7 para Uroporfirina (-8), -1.7 para Coproporfirina (-4) y -0.4 para Deuteroporfirina (-2). Sin embargo, no toman en cuenta la posible asociación de estas porfirinas y al parecer, sus resultados sólo reflejan un diferente grado de asociación de las porfirinas promovido por la presencia de electrolitos en la cinética de incorporación de Zn^{2+} .

Tabla 5.1.1. Constantes de disociación calculadas con el ajuste no lineal de la ecuación 5.1.2 en función de la fuerza iónica (NaCl), pH = 9 (Boratos $5 \times 10^{-3} \text{M}$).

[NaCl] M	$K_d \times 10^4$ M	$\epsilon_D \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ *
Buffer	2.06 ± 0.8	102900
5×10^{-3}	1.61 ± 0.25	102900
1×10^{-3}	1.16 ± 0.15	102900
5×10^{-2}	0.25 ± 0.053	102900
1×10^{-1}	0.121 ± 0.005	102900
3×10^{-1}	0.045 ± 0.0015	102900
5×10^{-1}	0.015 ± 0.0003	102900

* el coeficiente de absortividad del dímero que se obtiene en la regresión no lineal junto con K_d , se tomo del ajuste con menor error para este parámetro (1%) y se dejo constante para los siguientes datos.

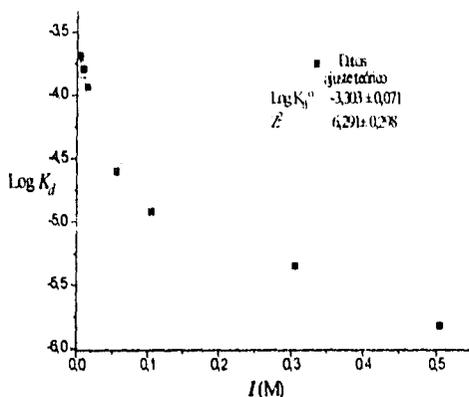


Figura 5.1.6. Ajuste no lineal a la ecuación 5.1.3 para los datos experimentales de K_d en presencia de diferentes concentraciones de NaCl.

Se han propuesto algunos modelos para elucidar el mecanismo de agregación promovido por la presencia de electrolitos y el pH. Se ha sugerido que la neutralización de los carboxilatos laterales es la responsable de la agregación en la Uroporfirina.⁶¹ Shelnutz y colaboradores³⁷ han propuesto un modelo matemático que se ajusta muy bien a las dependencias del cambio de absorbancia en función de la concentración de NaCl para metalo-uroporfirinas. En el modelo se atribuye la agregación de las porfirinas a un proceso de enlazamiento de un catión a cada uno de los carboxilatos laterales en forma independiente. Como resultado de esta neutralización, la repulsión de los grupos laterales disminuye. Especulan acerca de la posibilidad que esta neutralización sea más fuerte con los protones a tal grado que lleva a la precipitación.

En nuestros resultados hemos observado que para el caso de Cpl, ambos procesos no parecen llevarse a cabo bajo el mismo mecanismo. Las dependencias de los espectros de absorción con respecto al pH y la presencia de NaCl presentan algunas características distintas :

i) en la dependencia del pH se observa a un punto isobéptico, figura 5.1.3 el cual está ausente en la dependencia de NaCl, figura 5.1.4.

ii) cuando se llega a pH's bajos, pH = 5.8, la banda en 372 prácticamente tiene la misma absorbancia que la banda en 392 a pH = 9. Mientras que en el caso de la adición de NaCl hay un abatimiento de la absorbancia de la banda en 372 nm.

iv) al analizar la parte del espectro electrónico en la región comprendida entre 500 nm y 700 nm, figura 5.1.7, se observan 4 bandas denominadas bandas Q que presentan sensibilidad a la asociación de Cpl. Estas bandas están ubicadas en 500 nm, 536nm, 556 nm y 608 nm y son asignadas como $Q_y(1,0)$, $Q_y(0,0)$, $Q_x(1,0)$ y $Q_x(0,0)$ de acuerdo con la simetría de Cpl (C_4) y asignaciones previas.⁸²

En particular llama la atención la aparición de una banda en 460 nm cuando se adiciona NaCl en altas concentraciones que no aparece en la dependencia del pH. Al inspeccionar la intensidad relativa de las bandas Q en la dependencia de la fuerza iónica estas no cambian de orden. Si las numeramos de izquierda a derecha el orden sigue siendo $Q_1 > Q_2 > Q_3 > Q_4$. Por otra parte, en la dependencia del pH se observan puntos isobépticos bien definidos y hay un cambio en la intensidad relativa de estas bandas hacia $Q_3 > Q_2 > Q_1 > Q_4$. El cambio anterior ha sido interpretado como el efecto de la protonación de los carboxilatos laterales que llevan a la formación de un grupo electroattractor.²³ No obstante, la anterior aseveración es dudosa ya que un grupo tan alejado del macrociclo difícilmente puede producir tales efectos como se demuestra al esterificar los carboxilatos laterales, los cuales no cambian la forma del espectro ni su posición.²³

De esta forma, a pesar de una semejanza cualitativa en los cambios espectrales inducidos por el NaCl y el pH al comparar las figuras 5.1.1 y 5.1.3, los procesos que tienen lugar pueden ser diferentes.

Debido a estas diferencias decidimos estudiar más a fondo la dependencia del pH. En la primera etapa se necesitan encontrar condiciones donde predomine la forma no asociada de la porfirina para obtener una K_a sin el efecto de la asociación. En este caso la única alternativa es trabajar a concentraciones más bajas y con una técnica más sensible como lo es la espectroscopia de fluorescencia.⁸³⁻⁸⁵

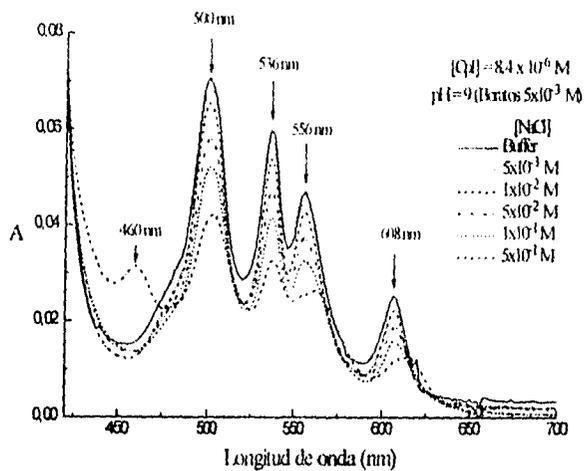


Figura 5.1.7. Cambios espectrales en la región Q promovidos por NaCl.

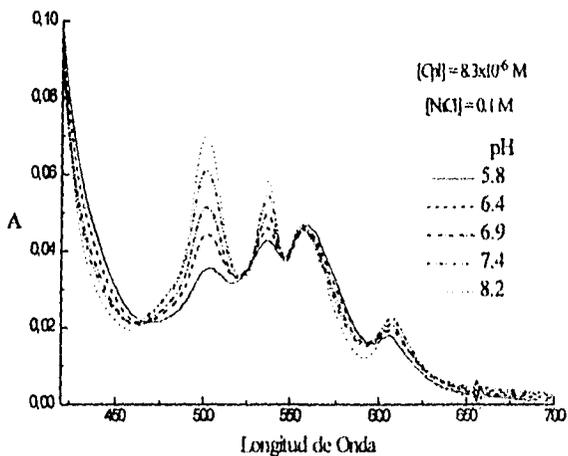


Figura 5.1.8. Cambios espectrales en la región Q promovidos por el cambio de pH.

De acuerdo con el valor de la constante de disociación en presencia solamente del buffer ($K_d = 2 \times 10^{-4}$ M), para concentraciones cercanas a 1×10^{-8} M de Cpl, la especie principal en disolución debe ser la forma monomérica. El espectro de fluorescencia para Cpl con una longitud de onda de excitación de 392 nm, presenta dos bandas ubicadas en 609 nm y 670 nm asignadas como Q(0,0) y Q(0,1) respectivamente (ver figura 2.3.2).

La dependencia de la emisión de fluorescencia en 609 nm con respecto al cambio en la concentración de Cpl es lineal hasta concentraciones cercanas a 7×10^{-7} M, figura 5.1.9. Lo anterior indica que en este intervalo sólo el monómero está presente. En concentraciones mayores, donde se observa una desviación de la linealidad, empieza a notarse la presencia del dímero de Cpl que disminuye la intensidad de la fluorescencia. De esta manera, se tomó como intervalo confiable para determinar el pK_d , a las concentraciones de Cpl $\leq 6 \times 10^{-7}$ M donde está presente, principalmente, la forma monomérica.

Para tener una idea de la confianza de los resultados que se obtienen mediante esta técnica comparada con UV-vis, se calculó el valor de la constante de disociación (K_d) a pH=9 en presencia de $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2]=0.1$ M, la sal más efectiva para dimerizar Cpl, figura 5.1.9. El valor calculado mediante el ajuste no lineal de una modificación de la ecuación 5.1.2 es igual a $7.8 \times 10^{-7} \pm 1 \times 10^{-7}$, que resulta cercano al valor de 1.2×10^{-6} obtenido por UV-visible (ver tabla 5.1.1). Fue imposible, a partir de los datos de fluorescencia, calcular el valor de K_d en la disolución del buffer ya que al utilizar concentraciones de Cpl mayores a 1×10^{-6} M, la intensidad de fluorescencia ya no es una función lineal de la concentración de Cpl debido a una saturación en absorbancias mayores a 0.05.⁶³

Los espectros de fluorescencia típicos del monómero en disolución con buffer y en un medio de fuerza iónica 0.2 M, se muestran en la figura 5.1.10. Las titulaciones fluorimétricas se llevaron a cabo en concentraciones muy pequeñas de Cpl, donde la presencia de trazas de iones metálicos puede ser importante por la reactividad que presentan hacia las porfirinas, por ejemplo la reacción de metalación (ver sección 5.5). Por ello, además de las condiciones anteriores, se tuvo que adicionar al medio EDTA para enmascarar las posibles trazas de iones metálicos.

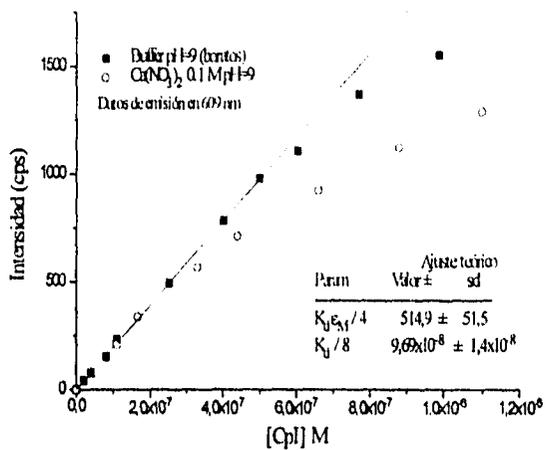


Figura 5.1.9. Gráfica donde se muestra el cambio en la intensidad de fluorescencia promovido por $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, pH = 9 (boratos), $[\text{Ca}^{2+}] = 0.1 \text{ M}$

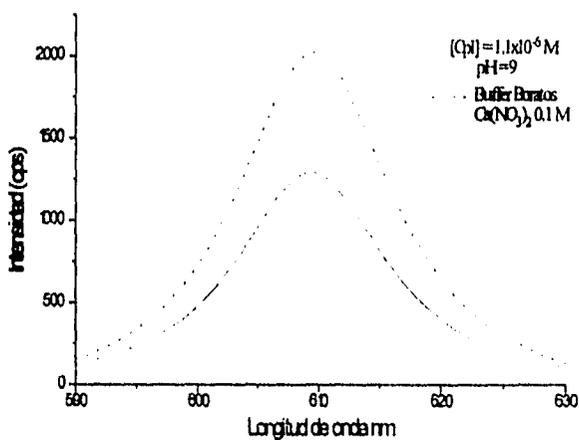


Figura 5.1.10 Espectros de emisión para Cpl. $\lambda_{ox} = 392 \text{ nm}$

Con estas condiciones conocidas, se llevaron a cabo titulaciones fluorimétricas para obtener la constante de acidez de Cpl (K_a) mediante el ajuste no lineal de los datos experimentales, figura 5.1.11, a la siguiente ecuación (ver apéndice 7.3):

$$I = \frac{I_{PM1} + I_{PM2} K_a 10^{pH}}{1 + K_a 10^{pH}} \quad (5.1.4)$$

donde I_{PM1} , I_{PM2} son las intensidades de la forma protonada y desprotonada de Cpl.

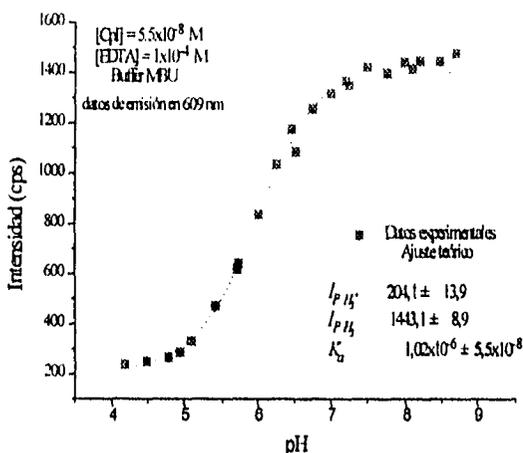


Figura 5.1.11. Curva de titulación fluorimétrica y ajuste no lineal a la ecuación 5.1.4.

[Cpl] = 5.5×10^{-8} M, [EDTA] = 1×10^{-4} M, MBU = mezcla universal de buffers, emisión en 609 nm.

Los valores para la constante de acidez (K_a) encontrados por fluorescencia en las concentraciones 1.1×10^{-8} M, 5.5×10^{-8} M y 2.2×10^{-7} M, son cercanos a un pK_a de 6. Este valor es 0.5 unidades de pK_a mayor al reportado para el éster en un medio micelar de SDS.²⁶ Sin embargo, la comparación entre estos valores es un poco incierta ya que Cpl presenta dos tipos de sitios posibles para la protonación: i) los propionatos laterales y ii) los nitrógenos pirrólicos. Si pensamos, en primer lugar, que son los propionatos los que se protonan, esto no explica el cambio en la intensidad de fluorescencia observado (≈ 7

veces, **figura 5.1.11**), ya que un grupo tan alejado del macrociclo no tiene por que afectar de manera importante esta propiedad. Por otra parte, si son los nitrógenos pirrólicos los que se protonan esto puede explicar en parte el cambio, al afectar el centro del macrociclo, pero no queda totalmente claro por que se apaga la fluorescencia en esta magnitud. El mecanismo que produce este comportamiento es complicado y aún con iones metálicos se han observado este tipo de irregularidades, por ejemplo el Zn^{2+} no apaga la fluorescencia de Cpl mientras que Cu^{2+} y otros iones metálicos si lo hacen.⁷⁰

Una forma lógica de discernir cual es el sitio donde se lleva a cabo la protonación, es titular la forma metalada de la porfirina donde los grupos pirrólicos están ya coordinados y los únicos grupos libres son los carboxilatos.

En este experimento podemos esperar dos tipos de resultados: i) si los carboxilatos son los que se protonan no esperamos un cambio en el comportamiento ya observado. ii) si son los nitrógenos pirrólicos los que se protonan se observaría un K_a desplazado del valor calculado para la porfirina libre o una curva sin inflexión.

Para este experimento escogimos la especie de Cpl con Zn^{2+} por que es bastante estable en disolución y presenta fluorescencia (*ver sección 3.3*). En los espectros de emisión que se obtuvieron, **figura 5.1.12 A**, se observa que Cpl sin metal cambia de manera drástica la intensidad de fluorescencia con el pH y la forma del espectro es distinta. Para la especie metalada Cpl-Zn, **figura 5.1.12 B**, no hay un cambio tan pronunciado en la intensidad de fluorescencia y la forma del espectro se conserva.

En los datos de la titulación fluorimétrica para Cpl-Zn, **figura 5.1.13**, no se observa un punto de inflexión, lo que nos indica que el lugar de la protonación observada es el de los nitrógenos pirrólicos que en este caso están ocupados por el Zn^{2+} .

Como hablamos observado antes en la dependencia del pH, **figura 5.1.3**, los cambios espectrales presentan un punto isosbético y en principio, es posible calcular el pK_a a partir de estos datos para una concentración de Cpl constante. Para el caso donde $[Cpl] = 4.2 \times 10^{-6} M$, **figura 5.1.14**, la K_a calculada es diez veces menor ($1 \times 10^{-7} \pm 2 \times 10^{-8}$) que la obtenida con los datos de fluorescencia. Para estudiar un intervalo más amplio de concentraciones, se obtuvieron las constantes de acidez (K_a^{obs}) mediante espectroscopia UV-vis que junto con los datos de fluorescencia se muestran en la **figura 5.1.15** y se resumen en la **tabla 5.1.2**.

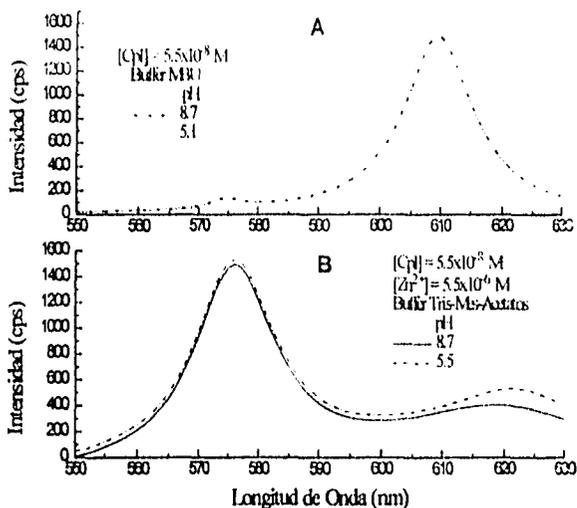


Figura 5.1.12 Espectros de emisión para diferentes condiciones: (arriba) espectros de Cpl en pH=8.7 y 5.1. (abajo) espectros de Cpl-Zn en pH=8.7 y 5.5.

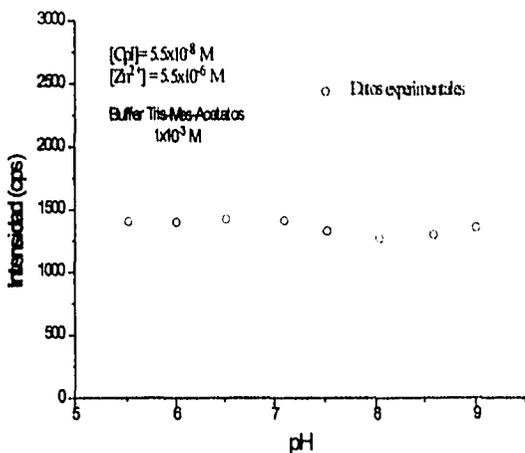


Figura 5.1.13 Datos de la titulación fluorimétrica de Cpl-Zn.

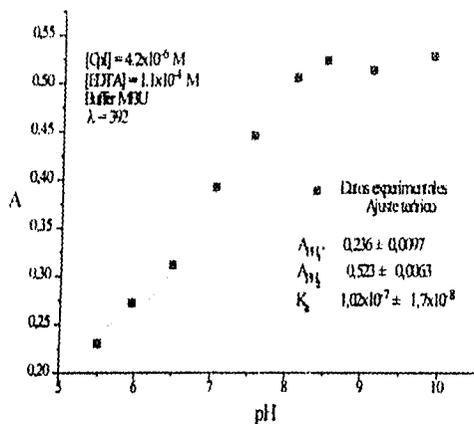


Figura 5.1.14. Curva de titulación espectrofotométrica y ajuste no lineal a la ecuación 5.1.4.

$$[Cpl] = 4.2 \times 10^{-6} \text{ M}, [EDTA] = 1.1 \times 10^{-4} \text{ M}, [M] = 1.1 \times 10^{-4} \text{ M}, \lambda = 392 \text{ nm}$$

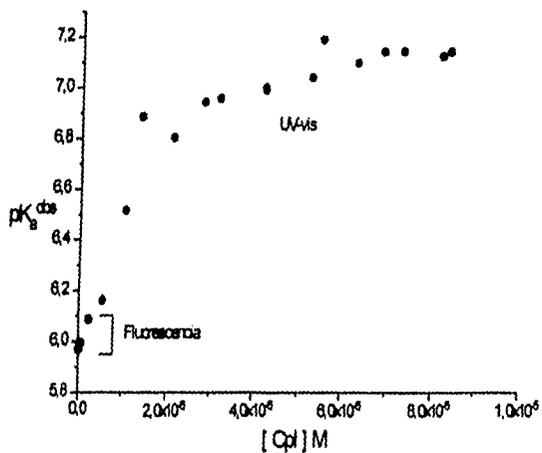


Figura 5.1.15. pK_a^{obs} en función de la concentración de Cpl (fluorescencia y UV-vis).

Tabla 5.1.2. Constantes de acidez observadas en función de la concentración de Cpl

[Cpl] M	K_a^{392}	K_a^{372}	Observaciones
1.1×10^{-8}	$1.07 \times 10^{-6} \pm 1.8 \times 10^{-7}$ *	ND	Fluorescencia ¹
5.5×10^{-8}	$1.02 \times 10^{-6} \pm 5.5 \times 10^{-8}$ *	ND	Fluorescencia ¹
2.2×10^{-7}	$8.2 \times 10^{-7} \pm 7.4 \times 10^{-8}$ *	ND	Fluorescencia ¹
5.5×10^{-7}	$6.9 \times 10^{-7} \pm 5.8 \times 10^{-8}$	ND	UV-vis ¹
1.1×10^{-6}	$4.1 \times 10^{-7} \pm 3.6 \times 10^{-8}$	$5.7 \times 10^{-7} \pm 1.6 \times 10^{-7}$	UV-vis ¹
1.4×10^{-6}	$1.3 \times 10^{-7} \pm 2.4 \times 10^{-8}$	$2.7 \times 10^{-7} \pm 9.2 \times 10^{-8}$	UV-vis ²
2.11×10^{-6}	$1.6 \times 10^{-7} \pm 3.6 \times 10^{-8}$	$1.2 \times 10^{-7} \pm 5 \times 10^{-8}$	UV-vis ³
2.8×10^{-6}	$1.1 \times 10^{-7} \pm 1.5 \times 10^{-8}$	$1.7 \times 10^{-7} \pm 5.3 \times 10^{-8}$	UV-vis ²
3.17×10^{-6}	$1.1 \times 10^{-7} \pm 1.6 \times 10^{-8}$	$1.3 \times 10^{-7} \pm 5.9 \times 10^{-8}$	UV-vis ³
4.2×10^{-6}	$1 \times 10^{-7} \pm 1.9 \times 10^{-8}$	$2 \times 10^{-7} \pm 4.4 \times 10^{-8}$	UV-vis ²
4.2×10^{-6}	$1 \times 10^{-7} \pm 1.7 \times 10^{-8}$	$1.4 \times 10^{-7} \pm 4.9 \times 10^{-8}$	UV-vis ³
5.26×10^{-6}	$9.1 \times 10^{-8} \pm 1.6 \times 10^{-8}$	$1.4 \times 10^{-7} \pm 4.8 \times 10^{-8}$	UV-vis ³
5.5×10^{-6}	$1.6 \times 10^{-7} \pm 6 \times 10^{-9}$	$2.4 \times 10^{-7} \pm 6 \times 10^{-8}$	UV-vis ²
6.3×10^{-6}	$8 \times 10^{-8} \pm 1.3 \times 10^{-8}$	$1.9 \times 10^{-7} \pm 6.9 \times 10^{-8}$	UV-vis ³
6.9×10^{-6}	$7.2 \times 10^{-8} \pm 8.1 \times 10^{-9}$	$3.3 \times 10^{-7} \pm 1.1 \times 10^{-7}$	UV-vis ²
7.33×10^{-6}	$7.2 \times 10^{-8} \pm 1.2 \times 10^{-8}$	$2.1 \times 10^{-7} \pm 7 \times 10^{-8}$	UV-vis ³
8.2×10^{-6}	$7.5 \times 10^{-8} \pm 1.1 \times 10^{-8}$	$2.5 \times 10^{-7} \pm 6.4 \times 10^{-8}$	UV-vis ²
8.37×10^{-6}	$7.2 \times 10^{-8} \pm 1.2 \times 10^{-8}$	$1.7 \times 10^{-7} \pm 5 \times 10^{-8}$	UV-vis ³

¹ MBU-EDTA. ² Boratos-Tris-Fosfatos, NaCl 0.1 M. ³ MBU-EDTA-NaCl 0.1 M
 MBU = Buffer universal Acetatos-Fosfatos-Boratos. ND = no determinado.

* Los valores fueron calculados a partir de los datos del máximo de emisión en 609 nm.

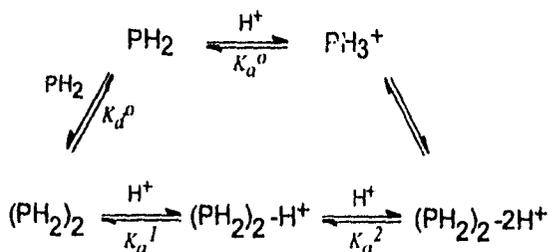
Es claro que existe dependencia entre el valor del pK_a^{obs} y la concentración de Cpl. En el intervalo de valores de pH utilizado, 5 a 10, los únicos equilibrios presentes son la protonación y la dimerización de Cpl. De esta forma, a partir de la dependencia para el pK_a^{obs} , se puede concluir que el punto isosbético que observamos en los espectros electrónicos en la región de Soret, figura 5.1.3, es ficticio ya que tenemos más de dos especies en equilibrio, tanto la protonación del nitrógeno pirrólico como la dimerización de Cpl pueden llevarse a cabo de manera simultánea y por ello, existe una modificación del

valor del pK_a^{obs} al aumentar la concentración de Cpl. Además, el valor del pK_a^{obs} también depende de la longitud de onda observada, ya que los valores calculados a partir de los datos en 372 nm, **tabla 5.1.2**, no presentan una tendencia definida y en algunos casos son muy diferentes de los obtenidos a partir de los datos en 392 nm.

Por otra parte, por arriba de 4×10^{-6} M el valor de pK_a^{obs} calculado a partir de los datos en 392 nm ya no depende tanto del cambio en la concentración de Cpl. En este intervalo el dímero está presente en mayor proporción y aumenta con la concentración de Cpl. Al parecer el valor de $pK_a \approx 7$ puede atribuirse a la protonación del dímero, mientras que el valor de $pK_a \approx 6$ corresponde a la protonación del monómero. En otras palabras, el dímero es una base más fuerte que el monómero probablemente debido a que tiene mayor carga negativa.

Al igual que la dependencia de la fuerza iónica, en la dependencia del pH se pueden calcular las constantes para el proceso de dimerización promovido por el cambio de pH. El tipo de curvas obtenidas, **figura 5.1.16**, se ajustan con la **ecuación 5.1.2** mediante la regresión no lineal para cada valor de pH. Un aspecto que se tiene que considerar es que el valor del c_{PH_2} es diferente para cada pH. Este valor se calculó a partir de la dependencia del pH de Cpl a una concentración de 5.5×10^{-7} M donde se encuentra Cpl en la forma monomérica principalmente.

En la **tabla 5.1.3** se resumen los valores de K_d^{obs} para cada pH y los respectivos valores de c_{PH_2} y $\epsilon_{(PH_2)_2}$. Los resultados obtenidos de K_d^{obs} se explican mediante los equilibrios propuestos en el siguiente esquema:



Esquema 5.1.1

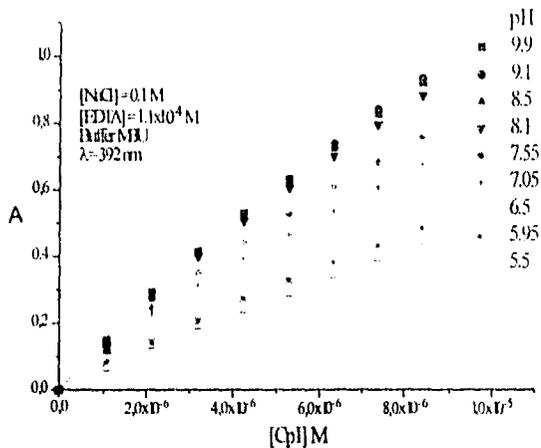


Figura 5.1.16. Dependencia de la absorbancia como función de [CpI] para diferentes pH's y curvas de ajuste no lineal. NaCl 0.1 M, EDTA 1.1×10^{-4} M, MBU, $\lambda = 392$ nm

Tabla 5.1.3. Constantes de disociación observadas en diferentes valores de pH.

NaCl 0.1 M, EDTA 1.1×10^{-4} M, MBU				NaCl 0.05 M, Boratos-Tris-Fosfatos			
pH	$K_d^{obs} \times 10^6$	ϵ_D	ϵ_M^*	pH	$K_d^{obs} \times 10^6$	ϵ_D	ϵ_M^*
9.9	9.2 ± 1.28	47200 ± 6513	169000	9.0	31 ± 1.7	50500 ^b	168940
9.1	9 ± 1.2	50000 ^b	168940	8.2	20 ± 1.3	50000 ^b	168260
8.5	8.8 ± 1.2	50000 ^b	168646	7.4	6.5 ± 1.8	53670 ± 9329	164110
8.1	7.4 ± 1.72	47960 ± 9807	168040	6.9	4 ± 1.15	47080 ± 7682	154210
7.55	3.9 ± 0.88	46170 ± 7214	165420	6.4	3.5 ± 0.48	43700 ± 3203	135530
7.05	3 ± 0.27	40570 ± 2447	157850	5.85	3.7 ± 1.1	45050 ± 4548	100330
6.5	1.5 ± 0.31	40130 ± 3476	139105				
5.95	1.4 ± 0.26	42360 ± 1996	106500				
5.5	0.66 ± 0.28	45130 ± 1936	84575				

* Coeficiente de absorvidad calculado con la dependencia del pH con [CpI] = 5.5×10^{-7} M

^b se mantuvo constante en el ajuste.

La relación que se obtiene entre los valores de K_d^{obs} y el pH, de acuerdo con el esquema 5.1.1 es la siguiente (ver apéndice 7.4):

$$K_d^{obs} = K_d^0 \frac{\left(1 + \frac{[H^+]}{K_a^0}\right)^2}{\left(1 + \frac{[H^+]}{K_a^1} + \frac{[H^+]^2}{K_a^1 K_a^2}\right)} \quad (5.1.6)$$

Del ajuste a la ecuación 5.1.5 de los datos de K_d^{obs} como función del pH, figura 5.1.17, se obtienen los valores para K_d^0 , K_a^0 , K_a^1 y K_a^2 , definidos en el esquema 5.1.1, que se resumen en la tabla 5.1.4.

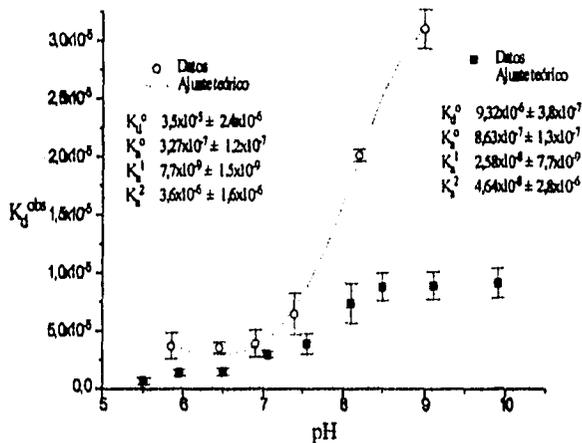


Figura 5.1.17 Datos de K_d^{obs} ajustados con la ecuación 5.1.5.

○ Buffer Boratos-Tris-Fosfatos NaCl 0.05 M, ■ Buffer Boratos-Fosfatos-Acetatos NaCl 0.1 M

Tabla 5.1.4. Parámetros obtenidos del ajuste de K_d^{obs} en función del pH.

Parámetro	Boratos-Tris-Fosfatos NaCl 0.05 M		Boratos-Fosfatos-Acetatos NaCl 0.1 M	
	Calculado	Esperado	Calculado	Esperado
K_d^0	$3.5 \times 10^{-5} \pm 2.4 \times 10^{-6}$	2.5×10^{-5} ^a	$9.3 \times 10^{-6} \pm 3.8 \times 10^{-7}$	1.21×10^{-5} ^b
K_a^0	$3.3 \times 10^{-7} \pm 1.2 \times 10^{-7}$	1×10^{-6} ^c	$8.6 \times 10^{-7} \pm 1.3 \times 10^{-7}$	1×10^{-6} ^c
K_a^1	$7.7 \times 10^{-9} \pm 1.5 \times 10^{-9}$	7.2×10^{-8} ^d	$2.6 \times 10^{-8} \pm 7.7 \times 10^{-9}$	7.2×10^{-8} ^d
K_a^2	$3.6 \times 10^{-6} \pm 1.6 \times 10^{-6}$	-	$4.6 \times 10^{-6} \pm 2.8 \times 10^{-6}$	-

^a K_d en 5×10^{-2} M NaCl (tabla 5.1.1), ^b K_d en 0.1 M NaCl (tabla 5.1.1)

^c K_a en 1×10^{-8} M Cpl (tabla 5.1.3) ^d K_a en 8.4×10^{-6} M Cpl (tabla 5.1.3)

Podemos observar que dentro del error experimental los valores para K_d^0 coinciden con los obtenidos de forma directa con NaCl (ver tabla 5.1.1). El valor de K_a^0 obtenido para el monómero con NaCl 0.1 M es igual al obtenido en forma directa mediante la titulación fluorimétrica de Cpl. Con NaCl 0.05 M el valor de K_a^0 es más pequeño debido quizás a que la precisión del ajuste es baja ya que son pocos los datos experimentales en estas condiciones.

Los valores para K_a^1 son más pequeños que los obtenidos directamente por espectroscopia UV-vis, no obstante, podrían aproximarse si se extrapola el valor observado directamente hasta concentraciones de Cpl mayores a 8×10^{-6} M o se aumenta el número de datos para el ajuste.

Los valores de K_a^2 en ambos ajustes son muy parecidos y no contamos con una referencia directa para comparar su magnitud, aunque de forma cualitativa parecen ser los correctos. La razón para incluir esta segunda constante de acidez para el dímero, obedece a que otros esquemas probados que no contemplaban su existencia, no reproducían la parte de la curva a pH's menores de 7. Desafortunadamente, no contamos con datos a pH's por debajo de 5.5, lo que permitiría calcular con mayor precisión la segunda protonación del dímero.

De esta forma, los equilibrios propuestos en el esquema 5.1.1, que considera el equilibrio de asociación monómero-dímero y las especies protonadas, explica las tendencias observadas en los valores de K_J^{obs} y K_a^{obs} .

Este mismo esquema, explica también la forma de los espectros de absorción en la región UV-vis observados al cambiar el pH y la fuerza iónica. En la dependencia del pH, **figura 5.1.3**, observamos las formas protonadas y desprotonadas tanto del monómero como del dímero en disolución. En este espectro es muy difícil asignar la banda que aparece con el cambio en el pH a una sola especie, ya que se cambia también la relación monómero-dímero. Con el cambio de la fuerza iónica, **figura 5.1.4**, se promueve solamente el cambio en el equilibrio de asociación y la forma espectral observada en altas concentraciones salinas, donde se hay un abatimiento en la absorbancia, corresponde al dímero de Cpl en su forma libre.

5.2 Efecto de la naturaleza del electrolito

Los estudios de los efectos de sales y de disolventes sobre el equilibrio y la cinética de los procesos químicos se utilizan desde hace tiempo para elucidar las contribuciones de las fuerzas electrostáticas (principalmente ion-ion en medios acuosos) en una interacción química.⁸⁶⁻⁹¹

Como mencionamos antes, los datos de las constantes de disociación (K_d) obtenidos para el proceso de dimerización de Cpl en presencia de diferentes concentraciones de NaCl correlacionan bien con la ecuación de Debye-Hückel, **ecuación 5.1.3**. Es interesante que una molécula tan diferente a lo que se piensa como una especie con carga en el modelo de Debye-Hückel pueda ser descrita como un ion con carga efectiva -2.5 (ver sección 5.1). Con el objeto de distinguir entre el efecto puramente electrostático y la naturaleza del electrolito, cuantificamos los efectos de otras sales escogiendo los electrolitos que se clasifican como estabilizadores y desestabilizadores de la estructura del agua.⁹⁰

Para la evaluación de K_d , se obtuvo una relación entre el cociente de absorbancias A_{392} / A_{372} del espectro electrónico de Cpl y el cociente de concentraciones $[PH_2] / [(PH_2)_2]$ para los experimentos llevados a cabo con NaCl, **ecuación 5.2.1** (ver *apéndice 7.5*).

$$\frac{A_{392}}{A_{372}} = \frac{\alpha \frac{[PH_2]}{[(PH_2)_2]} + \beta}{\chi + \frac{[PH_2]}{[(PH_2)_2]}} \quad (5.2.1)$$

en donde α , β y χ son constantes definidas a partir de los coeficientes de absorptividad molar del monómero y el dímero en 372 y 392 nm.

De esta forma, a partir de los espectros electrónicos obtenidos en presencia de los diferentes electrolitos, es posible calcular las constantes de disociación (K_d) conociendo la relación de absorbancias (A_{392}/A_{372}), ya que mediante los parámetros obtenidos del ajuste a la **ecuación 5.2.1**, mostrados en la **figura 5.2.1**, es posible calcular la relación de concentraciones entre las dos especies de Cpl.

Los electrolitos como $NaNO_3$ y KCl presentan valores de K_d semejantes al $NaCl$ y se ajustan a la ecuación de Debye-Hückel, **tabla 5.2.1**.

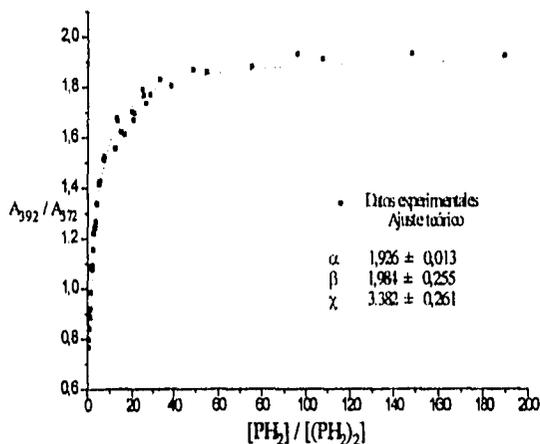


Figura 5.2.1 Curva de trabajo para el calculo de las constantes de disociación a partir del espectro en la región UV-vis.

Tabla 5.2.1. Constantes de disociación calculadas para algunos electrolitos 1:1.

Conc. sal (M)	K_d ($\times 10^4$ M) NaNO ₃	K_d ($\times 10^4$ M) KCl	K_d ($\times 10^4$ M) KI	K_d ($\times 10^4$ M) KSCN
Buffer	2.5	2.7	2.03	1.83
1×10^{-2}	1.07	1.12	1.38	1.22
5×10^{-2}	0.352	0.327	0.368	0.348
1×10^{-1}	0.166	0.156	0.131	0.174
3×10^{-1}	0.058	0.035	0.063	0.093
5×10^{-1}	0.028	0.0207	0.0345	0.0379

Lo interesante con respecto a la influencia de la naturaleza del electrolito se presenta con los iones que estabilizan la estructura del agua. Tanto el I^- como el SCN^- son aniones que presentan este comportamiento en otros sistemas, sin embargo, los resultados experimentales para el nuestro no muestran una desviación significativa de los datos obtenidos con NaCl. Con ello se confirma que no hay especificidad por el anión debido quizás a la repulsión electrostática que presenta con los grupos laterales de Cpl.

Como se esperaba, con un electrolito 2:1 como el $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, las constantes de disociación disminuyen al aumentar la de la fuerza iónica del medio, sin embargo, las constantes de disociación (K_d) calculadas, no se ajustan al modelo de Debye-Hückel donde se tomo como radio iónico efectivo para $\text{Ca}^{2+} = 4.5 \text{ \AA}$, figura 5.2.2.⁹² Los datos en fuerza iónica pequeña caen muy rápido y al parecer, no es sólo el simple efecto electrostático el que se involucra en la interacción con Ca^{2+} . Probablemente se puede coordinar a los propionatos laterales de Cpl y de esta forma promover la asociación.

Tabla 5.2.2. Constantes de disociación (K_d) obtenidas para $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

Conc. (M) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	Fuerza Iónica	K_d ($\times 10^6$ M) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$
Buffer	5×10^{-3}	368
2×10^{-3}	1.1×10^{-2}	23.3
5×10^{-3}	2×10^{-2}	9.54
1×10^{-2}	3.5×10^{-2}	5.08
5×10^{-2}	1.55×10^{-1}	1.73
1×10^{-1}	3.05×10^{-1}	1.23
2×10^{-1}	6.05×10^{-1}	1.02

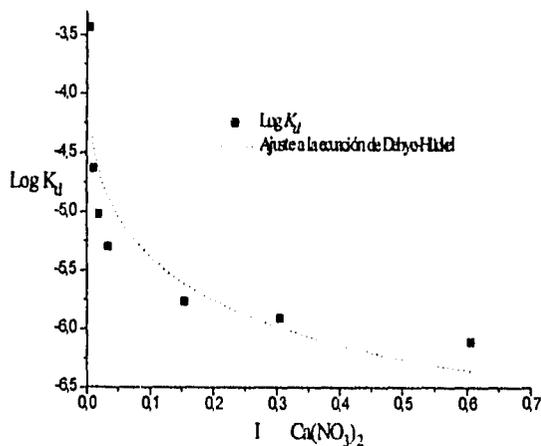
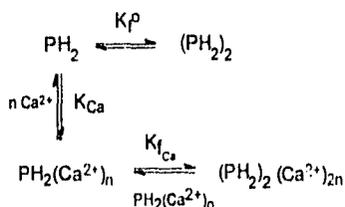


Figura 5.2.2 $\text{Log } K_d$ obtenidos en presencia de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ y ajuste a la ecuación 5.1.3

Una forma alternativa que explica la dependencia de los valores de K_f observados en presencia de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, esta representada con los siguientes equilibrios donde se propone la asociación (o coordinación) con n iones Ca^{2+} :



Esquema 5.2.1

La relación entre K_f^{obs} ($1/K_d^{obs}$) y $[\text{Ca}^{2+}]$ que se obtiene es (ver apéndice 7.6):

$$K_f^{obs} = \frac{K_f^o + K_{fCa} K_{Ca} [\text{Ca}^{2+}]^{2n}}{1 + 2K_{Ca} [\text{Ca}^{2+}]^n + K_{Ca}^2 [\text{Ca}^{2+}]^{2n}} \quad (5.2.2)$$

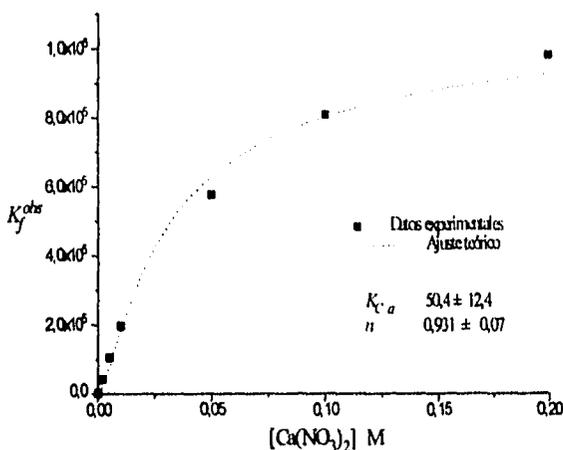


Figura 5.2.3 Datos para la constante de formación K_f^{obs} ($1/K_d$) en función de la concentración de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ y el ajuste obtenido con la ecuación 5.2.2.

Los parámetros de este modelo dan un valor ≈ 1 para el número de iones Ca^{2+} que se unen a Cpl y una constante de asociación $K_{Ca} = 50 \pm 12 \text{ M}^{-1}$. Este valor se encuentra entre el valor para la constante de asociación de Ca^{2+} con el ion acetato (4M^{-1}) y el ion succinato (100 M^{-1}). Los parámetros utilizados para el ajuste fueron la constante de formación del dímero en presencia de buffer $K_f = 2700 \text{ M}^{-1}$, que se tomó de los datos experimentales, y la constante de dimerización en presencia de Ca^{2+} $K_{fCa} = 1.1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ que se obtuvo de la extrapolación para concentraciones más grandes de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$.

Por otra parte, las sales de tetraalquilamonio que también son consideradas estabilizadoras de la estructura del agua, no presentan un efecto tan acentuado como los otros electrolitos 1:1, **tabla 5.2.3**, al parecer hay otro factor diferente al efecto de la fuerza iónica y no es claro a partir de los datos experimentales cuales efectos son los que modifican esta dependencia (p.ej. la longitud de la cadena hidrocarbonada). Los valores para la constante de disociación (K_d) en presencia de estas sales tampoco se ajustan adecuadamente a la ecuación de Debye-Hückel, pero en este caso es difícil distinguirlo de otros efectos por la incertidumbre en el tamaño de catión.

Tabla 5.2.3. Constantes de disociación calculadas para sales de amonio.

Conc. (M)	$K_d (\times 10^4 \text{ M})$	$K_d (\times 10^4 \text{ M})$
	Bu_4NCl	Et_4NBr
Buffer	2.37	2.33
5×10^{-3}	1.3	1.09
1×10^{-2}	1.05	0.878
5×10^{-2}	0.725	0.745
1×10^{-1}	0.656	0.683

Para entender el comportamiento de las sales de tetraalquilamonio se llevo a cabo un experimento complementario donde se realizaron adiciones sucesivas de estas sales a una disolución 0.1 M de NaCl y Cpl $4.4 \times 10^{-6} \text{ M}$, condiciones donde el dímero predomina, **figura 5.2.4**.

Se observa que con la adición de las sales de tetraalquilamonio la constante de disociación aumenta pero no alcanza los valores que se obtienen en presencia del buffer solamente. Así, observamos que las sales de tetraalquilamonio presentan el efecto contrario al promovido por los otros electrolitos estudiados, esto es, inducen la

monomerización de Cpl y éste comportamiento se acentúa al aumentar la cadena hidrocarbonada. El hecho de que no regresen a niveles comparables a los que se tienen en presencia del buffer obedece a una compensación por el efecto de la fuerza iónica que aumenta también con la adición de estas sales.

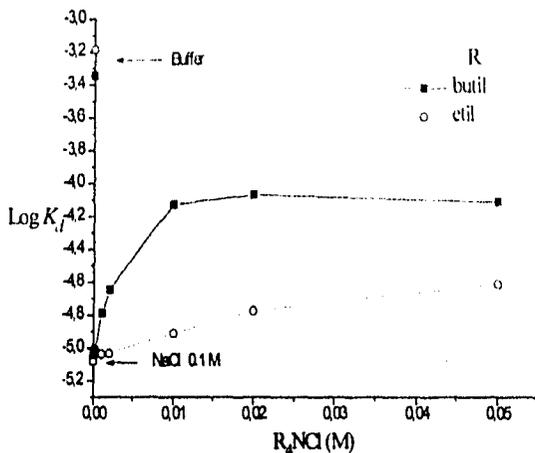


Figura 5.2.4. Efecto de la adición de sales de amonio. [Cpl] = 4.4×10^{-6} M, [NaCl] = 0.1 M.

Un estudio cualitativo con el tensoactivo catiónico bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) apoya la observación de que éste efecto depende de la longitud de la cadena, figura 5.2.5, ya que al parecer existe una asociación más fuerte entre la porfirina y la cadena hidrocarbonada. En el intervalo donde se tienen concentraciones comparables de CTAB y Cpl ($\approx 1 \times 10^{-6}$ - 1×10^{-5} M), tabla 5.2.4, la absorbancia disminuye de manera continua manteniendo el máximo en 392 nm hasta la concentración de 4×10^{-5} M de CTAB. En este intervalo de concentraciones la absorbancia también disminuye con el tiempo. Las observaciones anteriores las interpretamos como una posible precipitación de Cpl-CTAB, aunque físicamente no se apreció ninguna turbidez en la disolución.

Cuando la concentración es 8×10^{-5} M el máximo del espectro cambia hacia 398 nm. A partir de esta concentración la absorbancia aumenta con la concentración de CTAB pero sigue disminuyendo con el tiempo. En concentraciones cercanas a la CMC para el CTAB (9×10^{-4} M), la absorbancia ya no depende de la concentración de CTAB y del tiempo y se mantienen sin cambio aparente. Esta última observación se interpretó como una redisolución de Cpl-CTAB por el efecto de la formación de micelas de CTAB.

En nuestro sistema la relación de absorbancia A_{392}/A_{372} ha sido una indicación del cambio en la relación monómero-dímero. Para el experimento con CTAB, **tabla 5.2.4**, esta relación permanece prácticamente constante durante el tiempo y depende muy poco del cambio en la concentración de CTAB. Esto indica que la porfirina se encuentra principalmente en forma monomérica como se ha observado con otros tensoactivos.^{40,41,66}

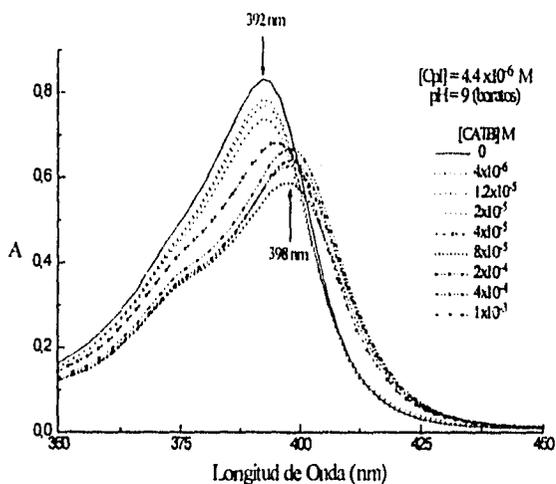


Figura 5.2.5. Espectros de Cpl en función de la concentración de CTAB. La flecha indica la dirección del cambio en la absorbancia. Los espectros corresponden a la lectura inicial ($t=0$).

Tabla 5.2.4 Absorbancias y cociente $A_{302/372}$ para Cpl en función de la concentración de CTAB

CTAB	Lectura inicial t=0			3 horas			18 horas		
	A_{372}	A_{302}	$A_{302/372}$	A_{372}	A_{302}	$A_{302/372}$	A_{372}	A_{302}	$A_{302/372}$
0	0,4476	0,8316	1,857	0,4275	0,7897	1,847	--	--	--
2×10^{-6}	0,4492	0,8310	1,850	0,4304	0,7960	1,849	--	--	--
4×10^{-6}	0,4208	0,7832	1,861	0,4062	0,7523	1,852	0,3965	0,7310	1,844
8×10^{-6}	0,4275	0,7958	1,861	0,4047	0,7522	1,859	0,3990	0,7389	1,852
$1,2 \times 10^{-5}$	0,4145	0,7694	1,856	0,3761	0,7067	1,879	0,3245	0,5819	1,793
$1,6 \times 10^{-5}$	0,4093	0,7534	1,841	0,3031	0,5664	1,869	0,2756	0,5194	1,885
2×10^{-5}	0,4092	0,7381	1,804	0,3428	0,6311	1,841	0,3295	0,6091	1,848
4×10^{-5}	0,3838	0,6629	1,727	0,3161	0,5648	1,787	0,2575	0,4686	1,820
8×10^{-5}	0,3191	0,5418	1,698	0,2819	0,4777	1,694	0,2364	0,4030	1,704
$1,2 \times 10^{-4}$	0,3235	0,5555	1,717	0,3033	0,5177	1,707	0,2776	0,4786	1,724
$1,6 \times 10^{-4}$	0,3064	0,5330	1,740	0,2957	0,5088	1,721	0,2789	0,4854	1,740
2×10^{-4}	0,3260	0,5692	1,746	0,3033	0,5231	1,725	0,2712	0,4742	1,748
4×10^{-4}	0,3422	0,6014	1,757	0,3474	0,6081	1,750	0,3387	0,5975	1,764
8×10^{-4}	0,3250	0,5762	1,773	0,3323	0,5889	1,772	0,3290	0,5886	1,789
1×10^{-3}	0,3223	0,5714	1,773	0,3256	0,5790	1,778	0,3257	0,5800	1,781

5.3 Efecto del disolvente

¿Qué influencia ejerce el microambiente en la estabilidad de las asociaciones de Cpl? Shellnutt y colaboradores³⁷ han propuesto, en un medio salino, la formación de pares iónicos entre el catión proveniente de la sal y los grupos aniónicos laterales de las porfirinas. Este mecanismo supone que la asociación de las porfirinas se ve favorecida al disminuir la repulsión debido a la neutralización de la carga en los grupos laterales. Si este mecanismo es correcto, se esperaría que una disminución en la *polaridad* del disolvente empleado produjera un incremento en las constantes de asociación debido a la reducción de la constante dieléctrica.²¹ Este comportamiento se presenta en la asociación entre porfirinas con cargas permanentes como TTAP (catiónica) y TPPS (aniónica), la cual se promueve en mezclas 1:1 agua-acetona hasta valores de 1×10^8 para la constante de asociación y además, la adición de sales propicia la disociación del complejo en disolución.⁶⁰

Para las asociaciones entre cargas permanentes, relaciones clásicas como la **ecuación 5.3.1**, que dependen de parámetros como $1/\epsilon$ o cualquier otra modificación como el parámetro de Kirkwood $(\epsilon-1)/(2\epsilon+1)$, se utilizan para describir el efecto del disolvente sobre el equilibrio. No obstante, este tipo de correlaciones son raramente observadas debido en parte a la dependencia del disolvente de la separación iónica efectiva, a (parámetro que está incluido en el término $Q(b)$ de la ecuación 5.3.1), así como de las características de donador-aceptor de las moléculas del disolvente y otros efectos de origen no electrostático. A pesar de que se utiliza muchas veces como referencia que indica la *polaridad* del medio, la constante dieléctrica es un parámetro muy pobre para describir efectos de interacciones específicas soluto-disolvente.^{21,69}

$$K = \frac{4\pi N}{1000} \left[\frac{|Z_A Z_B|}{\epsilon kT} \right]^3 \cdot Q(b) \quad (5.3.1)$$

En su lugar, normalmente se emplean parámetros empíricos que reflejan de mejor forma el conjunto de todas las interacciones específicas soluto-disolvente, siendo los más usuales los parámetros de *polaridad* Z , E_T , Y y de *hidrofobicidad* como ΔG_i , S_p y $\text{Log } p$.^{67,93-94}

Para obtener valores adecuados que ayuden a cuantificar la magnitud de las diferentes contribuciones del medio en la constante de asociación es mejor hacerlo a partir del estudio de los cambios en esta constante en función de la composición del disolvente.^{93,94}

En nuestro sistema, elegimos cuatro medios para investigar la influencia del microambiente en las constantes de asociación (o disociación) de Cpl. Estos son mezclas de agua con acetona, etanol, metanol y dioxano, para los que existen datos completos de los parámetros de polaridad e hidrofobicidad. Para evaluar estas constantes se siguieron los cambios en el espectro UV-vis a partir de distintas proporciones de la forma asociada de Cpl (con NaCl 0.5 M, 0.1 M y buffer) y sus mezclas con el disolvente orgánico. El tipo de comportamiento observado en los espectros UV-vis se muestra en la **figura 5.3.1**. Las constantes de disociación fueron calculadas por el mismo método descrito en la **sección 5.2** y los resultados se muestran en la **tabla 5.3.1**.

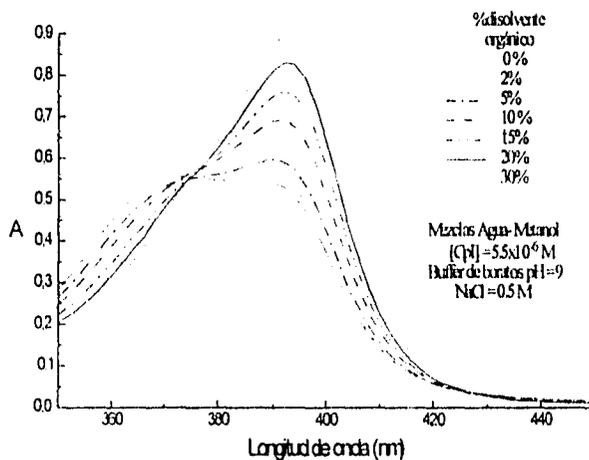


Figura 5.3.1 Cambios espectrales de Cpl al variar la relación agua: metanol en presencia de NaCl 0.5 M. Buffer de boratos pH=9. T = 25°C.

Se puede observar que hay un aumento en las constantes de disociación de Cpl con la concentración del disolvente orgánico, esto es, el disolvente promueve la disociación de Cpl aún en presencia de una alta fuerza iónica. Esta observación resulta inesperada si consideramos el tipo de mecanismo propuesto para la asociación de porfirinas en presencia de sales.³⁷ Si el papel principal del catión proveniente de la sal es la neutralización de la carga de los sustituyentes laterales y con ello, se promueve la asociación, se esperaría que la asociación aumentara en presencia de disolventes orgánicos.

Tabla 5.3.1 Datos obtenidos para las K_d en diversos medios de reacción.

% v/v disolvente orgánico	medio	[NaCl]	Absorbancia en 302 nm	Absorbancia en 372 nm	$K_d^{obs} \times 10^4$ M
0	Buffer/Acetona	-	0.9590	0.5247	2.39
2	"	"	0.9664	0.5146	5.61
10	"	"	0.9503	0.5117	3.64
20	"	"	0.8767	0.5056	1.05
0	Buffer/Acetona/NaCl	0.1 M	0.7403	0.5527	0.166
2	"	"	0.7891	0.5211	0.338
5	"	"	0.864	0.5117	0.791
10	"	"	0.9107	0.5030	1.98
15	"	"	0.8811	0.4943	1.51
20	"	"	0.8759	0.5064	1.02
30	"	"	0.8489	0.5074	0.72
0	"	0.5 M	0.5220	0.6726	0.021
2	"	"	0.5992	0.5528	0.055
5	"	"	0.7173	0.5235	0.187
10	"	"	0.8592	0.5083	0.795
15	"	"	0.8831	0.5081	1.08
20	"	"	0.8775	0.5150	0.863
30	"	"	0.8397	0.6036	0.70
0	Buffer/Etanol/NaCl	0.1 M	0.7328	0.5496	0.162
2	"	"	0.7791	0.5371	0.259
5	"	"	0.8386	0.5319	0.445
10	"	"	0.916	0.5205	1.26
15	"	"	0.9502	0.5263	1.86
20	"	"	0.9254	0.5061	2.42
30	"	"	0.9084	0.5126	1.39
0	"	0.5 M	0.5328	0.5648	0.028
2	"	"	0.5767	0.5639	0.041
5	"	"	0.6417	0.5507	0.081
10	"	"	0.7698	0.5376	0.24
15	"	"	0.8620	0.5251	0.61
20	"	"	0.9109	0.5204	1.17
30	"	"	0.9219	0.5293	1.1

Tabla 5.3.1 (Continuación)

% v/v disolvente orgánico	medio	[Sal]	Absorbancia en 392 nm	Absorbancia en 372 nm	$K_d^{obs} \times 10^4 M$
0	Buffer/Dioxano	-	0.9414	0.5073	3.56
2	"	-	0.9436	0.498	8.87
5	"	-	0.9330	0.4934	8.26
10	"	-	0.8963	0.4811	4.05
15	"	-	0.8709	0.4766	2.39
20	"	-	0.8473	0.4722	1.68
30	"	-	0.8426	0.4843	1.09
0	Buffer/Dioxano/NaCl	0.5 M	0.5323	0.5491	0.034
2	"	"	0.6072	0.5305	0.073
5	"	"	0.7313	0.5067	0.252
10	"	"	0.8434	0.4896	0.972
15	"	"	0.8460	0.4755	1.47
20	"	"	0.8084	0.4537	1.51
30	"	"	0.8331	0.4781	1.11
0	Buffer/Metanol/NaCl	0.5 M	0.5293	0.5556	0.027
2	"	"	0.5482	0.5452	0.037
5	"	"	0.5917	0.5432	0.057
10	"	"	0.6922	0.5448	0.125
15	"	"	0.7615	0.5281	0.256
20	"	"	0.8300	0.5167	0.512
30	"	"	0.9007	0.5096	1.34

Este resultado nos lleva a pensar en otro tipo de factores que influyen además de los de origen electrostático en la estabilidad del dímero de Cpl. ¿qué papel tiene la hidrofobicidad del medio y la polaridad de los disolventes empleados?

Las constantes de disociación (K_d^{obs}) presentan varias contribuciones, siendo una de ellas la contribución iónica por el efecto de los sustituyentes laterales con carga y el medio salino. Para restar esta contribución al valor de las constantes experimentales, se calculó el valor del coeficiente de actividad en los diferentes medios utilizados a partir de una modificación de la ecuación de Scatchard que utiliza el potencial de la teoría de Debye-Hückel^{66,69}, ecuación 5.3.2, donde se incluye el efecto del cambio en la constante dieléctrica del medio y la fuerza iónica para el cálculo del coeficiente de actividad (ver apéndice 7.2):

$$\text{Log} \gamma_{\pm}^C = \frac{z_+^2 z_-^2 122}{\epsilon a} \left[\frac{1 - \frac{\epsilon}{\epsilon_s} \left(1 + \frac{2.913 a \sqrt{I}}{\sqrt{\epsilon}} \right)}{\left(1 + \frac{2.913 a \sqrt{I}}{\sqrt{\epsilon}} \right)} \right] \quad (5.3.2)$$

Tomando como único equilibrio el de la especie monomérica de Cpl y su dímero, y sustituyendo los valores de las constantes: $Z = -2.5$ (carga evaluada en el ajuste de Debye-Hückel para K_d^{obs} en función de la fuerza iónica para electrolitos como NaCl, KCl o NaNO_3), $a=3.5 \text{ \AA}$, $\epsilon_s = 78.5$ (constante dieléctrica del agua); la contribución iónica a K_d^{obs} queda definida como (ver apéndice 7.2):

$$\text{Log} K_d^{iónica} = \frac{436.25}{i} \left[\frac{1 - 0.0127i \left(1 + \frac{10.2\sqrt{I}}{\sqrt{\epsilon}} \right)}{1 + \frac{10.2\sqrt{I}}{\sqrt{\epsilon}}} \right] \quad (5.3.3)$$

donde I es la fuerza iónica y ϵ la constante dieléctrica del medio.

De esta manera la constante de disociación experimental (K_d^{obs}) queda descrita por dos tipos de contribución: una proveniente de efectos electrostáticos cuantificados mediante la **ecuación 5.3.3** y otra que corresponde a las contribuciones de efectos no electrostáticos. La resta de la contribución iónica a los valores experimentales, (K_d^{obs}) nos proporciona valores corregidos (K_d^{cor}), los cuales corresponden a aquellos efectos diferentes de los efectos electrostáticos, **tabla 5.3.2**.

$$K_d^{obs} = K_d^{iónica} K_d^{cor} \quad (5.3.4)$$

$$\text{Log} K_d^{cor} = \text{Log} K_d^{obs} - \text{Log} K_d^{iónica} \quad (5.3.5)$$

Si el efecto del medio fuera sólo de tipo electrostático los valores de K_d^{cor} deberían de ser constantes. En la **tabla 5.3.2** observamos que esto se cumple solamente para aquellos valores donde el disolvente no está presente y hay un efecto de origen no electrostático por la presencia del disolvente.

Para cuantificar los efectos de origen no electrostático los valores de las constantes corregidas (K_d^{cor}) se correlacionaron con los parámetros más usuales que describen algunas características de los disolventes y sus mezclas tales como S_p , ΔG_1 y Y , **tabla 5.3.2**, así como el inverso de la constante dieléctrica de las mezclas.⁹⁴

Tabla 5.3.2 Constantes de disociación corregidas por el efecto electrostático

% v/v disolvente	medio	NaCl	Log K_J^{obs}	Log K_J^{cor}	ϵ^a	ΔG_t^b	S_D^c	Υ^d
0	Buffer/Acetona/NaCl	0.1 M	-4,78	-3,08	78,5	0	1	3,493
2	"	"	-4,47	-2,82	77,6	0,112	0,9949	3,461
5	"	"	-4,10	-2,53	75,81	0,2433	0,9767	3,3889
0	"	0.5 M	-5,7	-3,08	78,5	0	1	3,493
2	"	"	-5,3	-2,69	77,6	0,112	0,9949	3,461
5	"	"	-4,73	-2,22	75,81	0,2433	0,9767	3,3889
10	"	"	-4,10	-1,68	73,02	0,49	0,9614	3,23
0	Buffer/Etanol/NaCl	0.1 M	-4,79	-3,08	78,5	0	1	3,493
2	"	"	-4,59	-2,93	77,4	0,0685	0,9844	3,468
5	"	"	-3,35	-2,78	75,55	0,1456	0,9574	3,4
0	"	0.5 M	-5,58	-3,08	78,5	0	1	3,493
2	"	"	-5,39	-2,92	77,4	0,0685	0,9844	3,468
5	"	"	-5,09	-2,68	75,55	0,1456	0,9574	3,4
10	"	"	-4,62	-2,31	72,5	0,31	0,9172	3,279
15	"	"	-4,21	-2,01	69,5	0,4564	0,8672	3,156
0	Buffer/Dioxano/NaCl	0.5 M	-5,51	-3,08	78,5	0	1	3,493
2	"	"	-5,13	-2,73	77,54	0,0752	0,9851	3,4548
5	"	"	-4,6	-2,28	74,94	0,1775	0,9621	3,397
10	"	"	-4,01	-1,82	71,2	0,36	0,9246	3,312
0	Buffer/Metanol/NaCl	0.5 M	-5,56	-3,08	78,5	0	1	3,493
2	"	"	-5,43	-2,98	77,65	0,043	0,9885	3,438
5	"	"	-5,24	-2,83	76,4	0,126	0,9706	3,3397
10	"	"	-4,90	-2,56	74,18	0,25	0,9417	3,217
15	"	"	-4,59	-2,32	72,06	0,4258	0,911	3,05
20	"	"	-4,29	-2,10	70	0,59	0,8806	2,877

^a referencias 76 y 94 ^b referencia 93 ^c referencia 93 ^d referencia 95

Notarán que en esta tabla no se encuentran todos los datos de K_J^{obs} corregidos hacia K_J^{cor} para la correlación con los parámetros del disolvente. La razón es que nuestro método de cálculo de las constantes de disociación (K_J^{obs}) a partir del espectro electrónico de Cpl en la región de Soret, descrito en la sección 5.2, tiene limitaciones. En la figura 5.2.1 se observa que para valores mayores a 20 en la relación $[PH_2]/[(PH_2)_2]$, la curva es muy sensible a pequeños cambios en la relación de absorbancias A_{392}/A_{372} . Esta región comprende los valores para K_J^{obs} iguales o mayores a 1.1×10^{-4} (-3.95 en unidades logarítmicas) que precisamente son los que se alcanzan en las proporciones más grandes de disolvente (20-30%) y cuando el medio contiene solo buffer de boratos (ver tabla 5.3.1). Por ello, todos los resultados empleados corresponden solamente a los datos en

NaCl 0.5 M y los primeros valores en NaCl 0.1 M, es decir a valores menores a 1×10^{-2} para K_d^{cor} .

Como habíamos mencionado antes, la constante dieléctrica es un parámetro muy pobre para describir las interacciones soluto-disolvente. Normalmente, las correlaciones con este parámetro ($1/\epsilon$) no brindan resultados positivos por que no están consideradas interacciones específicas, **figura 5.3.2**. Los parámetros empíricos como el de Fainberg-Winstein (Y),⁹⁵ que refleja la *polaridad* del disolvente, tienen la virtud de describir en mejor forma los procesos llevados a cabo en diferentes disolventes, agrupando los datos en una sola línea recta. Sin embargo, para nuestros datos no obtuvimos una correlación positiva, **figura 5.3.3**. Al parecer este efecto contribuye muy poco a la asociación de Cpl.

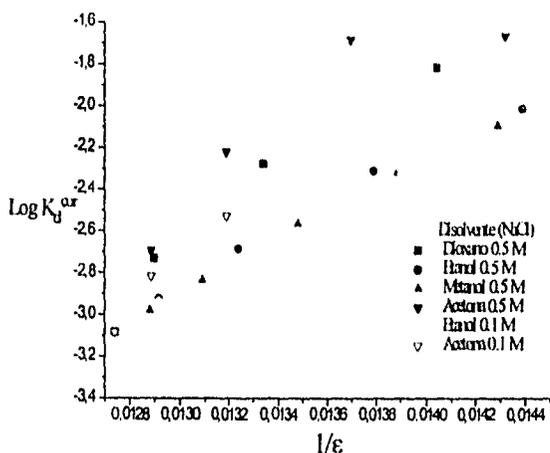


Figura 5.3.2 Correlación entre K_d^{cor} y el inverso de la constante dieléctrica ($1/\epsilon$).

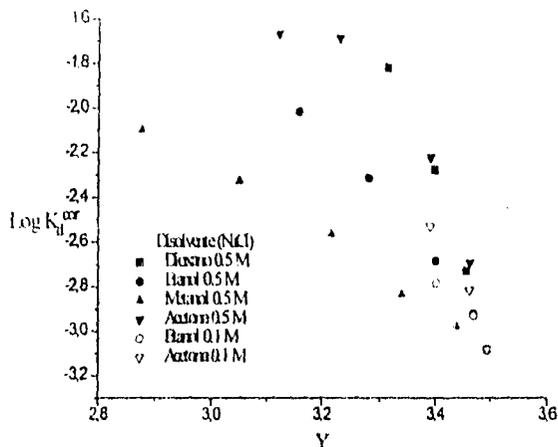


Figura 5.3.3 Correlación entre K_d^{cor} y el parámetro de polaridad de Fainberg-Winstein (Y).

Los parámetros de hidrofobicidad, como la energía libre de transferencia (ΔG_t), pueden indicar si la modificación de las propiedades hidrofóbicas del medio contribuyen a la asociación de Cpl e incluso, si la correlación es positiva, nos indica la relación de las superficies, como criterio de hidrofobicidad, entre las dos sustancias correlacionadas, en este caso Cpl y Me_4C . La correlación de K_d^{cor} con los valores de ΔG_t , para la transferencia de Me_4C desde agua hacia las diferentes mezclas de disolventes, figura 5.3.4, presenta una mejor correlación que los parámetros de polaridad. De esta forma puede argumentarse que la contribución hidrofóbica en la asociación de Cpl es más importante.

Otra forma que se ha propuesto para caracterizar la sensibilidad a las contribuciones provenientes de Interacciones hidrofóbicas, está representada en la ecuación 5.3.6, donde S_p es un parámetro empírico que describe la solvofobicidad del medio.⁹³

$$\text{Log } K = a S_p + \text{Log } K^0 \quad (5.3.6)$$

Se ha descrito que los valores de las energías libres de transferencia (ΔG_t) para diversas sustancias (hidrocarburos, gases nobles etc.) de la fase gas hacia un medio en particular y los valores ΔG_t para el caso de la transferencia del agua hacia el mismo medio, constituyen una medida adecuada para S_p .⁹³

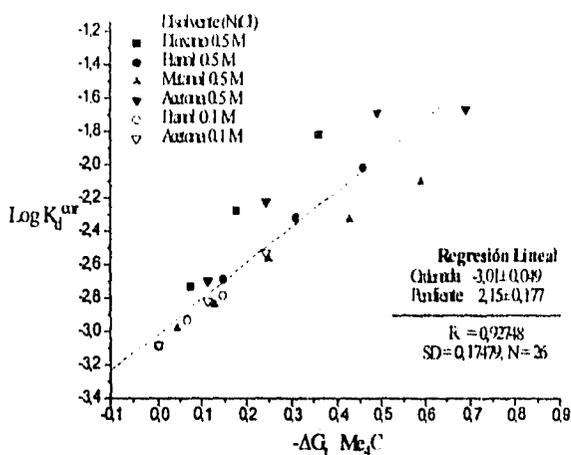


Figura 5.3.4 Correlación entre K_j^{or} y la energía de transferencia de Me_2C de agua a la mezcla de disolvente.

Este parámetro ha sido aplicado para correlacionar una serie de compuestos del tipo huésped-anfitrión⁹⁴ y en asociaciones de porfirinas catiónicas con ligantes orgánicos con carga.⁵⁸ Hemos correlacionado los valores de K_j^o con este parámetro de solvofobicidad, observando que sólo para los alcoholes resulta un parámetro adecuado y no describe las interacciones que suceden con acetona y dioxano, figura 5.3.5.

Si sólo tomáramos en cuenta los datos obtenidos para las mezclas con los alcoholes (como sucede en algunas publicaciones), el parámetro de sensibilidad del análisis de regresión a (pendiente) para sistemas del tipo huésped-anfitrión⁹⁴ ($a \cong 7$) o con la asociación de porfirinas catiónicas con otros compuestos aromáticos⁵⁸ ($a \cong 5$), resulta

menor que el obtenido para la asociación de Cpl ($a \approx 8$), tabla 5.3.3, lo que indicaría una mayor contribución hidrofóbica a la asociación de Cpl en estos medios. Sin embargo, el hecho de que no describa los resultados con disolventes como acetona y dioxano pone en duda la generalidad de éste parámetro.

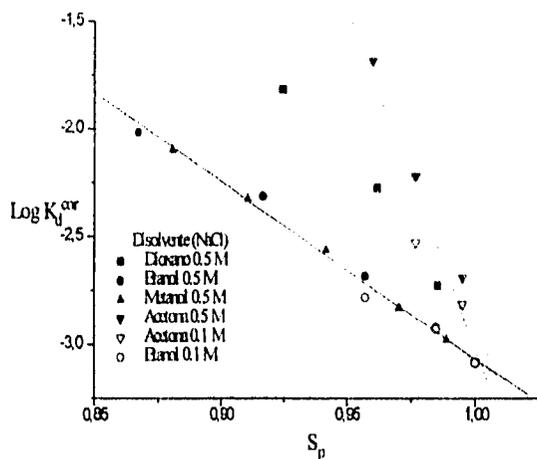


Figura 5.3.5 Correlación entre K_d^{cor} y el parámetro de solvofobicidad S_p .

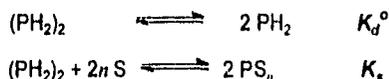
Tabla 5.3.3 Datos para la correlación de $\text{Log } K_d^{cor}$ con el parámetro solvofóbico S_p .

Disolvente	a	$\text{Log } K_d^0$	r	n
Metanol	-8.3 (± 0.16)	5.2 (± 0.15)	0.9993	6
Etanol	-8.22 (± 0.38)	5.15 (± 0.37)	0.993	8
Dioxano	-16.5 (± 1.8)	13.5 (± 1.8)	0.988	4
Acetona	-31.8 (± 4)	28.8 (± 3.9)	0.963	7

r = coeficiente de correlación, n = número de datos incluidos en la correlación

Los resultados obtenidos demostraron que la hidrofobicidad a nivel macroscópico, relacionada con el parámetro ΔG_1 , tiene una contribución importante en la asociación de Cpl, a pesar de que la correlación no es perfecta. Por otra parte, la ausencia de correlación con parámetros que reflejan la *polaridad* del disolvente como Y , indica que no tiene una contribución significativa en la asociación de Cpl. Con el parámetro S_p , existe cierta contradicción ya que está definido a partir de los datos de ΔG_1 , pero no funciona al menos como éste parámetro. Esto podría significar simplemente que el parámetro está mal definido. Vale la pena mencionar que a pesar de que los parámetros S_p e Y se obtienen por métodos muy diferentes,^{93,95} y explican mecanismos de interacción soluto-disolvente también muy diferentes, sorprendentemente encontramos que están intercorrelacionados. Otros parámetros de "polaridad" (E_T , Z etc.) también se encuentran intercorrelacionados.¹¹⁸

Otra vía que puede explicar las observaciones experimentales, es una interacción directa del disolvente con la molécula de Cpl y tomar en cuenta el efecto hidrofóbico del disolvente orgánico. El esquema general propuesto para esta interacción es el que aparece a continuación:



donde n es el número de moléculas de disolvente que interaccionan con el dímero de Cpl.

La relación entre los valores corregidos (K_d^{cor}) como función de la concentración molar del disolvente es (ver apéndice 7.7):

$$K_d^{\text{cor}} = K_d^0 + \left(2\sqrt{K_d^0 K_s} [S]^n + K_s [S]^{2n} \right) \quad (5.3.7)$$

La dependencia típica de los valores corregidos (K_d^{cor}) y el ajuste a la ecuación 5.3.7 se muestran en la figura 5.3.6. El valor de n para las cuatro mezclas de disolventes empleadas se mantuvo constante e igual a 1, para tener la misma aproximación en los valores de K_s calculados. Los valores obtenidos se resumen en la tabla 5.3.4.

Una medida de la hidrofobicidad ampliamente utilizada es el logaritmo del coeficiente de partición de un compuesto entre un disolvente no acuoso y el agua.⁹⁷ Para

los valores de las constantes de asociación con el disolvente, encontramos una correlación positiva entre $\text{Log } K_d$ y el logaritmo del coeficiente de partición entre CCl_4 y H_2O ($\text{Log } P_{\text{CCl}_4/\text{H}_2\text{O}}$), **figura 5.3.7**, lo que indica que a nivel microscópico, la hidrofobicidad tiene un papel importante en la asociación de Cpl. Por otra parte, no encontramos correlación con $\text{Log } P_{\text{octanol/agua}}$, esto podría indicar que la superficie de Cpl es más parecida en sus propiedades hidrofóbicas al tetracloruro de carbono que al octanol, probablemente, gracias a la ausencia de los grupos OH.

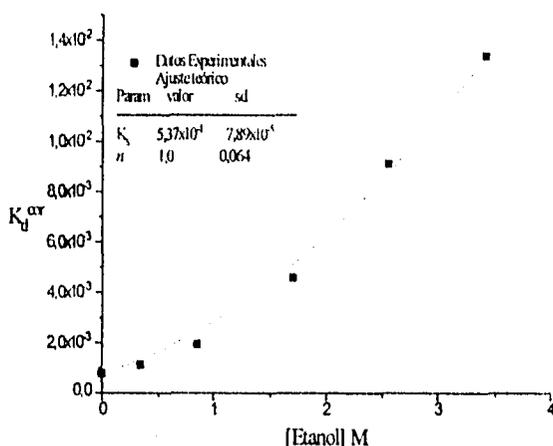


Figura 5.3.6 Cambio en K_d^{cor} con la concentración del disolvente y ajuste a la ecuación 5.3.7.

La observación de una contribución microscópica de origen hidrofóbico, es contraria a la expresada por otros investigadores en cuanto a las asociaciones de porfirinas sintéticas con otras especies aromáticas como fenantrolinas o quinolinas.⁵⁸ En estos trabajos, utilizan porfirinas catiónicas sustituidas en la posición meso, lo cual difiere de la estructura de Cpl y probablemente, determina el comportamiento observado. A pesar de esta diferencia, hay puntos en coincidencia con esos resultados, ya que también observan un decremento en las constantes de complejación (ΔG_{Cpl}) con el aumento de la proporción de disolvente orgánico y presentan correlaciones con parámetros de

solvofobicidad (S_p) y polaridad (E_T) en mezclas agua-metanol. Al igual que en nuestros resultados, no pueden distinguir este comportamiento de la correlación con la constante dieléctrica debido a la intercorrelación de estos parámetros, concluyendo que sus resultados no apuntan necesariamente a un origen hidrofóbico de las asociaciones con porfirinas y especulan acerca de la posibilidad de que este disolvente con alta molaridad pueda competir de manera eficiente con el ligante aromático.⁵⁸ Nosotros hemos encontrado en términos cuantitativos, que efectivamente, el disolvente interactúa de forma directa con la molécula de Cpl, disociando al dímero, y esta capacidad se encuentra correlacionada con el cambio en la hidrofobicidad del medio.

Tabla 5.3.4 Valores de K_s calculados mediante el ajuste de la ecuación 5.3.7 a los datos de K_d^{cor} para cada mezcla de disolventes y los parámetros de Hansch⁶⁷ correspondientes.

Disolvente	$K_s \cdot 10^4 (sd \cdot 10^4)$	$\text{Log } K_s (sd)$	$\text{Log } P_{\text{octano/agua}}$	$\text{Log } P_{\text{CCl}_4/\text{agua}}$
Metanol	1.36 ± 0.13	-3.87 ± 0.045	-0.71	-2.1
Etanol	5.37 ± 0.79	-3.27 ± 0.065	-0.31	-1.4
Acetona	14.8 ± 5.3	-2.83 ± 0.16	-0.24	-0.34
Dioxano	19.5 ± 6.9	-2.71 ± 0.15	-0.27	-0.13

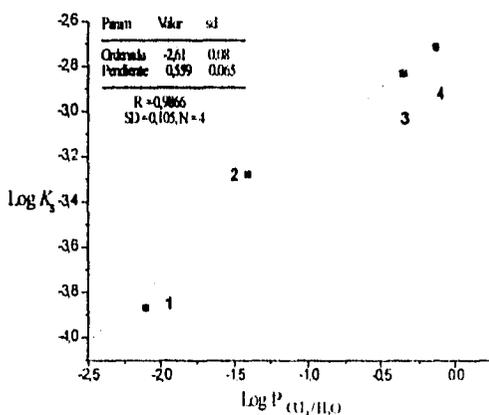


Figura 5.3.7 Correlación entre las constantes de asociación con el disolvente $\text{Log } K_s$ y el parámetro $\text{Log } P_{\text{CCl}_4/\text{H}_2\text{O}}$ para (1) metanol, (2) etanol, (3) acetona y (4) dioxano.

5.4 RMN H¹ y efecto de la temperatura.

El estudio de los cambios en el desplazamiento químico de los protones de las porfirinas, como consecuencia de interacciones intermoleculares, ha permitido en algunos casos una descripción detallada de la autoasociación de metaloporfirinas. De manera general, se ha observado que en disolventes no acuosos la asociación de la porfirina libre es débil y semejante al observado en otras moléculas aromáticas. En metaloporfirinas, la asociación ocurre por la interacción de las cadenas polares laterales de una y el sitio metálico central de otra. Los estudios en disolución acuosa cubren principalmente asociaciones de heterodímeros sustituidos en posición *meso*^{59,98} y hemoporfirinas.⁹⁹ Para la molécula de Cpl sólo existen datos para el éster en CDCl₃.⁷³

Con la finalidad de obtener información más detallada del tipo de estructura del agregado de Cpl que se forma en disolución acuosa, se midieron los espectros de RMN H¹ bajo condiciones donde predomina el dímero (altas concentraciones de Cpl y electrolito) y en condiciones donde se encuentra la especie monomérica de Cpl (bajas concentraciones de Cpl y en una mezcla con disolvente orgánico).

El espectro de RMN H¹ en 500 Mhz para Cpl 1x10⁻² M, en D₂O y NaCl 0.5 M, se muestra en la figura 5.4.2. En él se observan las cuatro señales esperadas para los hidrógenos de Cpl, figura 5.4.1. La primera un triplete alrededor de 2.8 ppm correspondiente a los metilenos β del propionato, un singulete en 3.4 ppm de los metilos pirrólicos, una señal alrededor de 4.2 ppm correspondiente a los metilenos α del propionato que se ve afectada por la supresión de la señal del H₂O y una última señal desplazada hacia campo bajo alrededor de 9 ppm que corresponde a los hidrógenos en posición *meso*.

Por otra parte, el mismo espectro en 500 Mhz de Cpl 1x10⁻³ M en 30% vol/vol de acetona deuterada-D₂O, figura 5.4.3, presenta desplazamientos químicos diferentes a los observados en el espectro anterior. Se puede observar que en todas las señales hay un desplazamiento hacia campos bajos provocado por la disociación de la moléculas de Cpl, al estar más diluido y por la presencia del disolvente orgánico, tabla 5.4.1.

Con los espectros obtenidos, podemos asignar los desplazamientos químicos del monómero y del dímero, los cuales son completamente distintos.

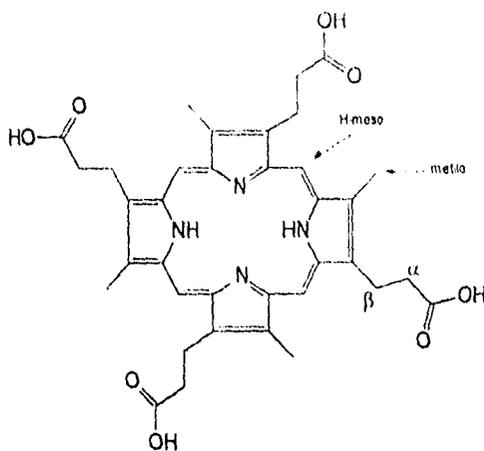


Figura 5.4.1 Protones de Coproporfirina I observados por RMN H^1 . Metilo pirr6lico, metilenos α y β y prot6n meso.

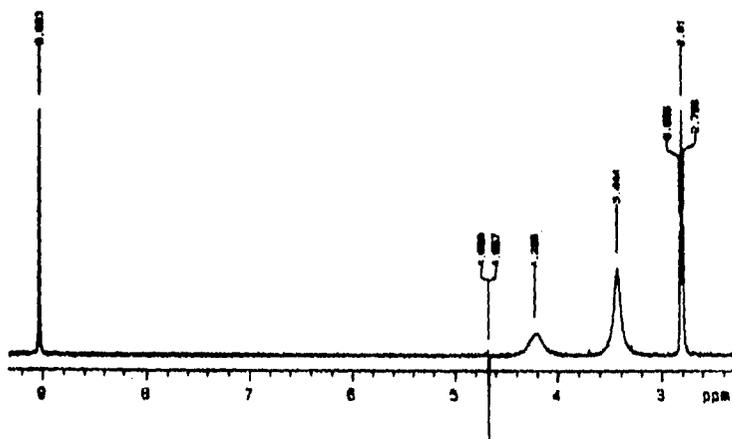


Figura 5.4.2 Espectro de RMN H^1 500 Mhz para Cpl 1×10^{-2} M en D_2O y NaCl 0.5 M

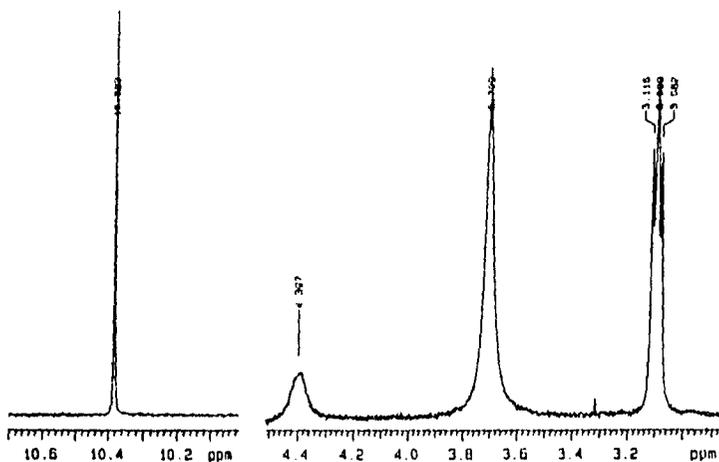


Figura 5.4.3 Espectro de RMN H^1 500 Mhz para Cpl 1×10^{-3} M en D_2O y $(CD_3)_2CO$ al 30%.

Sin embargo, en condiciones intermedias donde ambas especies están presentes, no es posible distinguir las señales correspondientes a cada una de ellas, debido a que el intercambio es rápido y por lo tanto, sólo observamos la señal promedio.

Tabla 5.4.1 Desplazamientos químicos observados para Cpl

Cpl	meso-H	$-CH_2^{(a)}$	$-CH_3$	$-CH_2^{(b)}$
Dímero, 1×10^{-2} M 25°C, NaCl 0.5 M	9.033	4,225	3,444	2,812
Monómero, 1×10^{-3} M 25°C, $(CD_3)_2CO$ 30%	10.383	4,397	3,709	3.099
$\Delta\delta$	1.35	0.172	0.265	0.287

Para tener un análisis cuantitativo del proceso de asociación a partir de los desplazamientos químicos, se obtuvieron los datos a una frecuencia de 300 MHz para el cambio del desplazamiento químico en función de la concentración de Cpl y de la temperatura en D_2O y NaCl 0.1 M. Los datos obtenidos se resumen en las tabla(s) 5.4.2.

Tabla 5.4.2 Desplazamientos químicos observados para Cpl en 300 MHz en D₂O. NaCl 0.1 M

[Cpl] = 6.9×10^{-3} M

Temperatura °C	meso-H δ	-CH ₂ ^(a)	-CH ₃	-CH ₂ ^(b)
25	8,913	4,08	3,309	2,667
35	9,014	4,171	3,405	2,777
45	9,112	4,253	3,491	2,877
55	9,208	4,34	3,58	2,98
65	9,314	4,409	3,665	3,078
75	9,421	4,498	3,753	3,177
85	9,531	4,569	3,835	3,268

[Cpl] = 3.45×10^{-3} M

Temperatura °C	meso-H	-CH ₂ ^(a)	-CH ₃	-CH ₂ ^(b)
25	8,95	4,117	3,332	2,705
35	9,05	4,195	3,42	2,79
45	9,162	4,274	3,512	2,922
55	9,273	4,35	3,6	3,021
65	9,392	4,435	3,689	3,124
75	9,518	4,521	3,779	3,226
85	9,656	--	3,869	3,327

[Cpl] = 1.7×10^{-3} M

Temperatura °C	meso-H	-CH ₂ ^(a)	-CH ₃	-CH ₂ ^(b)
25	8,973	4,133	3,34	2,69
35	9,092	4,203	3,43	2,823
45	9,225	4,28	3,526	2,934
55	9,357	4,37	3,62	3,044
65	9,505	4,458	3,716	3,151
75	9,667	4,551	3,811	3,26
85	9,847	--	3,916	3,37

[Cpl] = 8.6×10^{-4} M

Temperatura °C	meso-H	-CH ₂ ^(a)	-CH ₃	-CH ₂ ^(b)
25	9,014	4,152	3,356	2,706
35	9,175	4,222	3,453	2,826
45	9,352	4,307	3,554	2,939
55	9,533	4,405	3,657	3,056
85	10,161	--	3,986	3,413

[Cpl] = 4.3×10^{-4} M

Temperatura °C	meso-H	-CH ₂ ^(a)	-CH ₃	-CH ₂ ^(b)
25	9,138	4,172	3,385	2,753
35	9,422	4,249	3,477	2,857
45	9,609	4,35	3,588	2,987
55	9,812	4,466	3,707	3,11
65	10,259	4,544	3,938	3,356
75	10,459	--	4,061	3,484

Las constantes para el equilibrio de formación (K_f) se calcularon mediante el ajuste no lineal a la siguiente ecuación (ver apéndice 7.8):

$$\Delta\delta_{obs} = \delta_{obs} - \delta_m = \frac{\Delta\delta_{ass} \left[\left(1 + 8[P]_{H_2O} K_f \right)^{1/2} - 1 \right]^2}{8[P]_{H_2O} K_f} \quad (5.4.1)$$

donde se asume el equilibrio entre el monómero de Cpl y su dímero, $\Delta\delta_{ass}$ es un parámetro del ajuste que resulta de la diferencia entre δ_m y δ_d , desplazamientos químicos del monómero y del dímero respectivamente. El valor para el desplazamiento químico del monómero (δ_m), se obtuvo mediante la extrapolación a dilución infinita de los valores experimentales (H-meso = 10.476, CH₃ = 4.056 y CH₂^β = 3.456). Los datos para los protones de CH₂^(α) no se tomaron en cuenta debido a que su señal se traslapa con la señal del H₂O y se ven afectadas cuando ésta se suprime. El tipo de ajustes obtenidos se muestran en la figura 5.4.4 y los valores se resumen en la tabla 5.4.3.

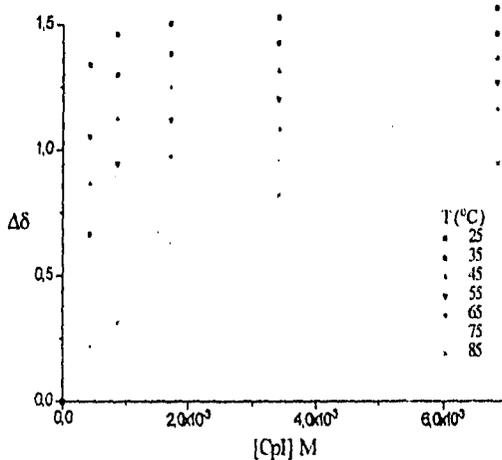


Figura 5.4.4 Ajuste no lineal para los datos de $\Delta\delta$ para los protones en posición *meso* en diferentes temperaturas.

Tabla 5.4.3 Datos de K_f obtenidos del ajuste no lineal de la ecuación 5.4.1.

T °C	K_f H-meso	K_f CH ₃	K_f CH ₂ ^(b)	Ln K_f H-meso	Ln K_f CH ₃	Ln K_f CH ₂ ^(b)	$\Delta\delta_{\text{asa}}$
25	31000±7733	66272±13226	72392±14382	10.34±0.249	11.10±0.199	11.19±0.571	1.65
35	7105±2541	59127±18293	44150±13619	8.87±0.357	10.98±0.309	10.69±0.308	1.65
45	3566±991	19085±1530	19887±8451	8.18±0.278	9.85±0.080	9.90±0.425	1.61
55	1732±466	6899±563	7641±2157	7.46±0.269	8.84±0.081	8.94±0.282	1.60
65	348±313	555±390	431±260	5.85±0.899	6.32±0.702	6.07±0.603	1.96
75	184±235	187±277	113±183	5.21±1.277	5.23±1.181	4.73±1.619	2.11
85	214±102	184±78	63±10	5.37±0.476	5.21±0.424	4.14±0.160	1.73

Por otra parte, la dependencia de la temperatura se obtuvo también por medio de la espectroscopia de absorción electrónica en la región UV-visible, donde se midieron los espectros para una concentración constante de Cpl a pH = 9 y fuerza iónica 0.1 M, figura 5.4.5. Las constantes del equilibrio monómero-dímero se calcularon mediante el método descrito en la sección 5.2 y se muestran en la tabla 5.4.4.

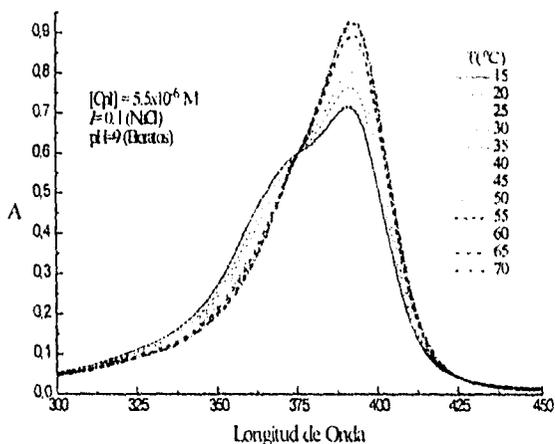


Figura 5.4.5 Espectro de Cpl como función de la temperatura.

Tabla 5.4.4 Constantes calculadas a partir de espectroscopia UV-vis.

T °C	T ⁻¹ (K)	A ₃₉₂ /A ₃₇₂	K _d (M)	Ln K _d (M ⁻¹)
20	0,00341	1,245	1,1305 × 10 ⁻⁵	11,390
25	0,00336	1,290	1,361 × 10 ⁻⁵	11,205
30	0,0033	1,349	1,72 × 10 ⁻⁵	10,971
35	0,00325	1,433	2,4093 × 10 ⁻⁵	10,634
40	0,00319	1,502	3,2089 × 10 ⁻⁵	10,547
45	0,00314	1,550	3,944 × 10 ⁻⁵	10,511
50	0,0031	1,605	5,087 × 10 ⁻⁵	9,886
55	0,00305	1,649	6,3565 × 10 ⁻⁵	9,663
60	0,003	1,700	8,4507 × 10 ⁻⁵	9,378
65*	0,00296	1,730	1,0216 × 10 ⁻⁴	9,189
70*	0,00292	1,751	1,1816 × 10 ⁻⁴	9,043

* Las constantes a las temperaturas en 65 y 70 °C se encuentran por arriba del valor confiable para el método de cálculo empleado (ver sección 5.3), por ello no se tomaron en cuenta para la correlación.

Una forma usual para el tratamiento de los resultados del cambio en la constante de equilibrio con la temperatura es a través de la ecuación de van't Hoff, que se presenta a continuación en su forma diferencial (a) y su forma integrada (b). Esta última ecuación se aplica sólo cuando no existe dependencia de la temperatura para el ΔH° ($\Delta C_p=0$)^{123,124}.

$$(a) \frac{d \ln K}{d(1/T)} = -\frac{\Delta H^\circ}{R} \quad (b) \ln K = -\frac{\Delta H^\circ}{RT} + \Delta S^\circ \quad (5.4.2)$$

Una gráfica de los logaritmos de las constantes de formación frente a 1/T nos permite calcular el valor para el ΔH° para la dimerización de Cpl, figura 5.4.6. Resulta claro que no existe un acuerdo total entre los valores generados por ambas técnicas e incluso en una misma técnica (RMN H¹), las constantes calculadas con el cambio en el desplazamiento químico de los protones en meso, no corresponden con las obtenidas a partir de los cambios en las otras dos señales, aunque en temperaturas por arriba de 65°C los datos son muy parecidos. Por otra parte, en temperaturas menores (20-45°C) las constantes derivadas del cambio en el desplazamiento de los protones del metilo y del metileno β, así como de espectroscopia UV-vis se encuentran en muy buena correlación.

Hemos revisado cuidadosamente las condiciones de los experimentos y los cálculos de las constantes y no encontramos fundamento para excluir alguno de los resultados experimentales. Por lo tanto, decidimos analizar el conjunto de datos de $\ln K_f$ como función de la temperatura dividiéndolos en tres grupos: i) los datos obtenidos mediante la espectroscopia UV-vis, ii) los datos correspondientes a los protones de los grupos metilo y metileno β , y iii) al protón meso, figura 5.4.6.

Los valores del ΔH° para el proceso de asociación de Cpl que se obtuvieron a partir de las regresiones lineales se muestran en la tabla 5.4.5. El cálculo del ΔS° se realizó a partir del valor de $\ln K_f$ a 25°C y el valor encontrado para ΔH° . El valor utilizado de $\ln K_f$ a 25°C fue 11.2, que resulta del promedio de los valores obtenidos por espectroscopia UV-vis y las señales de los protones de los grupos CH_3 y CH_2^β . Este valor está en buen acuerdo con el obtenido mediante la dependencia de la concentración de Cpl a fuerza iónica constante (0.1 M NaCl, ver tabla 5.1.1). Para la señal en meso se utilizó el valor de 10.3, ver tabla 5.4.3, que corresponde al $\ln K_f$ encontrado a 25°C.

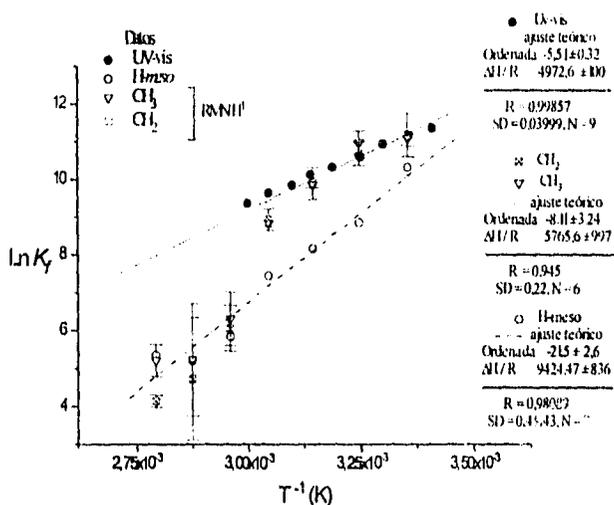


Figura 5.4.6 Dependencia de la temperatura en coordenadas de van't Hoof.

Tabla 5.4.5 Valores para el ΔH° (Kcal/mol) y el ΔS° (ue) obtenidos a partir de la dependencia de la temperatura del $\ln K_f$ del dímero de Cpl

Método	ΔH° Kcal/mol	ΔS° ue
A_{392}/A_{372} , UV-visible	-9.8 ± 0.2	-10.9 ± 0.2
CH_3 y CH_2^{b} , RMN H^1	-11.4 ± 1.98	-16.2 ± 2
H- <i>meso</i> , RMN H^1	-18.7 ± 1.7	-42.3 ± 2

Antes de discutir los valores presentados en la tabla anterior vale la pena aclarar algunos puntos. Primero, las técnicas utilizadas miden aspectos distintos de la molécula de Cpl, por RMN H^1 observamos la propiedad de ciertos átomos (H-*meso*, CH_3 y CH_2^{b}) mientras que por UV-vis observamos una propiedad correspondiente al total de la molécula. Segundo, los modelos matemáticos utilizados para calcular las constantes de dimerización obedecen a la misma funcionalidad, siendo la aproximación más importante para aplicarlos en la dependencia de la temperatura que los valores de ϵ_{PH_2} y $\epsilon_{(\text{PH}_2)_2}$ en el caso de UV-vis, δ_m y δ_d para RMN H^1 no dependan también del cambio en la temperatura.

En general, los valores de ΔH° encontrados para el equilibrio de dimerización de Cpl en D_2O nos indican que el proceso de asociación está favorecido entálpicamente. El valor negativo del ΔS° es normal para un proceso asociativo pero ambos son más grandes que los informados para el equilibrio de autoasociación de otras porfirinas o metaloporfirinas tanto en agua como en disolventes no acuosos.^{74,99-101}

El valor para el ΔH° obtenido por UV-vis y las señales de CH_3 y CH_2^{b} son iguales dentro del error experimental, mientras que con los protones en *meso* se obtiene un valor dos veces más grande. Al parecer estos valores reflejan el tipo de proceso que se está midiendo, ya que no sólo se cambió la técnica, también el intervalo de concentraciones en que se aplica cada una es distinto. Debido a esto, es posible que en el intervalo de concentraciones de los experimentos con RMN H^1 , además del dímero, se formen agregados de orden mayor (trímeros, tetrámeros, etc.) y que los protones en posición *meso* sean más sensibles a estos procesos.

El valor derivado de los datos de UV-vis o los protones CH_3 y CH_2^{b} , es muy parecido al obtenido para dímeros unidos covalentemente ($\Delta H_f = -11 \pm 2.4$ Kcal/mol)⁴⁷ No

obstante, a pesar de esta coincidencia éste valor parece un poco grande para que sea debido exclusivamente a la asociación entre los planos aromáticos de la porfirina. tomando en cuenta que la energía de la asociación entre moléculas aromáticas más pequeñas como benceno y naftaleno son muy pequeñas (≈ -2 Kcal/mol).^{7,21} Para explicar la magnitud del ΔH° obtenido hay que considerar que la molécula de porfirina representa aproximadamente 4 veces el área del plano aromático de una molécula aromática más pequeña y aunque la energía de la interacción no es totalmente aditiva, se espera que sea más grande para una porfirina. Además, es muy probable que la asociación no sea el único evento que debe tomarse en cuenta, como se ha visto en la sección 5.3, la hidrofobicidad del medio contribuye de manera importante a la energía de la interacción.

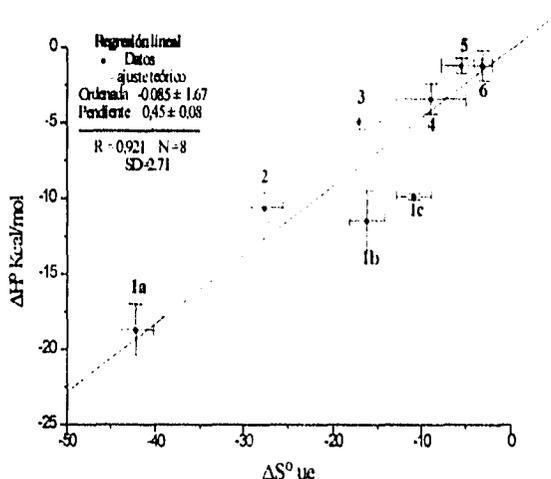


Figura 5.4.7 Correlación ΔH° vs ΔS° para el equilibrio de autoasociación de una serie de porfirinas. (1a) Coproporfirina I en D_2O , H-meso, (1b) Coproporfirina I en D_2O , CH_3 y CH_2^{β} , (1c) Coproporfirina I en D_2O , Uv-vis, (2) Uroporfirina I de Fe(III) en D_2O ,⁶⁹ (3) Tetrametilester de Coproporfirina I de Talio (III) en $CDCl_3$,⁷⁴ (4) 2,4-dibromo Deuteroporfirina de hierro (III) en CD_3OD ,¹⁰⁰ (5) Tetrametilester de Coproporfirina III en $CDCl_3$,⁷³ (6) Deuteroporfirina IX en $CDCl_3$.¹⁰¹

Una correlación positiva en los valores de ΔH° y ΔS° para un proceso determinado es normalmente considerado un indicio de que el mecanismo se conserva.¹²⁰ En este caso, para la autoasociación de diversas porfirinas o metaloporfirinas en diferentes disolventes encontramos una compensación en los valores de ΔH° y ΔS° , **figura 5.4.7**. La temperatura isotermodinámica encontrada es 450 K, la cual está afuera del intervalo de temperaturas trabajado (288-358 K), lo que representa que la compensación encontrada es válida (o real) como lo han demostrado trabajos clásicos sobre el tema.¹⁰²

Una representación más significativa de ésta compensación resulta al graficar en las coordenadas ΔH° vs $\ln K$, que en algunos casos ha demostrado que la compensación observada de la gráfica ΔH° vs ΔS° es sólo un efecto estadístico de los errores cuando los valores provienen de un mismo análisis de regresión y por tanto, son parámetros estadísticamente dependientes.¹²⁰

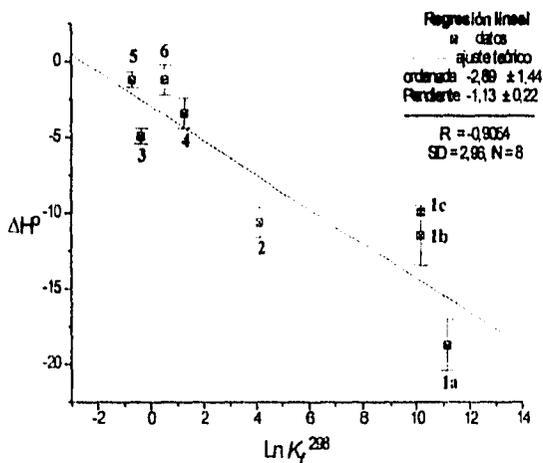


Figura 5.4.8 Correlación ΔH° vs $\ln K_T$ (298 K) para el equilibrio de autoasociación de una serie de porfirinas. (1a) Coproporfirina I en D_2O , H-meso, (1b) Coproporfirina I en D_2O , CH_3 y CH_2^D , (1c) Coproporfirina I en D_2O , Uv-vis, (2) Uroporfirina I de Fe(III) en D_2O ,⁹⁹ (3) Tetrametilester de Coproporfirina I de Talio (III) en $CDCl_3$,⁷⁴ (4) 2,4-dibromo Deuteroporfirina de hierro (III) en CD_3OD ,¹⁰⁰ (5) Tetrametilester de Coproporfirina III en $CDCl_3$,⁷³ (6) Deuteroporfirina IX en $CDCl_3$.¹⁰¹

Con el cambio de coordenadas, figura 5.4.8, nuestros resultados siguen mostrando una relación lineal, lo que confirma que la compensación observada es real. El tratamiento riguroso sobre la validez de este tipo de correlaciones ha sido informado en los trabajos de Exner¹⁰² y Linnert¹²², desafortunadamente, los datos publicados no están completos y no es posible llevar a cabo estos tratamientos estadísticos.

Esta compensación es un fenómeno que se ha observado en muchos otros sistemas que también de asocian mediante interacciones no covalentes.^{121,122} Para estos sistemas, denominados supramoleculares, la pendiente (α) y la intersección ($T\Delta S_0$) de una gráfica $T\Delta S^\circ$ vs ΔH° se han interpretado como una medida de los cambios conformacionales y del grado de desolvatación que se tiene como resultado de la formación del complejo o asociación.^{121,122}

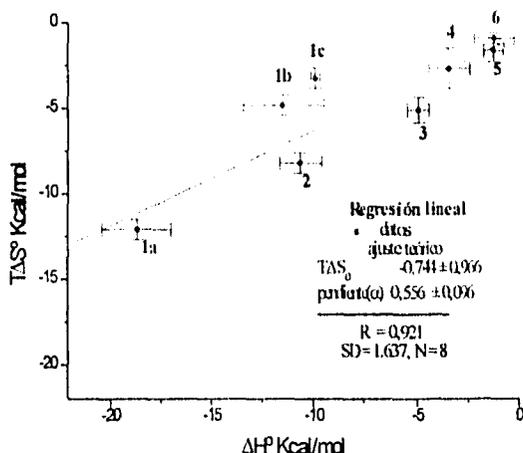


Figura 5.4.9 Correlación $T\Delta S^\circ$ vs ΔH° para el equilibrio de autoasociación de una serie de porfirinas. (1a) Coproporfirina I en D_2O , H-meso, (1b) Coproporfirina I en D_2O , CH_3 y CH_2^H , (1c) Coproporfirina I en D_2O , Uv-vis, (2) Uroporfirina I de Fe(III) en D_2O ,⁹⁹ (3) Tetrametilester de Coproporfirina I de Talio (III) en $CDCl_3$,⁷⁴ (4) 2,4-dibromo Deuteroporfirina de hierro (III) en CD_3OD ,¹⁰⁰ (5) Tetrametilester de Coproporfirina III en $CDCl_3$,⁷³ (6) Deuteroporfirina IX en $CDCl_3$.¹⁰¹

En la figura 5.4.9 se observa la compensación $T\Delta S^{\circ}-\Delta H^{\circ}$ para la autoasociación de diversas porfirinas y metaloporfirinas. El resultado obtenido para la pendiente (α) a partir del análisis de regresión lineal, concuerda muy bien con los informados para otros sistemas donde se asocian porfirinas con diversas quinonas y piridinas, tabla 5.4.6.

Tabla 5.4.6. Pendiente (α) e intersección ($T\Delta S_0$) de gráficas de compensación $\Delta H-T\Delta S$ para algunos sistemas supramoleculares ^{121, 122}

Tipo de asociación	α (pendiente)	$T\Delta S_0$	r, n
Éter corona-cationes	0.76	2.4	0.87, 207
Criptando-cationes y diversas moléculas	0.51	4.0	0.70, 39
Ciclodextrinas - diversas moléculas	0.90	3.1	0.88, 150
derivados de β -Ciclodextrina - 2-naftalensulfonato	1.07	5.0	0.994, 22
Porfirina-quinonas	0.6	0	0.952, 13
Metaloporfirinas sustituidas- piridinas sustituidas	0.61	1.6	0.972, 33
Ciclofanos/Calixarenos-diversas moléculas aromáticas y cationes	0.78	3.4	0.921, 75
Autoasociación de Porphirinas	0.556 ± 0.098	-0.75 ± 0.996	0.921, 8

r = coeficiente de correlación del análisis de regresión lineal,
n = número de datos incluidos en el análisis

Bajo esta idea, el resultado anterior significa que la porfirina sufre cambios conformacionales muy parecidos en la asociación con quinonas, piridinas o con ella misma. Los valores de α para las porfirinas son menores que para otros sistemas como los éteres corona, ciclofanos y calixarenos, ésto debido a que la estructura de la porfirina es más rígida. El valor obtenido para $T\Delta S_0$ es difícil de explicar en términos del grado de desolvatación de la molécula de porfirina, ya que los datos correlacionados corresponden a experimentos llevados a cabo en diferentes disolventes.

5.5 Cinética de inserción de un ion metálico (Metalación)

Dentro de los variados procesos en que intervienen las porfirinas uno de los más interesantes es la incorporación de iones metálicos en la molécula de porfirina, proceso al que se ha llamado reacción de metalación.¹⁰³



Un considerable número de estudios se han dirigido a la elucidación del mecanismo involucrado.¹⁰⁴⁻¹¹³ No obstante la mayoría de los trabajos se han llevado a cabo en disolventes no acuosos.¹⁰⁴⁻¹⁰⁶ En los trabajos en disolución acuosa utilizan generalmente pH's bajos para evitar la hidrólisis de los iones metálicos y su precipitación como hidroxicomplejos.¹⁰⁷⁻¹¹⁰

Para este tipo de sistemas se ha encontrado una ley de velocidad de la forma

$$-\frac{d[PH_2]}{dt} = k[M^{n+}][PH_2] \quad (5.5.1)$$

Normalmente se utilizan condiciones de pseudoprimer orden de manera que la expresión 5.5.1 se reduce a

$$-\frac{d[PH_2]}{dt} = k^*[PH_2] \quad (5.5.2)$$

$$\text{donde } k^* = k[M^{n+}]$$

En nuestro estudio hemos incorporado la etilendiamina para tener una especie de Cu^{2+} que sea soluble en pH's básicos, donde la porfirina se encuentra en su forma libre (PH_2) y monomérica principalmente. El cobre forma con etilendiamina dos complejos estables siendo el bis(etilendiamina) de cobre (II), $Cu(en)_2^{2+}$, la especie predominante en un amplio intervalo de concentraciones (ver sección 4.6).

La velocidad de formación del complejo $Cu(en)_2^{2+}$ es mucho mayor que la inserción del metal en la porfirina. Además, hasta el momento no se ha informado que este ligante en su forma libre reaccione con las porfirinas como lo hacen otros medios utilizados para mantener soluble al ion metálico tales como son: la piridina¹¹¹, las bipyridinas¹¹² o el imidazol que forman complejos con los iones metálicos evitando la hidrólisis, pero catalizan la inserción del ion metálico.¹¹³

En un trabajo anterior ya se ha utilizado este sistema para investigar la cinética de metalación de porfirinas sintéticas sustituidas en *meso*, pero las condiciones utilizadas arrojan algunas dudas sobre los resultados que obtuvieron ya que mantienen constante la relación de $(\text{Cu})_0:(\text{en})_0$ en una proporción 1:3, pero las especies presentes no dependen de esta relación sino de las concentraciones totales de los reactivos.¹¹⁴

Por ello, hemos investigado las dependencias de ambos reactivos Cu^{2+} y etilendiamina (*en*) en condiciones donde la especie predominante es la forma monomérica de Cpl (pH=9 en buffer de boratos). En todos los experimentos se mantuvieron las siguientes condiciones: $[\text{en}] > [\text{Cu}^{2+}] \gg [\text{PH}_2]$, donde PH_2 representa la forma libre de Cpl.

Dependencias de Etilendiamina (*en*)

Se obtuvo la cinética de metalación mediante el cambio en el espectro UV-visible en la región de Soret (entre 350-450 nm) de Cpl como función del tiempo. Un ejemplo típico se muestra en la figura 5.5.1, donde se observa un cambio inmediato al adicionar Cu^{2+} (t_0) a la disolución de Cpl-En. Después de este descenso drástico en la absorbancia, sigue un proceso lento donde disminuye la absorbancia en 392 nm y aumenta en 380 nm. Esta última banda con máximo en 380 nm es la que corresponde a la porfirina metalada (Cpl-Cu).

Las cinéticas observadas de éste último proceso cumplen todas con una ley de velocidad de primer orden bajo las condiciones descritas en la tabla 5.5.1. Las constantes de velocidad observadas (k^{obs}) se calcularon mediante el ajuste no lineal de los datos de absorbancia en 392 nm a la siguiente ecuación²²

$$A^{obs} = (A_{\infty} - A_{00}) \exp(-k_{obs}t) + A_{00} \quad (5.5.3)$$

Cabe mencionar que el orden de adición de los reactivos no afecta el comportamiento observado ya que el complejo de $\text{Cu}(\text{en})_2^{2+}$ se forma mucho más rápido. El procedimiento utilizado consistió en tomar un volumen de Cpl en buffer de boratos pH=9, adicionar el volumen requerido de etilendiamina y por último, adicionar el Cu^{2+} para evitar su precipitación.

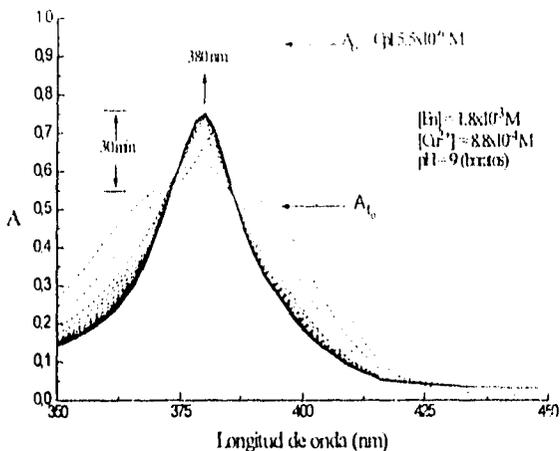


Figura 5.5.1 Cambios del espectro de Cpl observados en presencia de $\text{Cu}(\text{en})_2^{2+}$.

Tabla 5.5.1. Constantes de pseudoprimero orden observadas para la melación de Cpl en las condiciones descritas. Buffer de boratos pH = 9, T = 25°C.

[Cpl] ($\times 10^5$ M)	[Cu ²⁺] ($\times 10^5$ M)	[Eh] ($\times 10^3$ M)	k^{obs} ($\times 10^3$ s ⁻¹)	A_0 392 nm	A_{30} 392 nm	ΔA 392 nm	A_{10} 392 nm
5.5	5.4	0.11	7.86	-	0.4636	-	0.8012
5.5	5.4	0.21	1.04	-	0.4810	-	0.7995
5.5	5.4	0.36	1.05	-	0.4926	-	0.8412
5.5	5.4	1.8	0.28	-	0.6401	-	0.8258
5.5	5.4	3.6	0.36	-	0.7373	-	0.8251

[Cpl] ($\times 10^5$ M)	[Cu ²⁺] ($\times 10^4$ M)	[Eh] ($\times 10^3$ M)	k^{obs} ($\times 10^3$ s ⁻¹)	A_0 392 nm	A_{30} 392 nm	ΔA 392 nm	A_{10} 392 nm
5.5	8.8	1.8	7.28	0.9742	0.3343	0.6398	0.5207
5.5	8.8	2.1	0.95	0.9336	0.3882	0.5454	0.5287
5.5	8.8	2.8	0.33	0.8931	0.3783	0.5148	0.5175
5.5	8.8	3.5	0.37	0.8756	0.4039	0.4717	0.5172
5.5	8.8	5.3	0.28	0.8646	0.4327	0.4319	0.5375
5.5	8.8	8.8	0.34	0.8058	0.4783	0.3275	0.5215

Para las concentraciones de Cu^{2+} utilizadas, la constante de velocidad observada (k^{obs}) tiende a disminuir con el aumento de la concentración de etilendiamina. Además, la absorbancia inicial (A_0), cuando solo hay en disolución Cpl y etilendiamina, depende de la concentración de esta última, mientras que la absorbancia cuando se agrega el ion Cu^{2+} (A_0) no depende de la concentración de etilendiamina pero si se observa un cambio considerable al aumentar la concentración de cobre. El efecto observado con la adición de etilendiamina no es un efecto de dilución, ya que se utilizaron diferentes disoluciones stock y el cambio en el volumen total es semejante en todos los experimentos.

Dependencia de la concentración de Cobre (III)

Para los experimentos con diferente concentración de Cu^{2+} , el comportamiento observado en la **figura 5.5.1** se repite. Se encontró también una ley de velocidad de primer orden y el cambio en el valor de A_0 es más pronunciado al aumentar la concentración de Cu^{2+} con $[\text{en}]$ constante y al aumentar la concentración total de etilendiamina. Los valores de las constantes de velocidad observadas, así como las condiciones de cada experimento se resumen en la **tabla 5.5.2**.

Las constantes de velocidad observadas aumentan de manera proporcional a la concentración de Cu^{2+} como lo sugiere la **ecuación 5.5.2**, pero en concentraciones cercanas a la relación 1:2 de Cu:en, la constante de velocidad aumenta de manera inesperada en una magnitud 10 veces más grande que el valor inmediato anterior. Este cambio anómalo en la constante de velocidad ya había sido detectado en otro tipo de sistemas que utilizan etilendiamina como medio para mantener soluble al ion metálico y lo explican argumentando la formación de un "complejo supramolecular".¹¹⁴

Por otra parte, en los datos de la **tablas 5.5.1 y 5.5.2** se puede observar que la etilendiamina presenta interacción con la porfirina aún en ausencia del ión metálico. La naturaleza de esta interacción es incierta por el momento. Es posible que la interacción sea de tipo hidrofóbica como las observadas con las sales de alquilamonio o con los disolventes como etanol o dioxano que también tienen una parte hidrocarbonada de dos átomos de carbono. Aunque una interacción de tipo ion-ion con los sustituyentes periféricos es probable ya que al pH de trabajo la forma protonada de etilendiamina se encuentra en cantidades considerables.

Tabla 5.5.2. Constantes de velocidad observadas para la cinética de metalación de Cpl con Cu^{2+} en presencia de etilendiamina. Buffer de boratos pH=9, T= 25°C

[Cpl] ($\times 10^6$ M)	[Cu ²⁺] ($\times 10^3$ M)	[En] ($\times 10^4$ M)	k^{obs} ($\times 10^4$ s ⁻¹)	A_0 392 nm	A_∞ 392 nm	ΔA 392 nm	A_{10} 392 nm
5.5	1.1	1.1	3.45	0,9887	0,7556	0,2331	0,9174
5.5	1.6	1.1	4.66	0,9725	0,6819	0,2906	0,8982
5.5	2.1	1.1	6.06	0,9664	0,6446	0,3218	0,8876
5.5	2.7	1.1	9.8	0,9885	0,6088	0,3797	0,8958
5.5	4	1.1	13.3	0,9833	0,5439	0,4394	0,8650
5.5	4.7	1.1	21.2	0,9800	0,4923	0,4877	0,8651
5.5	5.4	1.1	86.4	0,9646	0,4493	0,5153	0,8261
5.5	5.4	1.1	82.1	0,9801	0,4815	0,5185	0,8143
5.5	1.1	2.1	2.5	0,9322	0,6834	0,2488	0,9051
5.5	1.6	2.1	2.9	0,9184	0,6430	0,2754	0,8914
5.5	2.1	2.1	3	0,9475	0,6388	0,3087	0,8732
5.5	2.7	2.1	3.3	0,9365	0,5964	0,3401	0,8876
5.5	4	2.1	6.2	0,9373	0,5886	0,3487	0,8640
5.5	4.7	2.1	7.1	0,9247	0,5408	0,3839	0,8517
5.5	5.4	2.1	10.4	--	0,4810	--	0,7995
5.5	7.9	2.1	13	0,9323	0,4681	0,4642	0,7738
5.5	10.5	2.1	113.2	0,9484	0,4104	0,5380	0,7246

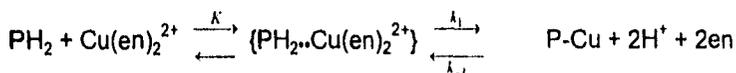
[Cpl] ($\times 10^6$ M)	[Cu ²⁺] ($\times 10^3$ M)	[En] ($\times 10^3$ M)	k^{obs} ($\times 10^4$ s ⁻¹)	A_0 392 nm	A_∞ 392 nm	ΔA 392 nm	A_{10} 392 nm
5.5	0.27	1.8	1.7	0,9284	0,7171	0,2113	0,8844
5.5	0.54	1.8	2.8	0,9210	0,6401	0,2809	0,8524
5.5	1.1	1.8	2.5	0,9260	0,5973	0,3287	0,7886
5.5	1.6	1.8	3.8	0,9210	0,5694	0,3516	0,7353
5.5	2.1	1.8	4	0,9282	0,5163	0,4119	0,7119
5.5	3	1.8	3	0,9152	0,5023	0,4129	0,7115
5.5	4.4	1.8	4.8	0,9277	0,4745	0,4525	0,6261
5.5	5.9	1.8	5.1	0,9218	0,4279	0,4939	0,5958
5.5	7.4	1.8	7	0,9007	0,3756	0,5251	0,5474
5.5	8.8	1.8	72.8	0,9222	0,3523	0,5699	0,5211
5.5	0.54	3.6	3.6	0,9070	0,7373	0,1697	0,8169
5.5	1.1	3.6	2.4	0,9106	0,6456	0,2650	0,7641
5.5	1.6	3.6	3.04	0,9027	0,5886	0,3141	0,7346
5.5	2.1	3.6	4.64	0,8916	0,5615	0,3301	0,7010
5.5	6	3.6	3.02	0,8913	0,4533	0,4380	0,5930
5.5	11.8	3.6	8.82	0,9018	0,3542	0,5476	0,4780
5.5	17.6	3.6	79.4	0,8802	0,3107	0,5695	0,4527

Mecanismo

Para proponer un mecanismo consistente con nuestros resultados hay que explicar el cambio inmediato en la absorbancia de Cpl al agregar Cu^{2+} , además de las dependencias de la k^{obs} , ΔA y de la concentración de los reactivos. En algunos trabajos se ha propuesto la existencia de intermediarios en el proceso de metalación llamados complejos "sitting-atop" (SAT).¹¹⁶ El tipo de evidencia encontrada han sido especies con espectros distintos bajo condiciones específicas y el tipo de ley de velocidad presenta un segundo orden para el ion metálico, primer orden para la porfirina y el inverso de primer orden para el protón. El tipo de interpretaciones que se han formulado refieren a que el primer metal forma el SAT, el cual deforma la porfirina y facilita la disociación del protón. De esta forma el segundo metal se incorpora en el lado opuesto para producir la metaloporfirina. Hay cierta controversia alrededor de la existencia de este tipo de intermediarios (SAT) debido a que se han podido explicar los cambios observados en función de efectos salinos y las características espectrales son similares a los pares iónicos.^{107,108}

Bajo esta misma idea de intermediarios SAT se ha explicado la catálisis de metalación observada en presencia de iones metálicos de radio iónico grande, que no se ajustan a la cavidad de la porfirina como es el caso de Cd^{2+} , Hg^{2+} y Pb^{2+} .^{109,110,115}

Aceptando la idea de la formación de un complejo intermediario del tipo "sitting atop", el esquema cinético puede presentarse como:



El tratamiento matemático para este mecanismo que contempla el cambio inmediato observado en la absorbancia y su dependencia de la concentración de Cu^{2+} , lleva a la siguiente expresión para A_{t_0} (ver apéndice 7.8):

$$A_{t_0} = A_o + \frac{\Delta \epsilon_{\lambda} K [M] [PH_2]_o}{1 + K [M]} \quad (5.5.5)$$

Donde PH_2 representa la forma libre de Cpl y M el ion metálico.

Los datos experimentales típicos para una concentración de etilendiamina constante, se muestran en la **figura 5.5.2**. El intermediario que probablemente se forma y produce este cambio, depende de la concentración total de Cu^{2+} , que bajo las condiciones del experimento corresponde a $\text{Cu}(\text{en})_2^{2+}$. Del ajuste de estos datos a la **ecuación 5.5.5** se obtiene el valor de la constante de equilibrio del paso inicial (K) donde se forma el intermediario

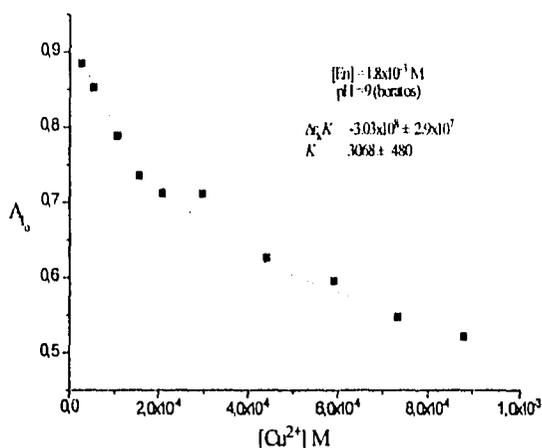


Figura 5.5.2 Cambio en la absorbancia a λ_0 en 392 nm para diferentes concentraciones de Cu^{2+} y etilendiamina constante.

Con el mismo tratamiento matemático se obtiene la dependencia de los valores de ΔA observados en función de la concentración total de Cu^{2+} . Esta relación nos permite calcular el valor de la constante de equilibrio observada definida como $K_{\text{eq}}^{\text{obs}} = K + KK_1$.

$$\Delta A = \frac{K[\text{PH}_2]_0 (\Delta \epsilon_X + K_1 \Delta \epsilon_C) [M]}{1 + K(K_1 + 1) [M]} \quad (5.5.6)$$

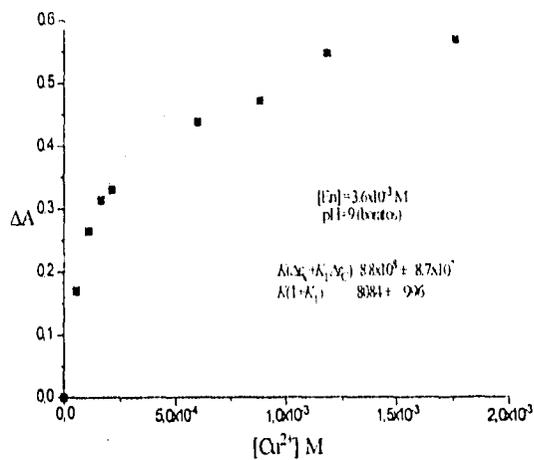


Figura 5.5.3 Datos de ΔA para diferentes concentraciones de Cu^{2+} con en constante y su ajuste a la ecuación 5.5.6

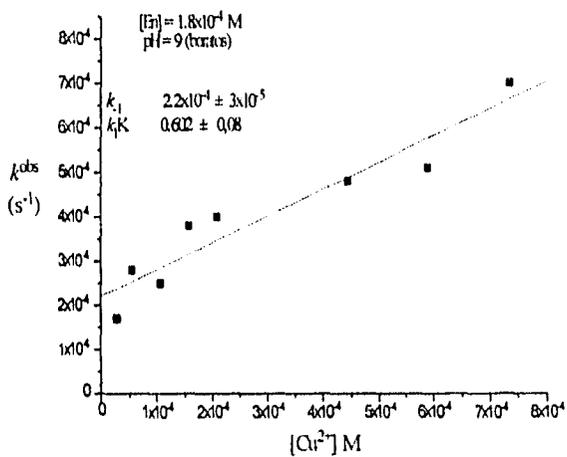


Figura 5.5.4 Dependencia de k^{obs} como función de la concentración total de Cu^{2+} .

Los valores para la K_{eff}^{obs} obtenidos del ajuste figura 5.5.3, nos permiten corroborar el mecanismo sólo si podemos encontrar el valor para el producto k_1K que corresponde al proceso global. Este producto lo obtenemos de la dependencia de k^{obs} como función de la concentración de Cu^{2+} total mediante la siguiente expresión (ver apéndice 7.8):

$$k^{obs} = k_{-1} + \frac{k_1K[M]}{1 + K[M]} \approx k_{-1} + k_1K[M] \quad (5.5.7)$$

A diferencia de anteriores estudios nosotros encontramos una discontinuidad en las gráficas de k^{obs} vs (Cu^{2+}) a pH=9 en presencia de etilendiamina, tabla 5.5.2. Esto quizás sea debido a la presencia de pequeñas concentraciones de hidroxicomplejos cuando la relación total de concentraciones $Cu:en$ es cercana a 1:2. Por ello el intervalo de aplicación de la ecuación 5.5.7 se reduce a la parte lineal de la curva, figura 5.5.4. Los valores obtenidos para los diferentes parámetros mediante los ajustes en las diferentes condiciones experimentales se resumen en la tabla 5.5.3.

Tabla 5.5.3 Valores obtenidos a partir de los ajustes de los datos.

$[en]_0, M$	$K (M^{-1})$ ec. 5.5.5	$K_p K (M^{-1})$ ec. 5.5.7	$K + K_1 K$ (M^{-1})	$K_{eff}^{obs} = K + K_1 K$ ec. 5.5.5	k_{-1} ec. 5.5.7	$k_1 K$ ec. 5.5.7	$\Delta \epsilon_x$ ec. 5.5.5	$\Delta \epsilon_c$ ec. 5.5.6
1.1×10^{-4}	35636 ± 16700	ND*	ND*	37986 ± 3500	ND*	ND*	-36430	103459
2.1×10^{-4}	12108 ± 4900	22380 ± 3600	34469 ± 6080	55240 ± 11800	2.1×10^{-4} $\pm 1 \times 10^{-5}$	4.7 ± 0.73	-78627	87581
1.8×10^{-3}	3068 ± 480	2736 ± 524	5804 ± 710	16044 ± 3120	2.2×10^{-4} $\pm 3 \times 10^{-5}$	0.602 ± 0.081	-98761	81463
3.6×10^{-3}	2764 ± 318	1821 ± 800	4585 ± 860	8084 ± 996	2.5×10^{-4} $\pm 8 \times 10^{-5}$	0.455 ± 0.15	-96960	74705

ND* en esta dependencia la constantes de velocidad observadas son muy pequeñas, debido a esto, el valor obtenido para la ordenada es negativo y no tienen sentido físico

De manera general, los datos presentados describen los cambios observados experimentalmente en la figura 5.5.1 y dentro del error experimental, corroboran el mecanismo propuesto. No obstante, los datos para la constante de equilibrio (K) que

indican una disminución en la estabilidad del intermediario con el aumento de la concentración de etilendiamina no concuerdan con el cambio observado en las absorbancias iniciales después de la adición de Cu^{2+} a la disolución (A_{10}), el cual aumenta con la concentración de Cu^{2+} y etilendiamina. Al parecer, los datos de la constante de equilibrio de formación del intermediario dependen de forma inversa a la concentración de etilendiamina en disolución. Un equilibrio paralelo al primer paso del mecanismo propuesto que puede explicar esta tendencia es la siguiente:



De esta manera existe la posibilidad de que el complejo SAT se forme sólo entre la porfirina y el complejo de cobre con una sola molécula de etilendiamina.

Con el fin de entender el papel de la etilendiamina en la formación del intermediario SAT con Cu^{2+} utilizamos el sistema con Cd^{2+} , un ion metálico que no se ajusta a la cavidad de la porfirina, observando la dependencia del espectro UV-vis con respecto a la concentración de etilendiamina, figura 5.5.5.

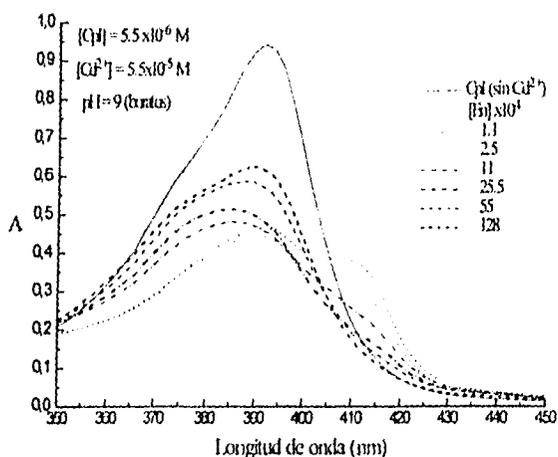


Figura 5.5.5 Cambio en el espectro UV-vis por la adición de EtN a una disolución de Cpl-Cd^{2+} .

El Cd^{2+} forma tres complejos con etilendiamina, pero en el intervalo de concentraciones estudiado predominan las especies Cd^{2+} , Cd(en)^{2+} y Cd(en)_2^{2+} (ver sección 4.6). Esta dependencia en la distribución de las especies se hace evidente en la **figura 5.5.6** donde los espectros cambian en presencia de diferentes concentraciones de etilendiamina. Primero se observa una serie de espectros con máximos en 392 nm y 412 nm que indican la interacción con la especie Cd(en)^{2+} . Al aumentar la concentración de etilendiamina la especie Cd(en)_2^{2+} empieza a estar en mayor proporción y la interacción con Cpl produce un espectro diferente. Los últimos espectros tienden a tener la forma de la Cpl libre con máximo en 392 nm, pero con un abatimiento en la absorbancia provocado posiblemente por la formación del complejo SAT con la especie Cd(en)_2^{2+} .

Del experimento con Cd^{2+} se observa como la etilendiamina puede modificar la interacción del ion metálico con la porfirina compitiendo con el proceso de inserción. De este resultado es claro que la etilendiamina tiene un papel fundamental en la estabilidad de este intermediario con el ion metálico.

Por otra parte, un problema al que se han enfrentado los estudios cinéticos es que no toman en cuenta la posibilidad de asociación de las porfirinas y ha sido difícil de incorporar a un mecanismo general. Por ejemplo, se ha observado un incremento en la velocidad de incorporación del ion metálico al aumentar el número de ligantes periféricos cargados negativamente. El comportamiento anterior lo han explicando como una estabilización debido al incremento en las constantes de asociación de complejos de esfera externa.¹¹⁶

De acuerdo a nuestros resultados este incremento sólo refleja un diferente grado de dimerización que ocurre en las porfirinas con ligantes periféricos negativos.^{111,79,80} Esto último queda demostrado al observar la dependencia de la velocidad inicial de incorporación del Cu^{2+} en Cpl en función de la proporción de dímero en disolución, **figura 5.5.6**, promovido por la presencia de sales.

El resultado anterior es una prueba indirecta del mecanismo propuesto en otros trabajos donde se requiere primero de la deformación del macrociclo de la porfirina para que la inserción del ion metálico se realice por el lado opuesto.^{103-106,115} Cuando se tiene impedido un lado de la porfirina, como es el caso del dímero, la constante de velocidad para el proceso de metalación debería ser solamente 2 veces menor. En nuestro

experimento la constante de velocidad disminuye a un grado tal que resulta impráctico seguir la cinética completa. Por ello, sólo se midieron las velocidades iniciales del proceso como función de la proporción del dímero presente, figura 5.5.6.

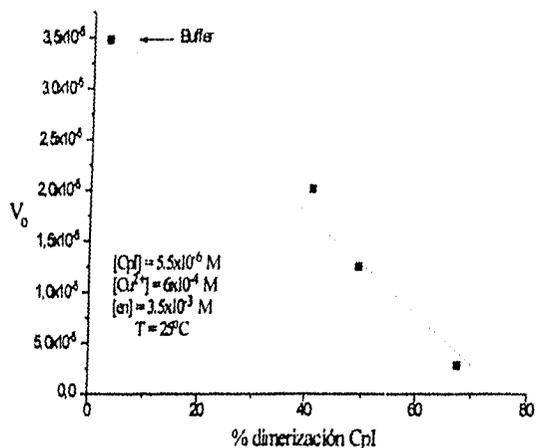


Figura 5.5.6. Velocidad de incorporación inicial en función de la proporción del dímero.

El dímero disminuye la reactividad de la molécula de Cpl en el proceso de metalación ya que no permite la deformación del anillo porfirínico por la presencia de la otra molécula que estabiliza la conformación, figura 5.5.7.

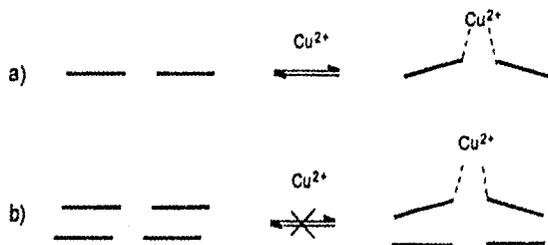
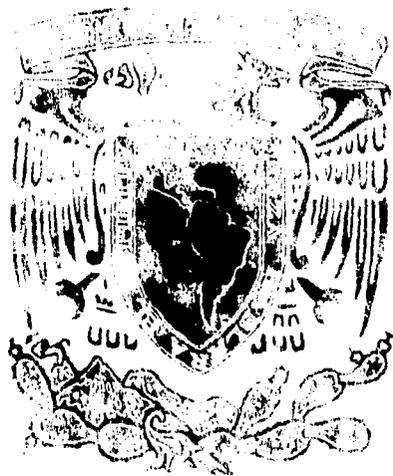


Figura 5.5.7 Representación del intermediario SAT en el monómero (caso a) que provoca la deformación del anillo de la porfirina y el dímero que no permite su formación (caso b).



6. Conclusiones

- El efecto de la fuerza iónica y el pH sobre la asociación de Cpl, se describió mediante un ciclo de equilibrios que involucran el monómero, el dímero y las respectivas especies protonadas. Las constantes de equilibrio evaluadas para la formación del dímero son del mismo orden de magnitud que para otras porfirinas naturales y mayores que las informadas para porfirinas sintéticas sustituidas en posición *meso*. Esto confirma la mayor tendencia hacia la agregación de las porfirinas no sustituidas en *meso*. El pK_a para el monómero fue de 6.00 ± 0.04 que corresponde a la protonación de uno de los nitrógenos pirrólicos. En el dímero, se evaluaron dos pK_a 's con valores de 7.15 ± 0.06 y 5.4 ± 0.2 . Los sitios de protonación para el dímero no pueden determinarse mediante las técnicas utilizadas.
- Se observaron tres comportamientos en cuanto a la naturaleza del electrolito presente: i) electrolitos que podemos denominar como "normales" (NaCl, KNO₃ y KCl), los cuales promueven la dimerización y para los que se aplica la descripción de Debye-Hückel de las interacciones ion-ion y su efecto sobre el equilibrio de dimerización, ii) las sales cuaternarias de amonio presentan el efecto contrario, monomerización, al promovido por los electrolitos "normales", debido a la probable interacción hidrofóbica de sus cadenas laterales con la molécula de Cpl y iii) el ion Ca²⁺, que promueve la dimerización en forma más efectiva que los electrolitos "normales", ya que se coordina a los propionatos laterales con una constante de estabilidad de $50 \pm 12 \text{ M}^{-1}$.
- Mediante el estudio en diferentes mezclas acuosas con disolventes orgánicos, se separaron los efectos que intervienen en la asociación de Cpl descritos comúnmente como una interacción $\pi-\pi$. Se calculó una constante para el proceso de asociación que refleja solamente efectos de origen electrostático al separar el efecto proveniente de las interacciones ion-ion. La correlación con diversos parámetros de polaridad e hidrofobicidad del medio indica que la fuerza motriz para la asociación de esta porfirina en disolución acuosa es, principalmente, de origen hidrofóbico.
- A partir de la dependencia de la temperatura se obtuvieron los valores para los parámetros termodinámicos, ΔH° y ΔS° , del proceso de asociación de Cpl. Los resultados derivados de la observación de los grupos CH₃ y CH₂^β por RMN H¹ y de la relación de absorbancias (A_{392}/A_{372}) en la región de Soret por UV-vis, coinciden con los informados para la interacción entre los planos aromáticos de porfirinas unidas

covalentemente. Por el contrario, los resultados derivados de la observación de los protones *meso* son dos veces más grandes. Es posible que éstos últimos valores incluyan la formación de agregados de orden mayor (trímeros, tetrámeros, etc.), ya que los experimentos con RMN H^1 se realizaron en concentraciones más grandes de Cpl.

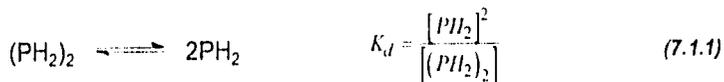
- Se encontró compensación entre los parámetros termodinámicos para la asociación de Cpl en disolución acuosa y de diferentes porfirinas en disolventes no acuosos, indicando que el mecanismo de asociación se conserva en todos estos sistemas. Además, el valor de la pendiente (α) para la compensación $T\Delta S^\circ - \Delta H^\circ$, coincide con los de otros procesos de asociación de porfirinas y metaloporfirinas con ligantes como quinonas y piridinas, indicando que los cambios conformacionales que sufre las porfirinas al asociarse son similares.
- Se estudió la cinética de metalación de Cpl con el ion Cu^{2+} complejado con etilendiamina y los resultados se explicaron mediante un mecanismo que contempla la incorporación del ion metálico al anillo porfirínico a través de un intermediario del tipo SAT (sitting-atop). En presencia de sales, se observó que la velocidad de la reacción de metalación disminuye y este descenso es proporcional a la fracción del dímero de Cpl en disolución. Esto último se interpretó como una prueba a favor del mecanismo de inserción que propone la deformación del macrociclo para la incorporación del metal, ya que la poca reactividad del dímero puede ser consecuencia de la imposibilidad de sufrir esta deformación.
- Como un efecto paralelo, observamos que la molécula de etilendiamina presenta reactividad hacia la porfirina en ausencia del ion metálico. Esta interacción, que probablemente sea una asociación iónica, abre posibilidades hacia el estudio del reconocimiento molecular de diversas diaminas por la molécula de Cpl u otras porfirinas con sustituyentes periféricos aniónicos. Resultados preliminares, no incluidos en este trabajo, muestran que la constante de asociación depende de la concentración de las especies protonadas de etilendiamina.
- Finalmente, en este estudio caracterizamos el comportamiento de Cpl en disolución acuosa bajo diferentes condiciones (pH, fuerza iónica, presencia de codisolventes y temperatura), lo que permite investigar con certidumbre la asociación con otro tipo de moléculas, aromáticas y alifáticas, neutras o con sustituyentes con carga.



7. Apéndices

7.1.- Dependencia de la absorbancia para el equilibrio de disociación del dímero.

El equilibrio de disociación del dímero de Cpl, donde se representa como PH_2 a la porfirina libre, y su constante asociada K_d se definen como



la absorbancia total observada es la suma de las absorbancias de ambas especies:

$$A = A_{PH_2} + A_{(PH_2)_2} = \epsilon_{PH_2}[PH_2] + \epsilon_{(PH_2)_2}[(PH_2)_2] = \epsilon_{PH_2}[PH_2] + \epsilon_{(PH_2)_2} \frac{[PH_2]^2}{K_d} \quad (7.1.2)$$

y el balance de masa total queda definido como:

$$[PH_2]_0 = [PH_2] + 2[(PH_2)_2] = [PH_2] + \frac{2[PH_2]^2}{K_d} \quad (7.1.3)$$

la ecuación 7.1.3 es una ecuación de segundo grado para la concentración de la porfirina libre:

$$[PH_2]^2 + [PH_2] \frac{K_d}{2} - \frac{[PH_2]_0 K_d}{2} = 0 \quad (7.1.4)$$

cuya resolución analítica nos lleva a la siguiente expresión:

$$[PH_2] = \frac{K_d}{4} \left(\left[1 + \frac{8C_0}{K_d} \right]^{1/2} - 1 \right) \quad (7.1.5)$$

sustituyendo 7.1.5 en 7.1.2 obtenemos la relación entre la absorbancia total observada con la constante de disociación (K_d), los coeficientes de absorptividad molar de cada especie ($\epsilon_{PH_2}, \epsilon_{(PH_2)_2}$) y la concentración total de la porfirina:

$$A = \frac{K_d}{4} \left(\epsilon_{PH_2} - \frac{\epsilon_{(PH_2)_2}}{2} \right) \left\{ \left(1 + \frac{8[PH_2]_0}{K_d} \right)^{1/2} - 1 \right\} + \frac{\epsilon_{(PH_2)_2} [PH_2]_0}{2} \quad (7.1.6)$$

Cuando el dímero no absorbe o emite, la ecuación 7.1.6 se convierte en 7.1.7, que es la ecuación utilizada para los datos de espectroscopia de fluorescencia.

$$A = \frac{K_d \epsilon_{PH_2}}{4} \left\{ \left(1 + \frac{8[PH_2]_0}{K_d} \right)^{1/2} - 1 \right\} \quad (7.1.7)$$

7.2.- Efecto salino y efecto del disolvente.

La expresión para el potencial eléctrico Ψ de la teoría de Debye-Hückel para un punto a una distancia r del ion j , está definido como

$$\Psi_j = \frac{z_j e}{\epsilon} \frac{e^{\kappa a}}{1 + \kappa a} \frac{e^{-\kappa r}}{r} \quad (7.2.1)$$

donde z_j es la carga del ion, e es la carga del electrón, ϵ es la constante dieléctrica del medio, a es la distancia iónica efectiva y κ es la constante de Debye-Hückel que define el radio o espesor efectivo de la atmósfera iónica.

Por otra parte, un ion aislado de valencia z_j , en un medio homogéneo de referencia con constante dieléctrica ϵ_s , tiene un campo eléctrico cuyo potencial a una distancia r es igual a

$$\Psi_j'' = \frac{z_j e}{\epsilon_s r} \quad (7.2.2)$$

De acuerdo con el principio de superposición, el potencial total en r , como en 7.2.1 es la suma del potencial Ψ_j'' debido al ion central aislado y otro potencial Ψ_j' debido a todos los iones restantes (atmósfera iónica).

$$\Psi_j = \Psi_j' + \Psi_j'' \quad (7.2.3)$$

Para todas las distancias donde $r=a$, el valor para el potencial Ψ_j' resulta

$$\Psi_j' = \Psi_j - \Psi_j'' = \frac{z_j e}{\epsilon a} \left[\frac{1 - \frac{\epsilon}{\epsilon_s} (1 + \kappa a)}{(1 + \kappa a)} \right] \quad (7.2.4)$$

Este potencial (Ψ_j') asume el sentido de trasladar un ión de un medio homogéneo de referencia con constante dieléctrica ϵ_s hacia un medio con diferente constante dieléctrica ϵ . A partir del potencial Ψ_j' el cambio en la energía libre debido a la interacción iónica está dado por

$$\Delta G_{j(c)} = - \frac{z_j^2 e^2}{2\epsilon a} \left[\frac{1 - \frac{\epsilon}{\epsilon_s} (1 + \kappa a)}{(1 + \kappa a)} \right] \quad (7.2.5)$$

El coeficiente de actividad iónico se encuentra relacionado con el cambio en la energía libre mediante la siguiente relación

$$\text{Ln} \gamma_{\pm} = \frac{\Delta G_{f(iel)}}{RT} = -\frac{z_j^2 e^2}{2\epsilon k T a} \left[1 - \frac{\epsilon}{\epsilon_s} (1 + \kappa a) \right] \quad (7.2.6)$$

sustituyendo las constantes e y k por sus valores conocidos en el sistema internacional de unidades (SI) y tomando la temperatura como 298 K, se obtiene la relación para el coeficiente de actividad iónica media con el valor de a en Ångstroms (Å)

$$\text{Log} \gamma_{\pm}^c = \frac{z_j^2 122}{\epsilon a} \left[\frac{1 - \frac{\epsilon}{\epsilon_s} (1 + \kappa a)}{(1 + \kappa a)} \right] \quad (7.2.7)$$

donde $\kappa = \left(\frac{8\pi N e^2}{1000 \epsilon k T} \right)^{1/2} \sqrt{I} = 50.3 \sqrt{I} \left[\frac{L^{1/2} K^{1/2}}{(\epsilon T)^{1/2} \text{mol}^{1/2} \text{Å}} \right]$ (7.2.8)

Sustituyendo el valor de κ en 7.2.7 llegamos a la ecuación que relaciona el coeficiente de actividad iónica media como función de la distancia iónica efectiva a (Å), de la fuerza iónica I y de la constante dieléctrica del medio ϵ y de un medio de referencia ϵ_s .

$$\text{Log} \gamma_{\pm}^c = \frac{z_j^2 122}{\epsilon a} \left[\frac{1 - \frac{\epsilon}{\epsilon_s} \left(1 + \frac{2.913 a \sqrt{I}}{\sqrt{\epsilon}} \right)}{\left(1 + \frac{2.913 a \sqrt{I}}{\sqrt{\epsilon}} \right)} \right] \quad (7.2.9)$$

Si el medio solamente es agua y por tanto $\epsilon = \epsilon_s = 78.5$ y la distancia iónica efectiva $a = 3.5$ Å, la ecuación 7.2.9 se reduce a la forma clásica de la ecuación extendida de Debye-Hückel

$$\text{Log} \gamma_{\pm}^c = -\frac{0.51 z_j^2 \sqrt{I}}{1 + 1.15 \sqrt{I}} \quad (7.2.10)$$

Por otra parte, si la fuerza iónica es cero $I=0$, la ecuación se reduce a la forma clásica que se utiliza para tomar en cuenta la constante dieléctrica del medio:

$$\text{Log} \gamma_{\pm}^c = \frac{122 z_j^2}{a} \left(\frac{1}{\epsilon} - \frac{1}{\epsilon_s} \right) \quad (7.2.11)$$

Para evaluar la constante de disociación de Cpl partimos del siguiente equilibrio:



el cual tiene una constante asociada

$$K_d = \frac{[PH_2]^2}{[(PH_2)_2]} = \frac{(a_{PH_2})^2 \gamma_{PH_2}}{a_{(PH_2)_2} \gamma_{(PH_2)_2}} = K_d^o \frac{\gamma_{PH_2}^2}{\gamma_{(PH_2)_2}} \quad (7.2.12)$$

obteniendo logaritmo de los términos de la relación anterior llegamos a

$$\text{Log } K_d = \text{Log } K_d^o + \text{Log } \gamma_{PH_2}^2 - \text{Log } \gamma_{(PH_2)_2} \quad (7.2.13)$$

sustituyendo $\log \gamma$ de la ecuación 7.2.9 en 7.2.13 y mediante la sustitución de las constantes $\epsilon_s = 78.5$, $a = 3.5 \text{ \AA}$ y $Z_i = -2.5$ (carga encontrada en el ajuste de Debye-Hückel para K_d^{obs} vs I con electrolitos normales), llegamos a la ecuación que nos relaciona el valor de la constante observada ($\text{Log } K_d^{obs}$) con la constante termodinámica ($\text{Log } K_d^o$) y un factor que depende de la fuerza iónica y la constante dieléctrica del medio:

$$\text{Log } K_d^{obs} = \text{Log } K_d^o + \frac{436.25}{\epsilon} \left[\frac{1 - 0.0127\epsilon \left(1 + \frac{10.2\sqrt{I}}{\sqrt{\epsilon}} \right)}{1 + \frac{10.2\sqrt{I}}{\sqrt{\epsilon}}} \right] \quad (7.2.14)$$

Esta ecuación se reduce a la ecuación 5.1.3 si el medio es solamente acuoso, donde ϵ asume también el valor de 78.5. El segundo factor, que presenta la dependencia de I y ϵ , es precisamente la contribución iónica a la constante observada, la cual denominaremos como $\text{Log } K_d^{iónica}$:

$$\text{Log } K_d^{iónica} = \frac{436.25}{\epsilon} \left[\frac{1 - 0.0127\epsilon \left(1 + \frac{10.2\sqrt{I}}{\sqrt{\epsilon}} \right)}{1 + \frac{10.2\sqrt{I}}{\sqrt{\epsilon}}} \right] \quad (7.2.15)$$

7.3 Cálculo del pK_a (UV-vis y fluorescencia).

Para el equilibrio entre la forma protonada y deprotonada de Cpl, donde representaremos como PH_2 a la porfirina libre y PH_3^+ a su forma protonada, tenemos una constante de ácida asociada



$$K_a = \frac{\epsilon_{PH_2} [PH_2] [H^+]}{\epsilon_{PH_3^+} [PH_3^+]} \quad (7.3.2)$$

y el balance de masa total de la porfirina en las condiciones del experimento es

$$[PH_2]_0 = [PH_2] + [PH_3^+] \quad (7.3.3)$$

La absorbancia total del sistema es la suma de las absorbancias de ambas formas

$$A = A_{PH_2} + A_{PH_3^+} = \epsilon_{PH_2} [PH_2] + \epsilon_{PH_3^+} [PH_3^+] \quad (7.3.4)$$

La absorbancia total en función de la constante de ácida (7.3.2) y el balance de masa (7.3.3) llegamos a la relación

$$A = \frac{\epsilon_{PH_2} [PH_2]_0 + \epsilon_{PH_3^+} [PH_2]_0 \frac{K_a}{[H^+]}}{1 + \frac{K_a}{[H^+]}} \quad (7.3.5)$$

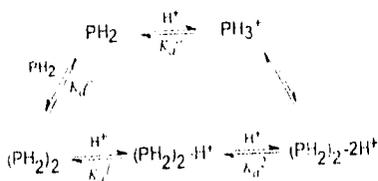
Simplificando los términos de la ecuación anterior llegamos a la forma que se utilizó para los ajuste de los valores de absorbancia total observados como función del pH. Los parámetros calculados fueron la constante de ácida (K_a) y la absorbancia de la especie protonada ($A_{PH_3^+}$) y la especie deprotonada (A_{PH_2}).

$$A = \frac{A_{PH_3^+} + A_{PH_2} K_a 10^{pH}}{1 + K_a 10^{pH}} \quad (7.3.6)$$

El cálculo del pK_a a partir de datos de fluorescencia se llevo a cabo con una forma semejante a la ecuación 7.3.6 donde se sustituyen absorbancias (A) por la intensidad de fluorescencia (I).

7.4 Cálculo de K_d^{obs} en función del pH

Los equilibrios propuestos para la dimerización y la protonación de Cpl se muestran en el esquema 7.4.1, donde PH_2 representa la forma libre de Cpl



Esquema 7.4.1

Las constantes asociadas a cada uno de los equilibrios son

$$K_d^o = \frac{[PH_2][H^+]}{[PH_3^+]} \quad (7.4.1) \quad K_d^o = \frac{[PH_2]^2}{[(PH_2)_2]} \quad (7.4.2)$$

$$K_d^1 = \frac{[(PH_2)_2][H^+]}{[(PH_2)_2 \cdot H^+]} \quad (7.4.3) \quad K_d^2 = \frac{[(PH_2)_2 \cdot H^+][H^+]}{[(PH_2)_2 \cdot 2H^+]} \quad (7.4.4)$$

La constante de disociación observada queda definida a partir de las concentraciones aparentes de las especies de porfirina en disolución

$$K_d^{obs} = \frac{[PH_2]^2}{[(PH_2)_2]} = \frac{[PH_2 + PH_3^+]^2}{[(PH_2)_2] + [(PH_2)_2 \cdot H^+] + [(PH_2)_2 \cdot 2H^+]} \quad (7.4.5)$$

Sustituyendo los valores para $[PH_2]$, $[PH_3^+]$, $[(PH_2)_2 \cdot H^+]$ y $[(PH_2)_2 \cdot 2H^+]$ a partir de las ecuaciones 7.4.1, 7.4.2, 7.4.3 y 7.4.4 obtenemos

$$K_d^{obs} = K_d^o \frac{\left(1 + \frac{[H^+]}{K_d^o}\right)^2}{\left(1 + \frac{[H^+]}{K_d^1} + \frac{[H^+]^2}{K_d^1 K_d^2}\right)} \quad (7.4.6)$$

Esta ecuación relaciona la constante de disociación observada con los cambios en el pH de la disolución, permitiendo así calcular el valor de las constantes de acidez de Cpl (K_d^o , K_d^1 y K_d^2) con el ajuste no lineal de los datos experimentales.

7.5 Cálculo de la constante de disociación a partir de la relación de absorbancias.

En cualquier longitud de onda del espectro de absorción de Cpl en la región UV-vis, la absorbancia total está definida como la suma de las absorbancias del monómero (PH_2) y el dímero $((\text{PH}_2)_2)$, donde PH_2 representa a la porfirina libre:

$$A_1 = \epsilon_1[\text{PH}_2] + \epsilon_1'[(\text{PH}_2)_2] \quad (7.5.1)$$

La relación entre dos absorbancias en las longitudes de onda 1 y 2 queda definida como:

$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{\epsilon_1[\text{PH}_2] + \epsilon_1'[(\text{PH}_2)_2]}{\epsilon_2[\text{PH}_2] + \epsilon_2'[(\text{PH}_2)_2]} \quad (7.5.2)$$

La ecuación anterior puede escribirse de forma sencilla al agrupar los términos en función del cociente de concentraciones del monómero y el dímero, y de los términos constantes:

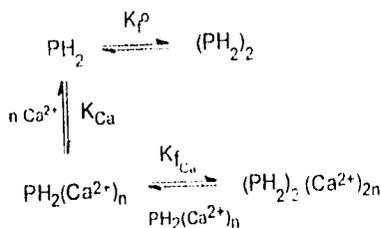
$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{\alpha \frac{[\text{PH}_2]}{[(\text{PH}_2)_2]} + \beta}{\chi + \frac{[\text{PH}_2]}{[(\text{PH}_2)_2]}} \quad (7.5.3)$$

donde las constantes α , β y χ se definen en función de los coeficientes de absorptividad molar del monómero y del dímero en las longitudes de onda 1 y 2. Para nuestro sistema, las longitudes de onda escogidas fueron aquellas que asignamos a la especie monomérica de Cpl con máximo en 392 nm y al dímero con máximo en 372 nm.

Si podemos conocer el valor del cociente de concentraciones monómero-dímero y su relación con el cociente de absorbancias en dos longitudes de onda para un grupo dado de espectros, podemos entonces calcular el valor de las constantes α , β y χ . De esta forma, con solo conocer la relación de absorbancias en un espectro de concentración total conocida de Cpl, podemos calcular el valor del cociente monómero-dímero y por lo tanto, la constante de equilibrio del sistema.

7.6 Dependencia de la concentración de iones Ca^{2+}

Los equilibrios involucrados en la asociación de Cpl con el ion Ca^{2+} se muestran en el esquema 7.6.1, donde PH_2 representa la forma libre de Cpl:



Esquema 7.6.1

Las constantes asociadas a cada uno de equilibrios anteriores se muestran a continuación, donde n es número de iones Ca^{2+} por molécula de Cpl.

$$K_f^o = \frac{[(\text{PH}_2)_2]}{[\text{PH}_2]^2} \quad (7.6.1)$$

$$K_{\text{Ca}} = \frac{[\text{PH}_2(\text{Ca}^{2+})_n]}{[\text{PH}_2][\text{Ca}^{2+}]^n} \quad (7.6.2)$$

$$K_{f_{\text{Ca}}} = \frac{[(\text{PH}_2)_2(\text{Ca}^{2+})_{2n}]}{[(\text{PH}_2(\text{Ca}^{2+})_n)]^2} \quad (7.6.3)$$

La constante de formación observada queda definida a partir de las concentraciones aparentes de las especies involucradas:

$$K_f^{\text{obs}} = \frac{[(\text{PH}_2)_2] + [(\text{PH}_2)_2(\text{Ca}^{2+})_{2n}]}{([\text{PH}_2] + [\text{PH}_2(\text{Ca}^{2+})_n])^2} \quad (7.6.5)$$

A partir de la ecuación anterior y la sustitución de cada una de las especies por su respectiva constante de equilibrio, obtenemos una relación que depende sólo de la concentración de Ca^{2+} en disolución.

$$K_f^{\text{obs}} = \frac{K_f^o + K_{f_{\text{Ca}}} K_{\text{Ca}} [\text{Ca}^{2+}]^{2n}}{1 + 2K_{\text{Ca}} [\text{Ca}^{2+}]^n + K_{\text{Ca}}^2 [\text{Ca}^{2+}]^{2n}} \quad (7.6.6)$$

7.7 Cálculo de la constante de asociación de Cpl con el disolvente (K_d)

El equilibrio de disociación de Cpl y su constante asociada se presenta a continuación, donde PH_2 representa la porfirina libre de Cpl



De acuerdo con nuestras observaciones experimentales la presencia de un disolvente orgánico S disocia el dímero. Si la molécula de Cpl se asocia con n moléculas de disolvente, disociándose como se muestra en el siguiente equilibrio, con una constante característica asociada K_s ,



La constante de disociación corregida, que toma en cuenta sólo los efectos de origen no electrostático queda definida en función de las diferentes especies de la porfirina presentes en disolución

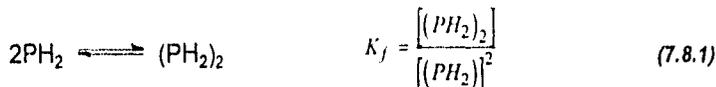
$$K_d^{cor} = \frac{([PH_2] + [PH_2S_n])^2}{[(PH_2)_2]} = \frac{[PH_2]^2}{[(PH_2)_2]} + \frac{2[PH_2][PH_2S_n]}{[(PH_2)_2]} + \frac{[PH_2S_n]^2}{[(PH_2)_2]} \quad (7.7.3)$$

Si sustituimos las diferentes especies en 7.7.3 con sus definiciones a partir de las ecuaciones 7.7.1 y 7.7.2, obtenemos la relación entre la constante de disociación corregida y la concentración molar del disolvente

$$\boxed{K_d^{cor} = K_d^o + \left(2\sqrt{K_d^o K_s} [S]^n + K_s [S]^{2n} \right)} \quad (7.7.4)$$

7.8 Cálculo de la constante de formación (K_f) a partir de datos de RMN H^1

Si suponemos que en el equilibrio de asociación de Cpl. las únicas especies presentes son la forma no asociada y su dímero, el equilibrio de formación y su constante quedan definidos como



El balance de masa total es

$$[PH_2]_0 = [PH_2] + 2[(PH_2)_2] = [PH_2] + 2[PH_2]^2 K_f \quad (7.8.2)$$

Para un intercambio rápido, el desplazamiento químico observado corresponde al promedio ponderado de los desplazamiento químicos del monómero (δ_m) y el dímero (δ_d).

$$\delta_{obs} = f_1\delta_m + f_2\delta_d = \delta_m + f_2(\delta_d - \delta_m) \quad (7.8.3)$$

ya que $f_1 + f_2 = 1$. La fracción total del dímero, f_2 , presente en el equilibrio es

$$f_2 = \frac{2[(PH_2)_2]}{[PH_2]_0} \quad (7.8.4)$$

Sustituyendo la ecuación 7.8.4 en 7.8.5 obtenemos

$$\delta_{obs} = \delta_m + \frac{2K_f[PH_2]^2}{[PH_2]_0}(\delta_d - \delta_m) \quad (7.8.5)$$

La concentración de porfirina libre $[PH_2]$ queda expresada en la misma forma que en el apéndice 7.1. ecuación 7.1.5, para la constante de formación

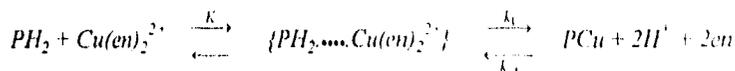
$$[PH_2] = \frac{\left(\left[1 + 8[PH_2]_0 K_f \right]^{1/2} - 1 \right)}{4K_f} \quad (7.8.6)$$

Al sustituir 7.8.6 en 7.8.5 llegamos a la relación que nos permite calcular la constante de formación a partir de los desplazamientos químicos. Donde $\Delta\delta_{obs} = \delta_d - \delta_m$

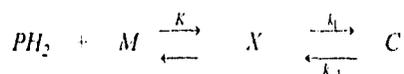
$$\Delta\delta_{obs} = \delta_{obs} - \delta_m = \frac{\Delta\delta_{ass} \left[\left(1 + 8[PH_2]_0 K_f \right)^{1/2} - 1 \right]^2}{8[PH_2]_0 K_f} \quad (7.8.7)$$

7.9 Mecanismo asociativo para la metalación de Cpl con Cu²⁺

Para el mecanismo asociativo propuesto en la sección 5.5, que está representado por los siguientes equilibrios



se desarrolló un tratamiento matemático que explica los cambios observados en la cinética de la reacción de inserción del ion metálico. Por comodidad en adelante llamaremos PH_2 a la Cpl libre, M al complejo metálico de $Cu(en)_2^{2+}$, X al intermediario formado en el primer equilibrio y C al producto de la reacción que podemos detectar, es decir, la porfirina metalada. De esta forma, los equilibrios anteriores se pueden reescribir como



El primer equilibrio entre los reactivos y el intermediario tienen asociado una constante K definida como

$$K = \frac{[X]}{[P][M]} \quad (7.9.1)$$

$$\text{El balance de masa total es } [P]_o = [P] + [X] + [C] \quad (7.9.2)$$

Sustituyendo en la ecuación para el balance de masa el valor de $[P]$ de 7.9.1 llegamos a la siguiente expresión para la concentración total de porfirina

$$[P]_o = [X] \left\{ 1 + \frac{1}{K[M]} \right\} + [C] \quad (7.9.3)$$

de la cual podemos despejar el valor de la concentración del intermediario X

$$\underline{\underline{[X] = \frac{([P]_o - [C])K[M]}{1 + K[M]}}} \quad (7.9.4)$$

Por otra parte, el cambio en la concentración del producto que es detectable por espectroscopia UV-vis ($[C]$) tiene la siguiente expresión, para la cual se ha sustituido el valor de $[X]$ obtenido en 7.9.4

$$\frac{d[C]}{dt} = k_1[X] - k_{-1}[C] = \frac{k_1\{[P]_0 - [C]\}K[M]}{1 + K[M]} - k_{-1}[C] \quad (7.9.5)$$

Simplificando la ecuación anterior en términos de [C], obtenemos

$$\frac{d[C]}{dt} = \frac{k_1K[M][P]_0}{1 + K[M]} - [C] \left\{ \frac{k_1K[M]}{1 + K[M]} + k_{-1} \right\} \quad (7.9.6)$$

En la ecuación 7.9.6 observamos un término independiente de la concentración de producto formado [C] y otro dependiente de él. Renombrando ambos términos como

$$\alpha = \frac{k_1K[M][P]_0}{1 + K[M]} \quad (7.9.7)$$

$$\beta = k_{-1} + \frac{k_1K[M]}{1 + K[M]} \quad (7.9.8)$$

La ecuación 7.9.6 queda expresada de una forma simple

$$\frac{d[C]}{dt} = \alpha - \beta[C] \quad (7.9.9)$$

Al integrar la ecuación anterior, obtenemos la expresión para la concentración del producto [C] como función del tiempo y los parámetros contenidos en α y β

$$\underline{\underline{[C] = \frac{\alpha}{\beta} (1 - e^{-\beta t})}} \quad (7.9.10)$$

La absorbancia total observada corresponde a las tres especies de porfirina presentes, la porfirina libre P, el intermediario X y el producto formado C. Sustituyendo el valor para [P] del balance de masa 7.9.2 tenemos

$$A = \epsilon_P[P] + \epsilon_X[X] + \epsilon_C[C] = \epsilon_P[P]_0 + (\epsilon_X - \epsilon_P)[X] + (\epsilon_C - \epsilon_P)[C] \quad (7.9.11)$$

Algunos términos de la ecuación anterior los definiremos como

$$A_i = \epsilon_P[P]_0 \quad \Delta\epsilon_X = \epsilon_X - \epsilon_P \quad \Delta\epsilon_C = \epsilon_C - \epsilon_P$$

de manera que al sustituirlos, la ecuación 7.9.11 queda expresada

$$A = A_i + \Delta\epsilon_X[X] + \Delta\epsilon_C[C] \quad (7.9.12)$$

Sustituyendo la ecuación encontrada para [X] (7.9.4) en la ecuación 7.9.12 queda

$$A = A_i + \frac{\Delta\epsilon_X K[M][P]_0}{1 + K[M]} - [C] \left\{ \frac{\Delta\epsilon_X K[M]}{1 + K[M]} - \Delta\epsilon_C \right\} \quad (7.9.13)$$

que en terminos de α y β es

$$A = A_i + \frac{\alpha\Delta\epsilon_X}{k_1} \left\{ \Delta\epsilon_X \left(\frac{\beta - k_{-1}}{k_1} \right) - \Delta\epsilon_C \right\} [C] \quad (7.9.14)$$

Al sustituir la expresión encontrada para [C] (7.9.10) en la ecuación 7.9.14 tenemos

$$A = A_i + \underbrace{\frac{\alpha\Delta\epsilon_X}{k_1}}_{a_0} \left\{ \underbrace{\Delta\epsilon_X \left(\frac{\beta - k_{-1}}{k_1} \right) - \Delta\epsilon_C}_{a_1} \right\} \frac{\alpha}{\beta} (1 - e^{-\beta t}) \quad (7.9.15)$$

Como se muestra, los terminos en la ecuación 7.9.15 se pueden agrupar como a_0 , y a_1 quedando la ecuación en la siguiente forma

$$\underline{\underline{A = a_0 - a_1(1 - e^{-\beta t})}} \quad (7.9.16)$$

Esta ecuación define el comportamiento de primer orden observado para la cinética de metalación que puede analizarse dependiendo del valor que t adopte, por ejemplo si

$$t=0 \quad \boxed{A_{t=0} = a_0 = A_i + \frac{\Delta\epsilon_X K[M][P]_0}{1 + K[M]}} \quad (7.9.17)$$

La ecuación 7.9.17 explica el comportamiento observado donde la absorbancia al tiempo cero experimental es dependiente de la formación del intermediario X, es decir, del valor de la constante de equilibrio inicial K y la cantidad de metal $[M]$ y porfirina total $[P]_0$.

Para otros tiempos podemos llegar a las siguientes expresiones

$$t > 0; \quad A = a_0 - a_1(1 - e^{-\beta t}) \quad (7.9.18)$$

$$t = t_0^{exp}; \quad A_0^{exp} = a_0 - a_1(1 - e^{-\beta t_0^{exp}}) \quad (7.9.19)$$

$$\begin{matrix} t \\ \rightarrow x \end{matrix} \quad A_t = A_0 - A_1 \quad (7.9.20)$$

Las cinéticas de primer orden se siguieron mediante la relación clásica de la dependencia de la absorbancia con respecto al tiempo ²²

$$A = (A_0 - A_\infty)e^{-kt_{exp}} + A_\infty \quad (7.9.21)$$

Si sustituimos los valores para A_0^{exp} (7.9.19) y A_∞ (7.9.20) en la ecuación anterior obtenemos la siguiente expresión

$$A = a_1 e^{-\beta t_{exp}} e^{-k(t-t_0^{exp})} + a_0 - a_1; \quad t_{exp} = t - t_0^{exp} \quad (7.9.22)$$

y esta ecuación comparada con la ecuación 7.9.18 es igual si y solo si

$$k = \beta$$

De esta manera la constante de velocidad observada k_{obs} tiene la siguiente expresión

$$k_{obs} = \beta = k_{-1} + \frac{k_1 K [M]}{1 + [M]} \quad (7.9.23)$$

para concentraciones bajas del ion metálico

$$1 \gg [M] \quad \boxed{k_{obs} \cong k_{-1} + k_1 K [M]} \quad (7.9.24)$$

A partir de esta relación la constante de equilibrio del proceso completo queda definida como

$$\underline{\underline{K_{eq} = \frac{k_1 K}{k_{-1}} = K_1 K}} \quad (7.9.25)$$

La isoterma de enlace para la formación de una especie con estequiometría 1:1 tiene la forma siguiente ¹¹⁷

$$\Delta A = A_0 - A_\infty = \frac{\Delta \epsilon K [M]}{1 + K [M]} \quad (7.9.26)$$

En función de nuestros parámetros podemos calcular a qué corresponden los valores de ΔA para el proceso estudiado. El valor de A_∞ queda definido como

$$A_{\sigma} = a_0 - a_1 = A_0 + \frac{\alpha \Delta \varepsilon_X}{\beta K_1} + \frac{\alpha \Delta \varepsilon_C}{\beta} \quad (7.9.27)$$

y al calcular el ΔA obtenemos

$$\Delta A_{teórico} = A_0 - A_{\sigma} = -\frac{\alpha \Delta \varepsilon_X}{\beta K_1} - \frac{\alpha \Delta \varepsilon_C}{\beta} \quad (7.9.28)$$

Al sustituir las definiciones de α y β en la ecuación anterior obtenemos la forma del isoterma de enlace observado

$$\Delta A_{teórico} = -\frac{K[P]_0(\Delta \varepsilon_X + K_1 \Delta \varepsilon_C)[M]}{1 + K(K_1 + 1)[M]} \quad (7.9.29)$$

Comparando las ecuaciones 7.9.29 y 7.9.26 podemos observar que el valor de la constante de equilibrio obtenida a partir de la isoterma de enlace corresponde a

$$\underline{\underline{K_{eq}^{obs} = KK_1 + K}} \quad (7.9.30)$$



8. Bibliografía

1. Mascal M., *Cont. Org. Synth.* 1994, **1**, 31-46.
2. Hunter C.A., *Angew. Chem. Int. De. Engl.*, 1993, **32**, 1584-1586
3. Hunter C.A., *Chem. Soc. Reviews*, 1994, 101-109
4. Stone A.J. y Price S.L., *J. Chem. Phys.*, 1987, **86**, 2860-2868.
5. Dykstra C.E., *Chem. Rev.* 1993, **93**, 2339-2353.
6. Kollman P., *Chem. Rev.*, 1993, **93**, 2395-2417.
7. Hobza P., Selzle H.L. y Schlag E.W., *Chem. Rev.* 1994, **94**, 1767-1785.
8. Náray-Azabó G. y Ferenczy G.G., *Chem. Rev.* 1995, **95**, 829-847.
9. Hunter C.A. y Sanders J.K.M., *J. Am. Chem. Soc.* 1990, **112**, 5525-5534.
10. Rigby M., Smith E.B., Wakeham W.A. y Maitland G.C., *The forces between molecules*, Clarendon Press, Oxford 1986, Cap.2, p. 1-35.
11. Muller N., *Acc. Chem. Res.* 1990, **23**, 23-28.
12. Privalov P.L y Gill S.J., *Pure and Appl. Chem.*, 1989, **61**, 1097-1104.
13. Gellman S.H. y Newcomb L.F., *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, **116**, 4993-4994.
14. Smithrud D.B. y Diederich F., *J. Am. Chem. Soc.* 1990, **112**, 339-343.
15. Diederich F., Ferguson S.B., Sanford E.M. y Seward E.M., *J. Am. Chem. Soc.* 1991, **113**, 5410- 5419.
16. Muehldorf A.V., Van Engen D., Warner J.C. y Hamilton A.D., *J. Am. Chem.Soc.*, 1988, **110**, 6561-6562.
17. Zhang J. y Moore J.S., *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, **114**, 9701-9702.
18. Schwabacher A.W., Zhang S. y W. Davy, *J. Am. Chem. Soc.* 1993, **115**, 6995-6996.
19. Cozzi F., Cinquini M., Annunziata R. Dwyer T. y Siegel J. Y., *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, **114**, 5729-5773.
20. Cozzi F., Cinquini M., Annunziata R. y Siegel J. Y., *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, **115**, 5330-5331.
21. Scheneider H.-J., *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* 1991, **30**, 1417-1436.
22. Connors K.A., *Chemical Kinetics*, VCH Pub. N.Y. 1990, p.394.
23. Smith K.M. Ed. *Porphyrins and Metalloporphyrins*, Elsevier, Amsterdam, 1975.
24. Smith K.M. en *Comprehensive Organic Chemistry* Ed. D. Barton, Pergamon Press 1979, Vol.4 Cap. 17.2 p. 321.
25. Mashiko T. y Dolphin D. en *Comprehensive Coordination Chemistry* Ed. G. Wilkinson, Pergamon Press, 1987, Vol. 2, Cap. 21.1.
26. Neuberger A. y Scott J.J. *Proc. R. Soc. London Ser. A.* 1952, **213**, 307.
27. Phillips J.N., *Rev. Pure Appl. Chem.*, 1960, **10**, 35.

28. Fraiusto da Silva J.J.R. y Williams R.J. P., *The Biological Chemistry of the Elements*, Clarendon Press, Oxford, 1991, Cap. 13, p. 343-369.
29. Laurie S.H en *Comprehensive Coordination Chemistry* Ed. G. Wilkinson, Pergamon Press. 1987, Vol. 2, Cap. 22.
30. Hughes M.N. en *Comprehensive Coordination Chemistry* Ed. G. Wilkinson, Pergamon Press, 1987, Vol. 6 Cap.62.1 p. 614.
31. Akhtar M. y Jordan P.M. en *Comprehensive Organic Chemistry* Ed. D. Barton, Pergamon Press 1979, Vol. 5, Cap. 30.2, p. 1121.
32. Das R.R., Pasternack R.F. y Plane R.A., *J. Am. Chem. Soc.* 1970, **92**, 3312-3316.
33. Pasternack R.F., Huber P.R., Boyd P., Engasser G., Francesconi L., Gibbs E., Fasella P., Cerio Venturino, y Hinds L., *J. Am. Chem. Soc.* 1972, **94**, 4511-4517.
34. Pasternack R.F., Francesconi L., Raff D. y Spiro E., *Inorg. Chem.* 1973, **11**, 2606-2611.
35. Hambright P., Krishnamurthy M. y Sutter J.R., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1975, 13-14.
36. Smith K.M., Abraham R.J., Eivazi F. y Pearson H., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1976, 698-701.
37. Sheinutt J.A., Dobry M.M. y Satterlee J.D., *J. Phys. Chem.* 1984, **88**, 4980-4987.
38. Ribo J.M., Crusats J., Farrera J.A. y Valero M., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1994, 681-682.
39. Brown S.B., Shillock M. y Jones P. *Biochem J.*, 1976, **153**, 279-285.
40. Kadish K. M., Maiya G.B., Araullo C y Guillard R., *Inorg. Chem.* 1989, **28**, 2725-2731.
41. Chandrashekar K. Ravikant M y Reddy D., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 1991, 2103-2109.
42. Sheer H. and Katz J.J. en *Porphyrins and Metalloporphyrins*, Elsevier, Amsterdam, 1975., Cap. 10.
43. Abraham R.J. y Smith K.M., *J. Am. Chem. Soc.* 1983, **105**, 5734-5741.
44. Schneider H.-J. y Wang M., *J. Org. Chem.* 1994, **59**, 7473-7478.
45. Marzilli L.G. Makundan N. Pethö G., Soo Kim M. y Dixon D., *Inorg. Chem.* 1994, **33**, 4676-4687
46. Sanders J.K.M., Leighton P., Cowan J.A. y Abraham R.J., *J. Org. Chem.* 1988, **53**, 733-740.
47. Sanders J.K.M., Hunter C.A. y Meah M.N., *J. Am. Chem. Soc.* 1990, **112**, 5773-5780.
48. Hambright P., Mosseri S., Mialocq J.C. y Perty B., *J. Phys. Chem.* 1991, **95**, 2196-2203.
49. Zhao S. y Luong J.H.T., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1994, 2307-2308.
50. Kano K., Hayakawa T. y Hashimoto S., *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **64**, 778-784 (1991).

51. Gaudemer A., Gaudemer F y Mikros E., *Inorg. Chem.* 1991, **30**, 1806-1815.
52. Shelnutt J.A., *Inorg. Chem.* 1983, **22**, 2535-2544.
53. Lipskier J.F. y Tran-Thi T.H., *Inorg. Chem.* 1993, **32**, 722-731.
54. Pasternack R.F. Gibbs E.J., Gaudemer A., Bassner A.S., De Poy L., Turner D.H., Williams A., Laplace F., Lansard M.H., Merienne C. y Perré-Fauvet M., *J. Am. Chem. Soc.* 1985, **107**, 8179-8186.
55. Pasternack R.F. Bustamante C., Collings P.J. Giannelto A. y Gibbs E., *J. Am. Chem. Soc.* 1993, **115**, 5393-5399.
56. Marzilli L.G., Makundan N. Pethö G. y Dixon D., *Inorg. Chem.* 1995, **34**, 3677-3687.
57. Schneider H.-J. y Wang M., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1994, 413-415.
58. Schneider H.-J. y Wang M., *J. Org. Chem.* 1994, **59**, 7464-7472.
59. Hofstra U., Koehorst R. y Schaafsma, *Magn. Res. Chem.* 1987, **25**, 1069-1073.
60. Linschitz H., Ojadi E. y Selzer R., *J. Am. Chem. Soc.* 1985, **107**, 7783-7784.
61. Hofstra U., Koehorst R. y Schaafsma T.J., *Chem. Phys. Lett.* 1986, **130**, 555-559.
62. Shimidzu T., Segawa H., Nishino H., Kamikawa T. y Honda K., *Chem. Lett.* 1989, 1917-1920.
63. Schaafsma T.J., Vergeldt F.J., Koehorst R., Lambry J.C., Martin J.L. Johnson D.G. y Wasielewski M.R., *Chem. Phys. Lett.* 1991, **182**, 107-113.
64. Shimidzu T., Segawa H., Takehara C., Asahi T y Malaga N., *J. Phys. Chem.*, 1992, **96**, 503-506.
65. Wasielewski M.R., *Chem. Rev.* 1992, **92**, 435.
66. Whitten D.G., Barber D.C. y Woodhouse T.E., *J. Phys. Chem.* 1992, **96**, 5106-5114.
67. Lawrence D.S., *Chem. Rev.* 1995, 2229-2260.
68. Lehn J.M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1990, **29**, 1304-1319.
69. Kellar K.E. y N. Foster, *Inorg. Chem.* 1992, 1353-1359.
70. Yatsimirsky A.K. Nelen M.I., Savitsky A.P. y Ponamarev G.V., *Talanta*, 1994, **41**, 1699-1706.
71. Ding L., Cros S., Auclair C. y Meunier B., *J. Med Chem.* 1991, **34**, 900.
72. Meunier B., *Chem. Rev.* 1992, **92**, 1411.
73. Abraham R.J. Burdidge P.A, Jackson A.H. y Macdonald D.B., *J. Chem. Soc. (B)* 1966, 620-626.
74. Abraham R.J., Barnett G.H., Bretschneider E.T. y Smith K.M., *Tetrahedron* 1973, **29**, 553-560.
75. Perrin D.D. y Armarengo W.L.F., *Purification of Laboratory Chemicals*, 3rd Ed., Pergamon Press, 1989, Cap.3, 4 y 5.

76. Dean J.A. Ed. *Lange's Handbook of Chemistry*, 12th Ed., 5-69 a 5-93.
77. Martell R.M. y Smith A.E., *Critical Stability Constants*, Vol.6. 2nd suplement Plenum Press, N.Y., 1989, p.181-182.
78. Bockris J y Reddy A.K.N. *Modern Electrochemistry*; Plenum, New York, 1970, vol.1, Cap. 2 y 3.
79. Hambricht P. y Shamim A., *Inorg. Chem.* 1983, **22**, 649-696.
80. Hambricht P. y Nwaeme J. *Inorg. Chem.* 1984, **23**, 1990-1992.
81. Blumberg W.E y Peisach J., *J. Biol.Chem.* 1965, **240**, 870-876.
82. Gouterman M., *J.Mol.Spectrosc.* 1961, **36**, 138-163.
83. Harris D.A. y Bashford C.L., *Spectrophotometry and Spectrofluorimetry*, IRL Press, Oxford, 1987, p.13-20.
84. Kalyanasundaram K., *Inorg. Chem.* 1984, **23**, 2453-2459.
85. Kano K., Tahei M. y Hashimoto S., *J. Phys. Chem.* 1990, **94**, 2181-2187.
86. Amls E.S.y Hinton J.F., *Solvent effects on chemical phenomena*, Acad. Press, N.Y. 1973. Vol 1, Cap. 5.
87. Reinhardt C., *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*, 2nd Ed. VCH Pub. 1990, Cap.7 p.339.
88. Tomás J. y Pésico M., *Chem. Rev.*, 1994, 2027-2094.
89. Robinson R.A.y Stokes R.H., *Electrolyte Solutions*, Butterworths, London 2nd Ed. 1968. Cap. 9 y 14.
90. Jencks W.P., *Catalysis in Chemistry and Enzymology*, Dover, NY 1969. Cap.7
91. Conway B.E., *Pure and Appl. Chem.* 1985, **57**, 263-272.
92. *Handbook of Aqueous Electrolyte Solution*, Ellis Horwood Series in Physical Chemistry, 1985, Cap. 2.8, p.211.
93. Abraham M.H., Grellier P.L y McGill R.A., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. II* ,1988, 339.
94. Schneider H.-J., Kramer R., Sirmova S. y Schneider U., *J. Am. Chem. Soc.* 1988, **110**, 6442-6448.
95. Fainberg A.H. y Winstein S., *J. Am. Chem. Soc.* 1956, **78**, 2770-2777.
96. Abraham M.H., *J. Am. Chem. Soc.* 1982, **104**, 2085-2094.
97. Leo A. y Hansch C., *Substituents Constants for Correlation Analysis In Chemistry and Biology*, Ed. J.Wiley, N.Y., 1979, Cap.III y apéndice II.

98. Koehorst et al, *Magn. Reson. Chem.*, 1988, 26, 167-172
99. Shelnuft J.A. y Satterlee J.D., *J.Phys. Chem.*, 1984, 88, 5487-5492.
100. Viscio D.B. y La Mar G.N., *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, 100, 8096-8100
101. L.Petrekis y F.E. Dickson, *J.Mol. Struct.* 1972, 11, 361-369.
102. Exner O., *Prog. Phys. Org. Chem.*, 1973, 10, 411.
103. Hambright P. en *Porphyrins and Metalloporphyrins* Cap. 6. Ed. K.M. Smith, Elsevier, Amsterdam, 1975. Cap. 6
104. Pasternack R.F., Vogel G.C., Skowronek C.A., Harris R.K. y Miller J.G., *Inorg. Chem.* 1981, 20, 3763-3765.
105. Tanaka M., Yamagushi Y. y Funahashi S., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1984, 57, 204-208.
106. Tanaka M., Yamagushi Y. y Funahashi S., *Inorg. Chem.* 1984, 23, 2249-2251.
107. Hambright P., Wagner L. y Baker H., *J.Am. Chem. Soc.*, 1973, 95, 5942-5946.
108. Hambright P. y Chock P.B., *J.Am. Chem. Soc.*, 1974, 96, 3123-3131.
109. Tabata M. y Tanaka M., *J.Chem. Soc. Dalton Trans.* 1983, 1955-1959.
110. Hambright P. y L.R. Robinson, *Inorg. Chem.* 1992, 31, 652-656.
111. Kassner R. y Wang J.H., *J.An. Chem. Soc.*, 1966, 88, 5170-5173.
112. Kawamura K., Kasahara H. y Yotsuyanagi T., *Chem. Lett.* 1987, 2365-2368.
113. Tabata M y Tanaka M., *Inorg. Chem.* 1988, 27, 203-205.
114. Pasternack R.F., González-Vilchez F. y Vilaplana R.A., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 1991, 1831-1834.
115. Tabata M. y Tanaka M., *Trends in analytical chemistry*, 1991, 10, 128-133.
116. Lavallo D.K., *Coord. Chem. Rev.* 1985, 61, 55-96.
117. Connors K.A., *Binding Constants*, Ed. J. Wiley, N.Y., 1987, Cap. 4 y 5, p.141-205
118. Griffiths T.R y Pugh D.C., *Coord. Chem. Rev.* 1979, 29, 129-211.
119. Linert W. y Jameson R.F. *Chem. Soc. Rev.* 1989, 18, 477-485.
120. Linert W. *Chem. Soc. Rev.* 1994, 429-437.
121. Inoue Y., Liu Y., Tong L., Shen B. y Jin D. *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, 115, 475-481.
122. Inoue Y., Liu Y., Tong L., Shen B. y Jin D. *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, 115, 10637-10644.
123. Atkins P.W. *Physical Chemistry*, 4th Ed., Freeman & Co., N.Y., 1990, p.221.
124. Stauffer D.A., Barrans R.E. y Dougherty D.A., *J.Org. Chem.* 1990, 55, 2762-2767.

Agradecimientos

Con esta pequeña mención deseo expresar mi más sincero reconocimiento al Dr. Anatoly K. Yatsimirsky, cuyo ejemplo de trabajo y dedicación ha sido la mejor formación que he recibido.

A los doctores Miguel Costas, Armando Cabrera, David Díaz, Jesús Valdés y Laura Gasque por la minuciosa revisión de este trabajo y sus valiosas aportaciones.

Una tesis, como muchas otras cosas en la vida, difícilmente puede llegar a buen término sin la colaboración de otras personas. Por ello, deseo agradecer a quienes (con o sin intención) forman parte de este trabajo:

A mis compañeros del laboratorio 213: Caro G., Caro E., Jesús, Marijose, Sofía y Alejandro quienes integran un formidable grupo de trabajo.

A Paola, una extraordinaria amiga con quién he tenido la suerte de compartir además del cubículo, muchos momentos y detalles agradables

Con afecto especial para los todavía qulmicos Julio, Paty y Toño, a los qulmicos en *transición* Ernesto, Xochitl y Estrellita, y el excepcional físico-"qulmico" Rubén.

A los doctores Guillermo Mendoza (FQ-U. de Guanajuato) y Federico del Río (Instituto de Qulmica-UNAM), por las facilidades para realizar los estudios por RMN.

A Baldo y Víctor, qulmicos y amigos como pocos.

Finalmente deseo agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la U.N.A.M. (DGAPA-UNAM), el apoyo otorgado para la realización de este trabajo a través de los proyectos 2111-E9303 y IN-106495, respectivamente.

Quiero dedicar este esfuerzo a aquellos que integran algo aún más importante, los momentos que le dan sentido y razón de ser a mi vida.

Por supuesto a Mamá Cristi, que con su cariño y bondades provoca recuerdos con olor y sabor a un suréste más allá de Chiapas.

A mi Padre, por esos sueños que nos permiten vivir jóvenes.

Con especial cariño a la señora Dea Ruiz de Herrera.

A mis hermanos Adán y Arturo.

Para Adrián y Alexandra, mis grandes esperanzas.

A Bety y Miny, irresistibles Morales pero con un toque distinto.

A Octavio (Toto para los cuates), y a su admirable nobleza y solidaridad.

.....y a ti chaparrita con todo mi amor.