



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE PUEBLA



Facultad de Ciencias Químicas BUAP

Posgrado en Ciencias Químicas

Centro de Química del ICUAP

“Caracterización por resonancia magnética nuclear a temperatura variable y estudios computacionales de compuestos de coordinación de protoporfirina IX de hierro (III) y dicetonas esteroidales de Mn^{2+} y Cu^{2+} ”

Tesis para obtener la Maestría en Ciencias Químicas

Presenta

Quím. Luis Antonio León Enríquez

Directora de tesis:

Dra. María Guadalupe Hernández Linares

Codirector:

Dr. Samuel Hernández Anzaldo

Diciembre 2023



BUAP

A QUIEN CORRESPONDA:

Por este conducto la Comisión Revisora formada por la Dra. Jacqueline Jiménez Hernández, Dr. Víctor Gómez Calvario, Dr. Gabriel Guerrero Luna y el Dr. Hugo Vázquez Lima, informan haber leído y aprobado para su impresión, la tesis denominada **“Caracterización por resonancia magnética nuclear a temperatura variable y estudios computacionales de compuestos de coordinación de protoporfirina IX de hierro (III) y dicetonas esteroideas de Mn²⁺ y Cu²⁺”**, que presenta el alumno **Luis Antonio León Enríquez** para obtener el grado de Maestro en Ciencias Químicas.

Se extiende la presente a los cuatro días del mes de diciembre del año dos mil veintitrés.

ATENTAMENTE

Dra. Jacqueline Jiménez Hernández

Dr. Víctor Gómez Calvario

Dr. Gabriel Guerrero Luna

Dr. Hugo Vázquez Lima

Índice de contenido

ÍNDICE DE CONTENIDO	1
ÍNDICE DE FIGURAS	3
ÍNDICE DE ESQUEMAS.....	4
ÍNDICE DE TABLAS.....	4
AGRADECIMIENTOS	5
INTRODUCCIÓN	7
ANTECEDENTES.....	10
HIPÓTESIS	15
JUSTIFICACIÓN	15
OBJETIVOS	15
MARCO TEÓRICO	17
Síntesis de metaloporfirinas	17
Resonancia magnética nuclear a temperatura variable.....	19
Resonancia magnética nuclear de compuestos paramagnéticos en disolución.....	21
Teoría de los funcionales de la densidad	26
METODOLOGÍA	28
Medición de los espectros de RMN a temperatura variable	28
Síntesis de los compuestos de coordinación.....	28
Cálculos computacionales	29
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
Experimentos de ^1H , ^{13}C de una y dos dimensiones de los ligantes 2-metil piridina y piridina.....	30
Experimentos de ^1H a temperatura variable para los ligantes 2-metil piridina y piridina.....	37
Experimentos y análisis de espectros de ^1H de compuestos de coordinación sintetizados	39
Cálculos teóricos basados en la teoría de los funcionales de la densidad	48
CONCLUSIONES.....	55
BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS	56

Índice de figuras

Figura 1 Macro ciclo de la porfirina sin sustituir	7
Figura 2 Protoporfirina IX de hierro (II) del grupo hemo	8
Figura 3 Estructura de la peroxidasa de rábano picante	10
Figura 4 Orbitales moleculares para el hierro (III)	11
Figura 5 Distorsión tipo saddle del macro ciclo de la porfirina	13
Figura 6 Efecto Zeeman nuclear para un núcleo con $I = 1/2$	22
Figura 7 Precesión de un núcleo en presencia de un campo externo y la inclinación que sufre debido a la presencia de un segundo campo externo rotatorio	23
Figura 8 Diagrama de proceso para la realización de cálculos	27
Figura 9 Espectro de protón del ligante piridina	30
Figura 10 Espectro de carbono del ligante piridina	31
Figura 11 Estructura de la piridina	31
Figura 12 Espectro de HSQC de la piridina	32
Figura 13 Espectro de COSY de la piridina	33
Figura 14 Estructura de la 2-metil piridina	34
Figura 15 Espectro de protón de la 2-metil piridina	34
Figura 16 Espectro de carbono con un acercamiento en el espectro de DEPT en la región de carbonos aromáticos de la 2-metil piridina	35
Figura 17 Espectro de HMBC de la 2-metil piridina	36
Figura 18 Espectros de protón a temperatura variable de la piridina	37
Figura 19 Espectros de protón a temperatura variable del ligante 2-metil piridina	38
Figura 20 Estructura del éster de la cloroprotoporfirina IX de hierro (III)	39
Figura 21 Espectro de protón del éster de la cloroprotoporfirina IX de hierro (III)	40
Figura 22 Espectro de RMN del compuesto de coordinación con piridina como ligante axial	41
Figura 23 Comparación de espectros en la región diamagnética de los compuestos de coordinación obtenidos con 2-metil piridina (azul) y piridina (rojo) como ligantes axiales.	42
Figura 24 Espectros a temperatura variable del compuesto de coordinación éster de la 2- metil piridina protoporfirina de hierro (III) hexacoordinada	42
Figura 25 Espectro a T.V. Del compuesto de coordinación en la región diamagnética	44
Figura 26 Comparación de espectros a T.V. Donde se aprecia el movimiento de una señal ancha	45
Figura 27 Estructuras de menor energía posibles para la bis 2-metilpiridina protoporfirina de hierro (III)	46
Figura 28 Espectro de RMN del compuesto sintetizado de 2-MP como ligantes axiales	47
Figura 29 Estructura de la octometil porfirina	48
Figura 30 Rotación libre del ligante 2-metil piridina	50
Figura 31 Rotación dihedral de la bis 2-metil piridina octometilporfirina de hierro (III) de multiplicidad cuarteto	50
Figura 32 Representación tridimensional del orbital de los electrones desapareados del átomo de nitrógeno	54
Figura 33 Orbitales Naturales Atómicos d con componente el z de hierro (III) a) d_{xz} , b) d_{yz} y c) d_z^2	54

Índice de esquemas

Esquema 1 Reacción entre una sal de hierro (III) con una porfirina que lleva directamente a una metaloporfirina de hierro (III).....	18
Esquema 2 Reacción general para la síntesis de metaloporfirinas de hierro (III)	19
Esquema 3 Ejemplos de procesos dependientes de la temperatura. 1 - Tauomería, 2 - Cambio conformacional.	20
Esquema 4 Reacción para la síntesis de los compuestos de coordinación de interés	29

Índice de tablas

Tabla 1 Desplazamientos asignados para la piridina	33
Tabla 2 Desplazamientos asignados para la 2-metil piridina	37
Tabla 4 Energías para los compuestos con piridina	49
Tabla 5 Energías para los compuestos con 2-metil piridina	49
Tabla 6 Cuadro comparativo de energías base PBE con base B3LYP	51
Tabla 7 Valores de espín para los orbitales de valencia para la multiplicidad $S = 3/2$	52
Tabla 8 Valores de espín para los orbitales de valencia para la multiplicidad $S = 5/2$	53

Agradecimientos

El mayor agradecimiento se lo debo al Dr. Samuel Hernández Anzaldo, la Dra. Guadalupe Hernández Linares, la Dra. Yasmi Reyes Ortega y al Dr. Hugo Vázquez Lima, por abrirme las puertas de su laboratorio, confiar en mí y en mi capacidad, y por toda la paciencia y dedicación que prestaron a este trabajo de tesis.

A la Dra. Alejandra Romero, por sus mediciones de resonancia magnética nuclear y la atención para enseñarme su metodología y responder mis dudas.

A mis colegas estudiantes de posgrado en el Laboratorio de Química Inorgánica del ICUAP, siempre dando todo de sí mismos para hacer el mejor trabajo posible.

A la M. en C. Daniela Carmona, por los consejos de escritura y compañía en las buenas y en las malas.

Al Conacyt por la beca otorgada.

It is a capital mistake to theorize before one has data. Insensibly one begins to twist facts to suit theories rather than theories to suit facts.

-Sherlock Holmes

Introducción

Las porfirinas, del griego *porphura*, son una familia de compuestos de origen natural y sintético que están formadas por un macrociclo aromático de veinte átomos de carbono y cuatro átomos de nitrógeno en total. Este macrociclo se compone de cuatro ciclos de pirrol más pequeños, enlazados unos a otros entre sí por un átomo de carbono, donde 18 electrones π participan en la aromaticidad de la molécula ¹.

Esta familia de compuestos es comúnmente púrpura, y tienen muchas utilidades como pigmentos. Aunque al macrociclo se le conoce como una porfirina, hay una inmensa variación de compuestos con variaciones dentro del ciclo, o en los sustituyentes añadidos al macrociclo. Una de las características más interesantes de las porfirinas, es que estas variaciones estructurales en el macrociclo llevan a una gran diversidad de funciones biológicas².

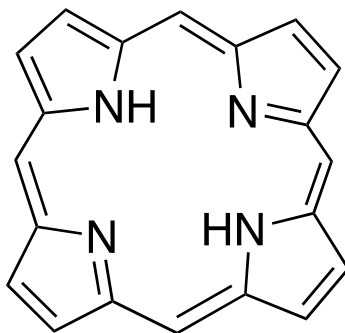


Figura 1 Macrociclo de la porfirina sin sustituir

En la naturaleza, una de las principales propiedades de las porfirinas es la coordinación a un centro metálico gracias a los átomos de nitrógeno dentro del macrociclo. Estas porfirinas coordinadas pueden tomar papeles significativos en eventos bioquímicos naturales. Algunos de los ejemplos más relevantes de este tipo de porfirinas, llamadas *metalo porfirinas*, es el grupo hemo; una porfirina de hierro (II) que está íntimamente relacionada con la sangre, dándole su icónico color rojo y teniendo la función de enlazarse reversiblemente con el oxígeno para ser transportada alrededor del cuerpo, llamada hemoglobina o almacenada en tejido muscular, llamada mioglobina; así como la clorofila, una porfirina de magnesio que es clave durante la fotosíntesis³.

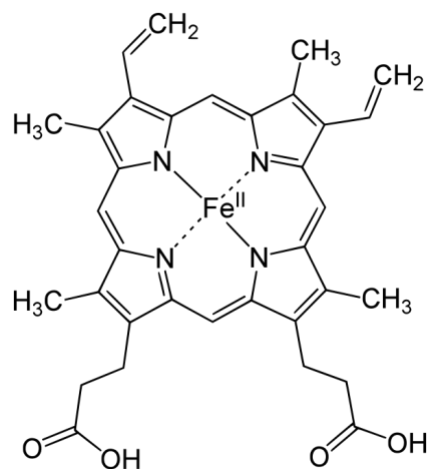


Figura 2 Protoporfirina IX de hierro (II) del grupo hemo

Este grupo hemo, representado en la figura 2, es uno de los derivados de porfirina más conocidos, llamado Protoporfirina IX. Originalmente, el nombre *proto* viene del griego “primero”. Se piensa que esta rama de las porfirinas fue llamada así por ser las primeras estudiadas por Hans Fisher, que generó los nombres de quince análogos de la protoporfirina, viniendo de esto el número romano IX. En la actualidad, se utiliza el prefijo *proto* como nomenclatura para referirse a porfirinas que contienen grupos metilos, vinilos y carboxietilos o propionatos ⁴. La protoporfirina IX, coordinada a un centro metálico de hierro (II), constituye al grupo hemo, que pueden tener muchos derivados en una gran variedad de procesos bioquímicos en humanos y a naturaleza. El nombre genérico de “hemoproteínas” se refiere a una gran colección de proteínas específicas presentes en el cuerpo humano, que tiene al grupo hemo pero tiene nombres particulares para cada derivado ⁵. El interés en estudiar compuestos de coordinación derivados del grupo hemo, surge de la gran variedad de roles que pueden tener, ya sea desde ser parte de proteínas transportadoras de oxígeno en sangre en mamíferos, su participación en la síntesis, modificación y/o degradación de ácidos grasos, esteroides y hormonas, como ocurre en citocromos P450, actividades como catalizador en la activación y metabolismo de peróxidos, entre muchas otras. Así mismo, compuestos sintéticos que contienen al grupo hemo, pueden ser usados en la remediación de contaminantes, hay un gran interés para utilizarlos en medicina, como potenciales agentes de contraste en técnicas de imagen por resonancia magnética⁶.

Ha habido mucha investigación respecto al uso de compuestos de coordinación de porfirinas de hierro como modelos del grupo hemo en una variedad de proteínas, pero con un uso

potencial como materiales magnéticos, ya que el metal le confiere propiedades magnéticas, electrónicas y redox únicas. La elucidación de esta estructura es de vital importancia para entender las funciones y procesos catalíticos de proteínas naturales que contienen al grupo hemo. Hay una gran variedad de estudios y espectroscopías que pueden usarse con el fin de resolver estas estructuras. Dentro de estas técnicas, la resonancia magnética electrónica es particularmente útil, ya que puede ser utilizada para derivar una gran cantidad de información de las estructuras de compuestos de coordinación en disolución a distintas temperaturas⁷. Esto se debe a la interacción del orbital d que contiene un electrón desapareado del hierro interacciona con orbitales moleculares específicos π de la porfirina, por lo que incrementa la densidad de espín π en átomos de carbono y nitrógeno específicos en el compuesto. Esto causa que los desplazamientos químicos observados en experimentos de resonancia magnética nuclear de ^1H de los hidrógenos de carbonos que están enlazados directamente a estos o a dos enlaces se desplacen a campos más altos en el primer caso, y a campos más bajos en el segundo caso. A través de un análisis detallado por espectroscopia de RMN ^1H , puede observarse que los estados de espín de compuestos de coordinación de porfirinas con centros de hierro (III) son controlados por los ligantes axiales.

El macrociclo de la porfirina en el grupo hemo es mayoritariamente plano en ambientes aislados en disolución, pero la coordinación con un centro metálico induce flexibilidad en el macrociclo. En la naturaleza, el grupo hemo presenta formas distorsionadas de la planaridad, las cuales son causadas por los ambientes proteínicos que rodean al macrociclo de la porfirina. Estas distorsiones causadas por las cadenas secundarias de proteínas son responsables en parte un gran número de funciones de metaloporfirinas⁸. Que también están presentes en un gran número de modelos sintéticos de proteínas. La utilización de la química teórica para estudiar y predecir propiedades de compuestos de coordinación ha ido en aumento en las últimas décadas⁹. La familia de las porfirinas son un objeto de estudio complicado para la química teórica, debido a la complejidad y gran tamaño de su estructura. En años recientes, se han hecho esfuerzos por reproducir resultados experimentales y predecir propiedades espectroscópicas de porfirinas naturales y modelos sintéticos para concretar tiempos de computación eficientes con resultados suficientemente precisos¹⁰.

Antecedentes

Dependiendo de las necesidades de simetría y los grupos funcionales que se quieren incluir en el macrociclo de la porfirina, hay una inmensa variedad de metodologías para la síntesis de toda clase de porfirinas. Sin embargo, existen tres métodos principales en orden de complejidad para su síntesis, donde la elección depende de los grupos o simetrías deseados: Polimerización simple de monopirroles, la ruta de *MacDonald* llamada la aproximación [2 + 2] y. Esta familia también puede sufrir reacciones de adición y sustitución sin afectar su aromaticidad, así como acoplamientos, oxidaciones y reducciones para producir una gran variedad de porfirinas que encuentran diversos usos en distintos ámbitos de la química, medicina, biología y ciencia de materiales ¹¹.

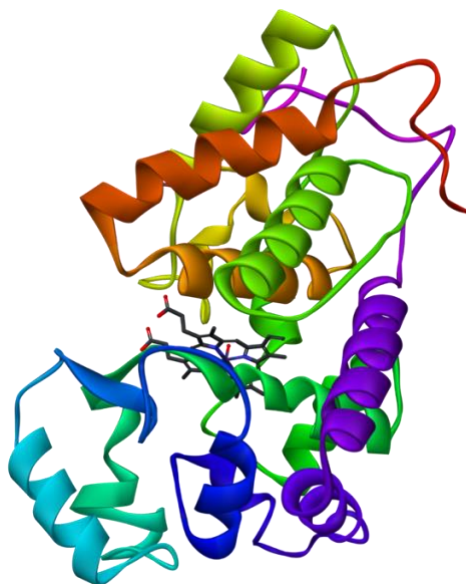


Figura 3 Estructura de la peroxidasa de rábano picante

La familia de las porfirinas es una de la más grandes que existen, así como una de las más estudiadas. Las porfirinas con centros metálicos de hierro son de particular interés, debido a la gran variedad de compuestos naturales y sintéticos que caen en un rango inmenso de funciones y aplicaciones, así como lo importante que son en el cuerpo humano y en otros seres vivos¹².

En particular, hay un gran interés en la investigación de porfirinas del grupo hemo por su papel importante en los mecanismos de hemoproteínas en peroxidases y citocromos P-450,

siendo uno de los compuestos con mayor interés la peroxidasa de rábano picante, o HRP por sus siglas en inglés, gracias a su estabilidad y su asequibilidad¹³. El uso de la resonancia magnética nuclear de ¹H es común para estudiar la estructura molecular y derivar propiedades electrónicas del grupo hemo para conocer y predecir una variedad de propiedades de hemoproteínas. Durante estos estudios, se descubrió que modelos de la peroxidasa de rábano picante presentaban un carácter de espín mixto cuántico de 3/2¹⁴. Ha habido un incremento en las investigaciones de porfirinas con estado de espín intermedio ($S = 3/2$), observado por primera vez por Maltempo *et al*, debido a que están relacionadas con la función de ciertas hemoproteínas presentes en bacterias¹⁵. Este estado de espín intermedio no es común, y usualmente existe en una mezcla de espines con los otros estados posibles¹⁶. Hay tres configuraciones distintivas para los cinco electrones 3d del hierro, que resultan en los estados de espín $S = 1/2$, $3/2$ y $5/2$. El primero y el tercero son relativamente comunes y están lo suficientemente cerca en energía para que exista en una mezcla térmica de bajo espín ($S = 1/2$) y alto espín ($S = 5/2$).

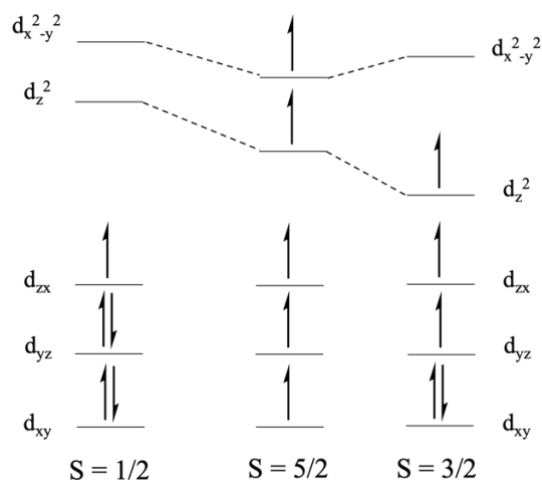


Figura 4 Orbitales moleculares para el hierro (III)

Normalmente, los electrones de valencia de las porfirinas de hierro están en los orbitales 3d del metal y en porfirinas planas ideales tetra y hexacoordinadas los orbitales d tienen simetría sigma que interacciona con los nitrógenos de la porfirina y de los ligandos axiales. Todas las teorías y tratamientos teóricos concuerdan en que el orbital $4e(\pi^*)$ del anillo de la porfirina está vacío y es el orbital LUMO, mientras que los orbitales $1a_{1u}(\pi)$ y $3a_{2u}(\pi)$ pueden ser los orbitales HOMO, dependiendo del estado de oxidación del metal, la naturaleza de la porfirina

particular, los sustituyentes en el macrociclo y los ligantes axiales presentes. Estos orbitales frontera no tienen la simetría correcta para traslaparse con los orbitales d del metal, a menos que la porfirina esté distorsionada, de tal manera que los orbitales $3a_{2u}(\pi)$ con el orbital d_{xy} del hierro si la porfirina presenta distorsión tipo *saddle*.

A través de estudios espectroscópicos de múltiples grupos de investigación, es claro que los estados de espín de complejos de porfirinas de hierro (III) son controlados por la naturaleza y número de los ligantes axiales⁷. Se ha observado que metaloporfirinas sintetizadas con ligantes de fuerza intermedia y con características estructurales específicas, se puede observar una combinación cuántica de los estados de espín altos e intermedios. En una combinación cuántica, la función de onda es una combinación verdadera de los espines donde las propiedades de estados de espín individuales no son observadas. Se ha reportado anteriormente, que la configuración de espín $S = 3/2$ y estados de espín de combinación cuántica $5/2-3/2$ y $1/2-3/2$ tienen una gran importancia en hemoproteínas como la HRP y citocromos c' , que están relacionadas con su conformación espacial, reactividad química y otras propiedades¹⁷.

Como se ha mencionado anteriormente, la resonancia magnética nuclear de ^1H tiene una gran variedad de usos en el campo de estudio de las porfirinas. Junto con la espectroscopia de RPE y mediante el análisis de espectros y desplazamientos hiperfinos, los estados magnéticos pueden ser observados, y obtener información acerca del estado de espín¹⁸. La RMN tiene un amplio uso para determinar estructuras en el campo de la química orgánica y la bioquímica, y en el estudio de las porfirinas no es la excepción, pues podemos obtener una gran cantidad de información estructural del macrociclo en modelos sintéticos de hemoproteínas que nos permiten hacer un análisis más certero de espectros más complejos de hemoproteínas¹⁹. El análisis de RMN a temperatura variable de moléculas paramagnéticas nos puede dar información importante acerca de las propiedades magnéticas dependientes de la temperatura, así como podemos observar otros procesos con esta dependencia como cambios conformacionales o reacciones químicas reversibles²⁰. Este tipo de análisis no ha sido estudiado tan ampliamente como otros aspectos de las porfirinas, por lo que la capacidad de estudiar este tipo de procesos dinámicos en las porfirinas es un área de gran interés.

Nuestro grupo de investigación tiene experiencia en la síntesis de diversos compuestos de coordinación utilizando a la protoporfirina IX, haciendo uso de diversos ligantes axiales, como ligantes bidentados que pueden actuar como pinza y coordinarse al centro metálico, y ligantes que pueden inducir distorsiones sobre el macrociclo, donde mediante el uso de diferentes técnicas espectroscópicas se describieron sus propiedades electrónicas, magnéticas y estructurales, incluyendo pruebas como modelo de peroxidasas²¹⁻²³.

La RMN de ^1H también se ha probado como una herramienta extremadamente valiosa para el estudio de desplazamientos hiperfinos, los cuales están íntimamente relacionados con la distribución de electrones desapareados en la estructura de los ligantes del complejo metálico²⁴. Esto se debe a que los orbitales d semi llenos del hierro pueden interactuar con los orbitales π de la porfirina que tengan la misma simetría. Consecuentemente, un electrón desapareado del metal se deslocaliza a los átomos de nitrógeno y carbono unidos directamente, lo que tiene un gran efecto en los hidrógenos que están enlazados a estos carbonos, los cuales presentan resonancias muy diferentes a sus análogos diamagnéticos debido al efecto de polarización de espín²⁵.

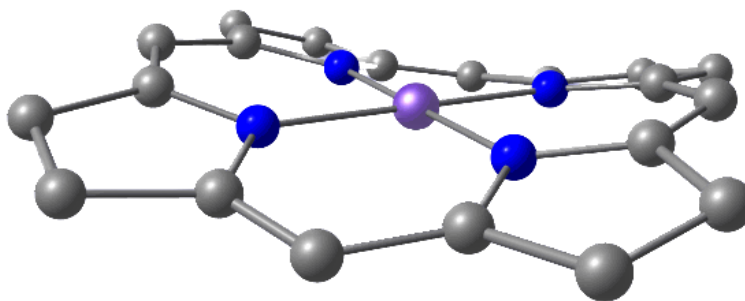


Figura 5 Distorsión tipo saddle del macrociclo de la porfirina

Los complejos metálicos de porfirinas exhiben una variedad de distorsiones fuera y dentro del plano únicas para su familia de compuestos, las cuales se atribuyen al ambiente proteínico o a interacciones estéricas con los sustituyentes en ligantes axiales. En particular, las distorsiones fuera del plano son de gran interés debido a su relación con varias funciones que pueden desempeñar estas porfirinas⁸. Las distorsiones más comunes encontradas en sistemas biológicos son las de *ruffling*, *saddling* y *doming*, por sus nombres en inglés²⁶. Siendo la distorsión de *ruffling*, la principal distorsión en proteínas de transferencia de electrones en

citocromo *c*, complejos oxigenasas enzima-sustrato, y acarreadores de NO como nitroporfirinas²⁷⁻³⁰. La segunda distorsión más común, la denominada *saddling* es prominente en peroxidasas³¹ y se encuentran en modelos de centros del grupo hemo en el citocromo *bc*₁ y otras hemoproteínas³², mientras que la distorsión de *doming* es típicamente observada en proteínas de transporte como la mioglobina. La naturaleza y número de los ligantes axiales también son un factor muy importante en las distorsiones fuera del plano en las porfirinas, así como tienen un gran impacto en su estado de espín, debido a que ciertas distorsiones favorecen estados de espín o mezclas de estados particulares. Este efecto que tienen las distorsiones sobre las propiedades esta familia puede ser observado mediante una gran variedad de técnicas de análisis.

La química teórica es una herramienta invaluable para el estudio de estos modelos inorgánicos, así como el estudio de compuestos de coordinación y modelos de centros del grupo hemo³³. Los cálculos teóricos basados en la teoría de funcionales de densidad, o DFT por sus siglas en inglés, es una herramienta muy útil utilizada para predecir una gran variedad de propiedades y parámetros en la química de coordinación⁹, que han sido utilizados para estudiar geometría molecular optimizada, distribución de carga electrónica, constantes de fuerza vibracionales, energías de orbitales moleculares, así como datos más concretos y complicados, como espectros de RMN de ¹H y ¹³C, valores de g para espectroscopia de RPE, así como datos de UV-vis, FTIR y algunas otras técnicas³³⁻³⁵; comparando datos teóricos con datos experimentales obtenidos para identificar y explicar propiedades magnéticas y electrónicas presentes en una gran variedad de porfirinas con centros metálicos distintos.

Hipótesis

El análisis de espectros de resonancia magnética nuclear a temperatura variable, en conjunto con cálculos computacionales basados en la teoría de los funcionales de la densidad nos permite establecer relaciones entre la estructura, propiedades electrónicas, interacciones entre los orbitales de valencia del macrocilo y el centro metálico de hierro (III) y el comportamiento dentro de un campo magnético externo de manera que podemos explicar los desplazamientos químicos en los experimentos de ^1H , ya que estos son dependientes de procesos dinámicos intramoleculares.

Justificación

El estudio estructural de compuestos de coordinación de porfirinas ha sido de gran interés, debido a los efectos que tienen los centros metálicos y los ligantes axiales sobre su disposición espacial. Estos cambios en su estructura tienen implicaciones intrínsecas en sus propiedades, ya sea en su reactividad química, electroquímica y físicas, así como cambios electrónicos que pueden afectar su papel en la naturaleza o aplicaciones potenciales. A comparación de otros tipos de porfirinas, la familia de la protoporfirina IX no es tan estudiada como las demás, por lo que investigaciones sobre su estructura y cambios que tiene esta dependiendo de los ligantes axiales por medio de análisis de resonancia magnética nuclear a temperatura variable es de gran interés para encontrar potencial aplicaciones de estos compuestos y explicaciones concretas que causan actividades de interés.

Objetivos

- Caracterizar por RMN ^1H , ^{13}C , HSQC y COSY a los ligantes piridina y 2-metilpiridina.
- Sintetizar compuestos de coordinación a partir del éster de la cloroprotoporfirina IX de hierro (III) con la piridina y la 2-metilpiridina como ligantes axiales.
- Asignar señales de los compuestos de coordinación obtenidos por RMN ^1H .

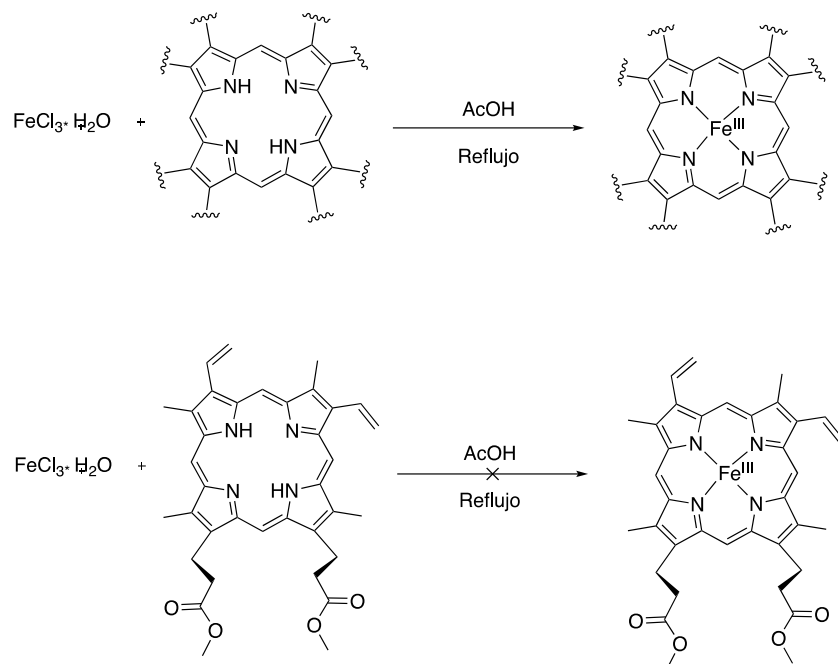
- Obtener y analizar espectros de RMN a temperatura variable en un amplio rango de temperaturas.
- Determinar energías de estados de transición entre rotaciones dihedrales de confórmeros mediante cálculos computacionales basados en DFT.
- Calcular constantes de equilibrio utilizando temperaturas de coalescencia entre estados conformacionales.

Marco teórico

Síntesis de metaloporfirinas

Existen una gran variedad de compuestos de coordinación de porfirinas con la mayoría de los elementos metálicos de la tabla periódica, muchos de estos compuestos son capaces de enlazar ligantes axiales adicionales. Como se mencionó en otras secciones de este informe, esta coordinación axial afecta profundamente características espectroscópicas, electroquímicas, estructurales, fotoquímicas entre otras de la metaloporfirina sintetizada. En la mayoría de los casos, el estado de oxidación del ion metálico es conocido y tiene propiedades de coordinación únicas³⁶.

Se han reportado varias rutas para la síntesis de compuestos de coordinación relacionadas entre sí. De ellas, las más comunes, son la síntesis directa y la síntesis tradicional. El método más común es la síntesis tradicional, el cual consiste en hacer reaccionar una sal de metal con un agente coordinante; en un disolvente o mezcla de disolventes en la que ambos sean solubles³⁷. Este es el caso para la síntesis de metaloporfirinas de hierro (III). La reacción es usualmente llevada a cabo calentando una disolución acuosa de sal de hierro (II) en presencia de la porfirina en presencia de aire. El producto resulta en un centro de hierro (III), a menos que las condiciones sean anaerobias. Las sales de hierro (III) pueden coordinarse directamente al macrociclo utilizando $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y agregando trazas de ácido acético glacial en reflujo por 90 minutos. Sin embargo, este método no resulta en la metaloporfirina esperada utilizando derivados de la protoporfirina IX, los cuales son susceptibles a hidratación ácida de los grupos vinílicos.

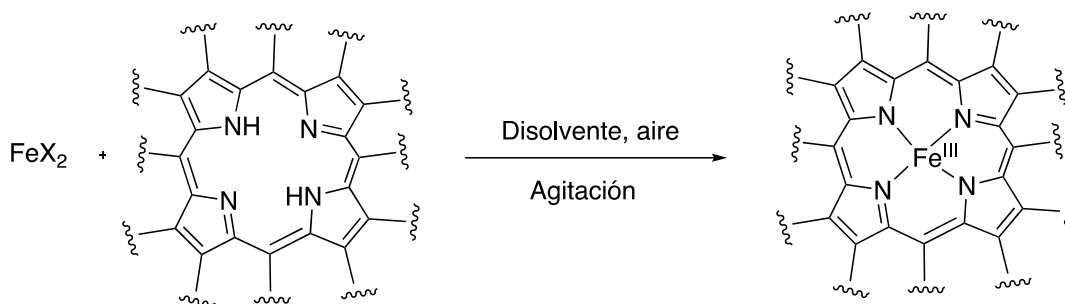


Esquema 1 Reacción entre una sal de hierro (III) con una porfirina que lleva directamente a una metaloporfirina de hierro (III)

Las condiciones típicas para la síntesis de metaloporfirinas con hierro normalmente emplean combinaciones de sal/disolvente de FeCl_2/DMF , $\text{FeSO}_4/\text{piridina-AcOH}$, $\text{Fe(OAc)}_2/\text{AcOH}$ y $\text{FeBr}_2/\text{base/Benceno-THF}$ ³⁶.

Dependiendo de la fuerza donadora del ligante, pueden aislarse compuestos de coordinación penta o hexacoordinados. Ligantes enlazantes débiles, como alcoholes y éteres, resultan en complejos pentacoordinados con estados de espín alto, mientras que la adición de ligantes fuertes como la piridina o el imidazol, resulta en compuestos de coordinación hexacoordinados inmediatamente, debido a que la constante de asociación del segundo ligante es alrededor de 10 veces más grande que el primero. En la formación de compuestos de coordinación hexacoordinados, el macrociclo de la porfirina neutraliza dos de las tres cargas positivas, por lo que estos compuestos deben de tener asociado un contraion. Este puede estar coordinado directamente al centro metálico o fuera de la esfera de coordinación formando un par iónico con el compuesto. La coordinación de aniones al centro metálico de porfirinas con centro de hierro (III) resulta en un estado mezclado de espín cuántico de $S = 5/2, 3/2$. Para el hierro (III), los productos directos de metalación con sales de hierro (II) en condiciones aeróbicas tienen la fórmula general de $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{Por})\text{X}$. La especie coordinada a un

cloruro, con fórmula de $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{Por})\text{Cl}$, es un punto de partida común para diversos compuestos de coordinación llevando a cabo la sustitución del anión. La fuerza de la coordinación al centro metálico puede ser monitoreada por el desplazamiento químico de los hidrógenos de sustituyentes en el anillo de pirrol³⁸.

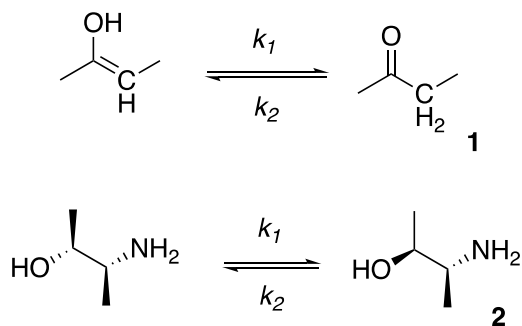


Esquema 2 Reacción general para la síntesis de metaloporfirinas de hierro (III)

Resonancia magnética nuclear a temperatura variable

La resonancia magnética nuclear puede ser aplicada para estudiar procesos reversibles dependientes de la temperatura como cambios conformacionales o tautomería, esto es debido a que la forma de las señales es sensible a estos cambios, si el ambiente del núcleo que estamos estudiando es diferente de un estado a otro.

Procesos dinámicos, como cambios conformacionales, reacciones sintéticas reversibles, entre otras, son difíciles de observar utilizando otras técnicas espectroscópicas. Generalmente, equilibrios lentos permiten la medición de propiedades para todas las especies individuales, por lo que todas las especies son observables en el espectro. Equilibrios rápidos, sin embargo, resultan en un espectro promedio de todas las especies presentes en una disolución, por lo que no se observan individualmente en el espectro. Por medio de la temperatura, podemos hacer que un equilibrio se vuelva más lento, para poder así observar especies individuales en el espectro de RMN. La temperatura donde los procesos dinámicos tienen su transición de rápido a lento es la temperatura de coalescencia²⁰.



Esquema 3 Ejemplos de procesos dependientes de la temperatura. 1 - Tautomería, 2 - Cambio conformacional.

Para establecer un equilibrio lento, se pueden calcular los anchos de línea al determinar la altura máxima de la señal de interés y medir el ancho de la señal justo a la mitad y al establecer las diferencias de dos frecuencias de resonancia de dos núcleos químicamente equivalentes que están separados por un proceso intramolecular.

$$\nu_A - \nu_B = \Delta\nu \text{ Ec. 1}$$

Donde ν_A y ν_B son las frecuencias en Hz de las resonancias, que tienen una rapidez de intercambio (k_{int}) denominada por la siguiente ecuación en la temperatura de coalescencia (T_c):

$$k_{int} = \pi(\Delta\nu)/\sqrt{2} \text{ Ec. 2}$$

Donde π tiene su significado usual y $\Delta\nu$ es la diferencia de frecuencias antes mencionada. Las unidades correspondientes a la rapidez de intercambio están dadas en unidades de frecuencia (Hz). A bajas temperaturas, la diferencia de los anchos de línea es mucho más grande que la rapidez de intercambio, por lo que el espectro consistirá en dos señales agudas bien diferenciadas con sus respectivos anchos de línea. A temperaturas más altas, el intercambio es rápido, por lo que k_{int} es mucho más grande que $\Delta\nu$, por lo que un solo pico angosto es observado. También hay un intervalo intermedio donde se observa una señal ancha donde las señales se traslapan. Estos procesos reversibles observables por RMN presentan señales anchas en equilibrios lentos, que se añaden a las propiedades de las señales que son dependientes de los tiempos de relajación espín-espín y espín-órbita.

El principio de incertidumbre establece que la energía de un estado particular (ΔE) y la incertidumbre en el tiempo de vida del estado (Δt) es aproximadamente igual a la constante de Planck reducida (\hbar).

$$\Delta E \Delta t \cong \hbar \text{ Ec. 3}$$

Esta ecuación establece que una señal aguda y bien definida tiene un estado energético o frecuencia bien establecida, pero implica también que el tiempo de vida del estado es muy incierto. Una señal ancha indica un tiempo de vida característico, pero una incertidumbre en la energía o frecuencia de los estados particulares. Debido a que

$$\Delta E = h\Delta\nu_{1/2} \text{ Ec. 4}$$

Donde $\Delta\nu_{1/2}$ es el ancho de línea de la señal de absorción, es inversamente proporcional al tiempo de vida del estado excitado, se deriva la siguiente ecuación:

$$\Delta\nu_{1/2} = \frac{1}{2\pi\Delta t} \text{ Ec. 5}$$

La cual relaciona el tiempo de vida del estado excitado con el ancho de banda de la señal en el espectro de RMN³⁹. A partir del cálculo de la separación de las señales en la temperatura de coalescencia, puede calcularse la energía libre para la barrera de la energía de activación.

$$\Delta G = aT \left[9.972 + \log \left(\frac{T_c}{\Delta\nu} \right) \right] \text{ Ec. 6}$$

Donde a es una constante de 4.575×10^{-3} en unidades de kcal/mol, T se refiere a la temperatura a calcular para la energía, T_c la temperatura de coalescencia y $\Delta\nu$ es la diferencia en frecuencia de las resonancias. Mediante el uso de diferentes ecuaciones, sabemos que la energía está relacionada con el ancho de línea de la transición, por lo que, sabiendo la energía, podemos calcular la intensidad de la señal a una frecuencia determinada. Este método de determinar las constantes de intercambio y la temperatura de coalescencia son los más comunes y tal vez inexactos, debido a que la temperatura de coalescencia se determina mediante la medición de múltiples espectros a distintas temperaturas, por lo que puede haber errores en la estimación de la barrera de la energía de activación. Métodos más precisos, pero mucho más difíciles de acceder son experimentos a temperaturas variables de intercambio fugaz, como 2D-EXCHSY o 1D-EXCHSY⁴⁰.

Resonancia magnética nuclear de compuestos paramagnéticos en disolución

El físico galardonado con el premio Nobel, Pieter Zeeman descubrió el comportamiento peculiar de ciertos átomos cuando son expuestos a un campo magnético externo. Los átomos que tiene este comportamiento peculiar son átomos que tienen un número de protones,

neutrones o ambos impares, por ejemplo, isótopos de ^1H , ^{13}C , ^{15}N entre muchos otros. Estos núcleos adoptan un número de orientaciones totales posibles no degenerados en un campo magnético dictado por la siguiente fórmula:

$$m_i = 2I + 1 \text{ Ec. 7}$$

Donde I es el espín nuclear. Estas orientaciones, también llamados estados de espín nucleares, se separan en energía dentro del campo magnético externo. A este efecto de estos átomos se le llama el efecto Zeeman nuclear. Estos estados de espín nucleares están separados por la diferencia en energía de cada estado, definida por la siguiente ecuación:

$$E_i = -m_i \frac{\gamma h B_0}{2\pi} \text{ Ec. 8}$$

Donde h es la constante de Planck, B_0 es la fuerza del campo magnético externo y gamma es una constante llamada razón giromagnética y se determina mediante la abundancia isotópica del átomo que está siendo expuesto al campo magnético.

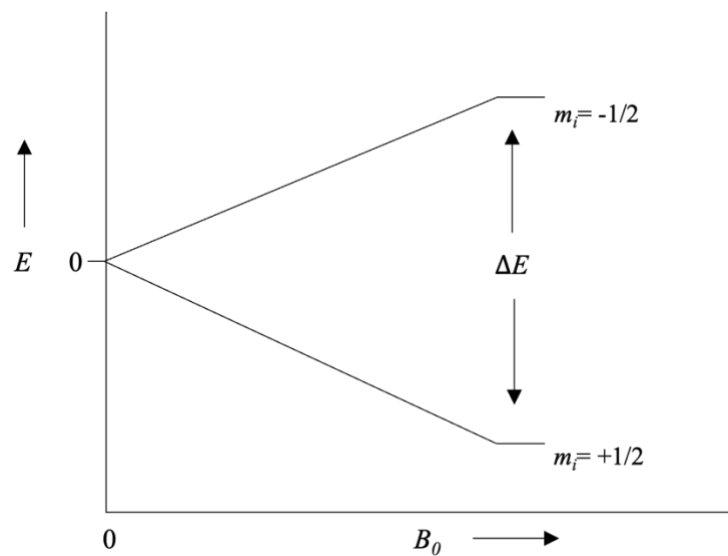


Figura 6 Efecto Zeeman nuclear para un núcleo con $I = 1/2$

Cuando estos núcleos se encuentran en el campo magnético externo, experimentan un movimiento oscilatorio periódico llamado precesión, a una frecuencia característica del núcleo que estamos estudiando, llamada frecuencia de Larmor, dada por la siguiente ecuación:

$$\omega = \gamma B_0 \text{ Ec. 9}$$

Esta frecuencia está en unidades de radianes por segundo, que puede ser transformada por medio de un tratamiento matemático a unidades de frecuencia (Hz) para ser estudiada más a fondo.

Los núcleos de estudio tienen que absorber un valor energético igual a la frecuencia con la que realizan la precesión en el campo magnético externo, para ir de un estado de espín de menor energía ($m_i = -1/2$ alineado con el campo magnético) a uno de mayor energía ($m_i = +1/2$ en contra del campo magnético). Durante un experimento de RMN, la señal es generada teniendo un campo magnético externo alineado en el eje z . Antes de que empiece la irradiación mediante radiofrecuencias, se tiene a los núcleos precesando a su frecuencia característica en presencia de este campo magnético. Ahora, se añade un campo magnético oscilante mucho más débil al inicial en posición perpendicular a este presente en los ejes x y y . Así, los momentos nucleares se enfocan y rastrean al campo magnético, precesando a la frecuencia de Larmor en estos ejes.

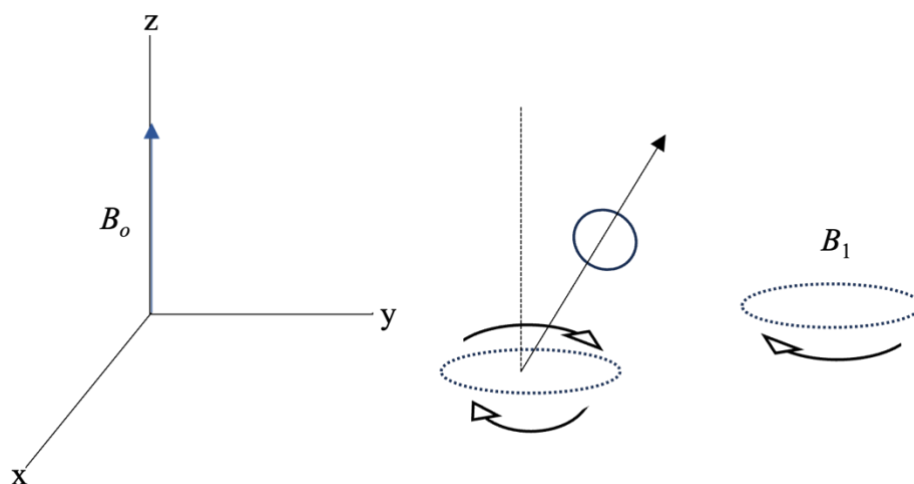


Figura 7 Precesión de un núcleo en presencia de un campo externo y la inclinación que sufre debido a la presencia de un segundo campo externo rotatorio

Cuando se aplica el pulso de radiofrecuencias y ocurre el cambio del estado de espín del núcleo, estos empiezan a precesar en dirección del campo magnético externo. Esta precesión genera un campo magnético débil perpendicular al campo magnético inicial, lo cual induce un voltaje en el receptor del espectrómetro. Este voltaje inducido es detectado y se le da el nombre de *Free Induction Decay* (FID). Esta señal contiene información acerca de las interacciones del espín nuclear, dinámicas moleculares y el ambiente químico de la muestra.

Durante esta señal, los espines nucleares pierden coherencia, salen de fase unos con otros debido a interacciones con su ambiente químico, como acoplamientos dipolares a través del espacio entre otros. Esto lleva a una pérdida gradual del campo magnético generado llamado decaimiento. En ausencia de un campo magnético externo, la distribución de los estados de espín para un núcleo con un $m_I = \frac{1}{2}$ es de aproximadamente 50/50. Los números relativos entre los estados de espín de mayor y menor energía se llama equilibrio de Boltzmann. Cuando el núcleo que estamos observando absorbe energía, el sistema puede llegar a saturarse, lo que significa que ambas poblaciones están de nuevo en una relación 50/50, y que el sistema no puede absorber más energía. Cuando la irradiación se detiene, los núcleos excitados volverán a sus estados iniciales mediante procesos de relajación. En los sistemas estudiados por resonancia magnética nuclear, existen dos tipos de procesos de relajación: relajación espín-órbita y relajación espín-espín. Cada uno de ellos está caracterizado por un tiempo de relajación, lo que determina el tiempo de decaimiento.

Los procesos de relajación espín-órbita, también llamado longitudinal, ocurren en dirección del campo magnético externo fijo. Los espines disipan la energía absorbida al transferirla a su entorno como energía térmica. El tiempo de relajación T_1 describe este proceso. Muchos procesos intra e intermoleculares contribuyen a este proceso de relajación, pero los contribuidores principales son las interacciones dipolo-dipolo. Los espines de un núcleo excitado interactúan con los espines de otros núcleos cercanos de la misma molécula o de moléculas cercanas, lo que lleva a intercambios y transiciones de espín. Estos mecanismos son especialmente efectivos si hay núcleos de hidrógenos cerca, o directamente enlazados. Este tipo de relajamiento es mucho más efectivo en moléculas grandes que rotan lentamente que en moléculas pequeñas, que rotan rápidamente.

Los procesos de relajación de espín-espín son aquellos que ocurren perpendicularmente al campo magnético externo fijo, el mismo plano en que la señal es detectada. La relajación espín-espín no cambia la energía del sistema. Cuando el sistema comienza a perder fase después del pulso del segundo campo perpendicular externo, los núcleos pierden esta coherencia intercambiando su espín. Este proceso solo ocurre con núcleos del mismo tipo, y el tiempo de relajación espín-espín, T_2 , gobierna este proceso⁴¹.

Solía creerse que el espectro de resonancia magnética nuclear de un compuesto de coordinación paramagnético, debido a que un momento de espín electrónico tan grande causa una relajación nuclear muy rápida y por lo tanto a una señal en el espectro demasiado ancha como para poder interpretarse. Sin embargo, es posible detectar señales de resonancias pertenecientes a hidrógenos en la molécula a desplazamientos muy positivos o negativos. Los electrones desapareados no están localizados en un solo punto, si no en general están deslocalizados sobre toda la molécula. En cualquier punto del espacio, los orbitales moleculares de los núcleos de hidrógeno que tienen valores de electrón desapareado diferente de cero, el momento magnético sentido por el núcleo también es diferente de cero, y es proporcional al valor promedio del espín en el eje z multiplicado por la fracción del electrón desapareado presente en ese punto, a lo cual se le llama densidad de espín. Los electrones desapareados en un orbital molecular pueden polarizar a un par electrónico en un orbital molecular lleno, llamado polarización de espín. Los momentos magnéticos de los núcleos que se alinean con el momento magnético del electrón desapareado tienen una ligera preferencia a ocupar la región del espacio de su orbital molecular que está más cerca al electrón desapareado, teniendo el efecto contrario para momentos magnéticos de núcleos que están alineados en contra al momento magnético del electrón desapareado.

Esta polarización puede ocurrir mediante mecanismos de polarización directa o indirecta. Los núcleos magnéticos que estamos estudiando interactúan con los electrones desapareados de la misma manera en que dos dipolos magnéticos interactúan entre sí. La interacción se divide en dos partes, una con la densidad de espín en los núcleos resonantes y otra con el efecto magnético de los electrones desapareados en el resto de la molécula. El primer efecto es llamado el acoplamiento de contacto de Fermi, mientras que el segundo es el acoplamiento dipolar a través del espacio.

El acoplamiento de contacto de Fermi se produce por la presencia de la densidad de espín de los electrones desapareados del centro metálico en núcleos de los hidrógenos del ligante. Esto, en presencia del campo magnético externo aplicado durante el experimento de la RMN, da lugar a un campo magnético permanente que se añade al aplicado. Debido a este efecto, los núcleos que estamos estudiando sufren un desplazamiento mayor en su frecuencia de resonancia. Este efecto ocurre con núcleos que están cerca del centro metálico donde la densidad de espín se puede deslocalizar. Si consideramos un espín con un núcleo B para ser

cuantizado alrededor del eje z, el hamiltoniano de contacto se describe por la siguiente ecuación:

$$\hat{H} = \frac{8\pi}{3} g\beta g_N\beta_N \hat{I}_{zB} \hat{S}_{zB} \text{ Ec. 10}$$

El acoplamiento dipolar a través del espacio, también llamado acoplamiento de pseudocontacto, ocurre por el acoplamiento del momento magnético del electrón desapareado con el del núcleo que estamos estudiando. Este acoplamiento tiene un efecto significativo cuando la interacción por el contacto de Fermi es despreciable⁴². Este desplazamiento es llamado desplazamiento isotrópico hiperfino, y puede ser determinado experimentalmente al medir la diferencia en desplazamiento de un átomo dado en un compuesto paramagnético y el del mismo átomo en un compuesto diamagnético análogo⁴³.

Teoría de los funcionales de la densidad

El primer vínculo entre la química teórica con la química de coordinación fue la teoría de campo cristalino en la década de 1950. La química teórica es una gran herramienta para obtener información acerca de metales de transición.

El punto de partida para la aplicación de la química teórica a compuestos de coordinación y organometálicos se data a la conocida metodología de Hückel en la década de los 1970. El método extendido de Hückel es el más popular debido a que otros métodos semi empíricos no pueden describir a los orbitales *d* y *f* correctamente. Por lo tanto, el modelo de EHT ha utilizado las propiedades de simetría de los orbitales extensivamente y la teoría de perturbación⁹.

La teoría de los funcionales de la densidad, o DFT por sus siglas en inglés, proveen resultados suficientemente precisos a un costo computacional razonable. El desarrollo del método de DFT trajo “precisión química” al principio de la década de 1990, y conectó con el desarrollo de la tecnología computacional, lo que ha hecho de estos métodos las más poderosas herramientas al final del siglo XX y principios del siglo XXI para el estudio teórico de compuestos de coordinación. Un “funcional” es una función que tiene como argumento otra función.

La teoría de los funcionales de la densidad es la base de diferentes métodos computacionales que permiten el estudio de diversos sistemas. Se basa en el teorema de Hohenber y Kohn,

que establece que la energía del estado basal de un sistema es funcional de la densidad electrónica del mismo, por lo que solo se necesita conocer la densidad para calcular todas las propiedades del sistema. Partiendo el funcional de la energía en energía cinética, potencial, repulsión electrostática clásica de Coulomb y la energía de intercambio y correlación⁹.

El funcional de energía de intercambio y correlación no es conocido, y aproximaciones para su solución son obtenidas usando términos empíricos. Este método nos permite solucionar un problema de métodos desarrollados con anterioridad al cambiar el término de intercambio potencial por un potencial de intercambio y correlación que es más simple por ser función de la densidad⁴⁴.

Debido a que el funcional de intercambio y correlación no es conocido, tienen que usarse las aproximaciones más precisas posibles, y la elaboración de nuevos funcionales es un área de trabajo muy activa. Los funcionales para el cálculo de esta energía fueron clasificados en tres generaciones: aproximaciones de densidad local (LDA), aproximaciones de gradiente generalizado (GGA) y funcional más allá de aproximaciones de gradiente generalizado (Meta-GGA)⁹.

Los métodos computacionales basados en la teoría de los funcionales de la densidad permiten predecir un gran número de propiedades, como estructuras moleculares, energías de enlace, superficies de energía potencial, momentos dipolares, polarizabilidad, potenciales de ionización, afinidad electrónica, espectros e intensidades de UV-Vis, frecuencias de vibración, desplazamientos químicos, entre otros.

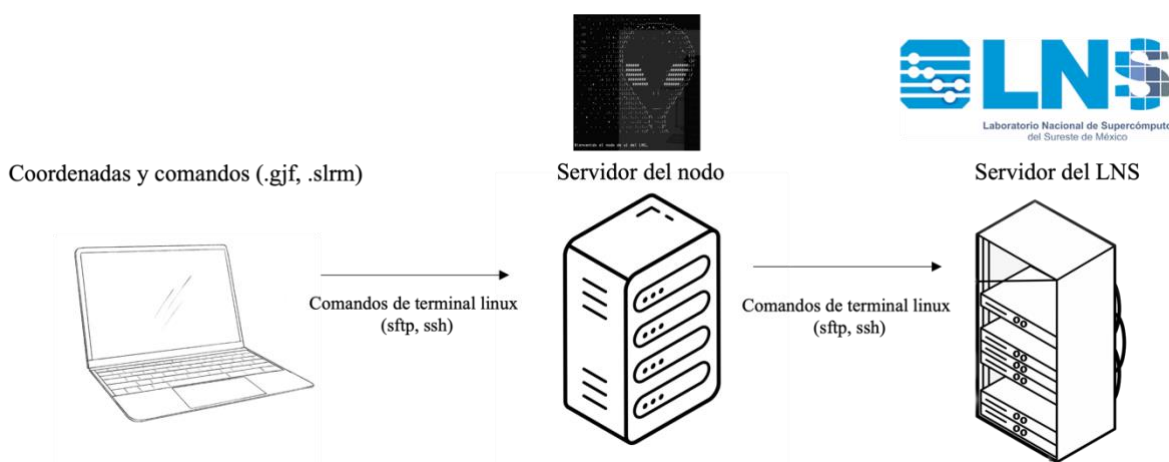


Figura 8 Diagrama de proceso para la realización de cálculos

Metodología

Medición de los espectros de RMN a temperatura variable

Los espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , DEPT, HSQC, HMBC y COSY fueron realizados en un equipo Bruker de 500 MHz en tubos de resonancia de cuarzo ultrapuros. Se escogió al metanol deuterado como disolvente para todos los experimentos. Primero, se realizaron los espectros de una y dos dimensiones de los ligandos 2-metil piridina y piridina, también obteniendo el espectro de ^1H para el éster de la cloroproporfirina IX de hierro (III). Se asignaron todas las señales características de las materias primas de hidrógenos y carbonos correspondientes y se compararon con espectros ya reportados en la literatura.

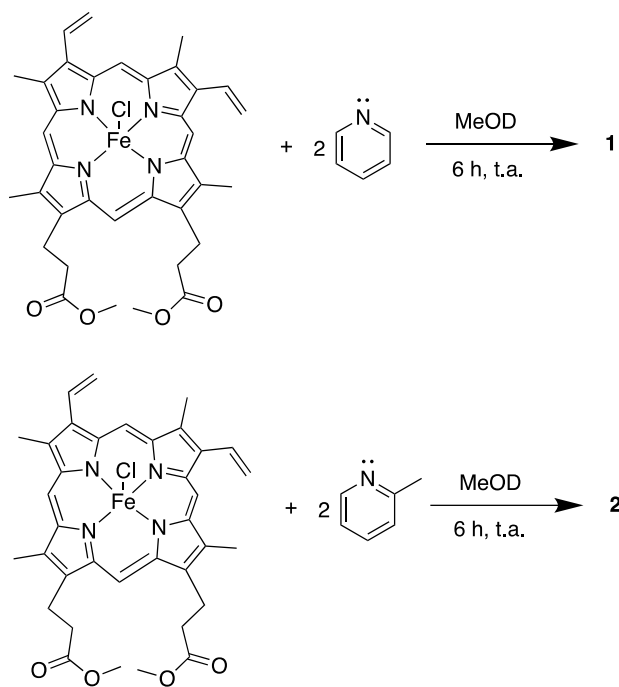
Posteriormente se realizaron los estudios a temperaturas variables para obtener sus espectros de RMN ^1H en un intervalo de temperatura de $-25\text{ }^\circ\text{C}$ a $25\text{ }^\circ\text{C}$ de las materias primas para observar su comportamiento a temperatura variable.

Finalmente, se analizaron los espectros a temperaturas variables de los compuestos de coordinación sintetizados en un intervalo de temperatura de -25 a $40\text{ }^\circ\text{C}$. Los espectros obtenidos se compararon con los de las materias primas con el fin de identificar variaciones con la temperatura y analizar este comportamiento en comparación con el de las materias primas. Todos los espectros obtenidos fueron procesados utilizando el software MestReNova versión 14.2.0.

Síntesis de los compuestos de coordinación

Los reactivos que se utilizarán para la síntesis de los compuestos de coordinación fueron adquiridos con el proveedor Sigma-Aldrich y fueron usados sin purificación adicional.

La síntesis de los compuestos de coordinación fue realizada disolviendo el éster de la cloroproporfirina de hierro (III) en metanol deuterado, en una concentración de 1 mM. Se tomó una alícuota de 1.2×10^{-2} mmoles, 2.5 eq de piridina y 2-metil piridina. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación magnética durante seis horas. Pasado este tiempo, la disolución se refrigeró para su posterior análisis para la obtención de **1** y **2** pertenecientes a los ligandos respectivos.



Esquema 4 Reacción para la síntesis de los compuestos de coordinación de interés

Cálculos computacionales

Los cálculos computacionales se realizaron empleando la teoría de funcionales de la densidad en el programa Gaussian 09 versión D.01 implementado en la supercomputadora del Laboratorio Nacional de Supercómputo del Sureste de México en la BUAP.

Como estructura base para los cálculos computacionales se utilizó a la octometilporfirina de hierro (III) con el objetivo de simplificar las interacciones de los sustituyentes del macrociclo que habría en la estructura completa de la cloroprotoporfirina IX. Se utilizó al metanol como disolvente implícito en todos los cálculos. Se tomaron en cuenta todas las multiplicidades posibles para los compuestos de coordinación hexacoordinados con centro de hierro (III) en un ambiente octaédrico, con los ligantes axiales de 2-metil piridina y piridina. Todos los cálculos fueron realizados utilizando el funcional de GGA de PBE para obtener un tiempo de cálculo más eficiente y el funcional híbrido de B3LYP para obtener valores de energía más precisos, con las funciones de base def2svp o def2tzvpp, utilizando corrección de la dispersión empírica mediante el método de Grimme de D3

Se calcularon energías en cambios conformacionales de ángulos dihedrales y se determinaron estados de transición entre estos, calculándose energías libres de estos estados conformacionales. Se tomaron las coordenadas de estos estados de transición obtenidos para optimizar sus geometrías en estados de transición y se realizaron cálculos de IRC (*Intrinsic Reaction Coordinates*) donde se conectan estos estados con estructuras relajadas.

Resultados y discusión

Experimentos de ^1H , ^{13}C de una y dos dimensiones de los ligantes 2-metil piridina y piridina

Se comenzó el análisis obteniendo espectros de resonancia magnética nuclear de una dimensión ^1H , ^{13}C desacoplado y DEPT y de dos dimensiones HSQC, HMBC y COSY para los ligantes 2-metil piridina y piridina con el fin de asignar todas las señales de carbonos e hidrógenos de sus estructuras. En la figura 11 y 12 se presentan los espectros de ^1H y ^{13}C respectivamente. El espectro de la figura 11 corresponde a la piridina, que contiene señales en 8.53 ppm (d), 7.79 ppm (t) y 7.38 ppm (dd). Todos estos desplazamientos químicos son típicos para hidrógenos en un ambiente aromático. La señal observada en 2.0 ppm corresponde a restos de acetona utilizada para remover agua del tubo de RMN, mientras que la señal cerca de 5 ppm corresponde a residuos de metanol.

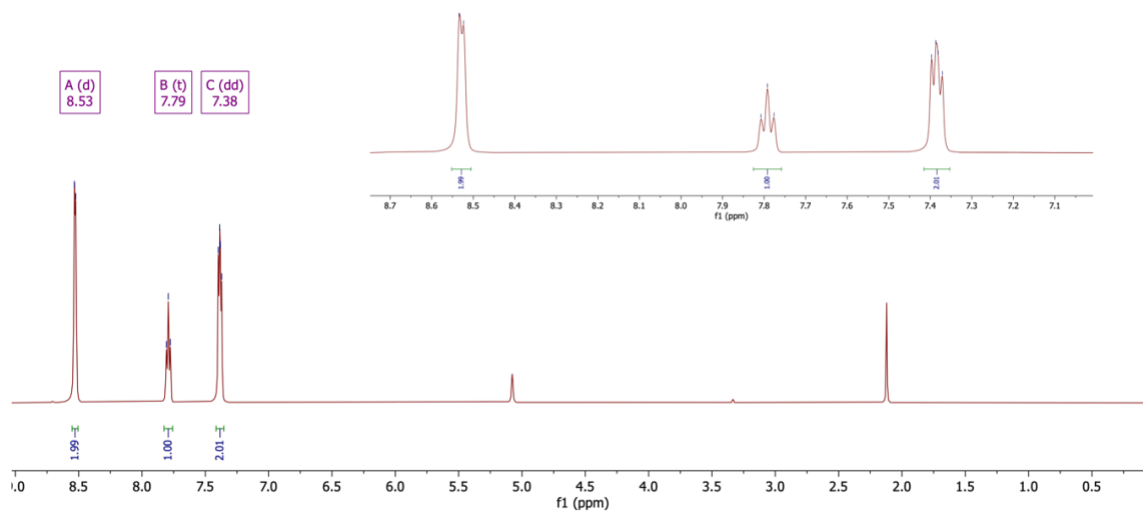


Figura 9 Espectro de protón del ligante piridina

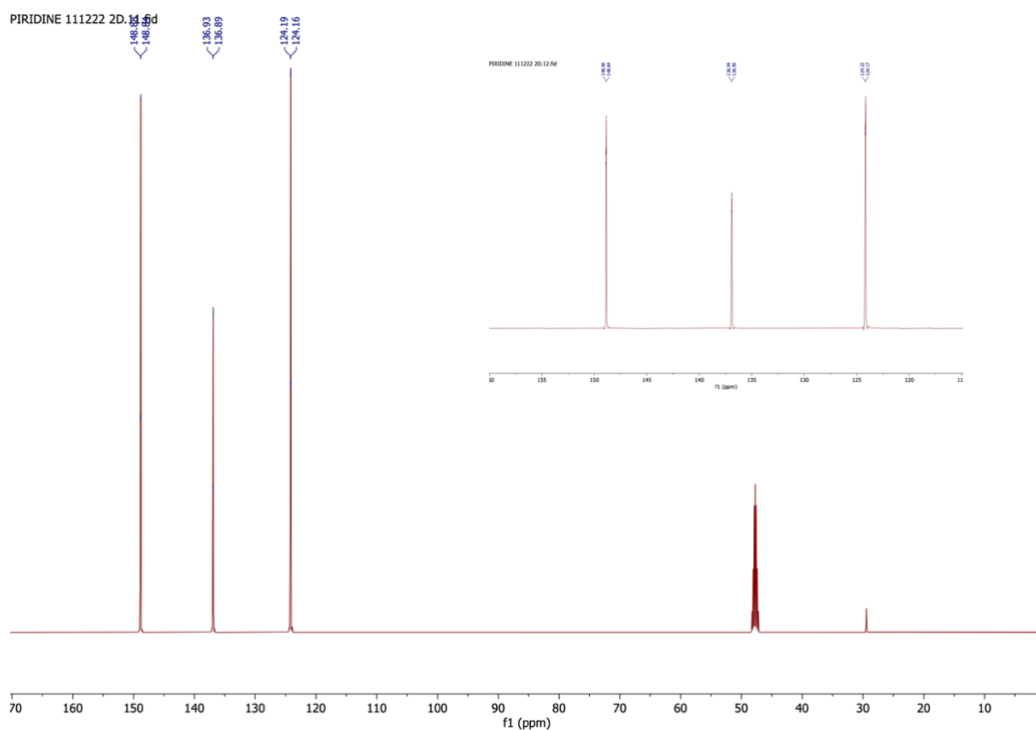


Figura 10 Espectro de carbono del ligante piridina

Y el espectro en la figura 12 corresponde al experimento de ^{13}C de la piridina, con un acercamiento en el espectro de DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*), donde se puede confirmar que todas las señales son pertenecientes a un carbono tipo CH o CH_3 , lo cual concuerda con los metilenos (CH) y rango de desplazamientos para el anillo aromático en la piridina.

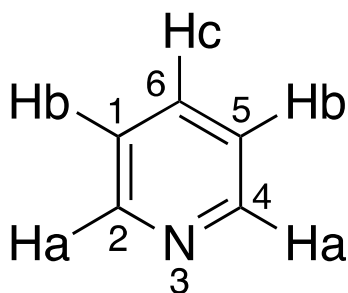


Figura 11 Estructura de la piridina

Todos los carbonos e hidrógenos fueron asignados mediante el análisis de las multiplicidades de los espectros de ^1H y análisis de los experimentos de dos dimensiones, comenzando con los espectros de HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Coherence*) donde se correlacionan

las señales de ^1H y ^{13}C para asignar señales de hidrógenos a los carbonos a los cuales están directamente enlazados.

Gracias a esta correlación, podemos asignar las siguientes señales en el espectro de carbono a su correspondiente señal de protón: al carbono con señal en 148.8 ppm le corresponde el hidrógeno con señal en 8.52 ppm, y al de 136.8 ppm con el hidrógeno en 7.79 ppm al de 124.1 ppm el hidrógeno en 7.38 ppm

Podemos inferir que los carbonos en 148.8 y 124.1 ppm pertenecen a los carbonos 2 y 4 o 1 y 5 debido a que las señales en el espectro de ^1H integran para dos hidrógenos. Así mismo, podemos asignar la señal del carbono en 136.8 ppm con la señal de su hidrógeno en 7.79, al carbono en posición 6 y al hidrógeno Hc, debido a que la señal de este hidrógeno solo integra para un protón.

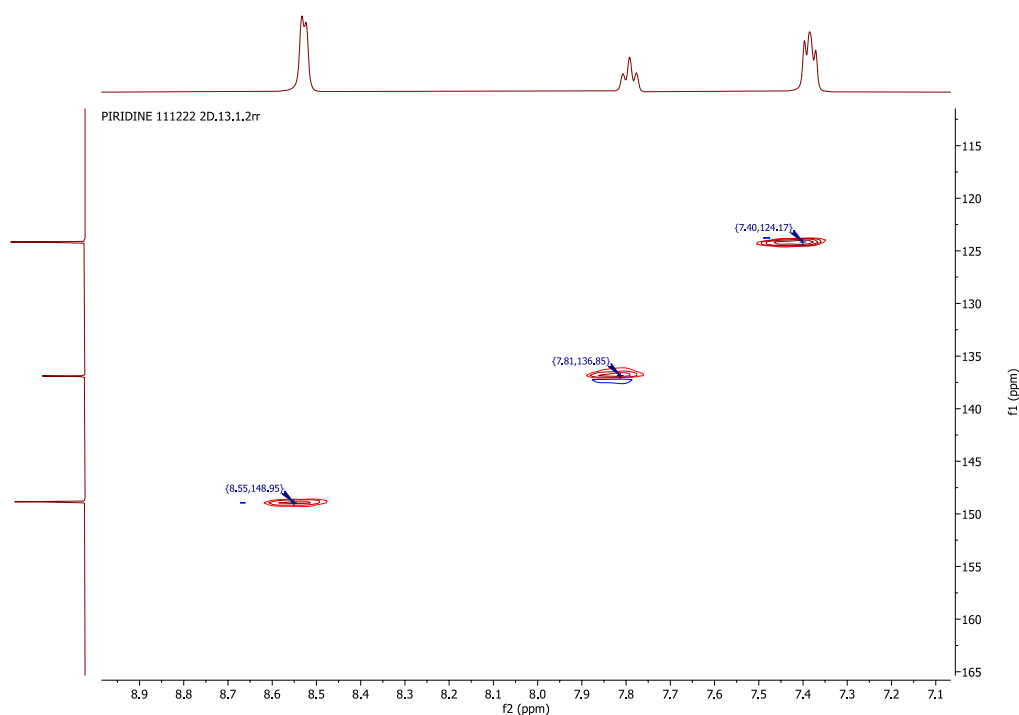


Figura 12 Espectro de HSQC de la piridina

Para asignar adecuadamente las señales restantes a los átomos de carbono e hidrógeno restantes, pasamos a un análisis de los espectros obtenidos de COSY (*Correlated Spectroscopy*), donde podemos relacionar señales de protones vecinos a tres enlaces.

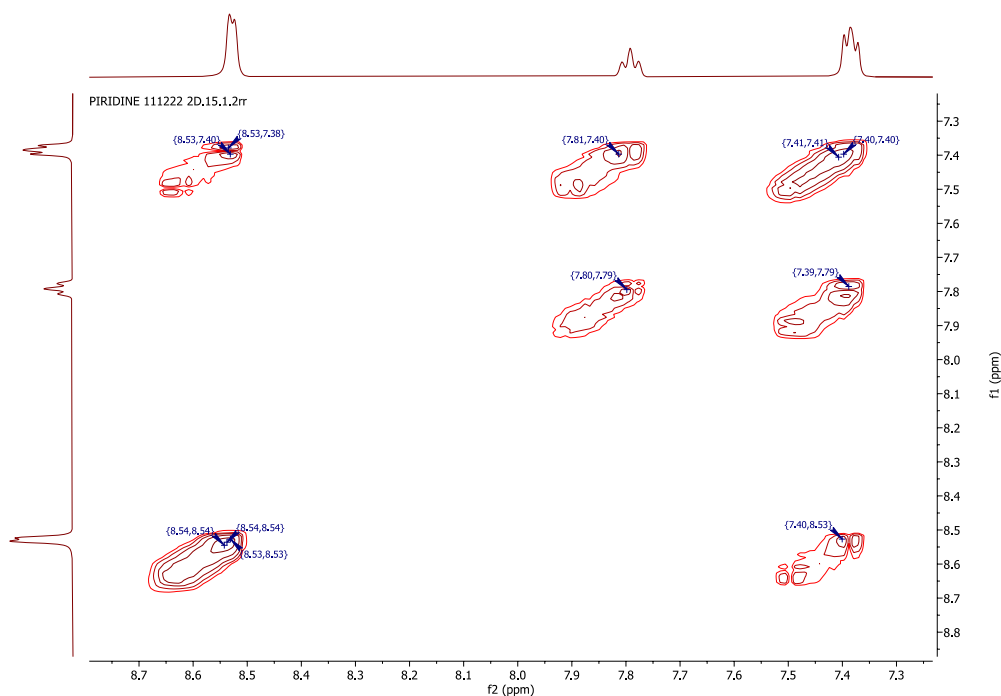


Figura 13 Espectro de COSY de la piridina

Gracias a este espectro podemos confirmar que la señal de protón en 8.52 ppm correspondiente al carbono en 148.8 ppm pertenece a los carbonos 2 y 4, siendo este protón vecino a tres enlaces a los protones Hb, no habiendo acoplamiento aparente con el protón Hc, lo cual se confirma con la multiplicidad de doblete de la señal. Esto significa que el protón en 7.79 ppm correspondiente al carbono en 136.8 ppm se asigna al carbono 6, presentando acoplamiento con los protones Hb, con señal en 7.38 ppm que corresponde al carbono en 124.1 ppm que se asignan a los carbonos 1 y 5.

Letra	Protón	Número	Carbono
A	8.52 ppm	2/4	148.8 ppm
C	7.79 ppm	6	136.8 ppm
B	7.38 ppm	1/5	124.1 ppm

Tabla 1 Desplazamientos asignados para la piridina

Habiendo asignado las señales para el ligante piridina, proseguimos a la medición y subsecuente asignación de señales en espectros de las mismas técnicas para el ligante de 2-metil piridina.

El espectro de protón nos da mucha información gracias a la multiplicidad e integración de las señales. Observando las señales, asignamos la señal en 2.49 ppm a los protones del grupo metilo que integran para tres. La señal en 7.23 ppm corresponde al protón Hd, debido a su multiplicidad de doblete y a que integra para un protón. Por último, las señales en 7.17 ppm y 7.23 ppm pueden corresponder a los protones restantes Hb y Hc, ambos integrando para un protón, y teniendo multiplicidad de doble de dobles y un triple de dobles respectivamente.

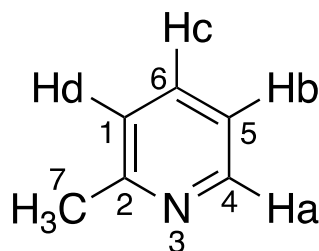


Figura 14 Estructura de la 2-metil piridina

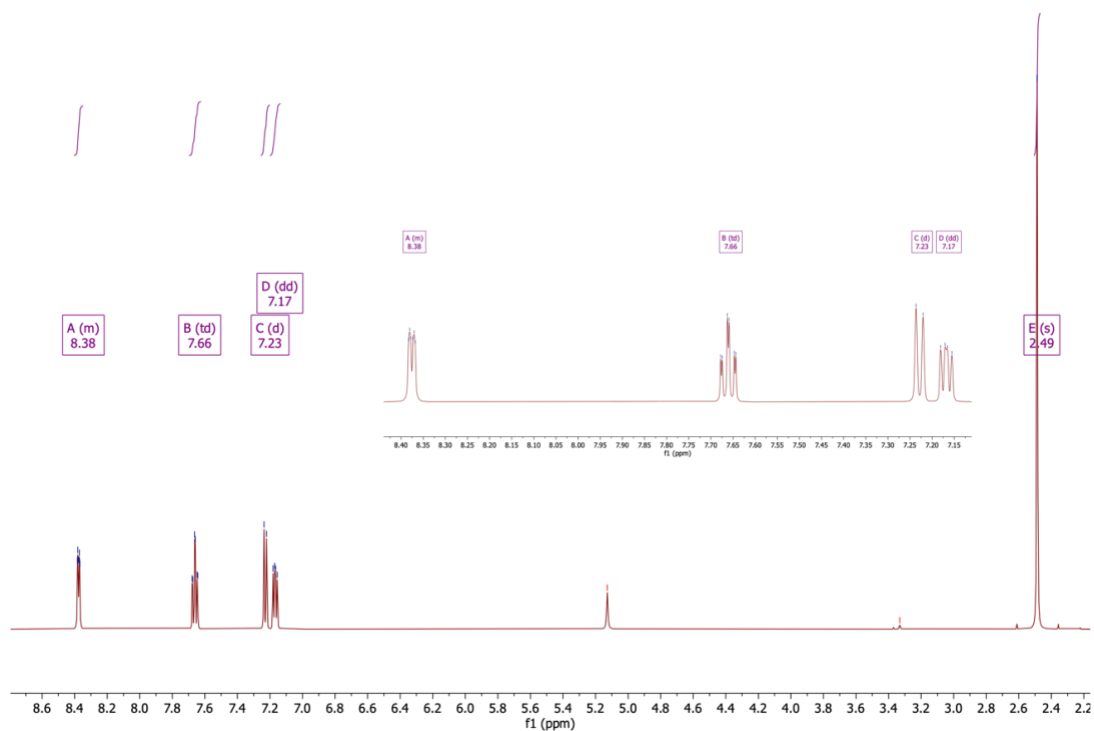


Figura 15 Espectro de protón de la 2-metil piridina

Posteriormente, nos referimos al espectro de resonancia magnética nuclear de ^{13}C para confirmar el número de señales. En este espectro, podemos observar claramente la señal para el grupo metilo en 22.5 ppm, y las cinco señales restantes para los carbonos del anillo aromático en el rango de desplazamientos típicos para tales carbonos. Un zoom en esta sección en el espectro de DEPT, nos muestra que la señal en 157.8 ppm corresponde al carbono cuaternario, debido a la orientación del pico, mientras que el resto de las señales corresponde a los cuatro carbonos restantes del anillo.

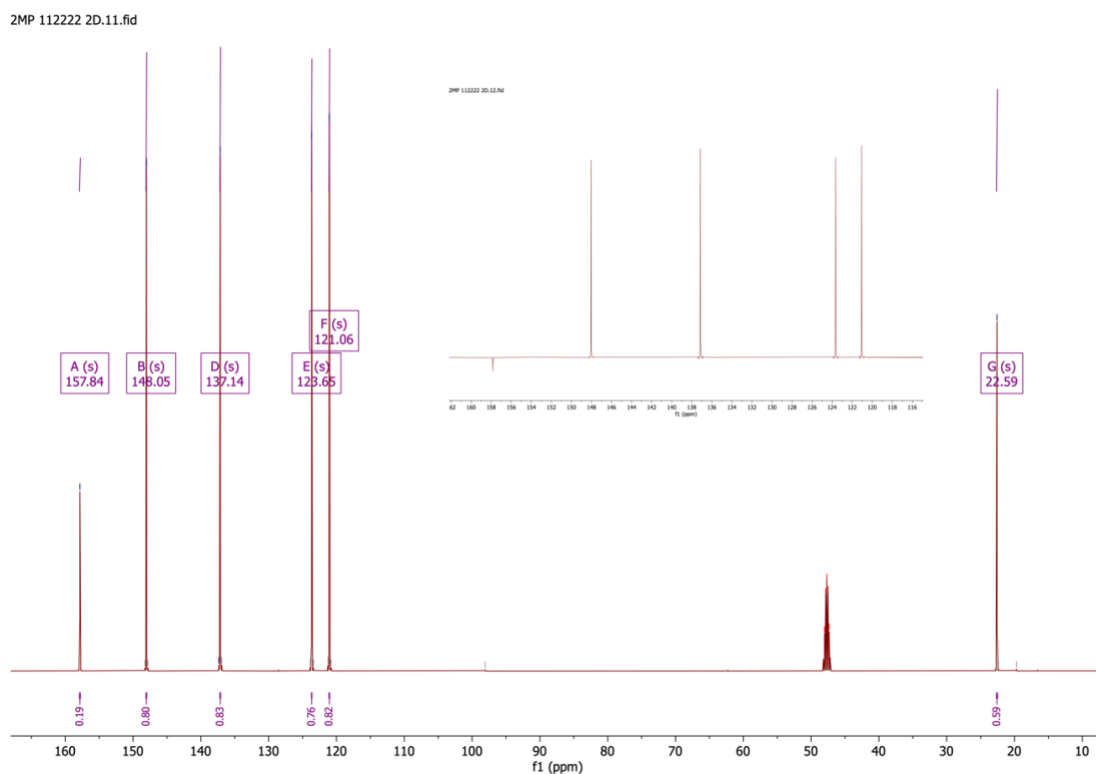


Figura 16 Espectro de carbono con un acercamiento en el espectro de DEPT en la región de carbonos aromáticos de la 2-metil piridina

Continuando con el espectro de HSQC de la 2-metil piridina, podemos asignar las señales de carbono en 148.0 ppm que está enlazado al protón en 8.38 ppm y en 121.0 ppm que está enlazado al protón en 7.23 ppm a los átomos de carbono 1 y 4 en la estructura del compuesto basándonos en la multiplicidad de doblete que presentan ambas señales. Las señales restantes de carbono en 123.6 ppm enlazado al protón en 7.17 ppm y en 137.1 ppm enlazado al protón en 7.66 ppm corresponden a los carbonos restantes 5 y 6.

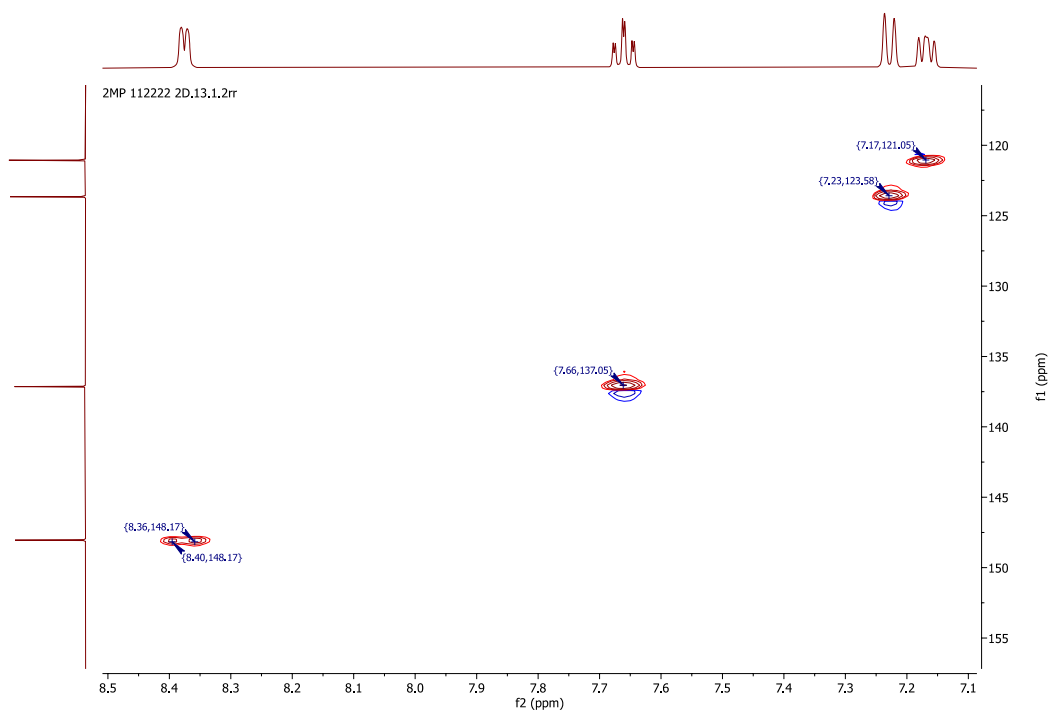


Figura 17 Epectro de HMBC de la 2-metil piridina

El estudio de un espectro de HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*), que relaciona las resonancias de carbono con protones vecinos de dos o tres enlaces, nos fue de gran ayuda para realizar la distinción adecuada entre las señales de carbono restantes. Podemos observar que la señal en el espectro de ^{13}C asignada al carbono dos, el carbono cuaternario, está acoplada a señales de protones en 8.66 ppm, 7.66 ppm y 7.23. Tomando en cuenta que el acoplamiento con el protón en 7.17 ppm enlazado al carbono con señal en 123.6 ppm, fuera el carbono cinco, el acoplamiento sería poco probable debido al número de enlaces. Podemos concluir que esta señal corresponde a este carbono, y por lo tanto asignar el multiplete del espectro de protón en 7.66 ppm enlazado al carbono en 137.1 ppm al carbono seis. Observando el desplazamiento de las señales restantes, asignamos a la señal en el espectro de protón en 8.38 ppm enlazada al carbono en 148.0 ppm perteneciente al carbono cuatro debido al gran desplazamiento químico que sufre debido a la desprotección causada por estar más próximo al átomo de nitrógeno. Esto nos deja asignando al protón con multiplicidad doblete en 7.23 ppm enlazado al carbono con señal en 121.0 ppm al número uno en la estructura del compuesto. Gracias a este análisis por resonancia magnética nuclear

de dos dimensiones, podemos tener un alto grado de confianza en las asignaciones de señales a átomos de carbono e hidrógeno de nuestros ligantes.

Letra	Protón	Número	Carbono
A	8.66 ppm	4	148.0 ppm
C	7.66 ppm	5	137.1 ppm
B	7.23 ppm	6	121.0 ppm
D	7.17 ppm	1	123.6 ppm
Metilo	2.49 ppm	-	22.5 ppm

Tabla 2 Desplazamientos asignados para la 2-metil piridina

Experimentos de ^1H a temperatura variable para los ligantes 2-metil piridina y piridina

El próximo paso fue un análisis de espectros de nuestros ligantes a temperatura variable para observar el tipo de comportamiento que estos tienen a distintas temperaturas. Se llevaron a cabo experimentos de RMN de ^1H en un rango de temperaturas de -15 a 25 °C en incrementos de 5°C.

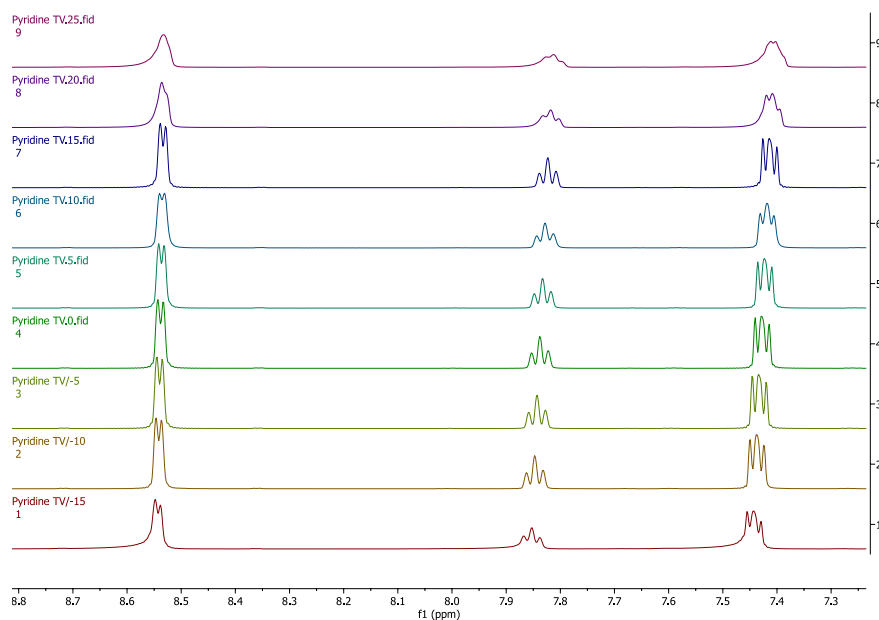


Figura 18 Espectros de protón a temperatura variable de la piridina

Podemos observar que el comportamiento de la piridina a temperatura variable es uno bastante predecible. A temperaturas bajas, los multipletes de las señales de la piridina pueden observarse sin problema. A partir de 15 °C, los multipletes comienzan a combinarse para resultar en una sola señal ancha que no presenta multiplicidad. Esto puede deberse a la rápida tautomería de resonancia que presenta el anillo aromático de la piridina, que es más rápido que la velocidad que puede captar el experimento de resonancia, que resulta en una señal promedio para estos protones. La temperatura de coalescencia para las señales en la piridina es de 293.15 K.

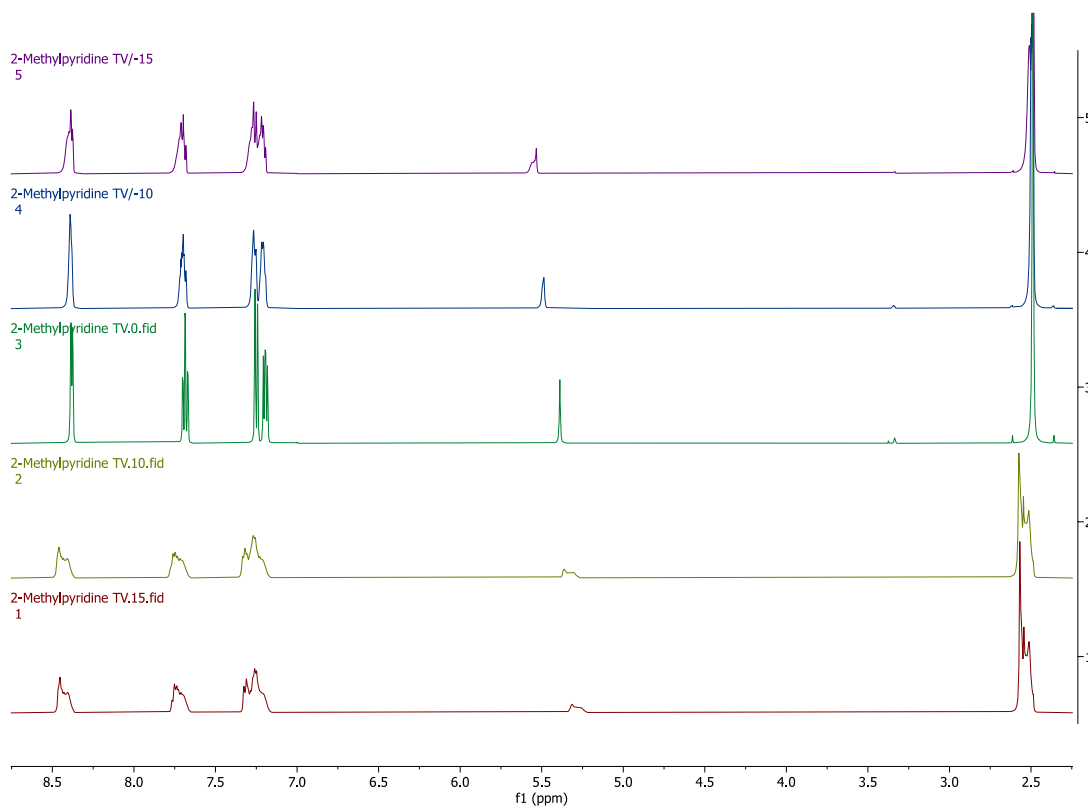


Figura 19 Espectros de protón a temperatura variable del ligante 2-metil piridina

En los experimentos para la 2-metil piridina, que fueron realizados en un rango de temperatura de -15 °C a 15 °C, podemos observar varios comportamientos. El comportamiento predecible, donde a mayor temperatura, las multiplicidades de las señales se van perdiendo al volverse interacciones promedio por el rápido intercambio entre conformémeros. Gracias al grupo metilo extra a comparación de la piridina, hay más procesos dinámicos presentes en la molécula. Podemos observar que la diferencia inicial entre las señales para los hidrógenos H_b y H_d se vuelve indistinguible para el equipo cuando la

temperatura aumenta. Así mismo, cuando la temperatura disminuye, ocurre un cambio marcado en las multiplicidades de las señales. Esto puede deberse a que la diferencia de poblaciones entre las estructuras de resonancia posibles en la 2-metil piridina se hace observable al equipo a temperaturas bajas, con lo que surgen multiplicidades nuevas y señales a desplazamientos químicos ligeramente diferentes, lo que resulta en señales complejas de multiplicidad variable.

Experimentos y análisis de espectros de ^1H de compuestos de coordinación sintetizados

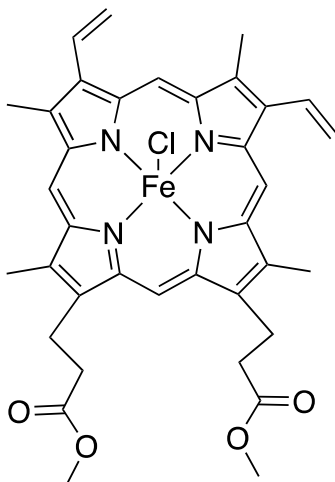


Figura 20 Estructura del éster de la cloroprotoporfirina IX de hierro (III)

Continuamos con el análisis de la porfirina que utilizamos como materia prima para sintetizar, el éster de la cloroprotoporfirina IX de hierro (III), la cual fue sintetizada anteriormente por miembros de nuestro grupo de investigación con una metodología previamente reportada.

Se obtuvo el espectro de RMN ^1H para la identificación de señales importantes en el espectro paramagnético.

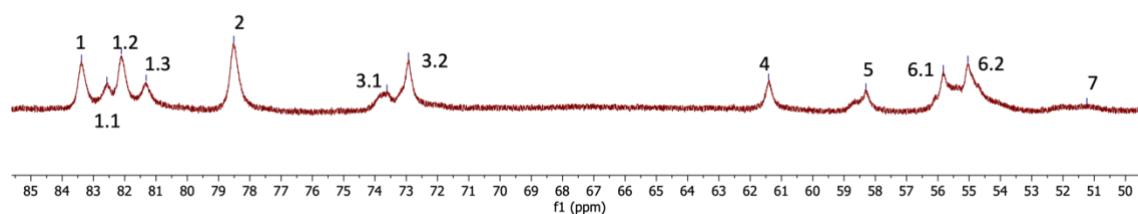


Figura 21 Espectro de protón del éster de la cloroprotoporfirina IX de hierro (III)

En este espectro observamos un aumento en la región donde se encuentran las señales paramagnéticas, en la región de 74 a 48 ppm. Las señales para estos protones son las que se encuentran más desplazadas debido a las interacciones antes mencionadas con el centro metálico y el efecto de su electrón desapareado. De acuerdo con asignaciones anteriores realizadas por nuestro grupo de investigación²³, podemos concluir que las señales en 72.85 ppm y 72.26 ppm pertenecen a los protones de los sustituyentes metilo enlazados a los anillos de pirrol, los cuales son llamados hemo-CH₃. Las señales en 49.52 y en 48.72 han sido previamente asignadas a los llamados alfa-CH₂ pertenecientes a la cadena del éster en la porfirina. El resto de las señales aún no han sido asignadas con certeza, pero se cree que la señal en 56.45 ppm corresponde a las señales de los protones meso de la porfirina.

Posteriormente, se realizó la síntesis de los compuestos de coordinación que nos interesa estudiar, reemplazando el ligante cloro de la porfirina, por los ligantes previamente estudiados, la piridina y la 2-metil piridina.

La síntesis fue realizada según la metodología desarrollada por la Dra. Alejandra Romero, parte de nuestro grupo de investigación, siendo la misma descrita en la sección de metodología. Los espectros realizados para el primer compuesto, teniendo como ligantes axiales a la 2-metil piridina en temperaturas que fueron de -24 °C a 30 °C.

El compuesto de coordinación con piridina como ligante axial también fue sintetizado. En la figura 22, puede apreciarse las señales características para este compuesto de coordinación.

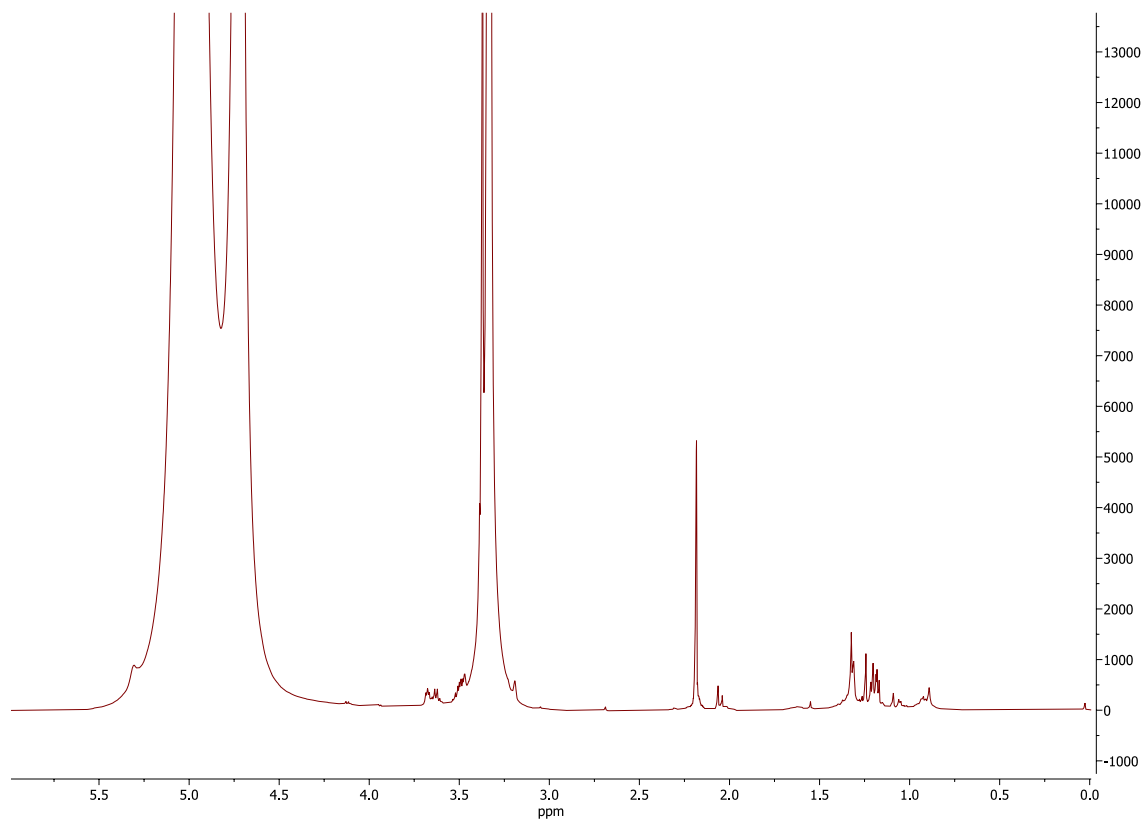


Figura 22 Espectro de RMN del compuesto de coordinación con piridina como ligante axial

El grupo de Hill *et al* realizó la síntesis de este compuesto de coordinación con la piridina como ligante axial de la protoporfirina IX de hierro (III)⁴⁵ en donde las señales pertenecientes a la piridina son asignadas en desplazamientos químicos cercanos a cero y no se empatan con los obtenidos para el ligante 2-MP, ni se observa la presencia de ninguna señal ancha en el espectro con piridina como ligante axial, como se puede apreciar en la figura 23 en la comparación de ambos espectros en la región diamagnética.

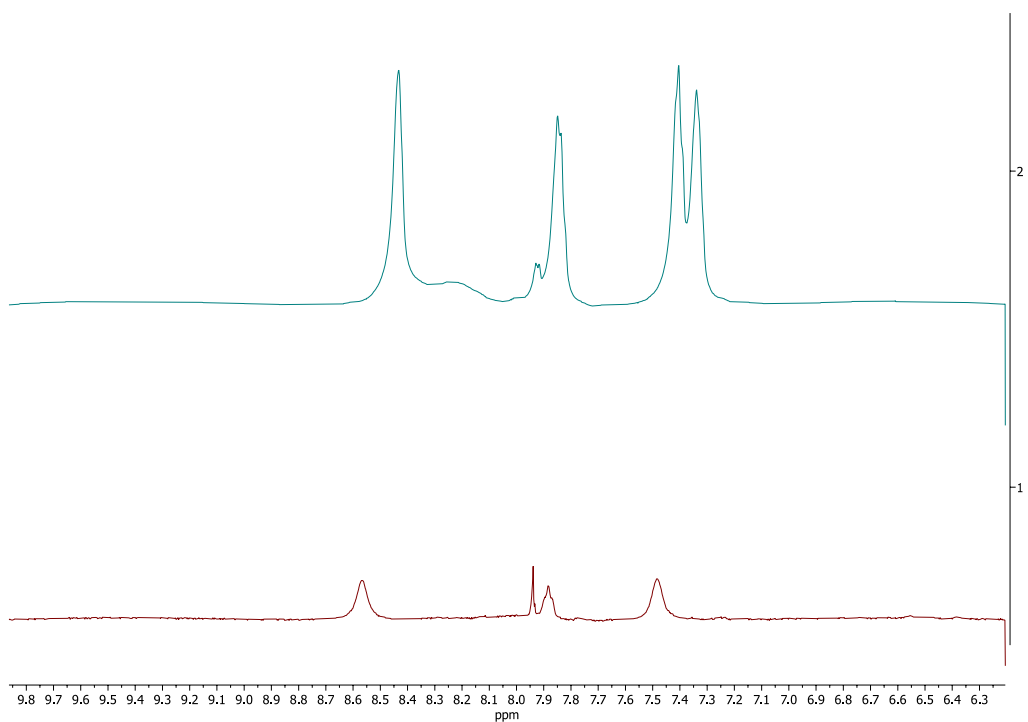


Figura 23 Comparación de espectros en la región diamagnética de los compuestos de coordinación obtenidos con 2-metil piridina (azul) y piridina (rojo) como ligantes axiales.

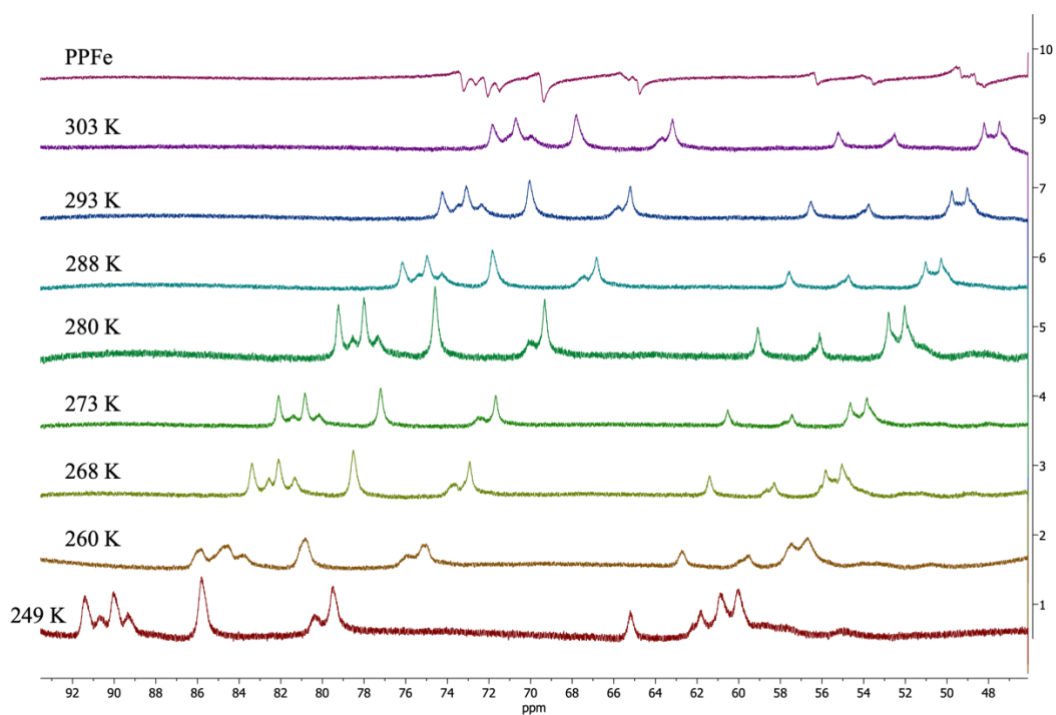


Figura 24 Espectros a temperatura variable del compuesto de coordinación éster de la 2-metil piridina protoporfirina de hierro (III) hexacoordinada

En esta comparación de espectros, están los espectros pertenecientes al compuesto de coordinación sintetizado con temperaturas desde $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$. También se muestran los de la cloroprotoporfirina IX de hierro (III) con el fin de comparar el valor de desplazamientos químicos. Podemos observar que las señales se mantienen intactas, pero los valores del desplazamiento químico aumentan conforme disminuye la temperatura. A comparación del espectro perteneciente a la porfirina coordinada con cloro, el espectro de resonancia coordinado a dos moléculas de 2-metil piridina tiene desplazamientos químicos mayores para las señales características de la porfirina, lo que nos indica una coordinación exitosa, y nos habla de un cambio en el estado de espín de alto ($S = 5/2$) a un estado de espín cuántico mixto ($S = 5/2, 3/2$). Los ligantes axiales influyen fuertemente en el estado de espín y configuración espacial de una porfirina.

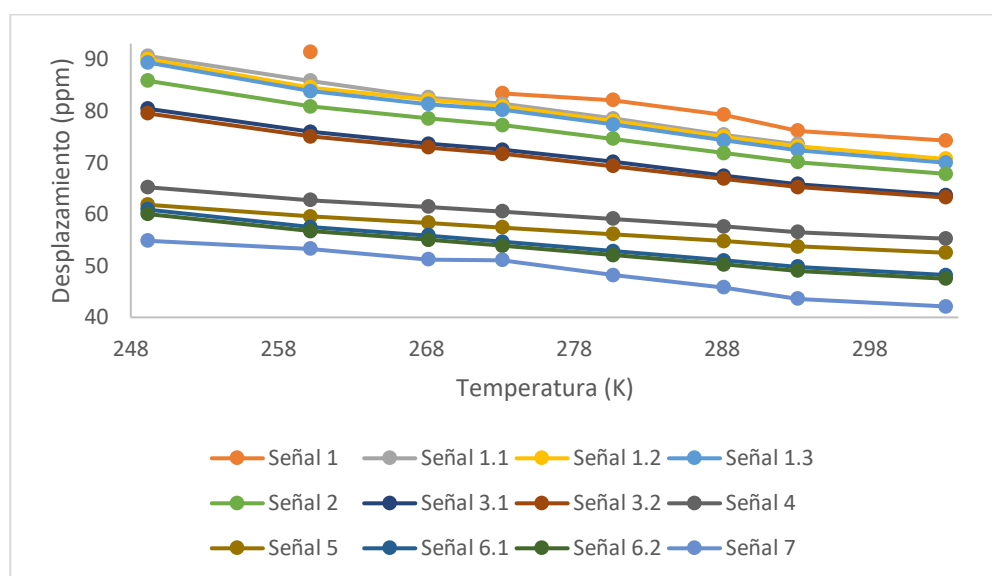


Figura 25 Relación entre la temperatura y el desplazamiento químico en la región paramagnética de los espectros a T.V.

El aumento en desplazamiento de estas señales se debe a que, a bajas temperaturas, la configuración de espín intermedio es favorecida, lo cual es una tendencia observada para los compuestos de coordinación de porfirinas con un estado de espín intermedio debido a la población del orbital d_{xy} en la porfirina⁴⁶.

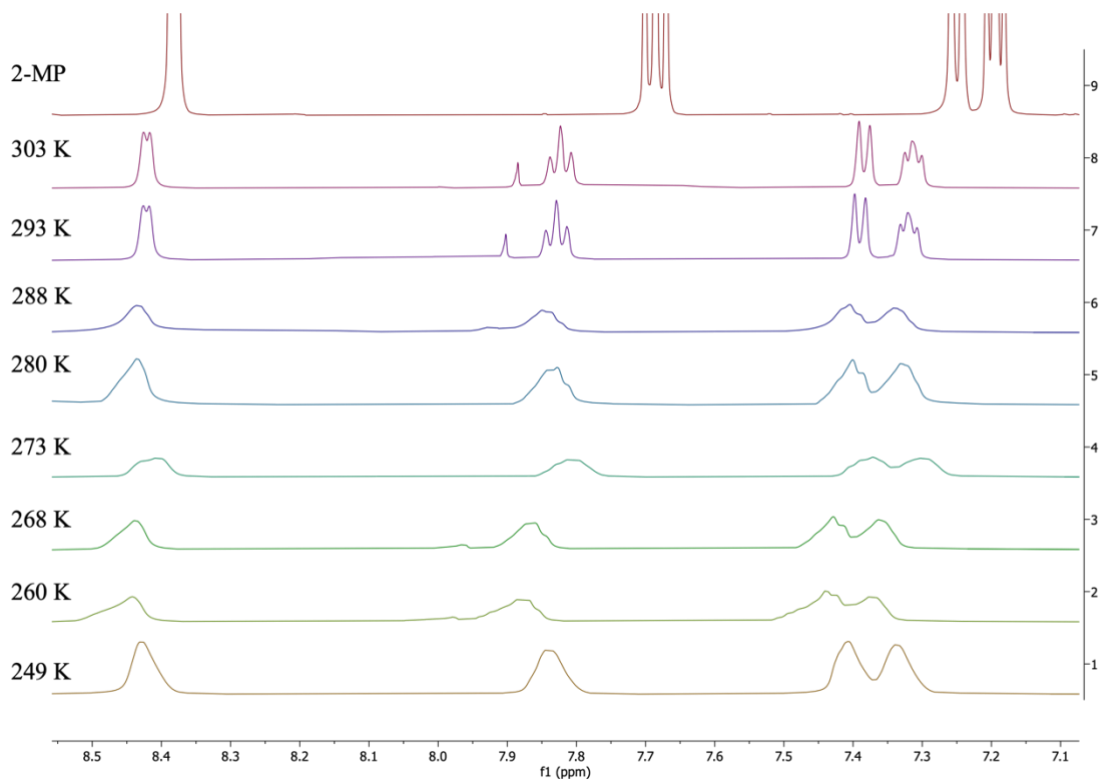


Figura 26 Espectro a T.V. Del compuesto de coordinación en la región diamagnética

En la región diamagnética donde se encuentran las señales de la piridina, podemos observar una coordinación exitosa debido al desplazamiento de las señales de los hidrógenos aromáticos a desplazamientos mayores en comparación a los valores de desplazamientos de la 2-metil piridina aislada, así como no se observa cambios significativos en los desplazamientos de estas señales conforme aumenta o disminuye la temperatura.

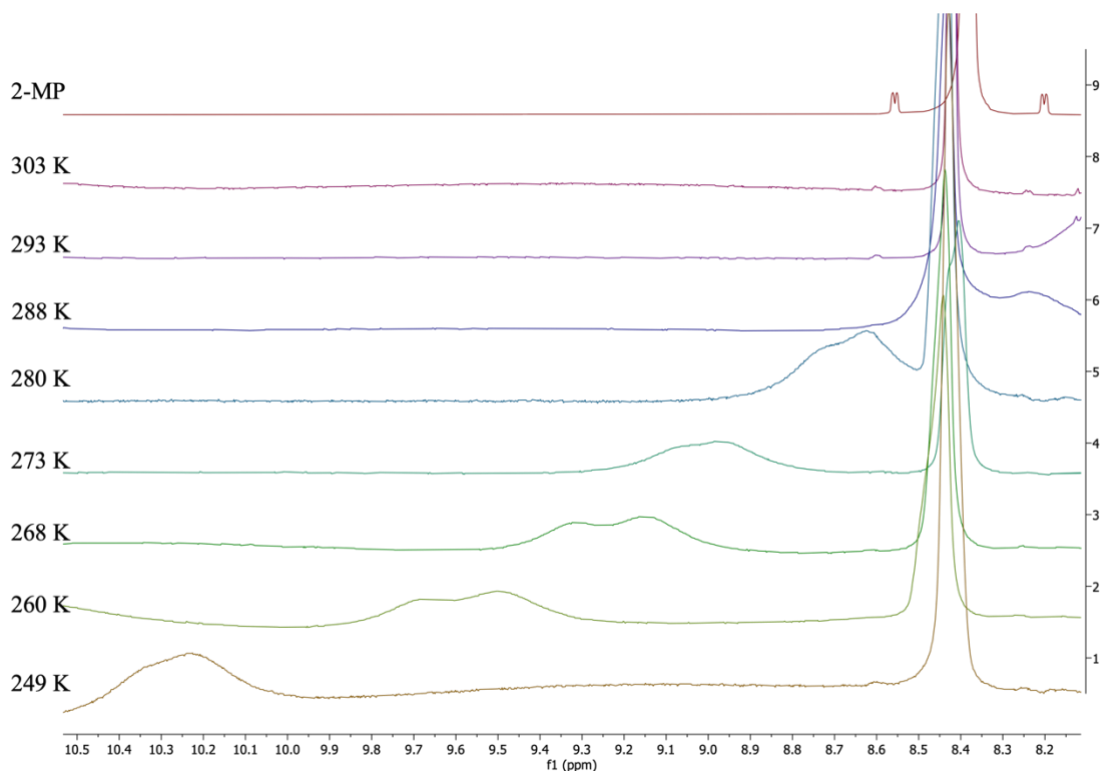


Figura 27 Comparación de espectros a T.V. Donde se aprecia el movimiento de una señal ancha.

También podemos observar la aparición de una señal muy ancha, la cual aparece a desplazamientos menores cuando la temperatura aumenta hasta que aparentemente coalesce con otras señales pertenecientes a los hidrógenos aromáticos del ligante 2-metil piridina. Otra manera en que los ligantes axiales afectan la estructura de una porfirina, es en su estructura espacial.

La estructura del compuesto de coordinación de la protoporfirina IX de hierro (III) es más estable cuando sus ligantes 2-metil piridina están perpendiculares entre sí. En esta posición, existen ocho posibles conformeros que pueden existir relativos a su posición con respecto a los sustituyentes en la periferia del macrociclo (Figura 28). En cuatro de estos conformeros (estructuras A-D), los hidrógenos de los grupos metilos de los ligantes axiales están en proximidad con la cadena del grupo éster. En dos conformeros están lejos de la cadena (figuras E y G) y los últimos (figuras F y I) están muy cerca de la cadena. Los hidrógenos de estos últimos dos conformeros tendrían un ambiente químico distinto al de los demás, por lo que existe una pequeña señal a un mayor desplazamiento que se puede observar a

temperaturas suficientemente bajas. Conforme la temperatura aumenta, esa señal se mueve a desplazamientos químicos más bajos, donde podemos ver que a partir de 293 K, la señal ya no es observable en el espectro.

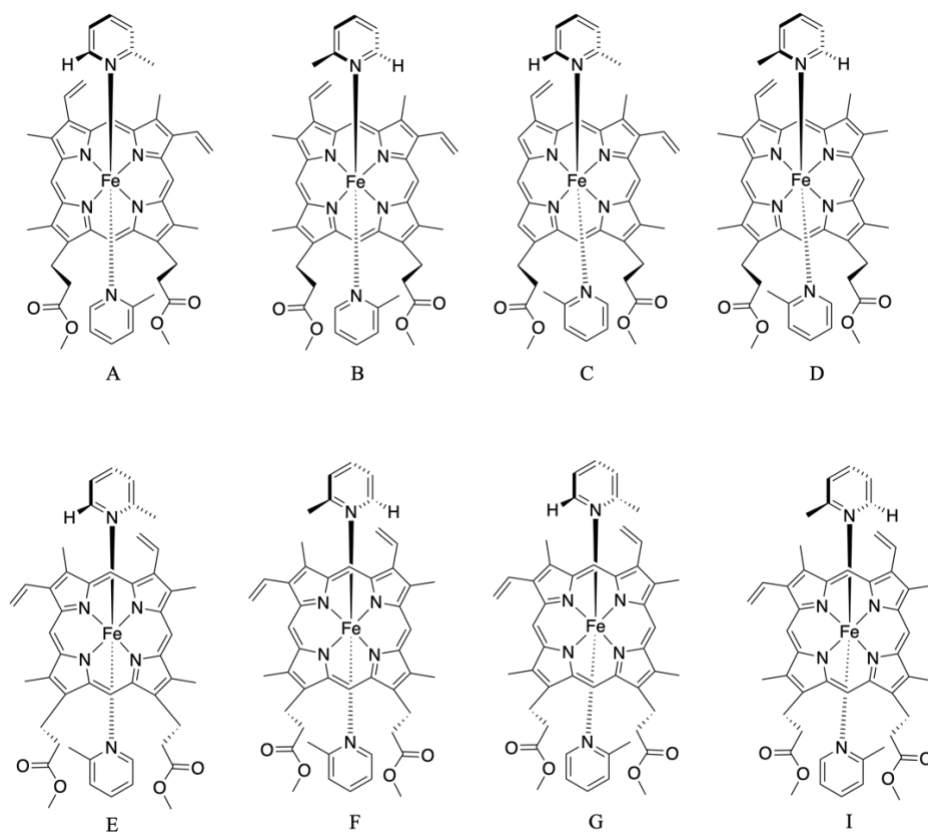


Figura 28 Estructuras de menor energía posibles para la bis-2-metilpiridina protoporfirina de hierro (III)

Conforme se desplaza esta señal en el espectro, concluimos que esta señal se combina con otras señales muy anchas en la región de que no pueden ser caracterizadas debido al carácter paramagnético del compuesto. Desafortunadamente no pudimos caracterizar este proceso de coalescencia mediante el cálculo de una constante de intercambio, ya que no puede ser correctamente apreciado en qué señal en particular y en qué desplazamiento químico coalesce esta señal ancha.

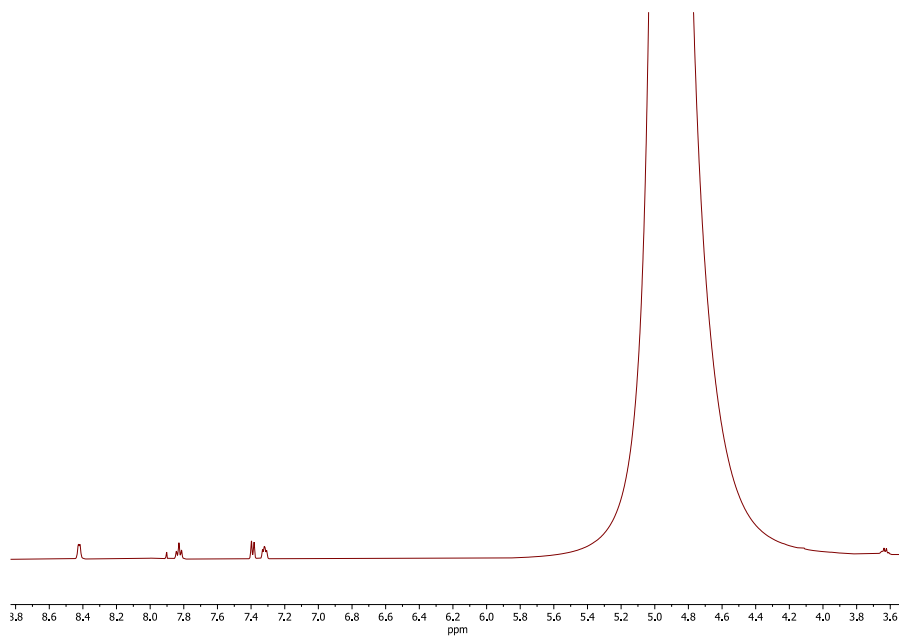


Figura 29 Espectro de RMN del compuesto sintetizado de 2-MP como ligantes axiales

Debido a interacciones estéricas con el ligante, el plano de la porfirina llega a distorsionarse, como se ha mencionado anteriormente. Con el objetivo de estudiar cómo afecta nuestro ligante a la estructura de la porfirina y sustentar la conformación más estable para la porfirina, hicimos cálculos basados en DFT que nos ayuden a explicar fenómenos observables en la RMN de ^1H .

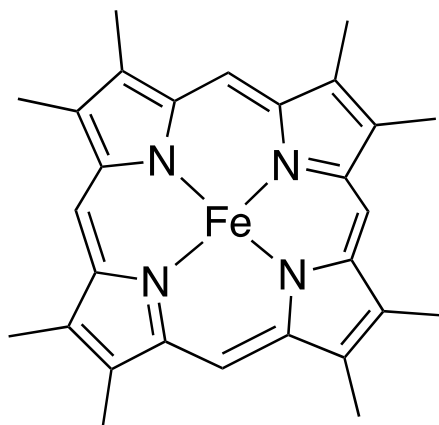


Figura 30 Estructura de la octometil porfirina

Con el fin de simplificar la estructura de la protoporfirina IX y así ser más eficaces con el tiempo de cálculo, utilizamos la estructura de la octometil porfirina de hierro (III) como base para nuestros compuestos de coordinación. Sabemos que los efectos de los ligantes axiales sobre la distorsión de nuestra porfirina no es afectada en gran manera por los sustituyentes del macrociclo, por lo que, para nuestro objetivo de estudio, esta simplificación está suficientemente justificada.

Comenzamos haciendo cálculos de optimización sobre las geometrías de los compuestos con sus correspondientes multiplicidades, con la octometilporfirina de hierro (III) coordinada con bis piridina y bis 2-metil piridina como ligantes axiales, utilizando el funcional híbrido B3LYP con la base def2svp, utilizando al metanol como disolvente implícito sobre las propiedades moleculares, incluyendo la corrección de la dispersión empírica mediante el método de Grimme de D3, el cual toma en cuenta las interacciones de Van der Waals que son esenciales para representar las interacciones estéricas entre el plano de la porfirina y los sustituyentes metilo de los ligantes axiales durante el cálculo. Las estructuras de menor energía fueron las pertenecientes a las multiplicades sextuplete y cuatruplete, de estas siendo la última la más estable. La multiplicidad de doblete fue la menos estable, esto debido a que nuestro compuesto presenta una distorsión tipo *saddle*, la cual no es estable con esta multiplicidad⁶.

Multiplicidad	Energía (kcal)	Diferencia
Doblete	-1919784.7	0.0
Cuatruplete	-1919776.5	8.2
Sextuplete	-1919762.6	22.1

Tabla 3 Energías para los compuestos con piridina

Multiplicidad	Energía (kcal/mol)	Diferencia
Doblete	-1970631.0	48.6
Cuatruplete	-1970679.6	0.0
Sextuplete	-1970666.3	13.2

Tabla 4 Energías para los compuestos con 2-metil piridina

Observando las tablas 4 y 5, podemos concluir que las multiplicidades más estables son las de doblete para los compuestos con piridina y cuatruplete para los compuestos con 2-metil piridina. El cálculo de multiplicidad doblete para el compuesto con ligantes axiales de 2-metil piridina tienen un tiempo de cálculo especialmente grande, por lo que después de un tiempo de cálculo de una semana, se tomó la última energía calculada.

Consideramos el libre giro sobre su propio eje desde el enlace coordinado covalente nitrógeno-hierro que tienen los ligantes de 2-metil piridina el enlace covalente, esto hace que el grupo metilo de los ligantes interaccione con el plano de la porfirina, provocando distorsiones fuera del plano, lejos de la estructura ideal plana del macrociclo de la porfirina. Para observar cómo cambia con estas distorsiones la estructura de nuestra porfirina conforme se da este libre giro de los ligantes, se calcularon las geometrías optimizadas de cambios de 15° del ángulo dihedral entre un átomo de nitrógeno del anillo de la porfirina con el átomo de carbono meta de uno de los ligantes de la 2-metil piridina. Utilizamos el funcional GGA de PBE para obtener un tiempo de cálculo eficiente, de nuevo considerando todas las multiplicidades posibles para el hierro (III) con el fin de considerar algún cambio de espín al cambiar la distorsión fuera del plano del macrociclo. Posteriormente se calcularon las mismas energías utilizando el funcional híbrido de B3LYP para obtener energías más precisas.

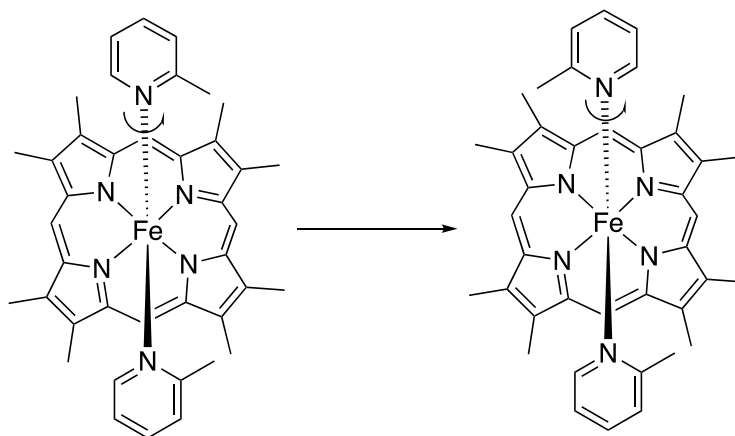


Figura 31 Rotación libre del ligante 2-metil piridina

Esta misma rotación del enlace coordinado covalente también está presente en los compuestos con la piridina como ligantes axiales. Se lanzaron cálculos con el funcional de GGA de PBE para observar si había alguna barrera energética similar a la encontrada en los compuestos con la 2-metil piridina como ligantes axiales.

De nuevo, en todas las geometrías optimizadas obtenidas con el cambio del ángulo dihedral, se observó una distorsión tipo *saddle* en el anillo de la porfirina para los compuestos de 2-metil piridina. Esto era de esperarse, ya que distorsiones tipo *saddle* para una porfirina de hierro (III) ocurren cuando se tienen ligantes axiales que contienen grupos que tienen interacciones estéricas con un sustituyente del ligante. Para los compuestos con piridina, no se encontraron barreras energéticas significativas ni de valor energético relativo tan alto como los obtenidos para los compuestos con 2-metil piridina. Esto es de esperarse, debido a que no existe ninguna interacción estérica de sustituyentes de la piridina con el plano de la porfirina.

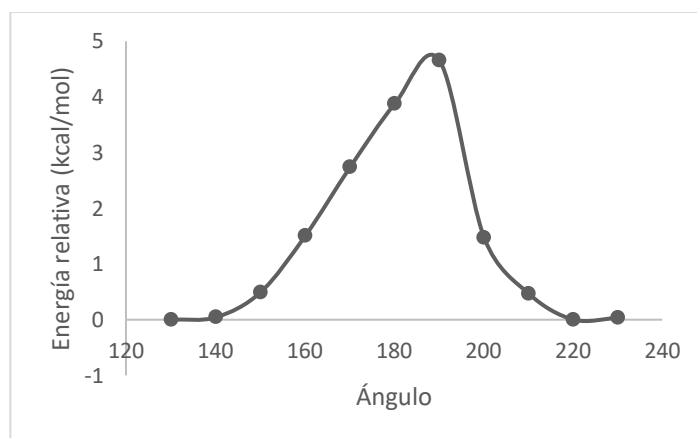


Figura 32 Rotación dihedral de la bis 2-metil piridina octometilporfirina de hierro (III) de multiplicidad cuarteto

Dentro de las geometrías optimizadas obtenidas, encontramos los ángulos que tuvieran la mayor barrera energética para encontrar el estado de transición que hay entre las posibles conformaciones mayoritarias de nuestro compuesto de coordinación. Consecuentemente, se realizaron cálculos de optimización del estado de transición e IRC (*Intrinsic Reaction Coordinate*) para asegurarnos que este sea el estado de transición. Durante este cálculo, se hace una optimización de la geometría del compuesto, para después moverse hacia delante y hacia atrás en el gráfico de energía potencial, asegurando que este es el punto de mayor energía, utilizando el mismo funcional y base que se utilizó para la optimización de geometrías. Se calcularon las frecuencias y se tomó la energía para este estado de transición. Sabiendo que el estado de espín intermedio ($S = 3/2$) también llamado de multiplicidad cuarteto, es el más importante del sistema, se calculó la energía libre de Gibbs de la geometría en el estado de transición y las energías relacionadas con puntos hacia adelante y hacia atrás en el gráfico de la energía potencial. Se utilizó al funcional GGA de PBE como primera prueba y posteriormente, se repitieron estos cálculos utilizando el funcional de B3LYP para obtener energías más precisas.

	PBE (kcal/mol)	B3LYP (kcal/mol)
Edo de transición	4.98	5.52
Post. Al ET	0.00	0.00
Ant. Al ET	-0.12	-0.02

Tabla 5 Cuadro comparativo de energías de los funcionales PBE y B3LYP

Al obtener los resultados del cálculo de IRC, podemos concluir que en puntos posteriores y anteriores a la geometría denominada como el estado de transición no son de mayor energía, por lo que tenemos una certeza razonable que esta geometría puede representar el estado de transición entre cambios conformacionales de nuestro compuesto de coordinación con la bis 2-metil piridina como ligantes axiales. Así mismo, se puede observar la consistencia entre los funcionales utilizados

Conociendo la existencia de este estado de transición existente en el compuesto de coordinación, revisamos el movimiento de las señales en los espectros de resonancia magnética nuclear, para identificar si este proceso dinámico es observable a bajas

temperaturas en nuestro espectro. En este punto, la señal ancha que aparece en aproximadamente 10.25 ppm y se mueve a desplazamientos menores conforme aumenta la temperatura, no se encuentra en el espectro perteneciente a ligante 2-metil piridina aislado ni en el espectro aislado del compuesto de la porfirina sin la 2-metil piridina. También se observa la presencia de dos señales, las cuales pueden explicarse por la diferenciación de especies con metilos en diferentes ambientes químicos.

Para confirmar que los procesos dinámicos visibles en la molécula y los cambios de desplazamientos apreciados no se deben a un cambio en la población de espín si no que es debido al incremento antes mencionado del estado de espín intermedio, se realizaron cálculos de *Natural Bond Orbital* (NBO) con las coordenadas de la geometría previamente optimizada de la octometilporfirina en multiplicidades sextuplete y cuarteto y con las coordenadas del estado de transición encontrado para ambas multiplicidades. Este un proceso donde los orbitales que están asociados casi completamente con un solo átomo son localizados en orbitales atómicos naturales (*Natural Atomic Orbital, NAO*). Este análisis nos permite entender un poco más a detalle la naturaleza de enlaces individuales en la molécula expresando a los orbitales moleculares en términos lo más cercanos posibles a una estructura clásica de Lewis para una molécula.

Orbital	Espín	Espín en edo. De transición
d_{xy}	0.014	0.033
d_{xz}	0.910	0.908
d_{yz}	0.902	0.913
$d_{x^2-y^2}$	0.185	0.159
d_z^2	0.806	0.804

Tabla 6 Valores de espín para los orbitales de valencia para la multiplicidad $S = 3/2$

En la tabla 7, podemos observar que los valores de espín para los orbitales de valencia del hierro (III) son los esperados para la geometría optimizada del compuesto de porfirina con multiplicidad $S = 3/2$, donde se esperaría un valor cercano a uno, para todos los orbitales donde se encuentra un electrón desapareado, en este caso los orbitales d_{xz} , d_{yz} y d_z^2 . En el

orbital $d_{x^2-y^2}$ hay una pequeña presencia de espín debido a la ocupación de los orbitales d del hierro por la donación de pares libres del nitrógeno.

Orbital	Espín	Espín en edo. De transición
d_{xy}	0.783	0.942
d_{xz}	0.887	0.889
d_{yz}	0.891	0.883
$d_{x^2-y^2}$	0.883	0.688
d_z^2	0.789	0.796

Tabla 7 Valores de espín para los orbitales de valencia para la multiplicidad $S = 5/2$

Mientras tanto, los valores de espín para la multiplicidad $S = 5/2$ también son los esperados, encontrando valores cercanos a uno para todos los orbitales d de valencia. Los valores obtenidos para la geometría optimizada en el estado de transición son altamente similares en ambas multiplicidades y la variación de espín en los orbitales cercanos al hierro (III) no es significativa, por lo que podemos concluir que el cambio de espín tiene un efecto muy pequeño en el desplazamiento en partes por millón en los espectros de resonancia magnética nuclear en comparación con el efecto del aumento del estado de espín intermedio $S = 3/2$.

Gracias a estos cálculos, también podemos observar en un renderizado del orbital donde se encuentra el par electrónico del nitrógeno que no está completamente alienado hacia el átomo de hierro (III), lo que es la más probable causa de que no haya un aumento considerable en el desplazamiento de las señales de hidrógenos aromáticos de los ligantes axiales 2-metil piridina.

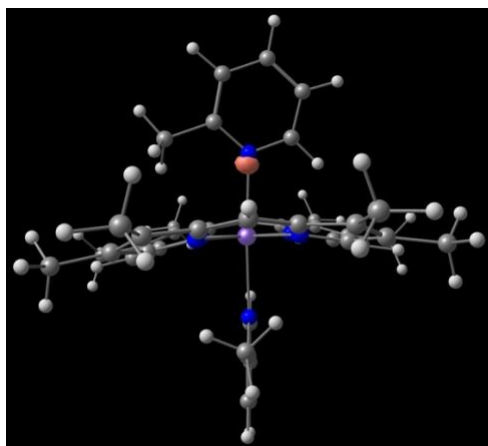


Figura 33 Representación tridimensional del orbital de los electrones desapareados del átomo de nitrógeno

Despreciando este efecto en las señales observadas en los espectros de RMN y tomando en cuenta el tipo de movimiento de la señal en aproximadamente 10.25 ppm es inverso al observado para las señales correspondientes al macrociclo de la porfirina, concluimos que este proceso dinámico es independiente al incremento del estado de $S = 3/2$ de estas conforme disminuye la temperatura. Esto tiene su explicación en el cambio relativamente pequeño de las densidades de espín de los orbitales d con componente en z , d_{xz} , d_{yz} y d_z^2 con representación gráfica en la figura 31.

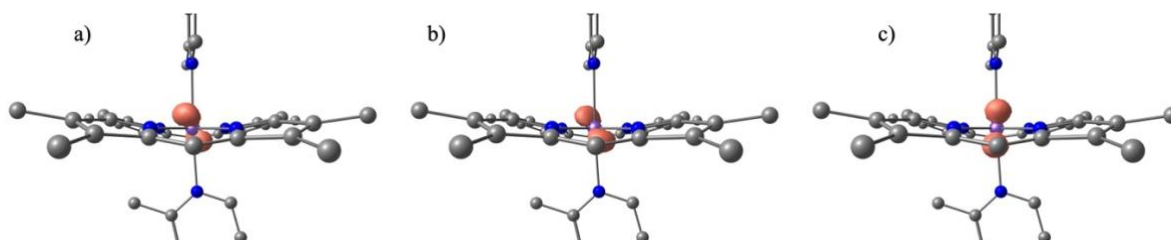


Figura 34 Orbitales Naturales Atómicos d con componente el z de hierro (III) a) d_{xz} , b) d_{yz} y c) d_z^2

Conclusiones

- Los ligantes 2-metil piridina y piridina fueron caracterizados a partir de experimentos de resonancia magnética nuclear de ^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC y COSY.
- Se analizó el comportamiento de estos ligantes en resonancia magnética nuclear a temperatura variable en un intervalo de temperatura de -15 a 15 °C.
- Las señales características para el éster de la cloroproporfirina IX de hierro (III) fueron asignadas.
- Compuestos de coordinación con estos ligantes fueron sintetizados a partir de la cloroproporfirina IX de hierro (III) mediante la metodología establecida por la Dra. Alejandra Romero.
- Fueron obtenidos espectros de resonancia magnética nuclear del compuesto de coordinación obtenido en intervalos de temperatura de -24 °C a 30 °C y se asignaron las señales relevantes.
- Mediante cálculos teóricos, se estableció la existencia de un principal proceso dinámico en la estructura del compuesto de coordinación y se relacionó con la distorsión en el macrocilo de la profirina y con la señal ancha, probablemente perteneciente al metilo de los ligantes axiales observable en los espectros de RMN a bajas temperaturas.
- Se caracterizó al compuesto de coordinación como estado de espín mixto $S = 5/2-3/2$, apreciándose en los espectros de RMN un aumento en el estado de $S = 3/2$ a temperaturas bajas, descartando un efecto de cambio de espín en el compuesto mediante cálculos computacionales.

Bibliografía y referencias

- (1) Lash, T. D. Origin of Aromatic Character in Porphyrinoid Systems. *J Porphyr Phthalocyanines* **2011**, *15* (11–12), 1093–1115. <https://doi.org/10.1142/S1088424611004063>.
- (2) Milgrom, L. *The Colours of Life An Introduction to the Chemistry of Porphyrins and Related Compounds*, 1st ed.; Oxford University Press: Uxbridge, 1997. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/ed075p420.1>.
- (3) Tahoun, M.; Gee, C. T.; McCoy, V. E.; Sander, P. M.; Müller, C. E. Chemistry of Porphyrins in Fossil Plants and Animals. *RSC Advances*. Royal Society of Chemistry February 17, 2021, pp 7552–7563. <https://doi.org/10.1039/d0ra10688g>.
- (4) Moss, G. P. Nomenclature of Tetrapyrroles: Recommendations 1986. *Eur J Biochem* **1988**, *178* (2), 277–328. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1988.tb14453.x>.
- (5) Walter, J. Hemoglobin-An Inspiration for Research In Coordination Chemistry. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl* **1972**, *17* (6), 407–423. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/anie.197804071>.
- (6) Walker, F. A.; Simonis, U. Iron Porphyrin Chemistry. In *Encyclopedia of Inorganic Chemistry*; John Wiley & Sons, Ltd, 2006. <https://doi.org/10.1002/0470862106.ia111>.
- (7) Nakamura, M. Electronic Structures of Highly Deformed Iron(III) Porphyrin Complexes. *Coordination Chemistry Reviews*. September 2006, pp 2271–2294. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.03.001>.
- (8) Patra, R.; Chaudhary, A.; Ghosh, S. K.; Rath, S. P. Axial Ligand Orientations in a Distorted Porphyrin Macrocyclic: Synthesis, Structure, and Properties of Low-Spin Bis(Imidazole)Iron(III) and Iron(II) Porphyrinates. *Inorg Chem* **2010**, *49* (5), 2057–2067. <https://doi.org/10.1021/ic9016504>.
- (9) Chermette, H. Density Functional Theory. *Coord Chem Rev* **1998**, *178–180*, 699–721. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(98\)00179-9](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(98)00179-9).
- (10) de Visser, S.; Stillman, M. Challenging Density Functional Theory Calculations with Hemes and Porphyrins. *Int J Mol Sci* **2016**, *17* (4), 519. <https://doi.org/10.3390/ijms17040519>.
- (11) Vicente, M.; Smith, K. Syntheses and Functionalizations of Porphyrin Macrocycles. *Curr Org Synth* **2014**, *11* (1), 3–28. <https://doi.org/10.2174/15701794113106660083>.
- (12) Tsukihara, T.; Aoyama, H.; Yamashita, E.; Tomizaki, T.; Yamaguchi, H.; Shinzawa-Itoh, K.; Nakashima, R.; Yaono, R.; Yoshikawa, S. Structures of Metal Sites of Oxidized Bovine Heart Cytochrome c Oxidase at 2.8 Å. *Science (1979)* **1995**, *269* (5227), 1069–1074. <https://doi.org/10.1126/science.7652554>.
- (13) Groves, J. T.; Haushalter, R. C.; Nakamura, M.; Nemo, T. E.; Evans, B. J. High-Valent Iron-Porphyrin Complexes Related to Peroxidase and Cytochrome P-450. *J Am Chem Soc* **1981**, *103* (10), 2884–2886. <https://doi.org/10.1021/ja00400a075>.
- (14) La Mar, G. N.; de Ropp, J. S.; Smith, K. M.; Langry, K. C. Proton Nuclear Magnetic Resonance Study of the Electronic and Molecular Structure of the Heme Crevice in Horseradish Peroxidase. *Journal of Biological Chemistry* **1980**, *255* (14), 6646–6652. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)43618-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)43618-6).

- (15) Maltempo, M. M.; Moss, T. H. The Spin 3/2 State and Quantum Spin Mixtures in Haem Proteins. *Q Rev Biophys* **1976**, *9* (2), 181–215. <https://doi.org/10.1017/S0033583500002407>.
- (16) Ikeue, T.; Ohgo, Y.; Yamaguchi, T.; Takahashi, M.; Takeda, M.; Nakamura, M. Saddle-Shaped Six-Coordinate Iron(III) Porphyrin Complexes Showing a Novel Spin Crossover between S=1/2 and S=3/2 Spin States. *Angew. Chem. Int. Ed* **2001**, *40* (14), 1521–1527. [https://doi.org/https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20010716\)40:14%3C2617::AID-ANIE2617%3E3.0.CO;2-B](https://doi.org/https://doi.org/10.1002/1521-3773(20010716)40:14%3C2617::AID-ANIE2617%3E3.0.CO;2-B).
- (17) Moss, T. H. The Spin 3/2 State and Quantum Spin Mixtures in Haem Proteins. *Q Rev Biophys* **1976**, *9* (2), 181–215. <https://doi.org/10.1017/S0033583500002407>.
- (18) Goff, H.; Shimomura, E. Solution Characterization of “Intermediate-Spin” Iron(III) Porphyrins by NMR Spectroscopy. *J Am Chem Soc* **1980**, *102* (1), 31–37. <https://doi.org/10.1021/ja00521a007>.
- (19) Budd, D. L.; La Mar, G. N.; Langry, K. C.; Smith, K. M.; Nayyir-Mazhir, R. Proton NMR Study of High-Spin Ferric Natural Porphyrin Derivatives as Models of Methemoproteins. *J Am Chem Soc* **1979**, *101* (20), 6091–6096. <https://doi.org/10.1021/ja00514a036>.
- (20) Huggins, M. T.; Kesharwani, T.; Buttrick, J.; Nicholson, C. Variable Temperature NMR Experiment Studying Restricted Bond Rotation. *J Chem Educ* **2020**, *97* (5), 1425–1429. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.0c00057>.
- (21) Vazquez-Lima, H.; Arroyo Abad, U.; Pérez Benítez, A.; Ramírez Rosales, D.; Zamorano Ulloa, R.; Reyes Ortega, Y.; Hernández Anzaldo, S. Synthesis, Kinetic Study, and Spectroscopic Analysis of Peroxidase-like Pinch-Porphyrin Fe(III) Complexes. *ACS Omega* **2019**, *4* (27), 22521–22529. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03186>.
- (22) Sánchez-Sandoval, A.; Ramírez-Rosales, D.; Zamorano-Ulloa, R.; Álvarez-Toledano, C.; Moya-Cabrera, M.; Reyes-Ortega, Y. New Pinch-Porphyrin Complexes with Quantum Mixed Spin Ground State S= 3/2, 5/2 of Iron (III) and Their Catalytic Activity as Peroxidase. *Biophys Chem* **2003**, *106* (3), 253–265. [https://doi.org/10.1016/S0301-4622\(03\)00186-8](https://doi.org/10.1016/S0301-4622(03)00186-8).
- (23) Reyes-Ortega, Y.; Alvarez-Toledano, C.; Ramírez-Rosales, D.; Sánchez-Sandoval, A.; González-Vergara, E.; Zamorano-Ulloa, R. *Pinch-Porphyrins, New Spectroscopic and Kinetic Models of Peroxidases*; 1998.
- (24) Goldammer, E.; Zorn, H.; Daniels, A. Proton Nuclear-Magnetic-Resonance Study of Low-Spin Ferriprotoporphyin(IX) Dimethyl Ester. *Eur J Biochem* **1975**, *57* (1), 291–300. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1975.tb02300.x>.
- (25) Nakamura, M.; Ikezaki, A.; Takahashi, M. Metal-Porphyrin Orbital Interactions in Paramagnetic Iron Complexes Having Planar and Deformed Porphyrin Ring. *Journal of the Chinese Chemical Society* **2013**, *60* (1), 9–21. <https://doi.org/10.1002/jccs.201200474>.
- (26) A. Shelnut, J.; Song, X.-Z.; Ma, J.-G.; Jia, S.-L.; Jentzen, W.; J. Medforth, C.; J. Medforth, C. Nonplanar Porphyrins and Their Significance in Proteins. *Chem Soc Rev* **1998**, *27* (1), 31. <https://doi.org/10.1039/a827031z>.
- (27) Schweitzer-Stenner, R.; Stichternath, A.; Dreybrodt, W.; Jentzen, W.; Song, X. Z.; Shelnut, J. A.; Nielsen, O. F.; Medforth, C. J.; Smith, K. M. Raman Dispersion Spectroscopy on the Highly Saddled Nickel(II)-Octaethyltetraphenylporphyrin Reveals the Symmetry of Nonplanar Distortions and the Vibronic Coupling Strength

- of Normal Modes. *Journal of Chemical Physics* **1997**, *107* (6), 1794–1815. <https://doi.org/10.1063/1.474532>.
- (28) Can, M.; Zoppellaro, G.; Andersson, K. K.; Bren, K. L. Modulation of Ligand-Field Parameters by Heme Ruffling in Cytochromes c Revealed by Epr Spectroscopy. *Inorg Chem* **2011**, *50* (23), 12018–12024. <https://doi.org/10.1021/ic201479q>.
- (29) Hagarman, A.; Wallace, C. J.; Laberge, M. M.; Schweitzer-Stenner, R. Out-of-Plane Deformations of the Heme Group in Different Ferrocyanochrome c Proteins Probed by Resonance Raman Spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy* **2008**, *39* (12), 1848–1858. <https://doi.org/10.1002/jrs.2050>.
- (30) Rivera, M.; Caignan, G. A.; Astashkin, A. V.; Raitsimring, A. M.; Shokhireva, T. K.; Walker, F. A. Models of the Low-Spin Iron(III) Hydroperoxide Intermediate of Heme Oxygenase: Magnetic Resonance Evidence for Thermodynamic Stabilization of the Dxy Electronic State at Ambient Temperatures. *J Am Chem Soc* **2002**, *124* (21), 6077–6089. <https://doi.org/10.1021/ja017334o>.
- (31) Pauleta, S. R.; Lu, Y.; Goodhew, C. F.; Moura, I.; Pettigrew, G. W.; Shelnut, J. A. Calcium-Dependent Heme Structure in the Reduced Forms of the Bacterial Cytochrome c Peroxidase from *Paracoccus Pantotrophus*. *Biochemistry* **2008**, *47* (21), 5841–5850. <https://doi.org/10.1021/bi702486d>.
- (32) Patra, R.; Chaudhary, A.; Ghosh, S. K.; Rath, S. P. Modulation of Metal Displacements in a Saddle Distorted Macrocycle: Synthesis, Structure, and Properties of High-Spin Fe(III) Porphyrins and Implications for the Hemoproteins. *Inorg Chem* **2008**, *47* (18), 8324–8335. <https://doi.org/10.1021/ic800944q>.
- (33) Liptak, M. D.; Wen, X.; Bren, K. L. NMR and DFT Investigation of Heme Ruffling: Functional Implications for Cytochrome c. *J Am Chem Soc* **2010**, *132* (28), 9753–9763. <https://doi.org/10.1021/ja102098p>.
- (34) Billes, F.; Várady, B. A DFT Study on the Vibrational Spectroscopy of Protoporphyrin IX. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* **2008**, *70* (4), 729–734. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2007.08.021>.
- (35) Słota, R.; Broda, M. A.; Dyrda, G.; Ejsmont, K.; Mele, G. Structural and Molecular Characterization of Meso-Substituted Zinc Porphyrins: A DFT Supported Study. *Molecules* **2011**, *16* (12), 9957–9971. <https://doi.org/10.3390/molecules16129957>.
- (36) Kadish, K.; Smith, K.; Guillard, R. *The Porphyrin Handbook: Inorganic, Organometallic and Coordination Chemistry*, 1st ed.; Kadish, K., Ed.; Academic Press: San Diego, California, 2000; Vol. 3.
- (37) Basolo, F.; Johnson, R. *Química de Los Compuestos de Coordinación*; Reverté: España, 1980.
- (38) Reed, C. A.; Guiset, F. A “Magnetochemical” Series. Ligand Field Strengths of Weakly Binding Anions Deduced from $S = 3/2$, $5/2$ Spin State Mixing in Iron(III) Porphyrins. *J Am Chem Soc* **1996**, *118* (13), 3281–3282. <https://doi.org/10.1021/ja954263i>.
- (39) Gasparro, F. P.; Kolodny, N. H. NMR Determination of the Rotational Barrier in N,N-Dimethylacetamide. A Physical Chemistry Experiment. *J Chem Educ* **1977**, *54* (4), 258. <https://doi.org/10.1021/ed054p258>.
- (40) Zimmer, K. D.; Shoemaker, R.; Ruminski, R. R. Synthesis and Characterization of a Fluxional Re(I) Carbonyl Complex $\text{Fac}[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{Dpop}')\text{Cl}]$ with the Nominally Tri-Dentate Ligand Dipyrido(2,3-a:3',2'-j)Phenazine (Dpop'). *Inorganica Chim Acta* **2006**, *359* (5), 1478–1484. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2005.11.042>.

- (41) Pavia, D.; Lampman, G.; Kriz, G.; Vyvyan, J. *Introduction to Spectroscopy*, Fifth Edition.; Cengage Learning: Bellingham, 2013.
- (42) Drago, R. *Physical Methods for Chemists*, Second.; Scientific Publishers: Gainesville, 1992.
- (43) Bertini, I.; Luchinat, C.; Parigi, G. *Solution NMR of Paramagnetic Molecules Applications to Metallobiomolecules and Models*, 1st ed.; Elsevier Science B. V.: Amsterdam, The Netherlands, 2001; Vol. 2.
- (44) Cramer, C. *Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models*, Second Edition.; John Wiley & Sons Ltd: Minnesota, 2004.
- (45) Hill, H. A. O.; Morallee, K. G. Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Bis(Pyridinato)Iron(III)-Protoporphyrin IX Complexes. *J Am Chem Soc* **1972**, *94* (3), 731–738. <https://doi.org/10.1021/ja00758a009>.
- (46) Sakai, T.; Ohgo, Y.; Ikeue, T.; Takahashi, M.; Takeda, M.; Nakamura, M. Formation of the Intermediate-Spin Iron(III) Porphyrin Complexes with (Dxz, Dyz)₃(Dxy)₁(d²Z²)₁ Electron Configuration. *J Am Chem Soc* **2003**, *125* (43), 13028–13029. <https://doi.org/10.1021/ja030448a>.